

DOI: <https://doi.org/10.59294/HIUJS.KHTT.2024.037>

QUY TRÌNH CHIẾT XUẤT CAO CÚC ÁO HOA VÀNG (*SPILANTHES ACMELLA* MURR. ASTERACEAE)

Trần Thanh Thảo, Trương Đặng Thảo Nguyên,
Nguyễn Ngọc Ngân và Nguyễn Thị Ánh Nguyệt*
Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Việc bào chế sản phẩm trung gian từ dược liệu như cao đặc, cao khô hoặc bột đang dần được quan tâm nhiều hơn. **Mục tiêu:** Nghiên cứu này được tiến hành nhằm mục đích xây dựng được phương pháp và quy trình chiết xuất để bào chế cao Cúc áo hoa vàng (*Spilanthus acmella* Murr. Asteraceae) có hàm lượng phenolic cao đạt tiêu chuẩn để làm chế phẩm trung gian điều chế các dạng thuốc khác. **Phương pháp nghiên cứu:** Dược liệu Cúc áo hoa vàng toàn thân trên mặt đất được phơi khô, xay thô và chiết bằng các phương pháp khác nhau với các thông số khảo sát: dung môi, nhiệt độ, thời gian, tỷ lệ dược liệu/dung môi. Hàm lượng phenolic trong cao được xác định bằng phương pháp Folin – Ciocalteu. **Kết quả:** Xây dựng được quy trình chiết xuất cao Cúc áo hoa vàng với hàm lượng polyphenol 33.11 ± 0.19 mgGA/g bằng phương pháp đun hồi lưu với dung môi ethanol 80%, nhiệt độ 70 °C, thời gian 120 phút/lần x 3 lần, tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/8 g/mL. Hiệu suất chiết suất đạt $15.70 \pm 0.44\%$. **Kết luận:** Quy trình chiết xuất cao Cúc áo hoa vàng được nghiên cứu thành công, phù hợp với điều kiện sản xuất ở Việt Nam và có thể ứng dụng vào thực tiễn.

Từ khóa: cao Cúc áo hoa vàng, *Spilanthus acmella* Murr. Asteraceae, polyphenol, chiết xuất

EXTRACTION PROCESS OF *SPILANTHES ACMELLA* EXTRACTS

Tran Thanh Thao, Truong Dang Thao Nguyen,
Nguyen Ngoc Ngan and Nguyen Thi Anh Nguyet

ABSTRACT

Introduction: The preparation of intermediate products from medicinal herbs such as concentrated extract, dry extract or powder is gradually receiving more attentions. **Objectives:** This study was conducted to develop an extraction method and process for the preparation of *Spilanthus acmella* extract which contained high phenolic content. The concentrated extract meets the in-house standards and can be used as an intermediary products for formulating other forms of drugs. **Methods:** the whole - body medicinal herb of yellow flower daisies on the ground was dried, grinded and extracted by different methods with the investigated parameters: Solvent, temperature, extraction time and powder-to-solvent ratios. The phenolic content was determined by Folin – Ciocalteu method. **Results:** Developed a process to extract yellow daisy with polyphenol content of 33.11 ± 0.19 mgGA/g reflux method with 80% ethanol, 70 °C, 120 minutes/time x 3 times, and the powder-to-solvent ratio is 1/8 g/mL. The efficiency extraction reaches $15.70 \pm 0.44\%$. **Conclusion:** The study established the extraction process of yellow daisy extract. The process was found to be suitable for the available manufacturing conditions in Vietnam.

Keywords: *Spilanthus acmella* extract, *Spilanthus acmella* Murr. Asteraceae, polyphenol, extraction

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

* Tác giả liên hệ: ThS. DS. Nguyễn Thị Ánh Nguyệt, Email: nguyetnta@hiu.vn
(Ngày nhận bài: 10/03/2024; Ngày nhận bản sửa: 10/4/2024; Ngày duyệt đăng: 20/4/2024)

Cúc áo hoa vàng (*Spilanthus acmella* Murr. Asteraceae) là một trong các loài cây thuộc họ Cúc có nhiều ở Việt Nam, được ứng dụng nhiều trong Y học. Trong dân gian, ông cha ta đã biết lợi dụng vị cay, tê, nóng từ các bộ phận khác nhau của cây để chữa đau răng (hoa, lá); tê thấp, đau bụng, cảm sốt (rễ); ngộ độc, phù thũng (cả cây); ngoài ra còn chữa liệt lưỡi, đau cổ họng, đau đầu, sốt rét cơn; viêm phế quản, ho lao,... Những bài thuốc dân gian đó vẫn được lưu truyền đến ngày nay. Hơn thế nữa, những sản phẩm chứa dịch chiết từ loài cây này không chỉ được sử dụng bằng đường uống, mà còn có tác dụng hiệu quả trên da [1]. Có được những hiệu quả này là do các hoạt chất tách từ dịch chiết cây Cúc áo hoa vàng có hoạt tính kháng viêm và chống oxy hóa mạnh [2. 3]. Đặc tính sinh học này chủ yếu phụ thuộc vào nhóm N-alkylamides (đặc biệt là spilanthol), hợp chất polyphenol (phenolic, flavonoid, tannin), và phytosterols,... tất cả đều được phát hiện trong ba phần chính (lá, thân và hoa) của cây [4-5].

Tuy nhiên, việc ứng dụng các kết quả nghiên cứu dược tính của Cúc áo hoa vàng vào thực tiễn làm các chế phẩm thuốc từ Cúc áo hoa vàng còn gặp nhiều khó khăn do thiếu nguồn nguyên liệu, sản phẩm trung gian chuẩn hóa, ổn định, dễ kiểm soát và dễ ứng dụng cho các dạng bào chế. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu xây dựng được phương pháp và quy trình chiết xuất để bào chế cao Cúc áo hoa vàng có hàm lượng phenolic cao đạt tiêu chuẩn để làm chế phẩm trung gian điều chế các dạng thuốc khác.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu sử dụng là cây Cúc áo hoa vàng (không lấy rễ) (*Spilanthus acmella* Murr. Asteraceae) được cung cấp bởi Công ty TNHH MTV Minh Tâm Đường, Biên Hòa – Đồng Nai. Cây Cúc áo hoa vàng đã sấy khô, xay qua rây 5mm, được bảo quản ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng trực tiếp.

Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại phòng thí nghiệm Bào chế - Hóa lý, Khoa Dược, trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng từ tháng 09 – 12/2023.

2.2. Thiết bị và hóa chất

Thiết bị: Máy quang phổ UV – Vis Shimadzu V630. Máy khuấy từ gia nhiệt VELP® Scientifica, Bể siêu âm Elmasonic S100H, Thiết bị ngâm kiệt bằng inox hình nón cut, Máy cô quay chân không 1 L Buchi Rotavapor R-210. Cân phân tích độ ẩm OHAUS, Bếp cách thủy điều nhiệt Memmert WB14. Cân phân tích Precisa XB 220A, micropipet 1000 μ L, 100 μ L và các dụng cụ thủy tinh khác.

Hóa chất: Acid gallic (GA), thuốc thử Folin-Ciocalteu được cung cấp bởi Sigma Aldrich. Nước cất 2 lần, các dung môi ethanol, methanol và hóa chất khác đạt tiêu chuẩn phân tích.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Xây dựng phương pháp định lượng polyphenol toàn phần

Chuẩn bị mẫu chiết: Cân chính xác khoảng 10g dược liệu Cúc áo hoa vàng đã xay qua rây 5mm, thêm dung môi ethanol 70%, chiết bằng phương pháp đun nóng có hỗ trợ siêu âm. Dịch chiết được lọc, cô quay thu hồi dung môi và tiếp tục cô cách thủy đến thể cao đặc.

Mẫu thử: Cân chính xác khoảng 0.1 g cao Cúc áo hoa vàng, hòa tan trong metanol, siêu âm trong 10 phút, lọc qua giấy lọc, pha loãng dịch lọc và cho vào bình định mức 10 mL.

Mẫu chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg acid gallic chuẩn, hòa tan trong nước cất rồi pha loãng thu được dung dịch chuẩn gốc, sau đó pha loãng đến các nồng độ 1. 10. 20. 30. 40. 50. 60 μ g/mL (*).

Mẫu trắng: nước cất.

Lấy chính xác 1 mL mẫu cần định lượng hoặc dung dịch acid gallic chuẩn (theo các nồng độ ở (*)), thêm 5 mL thuốc thử Folin – Ciocalteu 10%, lắc đều và để yên. Sau 5 phút thêm tiếp 4 mL Na_2CO_3 10%. Lắc đều, để yên trong tối 2 giờ sau đó đo độ hấp thụ ở bước sóng 769 nm. Thí nghiệm được lặp

lại 3 lần, lấy giá trị trung bình [6].

Giá trị hấp thụ phổ biến (Abs) đã được ghi nhận để tiến hành vẽ đường thẳng chuẩn xác định hàm lượng polyphenol toàn phần trong các mẫu cao chiết. Đường chuẩn có dạng $y = a.x + b$. Đánh giá tính thích hợp của phương trình hồi quy và tính có ý nghĩa của các hệ số bằng trắc nghiệm F và trắc nghiệm t, sử dụng phần mềm Excel 2010.

Hàm lượng polyphenol toàn phần chứa trong mẫu cao chiết được đo lường bằng hàm lượng acid galic đương lượng (GA) theo công thức (1).

$$F = \frac{C \times V \times k}{m \times (100 - N) \times 10} \quad (1)$$

Trong đó, F: Hàm lượng polyphenol toàn phần (mg GA/g)

C: Giá trị x từ đường chuẩn ($\mu\text{g GA/mL}$)

V: Thể tích dung dịch thử (mL)

k: Hệ số pha loãng

m: Khối lượng cao chiết có trong thể tích (g)

N: Độ ẩm cao chiết (%).

2.3.2. Xây dựng quy trình chiết xuất cao Cúc áo hoa vàng

2.3.2.1. Khảo sát lựa chọn phương pháp chiết xuất

Phương pháp ngâm kiệt: Cân 10 g bột Cúc áo hoa vàng, làm ẩm với khoảng 10 mL dung môi ethanol 70% vừa đủ trong 2-3 giờ, sau đó nạp dược liệu vào bình ngâm kiệt, thêm khoảng 60-70 mL dung môi (đảm bảo dung môi ngập bề mặt dược liệu 3-4 cm), ngâm lạnh 24 giờ. Sau 24 giờ, rút dịch chiết với tốc độ 0.5 mL/phút. Trong quá trình rút, nếu dung môi không còn ngập bề mặt dược liệu thì bổ sung để ngập bề mặt và rút với tốc độ như trên đến khi thêm hết 300 mL lượng dung môi tổng thì dừng lại. Cát thu hồi dung môi dịch chiết loãng trước rồi gộp với dịch chiết ban đầu, cô đến thể cao đặc.

Phương pháp đun hồi lưu: Cân 10 g bột Cúc áo hoa vàng, thêm 100 mL dung môi ethanol 70%, đun ở nhiệt độ 60 °C trong 1.5 giờ, gạn lấy dịch chiết. Quy trình chiết được lặp lại 2 lần nữa, mỗi lần sử dụng 100 mL dung môi. Ép bã, thu dịch ép. Gộp các dịch chiết của 3 lần chiết và dịch ép, lọc, cô quay thu hồi dung môi và tiếp tục cô cách thủy đến thể cao đặc.

Phương pháp siêu âm: Cân 10 g bột Cúc áo hoa vàng, thêm 100 mL dung môi ethanol 70%, siêu âm ở nhiệt độ 60 °C trong 1.5 giờ, gạn lấy dịch chiết. Quy trình chiết được lặp lại 2 lần nữa, mỗi lần sử dụng 100 mL dung môi. Ép bã, thu dịch ép. Gộp các dịch chiết của 3 lần chiết và dịch ép, lọc, cô quay thu hồi dung môi và tiếp tục cô cách thủy đến thể cao đặc.

2.3.2.2. Khảo sát các điều kiện chiết xuất

Phương pháp chiết xuất: cố định phương pháp được lựa chọn ở trên.

Quy trình chiết: Cân 10 g bột Cúc áo hoa vàng, chiết với lượng dung môi ethanol theo tỷ lệ lựa chọn, gạn lấy dịch chiết. Quy trình chiết được lặp lại 2 lần nữa. Ép bã, thu dịch ép. Gộp các dịch chiết của 3 lần chiết và dịch ép, lọc, sau đó cát thu hồi dung môi và cô đến thể cao đặc. Yếu tố cố định: lượng bột dược liệu và phương pháp chiết xuất.

Các thông số khảo sát là các biến độc lập gồm:

- Nồng độ ethanol: 40-90%;
- Nhiệt độ chiết xuất: 40-75 °C;
- Thời gian chiết xuất: 3-9 giờ (3 lần chiết);
- Tỷ lệ dược liệu/dung môi: 1/6-1/14.

Khảo sát nồng độ ethanol: Các yếu tố cố định: nhiệt độ chiết xuất 60 °C, thời gian chiết 90 phút, tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/10. Yếu tố biến thiên khảo sát: nồng độ từ 40-90%, khoảng biến thiên $\Delta C = 10\%$.

Khảo sát nhiệt độ: Các yếu tố cố định: dung môi chiết là ethanol đã lựa chọn phía trên, thời gian

chiết 90 phút, tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/10. Yếu tố biến thiên khảo sát: nhiệt độ chiết từ 40-75 °C, khoảng biến thiên $\Delta t^\circ = 10^\circ \text{C}$.

Khảo sát thời gian: Các yếu tố cố định: dung môi chiết là ethanol và nhiệt độ chiết xuất đã lựa chọn phía trên, tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/10. Yếu tố biến thiên khảo sát: thời gian chiết từ 60-180 phút, khoảng biến thiên $\Delta t = 30$ phút.

Khảo sát tỷ lệ dược liệu/dung môi: Các yếu tố cố định: dung môi chiết là ethanol, nhiệt độ và thời gian chiết xuất đã lựa chọn phía trên. Yếu tố biến thiên khảo sát: tỷ lệ dược liệu/dung môi từ 1/6-1/14.

Hai biến phụ thuộc làm căn cứ để lựa chọn các thông số phù hợp là hàm lượng polyphenol toàn phần (mgGA/g) của cao đặc và hiệu suất chiết.

Dựa vào các phương pháp và điều kiện đã khảo sát, tiến hành chiết xuất với lượng lớn dược liệu (dự kiến cỡ lô 100-500 g).

2.3.3. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cao Cúc áo hoa vàng

Đánh giá chất lượng: cảm quan, mất khối lượng do làm khô, giới hạn nhiễm khuẩn, định tính, định lượng theo qui định của Dược điển Việt Nam V [7].

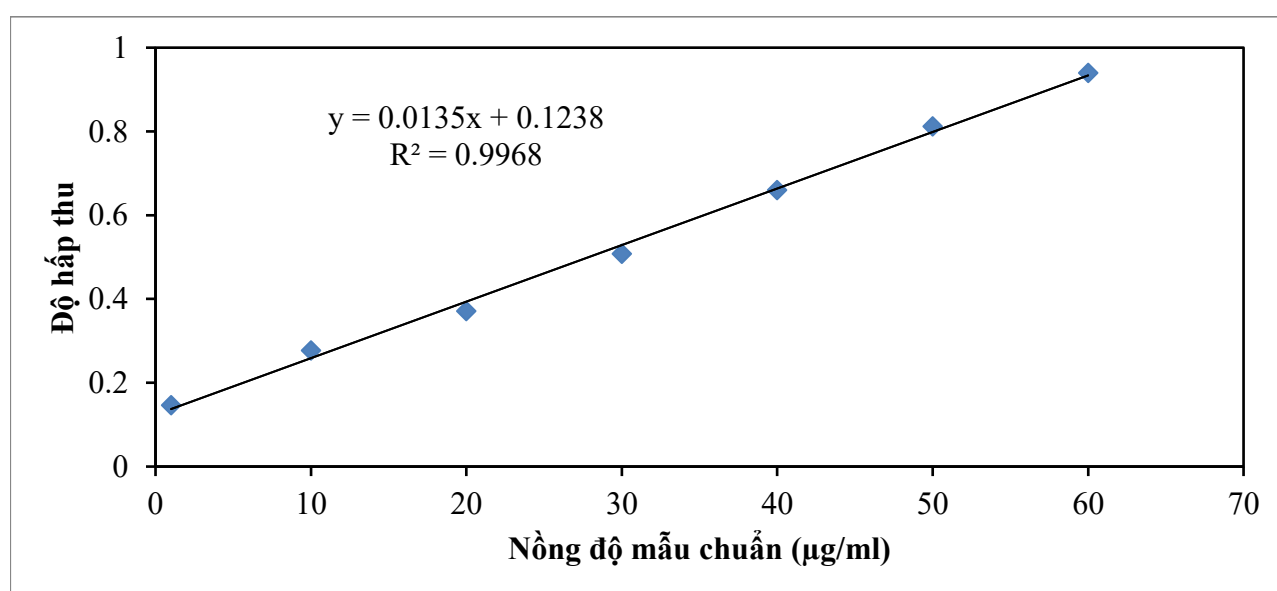
3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Xây dựng phương pháp định lượng polyphenol toàn phần

Đo độ hấp thu của các mẫu chuẩn ở bước sóng 769 nm. Mối tương quan giữa nồng độ và độ hấp thu được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Mối tương quan giữa nồng độ và độ hấp thu

Nồng độ mẫu chuẩn ($\mu\text{g/mL}$)	1	10	20	30	40	50	60
Độ hấp thu (Abs)	0.147	0.277	0.371	0.508	0.660	0.812	0.940



Hình 1. Đồ thị biểu thị sự tương quan giữa nồng độ và độ hấp thu của mẫu chuẩn

Phương trình hồi quy tuyến tính (2) giữa nồng độ và độ hấp thu của các mẫu chuẩn:

$$y = 0.0135x + 0.1238 \tag{2}$$

Nhận xét: Trắc nghiệm F và trắc nghiệm t cho thấy:

$F_{0.05} = 6.608 < F = 1555.76$: Phương trình hồi quy có tính tương thích

$t_{0.05} = 2.57 < t_0 = 39.44$: Hệ số a có ý nghĩa

$t_{0.05} = 2.57 < t = 10.04$: Hệ số b có ý nghĩa

Phương trình hồi quy có dạng: $y = 0.0135x + 0.1238$ với khoảng nồng độ tuyến tính từ 1-60 $\mu\text{g/mL}$ và $R^2 = 0.9968$.

3.2. Kết quả lựa chọn phương pháp chiết xuất

Đánh giá lựa chọn phương pháp chiết xuất theo 3 phương pháp: siêu âm, ngâm kiệt và đun hồi lưu cho kết quả được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả khảo sát phương pháp chiết xuất

	Đun hồi lưu	Siêu âm	Ngâm kiệt
Hàm lượng polyphenol (mgGA/g)	29.68 \pm 1.18	30.01 \pm 0.57	25.36 \pm 0.58
Hiệu suất chiết (%)	15.16 \pm 0.52	14.45 \pm 0.91	11.65 \pm 1.48

Nhận xét: Số liệu cho thấy, phương pháp ngâm kiệt cho hiệu suất chiết (%) và hàm lượng polyphenol (mgGA/g) thấp hơn so với đun hồi lưu và siêu âm nên không được lựa chọn. Hai phương pháp này cho hàm lượng tính theo GA khác nhau không có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, phương pháp đun hồi lưu có hiệu suất chiết cao hơn. Hơn nữa, phương pháp chiết kết hợp siêu âm dễ thực hiện nhưng khó áp dụng ở qui mô lớn do không có thiết bị siêu âm phù hợp. Phương pháp đun hồi lưu có thể phát triển ở qui mô công nghiệp lẫn qui mô phòng thí nghiệm. Vì vậy, nhóm nghiên cứu ưu tiên chọn phương pháp đun hồi lưu.

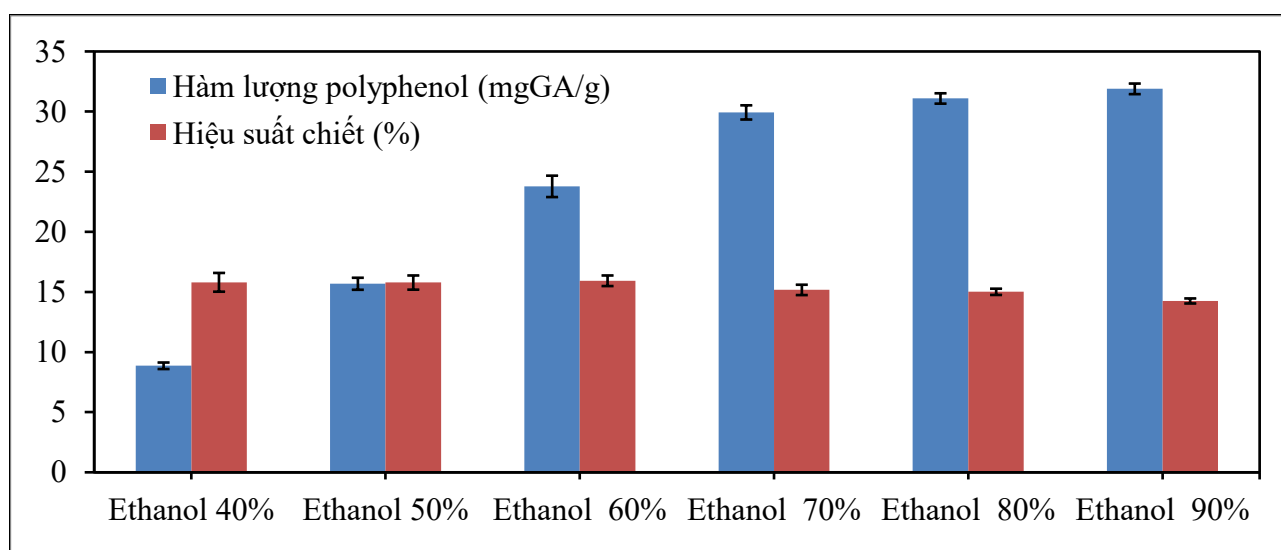
3.3. Kết quả khảo sát các điều kiện chiết xuất

3.3.1. Nồng độ ethanol

Điều kiện chiết ban đầu được cố định ở nhiệt độ 60 $^{\circ}\text{C}$, thời gian 90 phút cho mỗi lần chiết x 3 lần, với tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/10 (g/mL). Nghiên cứu khảo sát nồng độ ethanol khác nhau từ 40-90% và thu được kết quả như trình bày trong Bảng 3 và Hình 2.

Bảng 3. Kết quả khảo sát độ cồn

Nồng độ ethanol (%)	40	50	60	70	80	90
Yếu tố cố định	Phương pháp đun hồi lưu, nhiệt độ chiết xuất 60 $^{\circ}\text{C}$, thời gian chiết 90 phút, tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/10					
Hàm lượng polyphenol (mgGA/g)	8.86 \pm 0.27	15.68 \pm 0.50	23.78 \pm 0.89	29.93 \pm 0.59	31.09 \pm 0.43	31.89 \pm 0.44
Hiệu suất chiết (%)	15.80 \pm 0.78	15.78 \pm 0.59	15.93 \pm 0.44	15.17 \pm 0.43	15.01 \pm 0.26	14.25 \pm 0.21



Hình 2. Kết quả khảo sát độ cồn

Nhận xét: Dựa vào kết quả thống kê trong Bảng 3 và Hình 2, có thể thấy, khi thay đổi nồng độ ethanol sẽ dẫn đến hiệu suất chiết và hàm lượng polyphenol thay đổi. Hàm lượng polyphenol thu được tăng

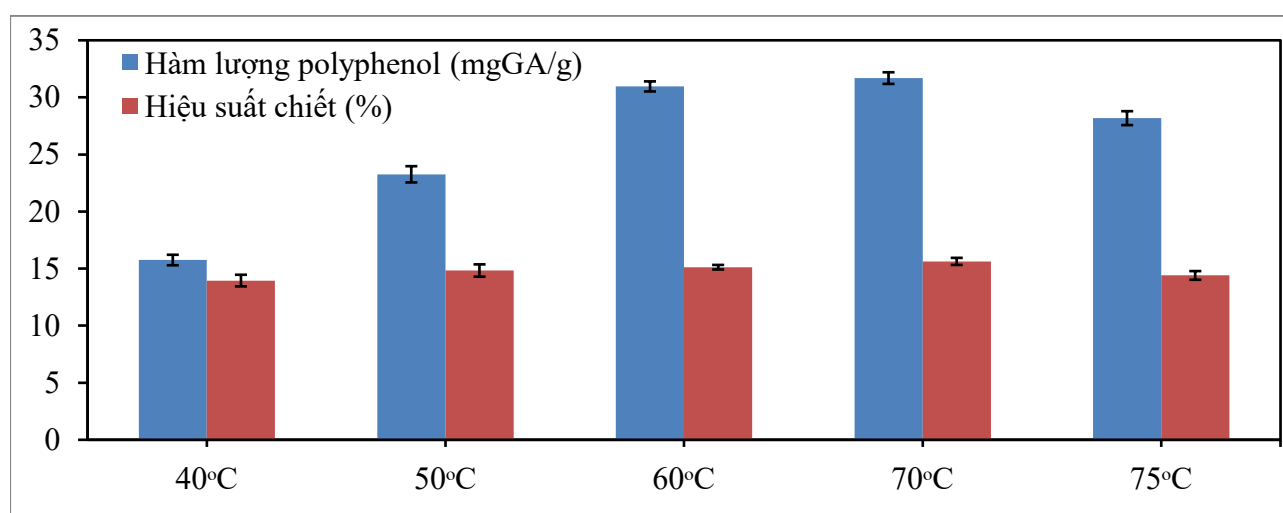
theo chiều tăng của nồng độ ethanol. Trong khoảng nồng độ từ 70-90%, hàm lượng polyphenol có tăng nhưng tăng không đáng kể, trong khi đó hiệu suất chiết lại giảm. Do đó, chọn ethanol 80% là dung môi để khảo sát các điều kiện chiết khác.

3.3.2. Nhiệt độ

Nhiệt độ được khảo sát từ 40-75 °C, kết quả được trình bày trong Bảng 4 và Hình 3.

Bảng 4. Kết quả khảo sát nhiệt độ

Nhiệt độ (°C)	40	50	60	70	75
Yếu tố cố định	Phương pháp đun hồi lưu, dung môi chiết xuất ethanol 80%, thời gian chiết 90 phút, tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/10				
Hàm lượng polyphenol (mgGA/g)	15.75 ± 0.46	23.26 ± 0.71	30.96 ± 0.44	31.69 ± 0.51	28.18 ± 0.61
Hiệu suất chiết (%)	13.95 ± 0.51	14.83 ± 0.54	15.12 ± 0.20	15.63 ± 0.31	14.40 ± 0.38



Hình 3. Kết quả khảo sát nhiệt độ

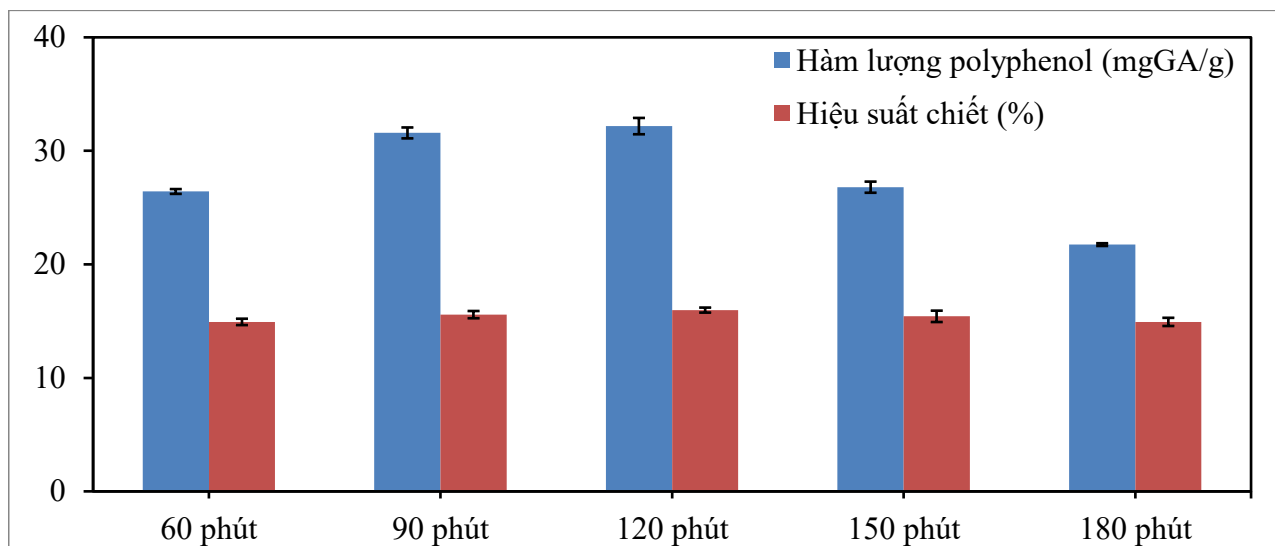
Nhận xét: Dựa vào kết quả thống kê trong Bảng 4 và Hình 3, có thể thấy, khi thay đổi nhiệt độ sẽ dẫn đến hiệu suất chiết và hàm lượng polyphenol thay đổi. Hàm lượng polyphenol tăng khi tăng nhiệt độ từ 40-70 °C. Trong khoảng này, hiệu suất chiết cũng có tăng, nhưng không đáng kể. Ở nhiệt độ 75 °C, các yếu tố cần xét đều giảm. Hơn nữa, không thể tăng nhiệt độ cao hơn vì quá nhiệt độ sôi của ethanol 80%, điều này sẽ làm tăng sự bay hơi của ethanol dẫn đến giảm hiệu quả kinh tế. Do vậy, 70 °C được chọn để khảo sát các yếu tố còn lại.

3.3.3. Khảo sát thời gian

Thời gian chiết được khảo sát từ 60-180 phút/ mỗi lần chiết x 3 lần, kết quả được trình bày ở Bảng 5 và Hình 4.

Bảng 5. Kết quả khảo sát thời gian chiết

Thời gian chiết (phút)	60	90	120	150	180
Yếu tố cố định	Phương pháp đun hồi lưu, dung môi chiết xuất ethanol 80%, nhiệt độ chiết 70 °C, tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/10				
Hàm lượng polyphenol (mgGA/g)	26.42 ± 0.21	31.58 ± 0.48	32.18 ± 0.72	26.80 ± 0.49	21.74 ± 0.12
Hiệu suất chiết (%)	14.93 ± 0.28	15.57 ± 0.32	15.97 ± 0.22	15.42 ± 0.50	14.93 ± 0.36



Hình 4. Kết quả khảo sát thời gian chiết

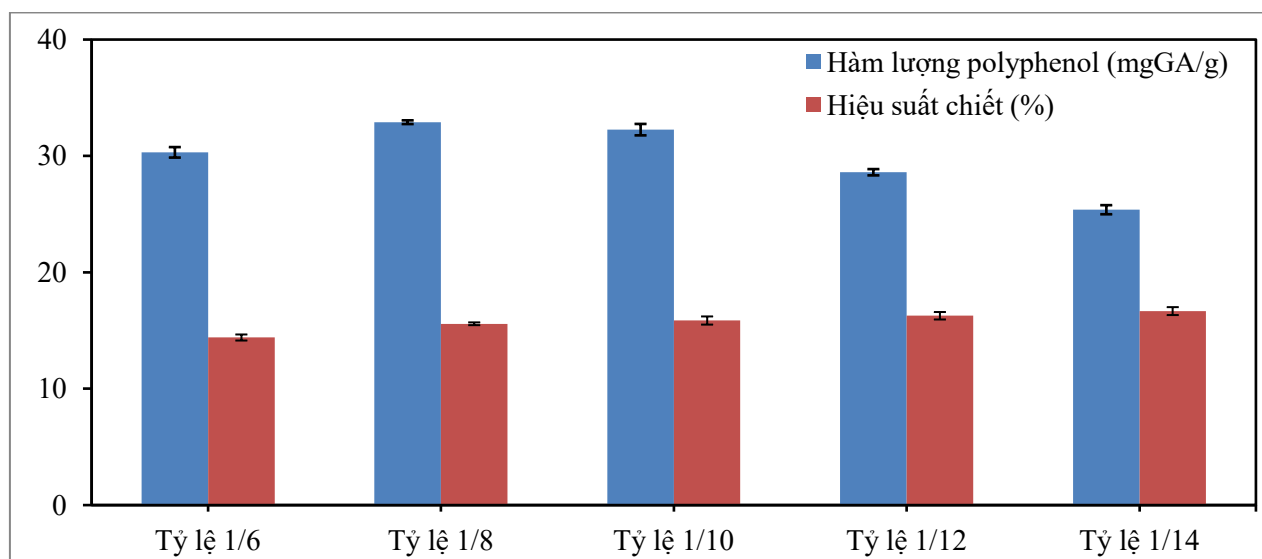
Nhận xét: Dựa vào kết quả thống kê trong Bảng 5 và Hình 4, có thể thấy, khi thay đổi thời gian chiết sẽ dẫn đến hiệu suất chiết và hàm lượng polyphenol thay đổi. Hàm lượng polyphenol và hiệu suất chiết đều cao nhất khi chiết với thời gian 120 phút/lần, trong đó hiệu suất chiết thì tăng không đáng kể. Từ thời gian chiết 150 phút/lần, các thông số khảo sát đều giảm. Do đó, áp dụng thời gian chiết 120 phút cho các khảo sát tiếp theo, với khoảng thời gian này các hoạt chất trong dược liệu hầu như được chiết kiệt.

3.3.4. Khảo sát tỉ lệ dược liệu/dung môi

Tỷ lệ dược liệu/dung môi được khảo sát từ 1/6 - 1/14 (g dược liệu/mL dung môi). Kết quả được trình bày trong Bảng 6 và Hình 5.

Bảng 6. Kết quả khảo sát tỉ lệ dược liệu/dung môi

Tỷ lệ dược liệu/dung môi	Tỷ lệ 1/6	Tỷ lệ 1/8	Tỷ lệ 1/10	Tỷ lệ 1/12	Tỷ lệ 1/14
Yếu tố cố định	Phương pháp đun hồi lưu, dung môi chiết xuất ethanol 80%, nhiệt độ chiết 70 °C, thời gian chiết 120 phút/lần x 3 lần				
Hàm lượng polyphenol (mgGA/g)	30.31 ± 0.45	32.90 ± 0.16	32.26 ± 0.49	28.60 ± 0.27	25.38 ± 0.39
Hiệu suất chiết (%)	14.40 ± 0.26	15.58 ± 0.12	15.86 ± 0.35	16.27 ± 0.32	16.67 ± 0.34



Hình 5. Kết quả khảo sát tỉ lệ dược liệu/dung môi

Nhận xét: Dựa vào kết quả thống kê trong Bảng 6 và Hình 5. có thể thấy, hiệu suất chiết tăng theo tỷ lệ tăng của dung môi. Trong khi đó, hàm lượng polyphenol tăng cao nhất ở tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/8 (g/mL). Từ tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/10-1/14 (g/mL) hàm lượng polyphenol giảm, mặc dù hiệu suất có tăng. Cân nhắc lựa chọn giữa 2 yếu tố và giá trị kinh tế, tỷ lệ dược liệu/dung môi được lựa chọn là 1/8 g/mL.

3.3.5. Quy trình chiết xuất cao Cúc áo hoa vàng

Bột Cúc áo hoa vàng (100 g) cho vào bình cầu, thêm 800 mL dung môi ethanol 80%, đun ở nhiệt độ 70 °C trong 2h, gạn lấy dịch chiết lần 1. Quy trình chiết được lặp lại 2 lần nữa, mỗi lần sử dụng 800 mL dung môi. Ép bã, thu dịch ép. Gom các dịch chiết của 3 lần chiết và dịch ép, để lắng qua đêm rồi lọc loại tạp, thu dịch lọc. Dịch lọc đem cất thu hồi dung môi và cô đến thể cao đặc (độ ẩm < 20%). Hàm lượng polyphenol toàn phần (tính theo GA) trong cao được xác định bằng thuốc thử Folin – Ciocalteu với phương pháp đã được xây dựng.

Bảng 7. Kết quả kiểm chứng 3 lô cao đặc

Lô	Hàm lượng polyphenol toàn phần (mgGA/g)	Khối lượng cao thu được (g)	Độ ẩm (%)	Hiệu suất chiết (%)
1	33.32	15.84	9.28	15.25
2	32.99	16.44	9.92	15.72
3	33.00	17.03	10.83	16.12
TB	33.11 ± 0.19	16.44 ± 0.60	10.01 ± 0.78	15.70 ± 0.44

Việc tăng nồng độ ethanol, nhiệt độ, thời gian chiết và tỷ lệ dung môi/dược liệu làm tăng hiệu suất chiết polyphenol, nhưng đến mức nhất định thì hiệu suất tăng không đáng kể. Do đó, điều kiện chiết cao Cúc áo hoa vàng được lựa chọn là dung môi ethanol 80%, nhiệt độ 70°C, thời gian chiết 120 phút/lần x 3 lần và tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/8 g/mL sẽ cho hiệu suất chiết là 15.70 ± 0.44%. Từ 100g bột Cúc áo hoa vàng (độ ẩm 5.79%) thu được 16.44 ± 0.60 g cao Cúc áo hoa vàng (độ ẩm 10.01 ± 0.78%), chứa hàm lượng polyphenol tổng 33.11 ± 0.19 mg GA/g, tương đương 5.14 ± 0.13 mg GA/g dược liệu khô (Bảng 7). Kết quả này cao hơn so với nghiên cứu của Mallikarjuna Rao T. khi sử dụng phương pháp chiết Soxhlet với dung môi ethanol 70% thu được hàm lượng polyphenol toàn phần là 31.58 ± 0.47 mg GA/g, nhưng thấp hơn khi sử dụng dung môi methanol (38.83 ± 0.68 mg GA/g) [8]. Nghiên cứu ưu tiên lựa chọn dung môi ethanol khi đã cân nhắc về tính an toàn và hiệu quả kinh tế.

3.4. Xây dựng một số chỉ tiêu cao đặc Cúc áo hoa vàng

Kết quả đánh giá chất lượng được trình bày ở Bảng 8.

Bảng 8. Tiêu chuẩn cao đặc Cúc áo hoa vàng

STT	Chỉ tiêu	Yêu cầu	Thực hiện
1	Cảm quan	Thể chất đặc sệt, màu xanh rêu, mùi thơm, vị đắng nhẹ	Quan sát bằng mắt thường
2	Mất khối lượng do làm khô	10.01 ± 0.78	PL 9.6. ĐDVN V
3	Giới hạn nhiễm khuẩn	Đạt	Theo ĐDVN V
4	Định tính	Các phản ứng dương tính	Theo ĐDVN V
5	Định lượng hàm lượng polyphenol toàn phần (theo acid gallic) trong cao	33.11 ± 0.19	Đo UV-Vis, theo TCCS

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, quy trình chiết xuất cao Cúc áo hoa vàng đã được xây dựng với các điều kiện: sử dụng phương pháp đun hồi lưu, dung môi ethanol 80%, nhiệt độ 70 °C, thời gian chiết 120 phút/lần x 3 lần, và tỉ lệ dược liệu/dung môi là 1/8 g/mL. Cao cúc áo hoa vàng được điều chế theo các điều

kiện trên đạt tiêu chuẩn cơ sở gồm các chỉ tiêu như: cảm quan, mất khối lượng do làm khô, giới hạn nhiễm khuẩn, định tính, định lượng. Ở chỉ tiêu định lượng, nghiên cứu đã xây dựng được phương pháp định lượng polyphenol toàn phần tính theo acid gallic sử dụng thuốc thử Folin – Ciocalteu. Qua đó cho thấy, cao đặc thu được có hàm lượng polyphenol toàn phần đạt 33.11 ± 0.19 mgGA/g, hiệu suất chiết đạt $15.70 \pm 0.44\%$, phù hợp với điều kiện sản xuất ở Việt Nam để làm nguyên liệu sản xuất các chế phẩm trị liệu chứa cao Cúc áo hoa vàng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng cấp kinh phí thực hiện dưới mã số đề tài SVTC17.09.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J.Boonen, B.Baert, N.Roche, C.Burvenich, B.De Spiegeleer, “Transdermal behavior of the *N*-alkylamide spilanthol (affinin) from *Spilanthus acmella* (Compositae) extracts”, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 127. No. 1. pp. 77-84. 2010.
- [2] S.S. Nipate* and A.H. Tiwari, “Antioxidant and immunomodulatory properties of *Spilanthus oleraceae* with potential effect in chronic fatigue syndrome infirmity”, *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, Vol. 11. No. 2. pp. 124-130. 2020.
- [3] R.A. Rahim, P.A. Jayusman, N. Muhammad, N. Mohamed, “Potential Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of *Spilanthus acmella* and Its Health Beneficial Effects: A Review”, Vol. 18. No. 7. pp. 3532. 2021. DOI: 10.3390/ijerph18073532
- [4] M. Bellumori, B. Zonfrillo, V. Maggini,..., M. Innocenti, “Acmella oleracea (L.) R.K. Jansen: Alkylamides and phenolic compounds in aerial parts and roots of in vitro seedlings”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 220. 2022. DOI: 10.1016/j.jpba.2022.114991
- [5] N.T.T. Thủy, “Góp phần tìm hiểu thành phần hoá học của cây cúc áo *Spilanthus acmella*. L.Murr họ cúc Asteraceae”, luận văn Thạc sĩ ngành Hóa hữu cơ, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên – ĐHQG Tp Hồ Chí Minh, 1999.
- [6] RM. Lamuela-Raventós, “Folin - Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity”, *Measurement of antioxidant activity & capacity: Recent trends and applications*, R. Apak, E. Capanoglu, F. Shahidipp. John Wiley & Sons Ltd.. 2017. pp. 107-115. DOI:10.1002/9781119135388
- [7] T. tâm D. điển – D. thư V. N. Hội đồng Dược điển Việt Nam, *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, 2017
- [8] T. Mallikarjuna Rao, B. Ganga Rao, Y. Venkateswara Rao, “Antioxidant activity of *Spilanthus acmella* extracts”, *International Journal of Phytopharmacology*, Vol. 3. No. 2. pp. 216-220. 2012.