

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Lương Thị Hải Hòa

**NGHIÊN CỨU TẠO CAO CHIẾT VÀ BỘT HÒA
TAN TỪ CÂY TỔ KÉN LÁ TRÒN (*Helicteres isora*
L.) BẰNG KỸ THUẬT SẤY PHUN**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Thành phố Hồ Chí Minh năm 2025

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Lương Thị Hải Hòa

**NGHIÊN CỨU TẠO CAO CHIẾT VÀ BỘT HÒA TAN TỪ
CÂY TỔ KÉN LÁ TRÒN (*Helicteres isora* L.) BẰNG KỸ
THUẬT SẤY PHUN**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Mã số: 8420114

**NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC :
TS. BÙI ĐÌNH THẠCH**

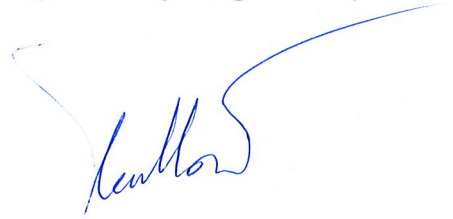
A handwritten signature in blue ink, likely belonging to the supervisor, TS. Bùi Đình Thạch. The signature is stylized and appears to be a combination of initials and a surname.

Thành phố Hồ Chí Minh 2025

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài “ Nghiên cứu tạo cao chiết và bột hòa tan từ cây tổ kén lá tròn (*Helicteres Isora* L.) bằng kỹ thuật sấy phun” là công trình nghiên cứu dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tìm hiểu và nghiên cứu dưới sự hướng dẫn của Tiến Sĩ Bùi Đình Thạch. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

Tác giả luận văn ký và ghi rõ họ tên



Lương Thị Hải Hòa

LỜI CẢM ƠN

Trong suốt quá trình học và thực hiện đề tài cao học, tôi luôn nhận được sự ủng hộ, giúp đỡ và chỉ dẫn tận tụy của quý thầy cô, gia đình và bạn bè.

Tôi xin chân thành cảm ơn Học Viện Khoa Học và Công Nghệ - Viện Hàn Lâm Khoa Học Công Nghệ Việt Nam đã tạo điều kiện tốt cho tôi trong suốt quá trình học.

Tôi xin chân thành cảm ơn Viện Khoa Học Sự Sống – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo môi trường thuận lợi để tôi thực hiện đề tài tốt nghiệp này.

Tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến cán bộ hướng dẫn của mình TS. Bùi Đình Thạch người thầy đã quan tâm, tận tình hướng dẫn, chỉ bảo và truyền đạt những kinh nghiệm quý báu cho tôi trong suốt thời gian nghiên cứu. Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn đến các anh chị cán bộ phòng Các chất có Hoạt tính Sinh học – Viện Khoa Học Sự Sống, cảm ơn ThS. Trần Thị Linh Giang, ThS. Lê Nguyễn Tú Linh, KS. Vũ Quang Đạo, ThS. Trương Trâm Anh cùng với các bạn học viên đã đồng hành, giúp đỡ, tạo điều kiện và chia sẻ các kinh nghiệm trong nghiên cứu để tôi có thể hoàn thành khóa luận này.

Cuối cùng, tôi xin cảm ơn gia đình, bạn bè đã luôn bên cạnh, động viên và tạo điều kiện tốt nhất để tôi có thể hoàn thành tốt đề tài tốt nghiệp này.

Xin chân thành cảm ơn!



Lương Thị Kiều Hà

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN.....	i
LỜI CAM ĐOAN.....	ii
MỤC LỤC.....	iii
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT.....	vi
DANH MỤC BẢNG.....	vii
DANH MỤC HÌNH	viii
MỞ ĐẦU	1
1. Lý do chọn đề tài.....	1
2. Mục đích nghiên cứu	1
3. Nội dung nghiên cứu.....	3
4. Cơ sở khoa học và tính thực tiễn của đề tài	4
5. Những đóng góp của luận văn	4
Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU.....	5
1.1. Tổng quan về dược liệu <i>Helicteres isora</i> L.....	5
1.1.1. Phân loại thực vật.....	5
1.1.2. Đặc điểm thực vật.....	5
1.1.3. Phân bố.....	6
1.1.4. Chu kỳ sinh trưởng và phát triển của <i>Helicteres isora</i> L	7
1.1.5. Bộ phận dùng.....	9
1.1.6. Thành phần hóa học:	10
1.1.7. Tác dụng dược lý.....	13
1.1.8. Công dụng.....	22
1.1.9. Nhu cầu sử dụng cây <i>Helicteres isora</i> L	22
1.2. Một số sản phẩm (cao dược liệu, bột hòa tan) từ dược liệu	23
1.2.1. Cao dược liệu	23
1.2.2. Bột hòa tan	30
1.2.3. Các sản phẩm từ cây <i>Helicteres isora</i> L	35
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	37
2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU.....	37
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu.....	37
2.1.2. Dụng cụ, hóa chất và thiết bị nghiên cứu:	37
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU:	37
2.2.1. Xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm dược liệu	38

2.2.2. Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả li trích thu nhận cao chiết <i>Helicteres isora</i> L	42
2.2.3. Nghiên cứu tạo bột hòa tan bằng kỹ thuật sấy phun	46
2.2.4. Sản xuất bột hòa tan <i>Helicteres isora</i> L.....	49
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	51
3.1. Xây dựng tiêu chuẩn cho chỉ tiêu đặc điểm thực vật học	51
3.1.1. Xây dựng tiêu chuẩn cho chỉ tiêu đặc điểm thực vật học	51
3.1.2. Thử tinh khiết.....	59
3.1.3. Định tính	62
3.1.4. Định lượng chất đối chiếu bằng phương pháp HPLC	63
3.1.5. Thẩm định quy trình định lượng	68
3.1.6. Xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm dược liệu	72
3.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả li trích thu nhận cao chiết <i>Helicteres isora</i> L	74
3.2.1 Phương pháp chiết	74
3.2.2. Nồng độ dung môi	74
3.2.3. Tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi	75
3.2.4. Tiêu chuẩn cơ sở cao chiết.....	79
3.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tạo bột hòa tan bằng phương pháp sấy phun.....	84
3.3.1. Ảnh hưởng của nồng độ dịch cao chiết	84
3.3.2. Ảnh hưởng của nồng độ malto.....	86
3.3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy	88
3.3.4. Ảnh hưởng của lưu lượng.....	91
3.4. Sản xuất bột hòa tan <i>Helicteres isora</i> L.....	93
3.4.1. Quy trình sản xuất bột hòa tan <i>Helicteres isora</i> L	93
3.4.2. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở bột hòa tan <i>Helicteres isora</i> L	95
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	98
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	99

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
AAS	Atomic Absorption Spectrophotometric	Phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử
AOAC	Association of Official Analytical Chemists	Hiệp hội các nhà hoá phân tích chính thống
ALT	Enzyme Alanine transaminase	
AST	Aspartate Transaminase	
BVTV	Bảo vệ thực vật	Bảo vệ thực vật
°Bx	Brix	Độ Brix
CAS	Chemical Abstracts Service	Dịch vụ của hiệp hội hóa chất Mỹ
CCl ₄	Carbon tetrachloride	
COX-2	Cyclooxygenase-2	
ĐĐVN V		Dược điển Việt Nam xuất bản lần thứ 5
DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl	
FRAP	Ferric Reduction Antioxidant Power	Khả năng khử sắt
GSH	Glutathione	
GA3	Gibberellic Acid	
HDL	High Density Lipoprotein Cholesterol	Lipoprotein Cholesterol tỷ trọng cao
HMGR	3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase	
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao
HSPS		Hiệu suất phun sấy
IC	Inhibitory concentration	Nồng độ ức chế
ICH	International Conference on Harmonization	Hội nghị quốc tế về dược phẩm sử dụng cho con người
LDH	Lactate dehydrogenase	
LDL	Low density lipoprotein cholesterol	Lipoprotein cholesterol tỷ trọng thấp
LOD	Limit of detection	Giới hạn phát hiện
LOQ	Limit of quantification	Giới hạn định lượng

MDA	Malondialdehyde	
OD	Optical density	Mật độ quang
RSD	Relative Standard Deviation	Độ lệch chuẩn tương đối
SKLM		Sắc ký lớp mỏng
STZ	Streptozotocin	
SOR	Superoxide	
TBARS	Thiobarbituric acid reactive substances	Chất phản ứng với axit thiobarbituric
TB		Trung bình
TCVN		Tiêu chuẩn Việt Nam
TLC	Thin layer chromatography	Sắc ký lớp mỏng
UHPLC	Ultra High Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu suất cực cao
VLDL	Very low-density-lipoprotein	Lipoprotein tỉ trọng rất thấp
XOD	Xanthine oxidas	
XDR	Extensively drug-resistant	Bệnh kháng thuốc diện rộng
WSI	Water Soluble Index	Chỉ số hòa tan trong nước

DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1. Các hóa chất và nguồn gốc được dùng trong thí nghiệm	37
Bảng 2.2. Lập đồ thị đường chuẩn phenolic tổng số	44
Bảng 2.3. Thông số chỉ số nén CI đặc trưng cho đặc tính trơn chảy	49
Bảng 3.1. Kết quả mất khối lượng do làm khô mẫu nguyên liệu	59
Bảng 3.2. Kết quả tro toàn phần nguyên liệu.....	60
Bảng 3.3. Kết quả tro không tan trong acid	60
Bảng 3.4. Kết quả tạp chất lẫn trong dược liệu.....	61
Bảng 3.5. Chất chiết được trong dược liệu	61
Bảng 3.6. Kết quả phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật.....	62
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của dung môi lên hàm lượng p-coumaric acid	66
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của thời gian ly trích lên hàm lượng p-coumaric acid.....	67
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi hòa tan cần lên hàm lượng p-coumaric acid	67
Bảng 3.10. Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi hòa tan cần.....	68
Bảng 3.11. Khảo sát độ chính xác của phương pháp trên mẫu chuẩn và mẫu thử	70
Bảng 3.12. khảo sát độ đúng của phương pháp	71
Bảng 3.13. Kết quả tiêu chuẩn kiểm nghiệm dược liệu	73
Bảng 3.14. Kết quả khảo sát phương pháp ly trích thu nhận cao chiết <i>Helicteres. isora</i> L	74
Bảng 3.15. Ảnh hưởng nồng độ dung môi ảnh hưởng đến hiệu suất thu nhận hoạt chất	74
Bảng 3.16. Ảnh hưởng lượng dung môi đến hiệu suất thu nhận hoạt chất.....	75
Bảng 3.17. Kết quả mất khối lượng do làm khô cao chiết.....	79
Bảng 3.18. Kết quả tro toàn phần cao chiết	79
Bảng 3.19. Kết quả phân tích giới hạn nhiễm khuẩn	80
Bảng 3.20. Kết quả phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật.....	81
Bảng 3.21. Hàm lượng phenolic tổng số của cao chiết ethanol <i>Helicteres isora</i> L.....	82
Bảng 3.22. Tóm tắt tiêu chuẩn kiểm nghiệm cao chiết.....	83
Bảng 3.23. Ảnh hưởng của nồng độ cao chiết đến chỉ tiêu chất lượng của bột.....	84
Bảng 3.24. Ảnh hưởng của nồng độ malto đến chỉ tiêu chất lượng của bột.....	86
Bảng 3.25. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến chỉ tiêu chất lượng của bột.....	88
Bảng 3.26. Ảnh hưởng của lưu lượng đến chỉ tiêu chất lượng của bột	91

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Phần trên mặt đất của <i>Helicteres isora</i> L.....	5
Hình 1.2. Bộ phận thường dùng.....	9
Hình 1.3. Các loại phenolic acids trong thực phẩm.....	12
Hình 1.4. Sơ đồ các bước tiến hành sản xuất cao khô và bột hòa tan bằng phương pháp sấy phun	35
Hình 1.5. Một số sản phẩm từ <i>Helicters Isora</i> L	36
Hình 3.1. Hình thân, lá, hoa, quả của cây <i>Helicters Isora</i> L.....	51
Hình 3.2. Hình thái thân và lá cây <i>Helicteres isora</i> L	53
Hình 3.3. Vi phẫu thân <i>Helicteres isora</i> L.....	54
Hình 3.4. Đặc điểm chi tiết thân <i>Helicteres isora</i> L	55
Hình 3.5. Vi phẫu lá <i>Helicteres isora</i> L	56
Hình 3.6. Đặc điểm gân giữa và phiến lá <i>Helicteres isora</i> L.....	56
Hình 3.7. Vi phẫu cuống lá <i>Helicteres isora</i> L	57
Hình 3.8. Đặc điểm chi tiết cuống lá <i>Helicteres isora</i> L	57
Hình 3.9. Đặc điểm chi tiết bột dược liệu Mẫu bột dược liệu <i>Helicteres isora</i> L	58
Hình 3.10. Mẫu bột dược liệu <i>Helicteres isora</i> L	59
Hình 3.11. Hình ảnh sắc ký lớp mỏng của dịch ly trích bột dược liệu dưới ánh sáng thường	63
Hình 3.12. Đường chuẩn p-coumaric acid	65
Hình 3.13. Sắc ký đồ mẫu cao chiết <i>Helicteres isora</i> L	65
Hình 3.14. Sắc ký đồ mẫu blank, chuẩn, mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn.....	69
Hình 3.15. Sắc ký đồ 3 lần lặp lại của mẫu chuẩn	70
Hình 3.16. Đồ thị biểu diễn mối quan hệ giữa diện tích peak theo nồng độ chất chuẩn	71
Hình 3.17. Sắc ký đồ mẫu cao <i>Helicteres isora</i> L. và các mẫu thêm 80%, 100%, 120% p-coumaric acid.....	72
Hình 3.18. Quy trình sản xuất cao chiết cây <i>Helicteres isora</i> L.....	77
Hình 3.19. Hình ảnh cao chiết.....	78
Hình 3.20. Hình ảnh bột dược liệu ảnh hưởng của nồng độ dịch cao chiết.....	86
Hình 3.21. Ảnh hưởng của nồng độ malto.....	88
Hình 3.22. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy.....	90
Hình 3.23. Ảnh hưởng của lưu lượng	93
Hình 3.24. Quy trình sản xuất cao dược liệu <i>Helicteres isora</i> L	95

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài

Việt Nam có vị trí địa lý tự nhiên với khí hậu nhiệt đới gió mùa, lượng mưa dồi dào và độ ẩm cao nên hệ sinh thái thực vật của nước ta rất đa dạng, là điều kiện lý tưởng cho nhiều loài cây có giá trị cao sinh trưởng đặc biệt là các loài cây dược liệu. Trong số đó, cây tổ kén lá tròn (*Helicteres isora* L.) là một dược liệu có tiềm năng lớn đã được sử dụng trong y học cổ truyền từ rất lâu để hỗ trợ điều trị các bệnh về tiêu hóa, chống viêm, kháng khuẩn và tăng cường sức khỏe [1].

Những nghiên cứu gần đây đã phát hiện ra trong cây *Helicteres Isora* L chứa nhiều hoạt chất sinh học quý có thể sử dụng để làm dược phẩm và thực phẩm bảo vệ sức khỏe [2].

Tuy nhiên, việc khai thác và sử dụng dược liệu từ cây *Helicteres isora* L. ở nước ta hiện nay chủ yếu dựa trên nguồn nguyên liệu thu hái tự nhiên, chưa có sự kiểm soát chặt chẽ về quy trình trồng trọt, thu hái, chế biến và bảo quản. Điều này ảnh hưởng đến hiệu quả sử dụng và làm giảm giá trị kinh tế của sản phẩm. Bên cạnh đó, dược liệu thô hoặc cao chiết truyền thống thường có thời gian bảo quản ngắn, dễ bị phân hủy hoặc suy giảm hoạt chất làm hạn chế sử dụng và ứng dụng vào công nghiệp dược phẩm. Do đó, việc nghiên cứu phương pháp bảo chế, ứng dụng máy móc hiện đại để tạo ra sản phẩm dược liệu có chất lượng ổn định, dễ bảo quản và sử dụng là một yêu cầu cấp thiết.

Trong bối cảnh ngành dược liệu Việt Nam đang từng bước hiện đại hóa và hội nhập quốc tế, việc chuẩn hóa nguồn nguyên liệu trong nước là yếu tố quan trọng để nâng cao giá trị dược liệu và đảm bảo tính ổn định trong sản xuất. Việc chủ động nguồn dược liệu sạch, đạt chất lượng cao không chỉ giúp giảm sự phụ thuộc vào nguồn nguyên liệu nhập khẩu mà còn mở ra cơ hội để các sản phẩm dược liệu Việt Nam xuất khẩu ra thị trường quốc tế [3].

Một trong những thách thức lớn trong bảo quản và sử dụng dược liệu là sự suy giảm hoạt chất sinh học do ảnh hưởng của điều kiện môi trường như nhiệt độ, độ ẩm và ánh sáng. Khi dược liệu ở dạng thô hoặc cao chiết truyền thống, việc kiểm soát hàm lượng hoạt chất trở nên khó khăn, ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị cũng như khả năng ứng dụng trong công nghiệp dược phẩm. Do đó, cần có một phương pháp hiện đại để duy trì độ ổn định của hoạt chất sinh học, tăng khả năng hòa tan và kéo dài thời gian bảo quản, từ đó nâng cao giá trị sử dụng của dược liệu.

Trong các phương pháp bảo chế dược liệu hiện đại, kỹ thuật sấy phun (spray drying) là một công nghệ tiên tiến, giúp chuyển dịch chiết dược liệu từ dạng lỏng sang dạng bột khô có kích thước hạt nhỏ, độ hòa tan cao và khả năng ổn định tốt. So với

các phương pháp sấy truyền thống như sấy đối lưu hoặc cô đặc chân không, sấy phun có những ưu điểm vượt trội như: Bảo tồn tối đa hoạt chất sinh học: Nhờ thời gian sấy ngắn và nhiệt độ tối ưu, phương pháp này giúp hạn chế sự phân hủy của các hợp chất nhạy cảm với nhiệt như flavonoid, tannin và alkaloid – những hoạt chất quan trọng có trong *Helicteres isora* L.. Cải thiện độ hòa tan và sinh khả dụng: Bột hòa tan thu được có kích thước hạt nhỏ, tăng diện tích tiếp xúc với nước, giúp hoạt chất dễ dàng hấp thu vào cơ thể khi sử dụng. Tăng cường độ ổn định trong bảo quản: Dược liệu ở dạng bột hòa tan có độ ẩm thấp, hạn chế tối đa nguy cơ nhiễm vi sinh vật và phản ứng oxy hóa, kéo dài thời gian sử dụng mà không làm suy giảm chất lượng. Thuận tiện trong vận chuyển và ứng dụng: Dạng bột hòa tan giúp giảm trọng lượng và thể tích sản phẩm, thuận tiện cho việc đóng gói, vận chuyển, đồng thời dễ dàng tích hợp vào các công thức bào chế dược phẩm, thực phẩm bảo vệ sức khỏe. Với những ưu điểm trên, việc ứng dụng kỹ thuật sấy phun để tạo cao chiết và bột hòa tan từ *Helicteres isora* L. không chỉ giúp nâng cao chất lượng dược liệu mà còn tạo ra sản phẩm có giá trị thương mại cao, đáp ứng tiêu chuẩn công nghiệp dược phẩm hiện đại.

Ngoài việc đáp ứng nhu cầu trong nước, ngành dược liệu Việt Nam đang hướng đến mục tiêu phát triển theo định hướng xuất khẩu, đặc biệt là sang các thị trường có tiêu chuẩn khắt khe như châu Âu, Bắc Mỹ, Nhật Bản và Hàn Quốc. Xu hướng tiêu dùng dược liệu tự nhiên ngày càng gia tăng, nhưng để sản phẩm dược liệu Việt Nam có thể thâm nhập vào những thị trường này, cần đảm bảo chất lượng đồng nhất, có kiểm soát chặt chẽ và đáp ứng tiêu chuẩn quốc tế như GMP (Good Manufacturing Practice) hay GACP (Good Agricultural and Collection Practice) [4]

Nghiên cứu phát triển cao chiết và bột hòa tan từ *Helicteres isora* L. bằng kỹ thuật sấy phun không chỉ giúp khai thác hợp lý nguồn dược liệu quý mà còn tạo tiền đề để sản xuất ra các sản phẩm có giá trị gia tăng cao. Khi quy trình sản xuất được chuẩn hóa, sản phẩm đầu ra sẽ có tính đồng nhất, dễ dàng kiểm soát chất lượng, từ đó nâng cao khả năng cạnh tranh trên thị trường quốc tế. Đây là một bước đi quan trọng giúp phát triển ngành dược liệu Việt Nam theo hướng hiện đại, bền vững và hội nhập toàn cầu.

Xuất phát từ thực tế về tiềm năng dược liệu phong phú của Việt Nam, nhu cầu cấp thiết trong việc chuẩn hóa nguồn dược liệu và xu hướng phát triển của ngành dược phẩm hiện đại, tác giả lựa chọn đề tài “**Nghiên cứu tạo cao chiết và bột hòa tan từ cây tổ kén lá tròn (*Helicteres isora* L.) bằng kỹ thuật sấy phun**” làm luận văn thạc sĩ.

2. Mục đích nghiên cứu

Mục tiêu tổng quát: Thiết lập quy trình tạo cao chiết và bột hòa tan từ thân, lá

cây tổ kén lá tròn (*Helicteres isora* L.) thu thập tại Đắk Nông.

Mục tiêu cụ thể:

Xây dựng quy trình chiết xuất bằng phương pháp ngâm lạnh với dung môi ethanol để thu cao chiết có hàm lượng hoạt chất sinh học cao và ổn định.

Xây dựng quy trình sấy phun để chuyển đổi cao chiết thành bột hòa tan, giúp bảo quản tốt hơn và tăng khả năng ứng dụng.

Đánh giá chất lượng bột hòa tan nhằm đảm bảo tính ổn định và khả năng ứng dụng.

3. Nội dung nghiên cứu

Nghiên cứu tập trung vào cây *Helicteres isora* L., một loài dược liệu giàu hoạt chất sinh học, có tác dụng hỗ trợ điều trị tiểu đường, bảo vệ gan, chống oxy hóa, giảm đau và kháng khuẩn. Cây phân bố rộng ở châu Á, đặc biệt có tại Việt Nam. Các bộ phận như rễ, quả, vỏ thân được ứng dụng trong dược phẩm và thực phẩm chức năng. Quy trình sản xuất cao dược liệu và bột hòa tan được thực hiện qua các bước chiết xuất, loại tạp, cô đặc và sấy phun. Cao dược liệu có nhiều dạng (lỏng, đặc, khô), giúp tối ưu hóa hiệu quả sử dụng. Bột hòa tan được tạo bằng công nghệ sấy phun, tăng khả năng bảo quản và ứng dụng trong các sản phẩm tiện lợi.

Chương 2 trình bày về đối tượng và phương pháp nghiên cứu cây *Helicteres isora* L., tập trung vào phần thân và lá thu thập tại Đắk Nông. Các bước nghiên cứu bao gồm khảo sát thành phần hóa học, thiết lập quy trình chiết xuất cao bằng phương pháp ngâm lạnh, và tạo bột hòa tan bằng kỹ thuật sấy phun. Phương pháp nghiên cứu bao gồm tiêu chuẩn kiểm nghiệm dược liệu (hình thái, giải phẫu, thử tinh khiết, định tính, định lượng), khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất chiết xuất và sấy phun (phương pháp chiết, nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, nhiệt độ sấy, lưu lượng dịch chiết). Ngoài ra, nghiên cứu cũng xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho cao chiết và bột hòa tan, đảm bảo các chỉ tiêu về độ ẩm, tro, kim loại nặng, giới hạn nhiễm khuẩn, dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật và hiệu suất thu hồi hoạt chất.

Nghiên cứu xác định đặc điểm hình thái, vi phẫu và bột dược liệu của *Helicteres isora* L., giúp kiểm nghiệm chất lượng nguyên liệu. Các chỉ tiêu thử tinh khiết theo Dược điển Việt Nam V đều đạt yêu cầu. *p-coumaric acid* được xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC) và HPLC với hàm lượng 38,11 µg/g cao.

Phương pháp ngâm kiệt với ethanol 70% và tỉ lệ nguyên liệu/dung môi 1:20 (g/ml) được xác định là tối ưu, giúp thu hồi cao chiết tốt nhất. Quá trình tạo bột hòa tan được tối ưu hóa với nồng độ dịch chiết 10-15°Bx, tỷ lệ maltodextrin 10-15%, nhiệt độ sấy 170°C và lưu lượng dịch chiết 12,5-16,5 ml/phút.

Bột hòa tan đạt tiêu chuẩn về độ ẩm, tro toàn phần, giới hạn nhiễm khuẩn, dư

lượng hóa chất bảo vệ thực vật và hàm lượng phenolic tổng số (262,15 mg/g). Kết quả nghiên cứu thiết lập cơ sở khoa học cho sản xuất sản phẩm từ *Helicteres isora* L.

4. Cơ sở khoa học và tính thực tiễn của đề tài

Nghiên cứu dựa trên cơ sở khoa học về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của *Helicteres isora* L., đặc biệt là *p-coumaric acid* có tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ gan. Việc xác định các chỉ tiêu kiểm nghiệm dược liệu, tối ưu hóa quy trình chiết xuất và tạo bột hòa tan giúp nâng cao hiệu suất thu hồi hoạt chất và đảm bảo chất lượng sản phẩm.

Tính thực tiễn thể hiện ở khả năng ứng dụng kết quả nghiên cứu vào sản xuất chế phẩm từ *Helicteres isora* L., đáp ứng nhu cầu sử dụng dược liệu an toàn, hiệu quả. Quy trình được đề xuất có thể triển khai trong công nghiệp, góp phần phát triển nguồn dược liệu trong nước và giảm phụ thuộc vào nguyên liệu nhập khẩu.

5. Những đóng góp của luận văn

Luận văn đã xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm dược liệu *Helicteres isora* L..., bao gồm xác định đặc điểm hình thái, vi phẫu, thử tinh khiết và định tính thành phần hóa học. Các kết quả này là cơ sở khoa học quan trọng giúp kiểm soát chất lượng nguyên liệu, đảm bảo tính đồng nhất và an toàn khi ứng dụng trong thực tế.

Nghiên cứu đã tối ưu hóa quy trình chiết xuất hoạt chất từ *Helicteres isora* L..., trong đó phương pháp ngâm kiệt được lựa chọn nhờ hiệu suất thu nhận cao hơn. Đồng thời, các yếu tố như nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi cũng được khảo sát nhằm thu được lượng hoạt chất tối ưu, đặc biệt là *p-coumaric acid*, một hợp chất có tiềm năng sinh học cao.

Bên cạnh đó, luận văn đã xây dựng quy trình tạo bột hòa tan bằng phương pháp sấy phun, đảm bảo chất lượng sản phẩm với độ tan tốt, hàm lượng hoạt chất cao và ổn định. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sấy như nồng độ dịch chiết, chất mang, nhiệt độ sấy và lưu lượng dịch đã được phân tích kỹ lưỡng, giúp cải thiện tính khả thi khi ứng dụng vào sản xuất.

Ngoài ý nghĩa khoa học, nghiên cứu này còn có giá trị ứng dụng thực tiễn, góp phần phát triển sản phẩm từ dược liệu *Helicteres isora* L. Kết quả nghiên cứu có thể được sử dụng để sản xuất chế phẩm tiện lợi, đáp ứng nhu cầu sử dụng an toàn và chất lượng trên thị trường, đồng thời khai thác hiệu quả nguồn dược liệu trong nước.

Cuối cùng, luận văn đã cung cấp những dữ liệu khoa học quan trọng về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của *Helicteres isora* L., tạo nền tảng cho các nghiên cứu chuyên sâu hơn. Những kết quả này giúp mở rộng tiềm năng ứng dụng của dược liệu trong lĩnh vực y học và công nghiệp dược phẩm.

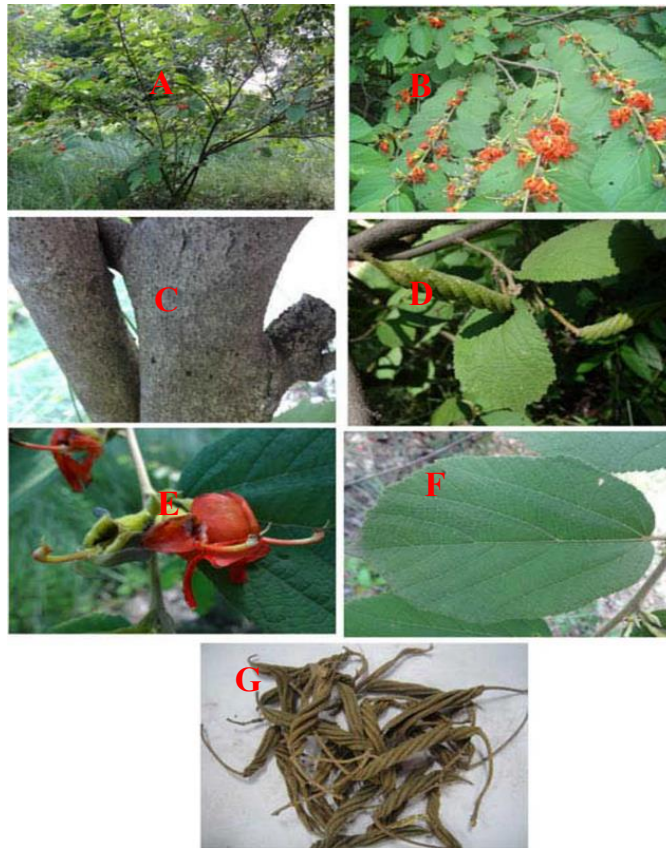
NỘI DUNG

Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Tổng quan về dược liệu *Helicteres isora* L

1.1.1. Phân loại thực vật

Giới	: Plantea
Bộ	: Malvales
Họ	: Malvaceae
Phân họ	: Helicteroideae
Chi	: <i>Helicteres</i>
Loài	: <i>Helicteres isora</i>



Hình 1.1. Phần trên mặt đất của cây *Helicteres isora* L.: A) Toàn cây, B) Cành hoa, C) Thân; D) Quả non, E) Hoa, F) Lá, G) Quả già Kumar và Singh, 2014 [1].

1.1.2. Đặc điểm thực vật

Cây *Helicteres isora* L., còn được biết đến với các tên gọi như An xoa, Tổ kén tròn, Dó trấu, Tổ kén vắn, là một loài cây lâu năm, cây bụi hoặc cây gỗ nhỏ, có chiều cao trung bình từ 1,5 - 3,0 m. Đặc điểm hình thái của loài cây này khá đặc biệt, thể hiện rõ nét qua cấu trúc cành, lá, hoa và quả [5]

Cành non có bề mặt gồ ghề, được bao phủ bởi lớp lông hình sao rải rác, tạo cảm giác thô ráp khi chạm vào. Lá có hình tim hoặc hình trứng, mép lá có răng cưa,

đầu thon nhọn ngắn và thường có phần gốc lá phình to về phía cuống. Lớp biểu bì trên của lá khá ráp, trong khi mặt dưới có lông mềm mịn hơn, giúp hạn chế sự thoát hơi nước và thích nghi với điều kiện môi trường khô hạn.

Hoa có thể mọc đơn lẻ hoặc tạo thành từng chùm thưa, mang màu cam ánh đỏ nổi bật, thu hút côn trùng thụ phấn. Khi hoa già, màu sắc dần chuyển sang xanh nhạt, tạo nên một quá trình biến đổi màu sắc ấn tượng trong suốt vòng đời của cây.

Quả là một trong những đặc điểm dễ nhận diện nhất của *Helicteres isora* L.. Quả có hình trụ dài khoảng 5,0 cm, bề mặt có màu nâu xanh, đầu quả nhọn và đặc biệt có 5 lá noãn xoắn ốc, tạo thành một dạng xoắn đặc trưng, giúp quả dễ phát tán trong tự nhiên. Hạt bên trong có các khía nhỏ, hỗ trợ quá trình nảy mầm khi gặp điều kiện môi trường thích hợp.

Cả quả, hạt, vỏ và rễ của cây đều có thể sử dụng làm dược liệu, nhờ chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học quan trọng. Cây có chu kỳ sinh trưởng rõ ràng, trong đó thời gian ra hoa kéo dài từ tháng 4 đến tháng 12, trong khi thời gian đậu quả diễn ra từ tháng 10 đến tháng 6 năm sau [1]. Ở Việt Nam thời gian ra hoa từ tháng 4 đến tháng 10, có quả từ tháng 6 đến tháng 11 [5]. Việc nắm bắt chính xác chu kỳ sinh trưởng này không chỉ giúp tối ưu hóa quá trình thu hái dược liệu mà còn tạo điều kiện thuận lợi cho việc trồng trọt và nhân giống loài cây có giá trị này trong sản xuất dược phẩm và thực phẩm chức năng.

1.1.3. Phân bố:

Phân bố trên thế giới

Cây *Helicteres isora* L. là một loài thực vật điển hình của vùng nhiệt đới châu Á, với phạm vi phân bố trải rộng trên nhiều quốc gia có khí hậu nóng ẩm. Loài cây này được tìm thấy phổ biến tại Ấn Độ, Myanmar, Lào, Trung Quốc, Campuchia, Thái Lan, Nepal và Bangladesh. Trong hệ sinh thái rừng nhiệt đới, cây thường mọc hoang dại ở các khu rừng thứ sinh, ven rừng hoặc những vùng đất khô cằn có độ cao trung bình từ 500 - 1.500 m so với mực nước biển [6].

Tại Ấn Độ, *Helicteres isora* L. xuất hiện nhiều ở các khu rừng nhiệt đới bán khô hạn và rừng lá rụng, đặc biệt là tại các bang như Maharashtra, Madhya Pradesh, Rajasthan, Tamil Nadu và Karnataka [2]. Đây cũng là một trong những quốc gia có lịch sử lâu đời trong việc sử dụng loài cây này trong y học cổ truyền Ayurveda [1].

Ở Trung Quốc, cây được ghi nhận chủ yếu tại các tỉnh phía Nam như Quảng Tây, Quảng Đông, Vân Nam và Hải Nam, nơi có khí hậu cận nhiệt đới gió mùa, tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của loài [7][8].

Tại khu vực Đông Nam Á, *Helicteres isora* L. phân bố khá phổ biến ở Lào, Campuchia, Thái Lan và Myanmar, thường xuất hiện ở các khu rừng thưa, rừng hỗn giao và vùng đồi núi có thảm thực vật nhiệt đới. Loài cây này thích nghi tốt với các

điều kiện đất nghèo dinh dưỡng, có khả năng chịu hạn và mọc tái sinh mạnh mẽ sau những đợt cháy rừng hoặc canh tác nương rẫy.

Ở Việt Nam, *Helicteres isora* L. cũng được tìm thấy tại nhiều khu vực thuộc vùng đồi núi thấp và trung du, nơi có thảm thực vật rừng thứ sinh và rừng nhiệt đới ẩm. Loài cây này thường mọc rải rác ven rừng, trên đất đá vôi hoặc đất feralit, đặc biệt là ở các vùng có mùa khô kéo dài.

Một số khu vực điển hình có sự xuất hiện của *Helicteres isora* L. bao gồm:

- Miền Bắc: Lai Châu, Điện Biên, Phú Thọ, Hà Tây (nay thuộc Hà Nội), Hòa Bình.
- Bắc Trung Bộ: Nghệ An, Hà Tĩnh, Quảng Trị, Thừa Thiên – Huế.
- Tây Nguyên: Kon Tum, Gia Lai, Đắk Lắk.
- Đông Nam Bộ: Bình Phước và một số khu vực lân cận có hệ sinh thái rừng tương đồng.

Những khu vực này có đặc điểm địa hình đồi núi thấp, đất đai trung bình đến nghèo dinh dưỡng, với mùa khô kéo dài từ 3 – 5 tháng mỗi năm, tạo điều kiện thuận lợi cho *Helicteres isora* L. phát triển. Trong tự nhiên, loài này có thể mọc thành bụi hoặc phân bố rải rác trong các khu rừng thứ sinh [5].

Ngoài ra, do có giá trị dược liệu cao, *Helicteres isora* L. đã được một số địa phương đưa vào danh mục cây thuốc cần bảo tồn và khai thác bền vững, phục vụ cho nghiên cứu và sản xuất dược liệu trong nước.

1.1.4. Chu kỳ sinh trưởng và phát triển của *Helicteres isora* L.

Giai đoạn nảy mầm – Sự khởi đầu của vòng đời

Hạt giống của *Helicteres isora* L. có lớp vỏ ngoài dày và cứng, giúp bảo vệ phôi nhưng đồng thời cũng làm giảm khả năng hút nước, khiến quá trình nảy mầm diễn ra chậm. Trong điều kiện tự nhiên, hạt có thể mất hàng tuần đến hàng tháng để nảy mầm. Tuy nhiên, nếu áp dụng các phương pháp xử lý hạt trước khi gieo, tỷ lệ và tốc độ nảy mầm có thể được cải thiện đáng kể.

Thông thường, hạt sẽ bắt đầu nảy mầm sau khoảng 7-14 ngày khi được gieo trong môi trường có độ ẩm thích hợp. Một số kỹ thuật xử lý hạt có thể giúp thúc đẩy quá trình này, chẳng hạn như ngâm hạt trong nước ấm khoảng 50°C từ 12-24 giờ, giúp làm mềm lớp vỏ ngoài, hoặc mài nhẹ vỏ hạt bằng giấy nhám để tăng khả năng hút nước. Ngoài ra, việc sử dụng chất kích thích sinh trưởng như GA3 (Gibberellic Acid) cũng có thể hỗ trợ kích thích quá trình nảy mầm hiệu quả hơn [9]

Sau khi nảy mầm, cây con cần được chăm sóc trong điều kiện độ ẩm ổn định và ánh sáng nhẹ để phát triển bộ rễ và lá mầm. Nếu thiếu ánh sáng, cây có thể bị kéo dài thân, yếu ớt, dễ đổ gãy, ảnh hưởng đến sự sinh trưởng sau này.

Giai đoạn sinh trưởng

Sau khi nảy mầm thành công, cây bước vào giai đoạn sinh trưởng mạnh, đặc biệt là trong mùa mưa khi độ ẩm và nhiệt độ môi trường thuận lợi. Trong vòng 3-6 tháng đầu, cây có thể đạt độ cao từ 50-100 cm, với bộ rễ phát triển sâu xuống đất để hấp thụ nước và dinh dưỡng. Thân cây trở nên cứng cáp hơn, trong khi lá mở rộng diện tích để tối ưu hóa quá trình quang hợp [10].

Giai đoạn này đóng vai trò quan trọng trong việc hình thành nền tảng cho sự phát triển về sau. Để cây đạt kích thước và sức sống tối ưu, cần cung cấp chế độ dinh dưỡng hợp lý. Việc bón phân hữu cơ hoặc phân vi sinh giúp cải thiện chất lượng đất, trong khi phân đạm (N) giúp cây phát triển tán lá mạnh mẽ. Ngoài ra, lân (P) và kali (K) cũng cần được bổ sung để tăng cường sự phát triển của rễ và giúp cây cứng cáp hơn.

Nước tưới đóng vai trò quan trọng trong giai đoạn này. Mặc dù cây có khả năng chịu hạn khá tốt, nhưng nếu đất quá khô trong thời gian dài, cây có thể chậm phát triển. Vì vậy, cần duy trì độ ẩm vừa phải, đặc biệt là trong những tháng đầu sau khi nảy mầm. Ngoài ra, việc kiểm soát sâu bệnh cũng là yếu tố cần quan tâm, vì đây là giai đoạn cây dễ bị tổn thương do sâu ăn lá và nấm bệnh trên rễ.

Giai đoạn ra hoa và kết quả

Sau khoảng 6-8 tháng, *Helicteres isora* L. bắt đầu ra hoa, đánh dấu sự chuyển đổi từ giai đoạn sinh trưởng sang giai đoạn sinh sản. Hoa thường nở rộ vào mùa hè, từ tháng 5-7, có màu đỏ hoặc cam rực rỡ, thu hút nhiều loài côn trùng như ong và bướm, giúp tăng hiệu suất thụ phấn tự nhiên.

Sự ra hoa phụ thuộc nhiều vào điều kiện thời tiết và chế độ dinh dưỡng. Để kích thích cây ra hoa sớm và đồng loạt, cần giảm lượng phân đạm và tăng cường phân lân (P) và kali (K). Ngoài ra, lượng nước tưới cũng cần được điều chỉnh – nếu tưới quá nhiều trong giai đoạn này, cây có thể bị rụng hoa trước khi kịp đậu quả.

Sau khi thụ phấn thành công, quả bắt đầu hình thành và phát triển. Trong vòng 2-3 tháng, những quả non sẽ dần lớn lên, có dạng thuôn dài, sau đó dần xoắn lại thành hình dạng đặc trưng giống như lò xo.

Giai đoạn chín và thu hoạch

Khi bước vào giai đoạn chín, quả của *Helicteres isora* L. tiếp tục tích lũy dưỡng chất và chuyển từ màu xanh sang nâu đỏ. Quá trình này thường kéo dài từ tháng 9-12, tùy thuộc vào điều kiện khí hậu và đất trồng.

Thời điểm thu hoạch tối ưu là khi quả đã đạt độ xoắn hoàn toàn, vỏ hơi khô nhưng vẫn còn độ dẻo. Nếu thu hoạch quá sớm, quả chưa đạt đủ nồng độ hoạt chất dược liệu; nếu để quá lâu, quả có thể bị nứt hoặc rụng, làm giảm giá trị thương phẩm.

Việc thu hoạch thường được thực hiện bằng phương pháp thủ công, dùng tay hái hoặc kéo cắt để tránh làm tổn thương cây mẹ. Sau khi thu hoạch, quả cần được phơi hoặc sấy khô ngay lập tức để bảo quản được tính, sau đó lưu trữ trong môi trường khô ráo, thoáng mát để tránh ẩm mốc [11].

1.1.5. Bộ phận dùng:



Hình 1.2 Bộ phận thường dùng: (a) Lá khô, (b) Quả tươi, (c) Quả và hạt *Helicteres isora* L (Renu , 2015)[12]

1. Rễ: Rễ của *Helicteres isora* L. chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học mạnh như cucurbitacin B, isocucurbitacin B, flavonoid, saponin và alkaloid. Những thành phần này có tác dụng kháng viêm, giảm đau, bảo vệ gan và chống oxy hóa. Trong y học dân gian, rễ cây thường được sử dụng để điều trị bệnh gan, tiểu đường, đau khớp và viêm nhiễm. Một số nghiên cứu cũng chỉ ra rằng chiết xuất từ rễ cây có khả năng ức chế tế bào ung thư, mở ra tiềm năng ứng dụng trong điều trị ung thư [13].

2. Quả: Quả của *Helicteres isora* L. là bộ phận dễ nhận diện nhất nhờ hình dạng xoắn ốc đặc trưng. Đây cũng là bộ phận chứa nhiều hợp chất quan trọng như flavonoid, tannin, phenolic acid và saponin. Nhờ đó, quả cây có tác dụng kháng khuẩn, chống tiêu chảy, giảm đau, bảo vệ dạ dày và điều hòa đường huyết. Trong y học cổ truyền, quả thường được sử dụng để chữa rối loạn tiêu hóa, tiêu chảy, táo bón, viêm loét dạ dày và làm thuốc bổ dưỡng cho trẻ nhỏ [2]. Ngoài ra, chiết xuất từ quả cũng cho thấy tiềm năng chống oxy hóa mạnh, giúp bảo vệ tế bào khỏi tác hại của các gốc tự do [1].

3. Vỏ thân: Vỏ thân của *Helicteres isora* L. là một trong những bộ phận giàu saponin, tannin, flavonoid và phytosterol, giúp cây có tác dụng kháng viêm, bảo vệ gan, hạ lipid máu và cải thiện chức năng tim mạch. Theo Ayurveda, vỏ thân thường được sử dụng để chữa các bệnh về gan, huyết áp cao, viêm loét đường tiêu hóa và rối loạn chuyển hóa lipid. Một số nghiên cứu cũng chỉ ra rằng chiết xuất vỏ thân có khả năng ức chế vi khuẩn kháng kháng sinh, mở ra hướng đi mới trong điều trị nhiễm khuẩn do vi khuẩn đa kháng thuốc [14].

4. Vỏ rễ: Vỏ rễ là bộ phận giàu alkaloid, tannin, polyphenol và triterpenoid, có tác dụng giải độc, chống oxy hóa, giảm đau và bảo vệ thần kinh. Trong y học cổ truyền, vỏ rễ thường được dùng để điều trị các bệnh liên quan đến hệ thần kinh, hỗ trợ giấc ngủ, giảm căng thẳng và tăng cường chức năng não bộ. Ngoài ra, chiết xuất từ vỏ rễ cũng được nghiên cứu về khả năng hỗ trợ điều trị tiểu đường và giảm viêm trong các bệnh mãn tính.

5. Lá: chiết xuất bột lá cây trong methanol và nước có sự hiện diện của một số hợp chất có hoạt tính sinh học mạnh như hợp chất phenolic, flavonoid, saponin, glycoside và tannin [15]; saponin trong lá cây có đặc tính kháng sinh giúp cơ thể chống lại nhiễm trùng, kháng khuẩn và nấm [16], [17].

Như vậy, với sự đa dạng về hoạt chất sinh học và công dụng dược lý, các bộ phận của cây *Helicteres isora* L. không chỉ là nguồn dược liệu quý trong y học cổ truyền mà còn có tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong dược phẩm hiện đại. Việc khai thác và phát triển các chế phẩm từ loài cây này có thể mở ra những hướng đi mới trong điều trị bệnh và bảo vệ sức khỏe con người.

1.1.6. Thành phần hóa học:

1. Thành phần hóa học trong dịch chiết xuất thô và chiết xuất chloroform

Sàng lọc sơ bộ các hoạt chất từ dịch chiết xuất thô và chiết xuất chloroform của toàn cây *Helicteres isora* L. đã xác định sự hiện diện của nhiều nhóm hợp chất quan trọng, bao gồm cacbohydrat, saponin, tanin, protein, steroid, glycoside anthraquinone, cardiac glycoside, phenolic, terpenoid, muối alkaloid và alcaloid tự do [18]. Những hợp chất này có vai trò quan trọng trong các hoạt động dược lý như kháng viêm, chống oxy hóa, kháng khuẩn, bảo vệ tim mạch và hỗ trợ tiêu hóa.

Ngoài ra, phương pháp ly trích siêu tới hạn (áp suất 10 bar, nhiệt độ 160°C, tỷ lệ mẫu: dung môi = 1:30, thời gian 30 phút) đã giúp phát hiện các hợp chất octadecnoic acid, hexadecanoic acid và berberin, trong đó berberin là một alcaloid có hoạt tính mạnh trong việc hạ đường huyết, bảo vệ thần kinh và kháng khuẩn [19].

Bên cạnh đó, dịch ly trích từ cây *Helicteres isora* L. cũng chứa hai thành phần gây độc tế bào là Cucurbitacin B và Isocucurbitacin B – những hợp chất có tiềm năng trong điều trị ung thư nhờ khả năng ức chế sự tăng sinh của tế bào ung thư [20].

2. Thành phần hóa học trong trái cây *Helicteres isora* L.

Phân tích thành phần hoạt chất từ trái cây cho thấy sự hiện diện của nhiều nhóm chất quan trọng như alcaloid, tanin, saponin, flavonoid, glycosid, cardiac glycoside và anthraquinon [21]. Những hợp chất này có tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ gan, kháng khuẩn và hỗ trợ tiêu hóa.

Đặc biệt, trái cây *Helicteres isora* L. chứa polyphenol, ascorbic acid (vitamin C), carotenoid và phot pho ở dạng dinh dưỡng cao, góp phần làm tăng khả năng chống oxy hóa và bảo vệ hệ thần kinh [22].

Các phân tích quang phổ từ dịch ly trích đã xác định sự hiện diện của bốn hợp chất rosmarinic acid (1), 4,4'-O-di- β -D-glucopyranosyl rosmarinic acid (2), 4'-O- β -D-glucopyranosyl rosmarinic acid (3) và 4'-O- β -D-glucopyranosyl isorinic acid (4) [23]. Đây là những hợp chất có hoạt tính kháng viêm, chống oxy hóa và bảo vệ tim mạch, giúp tăng cường sức khỏe tổng thể.

Ngoài ra, trái cây *Helicteres isora* L. cũng chứa 2-ethoxyphenethylamine, 2-hydroxy-5-methylbenzaldehyde, 4-dihydroxy methyl este và benenepropanic acid, những hợp chất có thể có tác dụng điều hòa thần kinh, chống viêm và chống lão hóa [24].

Phân tích quang phổ và thủy phân tiếp tục xác định được năm hợp chất flavonoid glucuronide, chủ yếu là isoscutellarein 4'-methyl ete 8-O-beta-D-glucuronide 2",4"-disulfate, isoscutellarein 4'-methyl ete 8-O-beta-D-glucuronid 6"-n-butyl ester, và isoscutellarein 8-O-beta-D-glucuronide 2",4"-disulfate [25]. Những hợp chất này có khả năng chống oxy hóa, bảo vệ gan và hỗ trợ điều trị bệnh lý liên quan đến stress oxy hóa.

Một nghiên cứu ứng dụng Docking trên phần mềm Autodock 4 đã xác định bốn hợp chất tiềm năng từ dịch ly trích trái cây, trong đó ba hợp chất (HS-1, HS-2 và HS-4) có tác dụng chống bệnh tiểu đường type 2 bằng cách kích hoạt hệ thống AMP kinase, một con đường quan trọng trong quá trình chuyển hóa năng lượng [26].

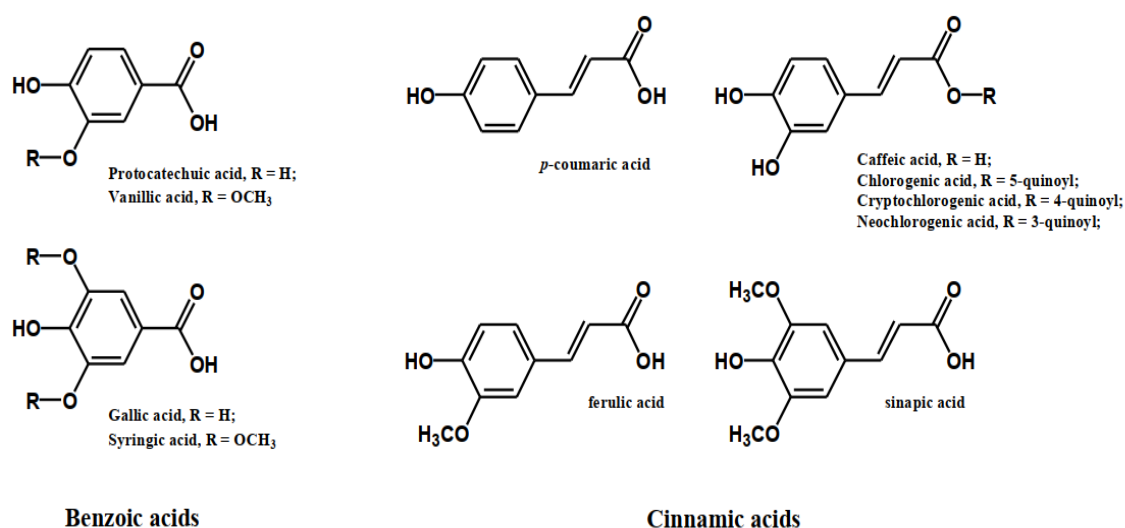
3. Thành phần hóa học trong lá cây *Helicteres isora* L:

Có sự hiện diện của một số hợp chất chống oxy hóa như axit ascorbic, flavonoid, phenolic (cucurbitacin B và isocucurbitacin B) [27], hợp chất polyphenol : Gallic acid, Caffeic acid, vanillin, p-Coumaric acid [28], có tiềm năng kháng khuẩn, chống khối u, làm se, tiêu diệt gốc tự do trong phản ứng viêm nên có thể sử dụng bột lá để đắp ngoài chữa các bệnh ghẻ, nhiễm trùng da và rần cấn [29].

Thành phần hóa học của p coumaric acid:

P-coumaric acid (p-CA) là một phenolic đóng vai trò là chất chuyển hóa thứ cấp trong thực vật và có trong nấm, ngũ cốc (gạo, ngô, yến mạch và lúa mì), trái cây (táo, ô liu và nho) và rau (cà rốt, đậu, khoai tây, cà chua và hành tây). Các nghiên cứu

in vitro và *in vivo* đã chứng minh rằng p-CA có nhiều hoạt tính sinh học, chẳng hạn như chất chống oxy hóa, chống viêm, chống kết tập tiểu cầu, giảm đau, chống ung thư và đặc tính bảo vệ thần kinh, bảo vệ gan chống lại các tổn thương gan do alcohol gây ra [30]. Ngoài ra, các nghiên cứu gần đây đã báo cáo tác dụng bảo vệ của p-CA chống lại stress oxy hóa và peroxid hóa lipid. Ngoài ra, p-CA được chứng minh có khả năng bảo vệ gan chống lại các hóa chất độc hại khác nhau, như acetaminophen, ethanol, và fipronil [31], [32]. Các báo cáo khác cho thấy p-CA có thể bảo vệ gan chống lại nhiễm độc gan do cisplatin gây ra, thông qua việc tăng mức độ chất chống oxy hóa như SOD (*Superoxide Dismutase*) và GSH [33]. Phát hiện này cho thấy rằng tiền xử lý bằng p-CA đã tăng cường khả năng loại bỏ gốc tự do của gan bằng cách tăng chất chống oxy hóa ở gan (SOD, CAT và GSH). Kết quả này cũng mở ra một gợi ý tiền xử lý bằng p-CA có thể giúp ích cho những bệnh nhân mắc bệnh gan giai đoạn cuối có thể ghép gan [34]. Nghiên cứu của Hanvit và cs (2018) cũng chứng minh p-CA cải thiện tình trạng nhiễm độc gan do acetaminophen gây ra cũng như giảm hoạt động của ALT và AST trong huyết thanh. Hơn nữa, trong nghiên cứu này quan sát thấy rằng p-CA đã ngăn chặn quá trình apoptosis ở gan thông qua phản ứng phá hủy DNA qua trung gian ROS (*Reactive Oxygen Species*) và tình trạng viêm bằng cách điều chỉnh trực tiếp hiệu protein kinase được kích hoạt bằng mitogen (MAPK) theo cách phụ thuộc vào ROS. p-CA cũng đã được báo cáo có khả năng bảo vệ gan trên mô hình chuột gây tổn thương gan bằng adriamycin [35].



Hình 1.3 Các loại phenolic acids trong thực phẩm: Benzoic acids; Cinnamic acids
(Rong Tsao , 2010)[36]

4. Thành phần hóa học trong vỏ cây, rễ và phương pháp nuôi cấy *in vitro*

Vỏ cây *Helicteres isora* L. là nguồn giàu tannin, flavonoid, α -tocopherol (vitamin E) và glutathione khử, giúp bảo vệ tế bào khỏi tác hại của gốc tự do và cải thiện sức khỏe tim mạch. Ngoài ra, vỏ cây cũng chứa tổng số carbohydrate, canxi và sắt, cho thấy tiềm năng ứng dụng trong bổ sung vi chất dinh dưỡng [37].

Sàng lọc các hoạt chất từ rễ cây cho thấy sự hiện diện của cacbohydrat, ancaloit, protein, axit amin, cardiac glycosid, terpenoid, flavonoid, steroid, saponin và tannin. Phân tích dược lý cho thấy thành phần của rễ gồm độ ẩm (0,18%), tro không tan trong acid (1%), tổng số tro (4%) và tro không tan trong nước (1,5%), cung cấp thông tin quan trọng về giá trị dinh dưỡng và dược tính của rễ [38].

Nghiên cứu nuôi cấy *in vitro* từ hạt trưởng thành trên môi trường MS+13,32 μ M BAP+2,32 μ M Kin kết hợp với chủng vi khuẩn *Agrobacterium rhizogenes* ATCC-15834 đã kích thích sự hình thành rễ tơ, trong đó chứa hoạt chất diosgenin, một sapogenin steroid có hoạt tính sinh học mạnh, được xác nhận bằng kỹ thuật PCR [39]. Một nghiên cứu khác cũng chỉ ra rằng nuôi cấy tế bào *in vitro* là phương pháp tiềm năng để sản xuất diosgenin, giúp tạo nguồn cung ứng hợp chất này một cách bền vững [40].

Bên cạnh đó, việc nuôi cấy tế bào huyền phù kết hợp với xử lý sinh học bằng vi khuẩn *E. coli* đã làm tăng hàm lượng diosgenin. Hiệu quả này được ghi nhận là do sự kích thích biểu hiện của các gen *cycloartenol synthase (CAS)* và *3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMGR)*, những enzyme quan trọng trong con đường sinh tổng hợp diosgenin [41].

Ba hợp chất (4'-O- β -D-glucopyranosyl rosmarinic acid, 4,4'-O-di- β -D-glucopyranosyl rosmarinic acid và 2R-O-(4'-O- β -D-glucopyranosyl caffeoyl)-3-(4-hydroxyphenyl) lactic acid) của *Helicteres isora* L. đã được xác định, những hợp chất này tiềm năng ứng dụng trong dược phẩm và y học hiện đại [42]. Những phát hiện này không chỉ củng cố giá trị dược liệu của *Helicteres isora* L. mà còn mở ra cơ hội khai thác, ứng dụng loài cây này trong công nghệ sinh học và sản xuất dược phẩm.

1.1.7. Tác dụng dược lý

- **Kháng bệnh tiểu đường:**

Dịch ly trích butanol từ rễ cây *Helicteres isora* L. đã chứng minh hoạt tính chống tăng đường huyết đáng kể khi được thử nghiệm trên mô hình chuột mắc bệnh tiểu đường thực nghiệm. Ở liều 250 mg/kg, dịch ly trích này có thể làm giảm đáng kể mức đường huyết sau khi uống glucose, với hiệu quả tương đương glibenclamide, một trong những thuốc điều trị đái tháo đường nhóm sulfonylurea phổ biến nhất hiện nay [43].

Bên cạnh khả năng kiểm soát đường huyết, dịch ly trích butanol từ rễ còn hỗ trợ phục hồi tổn thương cơ quan nội tạng liên quan đến tiểu đường. Khi sử dụng liên tục trong 10 ngày, dịch chiết này giúp phục hồi những tổn thương thoái hóa tại cầu thận, tế bào tiểu đảo tụy và gan, đưa các cấu trúc này trở về kích thước bình thường ở chuột mắc bệnh tiểu đường do alloxan gây ra [44]. Điều này chứng minh rằng các hợp chất trong rễ cây không chỉ giúp kiểm soát đường huyết mà còn có tác dụng bảo vệ tế bào tụy, hạn chế tổn thương do stress oxy hóa và viêm, từ đó giúp ngăn ngừa sự suy giảm chức năng tiết insulin.

Không chỉ có rễ, vỏ cây *Helicteres isora* L. cũng thể hiện tác dụng hạ đường huyết mạnh. Khi thử nghiệm trên chuột mắc bệnh tiểu đường do streptozotocin (STZ) gây ra, dịch ly trích nước từ vỏ cây đã giúp ổn định mức đường huyết sau 21 ngày sử dụng, đưa nó về mức bình thường [45]. Điều này cho thấy cây *Helicteres isora* L. có thể hỗ trợ kiểm soát bệnh tiểu đường trong dài hạn, giúp duy trì nồng độ glucose huyết tương ở mức an toàn. Ngoài ra, dịch ly trích từ vỏ cây cũng có tác dụng bảo vệ gan, cơ quan đóng vai trò quan trọng trong chuyển hóa đường và lipid. Khi dùng đường uống, dịch ly trích này đã giúp tăng cường hoạt tính enzyme hexokinase trong gan, đồng thời làm giảm đáng kể nồng độ các enzyme tổn thương gan như acid phosphatase huyết thanh (ACP), glucose-6-phosphatase, lactate dehydrogenase (LDH) và alkaline phosphatase (ALP). Điều này chứng minh rằng vỏ cây *Helicteres isora* L. có tác dụng bảo vệ tế bào gan khỏi tổn thương do bệnh tiểu đường, giúp ổn định chức năng chuyển hóa của gan [46].

Bệnh tiểu đường thường đi kèm với rối loạn lipid máu, làm tăng nguy cơ mắc bệnh tim mạch. Trong nghiên cứu trên chuột đái tháo đường do STZ gây ra, dịch ly trích từ vỏ cây *Helicteres isora* L. (liều 200 mg/kg thể trọng, trong 21 ngày) đã giúp giảm đáng kể nồng độ cholesterol, triglyceride, axit béo tự do và phospholipid trong huyết tương. Đáng chú ý, mức lipoprotein tỷ trọng cao (HDL) – một yếu tố bảo vệ tim mạch, đã tăng lên đáng kể, trong khi lipoprotein tỷ trọng thấp (LDL) và lipoprotein tỷ trọng rất thấp (VLDL) – các yếu tố nguy cơ gây xơ vữa động mạch, lại giảm xuống [47]. Điều này chứng tỏ cây *Helicteres isora* L. không chỉ giúp kiểm soát đường huyết mà còn cải thiện rối loạn lipid máu, giảm nguy cơ xơ vữa động mạch và biến chứng tim mạch do tiểu đường, mang lại lợi ích toàn diện cho sức khỏe bệnh nhân.

Sự rối loạn của các enzyme chuyển hóa năng lượng là một trong những đặc điểm chính của bệnh tiểu đường. Khi sử dụng dịch ly trích nước từ vỏ cây trong 30 ngày, các chỉ số sinh hóa trong cơ thể chuột thí nghiệm thay đổi rõ rệt: Tăng đáng kể: Glucose huyết tương, hydroperoxide, TBARS (chỉ số oxy hóa lipid), glycosyl hóa hemoglobin và vitamin E. Giảm đáng kể: Hemoglobin tổng, insulin, chất chống oxy

hóa nội sinh, tổng ATPase liên kết màng, Na^+/K^+ -ATPase, Ca^{2+} -ATPase và Mg^{2+} -ATPase [48]. Ngoài ra, dịch ly trích từ vỏ cây còn tác động lên thành phần axit béo trong cơ thể, với: Tăng: Palmitic acid, stearic acid và oleic acid trong gan, thận và não. Giảm: Linolenic acid và arachidonic acid – những axit béo không bão hòa quan trọng trong chức năng sinh lý của cơ thể [49]. Những phát hiện này cho thấy *Helicteres isora* L. có khả năng điều hòa chuyển hóa lipid, bảo vệ hệ thần kinh trung ương và ngăn ngừa tổn thương oxy hóa trong bệnh tiểu đường.

Một nghiên cứu khác đã phát hiện rằng dịch ly trích nước nóng từ trái cây *Helicteres isora* L. có thể tăng cường và điều hòa hấp thu glucose trong tế bào cơ xương chuột (tế bào L-6). Hiệu quả này có thể so sánh với insulin và metformin, hai loại thuốc điều trị tiểu đường phổ biến [50]. Ngoài ra, dịch ly trích ethanol và bột thô từ trái cây cũng có tác dụng phục hồi mức lipid bình thường ở chuột mắc bệnh tiểu đường do STZ gây ra, với hiệu quả tương tự như thuốc glibenclamide [51].

- **Hoạt tính kháng oxy hóa**

Nhiều nghiên cứu đã xác định hoạt tính chống oxy hóa của *Helicteres isora* L., khẳng định vai trò quan trọng của loài cây này trong việc bảo vệ cơ thể khỏi tổn thương do stress oxy hóa. Các hợp chất có trong cây có khả năng ức chế các gốc tự do, bao gồm 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), hydroxyl ($\text{OH}^\bullet$) và superoxide (SOR). Đây là những gốc tự do nguy hiểm có thể gây ra tổn thương tế bào, làm suy giảm chức năng sinh lý và thúc đẩy quá trình lão hóa cũng như bệnh lý mãn tính [52].

Các hợp chất có trong *Helicteres isora* L. hoạt động như những chất chống oxy hóa mạnh nhờ vào khả năng cho điện tử hoặc nguyên tử hydro để vô hiệu hóa gốc tự do, ngăn chặn quá trình oxy hóa lipid và bảo vệ tế bào khỏi tổn thương do peroxy hóa lipid. Sự hiện diện của flavonoid, tannin, phenolic acid và saponin trong cây đóng vai trò quan trọng trong quá trình này.

Một trong những hợp chất quan trọng được phân lập từ trái cây của *Helicteres isora* L. là 4,4'-O-di- β -D-glucopyranosyl rosmarinic acid. Hợp chất này đã được chứng minh có hoạt tính ức chế gốc superoxide, đặc biệt là các anion superoxide được tạo ra bởi enzyme xanthine và xanthine oxidase (XOD) [53].

Enzyme XOD có vai trò trong chuyển hóa purine và sản sinh ra superoxide, nhưng khi bị kích thích quá mức, nó có thể gây ra stress oxy hóa nghiêm trọng, dẫn đến viêm nhiễm và tổn thương mô. Do đó, khả năng ức chế superoxide từ hợp chất trong *Helicteres isora* L. mang lại tiềm năng lớn trong việc bảo vệ tế bào khỏi quá trình viêm mãn tính, tổn thương thần kinh và thoái hóa tế bào gan.

Các hợp chất phenolic chiết xuất từ quả của cây *Helicteres isora* L. đã cho thấy hoạt tính ức chế gốc hydroxyl ($\text{OH}\cdot$) tùy thuộc vào liều lượng, đồng thời thể hiện khả năng ức chế quá trình peroxy hóa lipid và ức chế gốc DPPH hiệu quả [54].

Gốc hydroxyl ($\text{OH}\cdot$) là một trong những gốc oxy hóa mạnh, có thể gây tổn thương nghiêm trọng đến màng tế bào, DNA và protein. Do đó, khả năng ức chế sự hình thành gốc OH của các hợp chất phenolic trong *Helicteres isora* L. có thể giúp ngăn ngừa nhiều bệnh lý mãn tính liên quan đến stress oxy hóa như bệnh tim mạch, thoái hóa thần kinh (Alzheimer, Parkinson) và lão hóa tế bào.

Chiết xuất ethanol từ trái cây *Helicteres isora* L. không chỉ có khả năng ức chế gốc DPPH, mà còn thể hiện khả năng chống oxy hóa khử Ferric (FRAP), một trong những phương pháp đánh giá khả năng chống oxy hóa mạnh của hợp chất. Đáng chú ý, hiệu quả này có thể so sánh với Trolox, một chất chống oxy hóa mạnh thường được sử dụng làm chất chuẩn trong các thí nghiệm chống oxy hóa [42]. Điều này mở ra tiềm năng ứng dụng chiết xuất từ trái cây *Helicteres isora* L. vào các sản phẩm chăm sóc sức khỏe, mỹ phẩm và thực phẩm chức năng, nhằm ngăn ngừa quá trình lão hóa da và bảo vệ cơ thể khỏi tác hại của ô nhiễm môi trường.

Không chỉ có trái cây, chiết xuất ethanol từ lá cây *Helicteres isora* L. cũng thể hiện hoạt tính chống oxy hóa cao, đặc biệt là trong việc ức chế gốc DPPH và nitric oxide ($\text{NO}\cdot$). Ngoài ra, chiết xuất này cũng có khả năng giảm hoạt tính oxy hóa, góp phần bảo vệ tế bào khỏi tổn thương do stress oxy hóa gây ra [55].

Gốc nitric oxide ($\text{NO}\cdot$) có vai trò kép trong sinh lý cơ thể: ở mức độ cân bằng, $\text{NO}\cdot$ giúp điều hòa huyết áp và bảo vệ thần kinh, nhưng khi tăng quá mức, nó có thể gây ra viêm nhiễm và tổn thương mô thần kinh, góp phần vào các bệnh lý như Alzheimer, Parkinson và xơ vữa động mạch. Do đó, việc sử dụng *Helicteres isora* L. để điều hòa mức $\text{NO}\cdot$ có thể mang lại lợi ích to lớn trong bảo vệ hệ thần kinh và tim mạch.

Một nghiên cứu khác đã tiến hành chiết xuất nước siêu tới hạn từ *Helicteres isora* L. ở điều kiện 160°C , áp suất 10 bar, thời gian 30 phút, với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:30. Kết quả thu được hoạt tính ức chế gốc DPPH, khẳng định hiệu quả của phương pháp này trong việc tối ưu hóa khả năng thu nhận hợp chất chống oxy hóa từ cây thuốc [56].

- **Hoạt tính bảo vệ gan**

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng cây *Helicteres isora* L. có hoạt tính bảo vệ gan, giúp ngăn ngừa tổn thương do hóa chất độc hại, thuốc và stress oxy hóa gây ra. Khi sử dụng dịch ly trích ethanol của *Helicteres isora* L. ở liều 150 mg/kg và 250 mg/kg trong 21 ngày, trên mô hình chuột gây tổn thương gan bằng carbon

tetrachloride (CCl₄), kết quả cho thấy sự giảm đáng kể tổn thương gan, bảo vệ tế bào gan khỏi quá trình oxy hóa và tăng cường hoạt động của hệ thống enzyme chống oxy hóa nội sinh. Điều này cho thấy *Helicteres isora* L. có thể giúp duy trì chức năng gan, đặc biệt là trong những trường hợp tiếp xúc với độc tố gan hoặc tổn thương gan do hóa chất [57].

Ngoài ra, một nghiên cứu khác của Dhevi và cộng sự (2008) đã chỉ ra rằng dịch chiết ethanol từ vỏ cây *Helicteres isora* L. có tác dụng đảo ngược tổn thương gan thông qua việc phục hồi mức enzyme gan về trạng thái bình thường. Khi chuột thí nghiệm bị độc tính gan do CCl₄, dịch ly trích này không chỉ giúp ổn định chức năng gan mà còn thúc đẩy quá trình tái tạo tế bào gan, chứng minh hiệu quả phục hồi trong các tổn thương gan nghiêm trọng. Đặc biệt, chiết xuất Ethanol từ vỏ thân cây *Helicteres isora* L. đã được chứng minh có khả năng tái sinh tế bào gan, giúp khôi phục cấu trúc và chức năng gan, từ đó mở ra tiềm năng ứng dụng trong điều trị viêm gan cấp tính và mãn tính do nhiễm độc hóa chất.

Không chỉ bảo vệ gan khỏi độc tính của CCl₄, dịch chiết ethanol từ *Helicteres isora* L. cũng đã được nghiên cứu trên mô hình chuột bị tổn thương gan do paracetamol. Khi chuột được sử dụng dịch chiết ethanol từ cây *Helicteres isora* L. với liều 250 mg/kg, 500 mg/kg và 1000 mg/kg thể trọng/ngày, các chỉ số sinh hóa cho thấy: mức AST và ALT huyết thanh không khác biệt so với nhóm đối chứng khỏe mạnh và thấp hơn nhiều lần so với nhóm đối chứng bệnh lý, chứng minh tác dụng bảo vệ gan hiệu quả. Bên cạnh đó, dịch chiết này còn giúp giảm đáng kể hàm lượng malondialdehyde (MDA) – một chỉ số quan trọng của stress oxy hóa và tổn thương lipid màng tế bào gan, đồng thời tăng hàm lượng glutathione (GSH) trong mô gan, chứng minh khả năng tăng cường hệ thống chống oxy hóa nội sinh, giúp gan chống lại các tác nhân gây độc. Quan sát mô học cũng cho thấy mức độ viêm gan giảm rõ rệt, chứng minh *Helicteres isora* L. không chỉ bảo vệ gan mà còn có tác dụng chống viêm mạnh, hỗ trợ quá trình phục hồi tế bào gan [58].

Cơ chế bảo vệ gan của *Helicteres isora* L. chủ yếu dựa trên ba yếu tố chính. Thứ nhất, hoạt tính chống oxy hóa mạnh mẽ của các hợp chất trong cây giúp giảm peroxy hóa lipid (MDA giảm) và tăng cường hoạt động của enzyme chống oxy hóa nội sinh (GSH tăng), từ đó bảo vệ tế bào gan khỏi tổn thương do gốc tự do. Thứ hai, khả năng chống viêm của dịch chiết từ *Helicteres isora* L. giúp giảm phản ứng viêm trong gan, hạn chế sự xâm nhập của tế bào miễn dịch và giảm sản xuất cytokine tiền viêm, từ đó giảm nguy cơ xơ hóa gan và tổn thương viêm mãn tính. Thứ ba, dịch chiết từ cây còn có khả năng tái tạo và phục hồi chức năng gan, bằng cách thúc đẩy quá

trình tái tạo tế bào gan và điều hòa hoạt động của enzym AST, ALT, ALP, giúp duy trì chức năng gan ổn định.

Với những phát hiện này, *Helicteres isora* L. có tiềm năng ứng dụng trong điều trị và bảo vệ gan khỏi các tác nhân gây tổn thương, bao gồm viêm gan do hóa chất, thuốc (CCl₄, paracetamol, rượu, kim loại nặng), stress oxy hóa và viêm mãn tính. Ngoài ra, với khả năng bảo vệ và tái tạo tế bào gan, *Helicteres isora* L. có thể được phát triển thành thực phẩm chức năng hỗ trợ chức năng gan, giúp phòng ngừa các bệnh lý gan mãn tính.

Những nghiên cứu này đã chứng minh rằng *Helicteres isora* L. không chỉ giúp bảo vệ gan khỏi tổn thương do hóa chất độc hại, mà còn có khả năng tái tạo và phục hồi chức năng gan, giảm viêm và điều hòa chuyển hóa enzyme gan. Với tiềm năng lớn trong điều trị bệnh gan, *Helicteres isora* L. có thể trở thành một phương pháp bổ trợ quan trọng trong y học cổ truyền và hiện đại, mang lại một giải pháp tự nhiên, an toàn và hiệu quả cho những người mắc các bệnh lý gan. Việc tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về cơ chế hoạt động và hiệu quả lâm sàng sẽ giúp mở rộng ứng dụng của loài cây này trong ngành dược phẩm và y học tái tạo gan.

- **Kháng ung thư**

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng *Helicteres isora* L. có khả năng gây độc tế bào, đặc biệt đối với nhiều dòng tế bào ung thư ở người. Khi thử nghiệm trên các dòng tế bào HeLa-B75 (ung thư cổ tử cung), HEP-3B (ung thư gan), HL-60 (bệnh bạch cầu dòng tủy cấp tính) và PN-15 (ung thư phổi), dịch chiết ethanol từ cây *Helicteres isora* L. đã thể hiện khả năng ức chế sự phát triển của các tế bào ung thư với tỷ lệ lần lượt là $34,21 \pm 0,24\%$, $25,36 \pm 1,78\%$, $30,25 \pm 1,36\%$ và $29,21 \pm 0,52\%$ [59]. Kết quả này cho thấy *Helicteres isora* L. hoạt động như một tác nhân gây độc tế bào tự nhiên, có thể ức chế quá trình phân bào bất thường và cảm ứng apoptosis (chết tế bào theo chương trình) trong tế bào ung thư, từ đó hạn chế sự phát triển và lan rộng của khối u.

Bên cạnh khả năng gây độc tế bào, *Helicteres isora* L. còn thể hiện khả năng chống viêm và điều chỉnh môi trường vi mô của khối u, giúp ngăn ngừa sự hình thành điều kiện thuận lợi cho ung thư phát triển. Một nghiên cứu khác đã tiến hành thử nghiệm tăng sinh tế bào trên dòng tế bào THP-1 (bệnh bạch cầu đơn nhân cấp tính ở người). Kết quả cho thấy dịch chiết hexan từ quả của *Helicteres isora* L. có tác dụng ức chế sự hình thành prostaglandin E₂ (PGE-2), yếu tố hoại tử khối u- α (TNF- α) và nitric oxide (NO) (Rattanamaneeerum et al., 2018). PGE-2 là một phân tử quan trọng trong quá trình viêm, tăng sinh tế bào ung thư, ức chế hệ miễn dịch và hỗ trợ tân sinh mạch, trong khi TNF- α và NO là các tín hiệu viêm quan trọng liên quan đến sự hình thành và phát triển ung thư. Do đó, việc ức chế PGE-2, TNF- α và NO không chỉ

giúp giảm viêm mà còn hạn chế sự phát triển của khối u và tăng cường khả năng đáp ứng miễn dịch đối với tế bào ung thư.

Cơ chế chống ung thư của *Helicteres isora* L. chủ yếu dựa trên bốn yếu tố chính. Thứ nhất, khả năng gây độc tế bào và cảm ứng apoptosis, giúp ức chế quá trình phân bào bất thường và tiêu diệt các tế bào ung thư. Thứ hai, hoạt tính chống viêm, giúp giảm tín hiệu viêm và hạn chế tân sinh mạch – một yếu tố quan trọng trong sự phát triển của khối u. Thứ ba, tác dụng chống oxy hóa, giúp bảo vệ tế bào lành khỏi stress oxy hóa và ngăn ngừa tổn thương DNA – một trong những nguyên nhân hàng đầu dẫn đến đột biến ung thư. Thứ tư, sự điều hòa các tín hiệu tiền ung thư, đặc biệt là việc giảm sản xuất PGE-2, TNF- α và NO, giúp kiểm soát môi trường vi mô của khối u, từ đó làm chậm quá trình tiến triển của bệnh.

Những phát hiện này cho thấy *Helicteres isora* L. có tiềm năng ứng dụng trong hỗ trợ điều trị ung thư, đặc biệt là các loại ung thư liên quan đến viêm mãn tính và stress oxy hóa như ung thư gan, ung thư đại trực tràng, ung thư dạ dày, ung thư cổ tử cung và bệnh bạch cầu cấp tính. Ngoài ra, với khả năng ức chế viêm và điều chỉnh môi trường vi mô của khối u, *Helicteres isora* L. cũng có thể được nghiên cứu để phát triển thành liệu pháp dự phòng ung thư, giúp giảm nguy cơ hình thành khối u ở những đối tượng có nguy cơ cao.

Tổng hợp các nghiên cứu hiện có, cây *Helicteres isora* L. cho thấy tiềm năng hỗ trợ điều trị ung thư thông qua cơ chế gây độc tế bào, chống viêm và điều chỉnh tín hiệu tiền ung thư, mở ra hướng đi mới trong nghiên cứu phát triển thuốc thảo dược chống ung thư. Việc tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về cơ chế hoạt động và thử nghiệm lâm sàng sẽ giúp đánh giá rõ hơn tiềm năng của loài cây này trong ngành dược phẩm và y học ung thư, hướng tới một giải pháp tự nhiên, an toàn và hiệu quả cho bệnh nhân ung thư.

- Hoạt tính giảm đau

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng *Helicteres isora* L. có khả năng giảm đau mạnh mẽ, đặc biệt là thông qua cơ chế ức chế phản ứng viêm và điều hòa tín hiệu đau trong hệ thần kinh trung ương. Một nghiên cứu thử nghiệm trên mô hình chuột được gây đau bởi axit acetic đã cho thấy dịch chiết chloroform, ete dầu mỏ và ethanol trong nước từ rễ cây *Helicteres isora* L. ở liều 250 mg/kg có tác dụng giảm đau rõ rệt, làm giảm số lần co thắt bụng và giảm phản ứng đau của chuột [60]. Cơ chế giảm đau của *Helicteres isora* L. có thể liên quan đến hai yếu tố quan trọng. Thứ nhất, ức chế giải phóng các chất trung gian gây đau như prostaglandin E2 (PGE-2) và nitric oxide (NO) – những phân tử này có vai trò kích hoạt các thụ thể đau và làm tăng nhạy cảm của hệ thần kinh với tín hiệu đau. Bằng cách ức chế PGE-2 và NO, *Helicteres isora* L.

giúp giảm cảm giác đau và hạn chế viêm tại vị trí tổn thương. Thứ hai, các hợp chất có trong cây có thể hoạt động như chất điều hòa hệ thống thần kinh trung ương, giúp giảm tín hiệu đau từ hệ ngoại vi truyền lên não, từ đó giúp giảm đau một cách hiệu quả mà không gây tác dụng phụ nghiêm trọng như thuốc giảm đau opioid. Ngoài tác dụng giảm đau cấp tính, *Helicteres isora* L. cũng có tiềm năng hỗ trợ điều trị các chứng đau mãn tính, đặc biệt là trong viêm khớp, đau thần kinh và đau do viêm nhiễm kéo dài. Các nghiên cứu cho thấy rằng các flavonoid và alkaloid trong *Helicteres isora* L. có thể hoạt động như chất ức chế kênh ion canxi, giúp ngăn chặn sự dẫn truyền tín hiệu đau và giảm tình trạng quá kích thích của hệ thần kinh. Điều này có ý nghĩa đặc biệt quan trọng trong điều trị đau thần kinh mãn tính, đau cơ xương khớp và đau do viêm nhiễm mạn tính, những tình trạng mà thuốc giảm đau thông thường có thể gây ra nhiều tác dụng phụ.

- **Các hoạt tính kháng khuẩn**

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng *Helicteres isora* L. có hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm, giúp ức chế sự phát triển của nhiều chủng vi khuẩn và nấm gây bệnh ở người. Các bộ phận khác nhau của cây, bao gồm rễ, thân, quả và vỏ cây, khi được chiết xuất bằng các dung môi khác nhau, đã thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đáng kể:

Dịch ly trích butanol từ rễ cây *Helicteres isora* L. đã được chứng minh có tác dụng kháng nấm mạnh, đặc biệt chống lại *Micrococcus luteus*, *Candida albicans* và *Aspergillus niger* [61]. Các chủng vi sinh vật này có liên quan đến nhiễm trùng da, nhiễm nấm miệng và nhiễm trùng phổi, do đó, tác dụng kháng nấm của *Helicteres isora* L. có thể được khai thác trong điều trị các bệnh nhiễm nấm ngoài da và hệ hô hấp.

Dịch ly trích nước từ trái cây của *Helicteres isora* L. cũng thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh đối với *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli*, *Proteus vulgaris* và *Salmonella typhimurium* [62]. Những vi khuẩn này là tác nhân gây nhiễm trùng đường tiết niệu, nhiễm khuẩn da và nhiễm trùng đường tiêu hóa, cho thấy khả năng của *Helicteres isora* L. trong hỗ trợ điều trị các bệnh lý nhiễm khuẩn thông thường.

Dịch ly trích methanol từ vỏ thân cây *Helicteres isora* L. có khả năng kháng nấm *Cryptococcus neoformans*, *Microsporium furfure*, *Trichophyton rubrum*, *Candida tropicalis* và *Epidermophyton floccosum* [63]. Những loại nấm này thường gây ra bệnh nấm da, viêm nhiễm hệ hô hấp và nấm nội tạng, cho thấy *Helicteres isora* L. có tiềm năng trong hỗ trợ điều trị bệnh nấm ở người.

Dịch ly trích acetone từ quả cây *Helicteres isora* L. có tác dụng kháng plasmid, giúp phân giải R-plasmid của các vi khuẩn kháng kháng sinh như *Escherichia coli*,

Enterococcus faecalis và *Bacillus cereus* [64]. Điều này có ý nghĩa đặc biệt quan trọng trong việc đối phó với tình trạng kháng kháng sinh đang ngày càng gia tăng, mở ra tiềm năng sử dụng *Helicteres isora* L. như một tác nhân hỗ trợ trong điều trị các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn đa kháng thuốc.

Các hạt nano bạc (SNP) sinh tổng hợp từ dịch ly trích nước của trái *Helicteres isora* L. cũng đã chứng minh hoạt tính kháng khuẩn vượt trội, đặc biệt là chống lại vi khuẩn kháng thuốc *Pseudomonas aeruginosa* (XDR). Cơ chế kháng khuẩn của hạt nano này được xác định thông qua bất hoạt enzyme dehydrogenase chuỗi hô hấp, cảm ứng quá trình peroxy hóa lipid, tạo ra đường khử và cuối cùng là gây chết tế bào vi khuẩn [65]. Khả năng này mở ra tiềm năng lớn trong việc ứng dụng công nghệ nano sinh học vào phát triển thuốc kháng khuẩn thế hệ mới.

Hợp chất oleanolic acid được phân lập từ dịch ly trích chloroform từ quả cây *Helicteres isora* L. cũng cho thấy hoạt tính kháng khuẩn chống lại *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus* và *A. flavus* [66]. Hợp chất này không chỉ giúp ức chế vi khuẩn gram dương và gram âm, mà còn có tiềm năng chống lại nấm mốc gây bệnh, cho thấy ứng dụng của *Helicteres isora* L. trong phát triển các hợp chất kháng khuẩn tự nhiên từ thực vật.

Dịch ly trích chloroform từ thân cây *Helicteres isora* L. cũng đã cho thấy hoạt tính kháng khuẩn cao nhất đối với *Escherichia coli*, đồng thời ức chế sự phát triển của *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* và *Candida albicans* [67]. Đây là những tác nhân phổ biến gây nhiễm trùng da, nhiễm trùng đường tiêu hóa và nhiễm nấm toàn thân, cho thấy tác dụng kháng khuẩn phổ rộng của *Helicteres isora* L..

Đặc biệt, dịch ly trích ethanol từ *Helicteres isora* L. thể hiện hoạt tính kháng khuẩn phụ thuộc vào nồng độ, chống lại *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* và *Pseudomonas aeruginosa*, đồng thời có hoạt tính kháng nấm chống lại *Candida albicans*. Hiệu quả này có thể so sánh với các kháng sinh tiêu chuẩn như streptomycin và fluconazole, cho thấy khả năng thay thế hoặc bổ trợ kháng sinh trong điều trị nhiễm trùng [68].

Ngoài ra, nghiên cứu sử dụng phương pháp chiết xuất nước siêu tới hạn ở áp suất 10 bar, nhiệt độ 160°C, tỷ lệ mẫu:nước = 1:30 trong 30 phút, cũng đã xác nhận hoạt tính kháng khuẩn mạnh chống lại *Bacillus cereus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus* và *Bacillus subtilis* [56]. Đây là một bước tiến quan trọng trong tối ưu hóa chiết xuất dược liệu để thu được hợp chất kháng khuẩn mạnh mẽ từ *Helicteres isora* L..

- Các hoạt tính kháng viêm

Dịch ly trích ethanol của cây *Helicteres isora* L. cho thấy hoạt tính kháng viêm, kháng

lại cyclooxygenase-2 (COX-2), một loại enzym quan trọng được tạo ra trong quá trình viêm [69]. Dịch ly trích hexan từ trái cây cho thấy hoạt tính kháng lại việc tạo ra prostaglandin E2 (PGE-2) và hoại tử khối u yếu tố alpha (TNF- α), trong khi dịch ly trích dichloromethane từ trái cây cho thấy hoạt tính ức chế đáng kể trên cyclooxygenase-2 (COX-2) trong tế bào ung thư biểu mô tuyến trực tràng ở người (RCM-1) và dòng tế bào bạch cầu đơn nhân ở người (tế bào THP-1) [42]. Dịch ly trích còn từ lá cây có khả năng chữa lành vết thương hoạt tính mà không có bất kỳ độc tính da và cũng giúp trong tăng tốc tăng sinh tế bào, tăng cường tổng hợp collagen và nhanh chóng hình thành lớp sừng hóa lớp biểu bì, với sự kết hợp của mô liên kết sợi bì trong mô hình động vật [70].

- Hoạt tính chống co thắt

Dịch ly trích từ trái của cây *Helicteres isora* L. thể hiện hoạt tính chống co thắt, chống lại các chất gây co thắt- histamine, acetylcholine và bari clorua được thử nghiệm *in vitro* ở hồi tràng chuột lang và không biểu hiện bất kỳ độc tính cấp tính nào khi thử nghiệm *in-vivo* cho nhu động đường tiêu hóa ở chuột [71]. Công thức hỗn hợp nhiều dược liệu được phối hợp từ trái của *Helicteres isora* L., hạt *Apium Tombolens* và lá *Mentha piperita* sở hữu hoạt tính chống co thắt tốt chống lại tác dụng kích thích gây ra bởi acetylcholine, nicotine và histamine ở chuột lang hồi tràng, và không cho thấy bất kỳ tác dụng nào khi thử nghiệm cho nhu động đường tiêu hóa ở chuột mô hình [7].

1.1.8. Công dụng:

Vỏ được sử dụng trong y học ở Ấn Độ để điều trị bệnh tiểu đường. Rễ và vỏ của cây *Helicteres isora* L. có tác dụng làm tan đờm và có ích trong đau bụng, ghê, dạ dày, tiểu đường, tiêu chảy và kiết lỵ [72], khí thũng, viêm dạ dày, rắn cắn, bảo vệ gan [73]; [74]; [75]. Trái chứa chất làm se, chữa đau dạ dày, tẩy giun [75] và có tác dụng chống co thắt [71].

1.1.9. Nhu cầu sử dụng cây *Helicteres isora* L:

Cây *Helicteres isora* L. đã được sử dụng trong y học cổ truyền cách đây gần 130 năm. Theo ghi chép của Watt (1890), quả *Helicteres isora* L. đã từng được mô tả là “một trong những loại thuốc phổ biến tại các chợ phiên” ở Ấn Độ, phản ánh tầm quan trọng của loài cây này trong hệ thống y học bản địa. Trong suốt hơn một thế kỷ qua, cây vẫn giữ vững vị thế là một loại thảo dược quan trọng trong nền y học cổ truyền Ấn Độ.

Ngày nay, *Helicteres isora* L. đã được thương mại hóa rộng rãi và trở thành một trong số 178 loài dược liệu được tiêu thụ với số lượng hơn 100 tấn/năm tại Ấn Độ [76]. Theo nhiều nghiên cứu về y học cổ truyền, quả và vỏ cây *Helicteres isora* L.

được sử dụng phổ biến trong các bài thuốc dân gian [77]; [78]; [79]; [80];[81]. Các bộ phận này thường được dùng để điều trị rối loạn tiêu hóa, viêm nhiễm, sốt, tiểu đường, và các bệnh về gan, chứng minh giá trị y học lâu đời của loài cây này trong nền dược học truyền thống.

Không chỉ có vai trò quan trọng trong y học, *Helicteres isora* L. còn có giá trị kinh tế cao, trở thành một mặt hàng thương mại quan trọng trên thị trường quốc tế. Ấn Độ hiện là quốc gia xuất khẩu chính của quả *Helicteres isora* L., với phạm vi xuất khẩu sang 19 quốc gia trên thế giới [82].

Theo số liệu thống kê từ năm 2014 đến 2016, tổng khối lượng quả *Helicteres isora* L. xuất khẩu từ Ấn Độ đạt 392 tấn, với giá trị xuất khẩu tự do (FOB) lên tới 18.337.000 Rupiah (tương đương 274.055 đô la Mỹ). Điều này đồng nghĩa với sản lượng xuất khẩu trung bình hàng năm khoảng 130,5 tấn/năm, một con số đáng kể trong thị trường thảo dược quốc tế.

Hầu hết sản phẩm từ *Helicteres isora* L. của Ấn Độ được xuất khẩu sang khu vực Đông Nam Á, trong đó Indonesia là thị trường nhập khẩu lớn nhất với tổng khối lượng lên tới 346,58 tấn, chiếm 85,5% tổng sản lượng xuất khẩu. Đứng thứ hai là Thái Lan với 6,85%, trong khi phần còn lại được phân phối sang các quốc gia khác.

Sự thống trị của thị trường Indonesia đối với *Helicteres isora* L. có thể liên quan đến vai trò của loài cây này trong y học cổ truyền của khu vực, đặc biệt là trong các hệ thống y học truyền thống như Jamu của Indonesia và Y học cổ truyền Thái Lan. Tại các quốc gia này, *Helicteres isora* L. thường được sử dụng để hỗ trợ điều trị rối loạn tiêu hóa, tăng cường miễn dịch, giải độc và chống viêm, giúp tăng nhu cầu nhập khẩu trong nhiều năm qua.

Trong những năm gần đây, sự gia tăng thương mại của *Helicteres isora* L. phản ánh tầm quan trọng của loài cây này trên thị trường dược liệu toàn cầu. Bên cạnh vai trò trong y học cổ truyền, *Helicteres isora* L. cũng đang thu hút sự quan tâm của các ngành công nghiệp dược phẩm hiện đại, nhờ vào các nghiên cứu chứng minh hoạt tính chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng ung thư và bảo vệ gan của nó. Cùng với sự mở rộng của ngành công nghiệp dược liệu toàn cầu, nhu cầu đối với *Helicteres isora* L. dự kiến sẽ tiếp tục tăng trưởng mạnh mẽ, đặc biệt là từ các quốc gia châu Á và Trung Đông, nơi mà các sản phẩm từ thảo dược đang ngày càng được ưa chuộng. Bên cạnh đó, các nghiên cứu mới về tác dụng sinh học của *Helicteres isora* L. có thể tạo ra cơ hội cho các sản phẩm từ loài cây này tiếp cận các thị trường tiềm năng như châu Âu và Bắc Mỹ, nơi mà xu hướng sử dụng dược liệu tự nhiên trong chăm sóc sức khỏe đang ngày càng phát triển.

1.2. Một số sản phẩm (cao dược liệu, bột hòa tan) từ dược liệu.

1.2.1. Cao dược liệu:

Cao dược liệu, hay còn gọi là cao thuốc, là chế phẩm thu được bằng cách chiết xuất dược liệu thực vật hoặc động vật với dung môi thích hợp, sau đó cô đặc hoặc sấy đến thể chất nhất định. Các chế phẩm này có thể tồn tại ở dạng lỏng (cao lỏng, cồn thuốc), bán rắn (cao đặc, nhựa dầu) hoặc rắn (cao khô) [83]

Theo Bộ tiêu chuẩn Quốc gia về thuốc TCVN I-1:2017, cao thuốc được định nghĩa là chế phẩm được chế bằng cách cô hoặc sấy đến thể chất quy định các dịch chiết thu được từ dược liệu thực vật hay động vật với các dung môi thích hợp.

Cao dược liệu là dạng chế phẩm được điều chế từ dược liệu bằng phương pháp chiết xuất và cô đặc đến một độ đậm đặc nhất định, nhằm giữ lại hàm lượng hoạt chất cao nhất từ nguyên liệu thảo dược. Quá trình điều chế cao dược liệu thường trải qua các giai đoạn chiết xuất, tinh lọc và cô đặc, giúp loại bỏ những tạp chất không mong muốn như chất nhầy, gôm, chất béo, nhựa và một số hợp chất không có hoạt tính sinh học, đồng thời bảo tồn những hoạt chất có giá trị dược lý cao trong dược liệu. So với dược liệu thô, cao dược liệu có ưu điểm vượt trội nhờ vào tỷ lệ hoạt chất được cô đặc cao hơn. Điều này không chỉ giúp tăng hiệu quả điều trị, mà còn tối ưu hóa liều lượng sử dụng, giảm thiểu việc sử dụng khối lượng lớn dược liệu thô mà vẫn đảm bảo hiệu quả dược lý mong muốn.

1.2.1.1. Phân loại cao dược liệu

➤ Phân loại theo thể chất của cao

Cao dược liệu có thể được phân loại dựa trên thể chất và mức độ cô đặc, giúp xác định phương pháp bào chế, bảo quản và ứng dụng phù hợp trong ngành dược phẩm. Dựa vào tiêu chí này, cao dược liệu thường được chia thành cao lỏng, cao đặc và cao khô, mỗi loại có những đặc điểm riêng biệt về hàm lượng hoạt chất, khả năng hòa tan và ứng dụng trong y học.

Cao lỏng là dạng chế phẩm có độ nhớt thấp, vẫn giữ lại một lượng dung môi nhất định sau quá trình chiết xuất, với hàm lượng hoạt chất dao động từ 10% đến 20%. Cao lỏng có ưu điểm dễ hòa tan, thích hợp để pha chế thành siro, thuốc nước hoặc dung dịch tiêm truyền, giúp cơ thể hấp thụ nhanh hơn. Tuy nhiên, do chứa nhiều dung môi nên độ ổn định thấp hơn, dễ bị biến đổi nếu không được bảo quản đúng cách. Một số ví dụ điển hình về cao lỏng bao gồm cao lỏng cam thảo, cao lỏng cúc hoa, cao lỏng nhân sâm, thường được ứng dụng trong các bài thuốc y học cổ truyền và thuốc bổ dưỡng.

Cao đặc là dạng chế phẩm có độ cô đặc cao hơn cao lỏng, chứa 20% đến 40% hoạt chất và có thể tồn tại ở dạng sánh đặc, dẻo hoặc khối rắn mềm. Cao đặc giúp bảo quản hoạt chất tốt hơn cao lỏng nhưng vẫn giữ được độ linh hoạt trong pha chế, do đó

thường được sử dụng để bào chế viên hoàn, viên nén hoặc cao dán. Một số cao đặc phổ biến như cao đặc ích mẫu, cao đặc bạch chỉ, cao đặc nhân sâm có mặt trong nhiều bài thuốc hỗ trợ điều hòa nội tiết, tăng cường sức khỏe và giảm đau. Tuy nhiên, cao đặc có nhược điểm là khó định lượng chính xác, đặc biệt trong các sản phẩm cần chuẩn hóa nồng độ hoạt chất.

Cao khô là dạng cao đã loại bỏ hoàn toàn dung môi, có hàm lượng hoạt chất cao nhất, từ 50% đến 80%, giúp tối ưu hóa khả năng bảo quản và vận chuyển. Đây là dạng cao được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp dược phẩm hiện đại, đặc biệt là trong sản xuất viên nang, viên nén và trà thảo dược hòa tan. Cao khô có tính ổn định cao, dễ bảo quản lâu dài mà không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố môi trường như độ ẩm, vi khuẩn hay oxy hóa. Một số loại cao khô tiêu biểu như cao khô tam thất, cao khô đinh lăng, cao khô hương phụ, thường được ứng dụng trong các sản phẩm hỗ trợ điều trị tim mạch, tiêu hóa, giảm đau và nâng cao sức khỏe tổng thể.

So sánh giữa các dạng cao dược liệu cho thấy mỗi loại có ưu điểm và ứng dụng khác nhau. Cao lỏng có tốc độ hấp thụ nhanh, phù hợp với các sản phẩm siro, thuốc nước, nhưng dễ hỏng nếu không bảo quản đúng cách. Cao đặc có độ đậm đặc cao hơn, thích hợp cho viên hoàn, thuốc dán, nhưng khó hòa tan hơn cao lỏng. Cao khô có độ ổn định và hàm lượng hoạt chất cao nhất, dễ sử dụng trong sản xuất thuốc viên, thực phẩm chức năng, nhưng yêu cầu công nghệ bào chế hiện đại để chuẩn hóa hàm lượng hoạt chất [84].

➤ Phân loại dựa trên dung môi

Cao dược liệu có thể được phân loại dựa trên loại dung môi được sử dụng trong quá trình chiết xuất, bởi mỗi loại dung môi sẽ ảnh hưởng đến khả năng hòa tan hoạt chất, hiệu quả chiết xuất và ứng dụng của cao thuốc. Dựa trên tiêu chí này, cao dược liệu thường được chia thành cao chiết xuất bằng nước và cao chiết xuất bằng ethanol, mỗi loại có đặc điểm và phạm vi ứng dụng riêng trong y học và dược phẩm.

Cao thuốc điều chế bằng dung môi nước là loại cao sử dụng nước làm dung môi chính trong quá trình chiết xuất, thường phù hợp với các dược liệu có hoạt chất tan tốt trong nước, như saponin, glycosid, polysaccharid và flavonoid. Do nước là dung môi an toàn, không độc hại và dễ bay hơi, nên cao nước thường được sử dụng rộng rãi trong các bài thuốc đông y và sản xuất thuốc cổ truyền. Một số loại cao phổ biến thuộc nhóm này bao gồm cao đặc cam thảo, cao đặc đại hoàng, trong đó cao đặc cam thảo thường được dùng trong thuốc bổ, hỗ trợ tiêu hóa, chống viêm, còn cao đặc đại hoàng có tác dụng nhuận tràng, hỗ trợ điều trị táo bón và thanh nhiệt giải độc [85]. Tuy nhiên, do dung môi nước dễ bị nhiễm khuẩn và có hạn sử dụng ngắn, nên cao

nước cần bảo quản cẩn thận và thường được kết hợp với các phương pháp bảo quản hiện đại như sấy phun hoặc cô đặc chân không để kéo dài thời gian sử dụng.

Cao thuốc điều chế bằng dung môi ethanol là loại cao sử dụng ethanol (cồn) làm dung môi chính để chiết xuất các hợp chất kém tan trong nước nhưng tan tốt trong dung môi hữu cơ, chẳng hạn như alkaloid, flavonoid, tannin và một số loại dầu béo. Ethanol có ưu điểm hòa tan hiệu quả nhiều nhóm hoạt chất, giúp bảo quản cao thuốc tốt hơn so với nước, đồng thời giảm nguy cơ nhiễm khuẩn và kéo dài thời gian sử dụng. Một số loại cao thuốc tiêu biểu thuộc nhóm này bao gồm cao lỏng mã tiền, cao lỏng banladon, trong đó cao lỏng mã tiền được dùng chủ yếu để kích thích hệ thần kinh trung ương, tăng cường tuần hoàn máu, còn cao lỏng banladon có tác dụng kháng viêm, giảm đau và hỗ trợ điều trị viêm nhiễm đường tiết niệu [85]. Tuy nhiên, do ethanol có thể ảnh hưởng đến một số hoạt chất nhạy cảm với nhiệt và dung môi hữu cơ, nên quá trình chiết xuất cần kiểm soát chặt chẽ về nhiệt độ và thời gian tiếp xúc để tránh phân hủy hoạt chất quan trọng.

So sánh giữa hai phương pháp chiết xuất cho thấy cao thuốc chiết xuất bằng nước có ưu điểm an toàn, dễ hấp thu, phù hợp với nhiều đối tượng sử dụng, nhưng nhược điểm là hạn sử dụng ngắn và dễ nhiễm khuẩn nếu không được bảo quản tốt. Trong khi đó, cao thuốc chiết xuất bằng ethanol có độ ổn định cao, khả năng bảo quản lâu dài, nhưng cần kiểm soát dư lượng ethanol để đảm bảo an toàn khi sử dụng [85].

➤ **Phân loại dựa trên phương pháp chiết xuất**

Cao dược liệu có thể được phân loại dựa trên phương pháp chiết xuất, bởi cách thức chiết xuất ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu suất thu hồi hoạt chất, độ tinh khiết và chất lượng của cao thuốc. Hai phương pháp phổ biến nhất trong sản xuất cao dược liệu là phương pháp ngâm lạnh và phương pháp ngâm kiệt, mỗi phương pháp có những đặc điểm và ứng dụng riêng, phù hợp với từng loại dược liệu.

Cao điều chế theo phương pháp ngâm lạnh là loại cao thu được khi dược liệu được ngâm trực tiếp trong dung môi ở nhiệt độ thường, giúp chiết xuất hoạt chất một cách nhẹ nhàng mà không làm biến đổi cấu trúc hóa học của chúng. Phương pháp này đặc biệt thích hợp cho các dược liệu có thành phần dễ bay hơi hoặc nhạy cảm với nhiệt, chẳng hạn như tinh dầu, flavonoid, saponin hoặc alkaloid dễ bị phân hủy. Trong quá trình chiết xuất, hoạt chất từ dược liệu khuếch tán từ từ vào dung môi, giúp bảo toàn được mùi thơm, màu sắc và tính chất sinh học của nguyên liệu gốc. Mặc dù hiệu suất chiết xuất có thể thấp hơn so với các phương pháp khác, nhưng phương pháp này lại giúp duy trì độ ổn định của dược chất, đồng thời giảm nguy cơ biến đổi hóa học do tác động của nhiệt độ cao. Một số sản phẩm cao dược liệu phổ biến được sản xuất theo phương pháp này bao gồm cao lỏng bạc hà, cao lỏng cúc hoa, cao lỏng quế, thường

được sử dụng trong các bài thuốc hỗ trợ tiêu hóa, kháng viêm, giảm đau và thư giãn tinh thần.

Ngược lại, cao điều chế theo phương pháp ngâm kiệt là loại cao thu được thông qua quá trình chiết xuất liên tục, trong đó dung môi thẩm qua dược liệu theo dòng chảy ổn định, kéo theo hoạt chất hòa tan trong dung môi để thu hồi triệt để thành phần dược lý có trong nguyên liệu. Phương pháp này có hiệu suất chiết xuất cao hơn so với ngâm lạnh, giúp tận dụng tối đa lượng hoạt chất trong dược liệu, đồng thời rút ngắn thời gian chiết xuất. Quá trình này thường áp dụng cho các loại dược liệu có chứa alkaloid, glycosid, tannin, flavonoid và saponin, phù hợp để sản xuất cao đặc và cao khô với hàm lượng hoạt chất cao. Một số cao dược liệu tiêu biểu được điều chế bằng phương pháp này bao gồm cao đặc nhân sâm, cao đặc hoàng kỳ, cao khô đương quy, thường được sử dụng để tăng cường hệ miễn dịch, bổ huyết và nâng cao sức khỏe tổng thể.

So sánh giữa hai phương pháp này cho thấy ngâm lạnh có ưu điểm bảo tồn hoạt chất dễ bay hơi, thích hợp với các loại dược liệu chứa tinh dầu hoặc nhạy cảm với nhiệt, nhưng hiệu suất chiết xuất thấp hơn. Trong khi đó, phương pháp ngâm kiệt có khả năng thu hồi triệt để hoạt chất, giúp tăng cường hiệu quả điều trị, nhưng có thể làm mất đi một số hợp chất dễ bay hơi nếu không được kiểm soát chặt chẽ về điều kiện chiết xuất [84].

1.2.1.2. Phương pháp điều chế

Quá trình điều chế cao thường gồm các giai đoạn sau:

a. Điều chế dịch chiết

Điều chế dịch chiết là bước đầu tiên và cũng là giai đoạn quan trọng nhất trong quy trình điều chế cao dược liệu. Đây là quá trình chiết xuất hoạt chất từ nguyên liệu thảo dược, tạo ra dịch chiết có hàm lượng hoạt chất cao nhất, đồng thời loại bỏ một phần tạp chất không mong muốn. Chất lượng của dịch chiết ảnh hưởng trực tiếp đến tính sinh khả dụng và hiệu quả điều trị của cao thuốc, do đó cần phải lựa chọn kích thước dược liệu, dung môi chiết xuất và phương pháp chiết phù hợp.

Trước khi chiết xuất, dược liệu cần được xử lý và phân chia thành bột có kích thước từ 0,2 – 2 mm tùy theo đặc điểm của nguyên liệu và phương pháp chiết. Kích thước hạt nhỏ giúp tăng diện tích tiếp xúc giữa dược liệu và dung môi, từ đó tăng hiệu suất chiết xuất. Tuy nhiên, nếu bột quá mịn, nó có thể gây tắc nghẽn hệ thống lọc, làm giảm tốc độ chiết xuất và gây lẫn tạp chất vào dịch chiết.

Việc lựa chọn dung môi cũng là một yếu tố quan trọng, vì nó quyết định mức độ hòa tan của hoạt chất, tốc độ chiết xuất và tính ổn định của dịch chiết. Hai loại dung môi phổ biến nhất trong sản xuất cao dược liệu là nước và ethanol, mỗi loại có đặc

tính hòa tan khác nhau. Dung môi nước thường được sử dụng để chiết xuất saponin, flavonoid, glycosid và polysaccharid, thích hợp với các phương pháp như ngâm lạnh, hầm, hãm hoặc sắc. Trong khi đó, ethanol là dung môi lý tưởng để chiết xuất alkaloid, tannin và một số hợp chất kém tan trong nước, thường được áp dụng trong phương pháp ngâm kiệt hoặc ngâm lạnh, giúp tăng cường khả năng bảo quản và hạn chế sự nhiễm khuẩn trong quá trình sản xuất.

b. Loại tạp chất

Sau khi thu được dịch chiết, quá trình loại bỏ tạp chất là bước quan trọng giúp nâng cao chất lượng và kéo dài thời gian bảo quản của cao dược liệu. Nếu không loại bỏ triệt để, các tạp chất dư thừa có thể ảnh hưởng đến tính ổn định của sản phẩm, gây kết tủa hoạt chất, làm đục cao lỏng hoặc giảm độ tinh khiết của cao khô. Đặc biệt, tạp chất còn có thể gây cản trở quá trình hấp thụ dược chất trong cơ thể, làm giảm hiệu quả điều trị.

Quá trình loại tạp chất thường được thực hiện đồng thời với quá trình cô đặc dịch chiết, nhằm loại bỏ các thành phần không mong muốn một cách tối ưu nhất. Một số phương pháp loại tạp chất phổ biến bao gồm:

- Loại tạp chất tan trong nước bằng nhiệt hoặc ethanol cao độ: Giúp kết tủa các hợp chất không mong muốn như gôm, nhựa, protein hoặc tanin quá mức.
- Loại tạp chất tan trong ethanol bằng nước nóng, nước acid hóa hoặc parafin rắn: Được sử dụng để tinh sạch dịch chiết chứa hợp chất hữu cơ tan tốt trong ethanol.
- Điều chỉnh pH để loại tạp: Một số hoạt chất có thể kết tủa hoặc hòa tan tốt hơn trong điều kiện pH thay đổi, giúp loại bỏ tạp chất mà vẫn giữ lại hoạt chất chính.

Quá trình loại tạp chất không chỉ giúp cải thiện độ trong của dịch chiết, mà còn giúp giảm nguy cơ kết tủa hoạt chất trong quá trình bảo quản, nâng cao tính ổn định và chất lượng của cao thuốc.

c. Cô đặc hoặc làm khô

Sau khi loại bỏ tạp chất, dịch chiết sẽ trải qua quá trình cô đặc hoặc làm khô, giúp chuyển hóa dịch chiết thành dạng cao đặc hoặc cao khô. Đây là giai đoạn quan trọng, quyết định hàm lượng hoạt chất, độ ổn định và khả năng bảo quản của sản phẩm.

Trong quá trình cô đặc, nhiệt độ càng thấp và thời gian cô đặc càng nhanh thì càng tốt, vì nhiệt độ cao có thể phá hủy hoặc làm biến đổi các hợp chất nhạy cảm với nhiệt. Việc khuấy trộn liên tục cũng cần được thực hiện để tránh tạo váng trên bề mặt dịch chiết, gây ảnh hưởng đến tốc độ bốc hơi và hiệu suất cô đặc.

Tùy vào đặc tính của hoạt chất, các phương pháp cô đặc và làm khô phổ biến bao gồm:

- Cô đặc trong tủ sấy ở 60 – 70°C: Thích hợp với các hoạt chất ít bị phân hủy bởi nhiệt, giúp loại bỏ dung môi mà vẫn giữ được dược tính.
- Sấy dưới áp suất giảm ở nhiệt độ dưới 50°C (áp suất 10 – 15 mmHg): Được sử dụng cho các hợp chất nhạy cảm với nhiệt, giúp bảo toàn hoạt tính sinh học.
- Sấy phun sương: Là phương pháp hiện đại giúp chuyển dịch chiết thành bột mịn, phù hợp để sản xuất cao khô dùng trong viên nang, viên nén hoặc trà hòa tan.
- Phương pháp đông khô (lyophilization): Là công nghệ tiên tiến giúp bảo toàn các hoạt chất dễ phân hủy như enzym, vitamin và nội tiết tố, bằng cách đông lạnh dịch chiết rồi làm khô trong môi trường chân không.

1.2.1.3. Điều chỉnh chất lượng hoạt chất trong cao

Cao dược liệu phải được tiêu chuẩn hóa về mặt lý, hoá học nhằm làm cho chất lượng và tác dụng điều trị được đồng nhất ở tất cả các lô mẻ sản xuất [84].

1.2.1.4. Yêu cầu chất lượng

Tùy loại cao và dạng cao mà có yêu cầu chất lượng riêng theo từng chuyên luận trong Dược điển Việt Nam. Song yêu cầu chung về chất lượng của cao là:

Chất lượng của cao lỏng – Đảm bảo tính đồng nhất và ổn định

Cao lỏng là dạng cao có tỷ lệ dung môi cao, thường được sử dụng trực tiếp hoặc làm nguyên liệu để pha chế thành các dạng thuốc khác. Do chứa nhiều dung môi, chất lượng của cao lỏng phụ thuộc vào độ tinh khiết, độ đồng nhất và khả năng hòa tan trong dung môi chiết xuất.

Về cảm quan, cao lỏng cần có thể chất lỏng, sánh, đồng nhất, với màu nâu đặc trưng của dược liệu gốc, không bị đục, lắng cặn hoặc xuất hiện tủa. Hương thơm và vị của cao phải giữ nguyên đặc trưng của dược liệu ban đầu, không có mùi oi khét, vị chua hoặc dấu hiệu lên men, vì đây là những dấu hiệu cho thấy cao lỏng đã bị oxy hóa hoặc nhiễm khuẩn.

Khả năng hòa tan của cao lỏng cũng là một yếu tố quan trọng. Theo tiêu chuẩn, 1g cao lỏng phải tan hoàn toàn trong 20ml dung môi ban đầu được sử dụng trong quá trình chiết xuất. Nếu khi pha loãng mà xuất hiện tủa, có thể do quá trình loại tạp chưa đạt yêu cầu hoặc do thay đổi pH gây kết tủa hoạt chất, điều này ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng hấp thu và hiệu quả điều trị.

Ngoài ra, cao lỏng cần đáp ứng các chỉ tiêu kỹ thuật khác như cần khô sau khi bốc hơi, hàm lượng hoạt chất, pH, tiêu chuẩn vi sinh và tỷ trọng. Đặc biệt, tỷ trọng của cao lỏng thường nằm trong khoảng từ 1,05 – 1,4, đảm bảo sự ổn định của chế

phẩm. Nếu tỷ trọng quá thấp, cao có thể đã bị pha loãng, trong khi nếu tỷ trọng quá cao có thể là dấu hiệu của hàm lượng tạp chất chưa được loại bỏ hoàn toàn.

Chất lượng của cao đặc và cao khô – Đảm bảo độ ổn định và tinh khiết

Cao đặc và cao khô là hai dạng cao đã được cô đặc hoặc làm khô hoàn toàn, giúp kéo dài thời gian bảo quản và dễ dàng sử dụng trong sản xuất dược phẩm.

Về cảm quan, cao đặc cần có thể chất dẻo, mềm, mịn và đồng nhất, còn cao khô có dạng bột mịn, dễ hòa tan trong dung môi phù hợp. Cả hai loại cao này phải giữ được màu nâu đen đặc trưng của dược liệu, không bị vón cục, không có tạp chất lạ hoặc dấu hiệu bị oxy hóa. Đặc biệt, mùi thơm của cao phải giữ được đặc trưng của dược liệu gốc, không có mùi chua, mùi oi khét hoặc dấu hiệu biến chất do quá trình bảo quản kém.

Hàm lượng hoạt chất là một trong những chỉ tiêu quan trọng nhất của cao đặc và cao khô. Theo tiêu chuẩn, hàm lượng hoạt chất trong cao phải đạt chuẩn theo chuyên luận của Dược điển Việt Nam, đảm bảo hiệu quả điều trị ổn định và độ nhất quán giữa các lô sản xuất. Việc kiểm soát hàm lượng hoạt chất cũng giúp kiểm soát liều lượng chính xác khi bào chế các dạng thuốc khác, tránh tình trạng quá liều hoặc thiếu liều khi sử dụng.

Ngoài ra, độ ẩm và tiêu chuẩn vi sinh cũng là những yếu tố quan trọng, đặc biệt là với cao khô. Độ ẩm trong cao khô thường không vượt quá 5 – 10%, đảm bảo sản phẩm không bị nấm mốc hoặc vi khuẩn phát triển trong quá trình bảo quản. Nếu độ ẩm quá cao, cao khô có thể dễ bị hư hỏng, mất hoạt tính sinh học và giảm tuổi thọ bảo quản.

Kiểm soát chất lượng cao dược liệu – Nâng cao giá trị và hiệu quả sử dụng

Việc đảm bảo chất lượng cao dược liệu theo tiêu chuẩn không chỉ giúp tăng cường hiệu quả điều trị, mà còn đảm bảo tính ổn định, an toàn cho người sử dụng và nâng cao giá trị kinh tế của sản phẩm. Các tiêu chuẩn về cảm quan, độ tan, tỷ trọng, hàm lượng hoạt chất và độ tinh khiết là những yếu tố quan trọng giúp kiểm soát chất lượng đầu ra của cao thuốc trước khi đưa vào sản xuất dược phẩm.

Với sự phát triển của công nghệ chiết xuất hiện đại, các phương pháp như chiết xuất siêu tới hạn, sấy phun hoặc đông khô đang giúp nâng cao chất lượng cao dược liệu, bảo toàn tối đa hoạt chất sinh học và kéo dài thời gian bảo quản. Nhờ vào những tiến bộ này, cao dược liệu ngày càng đáp ứng được các tiêu chuẩn quốc tế, mở ra nhiều cơ hội ứng dụng trong ngành dược phẩm hiện đại và thực phẩm chức năng.

1.2.2. Bột hòa tan

1.2.2.1. Sấy phun

Sấy là quá trình loại bỏ nước ra khỏi nguyên liệu dưới tác động của nhiệt, giúp giảm độ ẩm, tăng khả năng bảo quản và duy trì độ bền của sản phẩm. Trong quá trình này, nước bên trong nguyên liệu khuếch tán ra bề mặt do chênh lệch độ ẩm và áp suất hơi riêng phần giữa nguyên liệu và môi trường xung quanh, từ đó tăng tốc độ bay hơi, giúp nguyên liệu khô nhanh hơn mà không làm biến đổi đáng kể cấu trúc hóa học của sản phẩm.

Trong số các phương pháp sấy công nghiệp hiện nay, sấy phun là một công nghệ hiện đại và phổ biến, giúp chuyển đổi nguyên liệu từ dạng lỏng sang dạng bột một cách nhanh chóng. Phương pháp này có nhiều ưu điểm như kiểm soát nhiệt độ chính xác, bảo toàn chất lượng sản phẩm và tạo ra hạt bột có độ đồng đều cao. Sấy phun được ứng dụng rộng rãi trong ngành thực phẩm, dược phẩm và công nghiệp chế phẩm sinh học, giúp sản xuất bột sữa, bột đậu nành, bột trứng, tinh chất dược liệu dạng bột và các sản phẩm hòa tan khác [86].

Nguyên lý hoạt động của sấy phun

Quy trình sấy phun bắt đầu bằng việc chuyển đổi nguyên liệu từ dạng lỏng thành các hạt nhỏ thông qua hệ thống phun sương, sau đó các hạt này sẽ tiếp xúc với dòng khí nóng trong buồng sấy để làm bay hơi nước nhanh chóng.

Cụ thể, nguyên liệu ban đầu có độ ẩm 40 - 60% được đưa vào hệ thống phun sương, tạo thành các hạt nhỏ li ti. Những hạt này được phun vào buồng sấy có dòng khí nóng đối lưu cùng chiều hoặc ngược chiều, với nhiệt độ khoảng 150 - 300°C. Quá trình tiếp xúc với khí nóng làm hơi nước bốc hơi cực kỳ nhanh chóng, chỉ trong vài giây, các hạt bột khô đã được hình thành. Sau đó, bột khô được tách ra khỏi dòng khí nóng thông qua hệ thống thu hồi sản phẩm, giúp duy trì hiệu suất cao và tránh lãng phí nguyên liệu.

Quá trình sấy phun giúp tạo ra bột khô có kích thước hạt đồng đều, khả năng hòa tan tốt và dễ dàng bảo quản. Đây là phương pháp lý tưởng cho những nguyên liệu dễ bị hư hỏng do nhiệt, giúp bảo toàn tối đa hoạt tính sinh học của sản phẩm [87]

Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sấy phun

Quá trình sấy phun chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố khác nhau, tác động trực tiếp đến chất lượng sản phẩm, hiệu suất sấy và mức tiêu hao năng lượng. Dưới đây là những yếu tố quan trọng cần kiểm soát trong quá trình sấy phun:

1. Nồng độ chất khô của nguyên liệu

Nồng độ chất khô trong nguyên liệu ảnh hưởng đến tốc độ bay hơi nước và độ nhớt của nguyên liệu khi phun sương:

- Nồng độ chất khô cao giúp giảm thời gian bay hơi, nhưng đồng thời làm tăng độ nhớt, gây khó khăn cho hệ thống phun sương và làm giảm hiệu suất sấy.
- Nồng độ chất khô thấp giúp nguyên liệu dễ dàng phun sương hơn, nhưng lại làm tăng thời gian sấy, tiêu tốn nhiều năng lượng hơn.
- Trên thực tế, nồng độ chất khô tối ưu thường nằm trong khoảng 45 - 52%, đảm bảo sự cân bằng giữa hiệu suất sấy và chất lượng sản phẩm.

2. Chất mang – Yếu tố hỗ trợ quá trình sấy

Chất mang đóng vai trò quan trọng trong việc tạo hạt bột đồng đều, kiểm soát độ nhớt của nguyên liệu và bảo vệ các hoạt chất sinh học trong quá trình sấy phun.

Tiêu chí lựa chọn chất mang dựa trên tính chất vật lý và hóa học của nguyên liệu, bao gồm khả năng hòa tan, trọng lượng phân tử, nhiệt độ nóng chảy, khả năng tạo màng và tính nhũ hóa. Một số chất mang phổ biến được sử dụng trong sấy phun bao gồm:

- Gum arabic, alginate, carrageenan, maltodextrin [88]; [89].
- Tinh bột biến tính, carboxy methylcellulose, whey protein
- Polymer sinh học [90].

Những chất mang này giúp giữ cấu trúc của bột, ngăn chặn hiện tượng vón cục và tăng độ hòa tan của sản phẩm sau khi sấy.

3. Nhiệt độ tác nhân sấy

Nhiệt độ của khí nóng trong buồng sấy quyết định tốc độ bay hơi và độ ẩm của bột thành phẩm:

- Nhiệt độ cao giúp làm khô nhanh hơn, nhưng có thể gây phân hủy hoạt chất nhạy cảm với nhiệt, như enzym, vitamin và hợp chất sinh học.
- Nhiệt độ thấp giúp bảo toàn hoạt chất, nhưng lại làm tăng thời gian sấy, gây tốn kém năng lượng.
- Nhiệt độ sấy thường được duy trì trong khoảng 150 - 300°C, tùy thuộc vào loại nguyên liệu cần sấy.

4. Kích thước, số lượng và quỹ đạo chuyển động của hạt nguyên liệu

Kích thước hạt phun sương ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu quả làm khô và khả năng hòa tan của sản phẩm sau sấy:

- Hạt càng nhỏ, diện tích tiếp xúc với khí nóng càng lớn, giúp tăng tốc độ bay hơi và cải thiện chất lượng bột.
- Nếu hạt quá lớn, nước có thể không bốc hơi hết trước khi chạm đáy buồng sấy, dẫn đến hiện tượng vón cục hoặc bám dính vào thành buồng sấy.

Ngoài ra, quỹ đạo chuyển động của hạt trong buồng sấy cũng quan trọng, ảnh hưởng đến thời gian tiếp xúc với khí nóng và mức độ bay hơi của nước.

5. Tốc độ bơm nguyên liệu và lưu lượng khí nóng

- Tốc độ bơm nguyên liệu vào hệ thống phun sương cần được kiểm soát chính xác để tránh tắc nghẽn trong đầu phun và đảm bảo kích thước hạt đồng đều.
- Lưu lượng khí nóng đi vào buồng sấy cần phù hợp với tốc độ phun để duy trì nhiệt độ ổn định và độ ẩm tối ưu của bột thành phẩm.

Ứng dụng của sấy phun trong sản xuất bột hòa tan

Sấy phun là phương pháp hiệu quả trong sản xuất bột thảo dược hòa tan, giúp bảo toàn hàm lượng hoạt chất, tạo sản phẩm có độ hòa tan cao, dễ bảo quản và dễ sử dụng. Quy trình này gồm các bước chính sau:

1. Chiết xuất hoạt chất từ dược liệu: Nguyên liệu thảo dược được chiết xuất bằng nước hoặc dung môi thích hợp để thu được tinh chất có giá trị dược học.
2. Lọc và cô đặc: Dịch chiết được lọc để loại bỏ bã và cô đặc đến 40 - 60% chất khô.
3. Bổ sung chất mang: Chất mang như maltodextrin hoặc gum arabic được thêm vào để tăng cường khả năng bảo quản và ngăn ngừa vón cục.
4. Sấy phun: Dịch chiết được phun sương vào buồng sấy, tạo thành bột khô mịn ở nhiệt độ 150 - 200°C.
5. Đóng gói và bảo quản: Bột hòa tan được đóng gói kín để bảo vệ khỏi độ ẩm và kéo dài thời gian sử dụng.

1.2.2.2. Một số bước sản xuất bột hòa tan bằng phương pháp sấy phun

- Bước 1. Chuẩn bị nguyên liệu:

Nguyên liệu dùng để chế biến sản phẩm phải có chất lượng tốt không bị hỏng, mốc. Đặt nguyên liệu sấy khô trong các khay và cho vào tủ sấy khi nhiệt độ tủ sấy đạt 70°C sấy đến độ ẩm 11% trong 450 phút. Trong quá trình sấy dưới tác dụng của nhiệt độ sẽ làm bay hơi 1 phần các chất dinh dưỡng như saponin, lipid, alkaloid,... Ngoài ra quá trình sấy giúp tạo hương cho sản phẩm, cố định các chất dinh dưỡng, đồng thời làm khô đến độ ẩm an toàn để đảm bảo ổn định chất lượng sản phẩm trong thời gian bảo quản.

- Bước 2. Nghiền:

Sau khi sấy khô nguyên liệu được nghiền thành bột bằng máy xay xát để tạo thuận lợi cho việc tách chiết.

- Bước 3. Trích ly:

Quá trình trích ly nhằm thu các chất hoà tan có trong bột dược liệu. Tùy vào nguồn dược liệu, có thể sử dụng loại môi khác nhau để trích ly. Trong quá trình trích ly không dùng nhiệt độ cao vì sẽ làm biến tính hoạt chất và trích ly cả những chất không tốt cho sản phẩm.

Bột dược liệu cần có kích thước phù hợp và tiến hành trích ly nhiều lần để thu nhận tối đa chất hòa tan. Nồng độ dịch dược liệu trích ly có thể đạt tới 20 - 22%.

- **Bước 4.** Lọc và cô đặc:

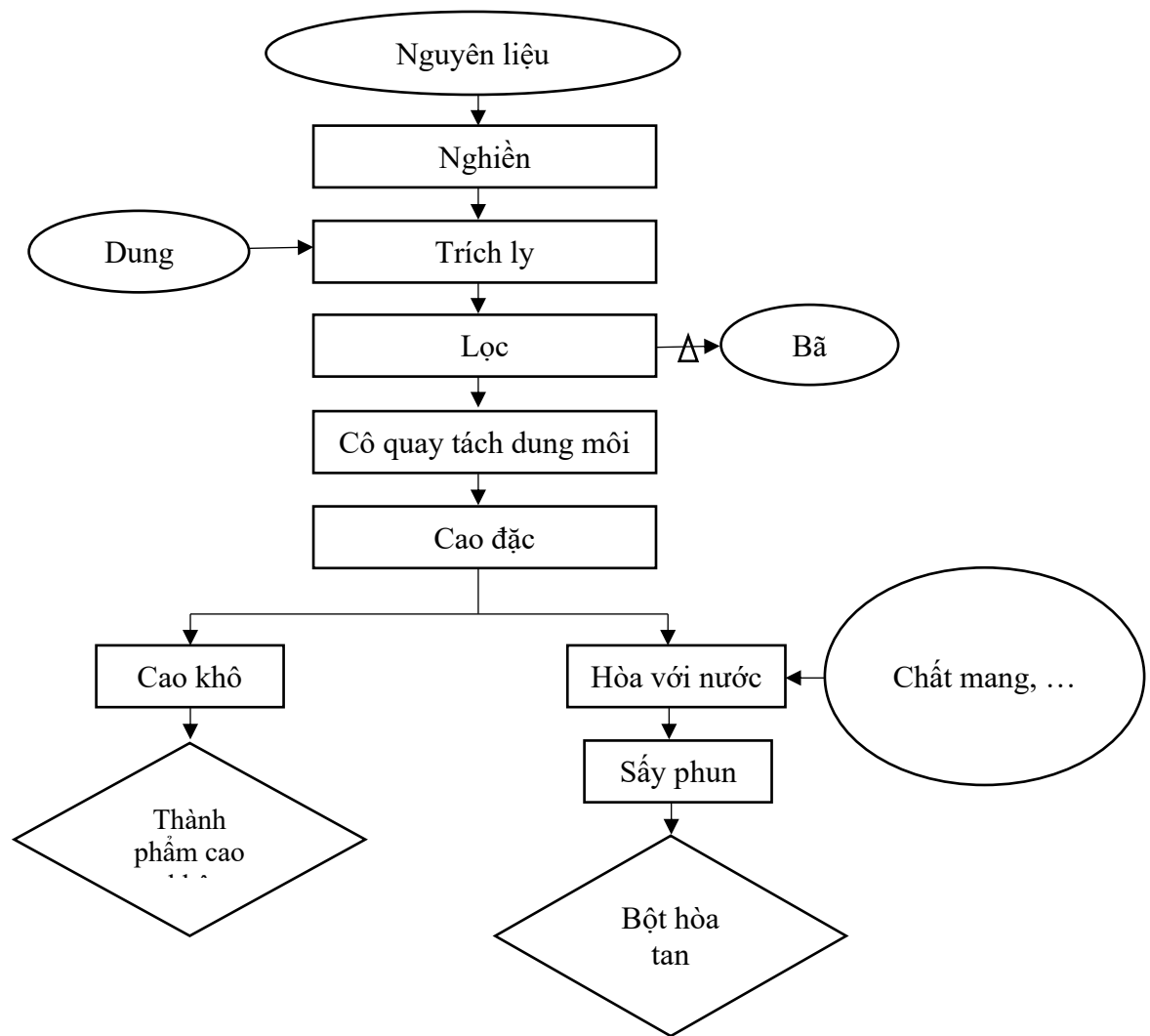
Nồng độ dịch dược liệu sau trích ly là 20 - 22%, chưa thể sấy khô được. Do đó phải tiến hành cô đặc dịch trích ly đến nồng độ 30 - 33% mới thuận lợi cho quá trình sấy. Phương pháp cô đặc thường dùng là cô đặc chân không: Dung dịch trích ly được bơm vào thiết bị gia nhiệt. Tại đây dung môi nhận nhiệt và bay hơi. Độ chân không được tạo ra nhờ barometer sẽ hút hơi dung môi và ngưng tụ tại bình ngưng. Quá trình diễn ra cho đến khi nồng độ dung dịch đạt yêu cầu thì dừng.

- **Bước 5.** Sấy phun tạo bột dược liệu hòa tan:

Sấy khô nhằm đưa dịch trích ly dược liệu cô đặc thành dạng bột khô để tiện lợi cho quá trình bảo quản và sử dụng. Phương pháp sấy khô được dùng là phương pháp sấy phun: Có thể dùng máy sấy phun sương hoặc máy sấy phun tạo hạt áp lực cao LPG để sấy khô dịch dược liệu. Dịch dược liệu cô đặc được bơm vào đỉnh cyclon. Tại đây có một đĩa đục nhiều lỗ nhỏ, có tốc độ quay lớn, làm cho dịch trích ly vào cyclon ở dạng sương mù. Không khí nóng khô được thổi vào cyclon sấy khô dịch dạng sương mù thành dạng bột. Dược liệu bột hoà tan được thu ở đáy cyclon. Sau sấy khô ta thu được bột dược liệu hoà tan có độ ẩm 1 - 2%.

- **Bước 6.** Giai đoạn hoàn thiện:

Mục đích: lưu trữ làm mẫu đối chứng để kiểm tra chất lượng sản phẩm theo thời gian, đóng gói, hoàn thiện sản phẩm.



Hình 1.4. Sơ đồ các bước tiến hành sản xuất cao khô và bột hòa tan bằng phương pháp sấy phun

1.2.3. Các sản phẩm từ cây *Helicteres Isora* L.:

* Siro ho : Tolak angin của hãng Sido Muncul - Indonesia dạng siro *Helicteres Isora* L được kết hợp với gừng, thìa là, bạc hà đại, đinh hương và mật ong dùng cho người lớn và trẻ em để giải cảm, đầy bụng

* Dạng viên nang mềm: thực phẩm bảo vệ sức khỏe Tolak angin được kết hợp với gừng, bạc hà, quế, đinh hương, thì là, nhục đậu khấu, các loại vitamin và khoáng chất tăng sức đề kháng, ngăn ngừa cảm lạnh.

* Dạng quả khô: của Indonesia

* Chiết xuất dạng lỏng: sản phẩm Screw Tree của hãng Hawaii Pharm



Hình 1.5 Một số sản phẩm từ *Helicteres Isora* L [91].

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là phần trên mặt đất của cây tổ kén lá tròn (*Helicteres isora* L.), gồm: thân, lá, hoa, quả được thu thập tại rừng khộp, huyện Đắk Mil, tỉnh Đắk Nông vào tháng 03/2024. Tiến hành sơ chế tách vỏ cây, thực hiện sơ bộ thành phần hóa thực vật dựa trên các phản ứng định tính đặc trưng và thiết lập quy trình chiết cao theo phương pháp ngâm lạnh. Cao chiết từ thân cây được sử dụng để tạo bột hòa tan bằng kỹ thuật sấy phun

2.1.2. Dụng cụ, hóa chất và thiết bị nghiên cứu:

❖ Dụng cụ

- Becher (50ml, 250ml, 1000ml).
- Erlen (250ml, 500ml, 1000ml)
- Pitetman (2-20 μ l, 20-200 μ l, 200-1000 μ l, 1000-5000 μ l)
- Đũa thủy tinh
- Phễu lọc thủy tinh.
- Falcon 15ml, 50ml.
- Eppendorf 1,5ml, 2ml.

❖ Hóa chất

Bảng 2.1. Các hóa chất và nguồn gốc được dùng trong thí nghiệm

Nội dung thí nghiệm	Hóa chất	Xuất xứ
Chiết cao dược liệu	Ethanol absolute	Chemsol – Việt Nam
	Methanol	Xilong scientific – Trung Quốc
HPLC	P-coumaric acid	Sigma
	Methanol	Sigma
	Glacial Acetic acid	
Xác định hàm lượng phenolic	Phloroglucinol	Sigma
	Folin-Ciocalteu	Sigma
	Na ₂ CO ₃	Trung Quốc
Sấy phun	Maltodextrin DE15-20	Qinhuangdao Lihua Starch - Trung Quốc

❖ Thiết bị

- Máy nghiền Retsch ZM200.
- Cân phân tích Satorius.
- Máy nước cất 2 lần Aquatron.

- Máy cô quay Heidolph.
 - Máy đo pH Milwaukee Mi150
 - Máy sấy phun sương tự động SD - Basic, LabPlant
- Máy HPLC
- Tủ sấy Sanyo MOV212
 - Máy đo quang phổ Elisa Bio-Rad

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm dược liệu.

2.2.1.1. Xây dựng tiêu chuẩn cho chỉ tiêu đặc điểm thực vật học

Đặc điểm hình thái: Mô tả đặc điểm về đặc điểm bên ngoài: thân, lá, hoa, quả, màu sắc, mùi vị của dược liệu.

Đặc điểm giải phẫu: Cắt và nhuộm vi phẫu bằng phương pháp nhuộm kép carmin - lục iod. Quan sát, mô tả và chụp hình vi phẫu.

Đặc điểm bột dược liệu: Mô tả các đặc điểm cảm quan như màu sắc, mùi vị. Quan sát các cấu tử của bột dược liệu dưới kính hiển vi quang học. Chụp hình minh họa.

2.2.1.2. Thử tinh khiết

Các chỉ tiêu tuân theo quy định của ĐĐVN V.

Xác định độ ẩm: Tiến hành theo ĐĐVN V, phương pháp xác định hàm lượng nước bằng phương pháp cất với dung môi (Phụ lục 12.13).

Xác định độ tro toàn phần: Tiến hành theo ĐĐVN V, phương pháp 1 (Phụ lục 9.8).

Xác định độ tro không tan trong acid: Tiến hành theo ĐĐVN V, phương pháp 1 (Phụ lục 9.7).

Xác định hàm lượng chất chiết được: Tiến hành theo ĐĐVN V, phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng ethanol 96% (TT) làm dung môi.

Xác định giới hạn kim loại nặng: Tiến hành theo ĐĐVN V, phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 9.4.11).

Xác định tạp chất lẫn trong dược liệu: Tiến hành theo ĐĐVN V (Phụ lục 12.11)

Dư lượng hoá chất bảo vệ thực vật: Tiến hành theo ĐĐVN V (Phụ lục 12.17).

2.2.1.3. Định tính

Bản mỏng: Silica gel F254.

Dung môi khai triển: Toluene-acetonitrile-formic acid (70:30:1).

Dung dịch thử: Cân khoảng 1,0 g bột dược liệu, thêm 10 mL methanol (TT), siêu âm 20 phút, lọc. Lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan chất đối chiếu p-coumaric acid trong methanol (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,1 mg/mL.

Tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 μ L mỗi dung dịch thử và đối chiếu. Tiến hành triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Sau đó phun dung dịch vanillin-acid sulfuric 10% trong ethanol (TT), sấy khô ở 105°C cho đến khi hiện rõ vết. Yêu cầu: Trên hai sắc ký đồ, dung dịch thử phải xuất hiện vết tương ứng về màu sắc và R_f với vết của dung dịch đối chiếu.

2.2.1.4. Định lượng chất đối chiếu bằng phương pháp HPLC

a. Khảo sát điều kiện phân tích bằng phương pháp HPLC

Lựa chọn dung môi pha động, cột sắc ký và nhiệt độ cột, tốc độ dòng phù hợp: dựa vào tài liệu nghiên cứu đã được công bố, pha động acetonitril - nước dự kiến được chọn với chương trình gradient.

Chọn bước sóng phát hiện: dựa vào phổ hấp thụ UV của chất đối chiếu để chọn bước sóng phát hiện, thường là bước sóng ở cực đại hấp thụ.

Dung dịch thử: Dịch chiết thu được từ quy trình xử lý mẫu đã xây dựng, được lọc qua màng lọc 0,22 μ m. Dung dịch thu được tiến hành phân tích bằng phương pháp HPLC.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chất đối chiếu với nồng độ khoảng 0,15 mg/mL, lọc qua màng lọc 0,22 μ m. Tiến hành phân tích dung dịch thu được bằng phương pháp HPLC.

Khảo sát điều kiện pha động: Mẫu thử được triển khai trong cùng điều kiện sắc ký; *Cột:* Cột Waters Nova-Pak C18, 150 x 3.9 mm, S/N: T92852R-05; *Pha động:* methanol - nước, rửa giải gradient; *Tốc độ dòng:* 1,0 mL/phút; *Đầu dò:* UV; *Bước sóng phát hiện dự kiến:* 310 nm; *Thể tích tiêm mẫu:* 5 μ L.

Biện luận chọn điều kiện sắc ký phù hợp

b. Khảo sát quy trình xử lý mẫu

Mẫu đối chiếu: Chuẩn bị theo yêu cầu của quy trình thẩm định.

**Khảo sát loại dung môi chiết*

Cân chính xác 100 g bột dược liệu cho vào bình chiết Soxhlet. Tiến hành chiết với methanol 100%, ethanol ở các nồng độ 96%-70%-50% ở 100°C trong 2 giờ. Dịch chiết thu được cô dưới áp suất giảm tới khi thu được cặn khô. Hòa tan 1g cặn lần lượt với 10 mL methanol 100%, lọc qua màng lọc 0,22 μ m.

Đánh giá kết quả bằng phương pháp HPLC, ghi nhận sắc ký đồ và các thông số peak. Dung môi chiết được chọn là dung môi chiết được nhiều chất đối chiếu.

** Khảo sát thời gian chiết*

Cân chính xác 100 g bột dược liệu cho vào bình chiết Soxhlet. Tiến hành chiết với dung môi đã chọn ở 100°C trong 30 phút, 1 giờ, 2 giờ và 3 giờ. Dịch chiết thu được cô dưới áp suất giảm tới khi thu được cặn khô. Hòa tan 1g cặn lần lượt với 10 mL methanol 100%, lọc qua màng lọc 0,22 μm .

Đánh giá kết quả bằng phương pháp HPLC, ghi nhận sắc ký đồ và các thông số peak. Thời gian chiết được chọn là thời gian chiết được nhiều chất đối chiếu nhất.

** Khảo sát nồng độ dung môi hòa tan cặn*

Cân chính xác 100 g bột dược liệu cho vào bình chiết Soxhlet. Tiến hành chiết với dung môi đã chọn ở 100°C trong thời gian đã chọn. Dịch chiết thu được cô dưới áp suất giảm tới khi thu được cặn khô. Hòa tan 1g cặn lần lượt với 10 mL mỗi dung môi methanol 50%, methanol 30%, methanol 10% và nước, lọc qua màng lọc 0,22 μm .

Đánh giá kết quả bằng phương pháp HPLC, ghi nhận sắc ký đồ và các thông số peak. Dung môi hòa tan cặn là dung môi chiết được tối đa chất đối chiếu và loại được tạp nhiều nhất.

** Khảo sát tỉ lệ dung môi hòa tan cặn*

Cân chính xác 100 g bột dược liệu cho vào bình chiết Soxhlet. Tiến hành chiết với dung môi đã chọn ở 100°C trong thời gian đã chọn. Dịch chiết thu được cô dưới áp suất giảm tới khi thu được cặn khô. Hòa tan cặn lần lượt với 10ml, 25 ml và 30 ml dung môi đã chọn, lọc qua màng lọc 0,22 μm .

Đánh giá kết quả bằng phương pháp HPLC, ghi nhận sắc ký đồ và các thông số peak. Tỉ lệ dung môi được chọn là tỉ lệ mà với lượng dung môi ít nhất hòa tan được hoàn toàn chất đối chiếu trong cặn.

2.2.1.5. Thẩm định quy trình định lượng

Tiến hành đánh giá quy trình định lượng theo hướng dẫn thẩm định quy trình phân tích của tổ chức ICH (International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use) ban hành vào tháng 11 năm 2005 [92].

a. Tính tương thích hệ thống

Tiến hành phân tích theo điều kiện sắc ký đã chọn 6 lần liên tiếp của một mẫu thử được xử lý theo quy trình xử lý mẫu đã xây dựng. Khảo sát các thông số: diện tích đỉnh (S), thời gian lưu (tR), hệ số bất đối xứng (As), độ phân giải (Rs) và số đĩa lý thuyết (N).

Yêu cầu:

- Giá trị RSD của các giá trị thời gian lưu, diện tích đỉnh, số đĩa lý thuyết, độ phân giải, hệ số bất đối $\leq 2\%$.

- Hệ số bất đối $0,8 \leq A_s \leq 1,5$. Độ phân giải $R_s \geq 1,5$. Số đĩa lý thuyết $N \geq 7000$.

b. Độ đặc hiệu

Tiến hành phân tích theo điều kiện sắc ký đã chọn các mẫu sau:

- Mẫu trắng: Dung môi hòa tan lại căn.
- Mẫu đối chiếu: Dung dịch chất đối chiếu.
- Mẫu thử: Dịch chiết được chuẩn bị theo quy trình xử lý mẫu đã xây dựng.
- Mẫu thử thêm chất đối chiếu: Mẫu thử thêm một lượng dung dịch đối chiếu có nồng độ 135 $\mu\text{g/mL}$.

Yêu cầu:

- Thời gian lưu của peak chất đối chiếu trong mẫu thử và mẫu thử thêm chất đối chiếu phải tương đương thời gian lưu của peak chất đối chiếu trong mẫu đối chiếu, đồng thời mẫu trắng không có peak trùng với pic chất đối chiếu.
- Trong mẫu thử thêm chất đối chiếu, peak chất đối chiếu có chiều cao và diện tích đỉnh tăng lên rõ rệt so với trước khi thêm dung dịch đối chiếu.
- Peak chất đối chiếu tách hoàn toàn các peak khác trong sắc ký đồ của mẫu thử và mẫu thử thêm chất đối chiếu.

c. Khoảng tuyến tính

Pha dung dịch gốc chất đối chiếu chất đối chiếu 1494 $\mu\text{g/mL}$: Cân chính xác 15 mg chất đối chiếu chất đối chiếu (độ tinh khiết 98,6%) cho vào bình định mức 10 mL, thêm methanol 100% để hòa tan và điền đầy tới vạch.

Tiến hành phân tích các dung dịch trên, ghi nhận kết quả diện tích peak. Thiết lập phương trình hồi quy và vẽ đồ thị biểu diễn mối tương quan giữa diện tích peak theo nồng độ.

Đánh giá tính tuyến tính bằng phương pháp thống kê:

Phương trình $y = ax + b$.

Yêu cầu: Phương trình hồi quy thể hiện mối tương quan giữa diện tích peak và nồng độ có $r^2 \geq 0,999$.

d. Độ lặp lại

Tiến hành phân tích theo điều kiện sắc ký đã chọn trên 6 mẫu thử (mỗi mẫu 1 lần) được xử lý theo quy trình xử lý mẫu đã xây dựng trong cùng 1 ngày, 1 phòng thiết bị và 1 người thực hiện.

Yêu cầu: RSD của các giá trị thời gian lưu, diện tích peak $\leq 2\%$.

Kết quả trung bình của độ lặp lại được dùng làm căn cứ cho mức hàm lượng của chỉ tiêu định lượng trong tiêu chuẩn kiểm nghiệm.

e. Độ đúng

Thêm một lượng chất đối chiếu với tỉ lệ lần lượt 80%, 100% và 120% so với hàm lượng chất đối chiếu trong mẫu vào mẫu được liệu đã biết hàm lượng. Mỗi nồng độ thực hiện 3 mẫu. Tiến hành xử lý mẫu theo quy trình xử lý mẫu đã xây dựng. Tiến hành phân tích theo điều kiện sắc ký đã chọn. Định lượng tìm lại hàm lượng chất đối chiếu đã thêm vào để xác định độ phục hồi.

Yêu cầu: Độ phục hồi ở từng tỉ lệ phải nằm trong khoảng 90 - 107%.

2.2.1.6. Xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm được liệu

Dựa trên các kết quả khảo sát về đặc điểm thực vật học, thử tinh khiết, định tính và định lượng, tiến hành thiết lập tiêu chuẩn kiểm nghiệm được liệu *Helicteres isora* L trồng ở Đắk Nông.

2.2.2. Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả li trích thu nhận cao chiết *Helicteres isora* L

2.2.2.1. Khảo sát phương pháp chiết

- Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 2 nghiệm thức và 3 lần lặp lại, sử dụng dung môi ethanol 70% để li trích.

- Các nghiệm thức thí nghiệm:

+ Phương pháp ngâm kiệt: 10g nguyên liệu được cho vào bình nón, thêm 30ml ethanol 70%, ngâm lạnh 4 giờ và bắt đầu mở van rút dịch chiết, thêm 90ml dung môi để chiết kiệt hàm lượng hoạt chất trong nguyên liệu, thu dịch chiết.

+ Phương pháp ngâm dầm: 10g nguyên liệu ngâm trong 30ml dung môi ethanol 70% 24 giờ, lọc thu dịch, lặp lại 2 lần, gộp phần dịch cô quay đến thể tích nhất định.

- Chỉ tiêu theo dõi: hàm lượng phenolic, p-coumaric acid trong dịch chiết.

Xử lí số liệu: số liệu được thu nhận và xử lí bằng chương trình Excel và phần mềm STATGRAPHICS 19.

2.2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hiệu quả thu nhận hợp chất từ nguồn nguyên liệu

- Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 4 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Sử dụng phương pháp tối ưu đã khảo sát để li trích, thay đổi nồng độ dung môi.

- Các nghiệm thức thí nghiệm:

+ Nước

+ Ethanol 50%.

+ Ethanol 70%.

+ Ethanol 96%.

- Phương pháp tiến hành: Sử dụng phương pháp tối ưu để khảo sát hiệu quả thu nhận hoạt chất trong dịch chiết

- Chỉ tiêu theo dõi: hàm lượng phenolic, p-coumaric acid trong dịch chiết.

Xử lý số liệu: số liệu được thu nhận và xử lý bằng chương trình Excel và phần mềm STATGRAPHICS 19.

2.2.2.3. Khảo sát tỉ lệ nguyên liệu/dung môi đến hiệu quả thu nhận hợp chất từ nguồn nguyên liệu

- Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 4 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Sử dụng phương pháp và dung môi tối ưu cho sự li trích phenolic và p-coumaric acid trong nguyên liệu đã khảo sát để li trích, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi thay đổi.

- Các nghiệm thức thí nghiệm: tỉ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml)

+ 1/5

+ 1/10

+ 1/15

+ 1/20

+1/25

- Phương pháp tiến hành: Sử dụng phương pháp và dung môi tối ưu ở mục trên để khảo sát hiệu quả thu nhận hoạt chất trong dịch chiết

- Chỉ tiêu theo dõi: hàm lượng phenolic, p-coumaric acid trong dịch chiết.

Xử lý số liệu: số liệu được thu nhận và xử lý bằng chương trình Excel và phần mềm STATGRAPHICS 19

2.2.2.4. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cao chiết

Theo tiêu chuẩn cơ sở, việc kiểm nghiệm cao dược liệu bao gồm các chỉ tiêu sau: mất khối lượng do làm khô, tro toàn phần, hàm lượng kim loại nặng, giới hạn nhiễm khuẩn, dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật, hàm lượng phenolic tổng số và p-coumaric acid. Các chỉ tiêu được kiểm nghiệm dựa theo DDVN V.

a. Mất khối lượng do làm khô: thực hiện theo hướng dẫn của DDVN V, phụ lục 9.6.

Dùng dụng cụ dùng để sấy bằng thủy tinh rộng miệng đáy bằng có nắp mài làm bì đựng mẫu thử, làm khô bì trong thời gian 30 phút rồi cân để xác định khối lượng bì. Cân ngay vào bì một lượng chính xác mẫu thử, mẫu thử được nghiền tới kích thước dưới 2 mm và dàn mỏng thành lớp có độ dày không quá 5 mm, lượng đem thử từ 3 đến 5 gram. Tiến hành làm khô trong điều kiện quy định của chuyên luận đến khối

Phương trình đường chuẩn phloroglucinol có dạng $y = ax + b$.

Trong đó,

x (mg/ml): khối lượng phenolic thu được trên một ml mẫu

y: giá trị OD của mẫu đo được ở bước sóng $\lambda = 740 \text{ nm}$.

Hàm lượng phenolic tổng số thu được trong một gram cao chiết được tính như sau:

$$X = \frac{x \cdot m_1 \cdot k}{2}$$

Trong đó,

k: hệ số pha loãng cao chiết.

m_1 (mg): khối lượng cao chiết thu được từ 2 gram bột khô.

x (mg/ml): nồng độ phenolic của dịch chiết.

X (mg/g): hàm lượng phenolic thu được trong 1 gram bột khô.

***Xác định hàm lượng p-coumaric acid:**

Định lượng p-coumaric acid trong dịch chiết phần trên mặt đất cây *Helicteres isora* L bằng phương pháp HPLC với chất chuẩn p-coumaric acid Sử dụng hệ thống HPLC Water, cột C18 (4.6×250 mm, 5 μm) ở 30°C, đầu dò UV-VIS xác định ở bước sóng 310 nm. Pha động sử dụng dung môi nước: methanol:glacial acetic acid (65:34:1). Tốc độ dòng 1.0 ml/phút và thể tích mẫu tiêm là 10 μl

d. Hàm lượng kim loại nặng

Thực hiện theo hướng dẫn của DDVN V, phụ lục 9.4.8.

Có 8 phương pháp xác định hàm lượng kim loại nặng. Các phương pháp yêu cầu dùng dung dịch thioacetamid (TT). Có thể dùng dung dịch natri sulfid (TT) (0,1 ml) để thay thế. Vì các phương pháp được xây dựng dựa trên sử dụng dung dịch thioacetamid (TT) nên nếu sử dụng dung dịch natri sulfid (TT) thay thế thì phải chuẩn bị thêm dung dịch kiểm tra khi thử theo phương pháp 1, 2 và 8. Dung dịch kiểm tra được chuẩn bị từ lượng chế phẩm giống như lượng chế phẩm dùng để chuẩn bị dung dịch thử và thêm thể tích dung dịch chì mẫu giống như thể tích dung dịch chì mẫu dùng để chuẩn bị dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch kiểm tra có màu đậm ít nhất là bằng màu của dung dịch đối chiếu.

e. Giới hạn nhiễm khuẩn

Thực hiện theo hướng dẫn của DDVN V, phụ lục 13.6.

Mỗi mẫu chế phẩm cần xác định giới hạn vi khuẩn phải thực hiện đầy đủ các thử nghiệm sau:

Đếm tổng số vi sinh vật hiếu khí sống lại được, tính ra số lượng vi khuẩn, nấm có

trong 1g hoặc 1ml chế phẩm. Thử nghiệm tìm ra những vi khuẩn gây bệnh: *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*...

f. Dur lượng hóa chất bảo vệ thực vật

Thực hiện theo hướng dẫn của DĐVN V, phụ lục 12.17. Kiểm tra dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật trong nguyên liệu: hàm lượng thuốc bảo vệ thực vật lân, carbamate, clo hữu cơ, họ cúc, thuốc trừ cỏ, thuốc bảo vệ thực vật, phthalate, polychlorinated biphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons, bromua vô cơ.

Mẫu cần được phân tích ngay để tránh hóa chất bảo vệ thực vật có thể bị phân hủy. Nếu như không tiến hành phân tích ngay được, mẫu phải được bảo quản kín trong bao bì loại thích hợp dùng để đựng thực phẩm, ở nhiệt độ dưới 0°C và tránh ánh sáng.

Tất cả các thuốc thử và dung môi không được nhiễm hóa chất bảo vệ thực vật. Nếu có thể, thường phải sử dụng các dung môi loại chất lượng đặc biệt, nếu không, các dung môi sử dụng cần phải mới được cất lại trong dụng cụ hoàn toàn bằng thủy tinh. Trong bất cứ trường hợp nào, cũng cần phải thực hiện kiểm tra mẫu trắng.

Rửa sạch dụng cụ, đặc biệt đối với dụng cụ thủy tinh để đảm bảo chúng sạch không có hóa chất bảo vệ thực vật, ví dụ ngâm trong dung dịch xà phòng không có phosphat ít nhất 16 h, rửa bằng nước cất nhiều lần đến sạch, tráng rửa bằng acetone và hexan hoặc heptan.

2.2.3. Nghiên cứu tạo bột hòa tan bằng kỹ thuật sấy phun

Sự ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến quá trình tạo bột hòa tan cây *Helicteres isora* L được đánh giá thông qua: hàm ẩm, hiệu suất thu phenolic, hiệu suất sấy, tỷ trọng biểu kiến, Chỉ số CI, tính hút ẩm, hàm lượng tro tổng số, độ hòa tan, chỉ tiêu cảm quan,...

2.2.3.1. Khảo sát nồng độ dịch cao chiết

- Mục tiêu: Xác định nồng độ chất hòa tan của cao chiết *Helicteres isora* L phù hợp để tạo bột hòa tan.

- Bố trí thí nghiệm: Bố trí thí nghiệm theo kiểu đơn nhân tố

Nhân tố: Số mức độ về nồng độ chất hòa tan (5, 10, 15, 20 °Bx);

Số nghiệm thức: 4;

Số lần lặp lại: 3;

Tổng số đơn vị thí nghiệm: 12;

Chỉ tiêu theo dõi: Hiệu suất sấy (%); hiệu suất thu hồi (%); hàm lượng phenolic (mg/g); hàm ẩm (%); tính hút ẩm (g/100g chất rắn khô); độ hòa tan (%); chỉ số nén (%).

- Cách tiến hành: Dịch cao chiết có nồng độ chất hòa tan khác nhau: 5, 10, 15, 20 (°Bx). Tiến hành thí nghiệm với nhiệt độ dòng khí vào lần lượt là 180°C. Các thông số còn lại của thiết bị sấy là áp suất khí nén $p = 3$ bar và lưu lượng dòng nhập liệu 12,5 ml/phút. Bột cao khô sấy phun thu nhận ở các điều kiện khác nhau được phân tích để chọn ra điều kiện thích hợp.

2.2.3.2. Khảo sát loại và tỷ lệ chất mang (maltodextrin)

- Mục tiêu: Xác định tỷ lệ chất mang và loại chất phù hợp để tạo bột hòa tan.

- Bố trí thí nghiệm: Bố trí thí nghiệm theo kiểu

Nhân tố 1: Số mức độ về tỷ lệ chất mang (5, 10, 15, 20 %);

Số nghiệm thức: 4

Số lần lặp lại: 3;

Tổng số đơn vị thí nghiệm: 12

Chỉ tiêu theo dõi: Hiệu suất sấy (%); hiệu suất thu hồi (%); hàm lượng phenolic (mg/g); hàm ẩm (%); tính hút ẩm (g/100g chất rắn khô); độ hòa tan (%); chỉ số nén (%).

- Cách tiến hành: Các chất mang (maltodextrin) được bổ sung vào dịch chiết trước khi sấy nhằm mục đích tăng nồng độ chất khô (°Bx), tạo điều kiện cho quá trình sấy phun được thực hiện dễ dàng hơn. Ngoài ra, sản phẩm trà hòa tan không chỉ yêu cầu hàm lượng chất chiết có giá trị cao mà còn cần có trạng thái đặc trưng như độ mịn, toi xốp, có khả năng hòa tan tốt trong nước. Vì vậy, cần tiến hành khảo sát để tìm tỷ lệ phối trộn thích hợp với chất mang là maltodextrin (5, 10, 15, 20%). Bột cao khô sấy phun thu nhận ở các điều kiện khác nhau được phân tích để chọn ra điều kiện thích hợp.

2.2.3.3. Khảo sát nhiệt độ sấy

- Mục tiêu: Xác định nhiệt độ sấy phù hợp để tạo bột

- Bố trí thí nghiệm: Bố trí thí nghiệm theo kiểu đơn nhân tố

Nhân tố: Số mức độ về nhiệt độ sấy (160, 170, 180, 190, 200 °C);

Số nghiệm thức: 5;

Số lần lặp lại: 3;

Tổng số đơn vị thí nghiệm: 15;

Chỉ tiêu theo dõi: Hiệu suất sấy (%); hiệu suất thu hồi (%); hàm lượng phenolic (mg/g); hàm ẩm (%); tính hút ẩm (g/100g chất rắn khô); độ hòa tan (%); chỉ số nén (%).

- Cách tiến hành: Hỗn hợp chất cao và chất mang đã chọn được tiến hành khảo sát nhiệt độ dòng khí vào, vì nhiệt độ dòng khí ra phụ thuộc nhiều yếu tố. Tiến hành thí nghiệm với các nhiệt độ dòng khí vào lần lượt là 160°C, 170°C, 180°C, 190°C và

200°C. Các thông số còn lại của thiết bị sấy là áp suất khí nén $p = 3$ bar và lưu lượng dòng nhập liệu 12,5 ml/phút. Bột hòa tan sấy phun thu nhận ở các điều kiện khác nhau được phân tích để chọn ra điều kiện thích hợp.

2.2.3.4. Khảo sát lưu lượng dịch cao chiết.

- Mục tiêu: Xác định lưu lượng dịch cao chiết phù hợp để tạo bột hòa tan.

- Bố trí thí nghiệm: Bố trí thí nghiệm theo kiểu đơn nhân tố

Nhân tố: Số mức độ về lưu lượng dịch cao chiết (9,25; 12,5; 16,5 và 20 ml/phút)

Số nghiệm thức: 4;

Số lần lặp lại: 3;

Tổng số đơn vị thí nghiệm: 12;

Chỉ tiêu theo dõi: Hiệu suất sấy (%); hiệu suất thu hồi (%); hàm lượng phenolic (mg/g); hàm ẩm (%); tính hút ẩm (g/100g chất rắn khô); độ hòa tan (%); chỉ số nén (%).

- Cách tiến hành: Lưu lượng nhập liệu có liên quan đến tốc độ bơm nhập liệu, năng suất thiết bị và nhiệt độ không khí đầu ra. Khảo sát ở các lưu lượng nhập liệu lần lượt là: 9,25; 12,5; 16,5 và 20 ml/phút. Các thông số thí nghiệm giữ không thay đổi là áp suất khí nén $p=3,5$ bar. Bột hòa tan sấy phun thu nhận ở các điều kiện khác nhau được phân tích để chọn ra điều kiện thích hợp.

Phương pháp đánh giá chỉ tiêu chất lượng của bột hòa tan *Helicteres isora* L:

- Hàm ẩm: thử theo PL9.6 (ĐĐVN V): Cân khoảng 1 - 2 g bột hòa tan sấy ở 105°C ở áp suất thường đến khối lượng không đổi. Mỗi mẫu tiến hành 3 lần.

- Tỷ trọng biểu kiến (g/ml) và chỉ số nén CI: cân khoảng 4 - 5 g bột nguyên liệu, cho vào ống đong 25 ml khô sạch, đọc thể tích V1 (ml), gõ đến thể tích không đổi và đọc thể tích V2 (ml). Tỷ trọng đồ đầy (Db) và tỷ trọng biểu kiến (Dt) được xác định là tỷ số giữa khối lượng (g) và thể tích bột (ml). Mỗi mẫu tiến hành 3 lần. Chỉ số nén CI tính theo biểu thức:

$$CI = \frac{Dt - Db}{Dt} \times 100$$

* Đánh giá khả năng trơn chảy theo chỉ số CI theo USP (**bảng 2.3**):

Bảng 2.3. Thông số chỉ số nén CI đặc trưng cho đặc tính trơn chảy.

STT	Chỉ số nén CI	Đặc tính trơn chảy
1	< 10	Rất tốt
2	11 - 15	Tốt
3	16 - 20	Khá
4	21 - 25	Trơn chảy được
5	26 - 31	Kém trơn chảy
6	32 - 37	Rất kém
7	> 38	Rất, rất kém

- Hàm lượng phenolic (theo phương pháp của Moon và cộng sự, 2010) [93].
- Tính hút ẩm: cho khoảng 2 g mẫu bột sấy phun vào đĩa petri, bảo quản trong bình hút ẩm ở 25°C và độ ẩm tương đối 75,29% (tạo ra bằng dung dịch NaCl bão hòa). Sau 7 ngày, xác định lại khối lượng các mẫu bột. Tính hút ẩm của bột được biểu thị bằng số gam nước hấp thu trên 100 g chất rắn khô. Mỗi mẫu tiến hành 3 lần [94].
 - Hiệu suất (HS) thu hồi phenolic và hiệu suất phun sấy (HSPS): là tỷ lệ (%) hàm lượng phenolic hoặc khối lượng sản phẩm thu được so với lý thuyết.
 - Xác định độ hòa tan (WSI) của bột :
100 mg mẫu được trộn với 10 ml nước cất và hỗn hợp được khuấy trong máy khuấy từ trong 2-5 phút. Sau đó, dung dịch được ly tâm ở 3000 vòng trong 10 phút. 1 ml dịch sau khi ly tâm được chuyển sang đĩa petri đã được cân trước và sấy khô ở 105°C cho đến khi đạt được khối lượng không đổi. Độ hòa tan được tính bằng tỷ lệ giữa khối lượng chất khô trong dịch hòa tan và khối lượng mẫu ban đầu [95].
 - Phân tích vi sinh: Xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* và tổng số bào tử nấm men – nấm mốc theo TCVN 5287:1994.

2.2.4. Sản xuất bột hòa tan *Helicteres isora* L

2.2.4.1. Quy trình sản xuất bột hòa tan *Helicteres isora* L Quy trình sản xuất bột hòa tan được xây dựng dựa trên các điều kiện chiết xuất đã khảo sát, chọn lựa trong điều kiện phòng thí nghiệm. Các thông số quy trình được điều chỉnh để phù hợp với quy mô lớn hơn.

2.2.4.2. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở bột hòa tan *Helicteres isora* L

Kiểm nghiệm 3 lô bột hòa tan *Helecteris isora* L

Độ ẩm

Tiến hành theo DĐVN V, phụ lục 9.6.

Tro toàn phần

Tiến hành theo DĐVN V, phụ lục 9.8, phương pháp 1.

Tro không tan trong acid

Tiến hành theo DĐVN V, phụ lục 9.7, phương pháp 1.

Kim loại nặng

Tiến hành theo DĐVN V, phụ lục 9.4.8.

Giới hạn nhiễm khuẩn

Tiến hành theo DĐVN V, phụ lục 13.6.

Định tính

Phương pháp SKLM

Bản mỏng: Silica gel F254

Dung môi khai triển: Cloroform - Acid acetic (9:1).

Dung dịch thử: Cân khoảng 0,5 g hòa tan, thêm 10 mL methanol (TT), siêu âm 10 phút, lọc. Lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan chất đối chiếu trong methanol (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,2 mg/mL.

Tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 25 μ L mỗi dung dịch trên. Tiến hành triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm và 365 nm. Sau đó, phun dung dịch acid sulfuric 10% trong ethanol (TT), sấy khô ở 105 °C cho đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của chất đối chiếu.

Định lượng

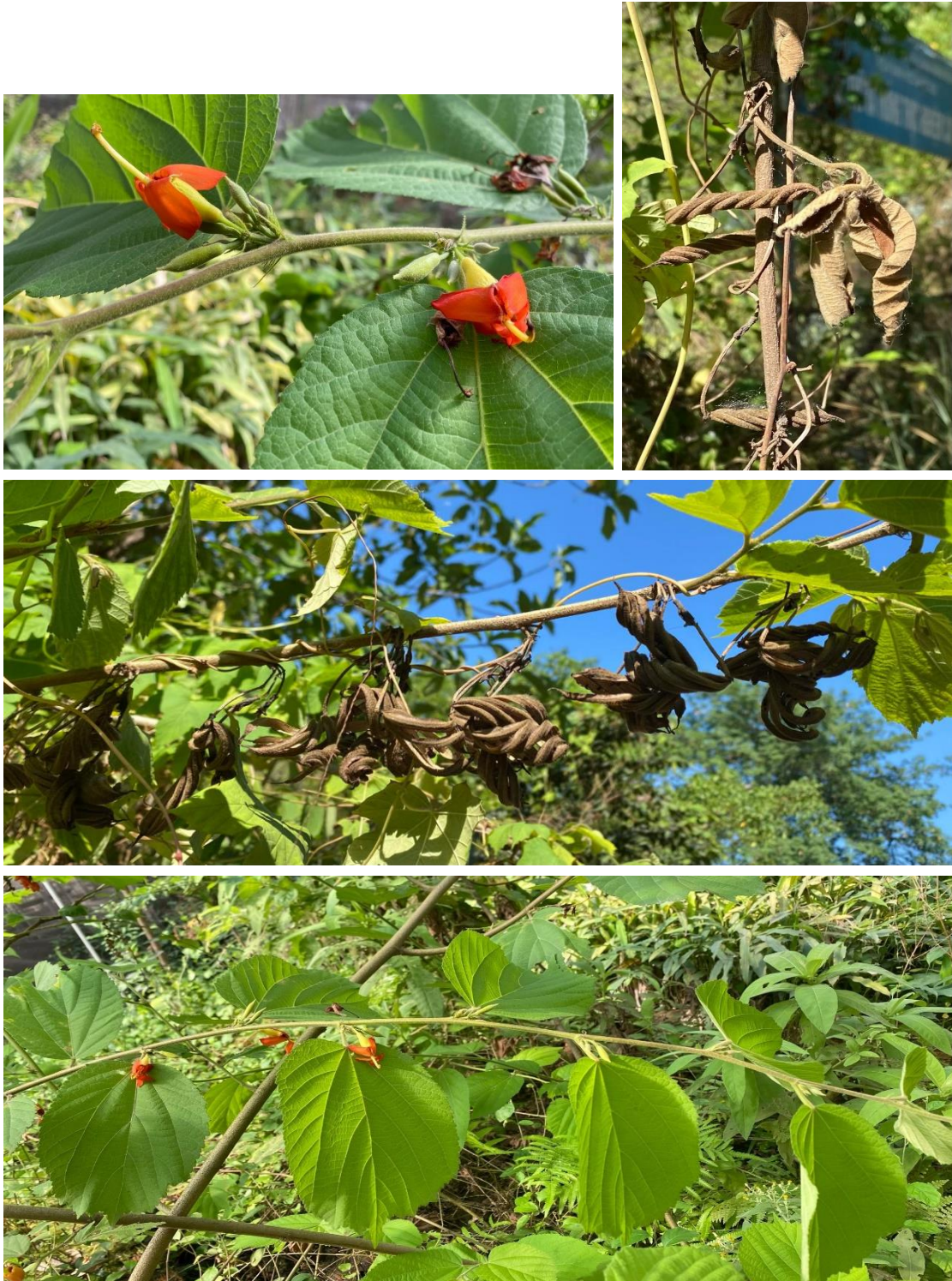
Theo phương pháp xác định hàm lượng phenolic (theo phương pháp của Moon và cộng sự, 2010) [93].

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xây dựng tiêu chuẩn cho chỉ tiêu đặc điểm thực vật học kiểm nghiệm dược liệu

3.1.1. Xây dựng tiêu chuẩn cho chỉ tiêu đặc điểm thực vật học

3.1.1.1. Đặc điểm hình thái



Hình 3.1: Hình thân, lá, hoa, quả của cây *Helicteres isora* L

Thân cây *Helicteres isora* L. có màu xanh nâu ở thân già, bề mặt xù xì và tiết diện gần tròn, trong khi cành non có màu xanh lục, bao phủ bởi nhiều lông. Những đặc điểm này không chỉ giúp cây tăng cường khả năng thích nghi với điều kiện môi trường khô hạn mà còn giúp bảo vệ thân khỏi sự tấn công của sâu bệnh và vi khuẩn.

Lớp vỏ thân xù xì và màu xanh nâu ở thân già cho thấy sự hình thành của mô bần dày, đóng vai trò bảo vệ thân khỏi sự mất nước, giảm thiểu sự bốc hơi và tạo lớp rào chắn chống lại các tác nhân ngoại cảnh như vi khuẩn, nấm và côn trùng gây hại. Điều này đặc biệt quan trọng đối với cây mọc trong điều kiện thổ nhưỡng khô cằn hoặc vùng bán khô hạn.

Hoa nhỏ có 3 cánh màu cam, nhụy có màu xanh vượn dài, hoa mọc ở giữa cuống lá và cành,

Quả lúc non màu xanh hình trụ xoắn tròn đường kính 1cm, dài khoảng 5cm, quả chuyển màu nâu khi già.

Ở cành non, sự xuất hiện của nhiều lông mịn màu xanh lục là một đặc điểm quan trọng giúp cây giảm sự thoát hơi nước qua biểu bì, duy trì độ ẩm cần thiết cho quá trình sinh trưởng. Lông trên bề mặt cành cũng có thể giúp hạn chế sự xâm nhập của vi khuẩn và côn trùng, đóng vai trò như một cơ chế bảo vệ tự nhiên.

Tiết diện thân gần tròn giúp tối ưu hóa khả năng vận chuyển nước và chất dinh dưỡng từ rễ lên lá, đảm bảo cây có thể duy trì các hoạt động sinh lý ngay cả khi gặp điều kiện bất lợi về môi trường.

Lá cây *Helicteres isora* L. là lá đơn, mọc so le, hình trứng, có chiều dài từ 0-18cm, rộng 5-10 cm, lá trưởng thành từ 10cm trở lên, rộng 5cm trở lên, một kiểu sắp xếp giúp cây tối ưu hóa khả năng tiếp nhận ánh sáng mặt trời, tránh hiện tượng che khuất lẫn nhau giữa các lá, từ đó tăng hiệu suất quang hợp.

Phiến lá có hình trứng hoặc hình bầu dục, đầu tù, với màu xanh lục ở cả hai mặt. Đây là đặc điểm quan trọng giúp lá hấp thụ ánh sáng hiệu quả, nhờ vào hàm lượng diệp lục cao, góp phần vào quá trình tổng hợp chất dinh dưỡng cho cây.

Một trong những đặc điểm nổi bật của lá cây *Helicteres isora* L. là mép lá có khía răng nhọn không đều nhau. Cấu trúc mép lá này mang lại nhiều lợi ích sinh học:

- Tăng diện tích bề mặt lá, giúp tăng cường sự trao đổi khí và thoát hơi nước, từ đó điều chỉnh nhiệt độ của lá và duy trì cân bằng nước trong cây.
- Giảm lực cản của gió, giúp lá tránh bị rách hoặc tổn thương khi có gió mạnh, đặc biệt trong điều kiện môi trường khô cằn.
- Cải thiện hiệu quả quang hợp bằng cách điều chỉnh góc tiếp xúc ánh sáng giữa phiến lá và mặt trời, tăng cường sự hấp thụ ánh sáng ở những mức độ khác nhau trong ngày.

Đáng chú ý, bề mặt lá có nhiều lông ở cả hai mặt, giúp cây giảm sự mất nước trong điều kiện thời tiết khô hạn. Các lông này tạo thành một lớp bảo vệ tự nhiên, giúp:

- Ngăn chặn sự thoát hơi nước quá mức, duy trì độ ẩm cho lá ngay cả trong điều kiện nhiệt độ cao.
- Bảo vệ lá khỏi sự tấn công của côn trùng và vi khuẩn, giảm thiểu nguy cơ nhiễm bệnh từ môi trường.
- Phản xạ một phần ánh sáng mặt trời, giúp lá tránh bị quá nhiệt khi tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mạnh.

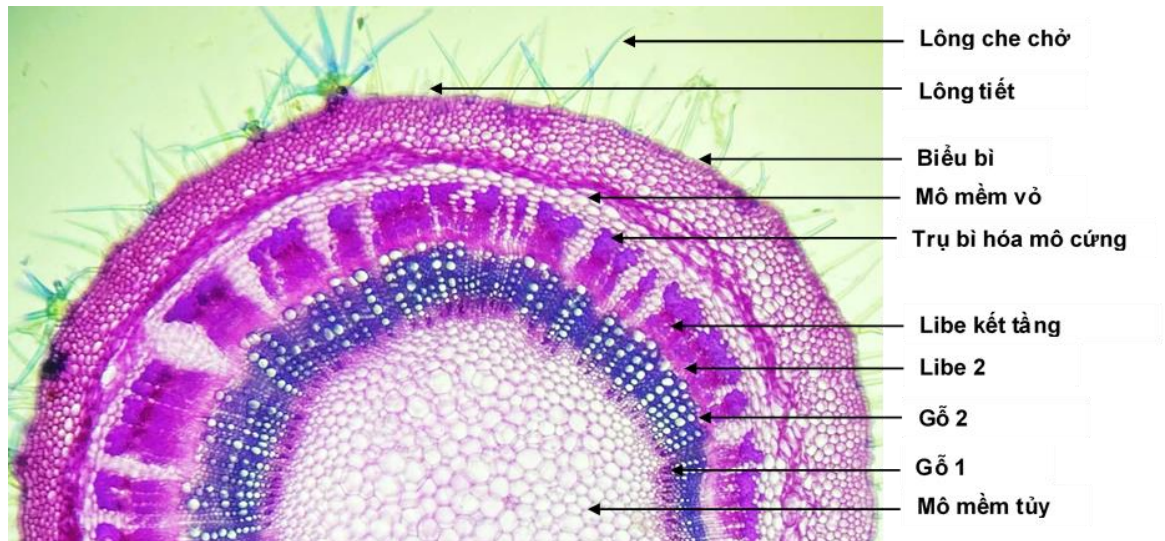


Hình 3.2. Hình thái thân và lá cây *Helicteres isora* L.

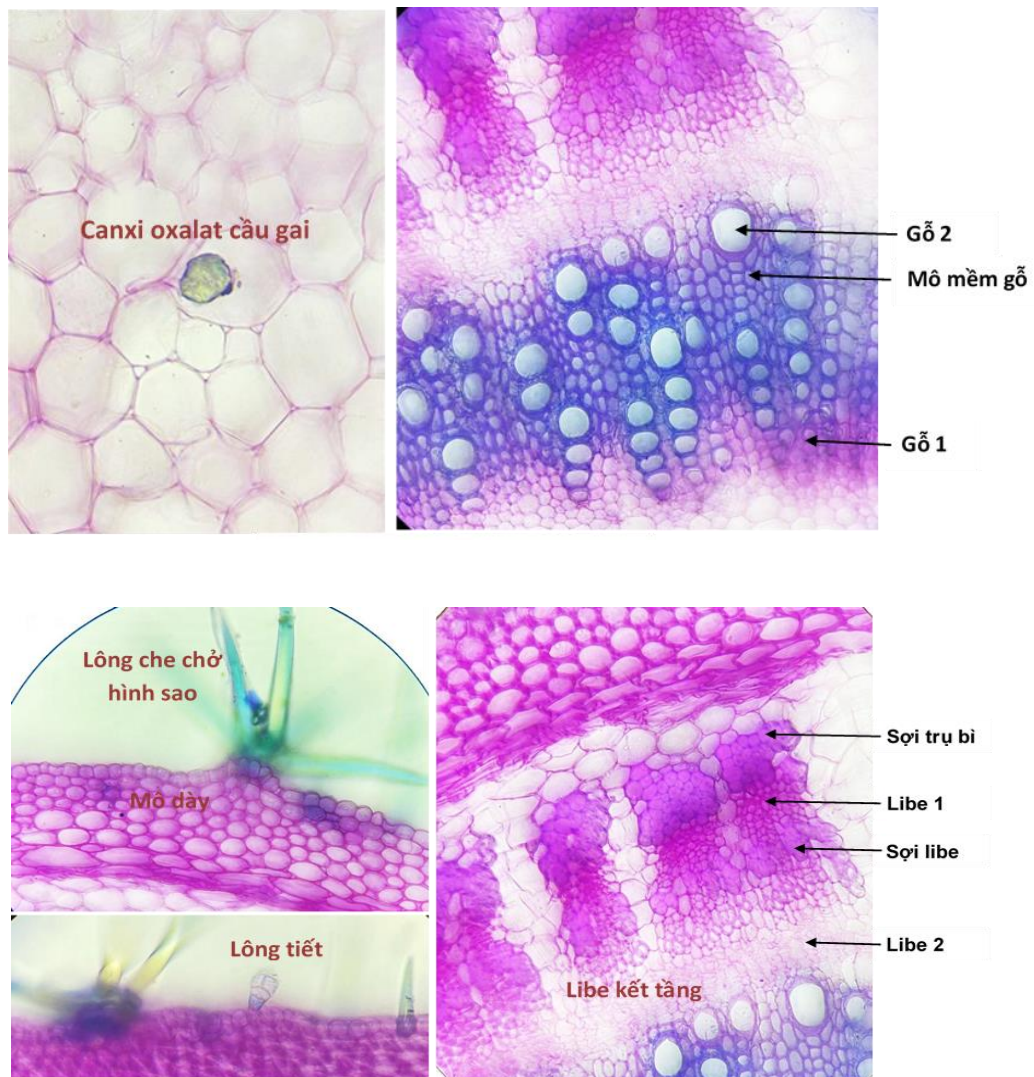
3.1.1.2. Đặc điểm vi phẫu thân

Thân: Vi phẫu thân hình gần tròn. Biểu bì gồm 1 lớp, tế bào hình chữ nhật, kích thước không đều. Lông che chở rất nhiều, đơn bào riêng lẻ hoặc chụm lại thành chùm hình sao nằm ngoài biểu bì. Lông tiết nằm rải rác, có chân đơn bào hay đa bào 1 dãy, đầu đa bào. Mô dày góc gồm 5-7 lớp, tế bào hình đa giác, có kích thước không đều. Mô mềm vỏ có đạo, ngoài cùng 2-3 lớp, tế bào hình chữ nhật bị biến dạng xẹp xuống,

kích thước không đều, vết tích sẽ xuất hiện của tầng phát sinh bản lục bì, kể đến 2-3 lớp, tế bào hình bầu dục xếp lộn xộn. Nội bì không rõ. Trụ bì hóa mô cứng hợp thành từng đám nằm tương ứng với libe 1 ở dưới. Libe kết tầng gồm libe 1, sợi libe, libe 2. Libe kết tầng tụ lại thành đám 3-5 bó, tạo thành 1 vòng rất đặc biệt, giữa các bó libe kết tầng là mô mềm hình chữ nhật, to nhỏ không đều, xếp dãy xuyên tâm. Libe 1 tế bào hình đa giác, vách cellulose hơi uốn lượn, kích thước nhỏ và không đều, xếp lộn xộn thành từng cụm. Sợi tế bào hình đa giác, kích thước nhỏ, xếp thành từng cụm nhỏ trong libe. Libe 2 gồm 5-7 lớp, tế bào hình chữ nhật hay hình đa giác, vách cellulose hơi uốn lượn, xếp dãy xuyên tâm. Tinh thể canxi oxalat hình cầu gai nhỏ nằm rải rác trong vùng libe 1 và sợi libe. Vùng gỗ dày bằng vùng libe kết tầng. Mạch gỗ 2 hình đa giác, kích thước to và không đều, xếp lộn xộn trong vùng mô mềm gỗ 2; mô mềm gỗ 2 nhiều lớp, tế bào hình đa giác, vách tẩm gỗ, kích thước không đều, xếp dãy xuyên tâm với libe 2. Tia tủy 1-2 dãy, tế bào hình đa giác thuôn, kích thước không đều, xếp dãy xuyên tâm. Gỗ 1 phân bố đều, mỗi bó có 2-4 mạch, mạch gỗ 1 hình đa giác; mô mềm gỗ 1 tế bào hình đa giác, vách cellulose hay tẩm gỗ, kích thước không đều, xếp lộn xộn quanh mạch gỗ 1. Mô mềm tủy có đạo, nhiều lớp, tế bào hình đa giác, kích thước to dần từ ngoài vào trong, xếp lộn xộn, vùng mô mềm tủy có ít calci oxalat hình cầu gai.



Hình 3.3. Vi phẫu thân *Helicteres isora* L.



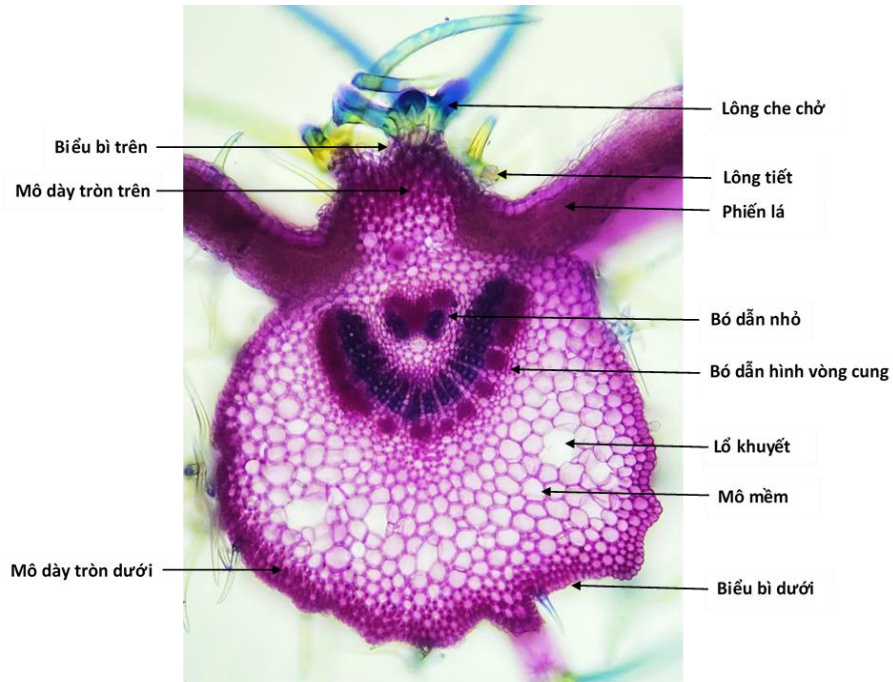
Hình 3.4. Đặc điểm chi tiết thân *Helicteres isora* L.

3.1.1.3. Đặc điểm vi phẫu lá

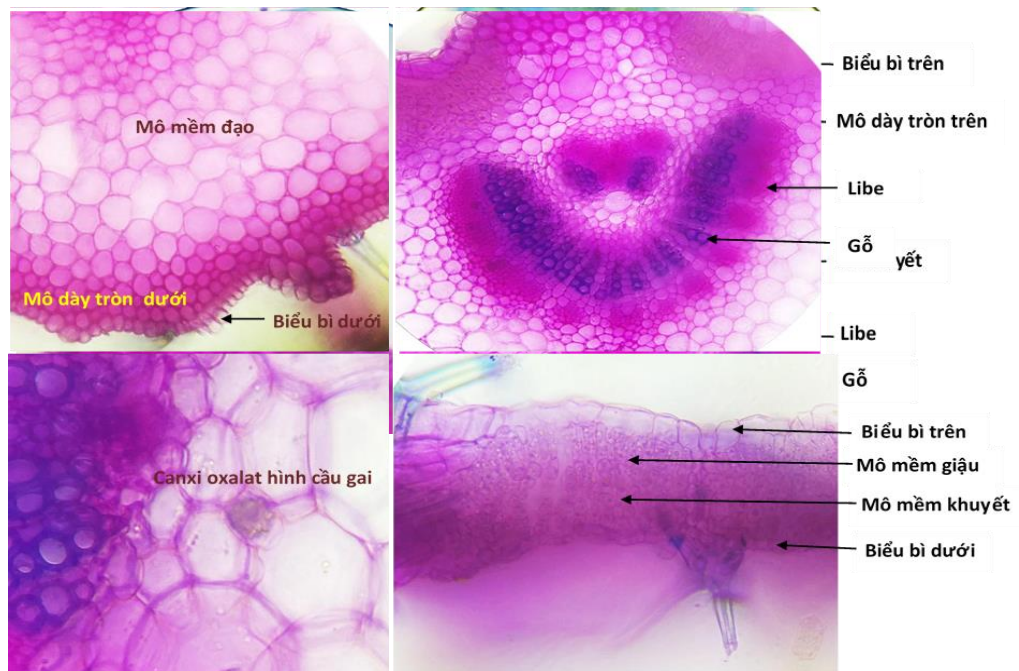
Gân giữa: Gân có 2 mặt lồi, mặt dưới lồi nhiều hơn mặt trên. Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm 1 lớp, tế bào hình đa giác, vách cellulose, kích thước không đều, có rất nhiều lông che chở và rải rác lông tiết. Lông che chở đơn bào riêng lẻ hoặc chụm lại thành chùm hình sao. Lông tiết chân đơn bào, hay đa bào 1 dãy, đầu đa bào. Mô dày tròn trên 3-5 lớp và mô dày tròn dưới 2-4 lớp, tế bào hình đa giác, những lớp tế bào gần biểu bì có kích thước nhỏ hơn. Mô mềm hình đa giác gồm 3-6 lớp tế bào dưới mô dày trên và gồm 3-8 lớp tế bào trên mô dày dưới, mô mềm là những tế bào kích thước không đều. Bó dẫn hình vòng cung, gỗ ở trên, libe ở dưới. Mạch gỗ hình đa giác, xếp thành dãy 3-5 mạch và to dần từ trên xuống dưới. Mô mềm gỗ tế bào hình đa giác, vách cellulose, kích thước không đều, xếp thành 1-3 dãy nằm xen kẽ các dãy mạch gỗ. Libe tế bào hình đa giác, vách cellulose hơi uốn lượn, kích thước nhỏ và không đều, xếp lộn xộn. Trong vùng libe có ít tinh thể calci oxalat hình cầu gai nhỏ. Phía trên bó dẫn hình vòng cung có 2 bó dẫn nhỏ, libe trên, gỗ dưới. Xung quanh bó

dẫn hình vòng cung là những tế bào mô mềm, thỉnh thoảng có đạo và khuyết. Phía trên 2 bó dẫn nhỏ có 1 khuyết.

Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới 1 lớp, tế bào hình đa giác, kích thước không đều, biểu bì trên to hơn biểu bì dưới, mang rất nhiều lông che chở và rải rác các lông tiết giống như ở phần gân giữa. Mô mềm giậu 2 lớp ở trên. Mô mềm khuyết ở phía dưới. Phần phiến lá mang nhiều lục lạp.

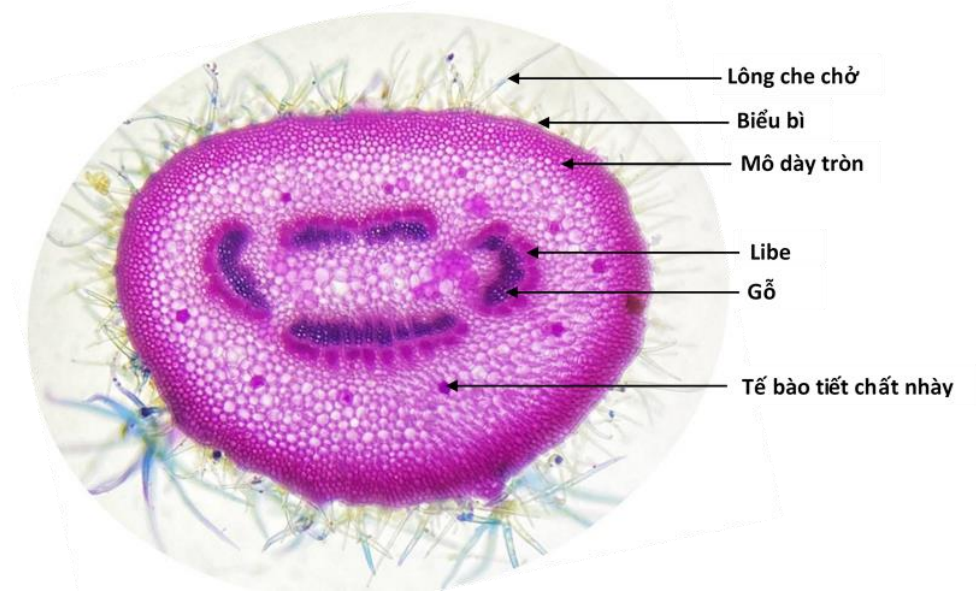


Hình 3.5. Vi phẫu lá *Helicteres isora* L.



Hình 3.6. Đặc điểm gân giữa và phiến lá an xoa

Hình
Vi phẫu
cuống

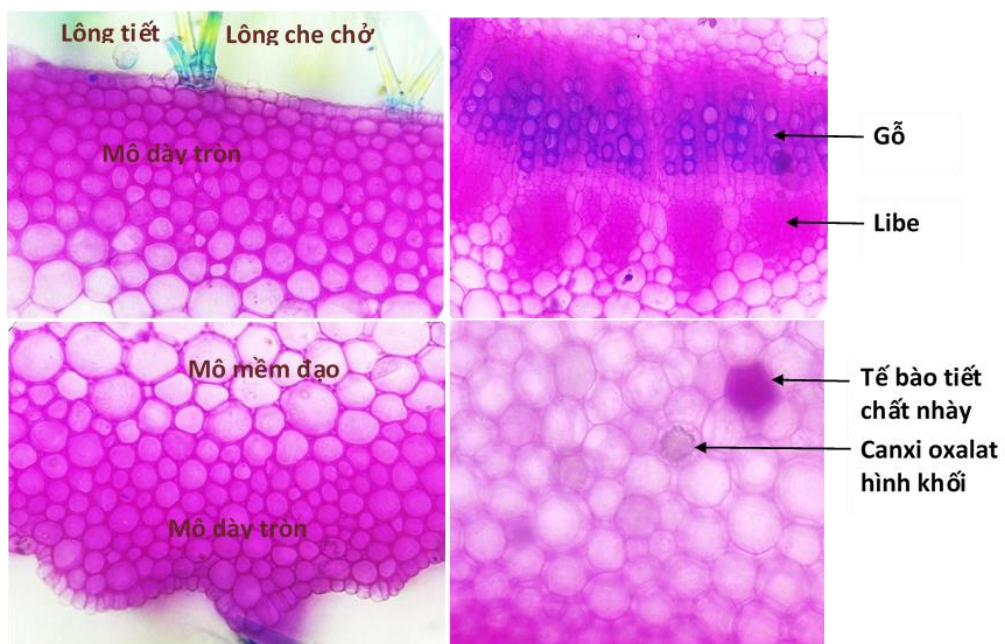


3.7.

lá

Helicteres isora L.

Cuống lá: Vi phẫu hình bầu dục. Biểu bì tế bào hình đa giác, kích thước không đều, mang nhiều lông che chở và rải rác các lông tiết giống như ở phần gân giữa. Mô dày tròn gồm 6-8 lớp, tế bào hình đa giác, kích thước không đều, xếp lộn xộn. Mô mềm đạo nhiều lớp, tế bào hình đa giác, kích thước không đều, xếp lộn xộn. Vùng mô mềm rải rác các tế bào tiết chất nhày và tinh thể canxi oxalat hình cầu gai nhỏ. Vòng libe gỗ không liên tục, tụ thành từng bó, libe ở ngoài, gỗ ở trong. Mạch gỗ hình đa giác, xếp thành dãy 4-6 mạch và to dần từ trên xuống dưới. Libe tế bào hình đa giác, vách hơi uốn lượn, kích thước nhỏ và không đều, xếp lộn xộn.

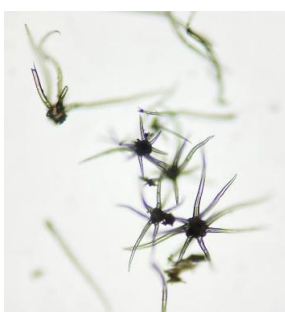


Hình 3.8. Đặc điểm chi tiết cuống lá *Helicteres isora* L.

3.1.1.3. Đặc điểm bột dược liệu



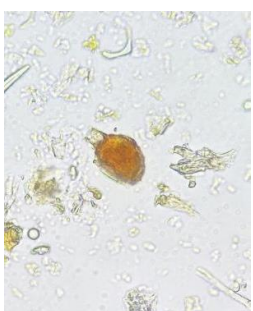
Mẫu bột
Helicteres isora
L.



Lông che chở hình sao



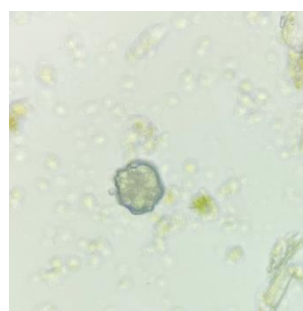
Lông che chở đơn
bào



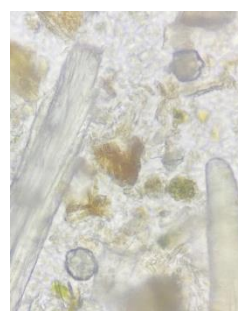
Lông tiết



Bó sợi kèm calci
oxalat



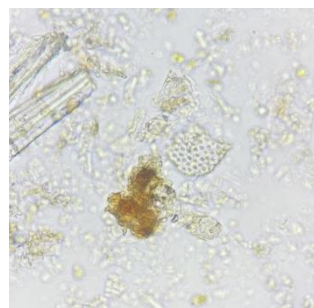
Canxi oxalat hình cầu gai



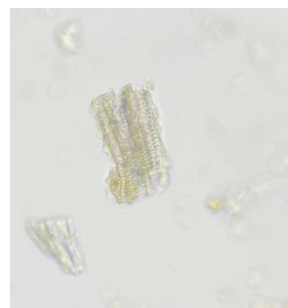
Sợi vách dày



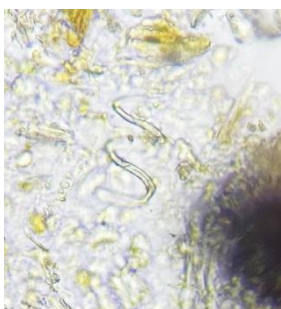
Mạch điềm



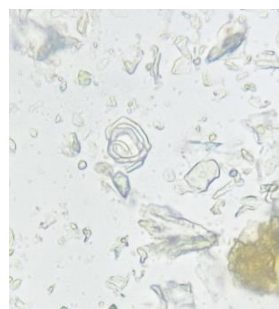
Mạch mạng



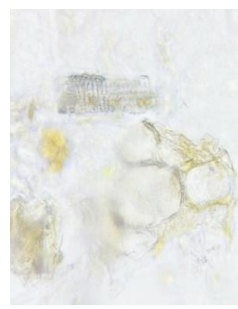
Mạch vách



Mạch xoắn



Mạch vòng



Mạch vách, mảnh
mô mềm

Hình 3.10. Đặc điểm chi tiết bột dược liệu



Hình 3.9. Mẫu bột dược liệu *Helicteres isora* L.

Bột dược liệu *Helicteres isora* L. có màu vàng nâu nhạt, có nhiều xơ và không mùi.

Quan sát dưới kính hiển vi, vật kính 10X, 40X gồm các cấu tử: Lông che chở đơn bào, lông che chở đơn bào tử lại hình sao, lông tiết, rất nhiều sợi có vách dày, bó sợi, calci oxalat hình cầu gai, mảnh mô mềm, các mảnh mạch: mạch chấm, mạch mạng, mạch vạch, mạch vòng, mạch xoắn.

Vậy, đặc điểm vi phẫu thân, lá và cuống lá của mẫu *Helicteres isora* L. điển hình cho cấu tạo giải phẫu của thực vật bậc cao thuộc lớp Ngọc Lan. Mẫu bột dược liệu *Helicteres isora* L. phù hợp với đặc điểm vi phẫu đã khảo sát.

3.1.2. Thử tinh khiết

❖ Mất khối lượng do làm khô

Mất khối lượng do làm khô (hàm lượng ẩm) của nguyên liệu nên được kiểm soát dưới mức quy định để ngăn ngừa tình trạng phân hủy của hoạt chất cũng như những thay đổi hóa học bên trong cao và sự phát triển của vi sinh vật.

Kết quả mất khối lượng do làm khô của nguyên liệu được trình bày trong bảng 3.1.

Bảng 3.1. Kết quả mất khối lượng do làm khô mẫu nguyên liệu

Lần thử	Khối lượng mẫu thử (g)	Độ ẩm(%)
01	10,00	9,70
02	10,02	9,50
03	10,00	9,70
TB		$9,63 \pm 0,12$

Hàm ẩm của nguyên liệu được xác định là 9,63%. Như vậy mức chất lượng đề nghị cho chỉ tiêu mất khối lượng do làm khô là không quá 13%.

❖ Tro toàn phần

Tỉ lệ tro của bột nguyên liệu thường được dùng để đánh giá chất lượng và độ tinh khiết cũng như giúp định danh nguyên liệu. Tro chứa những gốc vô cơ như phosphat, carbonat và muối silicat của natri, kali, magnesium, calci... những chất này tồn tại trong cao với một hàm lượng nhất định. Bên cạnh đó, tỉ lệ tro cũng thường được sử dụng để xác định sự có mặt của những phân tử vô cơ lạ được xem như là tạp chất. Vì vậy, việc định lượng các loại tro khác nhau trong việc tiêu chuẩn hóa nguyên liệu là cần thiết. Kết quả xác định tro toàn phần được trình bày trong bảng 3.2.

Bảng 3.2. Kết quả tro toàn phần nguyên liệu

Tro toàn phần	Lần 1	Lần 2	Lần 3
%	8,33	8,64	8,91
TB	8,63%		

Hàm lượng tro bột nguyên liệu được xác định 8,63%. Như vậy mức chất lượng đề nghị cho chỉ tiêu tro toàn phần là không quá 10%.

❖ Tro không tan trong acid

Bảng 3.3. Kết quả tro không tan trong acid

Lần thử	Khối lượng mẫu thử (g)	Khối lượng mẫu sau nung (g)	Tro không tan trong acid (%)
01	1,04	0,04	3,85
02	1,15	0,04	3,48
03	1,07	0,05	4,67
TB			4,00 ± 0,61

Hàm lượng tro không tan trong acid bột nguyên liệu được xác định 4,00%. Như vậy mức chất lượng đề nghị cho chỉ tiêu tro toàn phần là không quá 5%.

❖ Xác định tạp chất lẫn trong dược liệu

Phần trăm tạp chất có trong nguyên liệu được xác định là 0,83%. Như vậy mức chất lượng đề nghị cho chỉ tiêu phần trăm tạp chất trong nguyên liệu là không quá 1%.

Bảng 3.4. Kết quả tạp chất lẫn trong dược liệu

Lần thử	Khối lượng mẫu thử (g)	Khối lượng tạp chất (g)	Kết quả (%)
1	100,741	0,752	0,75
2	100,893	0,811	0,8
3	100,012	0,938	0,94
TB			0,83

❖ **Chất chiết được trong dược liệu****Bảng 3.5. Chất chiết được trong dược liệu**

Lần thử	Khối lượng mẫu thử (g)	Khối lượng cần thu được(g)	Chất chiết được trong dược liệu (%)
01	2,07	0,29	14,01
02	2,01	0,31	15,42
03	2,03	0,32	15,76
TB			15,06 ± 0,93

Chất chiết được trong dược liệu được xác định là 15,06%. Như vậy mức chất lượng đề nghị cho chỉ tiêu chất chiết được trong dược liệu là không ít hơn 10%.

❖ **Hàm lượng kim loại nặng**

Hàm lượng Pb, Cd, As, Hg trong nguyên liệu trong ngưỡng cho phép (nhỏ hơn 20 phần triệu), do đó bột nguyên liệu *Helicteres isora* L. đạt giới hạn kim loại nặng.

❖ **Dư lượng thuốc bảo vệ thực vật**

Kết quả kiểm tra dư lượng thuốc bảo vệ thực vật trong dược liệu được phân tích được thực hiện ở trung tâm Kỹ thuật Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng 3 (QUATEST 3) thể hiện ở Bảng 3.6.

Bảng 3.6. Kết quả phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật

STT	Chỉ tiêu	Phương pháp thử	Giới hạn phát hiện	Kết quả thử nghiệm
1	Hàm lượng thuốc BVTV lân (mg/kg)	EN 15662:2018 (GC/MSMS)	0,01	Dưới ngưỡng phát hiện
2	Hàm lượng thuốc BVTV carbamate (mg/kg)	EN 15562:2018 (LC/MSMS)	0,01	Dưới ngưỡng phát hiện
3	Hàm lượng thuốc BVTV clo hữu cơ (mg/kg)	EN 15562:2018	0,01	Dưới ngưỡng phát hiện
4	Hàm lượng thuốc BVTV cúc (mg/kg)	EN 15662:2018 (GC/MSMS)	0,01	Dưới ngưỡng phát hiện
5	Hàm lượng thuốc trừ cỏ (mg/kg)	QTTN/KT3 079:2018	0,01	Dưới ngưỡng phát hiện
6	Hàm lượng thuốc BVTV (mg/kg)	QTTN/KT3 059:2018 QTTN/KT3 265:2020 QTTN/KT3 274:2020	0,0025-0,2	Dưới ngưỡng phát hiện
7	Hàm lượng phthalate (mg/kg)	QTTN/KT3 076:2018	0,5	Dưới ngưỡng phát hiện
8	Hàm lượng Polychlorinated biphenyls (PCBs) tổng (µg/kg)	QTTN/KT3 263:2020	2,5	Dưới ngưỡng phát hiện
9	Hàm lượng polycyclic aromatic hydrocarbons	QTTN/KT3 264:2020	0,6	Dưới ngưỡng phát hiện
9	Hàm lượng bromua vô cơ (mg/kg)	TCVN 8425-2:2010	3	Dưới ngưỡng phát hiện

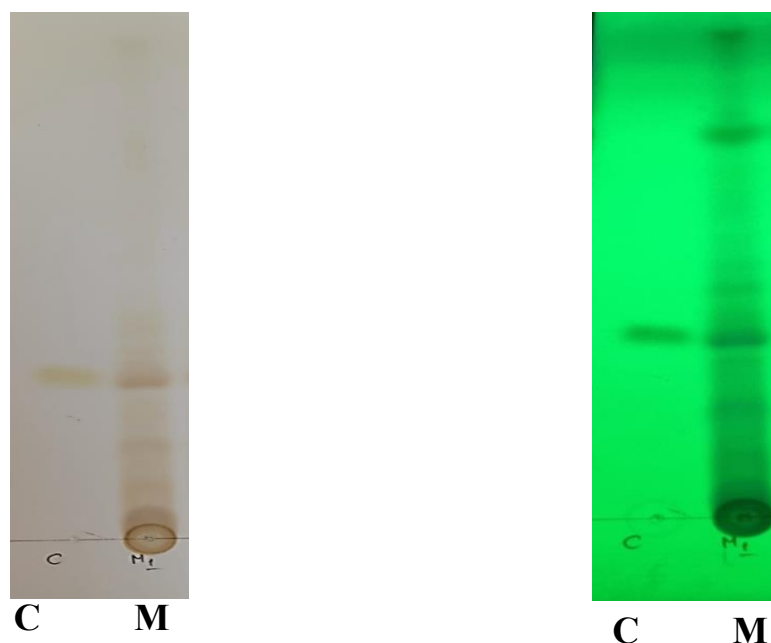
Trong nguyên liệu không phát hiện dư lượng thuốc bảo vệ thực vật, do đó đạt giới hạn dư lượng thuốc bảo vệ thực vật.

3.1.3. Định tính

p-coumaric acid được đánh giá là có hoạt tính bảo vệ gan chống lại các hóa chất độc hại khác nhau, như acetaminophen, ethanol, và fipronil [96]. Sự hiện diện của p-coumaric acid trong dược liệu an xoa (*Helicteres isora* L.) cũng đã được chứng minh bằng phương pháp LC-MS DAD (Kết quả của Dự án Phát triển thương mại sản phẩm thực phẩm bảo vệ sức khỏe chứa cao chiết cây an xoa (*Helicteres isora* L.) hỗ trợ bảo vệ gan – Mã số: UDPTSPTM 02/22-23 – Chủ nhiệm ThS. Lê Nguyễn Tú Linh). Vì vậy, p-coumaric acid được lựa chọn làm chất marker cho dược liệu này.

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên Silica gel 60 F₂₅₄. Dung môi khai triển là toluene-acetonitrile-formic acid (70:30:1). Thuốc thử là vanillin-acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT), sấy bản mỏng ở 105°C cho tới khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường và dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm.

Kết quả sắc ký lớp mỏng cho thấy trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của p-coumaric acid trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu. Chứng tỏ trong bột dược liệu có chứa p-coumaric acid.



Hình 3.11. Hình ảnh sắc ký lớp mỏng của dịch ly trích bột dược liệu dưới ánh sáng thường (A) và ánh sáng tử ngoại 366 nm (B)

Chú thích: C. *p-coumaric acid*, M. Dịch ly trích *Helicteres isora* L.

3.1.4. Định lượng chất đối chiếu bằng phương pháp HPLC

3.1.4.1. Khảo sát điều kiện phân tích bằng HPLC

Kế thừa quy trình xử lý mẫu thử định lượng p-coumaric acid của Ramadoss và cs. (2015) [97], tiến hành chuẩn bị mẫu thử định lượng p-coumaric acid. Bột cây an xoa (*Helicteres isora* L) được chiết kiệt với dung môi ethanol 70% bằng phương pháp ngâm dầm, đồng nhất dịch lọc, tiến hành cô quay và sấy khô 50°C đến khối lượng không đổi.

Lựa chọn dung môi pha động, cột sắc ký và nhiệt độ cột, tốc độ dòng phù hợp: dựa vào tài liệu nghiên cứu đã được công bố, pha động acetonitril - nước dự kiến được chọn với chương trình isocratic.

Chọn bước sóng phát hiện: dựa vào phổ hấp thụ UV của chất đối chiếu để chọn bước sóng phát hiện, thường là bước sóng ở cực đại hấp thụ. Điều kiện sắc ký được thực hiện với dung dịch p-coumaric acid có nồng độ 20 µg/ml. Tốc độ dòng là 1 ml/phút. Sử dụng đầu dò DAD để quét phổ trong dải bước sóng 190 - 800 nm, kết quả cho thấy mẫu có độ hấp thụ cực đại tại bước sóng 310 nm.

Dung dịch thử: Dịch chiết thu được từ quy trình xử lý mẫu đã xây dựng, được lọc qua màng lọc 0,22 µm. Dung dịch thu được tiến hành phân tích bằng phương pháp HPLC.

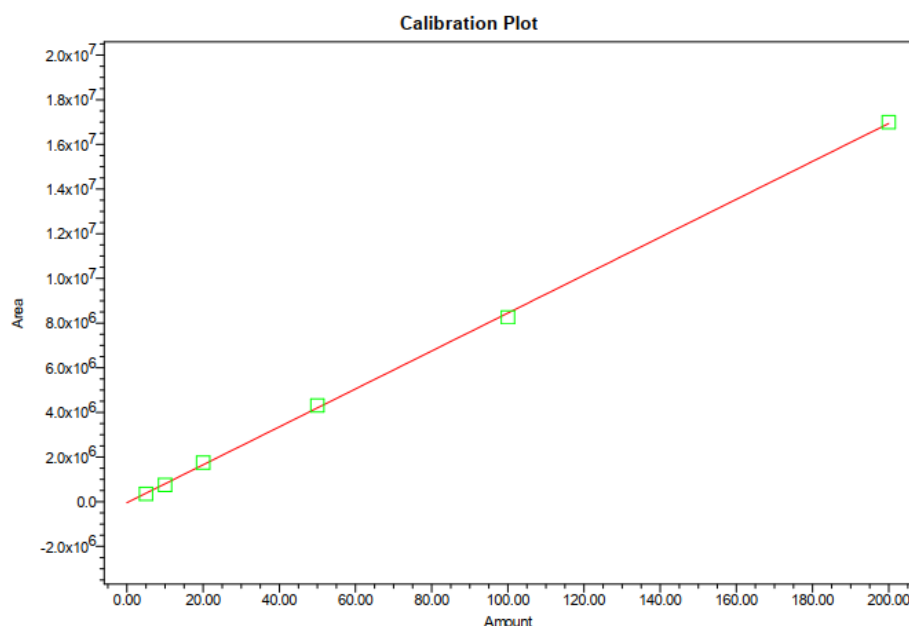
Dung dịch chuẩn: Dung dịch chất đối chiếu với nồng độ khoảng 5-200 ppm, lọc qua màng lọc 0,22 µm. Tiến hành phân tích dung dịch thu được bằng phương pháp HPLC.

Khảo sát điều kiện pha động

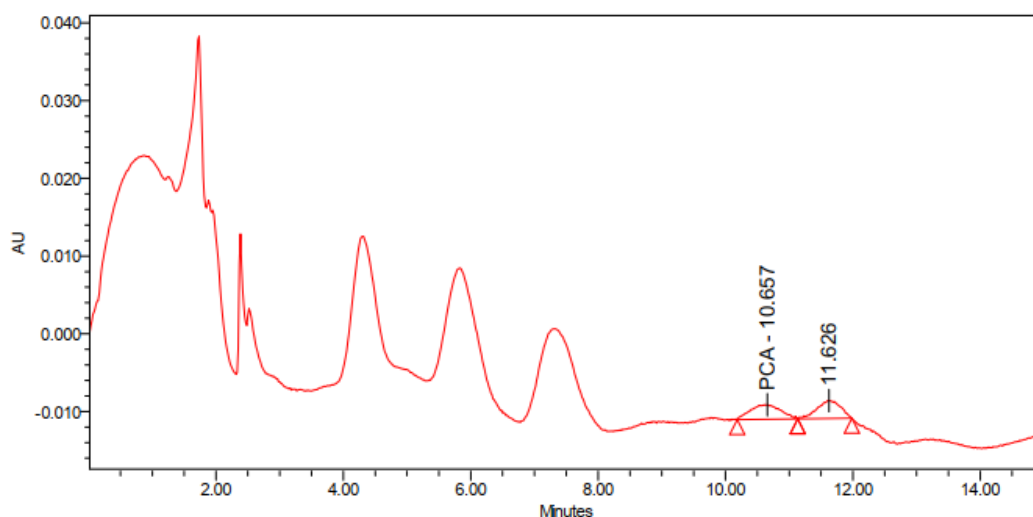
- Thiết bị: Hệ thống UHPLC Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Mỹ) gồm các bộ phận chính: bơm bốn kênh, bộ phận tiêm mẫu, lò cột, đầu dò DAD và phần mềm Chromeleon Version 7.2.SR4.
- Cột Waters Nova-Pak C18, 150 x 3.9 mm, S/N: T92852R-05.
- Thẻ tích tiêm mẫu: 5µL
- Tốc độ dòng: 1,0 mL/phút
- Chương trình dung môi:

Thời gian (phút)	(H ₂ O 0.1% FA(%))	MeOH (%)
0	83	17
15	70	30
17	0	100
25	0	100

Kết quả cho thấy tại điều kiện pha động khảo sát xuất hiện peak chuẩn p-coumaric acid. Hiện tượng kéo đuôi của peak có thể là do thẻ tích tiêm mẫu quá lớn nên chưa phù hợp. Giảm thẻ tích tiêm mẫu từ 20, 15, 10 và 5 µl. Kết quả cho thấy, ở thẻ tích tiêm mẫu 10 µl, peak cân xứng hơn và tỉ lệ diện tích peak/nồng độ cũng như tỷ lệ chiều cao/nồng độ cao nhất.



Hình 3.12. Đường chuẩn p-coumaric acid



Hình 3.13. Sắc kí đồ mẫu cao chiết *Helicteres isora* L

Hiện nay, phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao đang được ứng dụng rộng rãi trong các quy trình định tính, thử độ tinh khiết và định lượng các chất. HPLC có các ưu điểm là độ chính xác cao, ổn định, dễ thực hiện, nhạy với các nồng độ nhỏ. Phương pháp định lượng p-coumaric acid bằng hệ thống HPLC - DAD có những ưu điểm nổi bật của cả phương pháp HPLC và phương pháp đo độ hấp thụ UV-Vis đem lại: có khả năng tách các chất ra hoàn toàn nên tính đặc hiệu cao, có khả năng kiểm tra độ tinh khiết của mẫu, độ chính xác cao và nhạy với các nồng độ nhỏ. Bên cạnh đó, phương pháp cũng có một số nhược điểm như hệ dung môi đắt tiền, cần một hệ thống máy móc hiện đại. Trong sắc ký lỏng hiệu năng cao thì một số đại lượng sau cần lưu ý. Thời gian lưu t_R là thời gian tính từ khi chất được tiêm vào hệ thống sắc ký đến khi phát hiện ở nồng độ cực đại. Thông thường thời gian sắc ký thường gấp đôi thời gian lưu. Hệ số dung lượng k' cần nằm trong khoảng tối ưu $1 < k' < 8$ căn cứ vào pha tĩnh,

pha động,...Hệ số As cho biết mức độ cân đối của pic và thường nằm trong khoảng 0,9 - 2,5 pic càng cân đối thì hiệu lực tách của cột càng tốt.

Phương pháp sử dụng cột sắc ký pha đảo. Pha động sử dụng dung môi có độ phân cực cao là methanol và acid formic 0,1%, chương trình gradient, diện tích peak và chiều cao peak được tối ưu hoá. Acid formic được thêm có tác dụng chuyển p-coumaric acid dạng ion hoá về dạng không bị ion hoá nhằm giảm hiện tượng kéo đuôi ở pic. Các thể tích tiêm mẫu đã khảo sát là 20, 15, 10 và 5 µl. Kết quả cho thấy ở những thể tích như 15 và 20 µl, peak có hiện tượng kéo đuôi có thể là do thể tích tiêm quá lớn nên lượng p-coumaric acid đi qua đầu dò không ổn định theo thời gian. Ở thể tích tiêm 5 µl, chiều cao và diện tích pic nhỏ nên sai số ở những nồng độ thấp sẽ cao và LOD, LOQ của phương pháp sẽ thấp. Kết quả cho thấy, tại thể tích tiêm mẫu 10 µl diện tích pic và chiều cao pic là tối ưu nhất. Lựa chọn cài đặt đầu dò DAD tại bước sóng có độ hấp thụ cực đại 310 nm. Tại bước sóng đó, độ hấp thụ có giá trị lớn nhất làm cho phương pháp độ chính xác cao hơn.

3.1.4.2. Định lượng chất đối chiếu bằng phương pháp HPLC

➤ Khảo sát dung môi chiết

Thí nghiệm được tiến hành với các dung môi methanol 100%, ethanol 96% và ethanol 70%, ethanol 50%. Kết quả hàm lượng p-coumaric acid được thể hiện ở bảng 3.7

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của dung môi lên hàm lượng p-coumaric acid

Dung môi	Methanol 96%	Ethanol 96%	Ethanol 70%	Ethanol 50%
p-coumaric acid (mg/g nguyên liệu)	0,0014 ^b ± 0,0003	0,0009 ^c ± 0,0002	0,0021 ^a ± 0,0005	0,0015 ^b ± 0,0005

Mỗi giá trị trong bảng là Mean ± SD; n=3. Số liệu được phân tích bởi kiểm định LSD,

a,b: Khác biệt có ý nghĩa với $p < 0,05$

Hàm lượng p-coumaric acid thay đổi đối với từng dung môi khác nhau, trong đó hàm lượng p-coumaric acid cao nhất khi chiết với dung môi ethanol 70% ($0,0021 \pm 0,0005$ mg/g).

Nồng độ ethanol có ảnh hưởng đáng kể đến khả năng trích ly p-coumaric acid từ *Helicteres isora* L.. Như được thể hiện trong Bảng 1, hàm lượng p-coumaric acid đạt tối đa tương ứng với nồng độ ethanol 70% (v/v) và lại giảm xuống có ý nghĩa ($p < 0,05$) khi tiếp tục tăng nồng độ ethanol đến 100%. Sự khác biệt này là bởi vì các nhóm chất khác nhau sẽ có cấu trúc khác nhau và độ phân cực khác nhau, nên mỗi nhóm chất sẽ được ly trích tốt khi sử dụng một hệ dung môi có độ phân cực phù hợp. Năm 2012, Huang và cs. cũng sử dụng ethanol 70% để ly trích bột khô toàn cây *H.*

angustifolia (thu hái ở Trung Quốc), hiệu suất chiết đạt 2,5% [98]. Quả khô *Helicteres isora* L. thu hái ở Ấn Độ, ngâm đậm với methanol 50%, hiệu suất chiết đạt 23,2% [54]. Vỏ thân *H. Helicteres isora* L. từ Ấn Độ chiết bằng ngâm đậm với nước hiệu suất chiết là 18,5% [47]. Lá khô *Helicteres isora* L. (thu hái tại Brazil) được ly trích với ethanol 70% bằng phương pháp ngâm đậm với tỉ lệ mẫu/dung môi 1:10 (w/v) trong 7 ngày, hiệu suất ly trích là 10% [98].

Từ kết quả trên, nồng độ dung môi tối ưu nhất cho quá trình chiết xuất các hợp chất từ *Helicteres isora* L. là dung môi ethanol 70%, kết quả này sẽ được sử dụng để khảo sát ở các thí nghiệm tiếp theo.

➤ Khảo sát thời gian chiết

Thí nghiệm được tiến hành với thời gian chiết 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, phương pháp ngâm đậm nhiệt độ phòng. Kết quả khảo sát thời gian chiết được thể hiện ở Bảng 3.8.

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của thời gian ly trích lên hàm lượng p-coumaric acid

Thời gian	30 phút	1 giờ	2 giờ	3 giờ
p-coumaric acid (mg/g nguyên liệu)	0,0016 ^b ± 0,0005	0,0021 ^a ± 0,0005	0,0022 ^a ± 0,0002	0,002 ^a ± 0,0005

Mỗi giá trị trong bảng là Mean ± SD; n=3

Kết quả cho thấy sau 1 giờ ngâm đậm, hàm lượng p-coumaric acid đã được đạt tối ưu. Sau 2 và 3 giờ ngâm đậm, hàm lượng p-coumaric acid tăng không đáng kể và khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức 1 giờ. Thời gian trích ly tăng làm hiệu suất thu hồi tăng làm tăng sự tiếp xúc của nguyên liệu với dung môi. Tuy nhiên, nếu thời gian trích ly quá dài thì hiệu suất thu hồi các chất sẽ không tăng thêm đáng kể. Dựa vào kết quả bảng 2, chọn thời gian chiết là 1 giờ.

➤ Khảo sát dung môi hòa tan cần

Thí nghiệm được tiến hành với 3 dung môi methanol 50%, methanol 30% và methanol 10%. Cao chiết được hòa tan lần lượt với 3 loại dung môi. Kết quả khảo sát dung môi hòa tan cần thể hiện trong bảng 3.9.

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi hòa tan cần lên hàm lượng p-coumaric acid

Dung môi	Methanol 50%	Methanol 30%	Methanol 10%	Nước
p-coumaric acid (mg/g nguyên liệu)	0,0021 ^a ± 0,0005	0,002 ^a ± 0,0005	0,0021 ^a ± 0,0005	0,0008 ^b ± 0,0002

Mỗi giá trị trong bảng là Mean ± SD; n=3

Kết quả cho thấy không có sự khác biệt về hàm lượng p-coumaric acid trong dịch hòa tan cân bằng methanol với các nồng độ khác nhau, xét trên yếu tố về kinh tế chúng tôi lựa chọn methanol 10% là dung môi hòa tan cần.

➤ **Khảo sát tỉ lệ dung môi hòa tan cần**

Cao chiết thu được từ 1g nguyên liệu chiết kiệt được hòa tan lần lượt với 10 ml và 25ml dung môi ethanol 70%. Hàm lượng p-coumaric acid trong dịch hòa tan được thể hiện ở bảng 3.10.

Bảng 3.10. Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi hòa tan cần

Tỉ lệ dung môi hòa tan cần	10ml	25ml	30ml
p-coumaric acid (mg/g)	0,0021 ^b ± 0,0002	0,0041 ^a ± 0,0005	0,0042 ^a ± 0,0002

Mỗi giá trị trong bảng là Mean ± SD; n=3. Số liệu được phân tích bởi kiểm định t-test

Từ kết quả trên có thể thấy khi tăng lượng dung môi hòa tan cần từ 1g nguyên liệu lên 25ml, hàm lượng p-coumaric acid tăng lên đáng kể, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức sử dụng lượng dung môi 10ml để hòa tan cần. Vì thế từ kết quả này, tỉ lệ nguyên liệu và dung môi là 1:25 sẽ được chọn để thực hiện thí nghiệm tiếp theo.

3.1.5. Thẩm định quy trình định lượng

Khảo sát điều kiện sắc ký

- Thiết bị: Hệ thống UHPLC Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Mỹ) gồm các bộ phận chính: bơm bốn kênh, bộ phận tiêm mẫu, lò cột, đầu dò DAD và phần mềm Chromeleon Version 7.2.SR4.
- Cột Waters Nova-Pak C18, 150 x 3.9 mm, S/N: T92852R-05.
- Thể tích tiêm mẫu: 5µL
- Tốc độ dòng: 1,0 mL/phút
- Chương trình dung môi:

Thời gian (phút)	(H ₂ O 0.1% FA(%))	MeOH (%)
0	83	17
15	70	30
17	0	100
25	0	100

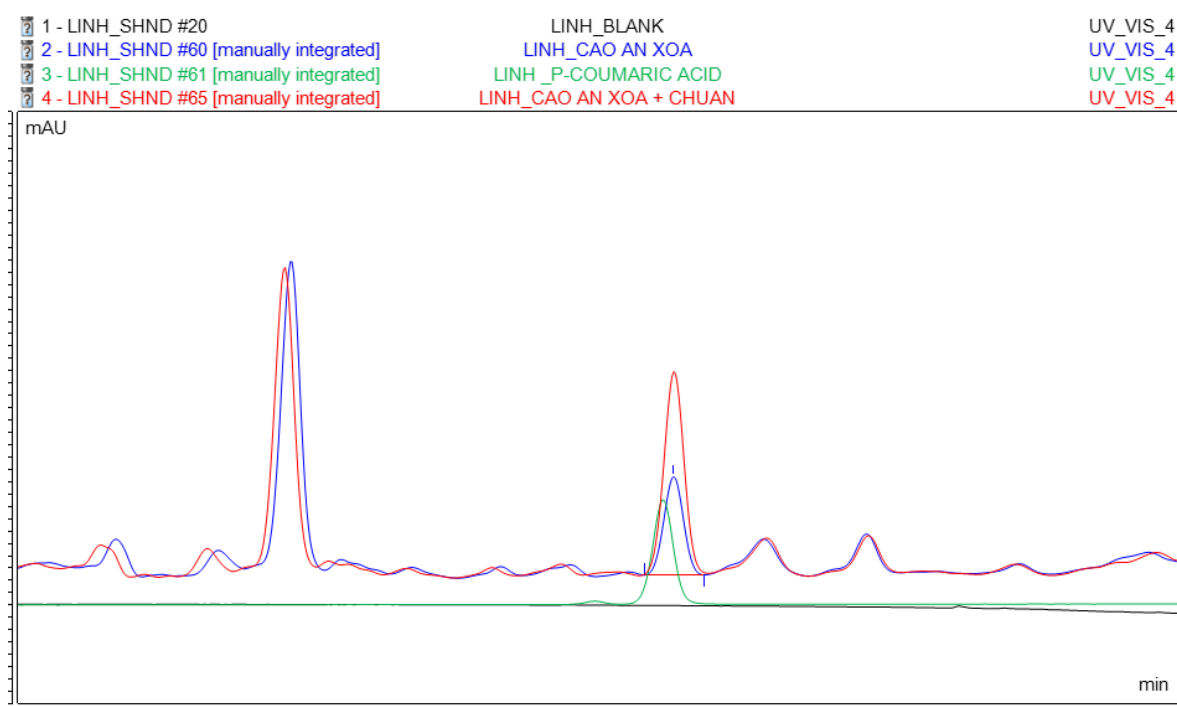
Tính tương thích hệ thống

Thử nghiệm tính tương thích hệ thống được thực hiện với một lần tiêm dung dịch cao *Helicteres isora* L. dưới điều kiện sắc ký đã thiết lập. Kết quả cho thấy số đĩa lý thuyết đạt 12434, phản ánh khả năng tách tốt của hệ thống. Hệ số bất đối của pic là 1,0 cho thấy pic có hình dạng đối xứng. Những thông số này cho thấy hệ thống đạt yêu cầu để tiến hành phân tích p-coumaric acid.

Thẩm định phương pháp HPLC

- **Độ đặc hiệu**

Dựa vào thời gian lưu, diện tích của peak p-coumaric acid thu được của dung dịch chuẩn, mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn, kết hợp so sánh với phổ UV của peak chuẩn và mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn cho thấy peak p-coumaric acid trong mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn có thời gian lưu 11,32 phút và phổ UV tương ứng với peak p-coumaric acid chuẩn. Diện tích và chiều cao peak p-coumaric acid của mẫu thử thêm chuẩn cũng tăng lên so với trước khi thêm chuẩn vào mẫu thử. Như vậy phương pháp phân tích sắc ký trên có tính đặc hiệu cao.



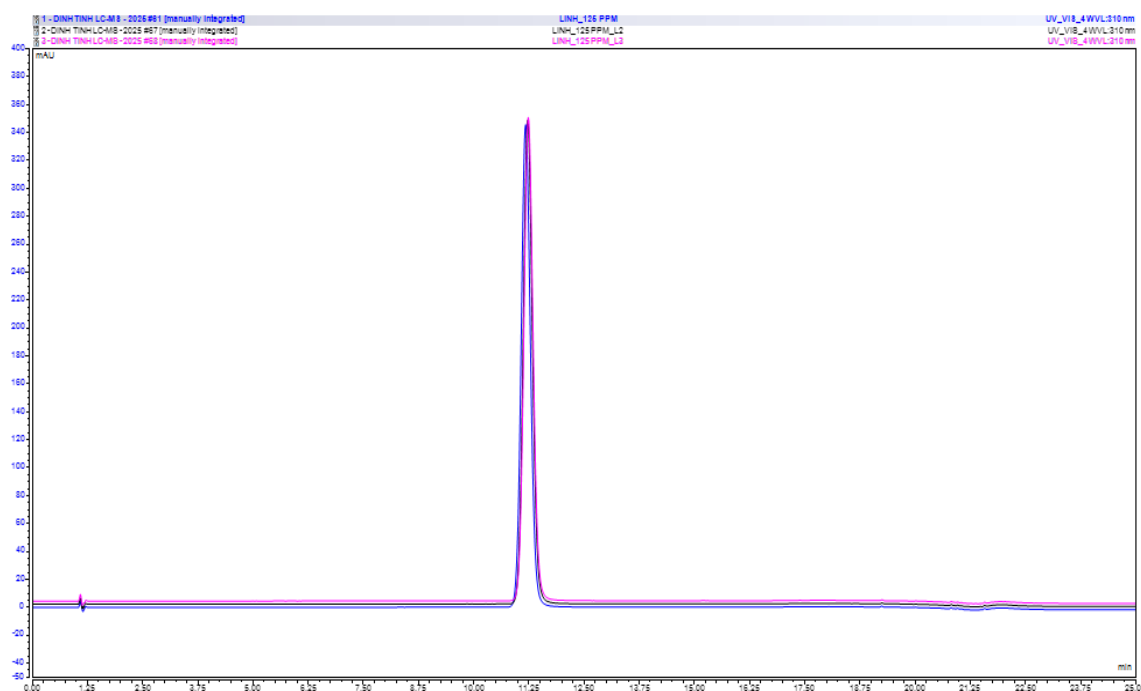
Hình 3.14. Sắc ký đồ mẫu blank, chuẩn, mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn

- **Độ chính xác**

Độ chính xác được khảo sát bằng sự lặp lại hàm lượng p-coumaric acid xác định trên 3 mẫu chuẩn với điều kiện sắc ký đã chọn.

Bảng 3.11. Khảo sát độ chính xác của phương pháp trên mẫu chuẩn

Lần	Mẫu chuẩn	
	Diện tích pic	Hàm lượng (µg/ml)
1	85,15	129,90
2	85,47	130,40
3	85,49	130,45
TB	85,37	130,25
SD	0,19	0,31
RSD (%)	0,2	0,2

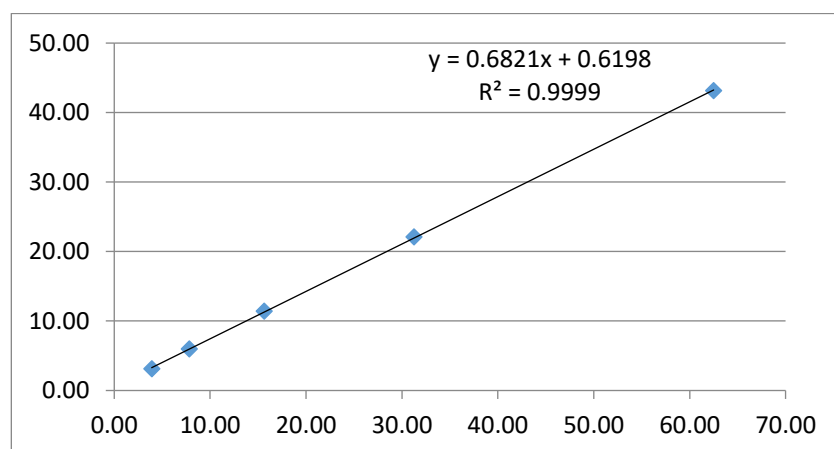
**Hình 3.15. Sắc ký đồ 3 lần lặp lại của mẫu chuẩn**

Kết quả phân tích mẫu chuẩn cho thấy các thông số đều đạt yêu cầu về độ chính xác và độ lặp lại (hàm lượng trung bình đạt 130,25 µg/ml với %RSD là 0,2%)

- Tính tuyến tính**

Kết quả sự khảo sát độ tuyến tính của nồng độ dung dịch p-coumaric acid chuẩn theo diện tích peak thu được tại bước sóng 310nm (Hình 3.15), khoảng nồng độ tuyến tính là 3,91 – 62,5ppm, với phương trình hồi quy có dạng $y = 0,6821x + 0,6198$, hệ số

$R^2 = 0.9999$, cho thấy có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ hoạt chất với diện tích peak đáp ứng.



Hình 3.16. Đồ thị biểu diễn mối quan hệ giữa diện tích peak theo nồng độ chất chuẩn

Giá trị LOD, LOQ tính theo phương trình đường chuẩn:

LOD = 0,94 ppm.

LOQ = 2,85 ppm.

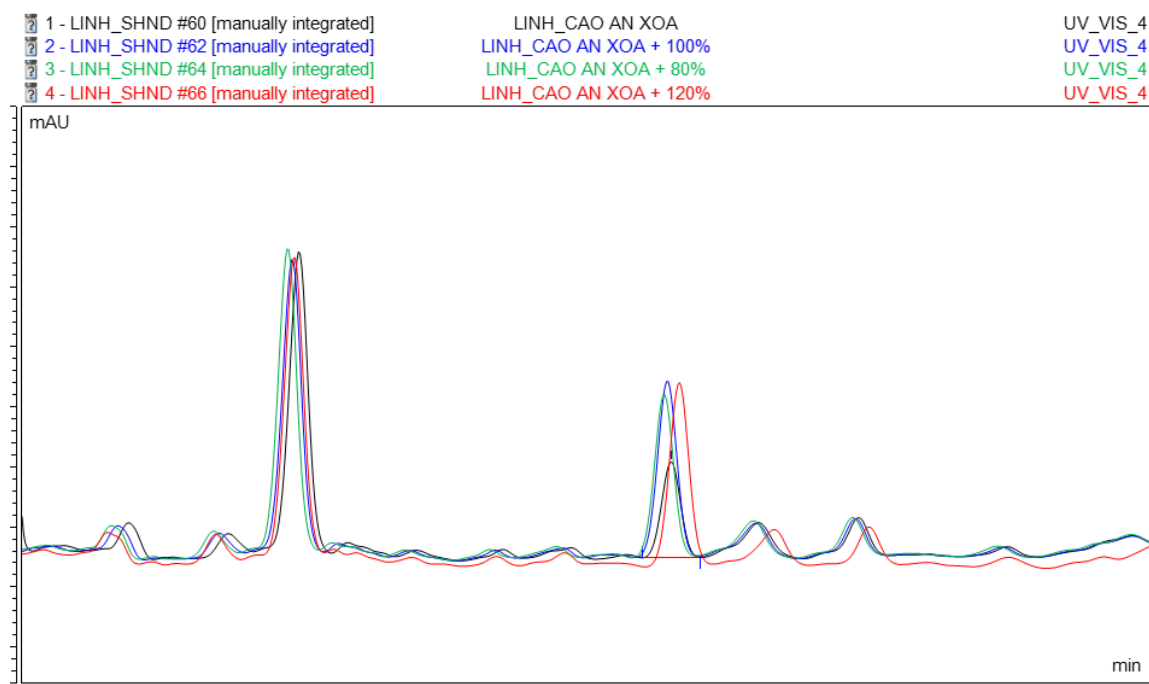
- **Độ đúng**

Độ đúng được xác định bằng tỷ lệ phục hồi. Để khảo tỷ lệ phục hồi của quy trình, chúng tôi tiến hành thêm một lượng chuẩn nhất định vào 3 mẫu. Sau đó tiến hành xử lý theo quy trình xử lý mẫu đã chọn.

Bảng 3.12. Khảo sát độ đúng của phương pháp

Mẫu đo	$C_{\text{chuẩn lt}}$	$C_{\text{chuẩn tt}}$	Hiệu suất thu hồi (%)
1	10,21	10,42	104,55
2	11,35	11,48	102,27
3	12,48	12,26	96,66
Trung bình			101,16
%RSD			4,01

Kết quả cho thấy phương pháp có độ đúng cao (tỷ lệ phục hồi 101,16%) với RSD là 4,01%, phù hợp với yêu cầu chung về đánh giá độ đúng trong phương pháp xác định hàm lượng hoạt chất trong dược liệu bằng HPLC.



Hình 3.17. Sắc ký đồ mẫu cao *Helicteres isora* L. và các mẫu thêm 80%, 100%, 120% p-coumaric acid.

3.1.6. Xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm dược liệu

Bảng 3.13 Kết quả tiêu chuẩn kiểm nghiệm dược liệu

STT	Các tiêu chí	Phương pháp kiểm nghiệm	Yêu cầu	Kết quả
1	Hình thái	Quan sát	Mô tả đặc điểm	Thân có màu xanh nâu, bề mặt xù xì, phiến lá có răng cưa, phủ lông mịn, hoa màu cam, quả xoắn vặn
2	Vi phẫu	Vi phẫu thực vật	Chụp hình ảnh vi phẫu	Thân cây hình tròn, có lông che chở bên ngoài, bên trong có canxi oxalate cầu gai, phiến lá mang nhiều lục lạp
3	Soi bột	Soi bột dưới kính hiển vi	Chụp hình ảnh bột dược liệu	Lông che chở hình sao, bó sợi kèm calci oxalat
4	Độ ẩm	ĐĐVN V, phụ lục 9.6.	Không quá 13%	9,63%
5	Độ tro toàn phần	ĐĐVN V, phụ lục 9.8, phương pháp 1	Không quá 10%	8,63%
6	Độ tro không tan trong acid	ĐĐVN V, phụ lục 9.7, phương pháp 1	Không quá 5%	$4,00 \pm 0,61\%$
7	Hàm lượng chất chiết được	Chiết xuất và đo hàm lượng	Không ít hơn 10%	$15,06 \pm 0,93\%$
8	Giới hạn kim loại nặng	ĐĐVN V, phụ lục 9.4.8.	Nhỏ hơn 20/1.000.000	Dưới ngưỡng phát hiện
9	Tạp chất lẫn trong dược liệu	ĐĐVN V, phụ lục 13.6.	Không quá 1%	0,83%
10	Định tính	Phương pháp SKLM	Sắc ký đồ hiển thị vết cùng màu với dung dịch thử	có vết có cùng màu sắc và giá trị Rf với vết của p-coumaric acid
11	Hàm lượng thuốc BVTV (mg/kg)	Được thực hiện ở Kỹ thuật Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng 3 (QUATEST 3)	Giới hạn phát hiện	Dưới ngưỡng phát hiện

Dựa vào kết quả cho thấy bột dược liệu đạt chuẩn

3.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả li trích thu nhận cao chiết *Helicteres isora* L

3.2.1 Phương pháp chiết

Thí nghiệm được thực hiện với 2 nghiệm thức, lặp lại 3 lần, cố định dung môi ethanol 70%, thay đổi phương pháp li trích.

Bảng 3.14. Kết quả khảo sát phương pháp li trích thu nhận cao chiết *Helicteres isora* L.

Phương pháp li trích	Hiệu suất thu hồi cao chiết (%)	Hàm lượng phenolic tổng số (mg/g cao chiết)	Hàm lượng p-coumaric acid ($\mu\text{g/g}$ cao chiết)
Ngâm dầm	$7,42 \pm 0,05^b$	$221,35 \pm 3,6^b$	$31,14 \pm 1,15^b$
Ngâm kiệt	$9,1 \pm 0,08^a$	$280,87 \pm 4,81^a$	$43,91 \pm 1,84^a$

Mỗi giá trị trong bảng là Mean $\pm$ SD; n=3. Số liệu được phân tích bởi kiểm định t-test

Kết quả từ bảng 3.14 cho thấy phương pháp ngâm kiệt cho hiệu suất chiết cao hơn phương pháp ngâm dầm. Bởi vì, trong phương pháp ngâm kiệt thì được liệu luôn được tiếp xúc với dung môi mới, luôn tạo ra sự chênh lệch nồng độ hoạt chất cao nên trích kiệt được hoạt chất. Ngoài ra hàm lượng phenolic và p-coumaric acid tính trên khối lượng cao chiết cho thấy phương pháp ngâm kiệt cho hiệu quả li trích hàm lượng hoạt chất tốt hơn so với phương pháp ngâm dầm. Cụ thể, hàm lượng phenolic và p-coumaric acid thu nhận được khi trích ly bằng phương pháp ngâm kiệt đạt 280,87 mg/g cao và 43,91 $\mu\text{g/g}$ cao tương ứng, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với kết quả thu được từ phương pháp ngâm dầm.

Như vậy, qua quá trình khảo sát phương pháp li trích thu nhận cao chiết, chúng tôi lựa chọn phương pháp ngâm kiệt để li trích mẫu *Helicteres isora* L. cho những bước tiếp theo.

3.2.2. Nồng độ dung môi

Thí nghiệm được thực hiện với 4 nghiệm thức, lặp lại 3 lần, thay đổi nồng độ dung môi, sử dụng phương pháp ngâm kiệt.

Bảng 3.15. Ảnh hưởng nồng độ dung môi ảnh hưởng đến hiệu suất thu nhận hoạt chất

Dung môi	Hiệu suất thu hồi cao chiết	Hàm lượng phenolic tổng số (mg/g cao chiết)	Hàm lượng p-coumaric acid ($\mu\text{g/g}$ cao chiết)
Nước	$8,85 \pm 0,11^c\%$	$125,17 \pm 3,09^c$	$28,14 \pm 1,78^c$
Ethanol 50%	$9,67 \pm 0,06^{a0}\%$	$148,03 \pm 2,15^b$	$35,24 \pm 1,8^b$
Ethanol 70%	$9,1 \pm 0,07^{b0}\%$	$280,87 \pm 4,81^a$	$43,94 \pm 1,84^a$
Ethanol 96%	$0,94 \pm 0,07^{d0}\%$	$13,23 \pm 0,91^d$	$2,5 \pm 0,13^d$

Mỗi giá trị trong bảng là Mean $\pm$ SD; n=3. Số liệu được phân tích bởi kiểm định LSD

Ảnh hưởng của nồng độ dung môi ethanol và nước đến hiệu suất thu hồi cao chiết và hàm lượng phenolic, p-coumaric acid được thể hiện trong Bảng 3.15.

Nồng độ ethanol có ảnh hưởng đáng kể đến khả năng trích ly của cả phenolic và p-coumaric acid từ *Helicteres isora* L., đồng thời chúng cũng ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi cao chiết của *Helicteres isora* L.. Như được thể hiện trong Bảng 3.15, hàm lượng phenolic và p-coumaric acid tăng khi tăng nồng độ ethanol, đạt tối đa tương ứng với nồng độ ethanol 70% (v/v) và lại giảm xuống có ý nghĩa ($p < 0,05$) khi tiếp tục tăng nồng độ ethanol đến 100%. Sự khác biệt này là bởi vì các nhóm chất khác nhau sẽ có cấu trúc khác nhau và độ phân cực khác nhau, nên mỗi nhóm chất sẽ được ly trích tốt khi sử dụng một hệ dung môi có độ phân cực phù hợp. Năm 2012, Huang và cộng sự cũng sử dụng ethanol 70% để li trích bột khô toàn cây *Helicteres isora* L. (thu hái ở Trung Quốc), hiệu suất chiết đạt 2,5% [98]. Quả khô *Helicteres isora* L. thu hái ở Ấn Độ, ngâm dầm với methanol 50%, hiệu suất chiết đạt 23,2% [99]. Vỏ thân *H. isora* L. từ Ấn Độ chiết bằng ngâm dầm với nước hiệu suất chiết là 18,5% [47]. Lá khô *Helicteres isora* L. (thu hái tại Brazil) được li trích với ethanol 70% bằng phương pháp ngâm dầm với tỉ lệ mẫu/dung môi 1:10 (w/v) trong 7 ngày, hiệu suất li trích là 10% [100]. Những công bố này có khác biệt so với kết quả chúng tôi thu nhận được. Có thể là do mẫu chúng tôi sử dụng là phần trên mặt đất, không bao gồm rễ và địa điểm thu hái cũng không đồng nhất. Tùy từng bộ phận khác nhau của thực vật, cũng như chịu ảnh hưởng của môi trường sinh sống khác nhau, đặc biệt là thổ nhưỡng mà hàm lượng hoạt chất cũng khác nhau. Dựa vào các kết quả phân tích trên, nồng độ ethanol 70% (v/v) được lựa chọn cho bước nghiên cứu tiếp theo.

3.2.3. Tỉ lệ nguyên liệu/ dung môi

Thí nghiệm được thực hiện với 5 nghiệm thức tỉ lệ nguyên liệu/dung môi thay đổi, lặp lại 3 lần, cô định dung môi ethanol 70%, phương pháp li trích ngâm kiệt.

Bảng 3.16. Ảnh hưởng lượng dung môi đến hiệu suất thu nhận hoạt chất

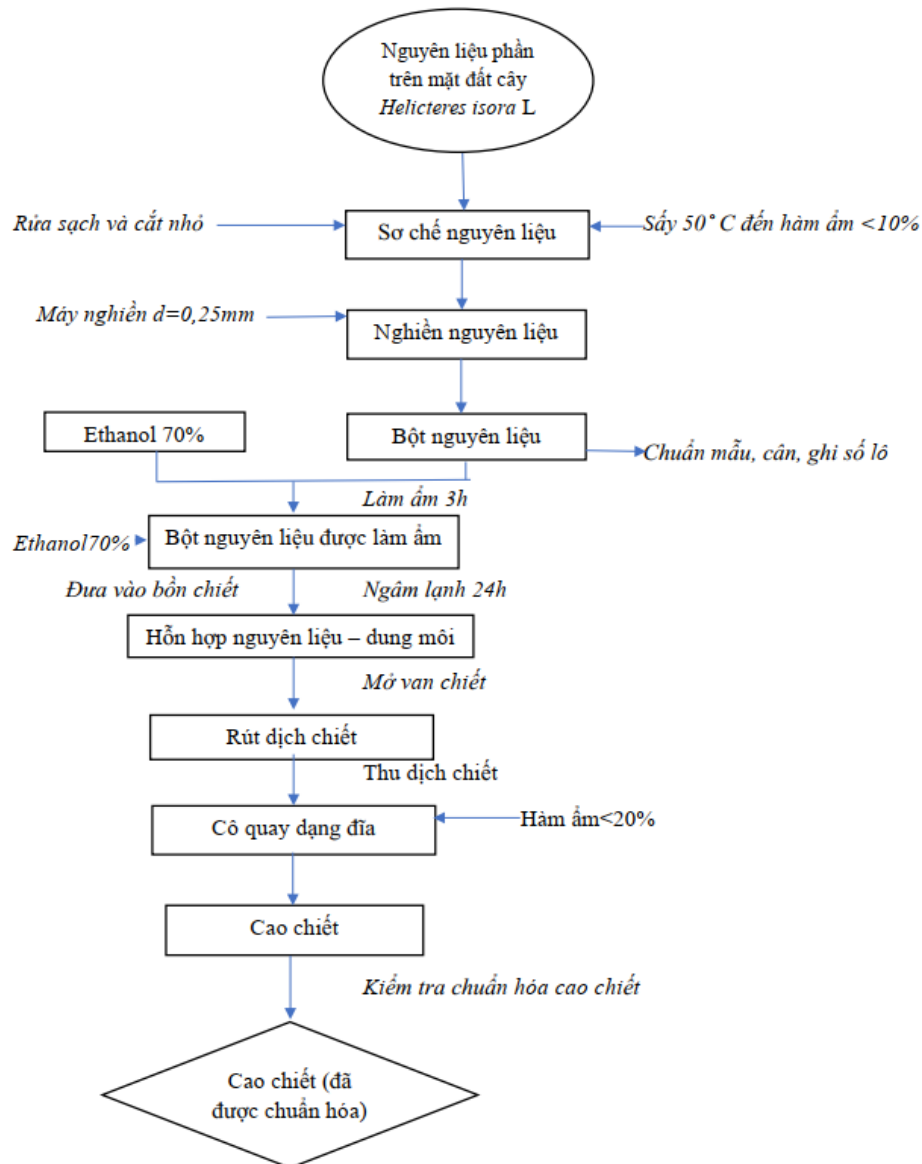
Tỉ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml)	Hàm lượng phenolic tổng số (mg/g cao chiết)	Hàm lượng p-coumaric acid ($\mu\text{g/g}$ cao chiết)
1/5	21,65 ^e $\pm$ 1,44	7,83 ^e $\pm$ 0,74
1/10	38,51 ^d $\pm$ 1,54	12,43 ^d $\pm$ 1,31
1/15	189,48 ^c $\pm$ 1,81	30,42 ^c $\pm$ 1,11
1/20	262,15 ^b $\pm$ 1,32	38,11 ^b $\pm$ 0,68
1/25	275,56 ^a $\pm$ 1,54	40,61 ^a $\pm$ 0,69

Mỗi giá trị trong bảng là Mean $\pm$ SD; $n=3$. Số liệu được phân tích bởi kiểm định LSD

Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu trong dung môi đến hàm lượng phenolic và p-coumaric acid được thể hiện trên bảng 3.16. Quan sát thấy rằng lượng dung môi có

ảnh hưởng đáng kể đến cả hàm lượng phenolic và p-coumaric acid. Khi lượng dung môi tăng dẫn đến hàm lượng phenolic và p-coumaric acid tăng, hàm lượng hoạt chất tăng mạnh khi tăng lượng dung môi lên 5-10ml/1g nguyên liệu và sau đó không tăng đáng kể khi lượng dung môi bắt đầu đạt >20ml/1g nguyên liệu. Theo Tân và cs (2011), một tỷ lệ dung môi cao có thể được tìm thấy và cho là thuận lợi trong việc trích ly các hợp chất phenolic. Các kết quả này phù hợp với nguyên tắc truyền khối mà động lực cho khối lượng chuyển khối được coi là gradient nồng độ giữa chất rắn và dung môi. Tỷ lệ dung môi cao có thể thúc đẩy một gradient nồng độ càng tăng, dẫn đến tăng tốc độ khuếch tán cho phép quá trình trích ly chất rắn bằng dung môi được tốt hơn [101]. Ngoài ra, cơ hội của các thành phần hoạt tính sinh học tiếp xúc với dung môi trích ly được mở rộng với sự gia tăng lượng dung môi, dẫn đến tăng hiệu suất trích ly [102]. Tuy nhiên, sản lượng thành phần hoạt tính sinh học sẽ không tiếp tục tăng khi đã đạt được sự cân bằng và để đảm bảo giá trị kinh tế cho sản phẩm có cơ hội cạnh tranh ngoài thị trường và giảm thiểu chi phí sản xuất, chúng tôi chọn tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là 20ml/1g.

Sau khi tiến hành thử nghiệm trên quy mô phòng thí nghiệm, chúng tôi tiếp tục tăng quy mô ly trích lên 50kg nguyên liệu/mẻ.



Hình 3.18. Quy trình sản xuất cao chiết cây *Helicteres isora* L.

Mô tả quy trình ly trích:

- ✓ Nguyên liệu phần trên mặt đất cây *Helicteres isora* L. được rửa sạch, phơi khô và cắt nhỏ. Những phần bị hư, mốc được loại bỏ. Nguyên liệu sau khi được sơ chế được sấy ở 50°C cho đến hàm ẩm <10%, chú ý nguyên liệu được dàn trải đều trong hệ thống sấy để đảm bảo nguyên liệu được tiếp xúc tối ưu với nhiệt độ.
- ✓ Nguyên liệu sau khi sấy đạt độ ẩm cho phép (<10%), tiến hành cân và xay nhỏ qua rây kích thước d=0,25mm. Nguyên liệu được kiểm tra và đạt các tiêu chuẩn cơ sở được sử dụng cho các quy trình sản xuất.
- ✓ Sử dụng Phương pháp ngâm kiệt cải tiến (phân đoạn) để nâng cấp quy mô ly trích 50kg/mẻ. Sử dụng 5 bồn chiết ngâm kiệt hình nón, nguyên liệu 50kg được chia làm 5 phần (10kg nguyên liệu/bồn chiết 30 lít). Rút dịch chiết đầu của bình thứ nhất để riêng (dịch chiết giai đoạn đầu). Các dịch chiết giai đoạn sau của

bình thứ nhất sẽ là dung môi để chiết xuất các bình còn lại, cuối cùng thu được các dịch chiết đậm đặc. Tháo dịch với tốc độ hằng định, đồng thời bổ sung dung môi mới ở trên, trong quá trình ngâm kiệt không khuấy trộn nguyên liệu.

- ✓ Thiết bị thường được thiết kế có đường kính nhỏ dần về phía dưới và không có các góc cạnh để đảm bảo không có các góc chết trong thiết bị. Cuối thiết bị sẽ có van để mở xả và điều chỉnh tốc độ rút dịch. Phía trên đầu bình sẽ có hệ thống cấp dung môi chiết và tốc độ cấp bằng với tốc độ rút dịch.
- ✓ Làm ẩm dược liệu: Dược liệu sau khi phân chia cần làm ẩm bằng dung môi chiết xuất, đậy kín, để yên một thời gian cho dược liệu trương nở hoàn toàn rồi cho vào bình ngâm kiệt. Cân 10kg nguyên liệu bột *Helicteres isora* L, làm ẩm với 30 lít dung môi ethanol 70%. Thời gian để dược liệu *Helicteres isora* L trương nở hoàn toàn là khoảng 3h.
- ✓ Cho dược liệu vào bình ngâm kiệt: Cần lót lớp bông thấm nước lên trên ống thoát dịch chiết (tránh làm tắc ống và bột lẫn vào dịch chiết) sau đó đặt giấy lọc đã cắt vừa vặn đáy bình hoặc đặt vải gạc, tấm kim loại đục lỗ. Cho từ từ bột dược liệu đã làm ẩm vào bình vừa cho vừa san đều nén nhẹ các lớp dược liệu, đặt giấy lọc đè lên trên tránh xáo trộn dược liệu khi đổ dung môi.
- ✓ Đổ dung môi vào bình và ngâm lạnh: Mở khoá thoát dịch chiết và đổ dung môi tới khi có vài giọt dịch chiết chảy ra, đóng khoá lại. Đổ tiếp dung môi ngập dược liệu 10 cm. Ngâm lạnh trong thời gian xác định (khoảng 24h).
- ✓ Thu hồi và gộp chung dịch chiết của các lần chiết, cô quay dạng đĩa thu cao chiết song song với quá trình chiết để tiết kiệm thời gian. Cô quay và sấy đến hàm ẩm dưới 20%.
- ✓ Cao chiết thu được ở dạng cao đặc (độ ẩm <20%), được đánh giá các chỉ tiêu theo tiêu chuẩn cơ sở. Cao chiết được đánh số trên hộp bảo quản, 1kg cao đặc/hộp, đậy nắp, dán nhãn và bảo quản -20°C để sử dụng cho các nghiên cứu sau



Hình 3.19. Hình ảnh cao chiết

3.2.4. Tiêu chuẩn cơ sở cao chiết

Tiêu chuẩn hoá cao chiết theo tiêu chuẩn cơ sở, thực hiện theo DĐVN V. Theo DĐVN V, việc kiểm nghiệm cao chiết bao gồm các chỉ tiêu sau: Mô tả, mất khối lượng do làm khô, tro toàn phần, hàm lượng kim loại nặng, giới hạn nhiễm khuẩn, dung môi tồn dư, dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật, hàm lượng phenolic tổng số và p-coumaric acid. Trong đó, chỉ tiêu dung môi tồn dư không cần thực hiện do cao chiết được chiết bằng dung môi ethanol 70%.

Mô tả

Cao có thể chất cứng, màu nâu đen sẫm, đồng nhất, không có váng mốc, không có cặn bã và vật lạ.

Mất khối lượng do làm khô

Kết quả mất khối lượng do làm khô của cao chiết được trình bày trong bảng 3.17.

Bảng 3.17. Kết quả mất khối lượng do làm khô cao chiết

	Lần 1		Lần 2		Lần 3	
	KL cao (g)	Độ ẩm (%)	KL cao (g)	Độ ẩm (%)	KL cao (g)	Độ ẩm (%)
TB	0,504	15,27	0,5	14,69	0,507	15,01

Hàm ẩm của cao 14,99% dưới giới hạn cao đặc 20% theo qui định của DĐVN V. Như vậy, mức chất lượng đề nghị cho chỉ tiêu mất khối lượng do làm khô nằm trong giới hạn cho phép, dưới 20,0%.

Tro toàn phần

Bảng 3.18. Kết quả tro toàn phần cao chiết

	Lần 1	Lần 2	Lần 3
	14,42	14,50	14,90
TB	14,61		

Hàm lượng tro toàn phần cao chiết 14,61%. Như vậy mức chất lượng đề nghị cho chỉ tiêu tro toàn phần là không quá 15%.

Giới hạn nhiễm khuẩn

Chỉ tiêu giới hạn nhiễm khuẩn cũng được thực hiện cho cả cao và chế phẩm vì đây là những chế phẩm có nguồn gốc dược liệu nên rất dễ nhiễm các vi sinh vật trong quá trình thu hoạch, sản xuất và bảo quản.

Kết quả thử giới hạn nhiễm khuẩn cao chiết đều đáp ứng yêu cầu giới hạn tiêu chuẩn cơ sở theo qui định trong DĐVN V (Bảng 3.19). Được thực hiện ở trung tâm Kỹ thuật Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng 3 (QUATEST 3)

Hàm lượng kim loại nặng

Không phát hiện sự hiện diện của Pb, Cd, As, Hg trong cao chiết, do đó cao chiết đạt giới hạn kim loại nặng. Được thực hiện ở trung tâm Kỹ thuật Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng 3 (QUATEST 3)

pH: pH cao chiết được xác định là 6,1.

Dư lượng thuốc bảo vệ thực vật

Kết quả kiểm tra dư lượng thuốc bảo vệ thực vật trong cao chiết được Được thực hiện ở trung tâm Kỹ thuật Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng 3 (QUATEST 3) thể hiện ở Bảng 3.20.

Bảng 3.19. Kết quả phân tích giới hạn nhiễm khuẩn

Chỉ tiêu (Tính trên gram cao chiết)	Phương pháp	Kết quả	Giới hạn theo DDVN V
Tổng vi sinh vật hiếu khí (CFU/g)	ISO 4833-1:2013	$< 10^4$	10^4
Tổng số nấm men (CFU/g)	ISO 21527-1:2008	Không có khuẩn lạc mọc trên đĩa	10^2
Tổng số nấm mốc (CFU/mL)	ISO 21527-1:2008	$< 1\text{CFU/mL}$	10^2
Coliform (CFU/mL)	ISO 4832:2006	$< 1\text{CFU/mL}$	Không có trong 1 gram
<i>E. Coli</i> (CFU/mL)	ISO 16649-2:2001	$< 1\text{CFU/mL}$	Không có trong 1 gram
<i>Staphylococcus aureus</i> (CFU/mL)	AOAC 2016 (975.55)	$< 1\text{CFU/mL}$	Không quá 10^2
<i>Clostridium perfringens</i> (CFU/mL)	ISO 7937:2004	$< 1\text{CFU/mL}$	Không quá 10^2
<i>Bacillus cereus</i> giả định (CFU/mL)	ISO 7937:2004	$< 1\text{CFU/mL}$	Không quá 10^2
<i>Salmonella</i> spp/25 mL	ISO 6579-1:2017	Không phát hiện	Không có trong 10 gram

Bảng 3.20. Kết quả phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật

STT	Chỉ tiêu	Phương pháp thử	Giới hạn phát hiện	Kết quả thử nghiệm
1	Hàm lượng thuốc BVTV lân (mg/kg)	EN 15662:2018 (GC/MSMS)	0,01	Không phát hiện
2	Hàm lượng thuốc BVTV carbamate (mg/kg)	EN 15562:2018 (LC/MSMS)	0,01	Không phát hiện
3	Hàm lượng thuốc BVTV clo hữu cơ (mg/kg)	EN 15562:2018	0,01	Không phát hiện
4	Hàm lượng thuốc BVTV cúc (mg/kg)	EN 15662:2018 (GC/MSMS)	0,01	Không phát hiện
5	Hàm lượng thuốc trừ cỏ (mg/kg)	QTTN/KT3 079:2018	0,01	Không phát hiện
6	Hàm lượng thuốc BVTV (mg/kg)	QTTN/KT3 059:2018 QTTN/KT3 265:2020 QTTN/KT3 274:2020	0,0025-0,2	Không phát hiện
7	Hàm lượng phthalate (mg/kg)	QTTN/KT3 076:2018	0,5	Không phát hiện
8	Hàm lượng Polychlorinated biphenyls (PCBs) tổng (µg/kg)	QTTN/KT3 263:2020	2,5	Không phát hiện
9	Hàm lượng polycyclic aromatic hydrocarbon	QTTN/KT3 264:2020	0,6	Không phát hiện
9	Hàm lượng bromua vô cơ (mg/kg)	TCVN 8425-2:2010	3	Không phát hiện

Trong cao chiết không phát hiện dư lượng thuốc bảo vệ thực vật, do đó cao chiết đạt giới hạn dư lượng thuốc bảo vệ thực vật.

Thành phần hoạt chất trong cao chiết

Hàm lượng phenolic tổng số và p-coumaric acid trong cao chiết được thể hiện ở bảng 3.21.

Bảng 3.21. Hàm lượng phenolic tổng số của cao chiết ethanol *Helicteres isora* L

Mẫu	Hàm lượng phenolic tổng số (mg/g cao chiết)	Hàm lượng p-Coumaric acid (μ g/g cao chiết)
Cao chiết <i>Helicteres isora</i> L.	202,07 $\pm$ 1,21	36,24 $\pm$ 0,75

Mỗi giá trị trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại $\pm$ Độ lệch chuẩn (Mean $\pm$ SD)

Dựa vào kết quả bảng 3.21, hàm lượng phenolic tổng số của cao chiết ethanol phân trên mặt đất là 202,07 $\pm$ 1,21 (mg/g cao). Một báo cáo của Nataraj và cs (2013) [102] đã báo cáo hàm lượng phenolic tổng số cao chiết *Helicteres isora* L. là 2,6 $\pm$ 0,13 mg/100g. Nghiên cứu trước đó của Gayathri (2010) ở *Helicteres isora* L., hàm lượng phenolic tổng số của cao chiết trái và vỏ xác định được tương ứng 317,7 $\pm$ 4,2 mg/100g, 269,3 $\pm$ 2,8 mg/100g [103]. Bên cạnh đó, hàm lượng p-coumaric acid trong cao chiết cũng đạt 36,24 $\pm$ 0,75 μ g/g cao.

Thực vật cùng loài có thể khác nhau đáng kể về hàm lượng các hợp chất thứ cấp trong các điều kiện môi trường khác nhau. Điều này là do chất lượng và số lượng các hợp chất thứ cấp trong cây dược liệu phần lớn bị ảnh hưởng bởi các điều kiện môi trường. Trong một số trường hợp, sự tích lũy chất chuyển hóa thứ cấp bị ảnh hưởng bởi địa lý và điều kiện sinh thái địa phương như lượng mưa, độ ẩm, nhiệt độ, sự thay đổi của nước, sự tiếp xúc với vi sinh vật đất, sự thay đổi độ pH và chất dinh dưỡng của đất. Hơn nữa, các yếu tố môi trường cũng tương tác với yếu tố di truyền của thực vật dẫn đến sự thay đổi hàm lượng các hợp chất thứ cấp và do đó ảnh hưởng đến chất lượng của cây dược liệu.

Như vậy, kết quả kiểm nghiệm cao chiết cho thấy các thông số xác định nằm trong khoảng yêu cầu tiêu chuẩn cao dược liệu theo Dược điển Việt Nam V (Bảng 3.22).

Bảng 3.22. Tóm tắt tiêu chuẩn kiểm nghiệm cao chiết

TT	Chỉ tiêu	Phương pháp kiểm	Kết quả	Mức đề nghị
1	Mô tả	ĐDVN V, phụ lục 9.6	Cao có thể chất cứng, màu nâu sẫm, không có ván mốc, cạnh bã và vật lạ	Cao có thể chất cứng, màu nâu sẫm, không có ván mốc, cạnh bã và vật lạ
2	Mất khối lượng do làm khô	Thực hiện theo hướng dẫn của ĐDVN V, phụ lục 9.8	14,99%	Không quá 20%
3	Tỉ lệ tro	thực hiện theo hướng dẫn của ĐDVN, phụ lục 12.11.	14,61%	Không quá 15%
4	pH	Theo ĐDVN V, Phụ lục 6.2	6,1	5-7
5	Giới hạn nhiễm khuẩn	ISO 4833-1:2013; ISO 21527-1:2008; ISO 4832:2006; ISO 16649-2:2001; OAC 2016 (975.55); ISO 7937:2004; ISO 6579-1:2017	Đạt (Tổng số vi sinh vật hiếu khí < 10 CFU/g, tổng số nấm < 10 CFU/g. Không được có vi khuẩn gây bệnh)	Đạt theo ĐDVN V
6	Định tính	Phương pháp HPLC, quang phổ	Đúng (nguyên liệu chứa hợp chất phenolic và p-coumaric acid)	Đạt
7	Định lượng	Phương pháp HPLC, quang phổ	Phenolic: 202,07 ± 1,21 mg/g; p-coumaric acid 36,24 ± 0,75 µg/g	Đạt

8	Hàm lượng kim loại nặng	QTTN/KT3 098:2016 TCVN 8427:2010 QTTN/KT3 064:2016	Đạt (Không phát hiện có Pb, Cd, As, Hg)	Đạt (Không phát hiện có Pb, Cd, As, Hg)
9	Dư lượng thuốc bảo vệ thực vật	EN 15662:2018; QTTN/KT3 059:2018; QTTN/KT3 079:2018; EN 15662:2018 (GS/MSMS)	Đạt (Không phát hiện dư lượng các hàm lượng thuốc bảo vệ thực vật)	Đạt

3.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tạo bột hòa tan bằng phương pháp sấy phun

3.3.1. Ảnh hưởng của nồng độ dịch cao chiết

Bảng 3.23. Ảnh hưởng của nồng độ cao chiết đến chỉ tiêu chất lượng của bột

Nghiệm thức	Nồng độ cao chiết (°Bx)			
	5	10	15	20
Hiệu suất sấy (%)	51,77±1,39 ^a	49,23±1,21 ^b	41,22±0,79 ^c	25,98±0,69 ^d
Hiệu suất thu hồi (%)	35,42±0,56 ^b	41,12±0,27 ^a	29,39±0,41 ^c	18,26±0,22 ^d
Hàm lượng phenolic (mg/g)	46,03±0,73 ^c	85,60±0,56 ^b	86,49±1,20 ^b	96,97±1,16 ^a
Hàm ẩm (%)	4,56±0,33 ^c	4,60±0,28 ^c	5,40±0,55 ^b	6,20±0,26 ^a
Tính hút ẩm (g/100g chất rắn khô)	4,54±0,35 ^c	5,79±0,28 ^b	6,10±0,11 ^b	6,81±0,24 ^a
Độ hòa tan (%)	87,33±1,15 ^a	86,33±0,58 ^a	83,00±1,00 ^b	79,33±1,15 ^c
Chỉ số nén (%)	25,35±1,20 ^b	24,34±1,02 ^b	25,62±1,49 ^b	28,90±1,66 ^a

Mỗi giá trị là Mean ± SD; n=3. Số liệu được phân tích bởi kiểm định LSD. a, b, c, d khác biệt có ý nghĩa với $p < 0,05$

Việc xác định nồng độ chất hòa tan thích hợp đóng vai trò quan trọng trong quá trình tạo bột hòa tan *Helicteres isora* L., ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi, đặc tính vật lý và khả năng bảo quản của sản phẩm. Trong nghiên cứu này, bốn mức nồng độ cao chiết được khảo sát gồm 5, 10, 15 và 20 °Bx. Các yếu tố khác trong quá trình sấy phun được giữ cố định, bao gồm nhiệt độ đầu vào 180°C, áp suất khí nén 3 bar, lưu

lượng dịch cao chiết 9,25 ml/phút và nồng độ maltodextrin 10%. Kết quả nghiên cứu được trình bày trong Bảng 3.23.

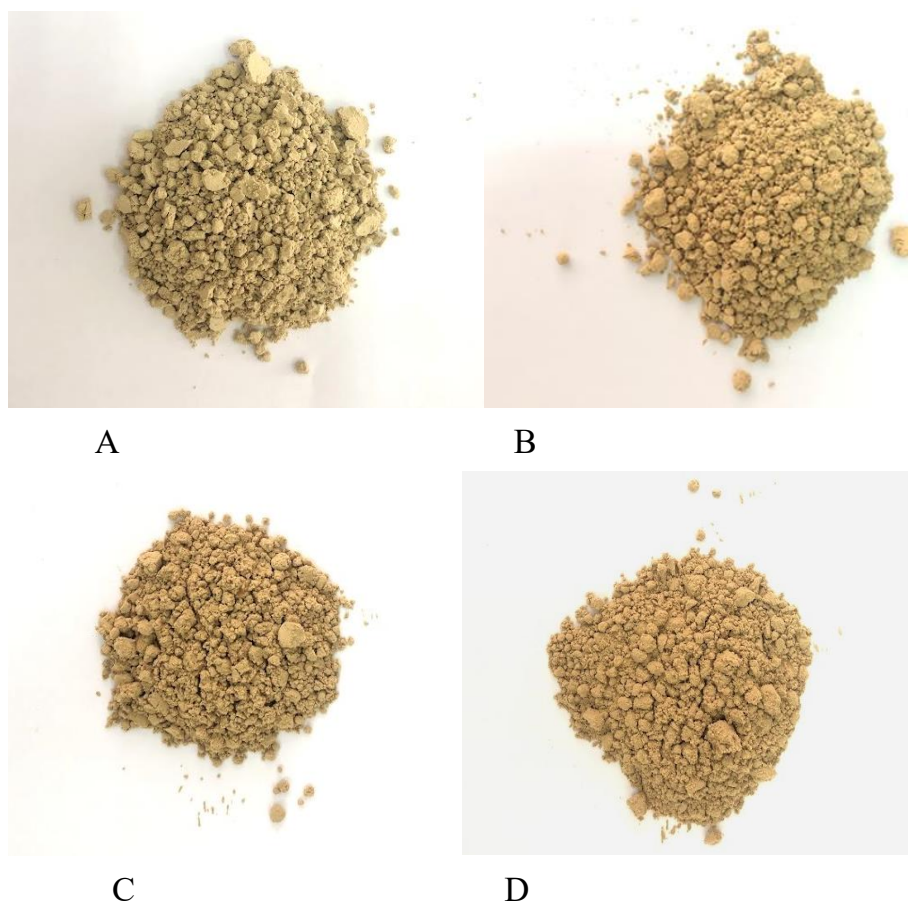
Kết quả cho thấy, nồng độ cao chiết ảnh hưởng đáng kể đến các chỉ tiêu chất lượng của bột hòa tan. Khi nồng độ tăng, hiệu suất sấy và hiệu suất thu hồi giảm đáng kể. Ở nghiệm thức 5°Bx, hiệu suất sấy đạt cao nhất (51,77%), tuy nhiên hàm lượng phenolic chỉ ở mức 46,03 mg/g, thấp hơn đáng kể so với các nghiệm thức khác. Khi tăng nồng độ lên 15°Bx và 20°Bx, hàm lượng phenolic tăng lên rõ rệt (86,49 mg/g và 96,97 mg/g), nhưng đồng thời hiệu suất sấy giảm xuống còn 41,22% và 25,98%, cho thấy sự hao hụt đáng kể trong quá trình thu hồi bột.

Về tính chất vật lý, khi nồng độ chất hòa tan tăng, hàm ẩm và khả năng hút ẩm của bột cũng gia tăng. Ở nồng độ 20°Bx, hàm ẩm đạt 6,20%, cao hơn mức 4,56% ở 5°Bx, đồng nghĩa với việc bột dễ hút ẩm từ môi trường hơn, làm tăng nguy cơ vón cục và giảm khả năng bảo quản lâu dài. Ngoài ra, độ hòa tan cũng có xu hướng giảm khi nồng độ tăng. Bột sấy phun ở 5°Bx có độ hòa tan cao nhất (87,33%), trong khi nghiệm thức 20°Bx chỉ đạt 79,33%, cho thấy sự suy giảm đáng kể về khả năng hòa tan khi nồng độ chất tan quá cao.

Chỉ số nén – một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến khả năng đóng gói và trơn chảy của bột – cũng có sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức. Ở 5°Bx và 10°Bx, chỉ số nén dao động quanh mức 24-25%, cho thấy bột có đặc tính trơn chảy kém. Tuy nhiên, khi nồng độ tăng lên 20°Bx, chỉ số nén đạt 28,90%, cho thấy bột dễ bị vón cục hơn, ảnh hưởng đến quá trình sản xuất và bảo quản.

Dựa trên các chỉ tiêu đã phân tích, nồng độ 10°Bx được đánh giá là tối ưu cho quá trình tạo bột hòa tan. Ở mức này, hàm lượng phenolic đạt 85,6 mg/g, đảm bảo giá trị sinh học của sản phẩm. Đồng thời, hàm ẩm ở mức 4,60%, giúp bột có độ ổn định cao hơn so với nghiệm thức 20°Bx. Độ hòa tan ở 10°Bx vẫn đạt 86,33%, đủ để đáp ứng tiêu chuẩn của sản phẩm hòa tan.

Như vậy, lựa chọn nồng độ cao chiết 10°Bx không chỉ giúp tối ưu hóa hiệu suất thu hồi và hàm lượng hoạt chất mà còn đảm bảo độ hòa tan, khả năng bảo quản và tính ứng dụng của sản phẩm bột hòa tan trong thực tiễn sản xuất.



Hình 3.20 Hình ảnh bột được liệu ảnh hưởng của nồng độ dịch cao chiết
(A) bột 5°Bx (B) bột 10°Bx (C) bột 15°Bx (D) Bột 20°Bx

3.3.2. Ảnh hưởng của nồng độ malto

Bảng 3.24. Ảnh hưởng của nồng độ malto đến chỉ tiêu chất lượng của bột

	Nồng độ malto			
Nghiem thức	5	10	15	20
Hiệu suất sấy (%)	51,83±0,83 ^b	51,44±0,69 ^b	57,02±0,79 ^a	34,69±0,65 ^c
Hiệu suất thu hồi (%)	40,35±0,48 ^b	45,13±0,50 ^a	45,96±0,37 ^a	29,14±1,29 ^c
Hàm lượng phenolic (mg/g)	103,40 ±1,23 ^a	88,62±0,98 ^b	64,52±0,51 ^c	55,38±2,46 ^d
Hàm ẩm (%)	6,31±0,37 ^a	5,29±0,25 ^b	4,84±0,18 ^b	4,15±0,20 ^c
Tính hút ẩm (g/100g chất rắn khô)	7,43±0,40 ^a	6,13±0,21 ^b	4,83±0,22 ^c	4,41±0,28 ^c
Độ hòa tan (%)	84,67±0,58 ^c	87,33±0,58 ^b	88,00±1,00 ^{ab}	89,67±1,53 ^a
Chỉ số nén (%)	23,92±1,23 ^b	24,40±1,44 ^b	25,31±1,03 ^{ab}	26,99±0,46 ^a

Mỗi giá trị là Mean ± SD; n=3. Số liệu được phân tích bởi kiểm định LSD. a, b, c, d khác biệt có ý nghĩa với $p < 0,05$

Maltodextrin đóng vai trò quan trọng trong quá trình sấy phun, giúp tăng cường khả năng bảo vệ hoạt chất, cải thiện độ hòa tan và duy trì tính ổn định của bột hòa tan. Nghiên cứu này khảo sát ảnh hưởng của bốn mức nồng độ maltodextrin (5, 10, 15, 20%) đến các chỉ tiêu chất lượng của bột *Helicteres isora* L., trong đó các yếu tố cố định gồm nhiệt độ sấy 180°C, áp suất khí nén 3 bar, lưu lượng dịch cao chiết 9,25 ml/phút và nồng độ chất hòa tan 15°Bx. Kết quả được trình bày trong Bảng 3.24.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nồng độ maltodextrin có tác động đáng kể đến hiệu suất sấy, hiệu suất thu hồi, hàm lượng phenolic và tính chất vật lý của bột. Khi tăng nồng độ maltodextrin từ 5% lên 15%, hiệu suất sấy tăng từ 51,83% lên 57,02%, cho thấy việc bổ sung maltodextrin giúp cải thiện quá trình hình thành bột và giảm sự thất thoát nguyên liệu. Tuy nhiên, ở mức 20%, hiệu suất sấy giảm đáng kể xuống 34,69%, có thể do sự tạo kết cấu không đồng đều trong quá trình sấy, làm giảm khả năng thu hồi sản phẩm.

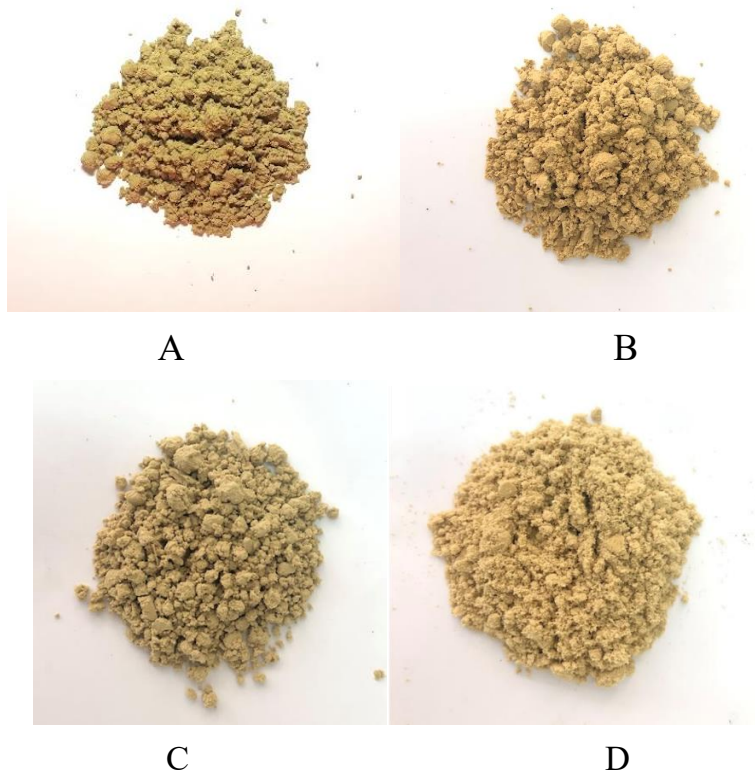
Hàm lượng phenolic trong bột cũng bị ảnh hưởng rõ rệt bởi nồng độ maltodextrin. Khi tăng từ 5% lên 20%, hàm lượng phenolic giảm từ 103,40 mg/g xuống còn 55,38 mg/g. Điều này có thể giải thích do maltodextrin hoạt động như một tác nhân bảo vệ nhưng đồng thời cũng làm pha loãng hàm lượng hoạt chất trong sản phẩm cuối cùng. Vì vậy, việc lựa chọn nồng độ phù hợp là cần thiết để cân bằng giữa hiệu suất bảo vệ và hàm lượng hoạt chất.

Hàm ẩm và tính hút ẩm của bột có xu hướng giảm khi tăng nồng độ maltodextrin. Ở mức 5%, hàm ẩm đạt 6,31% và tính hút ẩm là 7,43 g/100g chất rắn khô, trong khi ở mức 20%, các chỉ số này giảm xuống còn 4,15% và 4,41%, cho thấy maltodextrin giúp giảm khả năng hấp thụ hơi ẩm từ môi trường, cải thiện độ ổn định của sản phẩm trong quá trình bảo quản.

Về độ hòa tan, bột sấy với 20% maltodextrin có độ hòa tan cao nhất (89,67%), trong khi mức 5% có độ hòa tan thấp hơn (84,67%). Điều này có thể do maltodextrin có đặc tính dễ hòa tan, giúp tăng khả năng hòa tan tổng thể của sản phẩm bột. Tuy nhiên, chỉ số nén của bột ở 20% maltodextrin cũng cao nhất (26,99%), cho thấy bột có xu hướng vón cục nhiều hơn, có thể ảnh hưởng đến quá trình đóng gói và sử dụng sản phẩm.

Dựa trên kết quả nghiên cứu, nồng độ maltodextrin 10% được đánh giá là tối ưu. Ở mức này, hiệu suất sấy đạt (51,44%), hiệu suất thu hồi cũng cao (45,13%) và hàm lượng phenolic cao nhất ở mức 88,62 mg/g. Hàm ẩm và tính hút ẩm ở mức hợp lý, giúp duy trì chất lượng bột trong thời gian dài. Độ hòa tan vẫn đạt 87,33%, phù hợp với tiêu chuẩn của sản phẩm hòa tan.

Như vậy, lựa chọn nồng độ maltodextrin 10% là phù hợp nhất để tối ưu hóa hàm lượng phenolic và hiệu suất sản xuất, bảo vệ hoạt chất và duy trì các đặc tính lý-hóa của bột hòa tan *Helicteres isora* L.



Hình 3.21 Ảnh hưởng của nồng độ malto

(A) Malto 5% (B) Malto 10% (C) Malto 15% (D) Malto 20%

3.3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy

Bảng 3.25. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến chỉ tiêu chất lượng của bột

Nghiệm thức	Nhiệt độ			
	160	170	180	190
Hiệu suất sấy (%)	51,53±0,52 ^c	52,91±0,98 ^{ab}	53,49±0,55 ^a	51,91±0,73 ^{bc}
Hiệu suất thu hồi (%)	43,07±0,44 ^b	45,38±0,12 ^a	45,75±0,53 ^a	45,96±0,57 ^a
Hàm lượng phenolic (mg/g)	84,84±0,87 ^c	85,71±0,23 ^{bc}	86,75±0,99 ^b	88,52±1,09 ^a
Hàm ẩm (%)	4,57±0,30	4,81±0,46	4,67±0,39	4,42±0,64
Tính hút ẩm (g/100g chất rắn khô)	5,84±0,17 ^b	6,81±0,37 ^a	6,34±0,20 ^a	6,79±0,28 ^a
Độ hòa tan (%)	85,33±0,58	87,00±1,00	86,67±0,58	87,00±1,00
Chỉ số nén (%)	27,52±1,22 ^a	23,81±1,19 ^b	24,43±1,16 ^b	22,51±1,80 ^b

Mỗi giá trị là Mean ± SD; n=3. Số liệu được phân tích bởi kiểm định LSD. a, b, c, d khác biệt có ý nghĩa với $p < 0,05$

Nhiệt độ sấy là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi, thành phần hoạt chất và chất lượng vật lý của bột dược liệu. Để xác định nhiệt độ sấy phù hợp nhất, nghiên cứu này tiến hành khảo sát ảnh hưởng của bốn mức nhiệt độ sấy (160°C, 170°C, 180°C và 190°C) đến các chỉ tiêu chất lượng của bột *Helicteres isora* L. Các thông số cố định bao gồm áp suất khí nén 3 bar, lưu lượng dịch cao chiết 9,25 ml/phút, nồng độ chất hòa tan 15°Bx và nồng độ maltodextrin 15%. Kết quả được trình bày trong Bảng 3.25.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nhiệt độ sấy có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất sấy, hiệu suất thu hồi, hàm lượng phenolic cũng như các đặc tính vật lý của bột. Khi tăng nhiệt độ từ 160°C lên 180°C, hiệu suất sấy có xu hướng tăng, đạt mức cao nhất ở 180°C (53,49%), sau đó giảm nhẹ ở 190°C (51,91%). Điều này có thể do ở nhiệt độ quá cao, quá trình bay hơi diễn ra nhanh hơn, khiến một phần bột bị thất thoát trong quá trình sấy.

Hiệu suất thu hồi cũng có xu hướng tăng dần khi nhiệt độ sấy tăng từ 160°C lên 190°C, với mức cao nhất đạt 45,96% ở 190°C. Tuy nhiên, sự khác biệt giữa các mức 170°C, 180°C và 190°C không có ý nghĩa thống kê lớn, cho thấy rằng nhiệt độ trong khoảng 170-190°C đều phù hợp cho quá trình thu hồi bột.

Hàm lượng phenolic trong bột tăng khi nhiệt độ tăng, với mức cao nhất đạt 88,52 mg/g ở 190°C. Điều này có thể do nhiệt độ cao giúp quá trình bay hơi nước diễn ra nhanh hơn, giảm thiểu sự phân hủy của hợp chất phenolic. Tuy nhiên, nếu nhiệt độ quá cao, có nguy cơ làm mất đi một số hợp chất dễ bay hơi hoặc gây biến tính một số hoạt chất quan trọng.

Hàm ẩm của bột có xu hướng giảm khi nhiệt độ tăng. Ở mức 160°C, hàm ẩm đạt 4,57%, trong khi ở 190°C, chỉ còn 4,42%. Điều này cho thấy nhiệt độ cao giúp loại bỏ ẩm tốt hơn, góp phần kéo dài thời gian bảo quản sản phẩm.

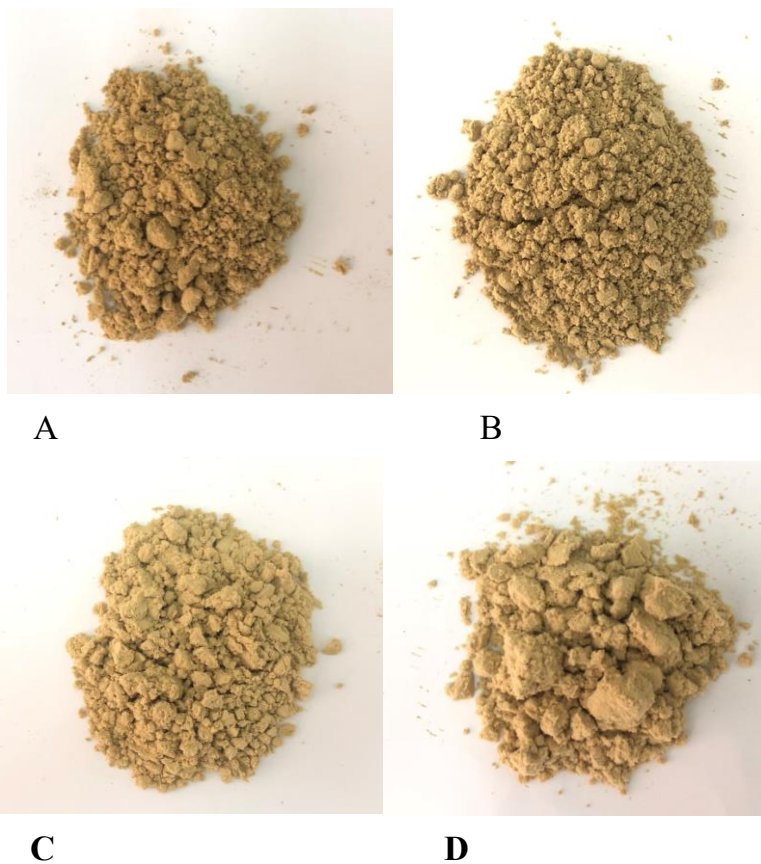
Về tính hút ẩm, bột sấy ở 170°C, 180°C và 190°C có mức hút ẩm cao hơn đáng kể so với 160°C. Điều này có thể do cấu trúc bề mặt của bột bị thay đổi ở nhiệt độ cao, làm tăng khả năng hấp thụ hơi nước từ môi trường. Tuy nhiên, sự khác biệt không quá lớn giữa ba mức nhiệt 170-190°C.

Độ hòa tan của bột dao động trong khoảng 85,33-87,00% và không có sự chênh lệch lớn giữa các mức nhiệt độ. Điều này cho thấy yếu tố nhiệt độ sấy không ảnh hưởng đáng kể đến khả năng hòa tan của sản phẩm.

Chỉ số nén của bột có xu hướng giảm khi nhiệt độ tăng. Ở 160°C, chỉ số nén đạt 27,52%, trong khi ở 190°C, chỉ còn 22,51%. Điều này cho thấy bột sấy ở nhiệt độ cao có xu hướng tơi xốp hơn, ít bị vón cục, giúp cải thiện khả năng bảo quản và sử dụng.

Dựa trên kết quả nghiên cứu, nhiệt độ sấy 170°C được đánh giá là tối ưu. Ở mức nhiệt này, hiệu suất sấy đạt (52,91%), hiệu suất thu hồi ở mức ổn định (45,38%) và hàm lượng phenolic vẫn đảm bảo ở mức cao (85,71 mg/g). Hàm ẩm và tính hút ẩm ở mức hợp lý, giúp duy trì chất lượng bột trong thời gian dài. Độ hòa tan không có sự khác biệt lớn so với các mức nhiệt độ khác, và chỉ số nén ở mức tốt giúp bột có độ tơi xốp thích hợp.

Như vậy, nhiệt độ sấy 170°C là mức nhiệt lý tưởng để tối ưu hóa quá trình sản xuất bột hòa tan *Helicteres isora* L., đảm bảo cả hiệu suất thu hồi, bảo vệ hoạt chất và duy trì chất lượng vật lý của sản phẩm



Hình 3.22: Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy
(A) 160 °C (B) 170 °C (C) 180 °C (D) 190°C

3.3.4. Ảnh hưởng của lưu lượng

Bảng 3.26. Ảnh hưởng của lưu lượng đến chỉ tiêu chất lượng của bột

Nghiệm thức	Lưu lượng (ml/ph)			
	9,25	12,5	16,5	20
Hiệu suất sấy (%)	51,58 ± 1,48 ^{ab}	52,42 ± 0,88 ^a	49,81 ± 0,75 ^{bc}	49,00 ± 0,77 ^c
Hiệu suất thu hồi (%)	44,91 ± 0,56 ^{ab}	45,53 ± 0,41 ^a	44,09 ± 0,37 ^b	41,06 ± 0,39 ^c
Hàm lượng phenolic (mg/g)	85,67 ± 1,06	86,18 ± 0,77	86,20 ± 0,72	85,45 ± 0,80
Hàm ẩm (%)	4,46 ± 0,15 ^b	4,61 ± 0,20 ^{ab}	4,81 ± 0,17 ^a	4,90 ± 0,16 ^a
Tính hút ẩm (g/100g chất rắn khô)	7,26 ± 0,30 ^a	6,51 ± 0,24 ^b	6,42 ± 0,29 ^b	6,67 ± 0,19 ^b
Độ hòa tan (%)	86,67 ± 1,53	87,33 ± 1,15	86,33 ± 1,53	87,00 ± 1,00
Chỉ số nén (%)	23,90 ± 1,04	23,49 ± 1,50	23,28 ± 0,84	23,59 ± 1,16

Mỗi giá trị là Mean ± SD; n=3. Số liệu được phân tích bởi kiểm định LSD. a, b, c, d khác biệt có ý nghĩa với $p < 0,05$

Lưu lượng dịch cấp vào trong quá trình sấy phun là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi, hàm lượng hoạt chất và các chỉ tiêu chất lượng vật lý của bột dược liệu. Việc điều chỉnh lưu lượng phù hợp giúp tối ưu hóa hiệu suất thu hồi mà không làm ảnh hưởng tiêu cực đến chất lượng sản phẩm. Để đánh giá ảnh hưởng của lưu lượng, nghiên cứu này tiến hành khảo sát bốn mức lưu lượng dịch (9,25 ml/phút, 12,5 ml/phút, 16,5 ml/phút và 20 ml/phút) với các thông số cố định gồm nhiệt độ sấy 180°C, áp suất khí nén 3 bar, nồng độ chất hòa tan 15°Bx và nồng độ maltodextrin 15%. Kết quả được trình bày trong Bảng 3.26.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, lưu lượng dịch có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất sấy và hiệu suất thu hồi. Khi lưu lượng tăng từ 9,25 ml/phút lên 12,5 ml/phút, hiệu suất sấy và hiệu suất thu hồi đều đạt giá trị cao nhất (52,42% và 45,53%). Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng lưu lượng lên 16,5 ml/phút và 20 ml/phút, hiệu suất sấy và thu hồi có xu hướng giảm. Điều này có thể do lưu lượng quá cao khiến lượng dung dịch đưa vào buồng sấy vượt quá khả năng bay hơi của khí nóng, làm tăng hiện tượng dính bột vào thành buồng sấy, dẫn đến thất thoát nguyên liệu.

Hàm lượng phenolic trong bột không có sự thay đổi lớn giữa các mức lưu lượng. Giá trị này dao động từ 85,45 mg/g đến 86,20 mg/g, cho thấy quá trình sấy phun với các lưu lượng khác nhau không ảnh hưởng đáng kể đến sự bảo toàn của hợp chất phenolic. Điều này có thể do tốc độ bay hơi tương đối đồng đều trong các điều kiện thử nghiệm, không làm phân hủy hoặc thất thoát đáng kể hoạt chất.

Hàm ẩm của bột có xu hướng tăng khi lưu lượng tăng. Ở mức lưu lượng thấp nhất (9,25 ml/phút), hàm ẩm đạt 4,46%, trong khi ở mức cao nhất (20 ml/phút), hàm ẩm tăng lên 4,90%. Điều này có thể do khi lưu lượng tăng, tốc độ bay hơi của nước trong buồng sấy không theo kịp lượng dung môi được đưa vào, khiến bột giữ lại một lượng ẩm lớn hơn.

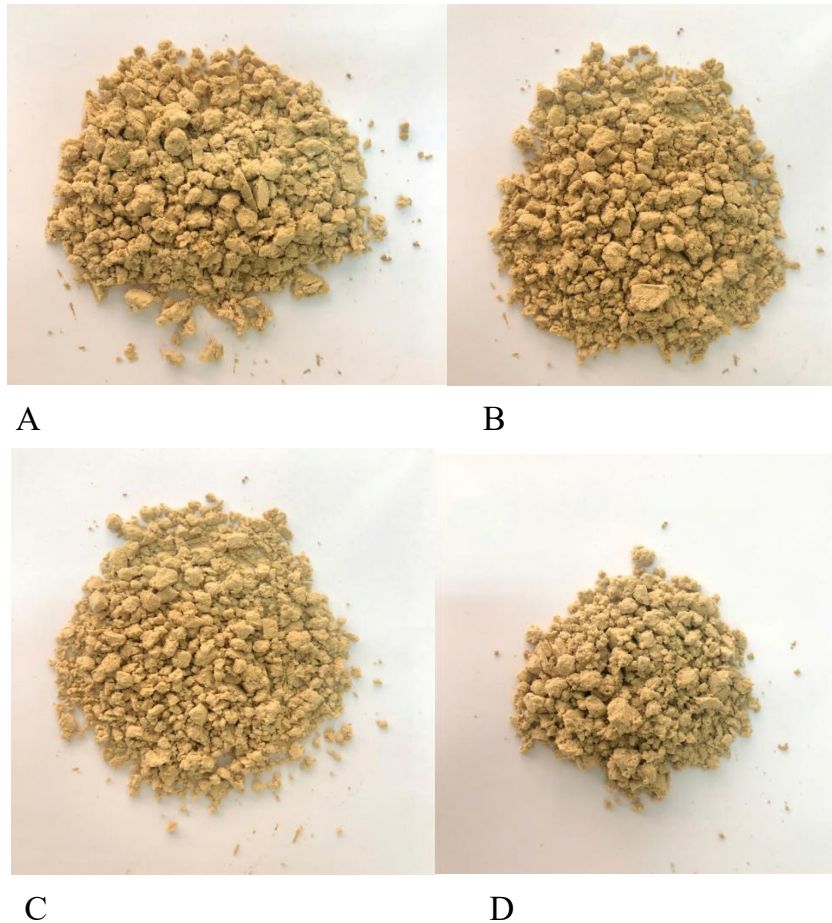
Về tính hút ẩm, bột thu được ở mức lưu lượng 9,25 ml/phút có tính hút ẩm cao nhất (7,26 g/100g chất rắn khô), trong khi các mức lưu lượng cao hơn có tính hút ẩm thấp hơn, dao động từ 6,42 đến 6,67 g/100g chất rắn khô. Điều này có thể do sự thay đổi trong cấu trúc vi mô của bột khi tốc độ cấp dịch thay đổi, ảnh hưởng đến khả năng hấp thụ hơi ẩm từ môi trường.

Độ hòa tan của bột dao động trong khoảng 86,33% - 87,33% và không có sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức. Điều này cho thấy yếu tố lưu lượng không ảnh hưởng lớn đến khả năng hòa tan của sản phẩm.

Chỉ số nén của bột dao động từ 23,28% đến 23,90% và không có sự khác biệt đáng kể giữa các mức lưu lượng. Điều này cho thấy độ xốp và tính chảy của bột ít bị ảnh hưởng bởi sự thay đổi lưu lượng dịch cấp.

Dựa trên kết quả nghiên cứu, lưu lượng 12,5 ml/phút được đánh giá là tối ưu. Ở mức lưu lượng này, hiệu suất sấy đạt cao nhất (52,42%), hiệu suất thu hồi cũng đạt mức tối đa (45,53%), trong khi hàm lượng phenolic vẫn được bảo toàn tốt. Hàm ẩm và tính hút ẩm ở mức hợp lý, giúp duy trì chất lượng bột trong thời gian dài. Độ hòa tan không có sự khác biệt lớn so với các mức lưu lượng khác, và chỉ số nén duy trì ở mức tốt, đảm bảo bột có độ tơi xốp phù hợp.

Như vậy, lưu lượng dịch 12,5 ml/phút là mức lưu lượng phù hợp nhất để tối ưu hóa quá trình sản xuất bột hòa tan *Helicteres isora* L., giúp cân bằng giữa hiệu suất thu hồi, bảo toàn hoạt chất và duy trì chất lượng vật lý của sản phẩm.



Hình 3.23 Ảnh hưởng của lưu lượng

(A) 9,25ml/phút (B) 12,5ml/phút (C) 16,5ml/phút (D) 20ml/phút

3.4. Sản xuất bột hòa tan *Helicteres isora* L

3.4.1. Quy trình sản xuất bột hòa tan *Helicteres isora* L

Nâng cấp quy mô sản xuất cao khô sấy phun 5 kg/mẻ: Từ kết quả khảo sát các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình tạo cao khô sấy phun cây *Helicteres isora* L và trình tự các giai đoạn sấy phun đã xây dựng ở nội dung trước, việc nâng cấp quy mô sấy phun được thực hiện nhằm xác định thông số thiết bị, hoàn thiện quy trình sấy phun và đánh giá tính khả thi của quy trình khi áp dụng trên hệ thống thiết bị có tính tương thích với quy mô công nghiệp.

Quy mô sấy phun được nâng cấp: 5 kg/mẻ.

Mô tả quy trình sấy phun:

❖ Bước 1. Chuẩn bị nguyên liệu

Nguyên liệu dùng để chế biến sản phẩm phải có chất lượng tốt không bị hỏng, mốc, kiểm nghiệm đạt tiêu chuẩn mới được đưa vào sản xuất. Các mẫu cây dược liệu an xoa sau khi thu hái được rửa sạch, cắt bỏ phần rễ, sử dụng phần trên mặt đất của cây, hong gió cho ráo nước. Đặt nguyên liệu trong các khay và cho vào tủ sấy khi nhiệt độ tủ sấy đạt 60°C sấy đến độ ẩm 9-10%. Sau khi sấy khô, nguyên liệu được

nghiền thành bột bằng máy nghiền với kích thước lỗ rây 0,25 mm. Mẫu nghiền được cân, ghi tên nguyên liệu, số lượng, số lô.

❖ Bước 2. Li trích, lọc và cô đặc

Làm ẩm dược liệu an xoa bằng dung môi ethanol 70% trong thùng kín. Đảo trộn để dược liệu được làm ẩm đều. Nạp dược liệu đã làm ẩm vào bình ngấm kiệt. Mở khóa bình ngấm kiệt tối đa, cho dung môi vào bình ngấm kiệt, đến khi dung môi ngập mặt dược liệu 10 cm và không còn bọt khí qua khóa của bình ngấm kiệt. Khóa bình ngấm kiệt và ngâm lạnh trong 24 giờ. Dịch chiết được rút từ bình ngấm kiệt.

Dịch chiết được lọc và cô đặc bằng máy cô áp suất giảm hệ thống lớn với nhiệt độ không quá 60°C, thu được dịch cao chiết với nồng độ 10°Bx.

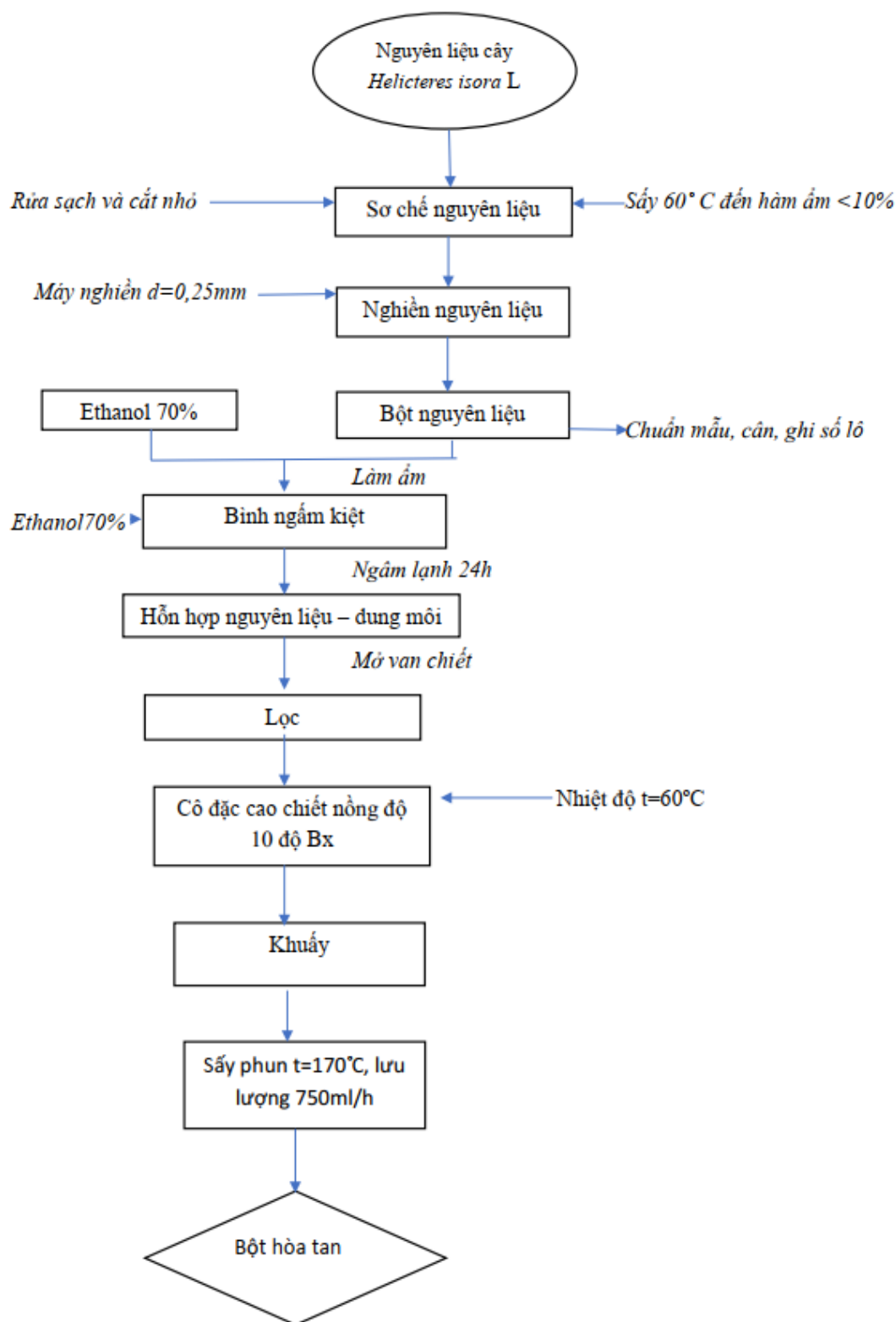
❖ Bước 3. Chuẩn bị dung dịch sấy phun

Dịch chiết được liệu đạt 10°Brix được bổ sung chất mang maltodextrin với tỉ lệ 10% theo khối lượng. Khuấy với tốc độ 40 vòng/phút trong 10 phút để maltodextrin tan và tạo dịch huyền phù đồng nhất.

❖ Bước 4. Sấy phun tạo cao khô dược liệu

Sử dụng máy sấy phun sương tự động model TPS-3. Cài đặt nhiệt độ khí vào ở mức 170°C, tốc độ bơm dung dịch 750 mL/h.

Nạp dung dịch sấy phun vào thùng chứa dịch với thể tích mỗi lần là 10L. Dịch sấy phun được bơm vào đỉnh buồng sấy thông qua bộ phun sương với các vòi phun hoạt động bằng khí nén dưới áp suất $p = 3$ bar, tạo thành dạng sương mù. Không khí nóng khô được thổi vào buồng sấy tiếp xúc với dịch sấy phun. Bột hòa tan *Helicteres isora* L. được thu ở hệ thống thu bột khô kiểu túi lọc.



Hình 3.24. Quy trình sản xuất cao dược liệu *Helicteres isora* L.

3.4.2. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở bột hòa tan *Helicteres isora* L:

3.4.2.1. Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này áp dụng cho bột hòa tan từ *Helicteres isora* L., sản phẩm được sử dụng trong thực phẩm, dược phẩm, hoặc thực phẩm chức năng. Tiêu

chuẩn này quy định các yêu cầu kỹ thuật, phương pháp thử nghiệm, và yêu cầu về bao gói, bảo quản sản phẩm.

3.4.2.2 Yêu cầu kỹ thuật

➤ Chỉ tiêu cảm quan:

- Trạng thái: Dạng bột mịn, khô, không vón cục.
- Màu sắc: Màu vàng nâu đặc trưng
- Mùi vị: Mùi thơm nhẹ đặc trưng, không có mùi lạ.
- Độ tan: Tan hoàn toàn trong nước ấm.

Chỉ tiêu vi sinh vật

Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Giới hạn tối đa	Phương pháp thử nghiệm
Tổng số vi sinh vật hiếu khí	CFU/g	$\leq 10^4$	ISO 4833-1:2013/Amd 1:2022
Coliforms	CFU/g	≤ 10	TCVN 6848:2007 (ISO 4832:2006)
<i>Escherichia coli</i>	CFU/g	Không phát hiện	TCVN 7924-2:2008 (ISO 16649-2:2001)
<i>Staphylococcus aureus</i>	CFU/g	Không phát hiện	AOAC 975.55 (2023)
<i>Clostridium perfringens</i>	CFU/g	Không phát hiện	TCVN 4991:2005 (ISO 7937:2004)
<i>Bacillus cereus</i>	CFU/g	≤ 10	TCVN 4992:2005 (ISO 7932:2004)
Tổng số nấm men, nấm mốc	CFU/g	≤ 10	TCVN 8275-2:2010 (ISO 21527-2:2008)
<i>Salmonella spp./25g</i>	-	Không phát hiện	ISO 6579-1:2017

➤ Chỉ tiêu kim loại nặng

Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Giới hạn tối đa	Phương pháp thử nghiệm
Hàm lượng asen tổng số	mg/kg	$\leq 0,1$	QTTN/KT3 098:2016 (AOAC 999.11)
Hàm lượng chì	mg/kg	$\leq 0,1$	QTTN/KT3 098:2016 (AOAC 999.11)
Hàm lượng cadimi	mg/kg	$\leq 0,1$	QTTN/KT3 098:2016 (AOAC 999.11)
Hàm lượng thủy ngân	mg/kg	$\leq 0,05$	QTTN/KT3 064:2016 (AOAC 971.21)

➤ **Hàm lượng tro**

Chỉ tiêu	Đơn vị	Giới hạn tối đa	Phương pháp thử nghiệm
Hàm lượng tro tổng	g/100g	$\leq 12,0$	QTTN/KT3 137:2016
Hàm lượng tro không tan trong HCl 10%	g/100g	$\leq 0,1$	QTTN/KT3 138:2016 (TCVN 8427:2010)

Hàm lượng hoạt chất

Chỉ tiêu	Kết quả	Phương pháp thử nghiệm
Hàm lượng phenolic	$86,18 \pm 0,77$ (mg/g cao khô)	Phương pháp HPLC, quang phổ
Hàm lượng p-coumaric acid	$10,90 \pm 0,08$ ($\mu\text{g/g}$ cao khô)	Phương pháp HPLC, quang phổ

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận

Đã xây dựng được tiêu chuẩn cho các chỉ tiêu đặc điểm thực vật học của dược liệu *Helicteres isora* L. (cây An Xoa), bao gồm đặc điểm hình thái, vi phẫu thân, lá, cuống lá và đặc điểm bột dược liệu. Kết quả khảo sát cho thấy các đặc điểm hình thái và vi phẫu của dược liệu phù hợp với đặc điểm chung của thực vật thuộc lớp Ngọc Lan. Các chỉ tiêu thử tinh khiết của dược liệu như hàm ẩm, tro toàn phần, tro không tan trong acid, tạp chất lẫn trong dược liệu, chất chiết được, hàm lượng kim loại nặng và dư lượng thuốc bảo vệ thực vật đều đạt tiêu chuẩn chất lượng.

Đã xác định được: phương pháp ngâm kiệt, dung môi ethanol 70% và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:20 là điều kiện tối ưu để ly trích thu nhận cao chiết cây *Helicteres isora* L. Điều kiện tối ưu được sử dụng để ly trích cao chiết với quy mô 50kg nguyên liệu/mẻ.

Cao chiết thu được đáp ứng các tiêu chuẩn về cảm quan, độ ẩm, hàm lượng tro, giới hạn nhiễm khuẩn, dư lượng kim loại nặng, dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và thành phần hoạt chất theo Dược điển Việt Nam V. Cụ thể, hàm lượng phenolic tổng số đạt 202,07 mg/g và p-coumaric acid đạt 36,24 µg/g, đảm bảo tính nhất quán và chất lượng của cao dược liệu.

Xác định được điều kiện phù hợp để tạo bột hòa tan chứa cao chiết *Helicteres isora* L. bằng phương pháp sấy phun: dịch cao chiết có nồng độ chất hòa tan 10°Bx, nồng độ chất mang maltodextrin 10%, nhiệt độ sấy 170°C và lưu lượng dịch chiết 12,5 ml/phút.

2. Kiến nghị

Bột hòa tan chứa cao chiết cây *Helicteres isora* L. tạo ra cần nghiên cứu đánh giá độ an toàn, tác dụng sinh học để làm cơ sở cho việc ứng dụng.

Nghiên cứu tạo các sản phẩm (trà hòa tan, các dạng thực phẩm bảo vệ sức khỏe) từ bột hòa tan chứa cao chiết cây *Helicteres isora* L.

Xây dựng vùng trồng cây *Helicteres isora* L. để kiểm soát chất lượng và làm nguyên liệu cho việc sản xuất các sản phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kumar N., Singh A.K., 2014, *Plant profile, phytochemistry and pharmacology of Avartani (Helicteres isora Linn.)*, A review. *Asian-Pac. J. Trop. Biomed.* 4(1), pp. 22-26.
2. Shriram V., Jahagirdar S., Latha C., Kumar V., Dhakephalkar P., Rojatkar S., Shitole M.G., 2010, *Antibacterial & antiplasmod activities of Helicteres isora L*, *Indian J Med Res*:32, pp. 94-99.
3. TS. Trần Minh Ngọc, Phó Cục trưởng Cục Quản lý Y dược cổ truyền, Bộ Y Tế, *Thực trạng và chính sách phát triển dược liệu Việt Nam*, tạp chí Cộng sản
4. GS.TS. Nguyễn Minh Đức và Trung tâm Thông tin Khoa học và Công nghệ TP. HCM, *báo cáo phân tích xu hướng công nghệ chuyên đề sản xuất thuốc và thực phẩm chức năng từ dược liệu*, 2011, Sở Khoa học và Công nghệ tp.HCM.
5. Võ Văn Chi, 2021, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, tập 2, NXB Y học.
6. Md Nahid Hasan, Md Aktaruzzaman, Md Ferdous Hossain, Sheikh Tarikul Islam Tusher, *A Description and Relevant Information Profile of the Medicinal Plant Helicteres Isora Linn* , *Middle East Research Journal of Pharmaceutical Sciences. Sci*, 4(1): 14-21.)
7. Shamkuwar P., 2020, Evaluation of Antispasmodic Potential of Polyherbal Formulation, *Asian Journal of Biological and Life Sciences*:9(3), pp. 348-351.
8. Muthukumar M., Muthukrishnan S., SenthilKumar T., Rao V.M. , 2020, *Direct regeneration, microshoot recovery and assessment of genetic fidelity in Helicteres isora L.*, a medicinally important tree. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 23.
9. Mudasir Qadir and Fatima Khan, 2019, *Effect of various pre-treatments for breaking the dormancy of Helicteres isora Linn*. *Indian J. Applied & Pure Bio.* 34(2), pp. 84-89 .
10. A Umroni, H Rianawati , D Pamungkas , E Pujiono and Sumardi, 2023, *Field performance of one-year-old medicinal plant: Screw tree (Helicteres isora Linn.) from stem cuttings in the tropical savanna region*, *International Conference on Modern and Sustainable Agriculture (ICOMSA)*, *Sci.* 1133 012059.
11. Marfappan Muthukumar, Thfruppathf Senthff Kumar & Mandaff Venkateswara Rao, 2017, *Phenology and seed germination of the Indian Screw Tree Helicteres isora L. (Malvales: Malvaceae)*, *Journaf of Threatened Taxa*, 9(12), pp11040–11044.

12. Renu Dayal, Amrita Singh, Rudra P. Ojha, K. P. Mishra, *Possible therapeutic potential of Helicteres isora (L.) and it's mechanism of action in diseases*, Journal of Medicinal Plants Studies 2015; 3(2): 95-100.
13. Venkatesh S., Sailaxmi K., Madhava Reddy B and Ramesh M., 2007, *Antimicrobial activity of Helicteres isora root*, Indian J Pharm Sci: 69 (5), pp. 687-689.
14. Boopathy Raja A., Elanchezhian C., Sethupathy S., 2010, *Antihyperlipidemic activity of Helicteres isora fruit extract on streptozotocin induced diabetic male Wistar rats*, Eur Rev Med Pharmacol Sci: 14(3), pp. 191-196.
15. Sanjeet Kumar, Padan Kumar Jena, Monika Kumari, Navyanita Patnaik, Ashok Kumar Nayak and Prakash Kumar Tripathy, Validation of tribal claims through pharmacological studies of Helicteres isora L. leaf extracts: an Empirical Research, *International Journal of Drug Development & Research*, 5 (1): 279-285
16. D.E. Okwu and I.N. Emenike, Evaluation of The Phytonutrients and Vitamins Content of Citrus Fruits, 2006, *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences* 2 (1), pp. 1-6.
17. Okwu DE. Phytochemical and vitamin content of indigenous spices of South-Eastern Nigeria, 2004, *Journal of Sustainable Agriculture and Environment*, 6 (2), pp, 30-34
18. Mahire S.P, Patel S.N., 2020, *Extraction of phytochemicals and study of its antimicrobial and antioxidant activity of Helicteres isora L.*, Clin Phytosci, pp. 6-40.
19. Didar Z., 2020, *Comparative in vitro Study of the biological activity and chemical composition extracts of Helicteres isora L. obtained by water and subcritical water extraction*, Food Quality Safety, 4(2), pp. 101-106.
20. Bean M.F., Antoun M., Abramson D., Chang C.J., McLaughlin J.L., Cassady J.M., 1985, *Cucurbitacin B, and isocucurbitacin B: cytotoxic components of Helicteres isora*, J Nat Prod, 48(3), pp. 500-503.
21. Kanthale P.R., Biradar S., 2017, *Pharmacognostic study of Helicteres isora L*, Pharmaceutical and Biological Evaluations, 4(1), pp. 47-51.
22. Gayathri P., Gayathri D.S., Sivagami S., Saroja S., 2010, *Screening and Quantitation of Phytochemicals and Nutritional Components of the Fruit and Bark of Helicteres isora*, HYGEIA. J. D.MED, 2(1), pp. 57-62.

23. Sabale P.M., Grampurohit N.D., Banerjee S.K., Gaikwad D.D., Gadhave M.V., 2012, *Recent advances on the phytochemical and pharmacological profile of plant Helicteres isora* Linn. International Res J Pharm,3(4), pp. 14-7.
24. Salve S.D., Bhuktar A.S., 2019, *Phytochemical evaluation of Helicteres isora* L. fruits, Bioinfolet, 16(1+2),pp. 56 - 58.
25. Kamiya K., Saiki Y., Hama T., Fujimoto Y., Endang H., Umar M., Satake T., 2001, *Flavonoid glucuronides from Helicteres isora*. Phytochemistry, 57, pp 297–301.
26. Vennila S, Bupesh G, Saravanamurali K, Senthil Kumar V, Senthil Raja R, Saran N et al., 2014, *Insilico docking study of compounds elucidated from Helicteres isora fruits with ampkinese- insulin receptor*, Bioinformation,10(5), pp. 263-6.
27. Wojdylo A, Oszmianski J and Czemerys R: *Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs*. Food Chem 2007; 105: 940-949
28. Sanjeet Kumar, Padan Kumar Jena, Monika Kumari, Navyanita Patnaik, Ashok Kumar Nayak and Prakash Kumar Tripathy, Validation of tribal claims through pharmacological studies of Helicteres isora L. leaf extracts: an Empirical Research, *International Journal of Drug Development & Research*, 5 (1), pp. 279-285
29. Amita Jain, Prakriti Sinha and Neetin S. Desai, 2014, *Estimation of flavonoid, phenol content and antioxidant potential of indian screw tree (Helicteres isora l.)*, International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 5(4), pp.1320-1330.
30. Hong, S. Y., Jeong, W. S., & Jun, M. (2012). Protective effects of the key compounds isolated from Corni fructus against β -amyloid-induced neurotoxicity in PC12 cells. *Molecules*, 17(9), 10831-10845.
31. Cha, H., Lee, S., Lee, J. H., & Park, J. W. (2018). Protective effects of p-coumaric acid against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 121, 131-139.
32. Sabitha, R., Nishi, K., Gunasekaran, V. P., Agilan, B., David, E., Annamalai, G., ... & Ganeshan, M. (2020). p-Coumaric acid attenuates alcohol exposed hepatic injury through MAPKs, apoptosis and Nrf2 signaling in experimental models. *Chemico-biological interactions*, 321, 109044.
33. Ekinici Akdemir, F. N., Albayrak, M., Çalik, M., Bayir, Y., & Gülçin, İ. (2017). *The protective effects of p-coumaric acid on acute liver and kidney damages induced by cisplatin*. Biomedicines, 5(2), 18.

34. Hassan, L., Bueno, P., Ferrón-Celma, I., Ramia, J. M., Garrote, D., Muffak, K., ... & Ferrón, J. A. (2005, November). Time course of antioxidant enzyme activities in liver transplant recipients. *In Transplantation proceedings*. 37(9), 3932-3935.
35. Zeinab Rafiee¹, Maasoumeh Zare Moaiedi², Armita Valizadeh Gorji³, Esrafil Mansouri, 2021, p-Coumaric acid alleviates adriamycin-induced hepatotoxicity in rats, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 11(3), pp. 115-121
36. Rong Tsao , 2010, *Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols, Nutrients*, 2, 1231-1246
37. Gayathri P, Gayathri Devi S, Sivagami Srinivasan, Saroja S., 2010, Screening and Quantitation of Phytochemicals and Nutritional Components of the Fruit and Bark of *Helicteres isora*. *Hygeia.J.D.Med*, 2(1), pp 57-62.
38. Sharma V., Chaudhary U., 2016, *Pharmacognostic and phytochemical screening of Helicteres isora* roots, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(8), pp. 96-101.
39. Kumar V., Desai D., Shriram V., 2014, *Hairy Root Induction in Helicteres isora L. and Production of Diosgenin in Hairy Roots*, *Nat Prod Bioprospect*, 4(2), pp. 107-12.
40. Deshpande H.A., Bhalsing S.R., 2014, *Isolation and characterization of diosgenin from in vitro cultured tissues of Helicteres isora L*, *Physiol Mol Biol Plants*, 20(1), pp. 89-94.
41. Shaikh S., Shriram V., Khare T., Kumar V., 2020, *Biotic elicitors enhance diosgenin production in Helicteres isora L. suspension cultures via up-regulation of CAS and HMGR genes*. *Physiol Mol Biol Plants*, 26(3), pp. 593-604.
42. Rattanamaneeerum A., Thirapanmethree K., Nakamura Y., Bongcheewin B., Chomnawang M.T., 2018, *Chemopreventive and biological activities of Helicteres isora L. fruit extracts*, *Res Pharm Sci*, 13(6), pp. 484- 492.
43. Venkatesh S., Dayanand Reddy G., Reddy Y.S., Sathyavathy D., Madhava Reddy B., 2004, *Effect of Helicteres isora root extracts on glucose tolerance in glucoseinduced hyperglycemic rats*, *Fitoterapia*, 75(3- 4), pp. 364-367.
44. Venkatesh S., Madhava Reddy B., Dayanand Reddy G., Mullangi R., Lakshman M., 2010, *Antihyperglycemic and hypolipidemic effects of Helicteres isora roots in alloxan-induced diabetic rats: a possible mechanism of action*, *J Nat Med*, 64(3), pp. 295-304.

45. Kumar G., Banu G.S., Murugesan A.G., Pandian M.R., 2006a, *Hypoglycaemic effect of Helicteres isora bark extract in rats*, J Ethnopharmacol, 107(2), pp. 304-307.
46. Kumar G., Murugesan A.G., Rajasekara Pandian M., 2006b, *Effect of Helicteres isora bark extract on blood glucose and hepatic enzymes in experimental diabetes*, Pharmazie, 61(4), pp. 353-355.
47. Kumar G., Murugesan A.G., 2008, *Hypolipidaemic activity of Helicteres isora L. bark extracts in streptozotocin induced diabetic rats*, J Ethnopharmacol, 116, pp. 161-166.
48. Kumar G., Sharmila Banu G., Murugesan A.G., 2009a, *Attenuation of Helicteres isora L. bark extracts on streptozotocin-induced alterations in glycogen and carbohydrate metabolism in albino rats*, Hum Exp Toxicol, 28(11), pp. 689-696.
49. Kumar G., Banu S., Murugesan A.G., 2009b, *Influence of Helicteres isora administration for diabetes mellitus: Its effect on erythrocyte membrane and antioxidant status*, Food Chem Toxicol, 47(8), pp. 1803-1809.
50. Gupta R.N., Pareek A., Suthar M., Rathore G.S., Basniwal P.K., Jain D., 2009, *Study of glucose uptake activity of Helicteres isora Linn. fruits in L-6 cell lines*, Int J Diabetes Dev Ctries, 29(4), pp. 170-173.
51. Boopathy Raja A., Elanchezhian C., Sethupathy S., 2010, *Antihyperlipidemic activity of Helicteres isora fruit extract on streptozotocin induced diabetic male Wistar rats*, Eur Rev Med Pharmacol Sci, 14(3), pp. 191-196.
52. Suthar M., Rathore G.S., Pareek A., 2009, *Antioxidant and Antidiabetic Activity of Helicteres isora (L.) Fruits*, Indian J Pharm Sci: 71(6), pp. 695-699.
53. Satake T., Kamiya K., Saiki Y., Hama T., Fujimoto Y., Kitanaka S., Kimura Y., Uzawa J., Endang H., Umar M., 1999, *Studies on Jamu and the medicinal resources in Indonesia. Part 2. Studies on the constituents of fruits of Helicteres isora L.* Chem Pharm Bull, 47, pp. 1444-1447.
54. Loganayaki N., Siddhuraju P., Manian S., 2013, *Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of phenolic extracts from Helicteres isora L. and Ceiba pentandra L.* J Food Sci Technol, 50(4), pp. 687-695.
55. Mahajan R, Itankar P., 2020, *Antioxidant, Antimicrobial and Wound Healing Potential of Helicteres isora Linn. Leaf Extracts*, Digital Chinese Medicine, 3, pp. 188- 198.
56. Didar Z., 2020, *Comparative in vitro Study of the biological activity and chemical composition extracts of Helicteres isora L. obtained by water and subcritical water extraction.* Food Quality and Safety, 4(2), pp. 101-6.

57. Chitra M.S., Prema S., 2009, *Hepatoprotective activity of Helicteres isora Linn. against CCl₄ induced hepatic damage in rats*. Hamdard Medicus, 52, pp. 112–115.
58. Giang T. T. L, Nhu L. P. Q, Ben T. T, Linh L. N. T, Dao V. Q, Oanh N. T. T, Thach B.D., 2021, *Hepatoprotective Activity of Helicteres isora L. Ethanol Extract Against Paracetamol-Induced Liver Injury in Mice*. Biosc.Biotech.Res.Comm,14.
59. Shaikh S., Shriram V., Khare T., Kumar V., 2020, *Biotic elicitors enhance diosgenin production in Helicteres isora L. suspension cultures via up-regulation of CAS and HMGR genes*, Physiol Mol Biol Plants, 26(3), pp. 593-604.
60. Venkatesh S, Laxmi K S, Reddy B M, Ramesh M., 2006, *Antinociceptive activity of Helicteres isora*, Fitoterapia, 78(2), pp. 146-148.
61. Venkatesh S., Sailaxmi K., Madhava Reddy B and Ramesh M., 2007, *Antimicrobial activity of Helicteres isora root*, Indian J Pharm Sci 69 (5),pp. 687-689.
62. Tambekar D.H., Khante B.S., Panzade B.K., Dahikar S., Banginwar Y., 2008, *Evaluation of phytochemical and antibacterial potential of Helicteres isora L. fruits against enteric bacterial pathogens*, Afr J Tradit Complement Altern Med, 10, pp. 290-3.
63. Badgujar B.V., Jain S.P., 2009, *A phytochemical analysis of the medicinal plant: Helicteres isora*. Int.J. PharmTech Res, pp. 1376-1377.
64. Shriram V., Jahagirdar S., Latha C., Kumar V., Dhakephalkar P., Rojatkar S., Shitole M.G., 2010, *Antibacterial & antiplasmodial activities of Helicteres isora L*, Indian J Med Res, 32, pp. 94-99.
65. Mapara N., Sharma M., Shriram V., Bharadwaj R., Mohite K.C., Kumar V. , 2015, *Antimicrobial potentials of Helicteres isora silver nanoparticles against extensively drug-resistant (XDR) clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa*, Appl Microbiol Biotechnol, 99(24), pp. 10655-67.
66. Kumar D., Singh R.K., Farooq S., 2016, *In vitro antimicrobial activity of oleanolic acid identified in chloroform extract of fruits of Helicteres isora L*, World Journal of Pharmaceutical Research, 6(1), pp. 1102-1112.
67. Mahire S.P, Patel S.N., 2020, *Extraction of phytochemicals and study of its antimicrobial and antioxidant activity of Helicteres isora L.*, Clin Phytosci, pp. 6-40.

68. Mahire S.P, Patel S.N., 2020, *Extraction of phytochemicals and study of its antimicrobial and antioxidant activity of Helicteres isora L.*, Clin Phytosci, 6.
69. Rafik Shaikh, Mahesh Pundl , Ashwini Dawane , Sayyed Iliyas, 2014, Evaluation of Anticancer, Antioxidant, and Possible Anti-inflammatory Properties of Selected Medicinal Plants Used in Indian Traditional Medication, *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 4(4), pp. 253-257
70. Mahajan R, Itankar P., 2020, Antioxidant, Antimicrobial and Wound Healing Potential of *Helicteres isora* Linn. Leaf Extracts, *Digital Chinese Medicine*, 3, pp. 188- 198.
71. Pohocha N., Grampurohit N.D., 2001, *Antispasmodic activity of the fruits of Helicteres isora* Linn. *Phytother. Res*, 15, pp. 49–52.
72. Kirtikar K.P. and Basu B.D., 1995, *Indian medicinal plants. Vol.1*, International book distributors, Dehradun, India, pp. 371-372.
73. Anonymous., 1959, The Wealth of India (Raw materials). *Council of Scientific and Industrial Research*, New Delhi, Vol.V:27-9.
74. Watt G., 1890, *A Dictionary of the Economic Products of India*, vol. IV W.H. Allen, London.
75. Chopra R.N., Nayar S.L., Chopra I.C., 1956, *Glossary of Indian medicinal plants, 1st ed.*, NISCAIR, CSIR, New Delhi, India, 131.
76. Ved D.K., Goraya G.S., 2008, *Demand and Supply of Medicinal Plants in India*. Bishen Singh Mahendra Pal Singh, Dehra Dun, India.
77. Ekka A., 2011, *Folklore claims of some medicinal plants used by tribal community of Chhattisgarh*, India. *Res. J. Biol.* 01, pp. 16–20.
78. Gairola S., Sharma J., Gaur R.D., Painuli R.M., Siddiqi T.O., 2013, *Plants used for treatment of dysentery and diarrhoea by the Bhoxa community of district Dehradun, Uttarakhand*, India. *J. Ethnopharmacol*, 150 (3), pp. 989–1006.
79. Padal S.B., Chandrasekhar P., Vijakumar Y., 2013, *Traditional uses of plants by the tribal communities of Salugu Panchayati of Paderu Mandalam, Visakhapatnam, district, Andhra Pradesh, India*. *Int. J. Comput. Eng. Res*, 3 (5), pp. 98–103.
80. Pushpakarani R., Natarajan S., 2014, *Ethnomedicines used by Kaniyakaran tribes in Kaniyakumari district- Southern Western Ghats of Tamil Nadu, India*. *J. Appl. Pharm. Sci*, 4, pp. 56–60.
81. Xavier T.F., Kannan M., Lija L., Auxillia A., Rose A.K.F., Kumar S.S., 2014, Ethnobotanical study of Kani tribes in Thoduhills of Kerala, *South India. J. Ethnopharmacol*, 152 (1), pp. 78–90.

82. Cunningham A.B., Ingram W., Brinckmann J.A., Nesbitt M., 2018, *Twists, turns and trade: A new look at the Indian Screw tree (Helicteres isora)*, Journal of Ethnopharmacology ,225, pp. 128–135.
83. Bộ y tế, 2017, *Dược điển Việt Nam 5*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tập 2
84. Lê Quan NghiêM, Huỳnh Văn Hóa, 2011, *Bào chế và sinh dược học*, Tập 1, NXB Y học, Hà Nội.
85. Võ Xuân Minh, 2014, *Kỹ thuật bào chế và sinh dược học các dạng thuốc*, Tập 1, NXB Y Học, Hà Nội, tr. 153-180.
86. Afoakwah et al., 2012, *Spray Drying as an Appropriate Technology for the Food and Pharmaceutical Industries*, JECET, 1 (3), pp. 467-476.
87. Oliveira, W.P., Souza, C.R.F., Kurozawa, L.E., Park, K.L., 2010, *Spray drying of food and herbal products* - Volume 1, Ed. Woo, M.W., Mujumdar, A.S. and Daud, W.R.W., 2010, ISBN - 978-981-08-6270-1, Published in Singapore, pp. 113-156.
88. Barbosa MI; Borsarelli CD; Mercadante AZ; 2005, *Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations*. Food research international, 38, pp. 989-94.
89. Gouin S., 2004, *Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends*, Trends Food Sci, Technol, 15, pp. 330–347.
90. Paradkar A., Ambike AA., Jadhav BK., Mahadik KR., 2004, Characterization of curcumin–PVP solid dispersion obtained by spray drying. *International journal of pharmaceutics*, 271(1-2), pp. 281-6.
91. Mastura Mohtar, Chee Beng Jin & Firdaus Kamarulzama, 2024, *Asean herbal & medicinal plants vol.3*, Jakarta, Asean Secretariat, p. 71.
92. ICH harmonised tripartite guideline, 2005, *pharmaceutical development Q8*, International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, Current Step 4 version.
93. Ji-Young Moon, Eun-Young Yim, Gwanpil Song, Nam Ho Lee, Chang-Gu Hyun, 2010, Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju Island plants, *EurAsian Journal of BioSciences*, 4, pp. 41-53
94. Gallo L., Llabot J.M., Allemandi D., Bucalá V, Pina J., 2011, *Influence of spray-drying operating conditions on Rhamnus purshiana (Cáscara sagrada) extract powder physical properties*, Powder Technology, 208, pp. 205-214.
95. Cano-Chauca M., Stringheta PC., Ramos AM, Cal-Vidal J., 2005, *Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and*

- its functional characterization.*, Innov, Food Sci. Emerg, Technol, 6,(4), pp. 420–428.
96. Sabitha R., Nishi K., Gunasekaran VP., Agilan B., David E., Annamalai G., Vinothkumar R., Perumal M., Subbiah L., Ganeshan M., 2020, *p-Coumaric acid attenuates alcohol exposed hepatic injury through MAPKs, apoptosis and Nrf2 signaling in experimental models*. Chemico-biological interactions, 321.
 97. Ramadoss Karthikeyan, Chapala Devadasu, and Puttagunta Srinivasa Babu, 2015, Isolation, Characterization, and RP-HPLC Estimation of P-Coumaric Acid from Methanolic Extract of Durva Grass (*Cynodon dactylon* Linn.) (Pers.), *International Journal of Analytical Chemistry*, Hindawi Publishing Corporation , 7 pages.
 98. Quanfang Huang, Yongwen Li., Shijun Zhang., Renbin Huang., Li Zheng., Ling Wei, Min He., Min.g Liao., Li Li., Lang Zhuo., Xing Lin., 2012, *Effect and mechanism of methyl helicterate isolated from Helicteres angustifolia (Sterculiaceae) on hepatic fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats*. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(11), pp. 889-895.
 99. Nataraj Loganayaki & Perumal Siddhuraju & Sellamuthu Manian, 2013, Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of phenolic extracts from *Helicteres isora* L. and *Ceiba pentandra* L., *Journal of food science and technology*, 50(4), 687-695.
 100. Sikiru Olaitan Balogun, Amilcar Sabino Damazo, Domingos Tabajara de Oliveira Martins, 2015, *Helicteres sacarolha* A. St.- Hil. et al.: gastroprotective and possible mechanism of actions in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 166(26), pp. 176-184.
 101. Al-Farsi M. A, Chang Y. L, 2007, *Optimization of phenolics and dietary fiber extraction from date seeds*. *Food Chemistry*, 108, pp. 977-985.
 102. Zhang S. Q., Bi H. M. and Liu C. J., 2007, Extraction of bio-active components from *Rhodiola sachalinensis* under ultrahigh hydrostatic pressure. *Separation and Purification Technology*, 57, pp. 277-282.
 103. P. Gayathri, D. Gayathri, S. Srinivasan and S. Saroja, 2010, Screening and quantitation of phytochemicals and nutritional components of the fruit and bark of *Helicteres isora*, *Hygeia Journal for Drugs and Medicines*, 2(1), pp. 57-62.

PHỤ LỤC 1. PHIẾU KIỂM NGHIỆM

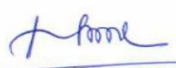
 TỔNG CỤC TIÊU CHUẨN ĐO LƯỜNG CHẤT LƯỢNG TRUNG TÂM KỸ THUẬT TIÊU CHUẨN ĐO LƯỜNG CHẤT LƯỢNG 3 QUALITY ASSURANCE & TESTING CENTER 3		 
Head Office: 49 Pasteur, Dist. 1, HCMC, Vietnam Tel: (84-28) 3829 4274 Fax: (84-28) 3829 3012 E-mail: info@quatest3.com.vn Website: www.quatest3.com.vn Testing Complex: 7 No.7, road No.1, Bien Hoa 1 LZ, Dong Nai, Vietnam 7 CS lot, K1 road, Cat Lai LZ, Dist.2, HCMC, Vietnam 64 Le Hong Phong, Dist.5, HCMC, Vietnam		
KT3 – 02141AVS4	PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM TEST REPORT	23/08/2024 Trang 01/01

- Tên mẫu : BỘT AX
- Mô tả mẫu : Mẫu thử nghiệm do khách hàng lấy mẫu, tên mẫu và thông tin về mẫu do khách hàng cung cấp.
Mẫu đựng trong bao zipper.
- Số lượng mẫu : 01 (80 g)
- Ngày nhận mẫu : 14/08/2024
- Thời gian thử nghiệm : 15/08/2024 – 22/08/2024
- Nơi gửi mẫu : VIỆN SINH HỌC NHIỆT ĐỚI
9/621 Võ Nguyên Giáp, Phường Linh Trung, Thành phố Thủ Đức ,
Thành phố Hồ Chí Minh
- Kết quả thử nghiệm :

Tên chỉ tiêu	Phương pháp thử	Kết quả thử nghiệm
7.1. Tổng số vi sinh vật hiếu khí, CFU/g	ISO 4833-1:2013/ Amd 1:2022	9,0 x 10 ¹
7.2. Coliforms, CFU/g	TCVN 6848:2007 (ISO 4832:2006)	< 10 ^(a)
7.3. <i>Escherichia coli</i> , CFU/g	TCVN 7924-2:2008 (ISO 16649-2:2001)	< 10 ^(a)
7.4. <i>Staphylococcus aureus</i> , CFU/g	AOAC 975.55 (2023)	< 10 ^(a)
7.5. <i>Clostridium perfringens</i> , CFU/g	TCVN 4991:2005	< 10 ^(a)
7.6. <i>Bacillus cereus</i> già định, CFU/g	TCVN 4992:2005 (ISO 7932:2004)	< 10 ^(a)
7.7. Tổng số nấm men, nấm mốc, CFU/g	TCVN 8275-2:2010 (ISO 21527-2:2008)	< 10 ^(a)
7.8. <i>Salmonella</i> spp/25 g	ISO 6579-1:2017/ Amd 1:2020	Không phát hiện Not detected

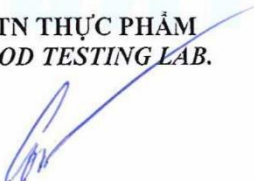
Ghi chú/Notice: (a) Theo phương pháp thử, kết quả được biểu thị nhỏ hơn 10 CFU/g khi không có khuẩn lạc mọc trên đĩa./ According to the test method, the result is expressed as less than 10 CFU/g when the dish contains no colony.

TRƯỜNG PTN VI SINH - GMO


Trần Thị Ánh Nguyệt

 **GIÁM ĐỐC**
TRƯỜNG PHÒNG THỬ NGHIỆM
KỸ THUẬT
TIÊU CHUẨN ĐO LƯỜNG
CHẤT LƯỢNG 3
Phan Thành Trung

1. Các kết quả thử nghiệm ghi trong phiếu này chỉ có giá trị đối với mẫu do khách hàng gửi đến và không phải là giấy chứng nhận sản phẩm.
 Test results are valid for the namely submitted sample(s) only, and this is not a certificate of product.
 2. Tên mẫu, tên khách hàng được ghi theo yêu cầu của nơi gửi mẫu. / Name of sample(s) and customer are written as customer's request.
 3. Độ không đảm bảo do mở rộng được tính từ độ không đảm bảo đo chuẩn nhân với hệ số phủ k = 2, phân bố chuẩn tương ứng với 95 % độ tin cậy.
 The reported expanded uncertainty of measurement is stated as the standard uncertainty multiplied by the coverage factor k = 2, at 95 % confidence level.
 4. Không được in/sao một phần phiếu kết quả thử nghiệm này nếu không có sự đồng ý bằng văn bản của Trung tâm Kỹ thuật 3.
 This Test Report shall not be reproduced, except in full, without the written permission by Quatest 3.
 5. Mọi thắc mắc về kết quả, khách hàng liên hệ theo địa chỉ dh.cs@quatest3.com.vn để biết thêm thông tin.
 Please contact QUATEST 3 at the email addresses dh.cs@quatest3.com.vn for further information about test report.
 6. Phòng Thử nghiệm đã được Văn phòng Công nhận Chất lượng (BoA)-Việt Nam công nhận phù hợp theo ISO/IEC 17025:2017 (Vilas 004). Các chỉ tiêu có dấu (*) là chưa được công nhận.
 The Testing Lab is accredited as conforming to ISO/IEC 17025:2017 by Bureau of Accreditation - Viet Nam (Vilas 004). The characteristics marked with (*) are not accredited yet.

 QUATEST 3®	TỔNG CỤC TIÊU CHUẨN ĐO LƯỜNG CHẤT LƯỢNG TRUNG TÂM KỸ THUẬT TIÊU CHUẨN ĐO LƯỜNG CHẤT LƯỢNG 3 QUALITY ASSURANCE & TESTING CENTER 3 Head Office: 49 Pasteur, Dist. 1, HCMC, Vietnam Tel: (84-28) 3829 4274 Fax: (84-28) 3829 3012 E-mail: info@quatest3.com.vn Website: www.quatest3.com.vn Testing Complex: 7 No.7, road No.1, Bien Hoa 1 IZ, Dong Nai, Vietnam 9 CS lot, K1 road, Cat Lai IZ, Dist.2, HCMC, Vietnam 64 Le Hong Phong, Dist.5, HCMC, Vietnam	 
KT3-05904ATP4	PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM TEST REPORT	20/08/2024 Page 01/02
1. Tên mẫu <i>Name of sample</i> 2. Mô tả mẫu <i>Sample description</i> 3. Số lượng mẫu <i>Quantity</i> 4. Ngày nhận mẫu <i>Date of receiving</i> 5. Thời gian thử nghiệm <i>Testing duration</i> 6. Nơi gửi mẫu <i>Customer</i> 7. Kết quả thử nghiệm <i>Test results</i>	: BỘT AX : Mẫu thử nghiệm do khách hàng lấy mẫu, tên mẫu và thông tin về mẫu do khách hàng cung cấp. / <i>Testing sample was sampled by customer, sample name and sample information were supplied by customer.</i> Mẫu đựng trong túi nhựa. <i>As received sample is contained in plastic bag.</i> : 01 : 12/08/2024 : 13/08/2024 - 20/08/2024 : VIỆN SINH HỌC NHIỆT ĐỚI 9/621 Võ Nguyên Giáp, P. Linh Trung, Tp. Thủ Đức, TP. Hồ Chí Minh : Xem trang / <i>See page 02/02</i>	
TRƯỞNG PTN THỰC PHẨM HEAD OF FOOD TESTING LAB.  Nguyễn Thành Công	TL. GIÁM ĐỐC/ PP. DIRECTOR TRƯỞNG PHÒNG THỬ NGHIỆM / HEAD OF TESTING LAB.  Ngô Quốc Việt	
1. Các kết quả thử nghiệm ghi trong phiếu này chỉ có giá trị đối với mẫu do khách hàng gửi đến và không phải là giấy chứng nhận sản phẩm. <i>Test results are valid for the namely submitted sample(s) only, and this is not a certificate of product.</i> 2. Tên mẫu, tên khách hàng được ghi theo yêu cầu của nơi gửi mẫu. / <i>Name of sample(s) and customer are written as customer's request.</i> 3. Độ không đảm bảo đo mở rộng được tính từ độ không đảm bảo đo chuẩn nhân với hệ số phủ $k = 2$, phản bố chuẩn tương ứng với 95 % độ tin cậy. <i>The reported expanded uncertainty of measurement is stated as the standard uncertainty of measurement multiplied by the coverage factor $k = 2$, at 95 % confidence level.</i> 4. Không được trích sao một phần phiếu kết quả thử nghiệm này nếu không có sự đồng ý bằng văn bản của Trung tâm Kỹ thuật 3. <i>This Test Report shall not be reproduced, except in full, without the written permission by Quatest 3.</i> 5. Mọi thắc mắc về kết quả, khách hàng liên hệ theo địa chỉ dh.cs@quatest3.com.vn để biết thêm thông tin. <i>Please contact QUATEST 3 at the email addresses dh.cs@quatest3.com.vn for further information about test report.</i> 6. Phòng Thử nghiệm đã được Văn phòng Công nhận Chất lượng (BoA)-Việt Nam công nhận phù hợp theo ISO/IEC 17025:2017 (Vilas 004). Các chỉ tiêu có dấu (*) là chưa được công nhận. <i>The Testing Lab is accredited as conforming to ISO/IEC 17025:2017 by Bureau of Accreditation - Viet Nam (Vilas 004). The characteristics marked with (*) are not accredited yet.</i>		

 TỔNG CỤC TIÊU CHUẨN ĐO LƯỜNG CHẤT LƯỢNG TRUNG TÂM KỸ THUẬT TIÊU CHUẨN ĐO LƯỜNG CHẤT LƯỢNG 3 QUALITY ASSURANCE & TESTING CENTER 3		 		
Head Office: 49 Pasteur, Dist. 1, HCMC, Vietnam Tel: (84-28) 3829 4274 Fax: (84-28) 3829 8062 Email: info@quatest3.com.vn Website: www.quatest3.com.vn Testing Complex: 7 No.7, road No.1, Bien Hoa I Z, Dong Nai, Vietnam C5 lot, K1 road, Cat Lai Dist.2, HCMC, Vietnam 69 Le Hong Phong, Dist.5, HCMC, Vietnam		20/08/2024 Page 02/02		
KT3-05904ATP4		PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM TEST REPORT		
7. Kết quả thử nghiệm : Test results				
Tên chỉ tiêu Characteristic	Phương pháp thử Test method	Giới hạn phát hiện Limit of Detection	Phạm vi đo Range of measurement (≥)	Kết quả thử nghiệm Test result
7.1. Hàm lượng tro tổng, g/100 g Total ash content	QTTN/KT3 137 : 2016		-	11,0
7.2. Hàm lượng tro không tan trong HCl 10%, g/100 g 10% HCl - insoluble ash content	QTTN/KT3 138 : 2016		0,1	Không phát hiện Not detected
7.3. Hàm lượng asen tổng số, mg/kg Total arsenic content	TCVN 8427 : 2010	-		Không phát hiện Not detected
7.4. Hàm lượng chì, mg/kg Lead content	QTTN/KT3 098 : 2016 (Ref: AOAC 999.11)	$3,00 \times 10^{-2}$		Không phát hiện Not detected
7.5. Hàm lượng cadimi, mg/kg Cadmium content	QTTN/KT3 098 : 2016 (Ref: AOAC 999.11)	$3,00 \times 10^{-2}$		Không phát hiện Not detected
7.6. Hàm lượng thủy ngân, mg/kg Mercury content	QTTN/KT3 064:2016 (Ref: AOAC 971.21)	$1,50 \times 10^{-2}$		Không phát hiện Not detected

QUATEST3®

1. Các kết quả thử nghiệm ghi trong phiếu này chỉ có giá trị đối với mẫu do khách hàng gửi đến và không phải là giấy chứng nhận sản phẩm.
 Test results are valid for the namely submitted sample(s) only, and this is not a certificate of product.

2. Tên mẫu, tên khách hàng được ghi theo yêu cầu của nơi gửi mẫu. / Name of sample(s) and customer are written as customer's request.

3. Độ không đảm bảo đo mở rộng được tính từ độ không đảm bảo đo chuẩn nhân với hệ số phủ k = 2, phân bố chuẩn tương ứng với 95 % độ tin cậy.
 The reported expanded uncertainty of measurement is stated as the standard uncertainty multiplied by the coverage factor k = 2, at 95 % confidence level.

4. Không được trích sao một phần phiếu kết quả thử nghiệm này nếu không có sự đồng ý bằng văn bản của Trung tâm Kỹ thuật 3.
 This Test Report shall not be reproduced, except in full, without the written permission by Quatest 3.

5. Mọi thắc mắc về kết quả, khách hàng liên hệ theo địa chỉ dh.cs@quatest3.com.vn để biết thêm thông tin.
 Please contact QUATEST 3 at the email addresses dh.cs@quatest3.com.vn for further information about test report.

6. Phòng Thử nghiệm đã được Văn phòng Công nhận Chất lượng (BoA)-Việt Nam công nhận phù hợp theo ISO/IEC 17025:2017 (Vilas 004). Các chỉ tiêu có dấu (*) là chưa được công nhận.
 The Testing Lab is accredited as conforming to ISO/IEC 17025:2017 by Bureau of Accreditation - Viet Nam (Vilas 004). The characteristics marked with (*) are not accredited yet.

PHỤ LỤC 2.
HÌNH ẢNH THIẾT BỊ THÍ NGHIỆM



Thiết bị chiết kiệt



Máy sấy phun



Thiết bị cô quay

Số: 177/QĐ-HVKHCN

Hà Nội, ngày 08 tháng 04 năm 2025

QUYẾT ĐỊNH
Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ

GIÁM ĐỐC
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Căn cứ Quyết định số 364/QĐ-VHL ngày 01/03/2025 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 23/2021/TT-BGDĐT ngày 30/08/2021 của Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1966/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2021 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1899/QĐ-HVKHCN ngày 15/11/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận học viên cao học trúng tuyển đợt 2 năm 2022;

Căn cứ Quyết định số 222/QĐ-HVKHCN ngày 29/03/2024 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận đề tài và cử người hướng dẫn luận văn thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1051/QĐ-HVKHCN ngày 13/09/2024 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc gia hạn thời gian học tập lần 1 cho học viên Lương Thị Hải Hòa;

Xét đề nghị của Trưởng khoa Khoa Sinh học, Trưởng phòng Đào tạo.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Lương Thị Hải Hòa với đề tài: “Nghiên cứu tạo cao chiết và bột hòa tan từ cây tổ, kén lá tròn (*Helicteres isora* L.) bằng kỹ thuật sấy phun”

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận văn kèm theo Quyết định này.

Điều 2. Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận văn thạc sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ.

Quyết định này có hiệu lực trong thời hạn tối đa 60 ngày làm việc kể từ ngày ký và phải đảm bảo thời hạn đào tạo theo quy định của Học viện. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Trưởng phòng Tổ chức - Hành chính, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, Trưởng Khoa Sinh học, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và học viên cao học có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /.

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ học viên;
- Lưu: VT, ĐT, MT.07.



GS.TS. Vũ Đình Lâm

DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

(Kèm theo Quyết định số 177 /QĐ-HVKHCN ngày 08 / 04 / 2025
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)



Cho luận văn của học viên: Lương Thị Hải Hòa

Tên đề tài: Nghiên cứu tạo cao chiết và bột hòa tan từ cây tổ kén lá tròn
(*Helicteres isora* L.) bằng kỹ thuật sấy phun.

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

Người hướng dẫn: TS. Bùi Đình Thạch

- Viện Khoa học sự sống, Viện Hàn lâm KHCNVN

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1.	PGS. TS. Nguyễn Thị Phương Thảo	Sinh học	Viện Khoa học sự sống, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	TS. Nguyễn Dương Tâm Anh	Hóa sinh học	Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia TP.HCM	Phản biện 1
3.	TS. Nguyễn Hoàng Dũng	Công nghệ sinh học	Viện Khoa học sự sống, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 2
4.	TS. Đoàn Chính Chung	Sinh lý học động vật	Viện Khoa học sự sống, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên - Thư ký
5.	TS. Hồ Thiên Hoàng	Sinh hóa	Trường Đại học Công nghiệp TP.HCM, Bộ Công thương	Ủy viên

(Hội đồng gồm 05 thành viên)./. *Đa*

TP. HCM, ngày 13 tháng 05 năm 2025

BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 177/QĐ-HVKHCN ngày 08/04/2025 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ của học viên Lương Thị Hải Hòa

Tên đề tài: Nghiên cứu tạo cao chiết và bột hòa tan từ cây tổ kén lá tròn (*Helicteres isora* L.) bằng kỹ thuật sấy phun.

Ngành/Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

Hôm nay, ngày 13/05/2025 Hội đồng đã họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ vào lúc 14h00, Hội đồng gồm 05 thành viên:

- | | |
|-----------------------------------|-------------------|
| 1. PGS.TS. Nguyễn Thị Phương Thảo | Chủ tịch hội đồng |
| 2. TS. Đoàn Chính Chung | Thư ký hội đồng |
| 3. TS. Nguyễn Dương Tâm Anh | Phản biện 1 |
| 4. TS. Nguyễn Hoàng Dũng | Phản biện 2 |
| 5. TS. Hồ Thiên Hoàng | Ủy viên hội đồng |

Thành viên vắng mặt: 0 (Phản biện hoặc ủy viên, đã có bản nhận xét đồng ý cho phép học viên được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ).

NỘI DUNG LÀM VIỆC

- Đại diện cơ sở đào tạo đọc quyết định thành lập Hội đồng đánh giá luận văn
- Chủ tịch Hội đồng, điều khiển phiên họp
- Thư ký HĐ, đọc lí lịch khoa học và bảng điểm của học viên
- Học viên trình bày luận văn trước Hội đồng
- Phản biện 1:
 - Cần chỉnh sửa luận văn theo các góp ý chi tiết đính kèm trong bản nhận xét của phản biện về cả hình thức và nội dung
 - Một số câu hỏi đưa nêu ra
- Làm rõ cơ sở khoa học cho việc lựa chọn bộ phận thân và lá cây Tổ kén tròn làm nguyên liệu, lựa chọn loại dung môi, phương pháp chiết cho việc thu nhận cao chiết
- Làm rõ lý do tại sao lựa chọn axit p-coumaric làm chất chỉ dấu định lượng trong việc đánh giá cao chiết



3. Làm rõ các chỉ tiêu đánh giá chất lượng cao chiết: do tác giả/ nhóm nghiên cứu thực hiện hay gửi phân tích bên ngoài.

- Kết luận: Đề tài đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ, có thể bảo vệ để công nhận học vị Thạc sĩ.

6. Phản biện 2:

- Chỉnh sửa luận văn theo các góp ý đính kèm bản nhận xét của phản biện

- Cần chỉnh sửa lại bố cục luận văn hợp lý, tập chung chính vào đối tượng nghiên cứu

- Cần chỉnh sửa và nhất quán các số liệu trình bày trong các bảng biểu và diễn giải số liệu trong phần kết quả và bàn luận (chi tiết tham khảo bản nhận xét của phản biện)

- Cần chỉnh sửa lại các phần bàn luận để so sánh với các nghiên cứu trước đó và làm rõ ràng hơn các kết quả đạt được. Phần kết luận cần chỉnh sửa phù hợp với từng nội dung nghiên cứu.

- Câu hỏi:

1. Tác giả cần làm rõ cơ sở cho việc lựa chọn loại dung môi khảo sát, nồng độ dung môi khảo sát, tỉ lệ dung môi/nguyên liệu khảo sát.

- Kết luận: Đề tài đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ, có thể bảo vệ để công nhận học vị Thạc sĩ.

7. Học viên trả lời:

- Học viên trả lời các cơ sở khoa học cho việc lựa chọn các tiêu chí khảo sát trong việc xây dựng quy trình thu nhận cao chiết từ thân và lá cây tổ kén tron bao gồm: phương pháp ngâm chiết, dung môi ethanol 70%, tỉ lệ dung môi/nguyên liệu 1/20

- Học viên trả lời các chỉ tiêu phân tích chất lượng cao chiết, trong đó các chỉ tiêu gửi phân tích bên ngoài như: hàm lượng kim loại nặng, dư lượng thuốc trừ sâu, định lượng hàm lượng axit p-coumaric có trong cao chiết

- Học viên giải thích lý do lựa chọn axit p-coumaric là loại axit phenolic thuộc nhóm chất phenolic được tìm thấy nhiều trong mẫu cây tổ kén đã được công bố trong một số các nghiên cứu trước đây.

8. Các thành viên HĐ và những người tham dự nêu câu hỏi

- Cần làm rõ lại đối tượng nghiên cứu

- Trình bày lại các phương pháp nghiên cứu và kết quả đạt được theo từng nội dung nghiên cứu nhằm thuận tiện cho việc theo dõi

- Trình bày lại nội dung nghiên cứu theo 4 nội dung: đánh giá nguồn dược liệu đầu vào, xây dựng quy trình thu nhận cao chiết, đánh giá và xây dựng tiêu chuẩn chất lượng cơ sở của cao chiết, xây dựng quy trình tạo bột hòa tan có chứa cao chiết từ thân lá cây tổ kén.

- Giải thích lý do tại sao không đưa tiêu chí định lượng hàm lượng axit p-coumaric vào chỉ tiêu tiêu chuẩn cơ sở của cao chiết.

9. Học viên trả lời

- Học viên xin tiếp thu các ý kiến nêu trên và chỉnh sửa lại luận văn theo các góp ý chi tiết của 02 cán bộ phản biện và các thành viên HĐ.

10. Hội đồng họp kín và cho điểm

- Hội đồng bầu ban kiểm phiếu gồm 3 thành viên:

+ Trưởng ban: TS. Nguyễn Dương Tâm Anh

+ Ủy viên: TS. Nguyễn Hoàng Dũng

+ Ủy viên: TS. Đoàn Chính Chung

- Kết quả kiểm phiếu như sau:

+ Số phiếu phát ra: 05

+ Số phiếu thu về: 05

+ Tổng số điểm: 41,7

+ Điểm trung bình: 8,34

+ Điểm thưởng công trình công bố: 0

+ Tổng điểm đánh giá luận văn và thưởng công trình công bố: 8,34

- Kết luận của Hội đồng:

+ Luận văn: ĐẠT (đạt/không đạt yêu cầu)

+ Tính không trùng lặp nội dung và tên đề tài với các công trình công bố:

Luận văn không trùng lặp nội dung và tên đề tài với các công trình công bố

11. Chủ tịch Hội đồng, công bố kết quả, yêu cầu học viên chỉnh sửa luận văn với các nội dung sau:

- Luận văn đạt yêu cầu đối với 1 luận văn Thạc sĩ

- Đề nghị học viên nghiêm túc chỉnh sửa lại luận văn Thạc sĩ theo các góp ý chi tiết của các thành viên trong Hội đồng đánh giá luận văn Thạc sĩ

Buổi họp đã kết thúc vào 16 giờ 30 phút ngày 13/05/2025.

TP.HCM, ngày 13 tháng 05 năm 2025

THƯ KÝ HỘI ĐỒNG

Đoàn Chính Chung

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

Nguyễn Thị Phương Thảo

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO



Nguyễn Thị Trung



CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người nhận xét: Nguyễn Dương Tâm Anh

Học hàm, học vị: PGS.TS

Chức danh trong Hội đồng: Phản biện 1

Cơ quan công tác: Trường ĐH Khoa học Tự nhiên, ĐHQG TP.HCM

Họ và tên học viên: LƯƠNG THỊ HẢI HÒA

Tên đề tài: **Nghiên cứu tạo cao chiết và bột hòa tan từ cây tổ kén lá tròn (*Helicteres isora* L.) bằng kỹ thuật sấy phun**

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Nội dung nhận xét

- 1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn**
Đề tài có ý nghĩa thực tiễn cao ở việc tạo ra sản phẩm bột hòa tan từ nguồn dược liệu cây tổ kén lá tròn để chăm sóc sức khỏe cho con người hơn nữa hướng nghiên cứu rất thích hợp và đáp ứng xu thế tiêu dùng sản phẩm dược thảo có nguồn gốc thiên nhiên an toàn của thời đại.
- 2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với công trình khoa học, luận văn đã công bố trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo**
Đề tài luận văn không trùng lặp với công trình khoa học, luận văn đã công bố trong và ngoài nước; tài liệu tham khảo được trích dẫn trung thực, rõ ràng và đầy đủ.
- 3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo**
Tên đề tài hoàn toàn phù hợp với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành Sinh học thực nghiệm và mã số đào tạo.
- 4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn**
Phương pháp nghiên cứu thường qui, có độ tin cậy cao và phù hợp với nội dung đề tài trong đó có các phương pháp hiện đại như sắc ký lỏng cao áp để xác định thành phần hoạt chất p-coumaric acid của cao chiết; kỹ thuật sấy phun để tạo bột cao chiết hòa tan.
- 5. Kết quả nghiên cứu của luận văn**
Đề tài luận văn đã đạt được các kết quả nghiên cứu sau:
 - Xác định được đặc điểm hình thái, đặc điểm vi phẫu thân, lá, đặc điểm của bột dược liệu cây tổ kén lá tròn (hàm ẩm, hàm lượng tro toàn phần và tro không tan trong acid, hàm lượng tạp chất, hàm lượng chất chiết, hàm lượng kim loại nặng, dư lượng thuốc bảo vệ thực vật, định tính hoạt chất p-coumaric acid).
 - Thiết lập phương pháp định lượng hoạt chất p-coumaric acid bằng kỹ thuật HPLC.
 - Xây dựng quy trình trích ly tạo cao chiết cây tổ kén lá tròn (loại dung môi, nồng độ dung môi, tỉ lệ chiết) và kiểm nghiệm một số tiêu chí của cao chiết



Cây thuốc được sử dụng ở độ tuổi sinh lý nào để có hoạt chất được hút tốt nhất?

Cơ sở chọn bộ phận thân và lá của cây tở kén lá tròn là nguyên liệu chiết cao? Hàm lượng hoạt chất quan tâm trong các bộ phận so với bộ phận rễ, quả, vỏ thân như thế nào?

Phân biệt phương pháp ngâm dầm, ngâm kiệt và chiết Soxhlet? Học viên cần xác định lại quy trình tạo cao chiết trong nghiên cứu này là sử dụng phương pháp trích ly nào.

Mỗi lần chiết soxhlet là 20g nguyên liệu, học viên làm bao nhiêu lần để có 1 g căn tr36, 37

Vì sao khi chiết sử dụng ethanol nhưng khi hòa tan cần lại dùng methanol?

Trong khảo sát tỉ lệ dung môi hòa tan cần, khối lượng cần là bao nhiêu tr37? Thí nghiệm khảo sát nồng độ dung môi và tỉ lệ dung môi hòa tan cần có mục đích gì?

Vì sao trong các thí nghiệm khảo sát điều kiện sấy phun, tác giả không dùng tiêu chí hàm lượng p-coumaric acid để đánh giá?

Hình ảnh

(Chỉ tiêu VSV và kim loại nặng tác giả khảo sát cho 3 loại mẫu là bột nguyên liệu, cao chiết và bột hòa tan, phần phụ lục chỉ có 1 bản, đó là là kết quả của mẫu nào?

Giải thích vì sao hàm lượng p-coumaric acid ở cao chiết chiết bằng ngâm dầm, ngâm kiệt cao gấp 3-5 lần so với cao chiết chiết bằng soxhlet, trong khi đó hiệu suất thu hồi lại thấp hơn 1/3?

7. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

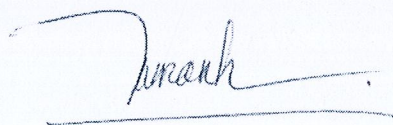
Nội dung đề tài luận văn hoàn toàn có thể công bố thành các bài báo khoa học trong nước và quốc tế.

8. Kết luận chung

Luận văn này đáp ứng đầy đủ yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ, đề nghị đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ.

TP.HCM, ngày 25 tháng 4 năm 2025.

Người phản biện



Nguyễn Dương Tâm Anh

BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người nhận xét: Nguyễn Hoàng Dũng Học hàm, học vị: Tiến sĩ
Chức danh trong Hội đồng: Ủy viên – Phản biện
Cơ quan công tác: Viện Sinh học Nhiệt đới – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
Họ và tên học viên: Lương Thị Hải Hòa
Tên đề tài: Nghiên cứu tạo cao chiết và bột hòa tan từ cây tổ kén lá tròn (*Helicteres isora* L.) bằng kỹ thuật sấy phun
Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm. Mã số: 8 42 01 14

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

Tính cấp thiết, tính thời sự: Cây tổ kén lá tròn (*Helicteres isora* L.) bằng kỹ thuật sấy phun là một loại dược liệu có nhiều hoạt tính sinh học như hỗ trợ phòng ngừa bệnh đái tháo đường, bảo vệ gan, ức chế tăng sinh tế bào ung thư, giảm đau, kháng khuẩn. Tuy nhiên, các nghiên cứu về chuẩn hóa, tạo các sản phẩm dạng cao chiết, bột hòa tan vẫn chưa nhiều. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng quy trình để tạo ra các sản phẩm cao chiết và bột hòa tan từ cây tổ kén lá tròn (*Helicteres isora* L.) bằng kỹ thuật sấy phun bằng kỹ thuật sấy phun. Nghiên cứu có tính mới, khoa học và ứng dụng cao.

Về ý nghĩa khoa học: Nghiên cứu góp phần cung cấp thông tin khoa học về quy trình tạo cao chiết, bột hòa tan cùng với tiêu chuẩn cơ sở từ cây tổ kén lá tròn (*Helicteres isora* L.).

Về ý nghĩa thực tiễn: nghiên cứu góp phần tạo ra các sản phẩm cao chiết, bột hòa tan từ cây tổ kén lá tròn (*Helicteres isora* L.) được chuẩn hóa, hướng ứng dụng trong thực phẩm hỗ trợ sức khỏe.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Luận văn không trùng lặp với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước.

Tài liệu tham khảo trích dẫn trung thực, rõ ràng.



3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:

Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu, chuyên ngành đào tạo và mã đào tạo.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Các phương pháp nghiên cứu được sử dụng là các phương pháp thường quy. Các phương pháp sử dụng có độ tin cậy cao.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

Kết quả nghiên cứu đáp ứng yêu cầu của một luận văn thạc sĩ. Thông qua nghiên cứu, xây dựng được tiêu chuẩn cho các chỉ tiêu đặc điểm thực vật học của dược liệu *Helicteres isora* L. (cây An Xoa), bao gồm đặc điểm hình thái, vi phẫu thân, lá, cuống lá và đặc điểm bột dược liệu. Các chỉ tiêu thử tính khiết của dược liệu như hàm ẩm, tro toàn phần, tro không tan trong acid, tạp chất lẫn trong dược liệu, chất chiết được, hàm lượng kim loại nặng và dư lượng thuốc bảo vệ thực vật đều đạt tiêu chuẩn chất lượng. Học viên cũng đã xác định được: phương pháp ngâm kiệt, dung môi ethanol 70% và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:20 là điều kiện tối ưu để ly trích thu nhận cao chiết cây *Helicteres isora* L. là điều kiện tối ưu được sử dụng để ly trích cao chiết với quy mô 50kg nguyên liệu/mẻ. Cao chiết thu được đáp ứng các tiêu chuẩn về cảm quan, độ ẩm, hàm lượng tron giới hạn nhiễm khuẩn, dư lượng kim loại nặng, dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và thành phần hoạt chất theo Dược điển Việt Nam V. Cụ thể, hàm lượng phenolic tổng số đạt 262,15 mg/g và p-coumaric acid đạt 38,11 µg/g, đảm bảo tính nhất quán và chất lượng của cao dược liệu. Xác định được điều kiện phù hợp để tạo bột hòa tan chứa cao chiết *Helicteres isora* L. bằng phương pháp sấy phun: dịch cao chiết có nồng độ chất hòa tan 10°Bx, nồng độ chất mang maltodextrin 10%, nhiệt độ sấy 170°C và lưu lượng dịch chiết 12.5 ml/phút. Các kết quả đạt được phù hợp với luận văn thạc sĩ.

6. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung, hình thức và câu hỏi:

Luận văn còn mắc một số lỗi chính tả, diễn đạt, trình bày, sử dụng thuật ngữ khoa học hơn.

Luận văn nên biên tập ngắn gọn tập trung vào mục tiêu và nội dung của nghiên cứu.

Phần mở đầu, lý do chọn đề tài cần được biên tập ngắn gọn hơn, tập trung vào bối cảnh chung về loài tổ kén lá tròn ở Việt Nam, các nghiên cứu về tạo cao chiết, bột hòa tan của loài này. Phần nội dung cần trình bày ngắn gọn hơn, cơ sở khoa học, tính thực tiễn và đóng góp của luận văn nên biên tập phù hợp với thông tin luận văn.



Phần tổng quan, nội dung 1.1.5 (thành phần hóa học) nên trình bày theo hướng tổng quát theo hướng các cao chiết, hợp chất, đơn chất đã được nghiên cứu, thông tin chi tiết hơn về p-coumaric acid. Nội dung 1.1.6 (tác dụng dược lý) cần trình bày ngắn gọn hơn. Nội dung 1.1.2 và 1.1.9 nên gộp lại. Nội dung 1.2 cần bổ sung thêm trích dẫn.

Phần vật liệu – phương pháp: cần thống nhất thuật ngữ sử dụng đối với đối tượng nghiên cứu, bổ sung quy trình nghiên cứu tổng quát. Các phương pháp cần trình bày chi tiết hơn các thông số thí nghiệm và bổ sung trích dẫn đầy đủ, bổ sung phương pháp thống kê và xử lý số liệu.

Phần kết quả- thảo luận nên có kết luận cho mỗi tiểu mục, trình bày thống nhất các bảng số liệu trong các bảng, hình ảnh. Nội dung 3.1.6 từ trang 69-73 nên trình bày ở phụ lục, bổ sung hình ảnh cao chiết, bột hòa tan của tổ kén lá tròn (*Helicteres isora* L.)

Phần tài liệu tham khảo cần bổ sung tài liệu tham khảo tiếng Việt, rà soát thống nhất giữa trích dẫn và ghi nhận tài liệu tham khảo.

Phần phụ lục bổ sung hình ảnh trang thiết bị sử dụng để tạo cao chiết, bột hòa tan, nên Việt hóa các nội dung trong phụ lục.

7. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

Nội dung trong luận văn có thể được công bố trên các chí khoa học trong và ngoài nước.

8. Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):

Luận văn đáp ứng yêu cầu của một luận văn thạc sĩ.

Học viên cần chỉnh sửa luận văn theo góp ý của hội đồng.

Tp.HCM, ngày 25 tháng 04 năm 2025

Người nhận xét


Nguyễn Hoàng Dũng

**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA LUẬN VĂN
THEO KẾT LUẬN CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ**

Họ tên học viên: LƯƠNG THỊ HẢI HÒA Lớp: Sinh học thực nghiệm 2022B

Tên đề tài luận văn: Nghiên cứu tạo cao chiết và bột hòa tan từ cây tổ kén lá tròn (*Helicteres isora* L.) bằng kỹ thuật sấy phun

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8420114

Người hướng dẫn khoa học: TS. BÙI ĐÌNH THẠCH

Ngày bảo vệ luận văn: 13/05/2025

Căn cứ biên bản họp hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ, học viên đã chỉnh sửa luận văn như sau:

STT	Nội dung đề nghị bổ sung, chỉnh sửa	Nội dung đã bổ sung, chỉnh sửa
1	Danh sách chữ viết tắt: bổ sung giải thích từ viết tắt bằng tiếng Việt	Đã bổ sung bảng viết tắt (tr. v, vi)
2	Phần mở đầu cần trình bày ngắn gọn lại và nêu rõ sự cần thiết để thực hiện nghiên cứu này	Đã chỉnh sửa ngắn gọn và nêu rõ sự cần thiết (tr. 1, 2)
3	Tổng quan: cần trình bày các nghiên cứu trong và ngoài nước có liên quan đến việc sử dụng kỹ thuật sấy phun tạo cao và bột hòa tan từ đối tượng có liên quan..	Đã chỉnh sửa, bổ sung (tr. 29, 30)
4	Phương pháp nghiên cứu: phân xử lý số liệu cần trình bày rõ và chi tiết hơn	- Đã chỉnh sửa chi tiết đối tượng nghiên cứu (tr. 34, 35); khảo sát thời gian chiết, dung môi chiết, (tr.36, 37); - Mục 2.2.2: bổ sung khảo sát phương pháp chiết và sửa lỗi chính tả (tr. 39, 40); - Mục 2.2.3: bổ sung hàm lượng hoạt chất sinh học, cách tính hiệu suất sấy, hiệu suất thu hồi (tr. 43, 44) - Bổ sung nồng độ Methanol (tr.47)



5	Phần kết quả: nội dung 3.1 phần mô tả đặc điểm thực vật của cây tổ kén lá tròn cần trình bày ngắn gọn, trích dẫn nguồn tài liệu tham khảo, phương pháp xác định	Đã chỉnh sửa ngắn gọn và bổ sung hình ảnh (tr. 48, 49, 53, 54)
6	Nhiều bảng số liệu không đủ hàm lượng khoa học cần gộp lại một số bảng số liệu như: 3.7; 3.8; 3.17; 3.18	Đã chỉnh sửa bổ sung bảng 3.7; 3.8; 3.9; 3.14; 3.15; 3.21 (tr. 62, 63, 64, 69, 73, 74, 75)
7	Cần làm rõ hàm lượng thuốc BVTV trong bảng 3.19, 3.20	Đã chỉnh sửa dưới ngưỡng phát hiện (tr. 79, 80)
8	Cần thảo luận kết quả đạt được	Đã bổ sung thảo luận về kết quả đạt được (tr. 56, 57, 58)
9	TLTK bổ sung, rà soát TLTK tiếng Việt	Đã bổ sung TLTK tiếng Việt (tr. 95, 100)
10	Mục cam đoan ghi rõ người hướng dẫn	Đã bổ sung tên đề tài và người hướng dẫn (tr. i)
11	Nội dung phụ lục 2 không ý nghĩa	Đã loại bỏ (tr. 105-120)
12	Phần tổng quan nội dung 1.1.5 (thành phần hóa học) nên trình bày theo hướng tổng quát các cao chiết, hợp chất, đơn chất đã được nghiên cứu, thông tin chi tiết hơn về p-coumaric acid. Nội dung 1.1.6 (tác dụng dược lý) cần trình bày ngắn gọn hơn. Nội dung 1.1.2 và 1.1.9 nên gộp lại. Nội dung 1.2 cần bổ sung thêm trích dẫn	Đã bổ sung (tr. 6, 8, 22)
13	Phần vật liệu – phương pháp: cần thống nhất thuật ngữ sử dụng đối với đối tượng nghiên cứu, bổ sung quy trình nghiên cứu tổng quát.	Đã bổ sung, chỉnh sửa thuật ngữ, quy trình nghiên cứu tổng quát (tr. 35)
14	Phần phụ lục bổ sung hình ảnh trang thiết bị sử dụng để tạo cao chiết, bột hòa tan, nên Việt hóa các nội dung trong phụ lục	Đã chỉnh sửa, bổ sung hình ảnh (tr. 105, 106, 107)
15	Có sự không nhất quán giữa kết quả thể hiện trong bảng 3.21 và phần mô tả bên dưới	Đã chỉnh sửa hàm lượng phenolic (tr. 80)
16	Đánh giá một số chỉ tiêu của bột hòa tan: về kích thước, màu sắc	Đã bổ sung đánh giá và hình ảnh về bột hòa tan (tr. 83, 84, 86, 87)
17	Kết quả vi phẫu cần bổ sung độ phóng đại	Đã bổ sung độ phóng đại (tr. 50, 51, 52, 53, 54, 55)

18	Sơ đồ quy trình sản xuất cần trình bày đúng quy cách, quy ước dạng khối	Đã chỉnh sửa (tr. 32, 76, 91)
19	Điều chỉnh lại hàm lượng phenolic giữa các thí nghiệm	Đã bổ sung hàm lượng phenolic (tr. 93)

Hà Nội, ngày 19 tháng 05 năm 2025

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

HỌC VIÊN

Nguyễn Thị Phương Thảo

HTT
Bùi Đình Thuần

Nguyễn Văn
Lương Thị Hải Hòa

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO
KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung

CHẾ VIÊN