

TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH TRÍCH LY SIÊU ÂM HÀM LƯỢNG SAPONIN TRITERPENOID TỔNG VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA TỪ CÂY DIỆP HẠ CHÂU (*Phyllanthus urinaria* L.)

Nguyễn Tân Thành^{1,*}, Nguyễn Thị Huyền¹,
Nguyễn Thị Uyển Nhi¹, Trần Văn Ngọc²

TÓM TẮT

Nghiên cứu này có mục đích tối ưu các điều kiện trích ly siêu âm hàm lượng saponin triterpenoid tổng và hoạt tính chống oxy hóa từ cây Diệp hạ châu (*Phyllanthus urinaria*) bằng phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM). Bố trí thí nghiệm theo thiết kế Box – Behnken, đã xây dựng được mô hình tối ưu quy trình tách chiết saponin triterpenoid tổng (TSTC-Y₁) và hoạt tính chống oxy (DPPH-Y₂) với ba yếu tố là công suất siêu âm (X₁), thời gian siêu âm (X₂) và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (X₃). Theo mô hình, điều kiện tối ưu hóa quá trình trích ly có hỗ trợ của sóng siêu âm để thu được hàm lượng saponin triterpenoid tổng và hoạt tính chống oxy hóa cao nhất là công suất siêu âm 315 W, thời gian trích ly 42 phút và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 41 mL/g. Với các thông số này, dịch chiết thu được có hàm lượng saponin triterpenoid tổng là 3,02 ± 0,05 mg/g và hoạt tính chống oxy là 92,1 ± 0,2%.

Từ khoá: Bề mặt đáp ứng, *Phyllanthus urinaria*, trích ly, saponin triterpenoid, hoạt tính chống oxy hóa.

1. DẶT VẤN ĐỀ

Cây Diệp hạ châu (*Phyllanthus urinaria* L.) là một loại thảo dược thuộc họ Thầu dầu (Euphorbiaceae), Chi *Phyllanthus* phân bố rộng rãi ở Nam Mỹ, Ấn Độ, Sri Lanka, Nhật Bản, Malaysia, Indonesia, Hoa Kỳ, Trung Quốc và Việt Nam. Cho đến nay người ta đã phát hiện chi *Phyllanthus* có hơn 700 loài, ở Việt Nam có 44 loài, các loài được chú ý dùng làm thuốc nhiều hơn cả là *Phyllanthus urinaria* L. (Diệp hạ châu ngọt), *Phyllanthus niruri* L. (Diệp hạ châu thân xanh) và *Phyllanthus amarus* (Diệp hạ châu đắng).

Thành phần hóa học của cây Diệp hạ châu đã được nhiều nhà khoa học trong và ngoài nước công bố như flavonoid, axit cacboxylic, tannin, coumarin, lignans corilagen, axit gallic, axit caffeolquinic, geraniin và rutinhave [6, 7]. Trong đó các hợp chất như axit ellagic, flavanoid hoặc tannin có tác dụng chống ung thư [1]. Các hợp chất như corilagin, flavonoid làm giảm chứng viêm gan nhiễm mỡ trong

các tế bào gan [9], ức chế sự phát triển của tế bào gây u xương [4]. Ngoài các nhóm chất như flavonoids, phenols, terpenoid, polysaccharide thì các loài trong chi *Phyllanthus* còn chứa một lượng khá lớn hợp chất saponin [5].

Hoạt tính chống ung thư là hoạt tính sinh học được nghiên cứu nhiều nhất của saponin. Các saponin có tác động vào quá trình biệt hóa của tế bào ung thư, ngăn cản sự phân bào của chúng [8, 10]. Saponin ức chế sự phát triển và hình thành cụm khuẩn của tế bào ung thư gan Morris và kích thích các tế bào đó tổng hợp protein huyết thanh, do đó làm biến đổi các đặc điểm của tế bào ung thư cả về cấu trúc và hình thái giống với các tế bào gan bình thường.

Công nghệ trích ly sử dụng sóng siêu âm làm tăng đáng kể tỷ lệ thu hồi các hoạt chất so với phương pháp trích ly truyền thống hay các phương pháp trích ly khác. Thời gian trích ly bằng công nghệ này giảm đi rất nhiều so với phương pháp trích ly truyền thống hiện nay. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu quá trình trích ly có hỗ trợ của sóng siêu âm nhằm thu được tối đa hàm lượng saponin triterpenoid tổng và hoạt tính chống oxy hóa từ cây Diệp hạ châu (*Phyllanthus urinaria*).

¹ Viện Công nghệ Hóa sinh và Môi trường, Trường Đại học Vinh

² Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn Nghệ An

*Email: nguyentanhvn@gmail.com

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Cây Diệp hạ châu được thu nhận tại huyện Con Cuông, tỉnh Nghệ An. Mẫu được sấy khô và nghiền nhỏ và sàng qua lưới sàng kích thước 2 mm để thu được mẫu có kích thước đồng nhất, mẫu được hút chân không và bảo quản ở - 20°C trước khi tiến hành các bước tiếp theo.

2.2. Phương pháp và thiết bị trích ly siêu âm

Thiết bị nghiên cứu: sử dụng thiết bị trích ly siêu âm CYF-TES600N-4S của hãng Chin Ying Fa, Đài Loan. Thiết bị chiết có thể 20 L, nhiệt độ chiết lên đến 100°C, công suất siêu âm tối đa 600 W.

Phương pháp tiến hành: Mỗi thí nghiệm cân 10 g mẫu cho vào bình tam giác thể tích 500 ml, lựa chọn dung môi cho quá trình trích ly là nước, tỷ lệ dung môi cho trước theo phương pháp bố trí thí nghiệm tối ưu. Cho bình vào thiết bị trích ly, điều chỉnh công suất sóng siêu âm theo các điều kiện thí nghiệm. Tiến hành trích ly theo thời gian cho trước. Sau khi kết thúc quá trình trích ly, dịch được lọc qua giấy lọc và mang đi phân tích.

2.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm và tối ưu hóa điều kiện trích ly

Lựa chọn phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology) để tối ưu hóa điều kiện trích ly hàm lượng saponin triterpenoit tổng và hoạt tính chống oxy hóa từ cây Diệp hạ châu có hỗ trợ bằng kỹ thuật siêu âm. Ba thông số quan trọng của quá trình trích ly được nghiên cứu bao gồm: Công suất siêu âm (X_1), thời gian siêu âm (X_2) và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (X_3). Các thí nghiệm được bố trí theo phương pháp Box – Behnken gồm 17 thí nghiệm, với 12 thí nghiệm ở hai mức (trên và dưới) và 5 thí nghiệm ở tâm. Mỗi thí nghiệm được tiến hành 3 lần và lấy kết quả trung bình. Mô hình toán học mô tả ảnh hưởng của các biến độc lập đối với biến phụ thuộc có dạng hàm đa thức bậc hai và có dạng tổng quát như sau:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

Trong đó: Y - Biến phụ thuộc (hàm mục tiêu); $X_{i,j}$ - Biến mã hóa (biến độc lập) ảnh hưởng đến Y; $\beta_0, \beta_i, \beta_j$ - các hệ số hồi quy.

2.4. Phương pháp phân tích

2.4.1. Xác định hàm lượng saponin triterpenoit tổng

Hàm lượng saponin triterpenoit tổng được xác định theo Dong và cs (2001) [2]. Mẫu sau khi trích ly được lọc và pha loãng 10 lần, hút 0,2 mL mẫu đã pha loãng vào ống nghiệm, thêm lần lượt là 0,2 mL vanilin - acetate (10%), 1,2 mL HClO₄, đun cách thủy và ủ ở 70°C trong 15 phút. Sau 15 phút, các ống nghiệm được lấy ra làm mát trong 2 phút, ethyl acetate được bổ sung sao cho tổng thể tích đủ 5 mL. Tổng hàm lượng saponin triterpenoit được phân tích dựa trên phương pháp đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 548 nm với chất chuẩn là escin (máy đo quang phổ Agilent 8453).

2.4.2. Xác định hoạt tính chống oxy hóa theo khả năng khử gốc tự do DPPH

Dịch chiết cây Diệp hạ châu (*P. urinaria*) được đánh giá hoạt tính chống oxy hóa thông qua xác định khả năng khử gốc tự do DPPH theo phương pháp của Fu và cs (2002) [3]. Khoảng 20 µl đến 140 µl dịch chiết trộn với nước cất để đạt thể tích tổng cộng 3 ml. Sau đó thêm 1 ml dung dịch DPPH 0,2 mM, lắc đều và để yên trong bóng tối 30 phút. Độ hấp thụ quang học được đo ở bước sóng 517 nm (Agilent 8453 UV-Visible Spectrophotometer).

Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định theo công thức (2) sau:

$$\text{DPPH (\%)} = 100 \times (\text{Abs}_s - \text{Abs}_c) / \text{Abs}_s \quad (2)$$

Trong đó: Abs_s : độ hấp thụ quang học của mẫu trắng không chứa dịch chiết; Abs_c : độ hấp thụ quang học của mẫu có chứa dịch chiết.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thiết lập mô hình

Các nghiên cứu ban đầu đã khảo sát ảnh hưởng của 3 yếu tố công suất siêu âm, thời gian và tỷ lệ nước/nguyên liệu đến quá trình trích ly saponin triterpenoit tổng và hoạt tính chống oxy hóa từ dịch chiết cây Diệp hạ châu. Vì vậy trong nghiên cứu này, miền đơn yếu tố tối ưu để tiến hành tối ưu hóa các điều kiện trích ly được chọn là công suất siêu âm 250 - 350 W, thời gian siêu âm 30 - 50 phút và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 30/1 - 50/1 mL/g (ký hiệu 30 - 50 mL/g).

Bảng 1. Mã hóa của các biến độc lập

Các biến độc lập	Kí hiệu	Các mức mã hóa		
		-1	0	+1
Công suất siêu âm (W)	X ₁	250	300	350
Thời gian siêu âm (phút)	X ₂	30	40	50
Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (mL/g)	X ₃	30	40	50

Sử dụng phần mềm Design-Expert®, phiên bản 7.0. để đánh giá ảnh hưởng của các thông số quá trình trích ly saponin triterpenoit tổng và hoạt tính chống oxy hóa có sự hỗ trợ của sóng siêu âm trong lá cây Diệp hạ châu.

Bảng 2. Kết quả thí nghiệm

TN	Công suất siêu âm X ₁ (W)	Thời gian siêu âm X ₂ (phút)	Tỷ lệ nước/nguyên liệu X ₃ (mL/g)	Hàm lượng saponin triterpenoit tổng Y ₁ (mg/g)	DPP H Y ₂ (%)
1	-	-	0	1,97	88,94
2	+	-	0	2,62	90,93
3	-	+	0	2,56	89,14
4	+	+	0	2,82	91,23
5	-	0	-	2,35	89,04
6	+	0	-	2,79	91,19
7	-	0	+	2,57	89,21
8	+	0	+	2,78	91,17
9	0	-	-	2,13	90,76
10	0	+	-	2,75	91,28
11	0	-	+	2,71	91,14
12	0	+	+	2,76	91,03
13	0	0	0	3,12	92,31
14	0	0	0	3,04	92,38
15	0	0	0	3,07	92,33
16	0	0	0	3,09	92,36
17	0	0	0	2,98	92,43

3.2. Phân tích sự có nghĩa và sự tương quan của mô hình

Hàm lượng saponin triterpenoit tổng đạt giá trị cao nhất 3,12 mg/g, hoạt tính chống oxy hóa đạt giá trị cao nhất 92,38% cùng ở điều kiện công suất siêu âm 300 W, thời gian 40 phút và tỷ lệ nước/nguyên liệu là 40 mL/g. Từ các phân tích hồi quy tuyến tính của 17 thí nghiệm đã xây dựng được phương trình hồi quy bậc hai của quá trình trích ly hàm lượng

saponin triterpenoit tổng (3) và hoạt tính chống oxy hóa (4) có hỗ trợ của siêu âm từ cây Diệp hạ châu:

$$Y_1 = 3,06 + 0,2X_1 + 0,18X_2 + 1,0X_3 - 0,098X_1X_2 - 0,058X_1X_3 - 0,14X_2X_3 - 0,27X_1^2 - 0,3X_2^2 - 0,17X_3^2 \quad (3)$$

$$Y_2 = 92,36 + 1,02X_1 + 0,11X_2 + 0,035X_3 + 0,025X_1X_2 - 0,047X_1X_3 - 0,16X_2X_3 - 1,6X_1^2 - 0,7X_2^2 - 0,61X_3^2 \quad (4)$$

Kết quả phân tích ANOVA của mô hình bậc hai của Y₁ và Y₂ đã được đánh giá bằng các giá trị F, p và R² tương ứng (Bảng 3). Giá trị F, p của Y₁ là 32,82 và 0,0001; Y₂ là 1115,50 và 0,0001 cả hai giá trị đều thỏa mãn điều kiện p < 0,05; cho thấy cả hai mô hình hoàn toàn có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy đều là 99,99% (p < 0,0001). Hệ số tương quan bội (R²) của mô hình Y₁ là 0,9769 và Y₂ là 0,9996 cho thấy mô hình Y₁ mô tả đến 97,69%, mô hình Y₂ mô tả đến 99,96% sự thay đổi của các hàm mục tiêu phụ thuộc vào các biến ảnh hưởng. Chuẩn F của mô hình Y₁ là 3,31 (p = 0,1389) và Y₂ là 0,18 (p = 0,9044) chỉ ra “sự không tương thích” của hai mô hình là vô nghĩa. Điều này tốt cho quá trình thiết lập mô hình mô phỏng thực nghiệm.

Bảng 3. Kết quả phân tích hồi quy hàm lượng saponin triterpenoit tổng và hoạt tính chống oxy hóa

Nguồn	Hàm lượng saponin triterpenoit tổng Y ₁		Hoạt tính chống oxy hóa Y ₂	
	Giá trị F	Giá trị p	Giá trị F	Giá trị p
Mô hình	32,82	< 0,0001 ^S	1115,50	< 0,0001 ^S
X ₁	53,63	0,0002 ^S	5955,51	< 0,0001 ^S
X ₂	46,98	0,0002 ^S	73,52	< 0,0001 ^S
X ₃	14,10	0,0071 ^S	6,96	0,0335 ^S
X ₁ X ₂	6,70	0,0360 ^S	1,77	0,2244 ^{NS}
X ₁ X ₃	2,33	0,1706 ^{NS}	6,41	0,0391 ^S
X ₂ X ₃	14,32	0,0069 ^S	70,47	< 0,0001 ^S
X ₁ ²	52,62	0,0002 ^S	3625,37	< 0,0001 ^S
X ₂ ²	67,37	< 0,0001 ^S	120,82	< 0,0001 ^S
X ₃ ²	21,77	0,0023 ^S	35,20	< 0,0001 ^S
Không tương thích	3,31	0,1389 ^{NS}	0,18	0,9044 ^{NS}
R ²	0,9769		0,9996	

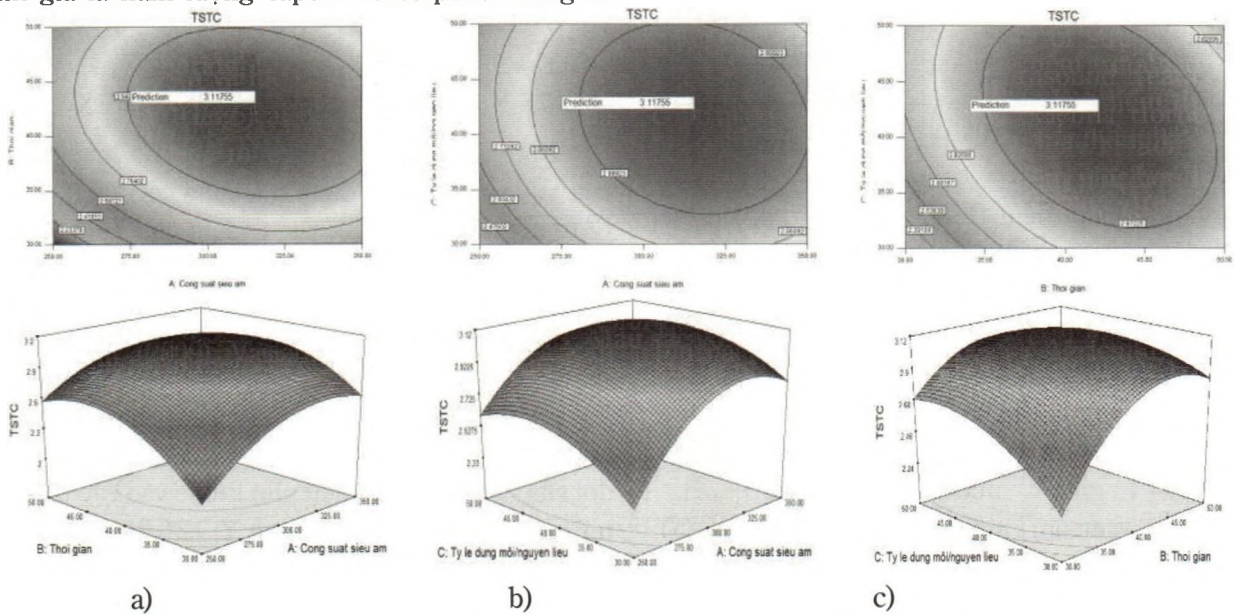
Ghi chú: S (significant) – có nghĩa (p < 0,05); NS (non-significant) – không có nghĩa (p > 0,05).

3.3. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly

Dựa vào mô hình đa thức bậc 2 thực nghiệm, dữ liệu thực nghiệm được phân tích bằng phương pháp bề mặt đáp ứng sử dụng phần mềm Design-Expert

7.0. Các trục X và Y của bề mặt đáp ứng ba chiều đại diện cho hai yếu tố, trục Z là một trong hai chỉ số đánh giá là hàm lượng saponin triterpenoit tổng và

hoạt tính chống oxy hóa. Ba bề mặt đáp ứng được xây dựng như mô tả trong hình 1 và 2.



Hình 1. Bề mặt đáp ứng của hàm lượng saponin triterpenoit tổng

Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly hàm lượng saponin triterpenoit tổng từ cây Diệp hạ châu được thể hiện ở hình 1 và bảng 3. Hình 1a và bảng 3 cho thấy, ảnh hưởng tương tác của công suất siêu âm và thời gian đến quá trình trích ly hàm lượng saponin triterpenoit tổng khi tỷ lệ nước/nguyên liệu được giữ tại tâm (40 mL/g). Sự tương tác của hai yếu tố này có nghĩa đến hàm lượng saponin triterpenoit tổng thu được ($P < 0,05$). Nhìn vào bề mặt đáp ứng nhận thấy tương tác của yếu tố công suất siêu âm và thời gian là tương đương nhau đến quá trình trích ly. Hàm lượng saponin triterpenoit tổng tăng dần khi công suất siêu âm tăng từ 250 - 330 W, khi công suất siêu âm tiếp tục tăng thì hàm lượng saponin triterpenoit tổng giảm xuống, hàm lượng các chất trích ly tăng lên nhờ sự hỗ trợ của sóng siêu âm cũng tuân theo quy luật như trong nghiên cứu của Ji và cs (2006). Hàm lượng saponin triterpenoit tổng cao nhất khi công suất siêu âm nằm trong khoảng từ 320 - 340 W. Tương tự như vậy, với yếu tố thời gian thì khi thời gian tăng từ 30 - 45 phút thì hàm lượng saponin triterpenoit tổng tăng, tuy nhiên khi thời gian tăng từ 45 - 50 phút thì hàm lượng saponin triterpenoit tổng có xu hướng giảm, hàm lượng saponin triterpenoit tổng cao nhất khi thời gian siêu âm ở khoảng 42 - 47 phút.

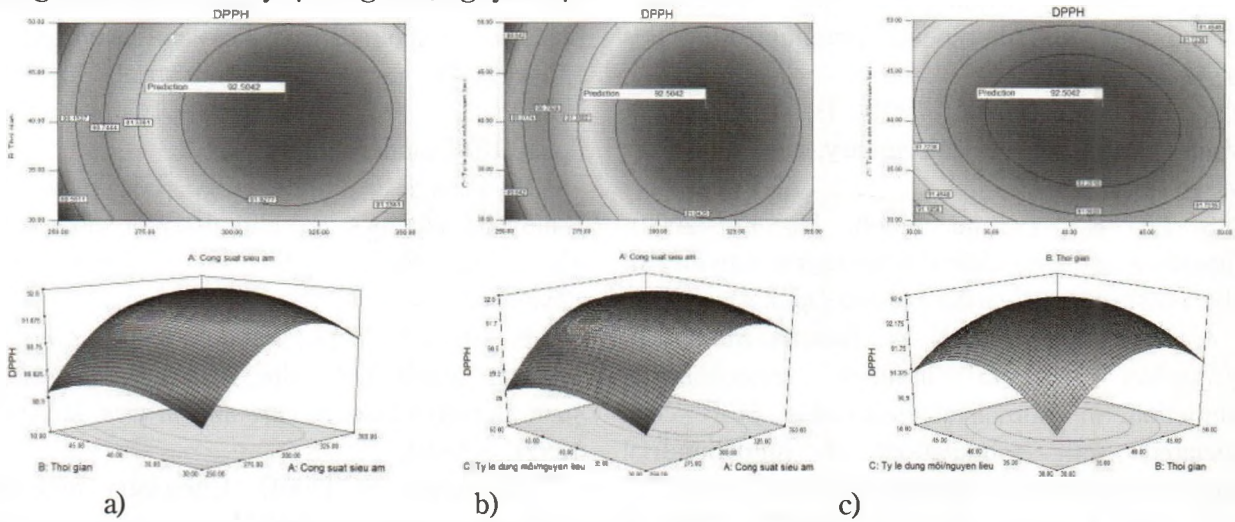
Tương tự, hình 1b và 1c cho thấy ảnh hưởng của các cặp yếu tố công suất siêu âm với tỷ lệ dung môi/nguyên liệu và thời gian với với tỷ lệ nước trên nguyên liệu. Ở tương tác giữa công suất siêu âm với tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (Hình 1b) yếu tố công suất siêu âm ảnh hưởng lớn hơn yếu tố tỷ lệ nước trên nguyên liệu. Với yếu tố tỷ lệ nước/nguyên liệu thì hàm lượng saponin triterpenoit tổng tăng khi tỷ lệ dung môi/nguyên liệu tăng từ 30 - 40 mL/g, sau đó hàm lượng saponin triterpenoit tổng giảm khi tỷ lệ dung môi/nguyên liệu tăng từ 40 - 50 mL/g. Hàm lượng saponin triterpenoit tổng cao nhất khi tỷ lệ dung môi/nguyên liệu nằm trong khoảng 35 - 45 mL/g.

Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly khả năng chống oxy hóa từ cây Diệp hạ châu được thể hiện ở hình 2 và bảng 3. Hình 2a-c và bảng 3 thể hiện ảnh hưởng của các cặp yếu tố đến hoạt tính chống oxy hóa từ dịch chiết cây Diệp hạ châu. Hình 2a cho thấy ảnh hưởng tương tác của thời gian và công suất siêu âm đến quá trình trích ly khi tỷ lệ nước/nguyên liệu được giữ tại tâm (40 mL/g). Sự tương tác của hai yếu tố này là các ảnh hưởng có ý nghĩa ($P < 0,05$). Tương tác của yếu tố công suất siêu âm lớn hơn so với yếu tố thời gian. Hoạt tính chống oxy hóa tăng dần khi công suất siêu âm tăng từ 200 - 320 W và sau đó giảm khi công suất siêu âm tiếp tục tăng từ 320 - 350 W. Hoạt tính chống oxy hóa đạt giá

trị cao nhất khi công suất siêu âm nằm trong khoảng từ 300 - 330 W. Tương tự như yếu tố công suất siêu âm, hoạt tính chống oxy hóa tăng dần khi thời gian tăng từ 30 - 40 phút và khi thời gian siêu âm tiếp tục tăng từ 40 - 50 phút thì hoạt tính chống oxy hóa giảm dần, hoạt tính chống oxy hóa đạt giá trị cao nhất khi thời gian siêu âm nằm trong khoảng từ 30 - 40 phút.

Hình 2c và bảng 3 thể hiện ảnh hưởng tương tác của công suất siêu âm và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu

khi thời gian siêu âm giữ ở mức tâm (40 phút). Tương tự như yếu tố thời gian siêu âm, hoạt tính chống oxy hóa tăng dần khi tỷ lệ dung môi/nguyên liệu tăng từ 30 - 40 mL/g và khi tỷ lệ dung môi/nguyên liệu tăng từ 40 - 50 mL/g thì hoạt tính chống oxy hóa có xu hướng giảm, hoạt tính chống oxy hóa đạt giá trị cao nhất khi tỷ lệ dung môi/nguyên liệu trong khoảng từ 35 - 45 mL/g.



Hình 2. Bề mặt đáp ứng của hoạt tính chống oxy hóa

3.4. Tối ưu hoá quá trình trích ly

Quá trình trích ly có hỗ trợ của sóng siêu âm nhằm thu được tối đa hàm lượng saponin triterpenoit tổng và hoạt tính chống oxy hóa từ cây Diệp hạ châu. Kết quả tối ưu hóa mô phỏng trên phần mềm Design-Expert® 7.0 cho thấy hàm lượng saponin triterpenoit tổng và hoạt tính chống oxy hóa dự đoán đạt giá trị cao nhất (lần lượt là 3,117 mg/g và 92,50%) khi công suất siêu âm 315,5 W, thời gian siêu âm 42,18 phút và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 41,51 mL/g. Tiến hành

thực nghiệm lại mô hình tối ưu tại các thông số phù hợp với công nghệ của thiết bị là công suất siêu âm 315 W, thời gian siêu âm 42 phút và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 41 mL/g, kết quả thu được như sau: hàm lượng saponin triterpenoit tổng là 3,02 ± 0,05 mg/g và hoạt tính chống oxy hóa đạt 92,1 ± 0,2%. Kết quả thực nghiệm lại cho thấy quy trình trích ly phù hợp với giá trị tối ưu của mô hình.

Bảng 4. Kết quả trích ly hàm lượng saponin triterpenoit tổng và hoạt tính chống oxy hóa từ cây Diệp hạ châu theo điều kiện tối ưu

Điều kiện tối ưu			Các hàm mục tiêu	Giá trị thực nghiệm* tại các thông số tối ưu
X ₁	X ₂	X ₃		
315 W	42 phút	41 mL/g	(Hàm lượng saponin triterpenoit tổng) Y ₁	3,02 ± 0,05 mg/g
			(Hoạt tính chống oxy hóa) Y ₂	92,1 ± 0,2%

Ghi chú: * Giá trị trung bình của ba lần thực nghiệm (n = 3).

4. KẾT LUẬN

Các điều kiện tối ưu của quá trình trích ly saponin triterpenoit tổng và hoạt tính chống oxy hóa từ cây Diệp hạ châu có sự hỗ trợ của sóng siêu âm là công suất siêu âm 315 W, thời gian siêu âm 42 phút và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 41 mL/g thu được dịch trích ly có hàm lượng saponin triterpenoit tổng đạt giá trị 3,02 ± 0,05 mg/g và hoạt tính chống oxy

hóa đạt 92,1 ± 0,2%. Khi sử dụng phương pháp trích ly trong dung môi nước, thời gian 12 giờ, nhiệt độ 60°C thu được dịch trích ly có hàm lượng saponin triterpenoit tổng đạt giá trị 2,62 ± 0,05 mg/g và hoạt tính chống oxy hóa đạt 80,1 ± 0,2%. Như vậy, quá trình trích ly có hỗ trợ của sóng siêu âm thu được hàm lượng saponin triterpenoit cao hơn so với phương pháp trích ly thông thường.

Các thông số tối ưu của quá trình trích ly đã được sử dụng để sản xuất sản phẩm cao dược liệu Diệp hạ châu có chứa các hoạt chất saponin triterpenoit và hoạt tính chống oxy hóa tại Công ty Cổ phần Dược liệu Pù Mát, Nghệ An.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Calixto, J. B., Santos, A. R. S., Cechinel, Filho.V., Yunes, R. A. (1998). A review of the plants of the Genus *Phyllanthus*: Their chemistry, pharmacology, and therapeutic potential. *Med Res Rev*, 18(4), 225-258.
2. Dong H., Gu W. (2001). Determination of soybean saponins using colorimetry, *China Oils and Fats*, 26 (3), 57-61.
3. Fu, H., Y. and Shieh, D., E. (2002). Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. *Journal of Food Lipid*, 9: 35-46.
4. Huang, S. T., Bi, K. W., Kuo, H. M. (2014). *Phyllanthus urinaria* induces mitochondrial dysfunction in humanvosteosarcoma 143B cells associated with modulation of mitochondrial fission/fusion proteins. *Mitochondrion*, 17, 22-33.
5. Jame J. M., Neethu P. C., Antony T. (2018). A comparative study of morpho-anatomical, fluorescent characteristics, phytochemical and antibacterial studies of two different *Phyllanthus* species of

- Kerala, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7 (4), 3225-3234.
6. Khatoon, S., Rai, V., Rawat, A. K. S., Mehrotra, S. (2005). Comparative pharmacognostic studies of three *Phyllanthus* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 104 (1-2), 79 - 86. doi:10.1016/j.jep.2005.08.048.
7. Kumar, S., Chandraa, P., Bajpaia, V. (2015). Rapid qualitative and quantitative analysis of bioactive compounds from *Phyllanthus amarus* using LC/MS/MS techniques. *Industrial Crops and Products*, 69, 143 - 152. doi:10.1016/j.indcrop.2015.02.012.
8. Park J. D., Rhee D. K., Lee Y. H. (2005). Biological activities and chemistry of saponins from *Panax ginseng* C. A. Meyer, *Phytochemistry Reviews*, 4, 159 -175.
9. Shen, B., Yu, J., Wang, S. (2008). *Phyllanthus urinaria* ameliorates the severity of nutritional steatohepatitis both *in vitro* and *in vivo*. *Hepatology*, 47 (2), 473-483.
10. Shibata S. (2001). Chemistry and cancer preventing activities of ginseng saponins and some related triterpenoid compounds, *Journal Korean Med Sci*, 16, 28 - 37.

OPTIMIZATION OF ULTRASONIC EXTRACTION PROCESS OF TOTAL SAPONIN TRITERPENOID AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES FROM *Phyllanthus urinaria*

Nguyen Tan Thanh^{1,*}, Nguyen Thi Huyen¹,
Nguyen Thi Uyen Nhi¹, Tran Van Ngọc²

¹School of Chemistry, Biology and Environment, Vinh University

²Department of Agriculture and Rural Development of Nghe An

Summary

This study aimed to optimize the ultrasonic extraction conditions for total saponins triterpenoit and antioxidant activity from *Phyllanthus urinaria* by response surface methodology (RSM). Experimental layout according to Box - Benhken design, has built an optimal model for the extraction process total saponins triterpenoit content (TSTC- Y_1) and antioxidant activity (DPPH- Y_2) with three factors: ultrasonic power (X_1), time extraction (X_2) and ratio of water raw material (X_3). Follow this model, the optimal parameter for extraction process to obtain the highest content of total saponins triterpenoit and antioxidant activity is ultrasonic power of 315 W, ultrasonic time of 42 mins and ratio of water to raw material of 41 mL/g. The experimental values of TSTC and DPPH were 3.02 ± 0.05 mg/g and $92.1 \pm 0.2\%$.

Keywords: *Phyllanthus urinaria*, saponin triterpenoit, antioxidant activity, response surface methodology, extraction.

Người phân biện: PGS.TS. Trần Như Khuyến

Ngày nhận bài: 5/11/2021

Ngày thông qua phân biện: 3/12/2021

Ngày duyệt đăng: 3/6/2022