

ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ CHỈ TIÊU CHẤT LƯỢNG CỦA BỘT CAO ĐIỀU CHẾ TỪ RỄ CÂY SÂM BỐ CHÍNH (*Abelmoschus moschatus* subsp. *tuberosus* (Span.) Borss. Waalk.)

Hoàng Việt Dũng¹, Vương Thị Phương Dung¹, Đỗ Quyên²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xây dựng được tiêu chuẩn chất lượng của bột cao được điều chế từ rễ cây Sâm bố chính (SBC). **Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu:** Đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng đối với nguyên liệu dạng bột cao, từ đó đưa ra mức giới hạn chất lượng cho các chỉ tiêu chất lượng này. **Kết quả:** Đánh giá và đưa ra mức giới hạn chất lượng của bột cao SBC về một số chỉ tiêu gồm: tính chất, độ ẩm, định tính, định lượng, tro toàn phần, kim loại nặng và giới hạn nhiễm khuẩn. **Kết luận:** Xây dựng được tiêu chuẩn chất lượng cho bột cao SBC.

* Từ khóa: Bột cao; Sâm bố chính; Tiêu chuẩn chất lượng.

Evaluating Quality Criteria of Extract Powder Prepared from Radix of Abelmoschus Moschatus Subsp. Tuberosus (Span.) Borss. Waalk.

Summary

Objectives: To establish the quality standard of extract powder prepared from radix of *Abelmoschus moschatus* subsp. *tuberosus* (Span.) Borss. Waalk. **Material and methods:** Evaluating some quality criteria of the extract powder to establish the quality level. **Results:** Having evaluated and established the quality level of the extract powder with some criteria including: Property, humidity, identification, quantification, total ash, heavy metal, limit of microbial infection. **Conclusion:** The quality standard of extract powder prepared from radix of *Abelmoschus moschatus* subsp. *tuberosus* (Span.) Borss. Waalk. were established.

* Keywords: Extract powder; *Abelmoschus moschatus* subsp. *tuberosus* (Span.) Borss. Waalk.; Quality standard.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm bố chính là một trong những dược liệu khá nổi tiếng ở Việt Nam và được dùng cho những trường hợp: Cơ thể suy nhược, mệt mỏi, kém ăn, khát nước, gầy còm, đau lưng, sốt nóng, táo bón... [1]. Hiện nay, trong các tài liệu tham khảo thì tên gọi SBC là tên tiếng Việt của 2 loài khác

n nhau là *Abelmoschus sagittifolius* (Kurz) Merr. và *Abelmoschus moschatus* subsp. *tuberosus* (Span.) Borss. Waalk. [1, 2]. Trong Đề tài cấp Nhà nước mã số KHCN-TNB.ĐT/14-19/C15 thuộc Chương trình Tây Nam Bộ, chúng tôi chọn loài *Abelmoschus moschatus* subsp. *tuberosus* (Span.) Borss. Waalk. làm đối tượng nghiên cứu,

¹Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y

²Đại học Dược Hà Nội

Người phản hồi: Hoàng Việt Dũng (vietdungk85@yahoo.com)

Ngày nhận bài: 16/11/2020

Ngày bài báo được đăng: 25/01/2021

xuất phát từ quá trình sàng lọc và điều tra thực tế. Để đảm bảo chất lượng, hiệu quả chữa bệnh của sản phẩm và độ ổn định của quy trình sản xuất thì nguyên liệu bột cao điều chế cũng cần phải được kiểm soát chất lượng, tức là cần phải xây dựng tiêu chuẩn chất lượng cho nó. Đặc biệt, với chỉ tiêu định lượng, hợp chất 2,7 β ,8 β -trihydroxy trans-calamenen-7-O- β -D-glucopyranosid (TCG) đã được lựa chọn làm chất đánh dấu bởi đây là hợp chất có cấu trúc cadinan sesquiterpen đặc trưng cho những hợp chất hóa học khác có trong rễ cây SBC. Đồng thời, là chất được phân lập với lượng nhiều nhất trong số những chất phân lập được từ rễ cây trong nghiên cứu trước đó của chúng tôi [3, 5]. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng để tạo ra được một sản phẩm viên nang cứng chứa bột cao SBC.*

NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên vật liệu và thiết bị

- Nguyên liệu: mẫu bột cao SBC được điều chế vào tháng 10/2020.

* Quy trình điều chế:

Dược liệu khô được chiết xuất với dung môi ethanol 70% bằng phương pháp chiết hồi lưu, tỷ lệ dung môi/dược liệu = 8/1 (chiết lặp lại 2 lần). Gộp dịch chiết và cô đến hàm ẩm khoảng 20%. Sau đó thêm tinh bột với tỷ lệ 20% so với lượng chất rắn. Trộn đều và sấy khô đến hàm ẩm < 9%.

- Chất chuẩn 2,7 β ,8 β -trihydroxy trans-calamenen-7-O- β -D-glucopyranosid, hàm lượng 96,4% (cung cấp bởi Viện Hóa

sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam)

- Dung môi: Methanol, acid formic: đạt tiêu chuẩn HPLC (Merck); ethanol, n-hexan, aceton: đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích...

- Thiết bị, dụng cụ: Hệ thống HPLC Waters 2695D, detector PDA 2998, cột Lichrospher RP-18, 250 x 4,6 mm, 5 μ m, 100Ao, bộ phận tiêm mẫu tự động, phần mềm Empower (Mỹ); bếp cách thủy Memmert (Đức); cân phân tích Mettler, độ chính xác 0,1 mg (Thụy Sĩ)...

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu mô tả.

- Tính chất: Mô tả bằng cảm quan: quan sát màu sắc, ngửi mùi và nếm vị.

- Độ ẩm:

Tiến hành theo phương pháp xác định mất khối lượng do làm khô của ĐVN V, Phụ lục 9.6, sử dụng máy xác định hàm ẩm tự động ADAM AMB 310, dùng khoảng 2,0g bột cao, sấy ở nhiệt độ 105^oC trong 5 tiếng.

- Định tính: Phương pháp sắc ký lớp mỏng:

+ Bản mỏng: Silicagel 60 F254 được hoạt hóa ở 110^oC trong 30 phút.

+ Dung môi triển khai: n-Hexan: Aceton (1,5:1).

+ Dung dịch thử: Lắc siêu âm khoảng 0,1g bột cao SBC với 5 ml ethanol 70% trong 10 phút, lọc. Dịch lọc được cô đặc còn khoảng 2 ml dùng làm dung dịch thử.

+ Dung dịch đối chiếu: Chiết siêu âm khoảng 0,5g bột dược liệu SBC với 5 ml ethanol 70% trong 15 phút, lọc. Dịch lọc

được cô đặc còn khoảng 2 ml dùng làm dung dịch đối chiếu.

- Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ngoài không khí ở nhiệt độ phòng, sau đó quan sát dưới ánh sáng 365 nm.

- Kết quả: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

- Định lượng: Phương pháp HPLC [5]:

+ Điều kiện sắc ký:

Cột sắc ký: Lichrospher RP-18 (250 x 0,46 mm; 5 µm; 100Å^o) hoặc tương đương; bước sóng định lượng: 220 nm; pha động: methanol: Acid formic 0,1% (57:43); tốc độ dòng: 0,9 ml/phút; thể tích tiêm: 20 µl; nhiệt độ cột: 25°C.

+ Chuẩn bị mẫu thử và mẫu chuẩn: Chuẩn bị mẫu thử: Cân chính xác khoảng 0,5g bột cao cho vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 40 ml dung môi methanol, lắc siêu âm 30 phút. Sau đó, thêm dung môi vừa đủ đến vạch, lắc đều. Dịch trong bình định mức được lọc qua màng 0,45 µm và dịch lọc được phân tích với hệ thống HPLC.

- Chuẩn bị mẫu chuẩn: Hòa tan và pha loãng một lượng chính xác chất chuẩn TCG trong dung môi methanol để được dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ khoảng 5 - 60 µg/ml.

+ Cách tiến hành: Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn vào hệ thống

sắc ký. Tiến hành sắc ký theo điều kiện đã nêu, ghi thời gian lưu và diện tích của pic TCG của từng dung dịch.

+ Tính kết quả: Hàm lượng TCG (mg/g) trong bột cao SBC khô kiệt được tính theo công thức:

$$HL \text{ (mg/g)} = \frac{(S-b) \times 50 \times 10^{-3} \times 100}{a \times m_c \times (100-h)}$$

* Trong đó:

S: Diện tích pic TCG trong dung dịch thử ($\mu V*s$).

a, b: Lần lượt là hệ số góc và hệ số chặn của đường chuẩn.

m_c: Khối lượng mẫu thử (g).

h: Hàm ẩm của cao (%).

- Tro toàn phần: Tiến hành theo phương pháp TCVN 5611:2007, thực hiện tại Trung tâm Phân tích và Giám định Thực phẩm Quốc gia, Viện Công nghệ thực phẩm.

- Kim loại nặng: Tiến hành định lượng Pb và Cd theo phương pháp AOAC 999.11 và định lượng Hg theo phương pháp AOAC 971.21, thực hiện tại Trung tâm Phân tích và Giám định Thực phẩm Quốc gia, Viện Công nghệ thực phẩm.

- Giới hạn nhiễm khuẩn: Xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí theo TCVN 4884-1:2015; xác định tổng số bào tử nấm men, mốc theo TCVN 8275-2:2010; xác định nhiễm *Staphylococcus aureus* theo TCVN 4830-2:2005; xác định nhiễm *E. coli* theo TCVN 6846:2007; xác định nhiễm *Salmonella* theo ISO 6579-1:2017, thực hiện tại Trung tâm Phân tích và Giám định Thực phẩm Quốc gia, Viện Công nghệ thực phẩm.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Tính chất

Khối bột khô tơi, đồng nhất, màu nâu sáng, có mùi thơm đặc trưng của dược liệu, không có mùi nấm mốc, vị hơi mặn đắng.



Hình 1: Ảnh chụp bột cao SBC.

2. Độ ẩm

Bảng 1: Độ ẩm của bột cao SBC.

Mẫu	Khối lượng bột cao (g)	Độ ẩm (%)
1	2,18	5,85
2	2,34	6,07
3	2,14	5,59
$\bar{X} \pm SD$		5,84 \pm 0,24
RSD (%)		4,12

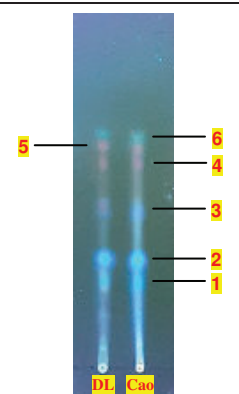
Như vậy, độ ẩm của mẫu bột cao khoảng 5,84%. Dựa trên kết quả thực nghiệm, đề nghị giới hạn độ ẩm của bột cao SBC là không quá 7,0%.

3. Định tính

Sau khi triển khai sắc ký lớp mỏng và hiện màu bằng soi dưới ánh sáng bước sóng 365 nm, trên bản mỏng sắc ký của mẫu dịch chiết bột cao SBC cho thấy các vết tách nhau và hiện màu rõ.

Bảng 2: Ảnh chụp, R_f và màu sắc của các vết trên bản mỏng sắc ký mẫu dịch chiết bột cao SBC.

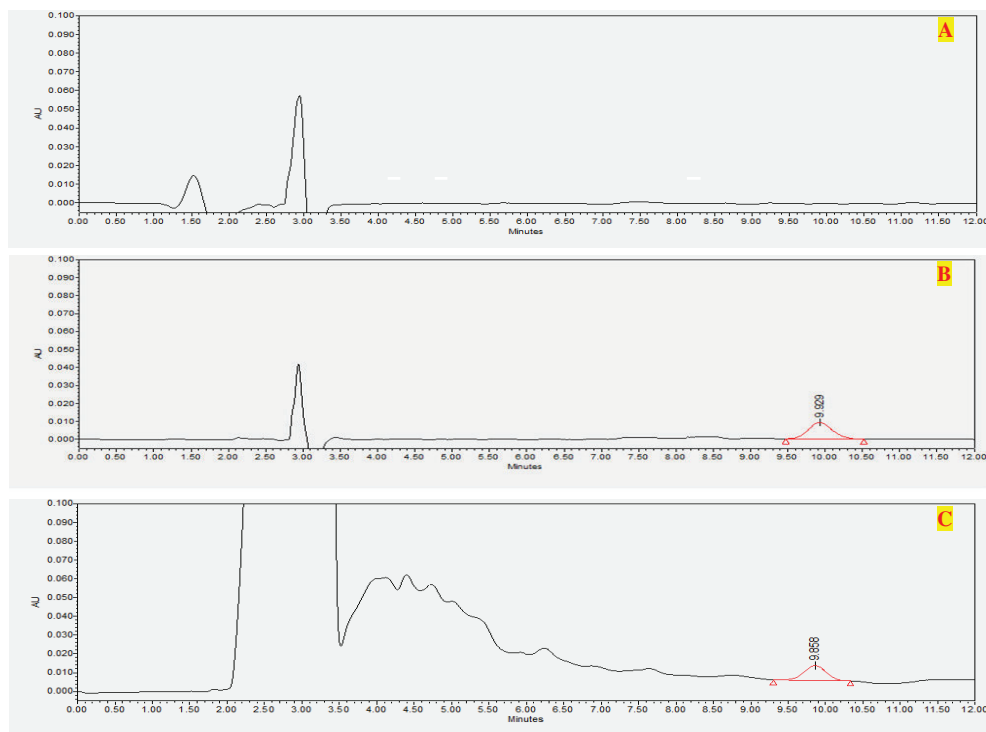
Vết	Màu sắc	R_f	Vết	Màu sắc	R_f
1	Xanh da trời đậm	0,27	4	Đỏ	0,62
2	Xanh da trời đậm	0,33	5	Đỏ	0,68
3	Xanh da trời nhạt	0,49	6	Xanh lá cây	0,72



Kết quả cho thấy hệ dung môi pha động n-hexan:acetone (1,5:1) và hiện màu dưới ánh sáng 365 nm là điều kiện phù hợp để phân tích sắc ký lớp mỏng mẫu dịch chiết bột cao SBC. Dưới điều kiện phân tích này, bản sắc ký lớp mỏng của mẫu dịch chiết rễ SBC và của mẫu dịch chiết bột cao SBC phải có các vết có màu sắc và giá trị R_f giống nhau.

4. Định lượng

Kết quả xác định hàm lượng TCG trong mẫu bột cao SBC được trình bày ở hình 2 và bảng 3.



Hình 2: Sắc ký đồ của mẫu trắng (A), dung dịch chuẩn TCG (B) và dịch chiết bột cao SBC (C).

Bảng 3: Kết quả định lượng TCG trong bột cao SBC.

Mẫu	Khối lượng cân (g)	Diện tích pic ($\mu V*s$)	Hàm lượng TCG (mg/g)
1	0,5021	201.909	1,05
2	0,5017	195.970	1,02
3	0,5032	200.421	1,04
4	0,5007	187.890	0,98
5	0,5014	193.927	1,01
6	0,5025	190.496	0,99
$\bar{X} \pm SD$			1,02 \pm 0,03
RSD (%)			2,69

Kết quả bảng 3 cho thấy hàm lượng TCG trong bột cao SBC là 1,02 mg/g tính theo mẫu khô kiệt. Dựa trên kết quả thực nghiệm, đề nghị giới hạn hàm lượng TCG trong bột cao SBC là không ít hơn 0,8 mg/g.

5. Tro toàn phần

Kết quả xác định tro toàn phần của mẫu bột cao là 20,14%. Dựa trên kết quả thực nghiệm, đề nghị giới hạn tro toàn phần trong bột cao SBC là không quá 22,0%.

6. Kim loại nặng

Kết quả xác định hàm lượng Pb, Cd và Hg trong mẫu bột cao SBC lần lượt là 0,081 mg/kg; 0,215 mg/kg và < 0,015 mg/kg. Dựa trên kết quả thực nghiệm, đề nghị giới hạn kim loại nặng trong bột cao SBC phải phù hợp với quy định an toàn thực phẩm theo QCVN 8-2: 2011/BYT - Giới hạn ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm [4].

7. Giới hạn nhiễm khuẩn

Kết quả xác định độ nhiễm khuẩn của mẫu bột cao SBC như sau:

- Tổng số vi sinh vật hiếu khí là 30 CFU/g.

- Tổng số nấm men, mốc là < 1 CFU/g.
- Không phát hiện *Staphylococcus aureus*, *E. coli* và *Salmonella*.

Dựa trên kết quả thực nghiệm, đề nghị giới hạn nhiễm khuẩn trong bột cao SBC phải đạt yêu cầu theo phụ lục 13.6 - ĐDVN V [2].

KẾT LUẬN

Đã đánh giá được tiêu chuẩn chất lượng của bột cao SBC về một số chỉ tiêu gồm: tính chất, độ ẩm, định tính, định lượng, tro toàn phần, kim loại nặng và giới hạn nhiễm khuẩn. Dựa trên kết quả thực nghiệm và tài liệu tham khảo, đề xuất các mức giới hạn tương ứng với những chỉ tiêu chất lượng đã được đánh giá, cụ thể như sau:

- Tính chất: Khối bột khô tơi, đồng nhất, màu nâu sáng, có mùi thơm đặc trưng của dược liệu, không có mùi nấm mốc, vị hơi mặn đắng.
- Độ ẩm: Không quá 7,0%.
- Định tính: Phân tích sắc ký lớp mỏng của mẫu dịch chiết rễ SBC và của mẫu dịch chiết bột cao SBC phải có số lượng, màu sắc và thứ tự các vết giống nhau.
- Định lượng: Hàm lượng TCG trong bột cao SBC là không ít hơn 0,8 mg/g.
- Tro toàn phần: Hàm lượng tro toàn phần trong bột cao SBC là không quá 22,0%.
- Kim loại nặng: Hàm lượng kim loại nặng trong bột cao SBC phải phù hợp với quy định an toàn thực phẩm theo QCVN 8-2:2011/BYT - Giới hạn ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm.
- Giới hạn nhiễm khuẩn: Độ nhiễm khuẩn trong bột cao SBC phải đạt yêu cầu theo phụ lục 13.6 - ĐDVN V.

Tiêu chuẩn chất lượng này có thể áp dụng để kiểm tra và đánh giá chất lượng của những mẫu bột cao SBC khác.

LỜI CẢM ƠN

Nội dung của bài báo này là một phần nội dung của đề tài mã số KH-CN-TNB.ĐT/14-19/C15. Đề tài này được tài trợ kinh phí bởi Chương trình “Khoa học và Công nghệ phục vụ phát triển bền vững vùng Tây Nam Bộ” (chương trình Tây Nam Bộ), mã số KH-CN-TNB/14-19.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Viện Dược liệu. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật 2006:690-693.

2. Bộ Y tế. Dược điển Việt Nam V. NXB Y học, Hà Nội 2017:1310-1311, PL 9.6, PL 13.6.

3. Vũ Văn Năm. Nghiên cứu chiết xuất, phân lập một số hợp chất và đánh giá tác dụng ức chế enzym α -glucosidase in vitro của rễ cây Sâm bố chính (*Abelmoschus moschatus* subsp. *tuberosus* (Span.) Borss. Waalk.). Luận văn Thạc sĩ Dược học. Học viện Quân y 2020.

4. QCVN 8-2:2011/BYT: Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với giới hạn ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm: 3, 6, 7.

5. Hoang Viet Dung, Vu Van Nam, Le Thi Bich Hau, et al. Quantification of 2,7 β ,8 β -trihydroxy trans-calamenen 7-O- β -D-glucopyranosid in *Abelmoschus moschatus* subsp. *tuberosus* (Span.) Borss. Waalk. by HPLC-PDA. Journal of Medicinal Materials 2020; 25(5):294-298.