

NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ CAO LÔNG HÀNH ĐEN  
GIÀU CYCLOALLIIN

Nguyễn Hồng Sơn<sup>1,2</sup>, Nguyễn Trọng Điệp<sup>1</sup>, Văn Khắc Tuyên<sup>2</sup>  
Nguyễn Thị Thủy<sup>3</sup>, Vũ Bình Dương<sup>1</sup>, Phạm Văn Hiến<sup>1\*</sup>

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Bào chế được cao lông hành đen giàu cycloalliin (CYC).  
**Phương pháp nghiên cứu:** Các thông số ảnh hưởng đến chiết xuất cao giàu CYC từ hành đen được khảo sát và lựa chọn. Áp dụng các thông số lựa chọn được để xây dựng quy trình chiết xuất 200 g/mẻ và đánh giá độ lặp lại của quy trình thông qua độ thu hồi CYC. **Kết quả:** Các thông số phù hợp của quá trình chiết xuất cao lông hành đen giàu CYC đã được khảo sát và lựa chọn. Các thông số đó bao gồm phương pháp chiết là chiết nóng, dung môi chiết là ethanol (EtOH) 50%, tỷ lệ dung môi/dược liệu là 20/1 (mL/g), số lần chiết là 2 lần, nhiệt độ chiết là 80°C, thời gian cho mỗi lần chiết là 120 phút. Áp dụng các thông số trên, nghiên cứu này đã xây dựng được quy trình chiết xuất cao lông hành đen quy mô 200 g/mẻ với hiệu suất thu hồi cycloalliin đạt  $90,3 \pm 0,6\%$ . **Kết luận:** Xây dựng thành công quy trình bào chế cao lông hành đen giàu CYC quy mô 200 g/mẻ.

**Từ khóa:** Hành đen; Cycloalliin; Cao lông.

STUDY ON THE PREPARATION OF CYCLOALLIIN-RICH LIQUID  
EXTRACTED FROM BLACK SHALLOT

**Abstract**

**Objectives:** To prepare cycloalliin-rich liquid extracted from black shallot.  
**Methods:** In-process parameters affecting the process of cycloalliin-rich liquid extraction were investigated and chosen. These parameters were applied to prepare

<sup>1</sup>Học viện Quân y

<sup>2</sup>Viện Y học Cổ truyền Quân đội

<sup>3</sup>Viện Kiểm nghiệm Nghiên cứu Dược và Trang thiết bị Y tế Quân đội, Cục Quân y

\*Tác giả liên hệ: Phạm Văn Hiến (phamvanhien181288@gmail.com)

Ngày nhận bài: 17/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 25/9/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.456>

the process of shallot liquid extraction at 200 g/lot scale and determine the repeatability via the recovery of CYC. **Results:** The suitable parameters of cycloalliin-rich liquid extracted from black shallot were investigated, including: Using a hot-extraction method at the temperature of 80°C, a solvent of 50% EtOH, a solvent-to-material ratio of 20/1 (mL/gram), two extraction times, and 120 minutes each time. From these parameters, an extraction process of black shallot at 200 g/lot scale was prepared with the recovery of CYC at  $90.3 \pm 0.6\%$ . **Conclusion:** An extraction process of cycloalliin-rich liquid extracted from black shallot at 200 g/lot scales was successfully established.

**Keywords:** Black shallot; Cycloalliin; Liquid extract.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, công nghệ lên men tự thân đã được ứng dụng rộng rãi để tạo ra các loại nguyên liệu có hàm lượng hoạt chất tăng nhiều lần hơn so với dược liệu nguyên bản ban đầu và tiềm năng hơn về tác dụng sinh học. Ở nước ta hiện nay, một số nguyên liệu được tạo ra từ công nghệ lên men tự thân như tỏi đen, hành đen, đang ngày càng đóng vai trò quan trọng hơn trong sản xuất các chế phẩm bảo vệ sức khỏe. Đáng chú ý, sau khi sản xuất thành công tỏi đen thì hành đen là một đối tượng nghiên cứu được quan tâm trong thời gian gần đây với thành phần hoá học và hoạt tính sinh học tiềm năng. Thành phần hoá học quan trọng trong hành đen là CYC [5, 6]. Đây là hợp chất thuộc nhóm organosulfua thường xuất hiện nhiều trong chi *Allium* thuộc họ Hành (Liliaceae). Trong đó, từ hợp chất ban đầu là L-cystein, trải qua một loạt các

quá trình chuyển hoá trong thực vật sẽ tạo ra isoalliin và cuối cùng là tạo thành CYC [3]. Đây được coi là hoạt chất chính quan trọng góp phần tạo ra nhiều tác dụng sinh học quý của hành đen [6, 7, 8].

Tuy nhiên, khác với tỏi đen, việc sử dụng hành đen để ăn trực tiếp như tỏi đen là không phổ biến do không tiện lợi, khó bóc. Do đó, hành đen cần được chiết xuất để chuyển dạng bào chế phù hợp. Xuất phát từ lý do trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Chiết xuất cao lỏng hành đen giàu hoạt chất CYC làm cơ sở cho việc bào chế các chế phẩm từ hành đen.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Nguyên liệu, dụng cụ, thiết bị

Hành đen đạt tiêu chuẩn cơ sở (TCCS) được sản xuất tại Trung tâm Nghiên cứu, Ứng dụng và Sản xuất Thuốc, Học viện Quân y vào tháng 9/2021.

Các thiết bị, dụng cụ bao gồm: Hệ thống sắc ký hiệu năng cao e2695 kết nối detector PDA Water 996; cột sắc ký Wakopak Wakosil 5NH2, kích thước cột 25 × 4,6mm, đường kính hạt nhồi 5 $\mu$ m; cân xác định độ ẩm tự động Adam AMB310; máy đo quang phổ hấp phụ nguyên tử AAS Analytik Jena; tủ sấy YDO 200; hệ thống chiết xuất, cô thu hồi dung môi DT-100S; và các dụng cụ thiết bị thường quy khác.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Xác định hàm lượng CYC trong hành đen:*

Định lượng CYC trong nguyên liệu hành đen bằng phương pháp HPLC theo công bố của Nguyễn Hồng Sơn và CS [2].

\* *Phương pháp nghiên cứu xây dựng quy trình bào chế cao lỏng hành đen:*

- Phương pháp khảo sát lựa chọn các thông số của quá trình chiết xuất:

+ Lựa chọn phương pháp chiết xuất: Khảo sát với hai phương pháp là chiết nóng và chiết siêu âm.

Chiết nóng: Cân khoảng 10g hành đen vào bình cầu dung tích 500mL, chiết bằng EtOH 50% ở 80°C với tỷ lệ dung môi/dược liệu (DM/DL) là 20/1 (mL/g) trong 120 phút. Sau đó, để lắng

tự nhiên, gạn thu lấy dịch chiết và lọc thu lấy dịch trong. Tập trung phần dịch gạn và dịch lọc để thu được dung dịch chiết duy nhất.

Chiết siêu âm: Cân khoảng 10g hành đen vào bình thuỷ tinh chuyên dụng của thiết bị chiết, thêm EtOH 50% với tỷ lệ DM/DL là 20/1 (mL/g) và chiết trong 120 phút. Sau khi chiết, xử lý thu dịch chiết như phần chiết nóng ở trên.

Chỉ tiêu đánh giá: Dựa vào hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu và hiệu suất chiết CYC.

Hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu được xác định dựa vào nồng độ cycloallin trong dịch chiết thu được, sử dụng phương pháp HPLC theo tài liệu tham khảo [2], cụ thể:

Điều kiện sắc ký: Cột Wakopak Wakosil 5NH2 (250 x 4,6mm, 5 $\mu$ m). Pha động là dung dịch H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,5% pha trong nước (A) và dung dịch H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,5% pha trong acetonitril (B) chạy theo chương trình gradient (0 - 5 phút: 16% A; 5 - 15 phút: 16 - 20% A; 15 - 20 phút: 20 - 16% A; 20 - 30 phút: 16% A). Tốc độ dòng pha động: 1,5 mL/phút. Thể tích tiêm mẫu: 10 $\mu$ L. Nhiệt độ cột: 40°C. Detector UV, bước sóng 210nm.

Mẫu chuẩn: Cân chính xác khoảng 50mg chuẩn cycloallin vào bình định mức 50mL, thêm khoảng 40mL ACN 50%, lắc siêu âm 10 phút để tan hoàn toàn. Để yên ở nhiệt độ phòng, bổ sung vừa đủ thể tích bằng ACN 50%, lắc đều thu được dung dịch chuẩn gốc CYC có nồng độ 1,0 mg/mL. Từ chuẩn gốc CYC 1,0 mg/mL, tiến hành pha loãng bằng acetonitril 50% để thu được các dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ 5 - 100 µg/mL.

Mẫu thử: Hút chính xác khoảng 1,0mL cao lỏng hành đen cho vào bình định mức 100mL, bổ sung MeOH vừa đủ, lắc đều. Hút chính xác 1,0mL dung dịch này pha loãng 50 lần, lọc qua màng lọc 0,45µm để tiêm sắc ký HPLC.

Hàm lượng CYC biểu kiến (H) được tính toán dựa vào hàm lượng CYC trong dịch chiết được xác định theo công thức:  $H \text{ (mg/g)} = (C \times V \times 100) / (m \times (100-a))$ . Với C là nồng độ CYC trong dịch chiết (mg/mL); V là thể tích dịch chiết thu được (mL); m là khối lượng cân của dược liệu (g); a là độ ẩm của hành đen (%).

Hiệu suất chiết cycloallin từ hành đen được xác định là tỷ lệ phần trăm của lượng CYC chiết được/lượng CYC trong dược liệu.

+ Khảo sát lựa chọn các thông số của quá trình chiết xuất:

Sử dụng phương pháp chiết đã lựa chọn được ở trên để tiếp tục nghiên cứu lựa chọn thông số của quá trình chiết bao gồm: Loại dung môi, tỷ lệ DM/DL, số lần chiết, nhiệt độ chiết và thời gian chiết. Cân khoảng 10g hành đen vào bình cầu, chiết với các dung môi khác nhau gồm EtOH có nồng độ từ 30 - 90%, tỷ lệ dung môi/dược liệu từ 10/1-25/1 (mL/g), số lần chiết từ 1 - 3 lần, nhiệt độ chiết từ 60°C - 90°C, thời gian chiết từ 90 - 150 phút/lần. Đối với mỗi khảo sát sau khi lựa chọn được thông số phù hợp sẽ cố định thông số đó để tiếp tục khảo sát các thông số tiếp theo.

Chỉ tiêu đánh giá: Dựa vào hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu và hiệu suất chiết CYC như phần *Khảo sát lựa chọn phương pháp chiết xuất*.

\* *Đánh giá độ ổn định của quy trình chiết xuất:*

Từ các thông số đã khảo sát được, đánh giá độ ổn định và lặp lại của quy trình chiết trên 3 mẻ quy mô 200 g/mẻ.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Kết quả định lượng CYC trong nguyên liệu hành đen đầu vào

Định lượng 5 mẫu hành đen cho thấy hàm lượng CYC là  $80,86 \pm 1,30$  mg/g tính theo khối lượng khô kiệt. Độ ẩm của dược liệu là 24,66%.

## 2. Kết quả nghiên cứu khảo sát các thông số quá trình chiết xuất

\* *Khảo sát lựa chọn phương pháp chiết xuất:*

Khảo sát với hai phương pháp: Chiết nóng và siêu âm. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của phương pháp chiết đến hiệu suất chiết CYC ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 5).

Phương pháp chiết	Hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết CYC (%)
Chiết nóng	54,52 ± 1,05	67,43 ± 1,29
Chiết siêu âm	42,91 ± 0,80	53,06 ± 0,98

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, với phương pháp chiết nóng, lượng CYC chiết được và hiệu suất chiết CYC đều cao hơn hẳn so với phương pháp chiết siêu âm. Ngoài ra, theo thực tế quan sát được, phương pháp chiết siêu âm có xu hướng chiết thêm nhiều tạp, đặc biệt là các tạp ở dạng chất nhầy. Vì vậy, lựa chọn phương pháp chiết nóng để khảo sát các thông số của quy trình chiết xuất.

\* *Khảo sát lựa chọn các thông số của quá trình chiết xuất:*

- Khảo sát ảnh hưởng của loại dung môi:

Sử dụng phương pháp chiết nóng ở nhiệt độ 80°C để chiết xuất cao lỏng hành đen. Tỷ lệ DM/DL là 20/1 (g/mL), chiết 1 lần trong 120 phút. Khảo sát với các dung môi chiết gồm nước và EtOH có nồng độ khác nhau. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của dung môi đến chiết xuất CYC ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 5).

Dung môi chiết	Hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết CYC (%)
Nước	23,89 ± 0,33	29,54 ± 0,41
EtOH 30%	27,18 ± 0,70	33,61 ± 0,87
EtOH 50%	54,58 ± 1,55	67,51 ± 1,91
EtOH 70%	54,77 ± 0,97	67,74 ± 1,20
EtOH 90%	22,71 ± 0,88	28,08 ± 1,09

Kết quả từ bảng 2 cho thấy, loại dung môi chiết ảnh hưởng trực tiếp đến hàm lượng hoạt chất thu được và hiệu suất chiết xuất CYC. Khi sử dụng dung môi chiết là nước, cho hiệu suất chiết thu được là thấp nhất. Khi sử dụng EtOH với các nồng độ khác nhau thì hiệu suất chiết CYC thu được cũng khác nhau. Trong khoảng nồng độ từ 30% - 70%, hiệu suất chiết có xu hướng tăng đồng biến với nồng độ EtOH. Tuy nhiên, với nồng độ EtOH là 50% và 70% thì hiệu suất thu được khác nhau không đáng kể. Kết quả thu được cũng cho thấy, khi sử dụng EtOH 90%, thì lượng CYC thu được và hiệu suất chiết giảm đi đáng kể ( $28,08 \pm 1,09\%$ ). Điều này có thể do khi tăng nồng độ EtOH lên quá cao sẽ xảy ra hiện tượng đông vón các protein, gây

khó khăn cho quá trình khuếch tán hoạt chất ra khỏi màng tế bào. Điều này đã được chứng minh qua nhiều nghiên cứu.

Từ các kết quả trên, với tiêu chí là lựa chọn dung môi thân thiện, không độc hại và dễ ứng dụng khi nâng cấp quy mô, nghiên cứu này lựa chọn dung môi chiết xuất là EtOH 50% để tiếp tục khảo sát các thông số tiếp theo.

- Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/dược liệu:

Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ DM/DL từ 10/1-30/1 (mL/g). Các thông số chiết xuất cố định gồm: Phương pháp chiết là chiết nóng, nhiệt độ chiết  $80^{\circ}\text{C}$ , thời gian chiết 120 phút, chiết 1 lần, dung môi chiết là EtOH 50%. Kết quả khảo sát được trình bày ở bảng 3.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của tỷ lệ DM/DL đến chiết xuất CYC ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ , n = 5).

Tỷ lệ DM/DL (mL/g)	Hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết CYC (%)
10/1	$23,27 \pm 0,74$	$28,78 \pm 0,92$
15/1	$32,27 \pm 1,14$	$39,91 \pm 1,41$
20/1	$54,49 \pm 1,47$	$67,39 \pm 1,81$
25/1	$58,35 \pm 2,40$	$72,17 \pm 2,97$
30/1	$59,11 \pm 2,37$	$73,10 \pm 2,94$

Kết quả từ bảng 3 cho thấy, tỷ lệ DM/DL ảnh hưởng trực tiếp đến lượng CYC thu được và hiệu suất chiết hoạt chất này. Theo xu hướng chung, khi tăng lượng

dung môi chiết, tỷ lệ DM/DL tăng thì hiệu suất chiết cycloallin tăng. Tuy nhiên, với các tỷ lệ DM/DL từ 20/1 - 30/1, khi tăng lượng dung môi chiết thì hiệu suất tăng lên không đáng kể. Bên cạnh đó, khi tăng lượng dung môi chiết sẽ tăng chi phí của quá trình chiết xuất do tiêu tốn nhiều dung môi, tiêu tốn năng lượng cần thiết cho quá trình cô cao ở giai đoạn sau. Vì vậy, tỷ lệ DM/DL để chiết xuất cao lỏng hành đen giàu CYC được lựa chọn là 20/1.

- Kết quả khảo sát ảnh hưởng của số lần chiết:

Thực hiện chiết xuất cao lỏng hành đen, khảo sát số lần chiết xuất từ 1 - 3 lần. Các thông số quá trình được cố định gồm: Phương pháp chiết nóng ở nhiệt độ 80°C, thời gian chiết là 120 phút/lần, dung môi chiết là EtOH 50%, tỷ lệ dung môi/dược liệu là 20/1 (mL/g). Kết quả được trình bày ở bảng 4.

**Bảng 4.** Kết quả khảo sát ảnh hưởng của số lần chiết đến chiết xuất CYC ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 5).

Số lần chiết (lần)	Hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết CYC (%)
1	54,86 ± 2,13	67,85 ± 2,63
2	71,09 ± 2,24	87,92 ± 2,77
3	73,95 ± 1,71	91,47 ± 2,12

Kết quả bảng 4 cho thấy, số lần chiết ảnh hưởng đến lượng CYC thu được và hiệu suất chiết hoạt chất này. Khi chiết xuất một lần duy nhất, quá trình chiết xuất chưa chiết kiệt được hoạt chất, dẫn đến hiệu suất thu hồi hoạt chất thấp (67,85 ± 2,63%). Khi tăng số lần chiết thì hiệu suất chiết CYC tăng lên đáng kể. Tuy nhiên, khi tăng số lần chiết từ 2 lần lên 3 lần thì hiệu suất chiết hoạt chất này tăng lên không đáng kể. Nhằm tiết kiệm thời gian, chi phí (do tiêu tốn dung môi, năng lượng), lựa chọn số lần chiết là 2 lần để thực hiện các khảo sát tiếp theo.

- Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ chiết:

Khảo sát các nhiệt độ chiết xuất trong khoảng từ 60 - 90°C. Các thông số quy trình được cố định gồm: Phương pháp chiết là chiết nóng, số lần chiết là 2 lần,

dung môi chiết là EtOH 50%, tỷ lệ DM/DL là 20/1 (mL/g). Kết quả được trình bày ở bảng 5.

**Bảng 5.** Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến chiết xuất CYC ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 5).

Nhiệt độ chiết (°C)	Hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết CYC (%)
60	56,64 ± 2,04	70,05 ± 2,52
70	66,49 ± 1,88	82,24 ± 2,32
80	70,84 ± 2,03	87,61 ± 2,51
90	69,32 ± 2,55	85,73 ± 3,15

Kết quả từ bảng 5 cho thấy nhiệt độ chiết ảnh hưởng đến lượng CYC thu được và hiệu suất chiết xuất. Trong khoảng 60 - 80°C, khi tăng nhiệt độ chiết thì hiệu suất chiết CYC có xu hướng tăng lên và đạt mức cao nhất ở 80°C (87,61%). Khi tăng nhiệt độ lên 90°C thì hiệu suất chiết CYC có xu hướng giảm xuống. Vì vậy, lựa chọn nhiệt độ chiết xuất cao lỏng hành đen giàu CYC là 80°C.

- Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết:

Thực hiện chiết xuất trong các khoảng thời gian chiết từ 90 - 150 phút. Các thông số quy trình cố định gồm: Phương pháp chiết nóng ở 80°C, chiết 2 lần với dung môi EtOH 50%, tỷ lệ DM/DL là 20/1 (mL/g). Kết quả được trình bày ở bảng 6.

**Bảng 6.** Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết đến chiết xuất CYC từ hành đen ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 5).

Thời gian mỗi lần chiết	Hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết CYC (%)
90 phút	52,67 ± 1,93	65,14 ± 2,39
120 phút	70,90 ± 1,83	87,68 ± 2,27
150 phút	71,40 ± 2,33	88,30 ± 2,88

Kết quả bảng 6 cho thấy, thời gian chiết xuất ảnh hưởng đến lượng CYC thu được và hiệu suất chiết xuất. Nhìn chung, khi tăng thời gian chiết thì lượng CYC



thu được và hiệu suất chiết đều tăng lên. Khi chiết trong 90 phút, lượng CYC và hiệu suất chiết đạt được ở mức thấp ( $65,14 \pm 2,39\%$ ), chứng tỏ thời gian chiết này chưa chiết kiệt được hoạt chất. Khi tăng thời gian chiết lên từ 120 - 150 phút thì hiệu suất chiết tăng lên đáng kể. Kết quả thực nghiệm trên cũng cho thấy, sự khác biệt về lượng CYC thu được và hiệu suất chiết thay đổi không đáng kể khi chiết ở 120 phút/lần và 150 phút/lần (hiệu suất  $87,68 \pm 2,27\%$  so với  $88,30 \pm 2,88\%$ ). Vì vậy, nhằm tiết kiệm thời gian, và chi phí năng lượng, lựa chọn thời gian chiết cho mỗi lần là 120 phút đối với chiết xuất cao lỏng hành đen giàu CYC.

\* *Kết quả đánh giá độ ổn định của quy trình chiết xuất:*

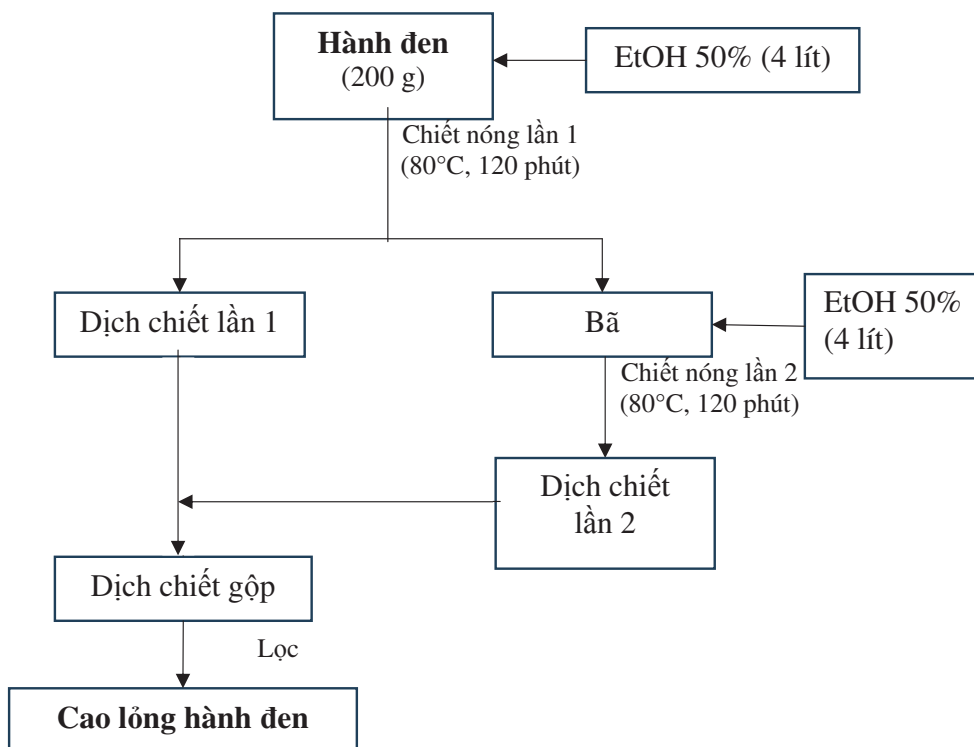
Từ các thông số đã khảo sát lựa chọn được ở trên, áp dụng để xây dựng quy trình chiết xuất ở quy mô 200g dược liệu/mẻ. Đánh giá độ lặp lại của quy trình trên 3 mẻ chiết khác nhau. Kết quả được trình bày như bảng 7.

**Bảng 7.** Kết quả đánh giá độ lặp lại của quy trình chiết xuất hành đen giàu CYC quy mô 200 g/mẻ.

Mẻ	Khối lượng dược liệu (g)	Hàm ẩm dược liệu (%)	Lượng dịch chiết thu được (lít)	Nồng độ CYC trong dịch chiết (mg/mL)	Hiệu suất chiết CYC (%)
1	200,5	24,66	7,8	13,36	89,6
2	202,1	-	7,8	13,6	90,5
3	204,5	-	7,7	13,98	90,7
$\bar{X} \pm SD$					90,3 $\pm$ 0,6

Kết quả từ Bảng 7 cho thấy, hiệu suất chiết CYC đối với quy trình 200g dược liệu/mẻ đạt từ 89,6 - 90,7%. Điều này chứng tỏ quy trình chiết xây dựng là lặp lại

và ổn định. Từ các kết quả khảo sát ở trên, quy trình chiết xuất cao lỏng giàu CYC quy mô 200g dược liệu/mẻ được đưa ra như sau:



**Hình 1.** Sơ đồ quy trình chiết xuất hành đen quy mô 200 g/mẻ.

Cân khoảng 200g hành đen cho vào túi lưới có kích thước mắt lưới khoảng 500 x 500mm và chuyển vào thiết bị chiết nóng dung tích 30L có cánh khuấy, có kết nối bộ phận làm lạnh và bộ lọc hút chân không. Thêm 4L EtOH 50%, chiết nóng ở nhiệt độ 80°C trong 120 phút, tốc độ khuấy trộn 45 vòng/phút. Sau đó, sử dụng bộ lọc hút chân không của thiết bị lọc để tách riêng phần dịch chiết và phần bã. Bã trong nồi chiết được thêm tiếp 4L EtOH 50% và chiết tiếp như lần 1. Sau khi chiết, lọc tiếp phần hỗn hợp để thu được dịch chiết gộp. Dịch chiết này được kiểm tra hàm lượng và đánh giá một số chỉ tiêu cảm quan trước khi chuyển sang giai đoạn bào chế tiếp theo.

## BÀN LUẬN

### 1. Chuẩn hoá nguyên liệu hành đen đầu vào của quá trình chiết xuất

Hành đen là loại dược liệu mới, chưa có chuyên luận trong Dược điển Việt Nam V; do đó, việc chuẩn hoá nguyên liệu hành đen đầu vào của quá trình chiết xuất là cần thiết. Nguyên liệu hành đen sử dụng trong nghiên cứu là nguyên liệu đã chuẩn hoá đạt TCCS (nội dung xây dựng TCCS của hành đen đã được thực hiện trước đó). Trong nghiên cứu này, hàm lượng CYC trong hành đen được xác định bằng phương pháp HPLC để có căn cứ đánh giá hiệu suất chiết xuất hoạt chất này từ nguyên liệu ban đầu.

### 2. Điều chế cao lỏng hành đen giàu CYC

Có thể sử dụng nhiều phương pháp để chiết xuất cao lỏng hành đen. Tuy nhiên, cần có khảo sát để lựa chọn phương pháp phù hợp, kinh tế và có khả năng nâng cấp lô mẻ hướng tới sản xuất công nghiệp.

Hiện nay, có nhiều phương pháp được ứng dụng trong chiết xuất như sử dụng sóng siêu âm, sóng viba, chiết dưới áp lực cao, chiết siêu tới hạn,... Trong đó, chiết siêu âm đã và đang được ứng dụng rộng rãi ở quy mô phòng thí nghiệm đến công nghiệp, áp

dụng thành công chiết xuất nhiều hoạt chất từ thực vật như: alcaloid, ginsenosid, phenolic, flavonoid, polysaccharid, protein và tinh dầu. Như trong nghiên cứu của Trần Phương Chi và CS đã tối ưu hóa phương pháp chiết siêu âm các hợp chất chống oxy hóa trong hành đen bằng phương pháp siêu âm dựa vào kết quả tối ưu hoá theo mô hình bề mặt đáp ứng Box-behken [9]. Tuy nhiên, phương pháp này có nhược điểm là yêu cầu máy móc, thiết bị phức tạp và khó nâng cấp quy mô sản xuất. Vì vậy, nghiên cứu này thử nghiệm với hai phương pháp chiết nóng và chiết siêu âm để khắc phục các hạn chế trên, nhằm đưa ra một quy trình chiết xuất tối giản các thiết bị, dễ triển khai. Kết quả từ nghiên cứu này cho thấy phương pháp chiết nóng cho hiệu suất chiết CYC cao hơn so với chiết siêu âm. Đây là một điểm khác biệt so với nhiều nghiên cứu khác (thông thường, chiết siêu âm cho hiệu suất cao). Mặt khác, khi sử dụng phương pháp chiết nóng xu hướng chung sẽ hạn chế được nhiều tạp hơn so với chiết siêu âm.

*\* Ảnh hưởng của loại dung môi chiết:*

Dung môi chiết là một yếu tố quan trọng trong chiết xuất hoạt chất từ dược liệu, đặc biệt là trong bào chế để sản xuất các bán thành phẩm và thành

phẩm phục vụ chăm sóc, bảo vệ sức khoẻ. Dung môi đóng vai trò hoà tan hoạt chất, đưa hoạt chất ra khỏi dược liệu. Bản chất của dung môi quyết định nhiều đến hiệu suất chiết xuất các hoạt chất. Nếu lựa chọn dung môi không tốt thì có thể chiết không kiệt hoạt chất hoặc có chứa các tạp chất, ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Trong chiết xuất công nghiệp, dung môi chiết xuất lựa chọn cần phải thân thiện với môi trường, không hoặc có rất ít tác dụng phụ ảnh hưởng tới sức khoẻ, kinh tế. Chính vì thế, các công nghệ chiết xuất xanh là ưu tiên lựa chọn hàng đầu. Trong chiết xuất có sử dụng dung môi thường ưu tiên dung môi nước hoặc cồn EtOH. Do đó, nghiên cứu này khảo sát dung môi chiết là nước và các dung môi EtOH với nồng độ khác nhau từ 30 - 90%. Nghiên cứu này xác định được dung môi phù hợp nhất là EtOH 50%. Điều này là phù hợp với nhiều nghiên cứu chiết xuất công nghiệp vì khi sử dụng nồng độ EtOH quá cao sẽ hạn chế quá trình khuếch tán chất tan vào dung môi do dễ gây đông vón protein, nếu nồng độ cồn quá thấp hiệu quả chiết xuất thường không cao do bản chất CYC và nhiều hoạt chất khác là ít tan trong nước.

*\* Ảnh hưởng của tỷ lệ DM/DL và số lần chiết:*

Khi tăng tỷ lệ DM/DL sẽ thường làm tăng hiệu suất chiết hiện tượng pha loãng nồng độ. Tuy nhiên, việc tăng tỷ lệ DM/DL sẽ tốn dung môi, dịch chiết cần thu hồi dung môi và do đó sẽ tiêu tốn năng lượng, thậm chí làm suy giảm hàm lượng hoạt chất đối với các hoạt chất kém bền trong môi trường nhiệt, ẩm. Ngược lại, nếu tỷ lệ DM/DL quá thấp sẽ không chiết kiệt được hoạt chất. Do vậy, cần nghiên cứu xác định tỷ lệ DM/DL thích hợp. Nghiên cứu này lựa chọn được tỷ lệ DM/DL là 20/1 (mL/g) là phù hợp với thực tế khi chiết xuất ở quy mô nhỏ. Tuy nhiên, khi nâng cấp lên quy mô công nghiệp, tỷ lệ DM/DL cần được đánh giá một cách thận trọng để giảm chi phí, hạ giá thành sản xuất.

*\* Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết:*

Khi nhiệt độ tăng lên thì chuyển động nhiệt (hay còn gọi là chuyển động Brown) tăng lên. Hiệu suất của quá trình chiết xuất hoạt chất phụ thuộc vào mức độ khuếch tán, sự chênh lệch nồng độ của các lớp dung môi liền kề nhau. Khi tăng nhiệt độ chiết sẽ làm tăng chuyển động Brown, làm tăng khả năng hoà tan, khuếch tán và do đó tăng hiệu suất chiết xuất. Ngoài ra, khi nhiệt độ tăng thì độ nhớt của dung môi giảm, quá trình chiết xuất được thực hiện dễ dàng hơn. Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ

lên ở mức quá cao, sẽ dễ gây phân huỷ các hoạt chất, đặc biệt là các hoạt chất kém bền với ẩm và nhiệt. Vì vậy, việc lựa chọn nhiệt độ chiết xuất phù hợp là quan trọng để đảm bảo chiết kiệt hoạt chất nhưng không làm phân huỷ chúng. Nghiên cứu này cho thấy, chiết nóng ở nhiệt độ 80°C là phù hợp để chiết xuất cao lỏng giàu CYC từ hành đen. Điều này là tương tự như chiết xuất CYC từ tỏi [4].

*\* Ảnh hưởng của thời gian chiết:*

Thời gian chiết cần được đánh giá trong nghiên cứu xây dựng quy trình chiết xuất hoạt chất từ dược liệu nhằm giảm tiêu tốn năng lượng, giảm chi phí, đồng thời giúp hạn chế việc phân huỷ hoạt chất do giảm thời gian chịu tác động của môi trường nhiệt ẩm trong suốt quá trình chiết. Nghiên cứu này lựa chọn được thời gian cho mỗi lần chiết là 120 phút. Đây là khoảng thời gian phù hợp để thu được hiệu suất chiết CYC từ hành đen ở mức cao, làm cơ sở cho các khảo sát ở các quy mô chiết xuất lớn hơn hướng tới quy mô công nghiệp.

Tóm lại, trong nghiên cứu này, các thông số ảnh hưởng đến chiết xuất cao lỏng hành đen giàu CYC đã được nghiên cứu khảo sát. Từ các thông số đã khảo sát, xây dựng được quy trình chiết xuất hành đen quy mô 200 g/mẻ. Đánh giá trên 3 mẻ chiết ở quy mô này cho thấy quy trình là lặp lại và ổn định.

## KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã lựa chọn được các điều kiện chiết phù hợp để chiết xuất cao lỏng giàu CYC từ hành đen. Các thông số lựa chọn bao gồm: Sử dụng phương pháp chiết nóng ở nhiệt độ 80°C với EtOH 50%, tỷ lệ dung môi/dược liệu là 20/1 (mL/g), chiết 2 lần, thời gian cho mỗi lần chiết là 120 phút. Từ các thông số này, nghiên cứu đã xây dựng thành công quy trình chiết xuất cao lỏng hành đen giàu CYC quy mô 200 g/mẻ với hiệu suất thu hồi CYC đạt  $90,3 \pm 0,6\%$ .

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế. *Dược điển Việt Nam V*. Nhà xuất bản Hà Nội. 2018.
2. Nguyễn Hồng Sơn và CS. Nghiên cứu định lượng cycloalliin trong hành đen bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao. *Tạp chí Dược học*. 2020; 529(60): 69-74.
3. Kim S, et al. Change in organosulfur compounds in onion (*Allium cepa* L.) during heat treatment. *Food Science and Biotechnology*. 2016; 25:115-119.
4. Lee HJ, et al. Optimization of extraction of cycloalliin from garlic (*Allium sativum* L.) by using principal components analysis. *Preventive Nutrition and Food Science*. 2016; 21(2):138.

5. Moreno-Ortega A, et al. Changes in the Organosulfur and Polyphenol Compound Profiles of Black and Fresh Onion during Simulated Gastrointestinal Digestion. *Foods*. 2021; 10(2):337.
6. Nguyen Hong Son, et al. Study on preparation of black shallot dried extracts by spray drying method. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*. 2022; 5:167-180.
7. Tran GB and Ngo TTM. Hepatoprotective effect of black shallot (*Allium ascalonicum*) against alcohol-induced hepatic damage in Swiss albino mice. *The 2<sup>nd</sup> International Conference on Advanced Technology & Sustainable Development (ICATSD 2022)*. 2022:5-13.
8. Tran GB, et al. Chemical composition and antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer effects of ethanol extract of black shallot (*Allium ascalonicum*). *Pharmacophore*. 2013; 11:30-37.
9. Tran Phuong Chi, Bui Thi Trang, and Nguyen Thi Nu Trinh. Optimization of Ultrasonic-Assisted Extractions of Antioxidant Compounds in Black Shallots (*Allium ascalonicum*) from Vietnam using Response Surface Methodology. *Malaysian Journal of Chemistry*. 2022; 24(1):26-35.