

XÂY DỰNG QUY TRÌNH CHIẾT XUẤT CAO NGHỆ CURCUMA LONGA L.

Nguyễn Đức Hạnh*, Nguyễn Minh Đức*; Đặng Văn Giáp*

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xây dựng quy trình chiết xuất cao khô từ Nghệ ở phòng thí nghiệm.

Đối tượng và phương pháp: Dược liệu thân rễ Nghệ thu mua tại thành phố Hồ Chí Minh. Phần mềm thông minh: FormRules v3.3 (Intelligensys, Ltd., 2007) được sử dụng để nghiên cứu liên hệ nhân quả và INForm v3.7 (Intelligensys, Ltd, 2008) được dùng để tối ưu hóa đa biến. Nhằm đảm bảo độ tin cậy của thực nghiệm, quy trình sắc ký lỏng hiệu năng cao định lượng curcumin I, đã thẩm định về tính tương thích hệ thống, tính tuyến tính, độ đúng và độ lặp lại, được sử dụng trong phân tích.

Kết quả: Dữ liệu phân tích cho thấy hàm lượng curcumin I chỉ liên quan trực tiếp với độ cồn trong khi hiệu suất chiết cao bị ảnh hưởng bởi cả 3 biến số khảo sát. Dựa trên các mô hình liên quan nhân quả, các thông số tối ưu của quy trình đã được xác định bao gồm độ cồn trung bình, tỷ lệ dược liệu/dung môi (1/4) và số lần chiết xuất (3).

Kết luận: Nhờ sự hỗ trợ của phần mềm thông minh, quy trình chiết xuất cao Nghệ, với hàm lượng curcumin I cao nhất và hiệu suất chiết tối đa, đã được tối ưu hóa. Kết quả thực nghiệm kiểm chứng cho thấy các thông số tối ưu hoàn toàn phù hợp với thực nghiệm.

Từ khóa: Thân rễ Nghệ, thông số chiết xuất, phần mềm thông minh, liên hệ nhân quả và tối ưu hóa đa biến

ABSTRACT

PROCEDURE DEVELOPMENT FOR THE EXTRACT FROM CURCUMA LONGA L.

Nguyen Duc Hanh, Nguyen Minh Duc, Dang Van Giap

* Y Hoc TP. Ho Chi Minh * Vol. 14 - Supplement of No 1 - 2010: 140-144

Objective: Development of the extraction procedure for the dried extract from Curcuma longa L.

Materials and Methods: Rhizomes of Curcuma longa were purchased in Ho Chi Minh City. Intelligent software: FormRules v3.3 (Intelligensys, Ltd., 2007) was applied for cause-and-effect study and INForm v3.7 (Intelligensys, Ltd, 2008) was used for multivariate optimization. To obtain good input data, the HPLC method use in curcumin I quantitation was validated for its analytical properties including suitability, linearity, precision and accuracy.

Results: It's proven that curcumin I content was related to ethanol concentration only whereas the extraction yield was influenced by all investigated factors. Based on these cause-effect models, the extraction parameters - including ethanol concentration, material-solvent ratio and extraction times - were successfully optimized.

Conclusion: With the intelligent software assistance as a framework, the extraction process for Curcuma longa rhizome was optimized to obtain the maximum content of curcumin I and the highest extraction yield. The optimized extraction parameters were successfully verified by experiments.

Key words: Curcuma longa rhizome, intelligent software, extraction parameters, extract properties, cause-effect study and multivariate optimization.

*Khoa Dược - Đại học Y Dược Tp.HCM

Địa chỉ liên hệ: DS. Nguyễn Đức Hạnh

ĐT: 0909568956

Email: duchanh27381@yahoo.com

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, nhu cầu trong nước và trên thế giới về cao Nghệ (*Curcuma longa* L.) là rất lớn. Nghệ không chỉ có công dụng giúp liền sẹo, mau lên da non các vết thương mà còn được sử dụng để điều trị bệnh đau dạ dày, kích thích bài tiết mật...Ngày nay, việc xây dựng một quy trình chiết xuất dược liệu có thể được trợ giúp bởi sự áp dụng các phần mềm thông minh (3) như FormRules (1) (áp dụng logic mờ-thần kinh để khảo sát xu hướng, mức độ và quy luật nào của mối liên quan giữa các yếu tố ảnh hưởng trên kết quả chiết xuất) và INForm (3) (sử dụng mạng thần kinh để thiết lập mô hình liên quan nhân quả và thuật toán di truyền để tối ưu hóa các thông số). Mục tiêu nghiên cứu của đề tài là xây dựng quy trình chiết xuất Nghệ với sự hỗ trợ của các phần mềm thông minh sao cho hiệu suất chiết tối đa với hàm lượng hoạt chất curcumin I cao nhất.

NGUYÊN LIỆU & PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu & Phần mềm

Dược liệu

Thân rễ Nghệ vàng (*Rhizoma Curcumae longae*) mua tại Công ty TNHH SX-TM Hồng Đài Việt, 188/117/13, Tôn Thất Thuyết, Quận 4 (do Trung Tâm Nghiên Cứu và Sản Xuất Dược Liệu Miền Trung, Tỉnh Phú Yên sản xuất).



Hình 1. Nghệ: a. Dược liệu tươi b. Dược liệu khô
Các phần mềm chuyên dụng và thông minh

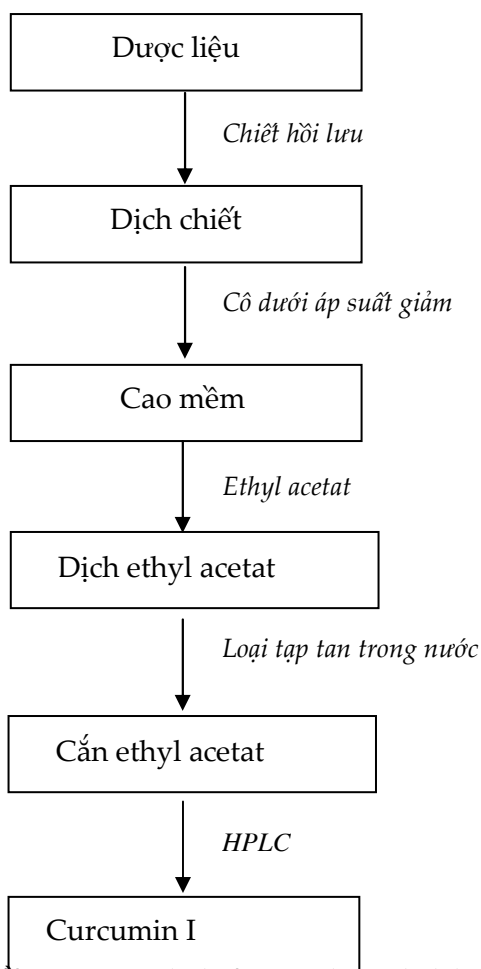
Design Expert v6.06 (2002) - Stat-Ease, Inc.:
Thiết kế mô hình thực nghiệm.

FormRules v3.3 (2007) - Intelligensys, Ltd.:
Nghiên cứu nhân quả.

INForm v3.6 (2007) - Intelligensys, Ltd.: Tối ưu hóa công thức

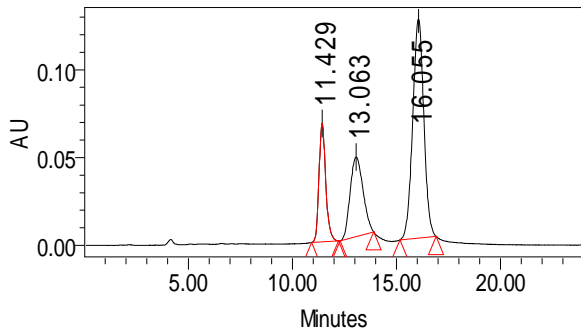
Chiết xuất

Dược liệu được chiết bằng phương pháp hồi lưu. Dịch chiết được cô để thu được cao có thể chất mềm, dạng bánh. Từ cặn được chiết bởi ethyl acetat và loại bột tạt tan trong nước, hàm lượng curcumin I được xác định bởi máy HPLC hiệu Waters 2695.



Sơ đồ 1. Quy trình chiết cao Nghệ và định lượng curcumin I

Hình 2. Sắc ký đồ HPLC định lượng curcumin I trong cao Nghệ



Định lượng curcumin I

Curcumin I chuẩn (độ tinh khiết 98,75%) do ban Nghiên cứu Khoa học-Thư viện, khoa Dược, Đại học Y Dược TP.HCM cung cấp.

Quy trình chế mẫu định lượng: Cân chính xác khoảng 1g cao Nghệ cho vào bình nón, siêu âm với 20 ml ethyl acetat trong 5 phút. Tiếp tục thêm 2 lần nữa. Gộp tất cả dịch chiết thu được và lắc với 30 ml nước cất. Cô dịch ethyl acetat đến cạn. Cân chính xác khoảng 1,50mg cặn ethyl acetat. Hòa tan cặn trong dung môi pha động, siêu âm và điền dung môi pha động vừa đủ 10 ml, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

Điều kiện HPLC định lượng curcumin I: cột sắc ký: Sulfire RP-C18, 250 x 4 mm, 5 μ m; bước sóng phát hiện: 428 nm; tốc độ dòng: 0,95 ml/phút; thể tích bơm: 20 μ l; nhiệt độ cột: nhiệt độ phòng; pha động: acetonitril: dung dịch acid acetic 0,05%. Chương trình gradient dung môi sắc ký như sau:

Thời gian (phút)	Acetonitril	Dung dịch acid acetic 0,05%
0	50	50
8	60	40
10	70	30
15	60	40
24	50	50

Thẩm định phương pháp HPLC: tính tương thích hệ thống, tính tuyến tính, độ đúng, độ lặp lại để thẩm định phương pháp định lượng curcumin I trong cao Nghệ.

KẾT QUẢ & BÀN LUẬN

Thẩm định quy trình định lượng

Tính tương thích: Kết quả đánh giá tính tương thích của hệ thống được trình bày trong Bảng 1. CV của thời gian lưu là 0,28% (< 2%) và của diện tích peak là 0,58% (< 2%) nên hệ thống đạt tính tương thích.

Bảng 1. Tính tương thích hệ thống của phương pháp định lượng

Lần bơm	R _T (phút)	Hệ số bất đối xứng	Độ phân giải	Số đĩa lý thuyết	Diện tích đỉnh
1	16,193	1,05	2,11	2330	4373722
2	16,208	1,06	2,05	2338	4319640
3	16,198	1,06	2,06	2325	4334875
4	16,137	1,06	2,10	2335	4346960
5	16,099	1,08	2,08	2319	4385594
6	16,210	1,06	2,06	2340	4335441
TB	16,174	1,06	2,08	2331	4349372
CV%	0,28	0,93	1,07	0,35	0,58

Độ tuyến tính: phương trình hồi quy tuyến tính giữa diện tích peak và nồng độ curcumin I có dạng $y = 101098x - 451071$ ($\alpha = 0,05$).

Độ chính xác: Kết quả đánh giá độ chính xác được trình bày trong Bảng 2. Độ chính xác (độ lặp lại 2,29%) đạt yêu cầu.

Bảng 2. Kết quả đánh giá độ chính xác của phương pháp định lượng curcumin I

STT	1	2	3	4	5	6
Hàm lượng curcumin I trong cao (%)	16,04	15,95	15,89	16,55	16,66	15,77

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

Mẫu	Mức hàm lượng	Curcumin I		
		Thêm vào	Tìm thấy	Tỉ lệ phục hồi
1	80%	0,39	0,389	99,69
2		0,39	0,390	99,95
3		0,38	0,376	98,84
4	100%	0,45	0,451	100,31
5		0,49	0,482	98,27
6		0,48	0,461	96,08
7	120%	0,55	0,558	101,51
8		0,58	0,584	101,28
9		0,57	0,562	98,51

Độ đúng: Kết quả đánh giá độ đúng được trình bày trong Bảng 3. Độ đúng (tỷ lệ phục hồi: 99,38%) đạt yêu cầu.

Thiết kế mô hình chiết xuất

Quy trình chiết xuất cao từ thân rễ Nghệ được thiết kế bởi phần mềm Design-Expert gồm 14 thí nghiệm ; cao tương ứng các thí nghiệm theo thiết kế được kiểm nghiệm và kết quả được tóm tắt trong Bảng 4.

Bảng 4. Dữ liệu thực nghiệm theo mô hình D-Optimal

	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2
1	trung bình	1:8	3	0,204	0,094
2	trung bình	1:4	2	0,151	0,067
3	trung bình	1:8	2	0,184	0,077
4	thấp	1:4	2	0,127	0,013
5	thấp	1:6	3	0,177	0,025
6	thấp	1:4	3	0,146	0,028
7	trung bình	1:4	3	0,184	0,073
8	cao	1:8	2	0,154	0,088
9	cao	1:4	3	0,146	0,087
10	thấp	1:8	2	0,161	0,025
11	trung bình	1:6	2	0,162	0,069
12	cao	1:6	3	0,16	0,108
13	thấp	1:6	2	0,127	0,033
14	cao	1:8	3	0,175	0,114

Ghi chú:

x_1 = độ cồn

x_2 = tỷ lệ dược liệu : dung môi

x_3 = số lần chiết

y_1 = hiệu suất chiết cao Nghệ

y_2 = hàm lượng curcumin I

Phân tích liên quan nhân quả

Dữ liệu trong Bảng 4 được dùng làm đầu vào cho phần mềm thông minh FormRules.

Bảng 5. Xu hướng và mức độ liên quan nhân quả

	x_1	x_2	x_3	R^2 luyện
y_1	+	+	+	93,5345
y_2	+	-	-	91,2756

Hàm lượng curcumin I bị ảnh hưởng đáng kể bởi độ cồn. Hiệu suất chiết bị ảnh hưởng bởi 3 yếu tố khảo sát: độ cồn, tỷ lệ dược liệu : dung môi và số lần chiết.

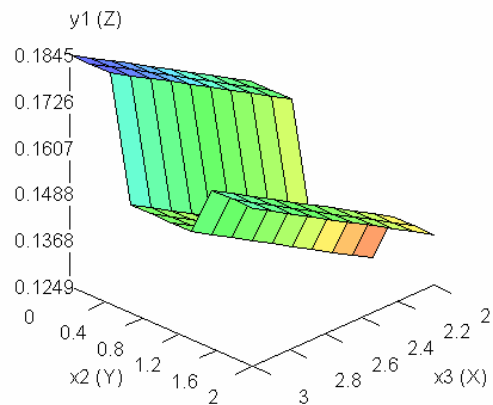
Một số quy luật được rút ra như sau:

Đối với hàm lượng curcumin I:

Nếu x_1 thấp thì y_2 sẽ thấp (0,88).

Nếu x_1 cao thì y_2 sẽ cao (0,85).

Đối với hiệu suất chiết: các quy luật phức tạp hơn. Thí dụ: nếu x_1 thấp thì y_1 sẽ thấp (0,88); nếu x_1 trung bình thì y_1 sẽ cao (1,00). Nếu x_2 là 1 phần 8 thì y_1 sẽ cao (1,00); nếu x_2 là 1 phần 4 hay 1 phần 6 thì y_1 sẽ thấp (1,00). Nếu x_3 thấp thì y_1 sẽ thấp (0,98); nếu x_3 cao thì y_1 sẽ cao (1,00).



Hình 3. Minh họa ảnh hưởng của số lần chiết và tỷ lệ dược liệu: dung môi trên hiệu suất

Tối ưu hóa thông số quy trình

Dữ liệu trong Bảng 4 cũng được dùng làm đầu vào cho phần mềm thông minh INForm. Với nhóm thử gồm 2 mẫu 7 & 13 và thuật toán RPROP, các mô hình liên quan nhân quả được thiết lập và đánh giá về mặt thống kê theo Bảng 6.

Bảng 6. Kết quả đánh giá chéo các mô hình nhân quả

Giá trị R^2	y_1	y_2
Nhóm luyện	89,7702 %	94,2255 %
Nhóm thử	95,2381 %	70,1928 %

Mô hình y_1 có tính tương thích khá và khả năng dự đoán chính xác. Mô hình y_2 có tính tương thích tốt và khả năng dự đoán khá chính xác. Cả hai mô hình đều có thể được áp dụng trong giai đoạn tối ưu hóa thông số.

Với điều kiện tối ưu hóa: ràng buộc: không có; trọng số: mặc nhiên (1); số nguyên dương: x_2 và x_3 ; hàm mục tiêu: hàm lượng curcumin I = max $\Leftrightarrow y_2 = \text{Up}$, hiệu suất chiết cao từ dược liệu

(%) = max $\Leftrightarrow y_1 = \text{Up} \dots$ kết quả tối ưu hóa được tóm tắt như sau:

Thông số tối ưu:

x_1 = độ cồn = trung bình

x_2 = tỷ lệ: dược liệu: dung môi = 1:4

x_3 = số lần chiết 3

Tính chất dự đoán:

y_1 : hiệu suất chiết cao từ dược liệu = 0,1797

y_2 : hàm lượng curcumin I = 0,0875

Thực nghiệm kiểm chứng

Bảng 7. Bảng so sánh kết quả thực nghiệm kiểm chứng và kết quả dự đoán bởi phần mềm INForm của cao Nghệ

Biến số (y_i)	INForm	Kết quả thực nghiệm			
		TB	1	2	3
Hàm lượng curcumin I	0,0875	0,0882	0,0861	0,0905	0,0878
Hiệu suất chiết	0,1797	0,1800	0,1812	0,179	0,1798

Tính lặp lại của quy trình

Quy trình chiết xuất cao Nghệ đạt yêu cầu về tính lặp lại ($p > 0,05$).

Sự phù hợp giữa lý thuyết và thực tế

Tính chất cao Nghệ được dự đoán bởi INForm phù hợp với thực tế ($p > 0,05$).

KẾT LUẬN

Quy trình chiết xuất cao Nghệ, dự kiến có hiệu suất chiết tối đa với hàm lượng hoạt chất curcumin I cao nhất đã được xây dựng thành công với sự hỗ trợ của các phần mềm thông minh FormRules (khảo sát xu hướng, mức độ và quy luật liên quan nhân quả) và INForm (tối ưu hóa thông số của quy trình chiết xuất).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. FormRules V3.3 (2007), Intelligensys Ltd, Belasis Business Centre, Belasis Hall Technology Park, Billingham, Teesside TS23 4EA, UK.
2. INForm V3.6 (2007), Intelligensys Ltd, Belasis Business Centre, Belasis Hall Technology Park, Billingham, Teesside TS23 4EA, UK.
3. Nguyễn Hoài Trung (2004), Xây dựng phương pháp chiết xuất tối ưu và tiêu chuẩn hóa cao chiết toàn phần từ cao quả nhàu phục vụ sản xuất công nghiệp, Luận văn Thạc sĩ Dược học, Đại học Y Dược Tp. HCM.
