

NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT CAO ỚT TỪ QUẢ ỚT TRỒNG TẠI HUYỆN THANH BÌNH, TỈNH ĐỒNG THÁP

• Tô Hoàng Thít^{1,*} • Nguyễn Thị Kim Ngọc¹

¹Trường Cao đẳng y tế Đồng Tháp

TÓM TẮT

Mặc dù có nhiều tiềm năng sử dụng trong điều trị giảm đau, nhưng sản phẩm từ quả ớt ở Đồng Tháp vẫn chưa được chú trọng nghiên cứu chiết xuất để phục vụ cho điều chế các dạng thuốc dùng tại chỗ. Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định một số thông số trong quy trình chiết xuất cao ớt và xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của cao ớt được chiết xuất từ quả ớt. Bột ớt có nguồn gốc từ quả ớt được trồng tại huyện Thanh Bình, tỉnh Đồng Tháp được sử dụng để chiết xuất cao ớt. Bột ớt được tiến hành chiết xuất theo mô hình thực nghiệm D-Optimal, được thiết kế bởi phần mềm Design-Expert. Dịch chiết từ mô hình thực nghiệm được tiến hành kiểm nghiệm về hàm lượng capsaicin. Kết quả kiểm nghiệm hàm lượng capsaicin là dữ liệu đầu vào cho quá trình phân tích liên quan nhân quả và tối ưu hóa bởi phần mềm Modde 5.0. Nghiên cứu đã cho kết quả phương pháp chiết xuất cao ớt như sau: Chiết xuất theo phương pháp ngâm kiệt, nhiệt độ phòng, kích thước bột ớt là 1 mm, dung môi là ethanol 90%, tỷ lệ ethanol 90%/bột ớt là 6:1 (mL/ g), thời gian chiết là 6 giờ. Nghiên cứu cũng xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của cao ớt bao gồm các chỉ tiêu cảm quan, độ mất khối lượng do làm khô, độ tro toàn phần, định tính, định lượng, giới hạn nhiễm khuẩn. Cao ớt đạt tiêu chuẩn cơ sở là nguồn nguyên liệu tiềm năng để nghiên cứu điều chế các sản phẩm chứa capsaicin có tác dụng giảm đau.

Từ khóa: cao ớt, capsaicin, chiết xuất, tiêu chuẩn cơ sở

STUDY ON EXTRACTING CHILI EXTRACT FROM CHILI GROWN IN THANH BINH DISTRICT, DONG THAP PROVINCE

• To Hoang Thit • Nguyen Thi Kim Ngoc

ABSTRACT

Although there are many potential uses in pain relief, chili in Dong Thap have not been focused on extracting to serve the preparation of topical drugs. The study was carried out to choose some parameters in the chili extract extraction process and to establish the basic standard of chili extract. Chili powder is derived from chili fruit grown in Thanh Binh district, Dong Thap province, which is used to extract chili extract. Chili powder was extracted according to the experimental model D-Optimal, designed by Design-Expert software. Extracts from experimental models were tested for capsaicin content. The test results of capsaicin content are input data for the process of causal analysis and optimization by Modde 5.0 software. The study gave the results of the extraction method as follows: Extraction by the exhausting method, room temperature, the size of chili powder is 1 mm, the solvent is 90% ethanol, the ratio of ethanol 90% / chili powder is 6:1 (ml/g), extraction time is 6 hours. The study also established basic standards of chili extract including organoleptic criteria, weight loss due to drying, total ash, qualitative, quantitative, and bacterial contamination

* Tác giả liên hệ: ThS. Tô Hoàng Thít, Email: ththit2803@gmail.com

(Ngày nhận bài: 20/10/2022; Ngày nhận bản sửa: 06/11/2022; Ngày duyệt đăng: 16/11/2022)

limits. Standardized chili extract is a potential source of raw materials for researching and preparation of products containing capsaicin with analgesic effect.

Keywords: chili extract, capsaicin, extract, base standard

1. TỔNG QUAN

Ớt có tên khoa học là *Capsicum frutescens* L., họ Cà (Solanaceae). Ớt là loại cây bụi, lá hẹp, tán lá mịn. Quả mỏng, mọc đứng thành từng chùm ở đầu các cành; màu đỏ tươi, rất cay [1]. Trong quả ớt, có các chất màu là carotenoid 0.15-0.35%, trong đó có α -caroten, các hợp chất có oxy như capsanthin, capsorubin (có 2 nhóm hydroxyd và 2 nhóm carbonyl), zeaxanthin và cryptoxanthin. Màu đỏ của quả là do các chất capsanthin và capsorubin. Các chất khác có màu vàng. Các chất màu còn gồm các flavonoid (apiosid và glucosid của luteolin). Hoạt chất cay trong quả ớt là capsaicin. Đó là amid của vanilylamin (methoxy-3-hydroxy-4-benzylamin) và một acid chưa no ở C10 (acid methyl-7-octen-5-carbonic). Capsaicin kết tinh hình vẩy hoặc hình phiến màu trắng, nóng chảy ở nhiệt độ 60 °C và có thể thăng hoa được. Capsaicin tan trong ether dầu hỏa, cồn và các dung môi khác. Capsaicin rất ít tan trong nước tinh khiết đun sôi, nhưng lại hòa tan trong các dung dịch kiềm loãng. Ớt còn có một saponin là capsidin [1].

Quả ớt là một gia vị thực phẩm được sử dụng lâu đời và là một trong những sản phẩm quan trọng trong nền kinh tế quốc tế [2]. Với thành phần chất gây vị cay (capsaicinoid) và chất tạo màu sắc đỏ (carotenoid), gia vị ớt là thành phần không thể thiếu trong quá trình chế biến thức ăn, nhất là các món ăn châu Á và châu Mỹ Latinh.

Bên cạnh việc sử dụng trong thực phẩm, các sản phẩm từ trái ớt còn được sử dụng trong trị liệu. Cao chiết ớt đã được sử dụng ở châu Âu từ hơn 150 năm để điều trị đau răng, dùng ngoài da điều trị các triệu chứng đau theo kinh nghiệm dân gian [3].

Gần đây, với tiến bộ của nền khoa học kỹ thuật, hoạt chất capsaicin [(E)8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamid] – thành phần tạo ra vị cay của trái ớt được xác định là thành phần có hoạt tính giảm đau và là thành phần chính tạo tác dụng của các sản phẩm từ ớt. Cao chiết ớt định chuẩn capsaicin, dưới dạng dịch thuốc sử dụng ngoài da hoặc kem thoa ngoài da được sử dụng rộng rãi như liệu pháp hỗ trợ điều trị đau [3 - 4].

Quả ớt có nhiều tác dụng như tác dụng giảm tăng trọng, tác dụng giảm tích lũy lipid gan, tác dụng bảo vệ peroxyd hóa ở phổi, tác dụng giảm đau, tác dụng chuyển hóa progesteron, tác dụng trên da và niêm mạc, tác dụng gây ung thư, độc tính cấp (đã xác định được LD₅₀ của capsaicin tiêm trong màng bụng cho chuột nhắt trắng là 8 mg/kg [1]).

Mặc dù có nhiều tiềm năng sử dụng trong trị liệu, nhưng chưa có nhiều nghiên cứu phát triển các sản phẩm từ quả ớt. Ở Việt Nam, chưa thấy các nghiên cứu công bố cũng như sản phẩm dược phẩm được đăng ký lưu hành. Tiềm năng sử dụng cao ớt dưới dạng bào chế dùng tại chỗ điều trị đau là rất lớn bởi nhiều nguyên nhân khác nhau như: Sự thiếu hụt của liệu pháp điều trị đau, đặt biệt là điều trị đau “không gây nghiện”; nhu cầu điều trị đau có nguồn gốc thần kinh (như đau thần kinh tọa) là rất lớn, đa số người dân có thói quen sử dụng các thuốc xoa bóp tại chỗ có nguồn gốc y học cổ truyền; tác dụng phụ trên sức khỏe của liệu pháp điều trị đau tại chỗ có nguồn gốc từ ớt là rất thấp.

Đồng Tháp là một tỉnh có thế mạnh về nông nghiệp. Cây ớt được trồng ở Đồng Tháp góp phần đa dạng hoá sản phẩm nông nghiệp của tỉnh. Cây ớt và sản phẩm từ ớt còn là cây giúp thoát nghèo của một số trường hợp doanh nghiệp điển hình của tỉnh. Bên cạnh những thuận lợi nông nghiệp và thị trường, cây ớt vẫn không nằm ngoài “điệp khúc” được mùa mất giá của các sản phẩm nông nghiệp. Việc phát

triển các sản phẩm có giá trị gia tăng bên cạnh sản phẩm nông sản thô từ ớt là một nhu cầu cấp thiết để đảm bảo được sự ổn định nền kinh tế và cuộc sống kinh tế - xã hội vùng trồng ớt.

Đề tài Nghiên cứu chiết xuất cao ớt từ quả ớt (*Capsicum frutescens* L.) trồng tại huyện Thanh Bình, tỉnh Đồng Tháp được thực hiện nhằm nghiên cứu nguồn nguyên liệu từ quả ớt có nguồn gốc tại tỉnh Đồng Tháp với những mục tiêu chính như sau: Xác định một số thông số trong quy trình chiết xuất cao ớt như kích thước dược liệu, nồng độ ethanol, tỷ lệ ethanol/dược liệu (v/m), thời gian chiết; xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của cao ớt được chiết xuất từ quả ớt.

2. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng bột ớt khô của quả ớt được trồng tại huyện Thanh Bình, tỉnh Đồng Tháp, chất đối chiếu capsaicin (Mỹ, 95%).

Các hóa chất, dung môi được sử dụng trong nghiên cứu đều đạt tiêu chuẩn phân tích, bao gồm: Ethanol 96% (Việt Nam, 96%), ethanol 99% (Trung Quốc, 99%), chloroform (Trung Quốc, 99%), diethylether (Trung Quốc, 99.7%), methanol (Đức, 99.9%), ethyl acetat (Đức, 99,5%), petroleum ether (Đức), acid acetic (Đức, 100%), acid citric (Đức, 99.5%), acid hydrochloric (Đức, 37%), acid sulfuric (Đức, 98%), natri hydroxyd (Đức, 97%), kali hydroxyd (Đức, 85%), acetonitril (Đức, 99.9%), acid phosphoric (Đức, 99%).

Nghiên cứu sử dụng các thiết bị, dụng cụ sau: Hệ thống HPLC LC10-AD, LC-8A, SPD-M10Avp, SPD-20A (Simadzu, Nhật Bản); cân phân tích độ nhạy 0,0001 (Sartorius, Đức); cân phân tích độ nhạy 0,00001 (Radwag, Phần Lan); bể siêu âm (Bandelin, Đức); tủ sấy (Mettler, Đức); lò nung nhiệt độ cao (Nabertherm, Đức) và một số dụng cụ có tại Trường Cao đẳng Y tế Đồng Tháp và Trung tâm Kiểm nghiệm Đồng Tháp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định một số thông số trong quy trình chiết xuất cao ớt

Xây dựng phương pháp định lượng capsaicin bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

Lựa chọn các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất cao ớt. Tiến hành thử nghiệm thăm dò và tham khảo các tài liệu liên quan đến quy trình chiết xuất dược liệu bằng phương pháp ngâm kiệt, chọn ra các mức độ của 4 yếu tố ảnh hưởng đến quy trình chiết xuất là kích thước dược liệu (khảo sát bột ớt có kích thước 1mm, 2mm, 5mm), nồng độ ethanol (khảo sát các mức nồng độ ethanol 45%, 70%, 80%, 90% và methanol 100%), tỷ lệ ethanol/dược liệu (v/m) (khảo sát các tỷ lệ ethanol/dược liệu lần lượt là 3:1, 4:1, 5:1, 6:1), thời gian chiết (khảo sát các thời gian chiết 8 giờ, 12 giờ, 24 giờ, 48 giờ).

Xây dựng mô hình thực nghiệm: Bột ớt được tiến hành chiết xuất theo mô hình thực nghiệm D-Optimal, thiết kế bởi phần mềm Design-Expert (Stat-Ease Inc). Phân tích dữ liệu và tối ưu hóa: Dịch chiết từ mô hình thực nghiệm được tiến hành kiểm nghiệm về hàm lượng capsaicin. Kết quả kiểm nghiệm là dữ liệu đầu vào cho quá trình phân tích liên quan nhân quả và tối ưu hóa bởi phần mềm Modde 5.0.

2.2.2. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của cao ớt

Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của cao ớt bao gồm các chỉ tiêu như cảm quan, độ mất khối lượng do làm khô, độ tro, định tính, định lượng, giới hạn nhiễm khuẩn.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Xác định một số thông số trong quy trình chiết xuất cao ớt

3.1.1. Xây dựng phương pháp định lượng capsaicin bằng phương pháp HPLC

Nghiên cứu đã xây dựng quy trình định lượng capsaicin bằng phương pháp HPLC như sau:

Pha động: Acid phosphoric 0.1% - acetonitril (45:55, v/v).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg chất đối chiếu capsaicin cho vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 20 ml methanol, siêu âm trong 10 phút, bổ sung methanol vừa đủ, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μm .

Dung dịch thử: Pha dung dịch thử trong bình định mức 100 ml có nồng độ khoảng 10 mg capsaicin/100 ml dung dịch (dung môi sử dụng là methanol), lọc qua màng lọc 0,45 μm . Điều kiện sắc ký: Cột thép không gỉ (25 cm \times 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh silica gel (5 μm); Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 222 nm; Tốc độ dòng 1,0 ml/ phút; Thể tích tiêm mẫu 20 μl ; Nhiệt độ cột ở nhiệt độ phòng.

Hàm lượng capsaicin trong chế phẩm được tính theo công thức:

$$X(\%) = \frac{S_T}{S_C} \times \frac{C_C \times H}{C_T} \times 100$$

Trong đó: X là hàm lượng capsaicin trong chế phẩm (%), kL/kL); S_T là diện tích đỉnh của mẫu thử; S_C là diện tích đỉnh của mẫu chuẩn; C_T là nồng độ dung dịch thử (mg/ ml); C_C là nồng độ dung dịch chuẩn (mg/ ml); H là hàm lượng chất đối chiếu capsaicin (%).

Kết quả thẩm định quy trình định lượng capsaicin như sau:

Tính tương thích hệ thống:

Mẫu chuẩn capsaicin được tiêm liên tiếp 6 lần vào hệ thống sắc ký. Kết quả được trình bày trong Bảng 1.

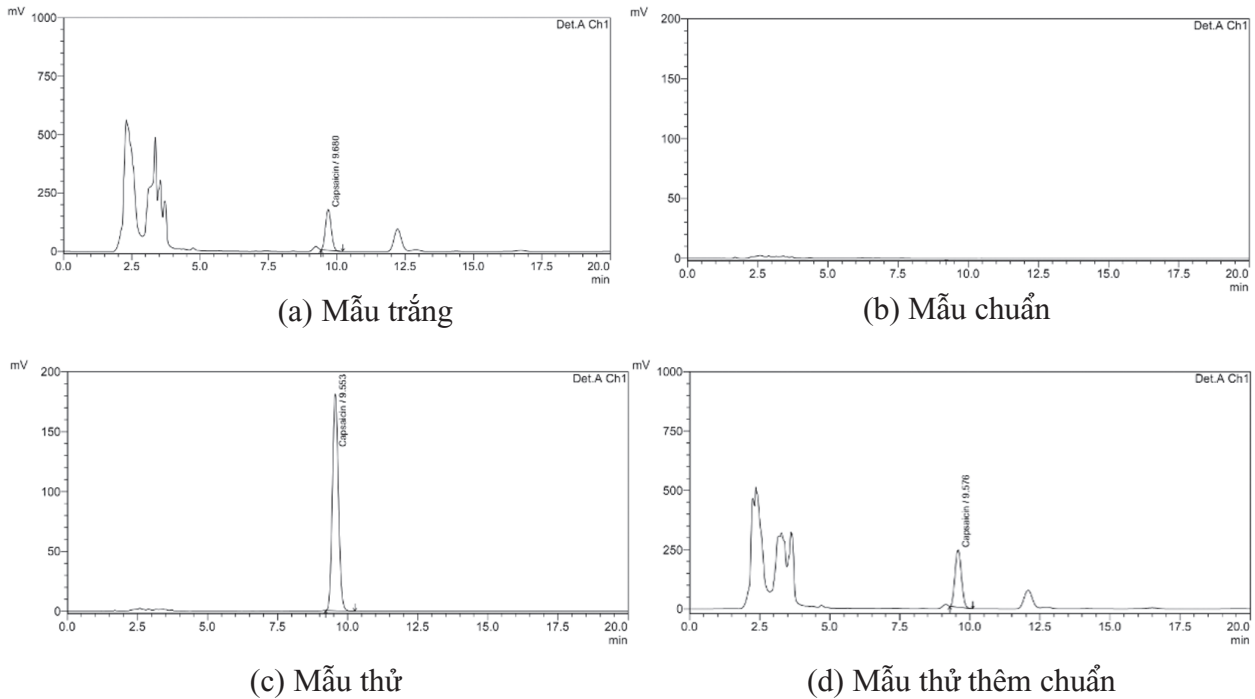
Bảng 1. Các thông số sắc ký tương ứng với pic capsaicin 6 lần tiêm liên tiếp

Số lần tiêm	t_R	Diện tích đỉnh
1	9,553	2700282
2	9,541	2711604
3	9,608	2700885
4	9,595	2737270
5	9,585	2723077
6	9,579	2795907
Trung bình	9,577	2728171
RSD	0,265% (<1%)	1,321% (<2%)

Tính đặc hiệu:

Tiêm lần lượt các mẫu trắng, mẫu thử, mẫu chuẩn, mẫu thử thêm chuẩn của capsaicin vào hệ thống sắc ký. Kết quả ở Hình 1 cho thấy: Thời gian lưu của pic capsaicin trong mẫu thử là 9,680 phút, tương đương thời gian lưu của pic capsaicin trong mẫu chuẩn, đồng thời mẫu trắng không có

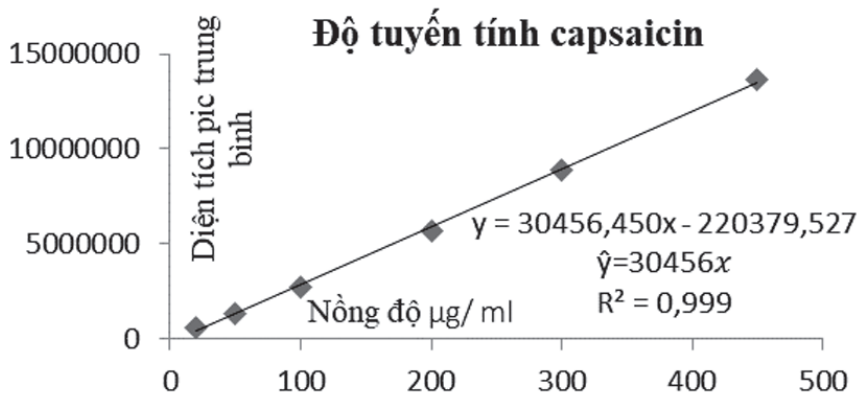
pic trùng với pic capsaicin (Hình (a), (b) và (c)); Khi thêm một lượng chất chuẩn capsaicin vào mẫu thử, chiều cao và diện tích pic capsaicin tăng lên so với trước khi thêm chuẩn (Hình (d)); Phổ UV tại thời gian lưu của pic capsaicin trong mẫu thử giống với phổ UV tại thời gian lưu của pic capsaicin trong mẫu chuẩn.



Hình 1. Sắc ký đồ đánh đặc hiệu của quy trình định lượng capsaicin

Tính tuyến tính và khoảng tuyến tính:

Tiến hành sắc ký 6 mẫu chuẩn capsaicin với nồng độ tăng dần từ 20-450 µg/mL. Kết quả độ tuyến tính được thể hiện ở Hình 2.



Hình 2. Đồ thị biểu diễn sự tương quan giữa diện tích pic và nồng độ capsaicin

Độ lặp lại:

Kết quả độ lặp lại của phương pháp định lượng được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả đánh giá độ lặp lại của phương pháp định lượng capsaicin

Lần xác định	Hàm lượng (%)	Số liệu thống kê
1	1,99	n = 6 $\bar{X} = 2,02\%$ RSD = 1,62% (<2%)
2	2,00	
3	2,00	
4	2,08	
5	2,03	
6	2,01	

Độ đúng: Kết quả đánh giá độ đúng được trình bày trong Bảng 3. Tỷ lệ hồi phục của mẫu nằm trong khoảng giới hạn 98-102%.

Bảng 3. Kết quả đánh giá độ đúng của phương pháp định lượng capsaicin

Mẫu	Mức hàm lượng	Lượng thêm vào (mg)	Lượng tìm thấy (mg)	Tỷ lệ hồi phục (%)
1	80%	16,14	16,42	101,74
2		16,23	16,07	99,03
3		16,32	16,54	101,33
4	100%	19,97	20,10	100,65
5		20,06	20,18	100,61
6		20,33	20,68	101,69
7	120%	24,16	24,49	101,37
8		23,98	24,15	100,69
9		23,98	23,79	99,20

Quy trình định lượng capsaicin đạt các yêu cầu về tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính và khoảng tuyến tính, độ lặp lại, độ đúng.

Nghiên cứu đã xây dựng và thẩm định quy trình định lượng capsaicin dựa theo Dược điển Mỹ (USP 38 [5]) bằng phương pháp HPLC. Tính linh hoạt của HPLC cao hơn các phương pháp khác nhờ các cơ chế tách, pha tĩnh và pha động đa dạng, phong phú. Với hiệu năng tách cao, khả năng phân tích rộng, sắc ký lỏng cao áp hiện vẫn là lựa chọn ưu tiên trong phân tích hay điều chế các chất.

3.1.2. Lựa chọn các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất cao ốt

Tiến hành thử nghiệm thăm dò và tham khảo các tài liệu liên quan đến quy trình chiết xuất dược liệu bằng phương pháp ngâm kiệt, chọn ra các mức độ của 4 yếu tố ảnh hưởng đến quy trình chiết là kích thước bột ốt, nồng độ ethanol, tỷ lệ dung môi/bột ốt, thời gian chiết. Khối lượng bột ốt được chiết xuất cho mỗi bộ thông số là 100 g. Kết quả khảo sát các thông số chiết được trình bày trong Bảng 4.

Bảng 4. Nồng độ capsaicin chiết được qua các lần khảo sát

Stt	Kích thước (mm)	Nồng độ dung môi (%)	Tỷ lệ dung môi/ dược liệu	Thời gian (giờ)	Hàm lượng capsaicin (%)
1	1	90	6:1	24	0.285
2	2	90	6:1	24	0.257
3	5	90	6:1	24	0.232
4	2	45	6:1	24	0.214
5	2	70	6:1	24	0.210
6	2	80	6:1	24	0.216
7	2	90	6:1	24	0.264
8	2	Methanol 100%	6:1	24	0.253
9	2	90	3:1	24	0.195
10	2	90	4:1	24	0.257
11	2	90	5:1	24	0.225
12	2	90	6:1	24	0.250
13	2	90	6:1	8	0.200
14	2	90	6:1	12	0.226
15	2	90	6:1	24	0.255
16	2	90	6:1	48	0.251

Kết quả, nghiên cứu đã chọn được một số thông số để thiết lập mô hình thực nghiệm nhằm xác định các thông số tối ưu trong quá trình chiết xuất cao ốt:

- Về kích thước bột ốt khô: Chọn 2 loại kích thước là 1 mm và 2 mm để tiến hành tối ưu hóa.

- Về nồng độ dung môi sử dụng trong chiết xuất: Mức nồng độ ethanol 90% cho nồng độ capsaicin chiết được cao hơn hẳn các mức nồng độ ethanol khác. Do đó, chọn mức nồng độ ethanol 90% để tiến hành quy trình chiết xuất cao ốt.

- Về tỷ lệ dung môi/bột ốt (v/m): Chọn 3 mức nồng độ dung môi/ nguyên liệu là 4:1, 5:1 và 6:1 để tiến hành tối ưu hóa.

- Thời gian chiết: Chọn thời gian chiết là 24 và 48 giờ để tiến hành tối ưu hóa.

3.1.3. Xây dựng mô hình thực nghiệm

Bảng 5. Dữ liệu thực nghiệm quy trình chiết xuất cao ốt

STT	x_1	x_2	x_3	y_1
1	1	4	24	0,332
2	2	4	24	0,146
3	1	5	24	0,347

4	2	5	24	0,154
5	1	6	24	0,375
6	2	6	24	0,161
7	1	4	48	0,340
8	2	4	48	0,149
9	1	5	48	0,350
10	2	5	48	0,156
11	1	6	48	0,379
12	2	6	48	0,163

Phương pháp chiết xuất cao ốt: Sử dụng phương pháp ngâm kiệt, ở nhiệt độ phòng, dung môi sử dụng ethanol 90%. Các thông số như kích thước dược liệu, tỷ lệ dung môi/bột ốt, thời gian chiết được thay đổi theo thiết kế. Qua thăm dò sơ bộ, nghiên cứu chọn khảo sát 3 yếu tố ảnh hưởng đến quy trình chiết với các mức độ như sau: Kích thước dược liệu (1 và 2 mm), tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu (4:1, 5:1 và 6:1), thời gian chiết (24 và 48 giờ).

Quy trình chiết xuất cao ốt được thiết kế theo mô hình D-Optimal bởi phần mềm Design-Expert gồm 12 thí nghiệm. Cao ốt tương ứng với các thí nghiệm theo thiết kế được kiểm nghiệm và kết quả được tóm tắt trong Bảng 5. Biến độc lập: x_1 là kích thước bột ốt (mm); x_2 là tỷ lệ dung môi/bột ốt (mL/g); x_3 là thời gian chiết xuất (giờ). Biến phụ thuộc: y_1 là hàm lượng capsaicin được chiết xuất (%).

3.1.4. Phân tích dữ liệu và tối ưu hóa

Chạy chương trình tối ưu hóa trên phần mềm Modde 5.0 với kết quả từ các thí nghiệm thu được các điều kiện tối ưu cho hiệu suất chiết capsaicin tối đa là:

Thông số tối ưu:

x_1 : Kích thước dược liệu = 1 mm.

x_2 : Tỷ lệ dung môi/bột ốt = 6:1 (mL/g).

x_3 : Thời gian chiết = 48 giờ.

Kết quả dự đoán:

y_1 : Hàm lượng capsaicin trong dịch chiết = 0.376%.

Vậy, phương pháp chiết xuất cao ốt được đề nghị là:

Chiết xuất theo phương pháp ngâm kiệt, nhiệt độ phòng, kích thước bột ốt là 1 mm, dung môi là ethanol 90%, tỷ lệ ethanol 90%/ bột ốt là 6:1 (mL/g), thời gian chiết là 6 giờ. Nghiên cứu đã khảo sát và chọn được các thông số tối ưu giúp quyết định chất lượng và hiệu quả của quá trình chiết xuất [7].

Bằng phương pháp chiết xuất ngâm kiệt, dung môi được dịch chuyển trong khối dược liệu theo một chiều xác định với một tốc độ nhất định. Trong quá trình dịch chuyển, các chất tan trong dược liệu tan vào dung môi và nồng độ dung dịch tăng dần cho tới khi bão hòa ở đầu kia của khối dược liệu. Như vậy, ngâm kiệt là một quá trình chiết ngược dòng với nồng độ dịch chiết tăng dần từ đầu tới cuối khối dược liệu [7]. Nghiên cứu sử dụng dung môi ethanol 90% để chiết xuất, đây là dung môi được dùng nhiều nhất. Ethanol có thể hòa tan được nhiều nhóm hoạt chất, không

độc, rẽ tiền và dễ tìm.

3.2. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của cao ớt

Nghiên cứu đã xây dựng được tiêu chuẩn cơ sở của cao ớt như sau:

Yêu cầu kỹ thuật:

- a) Cảm quan: Cao ớt có màu nâu đỏ, thể chất mềm, vị rất cay.
- b) Độ mất khối lượng do làm khô: Không quá 30%.
- c) Tro toàn phần: Không quá 5%.
- d) Định tính: Sắc ký đồ của mẫu thử phải có vết có R_f và màu sắc, hình dạng vết tương ứng với vết trên sắc ký đồ của mẫu chuẩn.
- đ) Định lượng: Hàm lượng capsaicin không ít hơn 1,0%.
- e) Giới hạn nhiễm khuẩn: Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không quá 10^4 trong 1 g; Tổng số *Enterobacteria* không quá 500 trong 1 g; Nấm và mốc không quá 100 trong 1 g; Không được có *Salmonella* trong 10 g; Mẫu không có *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* trong 1g.

Phương pháp thử:

- a) Tính chất: Thử bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.
- b) Độ ẩm: Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 9.6 “Xác định độ mất khối lượng do làm khô”, trang PL-203 [6].
- c) Độ tro toàn phần: Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 9.8 “Xác định tro toàn phần”, trang PL-204 [6].

d) Định tính:

Bản mỏng: Silicagel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: CHCl_3 – MeOH (95:5).

Dung dịch thử: Cân một lượng cao ớt tương ứng với 10 mg capsaicin, thêm 10 ml methanol, siêu âm trong 10 phút, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch capsaicin đối chiếu 1 mg/mL trong methanol.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 20 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi đến vạch kết thúc. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí trong 2 phút. Phun dung dịch thuốc thử 2,6-dibromoquinon clorimid 0,5% trong methanol, để khô tự nhiên trong 2 phút. Đặt bản mỏng vào bình chứa hơi amoniac bão hòa trong 2 phút. Lấy bản mỏng ra, sấy khô nhanh và quan sát các vết bằng mắt thường. Capsaicin là vết có màu xanh.

đ) Định lượng:

Pha động: Acid phosphoric 0.1% - Acetonitril (45:55, v/v).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg chất đối chiếu capsaicin cho vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 70 ml methanol, siêu âm trong 10 phút, bổ sung methanol vừa đủ, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μm .

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g cao ớt cho vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 70 mL methanol, siêu âm trong 10 phút, bổ sung methanol vừa đủ, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μm .

Điều kiện sắc ký: Cột thép không gỉ (25 cm \times 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh silica gel (5 μm); Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 222 nm; Tốc độ dòng 1,0 mL/phút; Thể tích tiêm mẫu

20 µL; Nhiệt độ cột ở nhiệt độ phòng.

Hàm lượng capsaicin trong chế phẩm được tính theo công thức:

$$X(\%) = \frac{S_T}{S_C} \times \frac{C_C \times H}{C_T} \times 100$$

Trong đó: X là hàm lượng capsaicin trong chế phẩm (%; kL/kL); S_T là diện tích đỉnh của mẫu thử; S_C là diện tích đỉnh của mẫu chuẩn; C_T là nồng độ dung dịch thử (mg/mL); C_C là nồng độ dung dịch chuẩn (mg/mL); H là hàm lượng chất đối chiếu capsaicin (%).

e) Giới hạn nhiễm khuẩn: Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 13.6 “Thử giới hạn nhiễm khuẩn”, trang PL-300.

Nghiên cứu đã tham khảo các chuyên luận cao dược liệu có trong Dược điển Việt Nam V [6] và cao ớt có trong Dược điển châu Âu [8] để xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho cao ớt với các chỉ tiêu: Cảm quan, độ ẩm, độ tro, định tính, định lượng, giới hạn nhiễm khuẩn. Trong đó, chỉ tiêu hàm lượng capsaicin không nhỏ hơn 1.0%, so với Dược điển châu Âu quy định hàm lượng capsaicinoid là 2.0-2.4% (capsaicinoid gồm có capsaicin, dihydrocapsaicin và nordihydrocapsaicin) [8]

4. KẾT LUẬN

Cao ớt được chiết xuất theo phương pháp ngâm kiệt, ở nhiệt độ phòng, kích thước bột ớt là 1 mm, dung môi là ethanol 90%, tỷ lệ ethanol 90%/ bột ớt là 6:1 (mL/g), thời gian chiết là 6 giờ. Nghiên cứu cũng xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của cao ớt bao gồm các chỉ tiêu cảm quan, độ mất khối lượng do làm khô, độ tro toàn phần, định tính, định lượng, giới hạn nhiễm khuẩn. Cao ớt đạt tiêu chuẩn cơ sở là nguồn nguyên liệu tiềm năng để nghiên cứu điều chế các sản phẩm chứa capsaicin có tác dụng giảm đau.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Trường Cao đẳng Y tế Đồng Tháp hỗ trợ kinh phí để thực hiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đỗ Huy Bích và cộng sự, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập II, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 504-508, 2006.
- [2] Unido and Fao, *Herbs, spices and essential oils - Post-harvest operations in developing countries 2005 - First published 2005*, pp. 1-8, 2005.
- [3] P. Goetz, R. Le Jeune, “Matiere medicale pratique: *Capsicum annuum* et *Capsicum frutescens* Piment”, *Phytotherapie*, 10, pp. 126-130, 2012.
- [4] Stephen E. Wolverton, *Comprehensive Dermatologic Drug Therapy* – 4rd edition, pp. 624-630, 2012.
- [5] The United States Pharmacopeia, Thirty-Eighth Revision, and The National Formulary, Thirty-Third Edition, 1, pp. 1400-1401, 2014.
- [6] Bộ Y tế, *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 1310-1311, 1387-1393, 2017.
- [7] Bộ Y tế, *Dược liệu học*, tập 1, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 69-70, 2011.
- [8] European pharmacopoeia – 8th edition, volume 1, pp. 1197-1198.