

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN CHIẾT COUMARIN TỪ LÁ ĐƠN ĐỎ (*Excoecaria cochinchinensis*)

Mai Minh Trầm, Phạm Thị Cẩm Hoa, Hoàng Thị Ngọc Nhơn*

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

*Email: nhonhtn@fst.edu.vn

Ngày nhận bài: 24/5/2022; Ngày chấp nhận đăng: 29/6/2022

TÓM TẮT

Coumarin có tác dụng chống đông máu, chống co thắt và giãn động mạch vành, được tìm thấy nhiều trong lá đơn đỏ. Do vậy, nghiên cứu được tiến hành nhằm xác định ảnh hưởng của các điều kiện chiết lên hàm lượng coumarin từ lá đơn đỏ (*Excoecaria cochinchinensis*). Các thông số của quá trình trích ly được khảo sát gồm loại dung môi, nồng độ dung môi, nhiệt độ và thời gian chiết coumarin. Kết quả điều kiện trích ly thích hợp là dung môi methanol 80%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/30 (w/v) tại nhiệt độ 70 °C trong 60 phút, hàm lượng coumarin toàn phần đạt 8,55 mgCo/g.

Từ khóa: Coumarin, *Excoecaria cochinchinensis*, chống oxy hóa, trích ly.

1. MỞ ĐẦU

Cây lá đơn đỏ (*Excoecaria cochinchinensis*) có tên gọi khác là cây lá đơn tía hay cây đơn mặt trời, có chiều cao trung bình từ 0,5 m đến 1 m, là loài thực vật thuộc họ Đại kích, mặt trên của lá có màu xanh đậm, mặt dưới màu nâu đỏ. *E. cochinchinensis* phân bố nhiều ở phía đông bán đảo Đông Dương, lá đơn đỏ được dùng để chữa các bệnh ngoài da hoặc tiêu chảy [1]. Những nghiên cứu gần đây chứng minh rằng lá đơn đỏ chứa nhiều thành phần hoạt tính sinh học và được ứng dụng trong Đông và Tây y. Chất chiết xuất từ cây có tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm, chống ung thư, chống oxy hóa, bảo vệ gan, thận và nhiều lợi ích khác. Các thành phần hóa học của lá *E. cochinchinensis* bao gồm coumarin, flavonoid, saponin, tannin, anthraglycosid [2]. Ngoài ra, khoảng 11 hợp chất và 1 dẫn xuất phenol được phân lập từ loài thực vật này [3]. Những hợp chất hữu cơ có hoạt tính sinh học nêu trên đã được nghiên cứu và ứng dụng nhiều trong thực tế góp phần làm phong phú nguồn nguyên liệu tự nhiên để thay thế cho các sản phẩm tổng hợp, vốn không an toàn và tiềm ẩn nhiều nguy cơ đối với sức khỏe.

Coumarin và các dẫn xuất của chúng có tiềm năng trong việc điều trị đa dạng các bệnh như ung thư, bỏng, bệnh brucella và rối loạn thấp khớp [4]. Những nghiên cứu thu nhận các hợp chất thiên nhiên từ các loại cây thuốc dân gian ở nước ta đã góp phần cung cấp các thông tin về nguồn nguyên liệu, phục vụ cho việc chiết xuất và chế biến dược phẩm cũng như thực phẩm chức năng từ thực vật. Tính đến thời điểm hiện tại đã có nhiều công bố sàng lọc và đánh giá các hợp chất coumarin từ một số loài thực vật ở Việt Nam [5]. Sự thu nhận thành công hợp chất coumarin từ lá đơn đỏ mở ra hướng tận dụng nguồn nguyên liệu để sản xuất những chế phẩm mang giá trị y học cao là vấn đề thực sự cần thiết, có ý nghĩa khoa học, có giá trị kinh tế và thực tiễn. Nghiên cứu này được thực hiện với mục đích xác định các điều kiện cơ bản cho quá trình chiết coumarin từ lá đơn đỏ làm nền tảng cho những nghiên cứu ứng dụng sâu hơn hợp chất này vào thực tiễn, tìm kiếm thêm nguồn thảo dược trong thiên nhiên phục vụ cho bảo vệ sức khỏe con người.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

2.1.1. Nguyên liệu

Lá đơn đồ *E. cochinchinensis* được thu hái tại xã Vĩnh Thạnh, huyện Lập Vò, tỉnh Đồng Tháp, nguyên liệu được chọn là lá già, mặt trên của lá có màu xanh đậm, mặt dưới màu nâu đỏ.

2.1.2. Hóa chất

Methanol 99,7%, Ethanol 96%, Chloroform 99,8%, acid sulfuric 98% (Merck), Natri cacbonat 7%, p-nitrobenzenediazonium clorua 98%, chất chuẩn coumarin 99% (Sigma).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị mẫu

Lá đơn đồ sau khi thu hái sẽ được đem về phòng thí nghiệm rửa sạch để loại bỏ các tạp chất, sau đó được đem đi sấy ở 60 °C đến độ ẩm dưới 10%. Nguyên liệu sau khi sấy được nghiền nhỏ thành bột và được bảo quản trong túi zip để sử dụng trong suốt quá trình làm thí nghiệm.

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng điều kiện chiết lên hàm lượng coumarin

2.2.2.1. Ảnh hưởng loại dung môi

Cân chính xác 1 g nguyên liệu (tính theo chất khô) đã được nghiền nhỏ, đựng trong bình thủy tinh sau đó thực hiện quá trình ngâm chiết trong các dung môi khảo sát: methanol (MeOH), ethanol (EtOH), nước, chloroform (CHCl₃) với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (NL/DM) là 1/20 (w/v), trong thời gian 60 phút ở các nhiệt độ là 50 °C và tiến hành xác định hàm lượng coumarin.

2.2.2.2. Ảnh hưởng tỷ lệ NL/DM

Nguyên liệu khô đã được nghiền nhỏ, đựng trong bình thủy tinh sau đó thực hiện quá trình ngâm chiết với tỷ lệ NL/DM khảo sát: 1/10, 1/20, 1/30, 1/40, 1/50 (w/v), trong thời gian 60 phút ở nhiệt độ là 50 °C với dung môi thu được ở kết quả thí nghiệm 2.2.2.1 và tiến hành xác định hàm lượng coumarin.

2.2.2.3. Ảnh hưởng nồng độ dung môi

Nguyên liệu khô đã được nghiền nhỏ, đựng trong bình thủy tinh sau đó thực hiện quá trình ngâm chiết với các nồng độ dung môi khảo sát: 60, 70, 80, 90%, trong thời gian 60 phút ở nhiệt độ là 50 °C với dung môi và tỷ lệ NL/DM được chọn ở các thí nghiệm 2.2.2.1, 2.2.2.2 và tiến hành xác định hàm lượng coumarin.

2.2.2.4. Ảnh hưởng thời gian chiết

Nguyên liệu khô đã được nghiền nhỏ, đựng trong bình thủy tinh sau đó thực hiện quá trình ngâm chiết trong thời gian khảo sát: 20, 40, 60, 80 phút ở nhiệt độ là 50 °C với loại dung môi, tỷ lệ NL/DM và nồng độ dung môi được chọn ở các thí nghiệm 2.2.2.1, 2.2.2.2, 2.2.2.3 và tiến hành xác định hàm lượng coumarin.

2.2.2.5. Ảnh hưởng nhiệt độ chiết

Nguyên liệu khô đã được nghiền nhỏ, đựng trong bình thủy tinh sau đó thực hiện quá trình ngâm chiết trong các khoảng nhiệt độ khảo sát là 40, 50, 60, 70, 80 °C với dung môi, tỷ lệ NL/DM, nồng độ dung môi và thời gian chiết được chọn ở các thí nghiệm 2.2.2.1, 2.2.2.2, 2.2.2.3, 2.2.2.4 và tiến hành xác định hàm lượng coumarin.

2.2.3. Phương pháp phân tích

2.2.3.1. Định tính coumarin

Dựa trên phản ứng đóng – mở vòng lacton đặc trưng của coumarin: Cho vào mỗi ống 0,5 mL dịch chiết, ống 1 bổ sung thêm 0,25 mL dung dịch NaOH 10%, đun sôi dưới ngọn lửa đèn cồn và quan sát hiện tượng. Sau đó thêm vào mỗi ống nghiệm 1 mL nước cất, acid hóa bằng vài giọt HCl và quan sát hiện tượng [5].

2.2.3.2. Định lượng coumarin

Định lượng coumarin thực hiện theo mô tả của Gabriela và cộng sự dựa trên phản ứng màu của acid thơm hydroxy (kết quả từ quá trình thủy phân lactone) với muối diazonium. Độ hấp thụ của dịch chiết được đo bằng máy quang phổ UV-Vis ở bước sóng 520 nm [7].

2.2.3.3. Phương pháp xây dựng đường chuẩn

Xây dựng đường chuẩn coumarin được thực hiện như sau: Hút chính xác 1 mL dung dịch chuẩn coumarin ở các nồng độ (0,2; 0,4; 2; 3,2; 4 $\mu\text{g/mL}$) vào từng bình cho thêm 5 mL natri carbonat 7%. Các dung dịch được đun nóng ở 85 °C trong 5 phút, sau đó làm mát ở nhiệt độ phòng thêm vào 5 mL dung dịch H₂SO₄ 0,05 N và 5 mL p-nitrobenzenediazonium clorua (1,5 mmol/L) thêm vào từ từ cho đến khi có màu đỏ của hợp chất azo. Ngay sau đó dung dịch được tiến hành đo quang phổ ở bước sóng 520 nm. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Thực hiện tương tự cho mẫu trắng.

2.2.4. Phân tích số liệu

Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình \pm SD, sử dụng phần mềm IBM SPSS Statistics 20.0 để phân tích và đánh giá sự khác biệt giữa các mẫu. Biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2016.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của dung môi đến hàm lượng coumarin

Bất kỳ yếu tố nào làm tăng khả năng khuếch tán và độ hòa tan của cấu tử vào dung môi sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình chiết. Kết quả ảnh hưởng của dung môi đến lượng coumarin thu được được thể hiện qua Bảng 1.

Loại dung môi được sử dụng trong chiết có ảnh hưởng trực tiếp đến hàm lượng coumarin trong nguyên liệu. Hai loại dung môi cho hàm lượng coumarin thấp hơn là nước (2,88 mgCo/g) và EtOH (3,78 mgCo/g). Ngoài ra, khi chiết với chloroform cho hàm lượng cao hơn (4,11 mgCo/g). Riêng MeOH cho hàm lượng coumarin cao nhất trong các loại dung môi được khảo sát (6,18 mgCo/g).

Bảng 1. Hàm lượng coumarin ở các dung môi chiết khác nhau

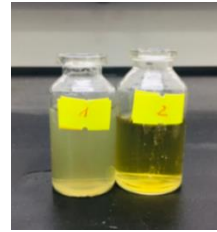
Thí nghiệm	Dung môi chiết	Hàm lượng (mgCo/g)
1	H ₂ O	(2,87 \pm 0,14) ^a
2	MeOH	(6,17 \pm 0,16) ^b
3	EtOH	(3,78 \pm 0,12) ^c
4	CHCl ₃	(4,11 \pm 0,08) ^d

^{a,b,c,d}: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có nghĩa về mặt thống kê ở $p < 0,05$.

Mỗi hợp chất đều có độ phân cực khác nhau nên sẽ hòa tan trong các dung môi có độ phân cực tương ứng. Các dẫn xuất của coumarin thể hiện khả năng hòa tan mạnh trong MeOH hơn các dung môi phân cực khác [8]. MeOH là loại dung môi đa năng có thể hòa tan tốt các hợp chất phân cực và không phân cực. Sproll và cộng sự (2007) đã chỉ ra chiết coumarin tốt nhất là methanol khi so sánh với ethanol, acetonitril và chloroform [9]. Đồng thời Chen và cộng sự (2003) cũng sử dụng methanol làm dung môi trích ly coumarin từ lá *Murrata omphalocarpa* [10]. Bên cạnh đó, kết quả định tính bằng phương pháp phản ứng đóng mở vòng lacton cho thấy sự hiện diện của coumarin trong dịch chiết, khi kiểm hóa bằng NaOH và tiến hành đun cách thủy làm đục màu dung dịch (Hình 1). Sau khi thêm nước cất dung dịch trở lại trạng thái ban đầu. Tiếp đó mẫu được acid bằng HCl, nhận thấy sự xuất hiện kết tủa (Hình 2). Điều này được lý giải do coumarin cấu tạo đặc trưng bởi vòng lacton, dưới tác dụng của kiềm vòng lacton bị biến đổi cấu trúc tạo ra muối natri của acid *o*-hydroxycinnamic và muối này dễ tan trong nước [5]. Ngược lại, trong môi trường acid vòng lacton sẽ trở lại trạng thái như ban đầu.



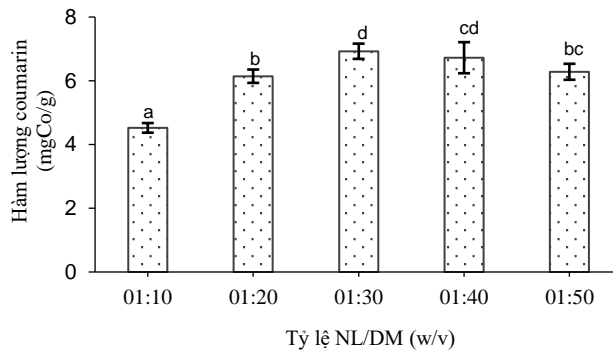
Hình 1. Dịch chiết (phải) và sau khi thêm NaOH 10% (trái)



Hình 2. Acid hóa bằng dung dịch HCl

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ NL/DM đến hàm lượng coumarin

Bên cạnh loại dung môi, tỷ lệ NL/DM cũng là yếu tố ảnh hưởng đến khả năng trích ly. Tỷ lệ NL/DM có ảnh hưởng đến hàm lượng coumarin thu được. Khi tăng tỷ lệ cơ chất/dung môi, hàm lượng coumarin thu được cũng tăng dần. Cụ thể, hàm lượng coumarin tăng từ 4,52 mgCo/g (tỷ lệ 1/10 w/v) lên 6,14 mgCo/g (tỷ lệ 1/20 w/v), đạt giá trị cao nhất với hàm lượng 6,92 mgCo/g (tỷ lệ 1/30 w/v). Tuy nhiên, hàm lượng coumarin giảm dần từ tỷ lệ 1/40 w/v (6,72 mgCo/g), 1/50 w/v (6,28 mgCo/g) (Hình 3). Quá trình hòa tan các hoạt chất sinh học vào dung môi là quá trình vật lý khi lượng dung môi tăng, tạo cơ hội các hoạt chất sinh học tiếp xúc với dung môi dẫn đến khả năng thẩm thấu cao hơn [11].



Hình 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ NL/DM đến hàm lượng coumarin

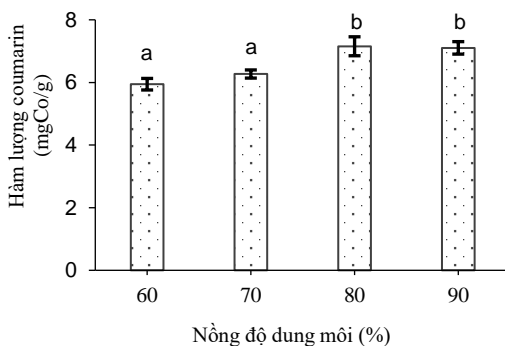
a,b,c,d: Các chữ cái khác nhau trên cột thể hiện sự khác biệt có nghĩa về mặt thống kê ở $p < 0,05$

Khi tăng lượng dung môi sử dụng, hiệu quả trích ly tăng do tăng sự chênh lệch gradient nồng độ của cấu tử cần trích ly trong nguyên liệu và dung môi [12]. Khi thể tích dung môi quá lớn, muốn thu nhận cao chiết cần phải sử dụng các phương pháp để tách bớt dung môi như cô

đặc. Vì thế, với mỗi quá trình chiết, cần xác định tỉ lệ phù hợp giữa nguyên liệu và dung môi để thu được hiệu quả trích ly cao và tiết kiệm chi phí [13]. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ NL/DM phù hợp là 1/20 (w/v) theo phân tích ANOVA và kiểm định Duncan ($p < 0,05$). Ngoài ra, kết quả định tính bằng phương pháp phản ứng đóng mở vòng lacton trên dịch chiết này, kết quả cho thấy các phản ứng đóng mở đặc trưng khi kiểm hóa và acid hóa, cho thấy sự hiện diện của coumarin trong dịch chiết.

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hàm lượng coumarin

Nồng độ dung môi đóng vai trò quan trọng trong việc trích ly các hợp chất hữu cơ, mức độ phân cực của dung môi phụ thuộc vào hằng số điện môi và giá trị liên kết hydro. Khi trộn lẫn dung môi và nước có độ phân cực cao sẽ cho các hỗn hợp có mức độ phân cực khác nhau, dung môi có độ phân cực tương đương với hợp chất được trích ly sẽ hòa tan chất đó tốt hơn [14].



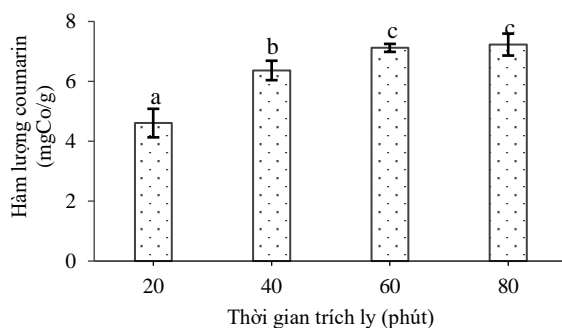
Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hàm lượng coumarin

^{a,b}: Các chữ cái khác nhau trên cột thể hiện sự khác biệt có nghĩa về mặt thống kê ở $p < 0,05$

Nồng độ dung môi ảnh hưởng lớn đến hàm lượng các chất hòa tan đi kèm trong quá trình chiết. Nồng độ dung môi tăng từ 60% đến 70%, hàm lượng coumarin tăng đáng kể, hàm lượng thu được cao nhất là 7,11 mgCo/g ở nồng độ 80% (Hình 4). Nguyên nhân chủ yếu là do coumarin phân cực kém, ít tan trong nước, tan trong các dung môi kém phân cực và dung môi đa năng, nên lượng coumarin thu được càng cao khi tăng dần nồng độ dung môi, đồng thời nồng độ dung môi càng lớn, tốc độ thẩm thấu vào tế bào càng mạnh, dung môi dễ thẩm thấu vào sâu bên trong tế bào dễ dàng giải phóng các hợp chất. Ở nồng độ dung môi 80% cũng được dùng trong nghiên cứu của Sproll và cộng sự (2007) để phân tích và đánh giá an toàn của coumarin trong thực phẩm [9]. Ngoài ra, Bourgaud và cộng sự (1994) cũng sử dụng dung môi trích ly ở nồng độ 80% để chiết xuất coumarin và glycoside từ *Melilotus officinalis* L. [8]. Tuy nhiên, nồng độ dung môi tăng cao sẽ ảnh hưởng trực tiếp lên thành tế bào khiến các chất trong tế bào khó thoát ra ngoài được. Trong thí nghiệm này, khi tăng nồng độ dung môi từ 80% lên 90%, hàm lượng coumarin giảm từ 7,11 xuống 7,10 mgCo/g, qua kiểm định ANOVA cho thấy ở nồng độ MeOH 80% và 90% không có sự khác biệt về mặt ý nghĩa thống kê. Mặt khác, với nồng độ 90% sẽ tiêu tốn nhiều dung môi và chi phí cũng sẽ cao hơn. Do đó, MeOH 80% được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng coumarin

Thời gian chiết ảnh hưởng đến hiệu quả thu nhận các hoạt chất, nên việc xác định thời gian chiết là cần thiết [15], góp phần thu nhận hàm lượng chất hòa tan cao nhất mà vẫn tiết kiệm được thời gian. Ở mỗi mốc thời gian trích ly khác nhau, khả năng hấp thụ nước hay độ trương nở của tế bào sẽ khác nhau, do đó ảnh hưởng trực tiếp lên hàm lượng coumarin thu nhận được. Mức thời gian 20-40 phút khảo sát ban đầu, hàm lượng thu được là 4,60-6,36 mgCo/g (Hình 5).



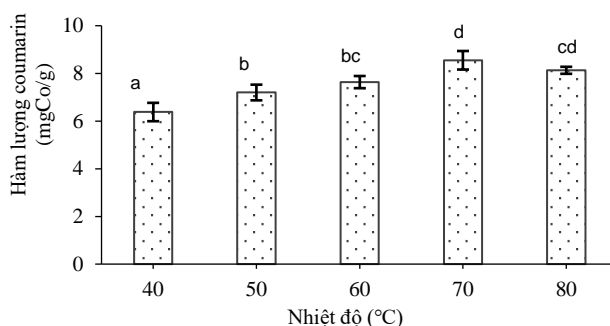
Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hàm lượng coumarin

a,b,c: Các chữ cái khác nhau trên cột thể hiện sự khác biệt có nghĩa về mặt thống kê ở $p < 0,05$

Điều này có thể do nếu thời gian chiết ngắn, hàm lượng các hoạt chất sinh học không chiết được hoàn toàn [15], không đủ để cho dung môi thẩm thấu vào tế bào làm cho hàm lượng chất thu được không cao. Tuy nhiên, khi kéo dài thời gian chiết, hàm lượng coumarin tăng mạnh và đạt giá trị cao sau 60 phút (7,11 mgCo/g) trích ly. Kết quả này có phần khả quan hơn so với nghiên cứu của Wang và cộng sự (2011) ở cùng nhiệt độ trên cây Bạch Chi (*Angelica dahurica*) [16]. Đồng thời, khi thời gian được nâng lên 80 phút quá trình chiết thu được hàm lượng 7,22 mgCo/g chất chiết. Ngoài ra, khi phân tích ANOVA trên các mức khảo sát thời gian cho thấy ở 60 và 80 phút không có sự khác biệt về mặt ý nghĩa ($p > 0,05$).

3.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng coumarin

Nhiệt độ làm tăng khả năng hòa tan và khuếch tán của các hợp chất, giảm độ nhớt dung môi, tăng khả năng truyền khối và xâm nhập của dung môi vào trong tế bào [12]. Hàm lượng coumarin tăng nhanh khi tăng nhiệt độ tăng từ 40 °C đến 60 °C, thu được coumarin có hàm lượng 6,38-7,63 mgCo/g với giá trị cao nhất là 8,55 mgCo/g ở 70 °C (Hình 6).



Hình 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hàm lượng coumarin

a,b,c,d: Các chữ cái khác nhau trên cột thể hiện sự khác biệt có nghĩa về mặt thống kê ở $p < 0,05$

Kết quả phù hợp với một số công bố trước đây. Cụ thể, Lončarić và cộng sự (2020) đã tiến hành tối ưu hóa các điều kiện trích ly coumarin để tổng hợp ester coumarin, hiệu suất cao nhất đạt được là 93% ở nhiệt độ 70 °C [17]. Điều này có thể lý giải do trạng thái cân bằng (hòa tan) và tốc độ truyền khối (hệ số khuếch tán) có thể ảnh hưởng bởi nhiệt độ trích ly, sự hòa tan của dung môi tăng khi nhiệt độ tăng, vì thế làm tăng tốc độ trích ly [15]. Tương tự, theo Mohamad và cộng sự (2010), nhiệt độ cao có thể làm giảm các rào cản tế bào do suy yếu thành và màng tế bào, dung môi dễ dàng tiếp xúc với các hoạt chất [18]. Khi tăng nhiệt độ lên 80 °C, hàm lượng coumarin bắt đầu giảm còn 8,13 mgCo/g. Nguyên nhân có thể là khi nhiệt độ tăng

cao, vượt quá giới hạn nhất định sẽ làm biến tính và phân hủy các hợp chất mong muốn dẫn đến giảm hàm lượng hợp chất mục tiêu [15]. Kết quả phân tích ANOVA và kiểm định Duncan cho thấy tại 70 °C, hàm lượng thu được có sự khác biệt có nghĩa với các mức nhiệt còn lại, nên được chọn làm thông số cho thí nghiệm tiếp theo ($p < 0,05$).

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này cho thấy MeOH là dung môi phù hợp trích ly coumarin từ lá đơn đỏ. Các điều kiện thích hợp cho quá trình trích ly coumarin từ lá đơn đỏ được xác định là MeOH 80% (v/v), tỷ lệ NL/DM tương ứng là 1/20 (w/v) với thời gian trích ly 60 phút ở nhiệt độ 70 °C, hàm lượng coumarin toàn phần đạt 8,55 mgCo/g. Nghiên cứu này mở ra các nghiên cứu hướng đến ứng dụng chế phẩm coumarin từ lá đơn đỏ vào trong các sản phẩm thực phẩm chức năng hay dược phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phan Minh Giang, Phan Tong Son, Katsuyoshi Matsunami, Hideaki Otsuka - New Megastigmane Glucosides from *Excoecaria cochinchinensis* Lour. var. *cochinchinensis*, Chemical and Pharmaceutical Bulletin **53** (12) (2005) 1600-1603.
2. An Thai Nguyen - Primarily result of study on the chemical components of the medicinal herb *Excoecaria cochinchinensis* Lour, Pharmaceutical Journal (2001) 9-10.
3. Lai Hop Hieu, Nguyen Phuong Thao, Do Hoang Anh, Tran Thi Hong Hanh, Nguyen Duy Cong, Nguyen The Cuong, NguyenVan Thanh, Nguyen Xuan Cuong, Nguyen Hoai Nam, Ngo Dai Quang, Chau Van Minh - Metabolites from *Excoecaria cochinchinensis* Lour, Phytochemistry Letters **37** (2020) 116-120.
4. Murray R.D.H. - Coumarins, Natural Product Reports **6** (5) (1989) 591.
5. Đinh Thị Lan Hương, Nguyễn Thị Phương, Lê Thị Thanh Hương, Trịnh Ngọc Hoàng, Đậu Bá Thìn, Nguyễn Nghĩa Thìn - Định tính coumarin và đánh giá hiệu quả kháng khuẩn của dịch chiết từ một số loài thực vật để chữa bệnh: kinh nghiệm của người Nùng ở Nho Quan, tỉnh Ninh Ninh, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ **24b** (2012) 140-146.
6. Andarwulan N., Batari R., Sandrasari D.A., Bolling B., Wijaya H. - Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia, Food Chemistry **121** (4) (2010) 1231-1235.
7. Stanciu G., Aonofriesei F., Cristache N., Lupsor S. - Quantitative analysis and antibacterial activity of some coumarins extracts, Revista de Chimie **68** (8) (2017) 1752-1756.
8. Bourgaud F., Poutaraud A., and Guckert A. - Extraction of coumarins from plant material (*Leguminosae*), Phytochemical Analysis **5** (3) (1994) 127-132.
9. Sproll C., Ruge W., Andlauer C., Godelmann R., Lachenmeier D.W. - HPLC analysis and safety assessment of coumarin in foods, Food chemistry **109** (2) (2008) 462-469.
10. Chen K.S., Wu C.C., Chang F.R., Chia Y.C., Chiang M.Y., Wang W.Y., Wu Y.C. - Bioactive coumarins from the leaves of *Murraya omphalocarpa*, Planta Medica **69** (7) (2003) 654-657.
11. Cacace J.E. and Mazza G. - Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries, Journal of Food Engineering **59** (4) (2003) 379-389.

12. Al-Farsi M.A., Lee C.Y. - Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds, *Food Chemistry* **108** (3) (2008) 977-985.
13. Lê Thị Hồng Ánh, Hoàng Thị Ngọc Nhon, Nguyễn Minh Kiên, Trần Trung Kiên - Nghiên cứu thu nhận bột màu chlorophyll từ rong nước lợ *Cheatomorpha* sp. đồng bằng sông Cửu Long, *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm* **10** (2016) 30-38.
14. Đặng Thanh Long, Hoàng Thị Kim Hồng, Lê Lý Thùy Trâm, Nguyễn Thị Quỳnh Trang - Ảnh hưởng một số yếu tố lên quá trình tách chiết flavonoid toàn phần từ hạt sen bằng phương pháp siêu âm bề, *Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc* (2020) 232-237.
15. Trần Thị Thùy Linh, Nguyễn Minh Thủy- Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly các hoạt chất sinh học từ cây thuốc dòi (*Pouzolzia zeylanica* L. Benn), *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* **1** (2014) 68-75.
16. Wang L.H., Mei Y.H., Wang F., Liu X.S., Chen Y.- A novel and efficient method combining SFE and liquid-liquid extraction for separation of coumarins from *Angelica dahurica*, *Separation and Purification Technology* **77** (3) (2011) 397-401.
17. Lončarić M., Gašo-Sokač D., Jokić S., Molnar M. - Recent advances in the synthesis of coumarin derivatives from different starting materials, *Biomolecules* **10** (1) (2020) 151.
18. Mohamad M., Ali M., Ahmad A. - Modelling for extraction of major phytochemical components from *Eurycoma longifolia*, *Journal of Applied Sciences* **10** (21) (2010) 2572-2577.
19. Nguyễn Thị Hằng, Nguyễn Thị Thanh Tâm, Mai Hữu Phương - Khả năng bắt gốc tự do DPPH và năng lực khử của Nam sâm bò ở Cần Giờ, TP. Hồ Chí Minh, *Tạp chí Khoa học* **12** (90) (2016) 112.
20. Wu C.R., Huang M.Y., Lin Y.T., Ju H.Y., Ching H. - Antioxidant properties of Cortex Fraxini and its simple coumarins, *Food Chemistry* **104** (4) (2007) 1464-1471.
21. Kostova I., Bhatia S., Grigorov P., Balkansky S., Parmar V.S., Prasad A.K., Sasa L. - Coumarins as antioxidants, *Current Medicinal Chemistry* **18** (25) (2011) 3929-3951.

ABSTRACT

EFFECTS OF EXTRACTION CONDITIONS ON COUMARIN CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF *Excoecaria cochinchinensis*

Mai Minh Tram, Pham Thi Cam Hoa, Hoang Thi Ngoc Nhon*
Ho Chi Minh City University of Food Industry
*Email: nhonhtn@fst.edu.vn

Coumarin indicates anticoagulant, antispasmodic, and coronary artery dilating properties, which is found in *Excoecaria cochinchinensis*. Therefore, the study was carried out to determine conditions for coumarin extraction from *E. cochinchinensis*. The parameters, including solvent type, solvent concentration, temperature and coumarin extraction time were investigated. The suitable extraction conditions were 80% methanol, the raw material/solvent ratio was 1/30 (w/v) at 70 °C for 60 minutes, the total coumarin content reached 8.55 mgCo/g.
Keywords: Antioxidant, coumarin, *Excoecaria cochinchinensis*, extraction.