

Bài báo nghiên cứu

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT CAO CHIẾT GIÁO CỔ LAM
(*Gynostemma pentaphyllum*) BẰNG CO₂ SIÊU TỚI HẠNNguyễn Châu Anh*, Phạm Quang Thắng, Trương Quỳnh Trâm,
Vũ Thị Thu Thảo, Đặng Thị Yến Thu, Phạm Thị Hà Vân

Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Châu Anh – Email: nguyenchauanh870@gmail.com

Ngày nhận bài: 21-10-2023; ngày nhận bài sửa: 02-01-2024; ngày duyệt đăng: 07-01-2024

TÓM TẮT

Nghiên cứu sản xuất cao chiết giáo cổ lam bằng phương pháp chiết CO₂ siêu tới hạn nhằm đa dạng hóa sản phẩm dược liệu hỗ trợ điều trị bệnh, nâng cao sức khỏe con người. Nguyên liệu sấy lạnh ở nhiệt độ $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$, đạt độ ẩm 9% và tối ưu quá trình chiết cao ở nhiệt độ 50°C , áp suất 300,5 bar, lưu lượng CO₂ 300 lít/giờ trong 120 phút được cao chiết có hàm lượng saponin cao ($14,00 \pm 0,02\%$). Khả năng bắt gốc tự do DPPH, hydroxyl, ức chế tạo phức Fe²⁺ của cao chiết có giá trị IC₅₀ lần lượt $0,38 \pm 0,01$ mg/ml, $1,57 \pm 0,07$ mg/ml, $1,16 \pm 0,05$ mg/ml. Sản phẩm cao chiết giáo cổ lam có độ biến đổi màu sắc thấp, giữ được hương vị đặc trưng và dược chất (saponin và polyphenol) tốt trong thời gian bảo quản 3 tháng ở nhiệt độ phòng ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$, độ ẩm $60 \pm 5\%$).

Từ khóa: sấy lạnh; giáo cổ lam; chiết CO₂ siêu tới hạn

1. Giới thiệu

Giáo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum*) là loài dược liệu quý được dân gian sử dụng trong điều trị bệnh đái tháo đường, ung thư, giúp giảm stress, điều hòa giấc ngủ. Thành phần hóa học của giáo cổ lam bao gồm saponin, flavonoid, polysaccharide, polyphenol... có hoạt tính kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, ức chế α -glucosidase và lipase (Tong et al., 2017). Hiện nay người dân thu hái giáo cổ lam và sơ chế bằng cách rửa qua nước hoặc thậm chí không rửa, phơi khô thủ công dùng uống trực tiếp (Nguyen et al., 2020). Ngoài ra, tại Việt Nam gần như chưa có các nghiên cứu các sản phẩm chế biến từ giáo cổ lam (trà túi lọc và cao chiết) trong khi thị trường tiêu thụ rất lớn. Nghiên cứu này nhằm đánh giá hoạt chất sinh học nổi bật của dược liệu và tạo ra sản phẩm cao chiết giáo cổ lam bằng phương pháp chiết siêu tới hạn CO₂ để phục vụ cho sức khỏe con người, đa dạng thêm sản phẩm trên thị trường.

Cite this article as: Nguyen Chau Anh, Pham Quang Thang, Truong Quynh Tram, Vu Thi Thu Thao, Dang Thi Yen Thu, & Pham Thi Ha Van (2024). A study on producing supercritical CO₂ extraction from jiaogulan (*Gynostemma pentaphyllum*). *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 21(1), 139-149.

Sấy là quá trình sử dụng nhiệt làm giảm hàm lượng ẩm có trong nguyên liệu, dựa trên sự chênh lệch áp suất hơi riêng phần của nước trên bề mặt nguyên liệu và môi trường xung quanh (Lai & Nguyen, 2016). Phương pháp sấy lạnh (sấy bơm nhiệt) sử dụng tác nhân không khí khô ở nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ sấy thông thường, dải nhiệt độ sấy từ 10-65°C, độ ẩm không khí sấy dưới 40%. Ưu điểm của phương pháp này có tốc độ sấy nhanh, bởi không khí sấy đưa vào buồng sấy rất khô nên giữ được chất lượng nguyên liệu (thoát ẩm tốt hơn, giữ được màu sắc đẹp, tiêu hao năng lượng thấp) so với phương pháp sấy nhiệt (Prasertsan & Saensaby, 2010; Chien et al., 2014).

Kỹ thuật chiết CO₂ siêu tới hạn (supercritical CO₂ extraction) là phương pháp trích li các hợp chất ra khỏi thực vật nhằm thu nhận trọn vẹn các hợp chất. So với các phương pháp chiết cao thông dụng hiện nay, kỹ thuật chiết CO₂ siêu tới hạn được chú trọng bởi khả năng tiết kiệm dung môi, thân thiện môi trường, giảm thiểu thời gian xử lý dịch sau trích li. Trạng thái siêu tới hạn hình thành khi nhiệt độ và áp suất vượt quá điểm tới hạn (critical point) tại điểm cân bằng lỏng hơi; khi đó tỉ trọng của pha lỏng và pha hơi bằng nhau, không có sự phân biệt giữa hai pha (Sihvonen et al., 1999). Chất lỏng siêu tới hạn có khả năng khuếch tán và thấm vào bên trong mẫu nhiều hơn, có sự chọn lọc cao đối với hợp chất cần chiết và phù hợp với các chất nhạy với nhiệt độ. Ngoài ra, sự trích li của chất lỏng siêu tới hạn chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố như nhiệt độ, áp suất, lưu lượng CO₂, dòng dung môi bổ sung, độ ẩm có trong nguyên liệu khi chiết (Khaw et al., 2017). Ứng dụng kỹ thuật chiết này được sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực y học, thực phẩm, công nghiệp hóa mỹ phẩm...

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Giảo cổ lam được trồng và chăm sóc theo tiêu chuẩn Vietgap tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao. Sau 5 tháng kể từ ngày trồng, giảo cổ lam sẽ được thu hoạch toàn cây và chỉ để lại phần gốc cách mặt đất khoảng 25-30cm. Sau đó nguyên liệu được đặt vào khay nhựa kích thước (850 x 630 x 525 mm), khối lượng 5 kg/khay và bảo quản ở nhiệt độ của kho trữ lạnh $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, độ ẩm $80 \pm 5\%$. Nguyên liệu được làm sạch bằng nước có sục khí ozone trong 10 phút, để ráo ở nhiệt độ phòng ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$, độ ẩm $60 \pm 5\%$), cắt khúc với kích thước 4-5 cm để sản xuất trà và cao chiết (Hình 1).



Hình 1. Nguyên liệu giảo cổ lam sau khi thu hoạch và rửa sạch

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Nguyên liệu giã nhỏ được sấy lạnh với thông số kỹ thuật: nhiệt độ sấy $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$; độ ẩm = 5%; thời gian sấy 25 giờ; mật độ nguyên liệu trên khay sấy 2 kg/m^2 cho đến khi nguyên liệu đạt độ ẩm $\leq 9\%$.

- Phương pháp tối ưu các yếu tố tách chiết cao theo Central Composite Design với thông số chiết tối ưu ở nhiệt độ 50°C , áp suất 300,5 bar, lưu lượng CO_2 300 lít/giờ, thời gian là 120 phút bằng hệ thống CO_2 siêu tới hạn thu được cao chiết có hàm lượng saponin cao.

- Xác định khả năng bắt gốc DPPH: các chất kháng oxy hoá có khả năng trung hoà gốc DPPH tự do tạo thành sản phẩm khử DPPH-H, dung dịch đồng thời sẽ chuyển từ màu tím sang màu vàng cam. Hòa tan cao chiết trong ethanol tuyệt đối có bổ sung 5% DMSO (dimethyl sulfoxide) với nồng độ 2000 $\mu\text{g/ml}$, sau đó pha loãng với các nồng độ khác nhau. Hút 0,3 ml dung dịch cao chiết ở mỗi nồng độ và 1,8 ml ethanol tuyệt đối vào ống nghiệm; tiếp tục thêm dung dịch DPPH 0,6 mM (hòa tan trong ethanol tuyệt đối), lắc đều, ủ trong tối, sau 30 phút đo giá trị hấp thụ ở bước sóng 517 nm (Tong et al., 2017).

Phần trăm bắt gốc DPPH được tính theo công thức:

$$S(\%) = \frac{A_c - (A_s - A_b)}{A_c} \times 100$$

trong đó A_c : Mật độ quang của ống không

A_s : Mật độ quang của mẫu

A_b : Mật độ quang của mẫu trắng.

- Xác định khả năng bắt gốc tự do hydroxyl: Sự hình thành gốc tự do hydroxyl dựa trên phản ứng Fenton phụ thuộc vào hydrogen peroxide. Quá trình xảy ra phản ứng thông qua giai đoạn sinh ra gốc tự do và nó kết hợp với natrisalicylate tạo phức màu. Dựa trên phương pháp Wang et al., (2019) và có cải biến; chất kháng oxy hóa sẽ tác dụng phức hợp màu và làm giảm màu của nó. Hòa tan cao chiết trong nước có bổ sung 5% DMSO (dimethyl sulfoxide) với nồng độ 2000 $\mu\text{g/ml}$, sau đó pha loãng với các nồng độ khác nhau. Hút 0,2 ml dung dịch FeSO_4 3 mM vào ống nghiệm; tiếp tục thêm 0,07 ml dung dịch H_2O_2 3 mM và 0,06 ml natrisalicylate 40 mM; cuối cùng cho 0,2 ml dung dịch cao chiết ở mỗi nồng độ; lắc đều, ủ trong tối, sau 60 phút đo giá trị hấp thụ ở bước sóng 562 nm.

Phần trăm bắt gốc tự do hydroxyl được tính theo công thức:

$$S(\%) = 1 - \frac{(A_1 - A_2)}{(A_0 - A_{0,2})} \times 100$$

trong đó,

A_0 : giá trị OD của hỗn hợp phản ứng nhưng không có mẫu phân tích (ống không)

A_1 : giá trị OD của hỗn hợp phản ứng chứa mẫu phân tích (ống mẫu)

A_2 : giá trị OD của hỗn hợp phản ứng nhưng không chứa natrisalicylate (ống trắng của ống mẫu)

$A_{0,2}$: giá trị OD của hỗn hợp phản ứng nhưng không chứa mẫu và natrisalicylate (ống trắng của ống không).

- Xác định khả năng tạo phức Fe^{2+} : ion Fe^{2+} tác dụng thuốc thử ferrozine sẽ sinh ra phản ứng phức màu tím, hoạt tính chống oxy hóa của mẫu thử sẽ được thể hiện qua việc ngăn chặn tạo thành phức chất có màu. Dựa trên phương pháp của Li và cộng sự (Li et al., 2019) và có cải biến để đánh giá khả năng tạo phức Fe^{2+} . Hòa tan cao chiết trong nước có bổ sung 5% DMSO (dimethyl sulfoxide) với nồng độ 2000 $\mu\text{g/ml}$, sau đó pha loãng với các nồng độ khác nhau. Hút 0,5 ml dung dịch cao chiết vào ống nghiệm; thêm 25 μl dung dịch $FeSO_4$ 20 mM và 25 μl natrisalicylate 2,5 mM; lắc đều, ủ trong tối, sau 20 phút đo giá trị hấp thụ ở bước sóng 562 nm.

Phần trăm ức chế tạo phức với Fe^{2+} được tính theo công thức:

$$S(\%) = 1 - \frac{(A_1 - A_2)}{(A_0 - A_{0,2})} \times 100$$

trong đó,

A_0 : Giá trị OD của hỗn hợp phản ứng nhưng không có mẫu phân tích (ống không)

A_1 : Giá trị OD của hỗn hợp phản ứng chứa mẫu phân tích (ống mẫu)

A_2 : giá trị OD của hỗn hợp phản ứng nhưng không chứa ferrozine (ống trắng của ống mẫu).

$A_{0,2}$: giá trị OD của hỗn hợp phản ứng nhưng không chứa mẫu và ferrozine (ống trắng của ống không)

- Hiệu suất chiết cao được tính theo công thức

$$H(\%) = \frac{m - m.h}{M - M.H} \times 100$$

trong đó, m: Khối lượng cao (g)

M: Khối lượng khô của sinh khối (g)

h: Độ ẩm của cao chiết (%)

H: Độ ẩm của sinh khối (%).

- Xác định tro tổng theo theo TCVN 7975:2008 về chè thảo mộc túi lọc.
- Xác định hàm lượng saponin theo TCQG II:2012, bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc.
- Xác định chất rắn hòa tan (Brix) bằng khúc xạ kế Refractometer theo TCVN 7771: 2007.
- Xác định polyphenol tổng bằng phương pháp Folin – Ciocalteu.
- Xác định độ ẩm bằng máy sấy ẩm hồng ngoại Sartorius MA 150 (Đức).
- Đo màu sắc bằng máy Color Checker Nippon Denshoke NR-1 (Nhật).
- Đánh giá cảm quan bằng phương pháp cho điểm theo TCVN 3215-79.
- Phân tích các chỉ tiêu vi sinh: tổng vi khuẩn hiếu khí (TPC/g) theo TCVN 4884: 2005; chỉ tiêu *Coliforms* theo FAO 1979; chỉ tiêu *E.coli* theo TCVN 6846: 2007; tổng nấm men, nấm mốc theo TCVN 8275-1:2010.

- Phương pháp phân tích và xử lí số liệu bằng Excel và phần mềm Minitab 17, ở mức ý nghĩa 95%; thí nghiệm được bố trí thực hiện và lặp lại 3 lần.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Đánh giá nguyên liệu giảo cổ lam tươi đầu vào

Giảo cổ lam được đánh giá các chỉ tiêu hóa lí, kết quả trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Chất lượng nguyên liệu giảo cổ lam sử dụng

STT	Chỉ tiêu	Hàm lượng
1	Độ ẩm (%)	85,14 ± 0,72
2	Hàm lượng chất rắn hòa tan (°brix)	6,10 ± 0,10
3	Polyphenol tổng (mg GAE/g)	57,57 ± 3,42
4	Hàm lượng saponin tổng (%)	3,32 ± 0,01
5	Hàm lượng tro tổng (%)	1,93 ± 0,02
6	IC ₅₀ bắt gốc tự do DPPH (mg/ml)	2,94 ± 0,05
7	IC ₅₀ bắt gốc tự do hydroxyl (mg/ml)	4,46 ± 0,06
8	IC ₅₀ ức chế tạo phức Fe ²⁺ (mg/ml)	4,58 ± 0,06

Nguyên liệu giảo cổ lam sử dụng có độ ẩm cao 85,14 ± 0,72%, hàm lượng chất rắn hòa tan, polyphenol tổng của giảo cổ lam có giá trị lần lượt 6,1 ± 0,10⁰brix; 2,56 ± 0,03 mg GAE/g. Thông thường hoạt chất quý trong thực vật sẽ phân bố trong toàn cây hoặc tập trung trong một bộ phận nào đó của cây (rễ, thân, lá, hoa...), hàm lượng saponin nguyên liệu trong thí nghiệm đạt giá trị cao 3,32 ± 0,01%. Thông qua chỉ số tro tổng (1,93 ± 0,02%) cho thấy giảo cổ lam có chứa nhiều khoáng chất tốt cho người sử dụng, tuy nhiên chất lượng của nguyên liệu sử dụng phụ thuộc vào nhiều yếu tố như giống, khí hậu và điều kiện chăm sóc, thời điểm thu hoạch... Nồng độ ức chế 50% (IC₅₀) bắt gốc tự do DPPH, bắt gốc tự do hydroxyl, ức chế tạo phức Fe²⁺ lần lượt đạt giá trị 2,94 ± 0,05 mg/ml; 4,46 ± 0,06 mg/ml; 4,58 ± 0,06 mg/ml chứng tỏ trong giảo cổ lam chứa nhiều hợp chất tham gia trong kháng oxy hóa như alkaloid, flavonoid, polysaccharide, terpenoid-steroid (Tong et al., 2017) phù hợp trong sản xuất cao chiết.

3.2. Đánh giá ảnh hưởng độ ẩm nguyên liệu đến quá trình chiết cao và kháng oxy hóa của cao chiết

Bảng 2. Ảnh hưởng của độ ẩm nguyên liệu đến hiệu suất chiết cao, hàm lượng polyphenol, hàm lượng saponin của cao chiết

Nghiệm thức	Độ ẩm nguyên liệu (%)	Hiệu suất chiết cao (%)	Polyphenol tổng (mg GAE/g)	Saponin tổng (%)
NT1	6	6,62 ^b ± 0,02	81,33 ^a ± 0,53	14,23 ^a ± 0,05
NT2	9	6,96 ^b ± 0,01	73,67 ^b ± 0,22	14,00 ^a ± 0,02
NT3	12	7,05 ^b ± 0,05	64,00 ^c ± 0,61	13,40 ^a ± 0,06
NT4	15	7,14 ^b ± 0,05	59,33 ^c ± 0,36	10,20 ^b ± 0,04
NT5	Nguyên liệu tươi	9,56 ^a ± 0,05	40,67 ^d ± 0,56	9,20 ^c ± 0,04
	P	*	*	*

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số có cùng kí tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. * khác biệt có ý nghĩa (P < 0,05)

Khi tối ưu hóa được các yếu tố áp suất, nhiệt độ, lưu lượng CO₂, thời gian chiết siêu tới hạn thì độ ẩm nguyên liệu ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu suất và các hoạt chất trong cao chiết (Khaw et al., 2017). Các chỉ tiêu đánh giá như hiệu suất chiết cao, hàm lượng polyphenol, hàm lượng saponin có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức (P<0,05). Cụ thể NT5 (giảo cỏ lam tươi) có hiệu suất chiết cao đạt giá trị cao nhất 9,56 ± 0,05%, tuy nhiên hàm lượng polyphenol và hàm lượng saponin rất thấp (40,67 ± 0,56 mg GAE/g; 9,20 ± 0,04%) so với các nghiệm thức còn lại. Độ ẩm nguyên liệu thấp thì hiệu suất chiết cao, dao động khoảng 6,62-7,14%; hàm lượng saponin tăng cao nhất ở NT1 (độ ẩm nguyên liệu 6%) với giá trị là 14,23 ± 0,05%. Hàm lượng polyphenol đạt 81,33 ± 0,53 mg GAE/g cao gấp 2,41 lần khi chiết với ethanol bằng phương pháp Soxhlet thông thường (Xie et al., 2010). Hơn nữa, nguyên liệu khi chiết cao bằng phương pháp siêu tới hạn CO₂ cần có kích thước nhỏ mịn, do vậy nếu độ ẩm thấp (6%, 9%) giúp thuận lợi trong quá trình nghiền và bảo quản.

Kết luận trong quá trình sản xuất cao chiết giảo cỏ lam bằng phương pháp siêu tới hạn CO₂ sử dụng nguyên liệu có độ ẩm 9% sẽ thu được hiệu suất chiết cao tương đối (6,96 ± 0,01%) và giữ được hoạt chất cao như hàm lượng polyphenol tổng 73,67 ± 0,22 mg GAE/g, hàm lượng saponin tổng 14,00 ± 0,02%.

Tiến hành đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa cao chiết thông qua các hoạt tính bắt gốc tự do DPPH, bắt gốc tự do hydroxyl, ức chế tạo phức Fe²⁺.

Bảng 3. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của vitamin C và cao chiết

Nồng độ (µg/ml)	Hoạt tính của vitamin C (%)	Nồng độ (µg/ml)	Hoạt tính của cao chiết (%)
200	91,45 ^a ± 0,35	2000	194,52 ^a ± 0,31
100	61,37 ^b ± 0,28	1000	119,18 ^b ± 0,28
50	38,81 ^c ± 0,20	500	59,59 ^c ± 0,30
25	18,17 ^d ± 0,27	250	43,84 ^d ± 0,26
12,5	11,94 ^e ± 0,15	125	24,66 ^e ± 0,25
0	0,00	0	0,00
P	*	P	*

*Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số có cùng kí tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. * khác biệt có ý nghĩa (P < 0,05), ns khác biệt không có ý nghĩa*

Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của cao chiết tỉ lệ thuận với nồng độ từ 0-2000 µg/ml. Giá trị IC₅₀ của cao chiết giảo cỏ lam là 380 ± 0,01 µg/ml có hoạt tính kháng oxy hóa cao, tuy nhiên thấp hơn so với vitamin C (IC₅₀ = 43,81 ± 0,02 µg/ml). Các hợp chất polyphenol, saponin, alkaloid... trong cao chiết có khả năng khử DPPH tự do có màu tím đặc trưng thành diphenyl-picrylhydrazine có màu vàng, cho H⁺ hoặc điện tử dẫn tới hình thành dạng bền.

Bảng 4. Hoạt tính bắt gốc tự do hydroxyl của vitamin C và cao chiết

Nồng độ (µg/ml)	Hoạt tính của vitamin C (%)	Nồng độ (µg/ml)	Hoạt tính của cao chiết (%)
100	61,37 ^a ± 0,15	2000	62,90 ^a ± 0,21
50	35,73 ^b ± 0,18	1000	45,90 ^b ± 0,18
25	38,46 ^c ± 0,20	500	27,82 ^c ± 0,17
12,5	15,38 ^d ± 0,17	250	17,00 ^d ± 0,16
6,25	8,65 ^e ± 0,20	125	9,04 ^e ± 0,12
0	0,00	0	0,00
P	*	P	*

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số có cùng kí tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. * khác biệt có ý nghĩa ($P < 0,05$), ns khác biệt không có ý nghĩa

Hiệu quả bắt gốc tự do hydroxyl thấp hơn so với bắt gốc tự do DPPH. Cụ thể giá trị IC₅₀ bắt gốc tự do hydroxyl của cao chiết giáo cổ lam là 1570 ± 0,07 µg/ml lớn hơn 3,27 lần so với hoạt tính bắt gốc tự do DPPH (IC₅₀ = 380 ± 0,01 µg/ml). Các gốc hydroxyl tự do dễ dàng lấy đi một nguyên tử hydrogen từ một nửa đường deoxyribose của DNA và thường xuyên sẽ gây tổn thương tế bào, gây lão hóa và bệnh thoái hóa như ung thư, rối loạn chức năng não, suy giảm hệ miễn dịch (Lu et al., 2010). Như vậy, kết quả phương pháp thử của một chất kháng oxy hóa có thể khác nhau do nhiều nguyên nhân như quy định bởi thành phần; cấu trúc của chất kháng oxy hóa; cơ chế phản ứng và bản chất các gốc tự do sinh ra.

Bảng 5. Hoạt tính ức chế tạo phức Fe²⁺ của EDTA và cao chiết

Nồng độ (mg/ml)	Hoạt tính của EDTA (%)	Nồng độ (mg/ml)	Hoạt tính của cao chiết (%)
1	99,48 ^a ± 0,12	2	79,89 ^a ± 0,31
0,4	31,30 ^b ± 0,15	1	49,63 ^b ± 0,38
0,2	20,69 ^c ± 0,20	0,5	36,57 ^c ± 0,27
0,1	18,61 ^d ± 0,17	0,25	12,36 ^d ± 0,23
0,05	4,52 ^e ± 0,11	0,125	8,67 ^e ± 0,25
0	0,00	0	0,00
P	*	P	*

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số có cùng kí tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. * khác biệt có ý nghĩa ($P < 0,05$), ns khác biệt không có ý nghĩa

Hoạt tính ức chế tạo phức Fe²⁺ của cao chiết giáo cổ lam được thể hiện thông qua việc ngăn chặn phức màu, có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) ở các nồng độ của cao chiết. Giá trị IC₅₀ của cao chiết là 1,16 ± 0,05 mg/ml cao gấp 3 lần so với giá trị IC₅₀ của EDTA (0,48 ± 0,03 mg/ml). Trích li siêu tới hạn là phương pháp chiết hợp chất ra trọn vẹn so với các phương pháp chiết thông thường nên trong cao chiết nhiều chứa các hợp chất khử, triterpenoid, polyphenol... đóng vai trò quan trọng trong ức chế tạo phức với sắt Fe²⁺. Hơn nữa, theo nghiên cứu (Li et al., 2015) thành phần polysaccharide trong cao chiết giáo cổ lam có khả năng liên kết glycosidic với Fe²⁺ giúp hạn chế quá trình oxy hóa xảy ra.



Hình 3. Bột giảo cổ lam



Hình 4. Hệ thống chiết siêu tới hạn CO₂ (model: SFE 96)

3.3. Đánh giá chất lượng cao chiết giảo cổ lam theo thời gian bảo quản

Cao chiết giảo cổ lam không phát hiện tổng vi sinh vật hiếu khí, *Coliforms*, *E.coli*, tổng nấm men, nấm mốc trong thời gian bảo quản (Bảng 6). Hàm lượng polyphenol tổng, saponin tổng trong mẫu cao chiết giảo cổ lam giảm lần lượt 3,96 mg GAE/g, 0,67%; tuy nhiên không đáng kể. Đánh giá khả năng kháng oxy hóa của cao chiết (bắt gốc tự do DPPH, bắt gốc tự do hydroxyl, ức chế tạo phức Fe²⁺) thấy rằng giá trị IC₅₀ khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Mẫu cao chiết giảo cổ lam đựng trong chai thủy tinh nắp nhôm với trọng lượng 100g/chai, bảo quản ở nhiệt độ phòng ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$, độ ẩm $60 \pm 5\%$) sau 3 tháng bảo quản vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính tốt của dược liệu.

Bảng 6. Ảnh hưởng thời gian bảo quản đến chất lượng cao chiết giảo cổ lam

Chỉ tiêu	Thời gian (tháng)				P
	0	1	2	3	
Tổng vi khuẩn hiếu khí (CFU/g)	KPH	KPH	KPH	KPH	
<i>Coliform</i> (CFU/g)	KPH	KPH	KPH	KPH	
<i>E. coli</i> (CFU/g)	KPH	KPH	KPH	KPH	
Nấm men, nấm mốc (CFU/g)	KPH	KPH	KPH	KPH	
Polyphenol tổng (mg GAE/g)	73,67 ^a ± 0,22	71,50 ^b ± 0,50	70,17 ^{bc} ± 0,46	69,71 ^c ± 0,28	*
Saponin tổng (%)	14,00 ± 0,02	13,81 ± 0,04	13,43 ± 0,06	13,33 ± 0,05	ns
IC ₅₀ bắt gốc DPPH (mg/ml)	0,38 ^c ± 0,01	0,41 ^b ± 0,01	0,46 ^a ± 0,02	0,49 ^a ± 0,02	*
IC ₅₀ bắt gốc hydroxyl (mg/ml)	1,57 ^c ± 0,07	1,63 ^{bc} ± 0,03	1,66 ^{ab} ± 0,06	1,70 ^a ± 0,05	*
IC ₅₀ ức chế tạo phức Fe ²⁺ (mg/ml)	1,16 ^c ± 0,05	1,19 ^{bc} ± 0,01	1,22 ^b ± 0,01	1,27 ^a ± 0,03	*

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số có cùng kí tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. * khác biệt có ý nghĩa ($P < 0,05$), ns khác biệt không có ý nghĩa, KPH: Không phát hiện (<1)



Hình 5. Sản phẩm cao chiết gạo cổ lam

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định được chất lượng tiêu chuẩn cơ sở gạo cổ lam đầu vào với độ ẩm $85,14 \pm 0,72\%$; tổng chất rắn hòa tan $6,1 \pm 0,10^0$ brix, polyphenol tổng $2,56 \pm 0,03$ mg GAE/g, saponin đạt $3,32 \pm 0,01\%$, tro tổng $1,93 \pm 0,02\%$ và khả năng bắt gốc tự do DPPH, hydroxyl, ức chế tạo phức Fe^{2+} . Nguyên liệu được sấy lạnh đến độ ẩm 9% là phù hợp để đạt hiệu suất chiết $6,96 \pm 0,01\%$; polyphenol tổng, saponin tổng cao ($73,67 \pm 0,22$ mg GAE/g, $14,00 \pm 0,02\%$). Thông qua hoạt tính bắt gốc tự do DPPH, hydroxyl, ức chế tạo phức Fe^{2+} với giá trị IC_{50} lần lượt là $0,38 \pm 0,01$ mg/ml; $1,57 \pm 0,07$ mg/ml; $1,16 \pm 0,05$ mg/ml chứng tỏ cao chiết có khả năng kháng oxy hóa tốt. Mẫu cao chiết được đựng trong chai thủy tinh nắp nhôm với trọng lượng 100g/chai, bảo quản ở nhiệt độ phòng ($28 \pm 2^{\circ}C$, độ ẩm $60 \pm 5\%$) sau 3 tháng bảo quản vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính tốt của dược liệu.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chien, H. C., Adam, F., Chung, L. L., & Aneta, W. (2014). Combined Drying of Apple Cubes by Using of Heat Pump, Vacuum-Microwave, and Intermittent Techniques. *Food and bioprocess technology*, 7, 975-989. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-013-1123-7>
- Khaw, Y-K., Parat, O-M., Shaw, N. P., & Falconer, R. J. (2017). Solvent supercritical fluid technologies to extract bioactive compounds from natural sources: A review. *Molecules*, 22(7), Article 1186. <https://doi.org/10.3390/molecules22071186>

- Lai, Q. D., & Nguyen, C. K. (2016). *Xu hướng ứng dụng công nghệ sấy tiên tiến trong bảo quản và chế biến nông sản, thủy sản [The applying of advanced drying technology in preservation and processing agricultural, aquatic products]*. Center for Statistics and Science and Technology Information.
- Li, B., Zhang, X., Wang, M., & Jiao, L. (2015). Characterization and antioxidant activities of acidic polysaccharides from *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Markino. *Carbohydrate Polymers*, 127, 209-214. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.069>
- Lu, J. M., Hin, H. P., Yao, Q., & Chen, C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Molecular medicine*, 14(4), 840-860. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00897.x>
- Prasertsan, S., & Saensaby, P. (2010). Heat Pump drying of agricultural materials. *Drying Technology*, 16(1-2), 235-250. <https://doi.org/10.1080/07373939808917401>
- Sihvonen, M., Jarvenpaa, E., Hietaniemi, V., & Huopalahti, R. (1999). Advances in supercritical carbon dioxide technology. *Food science and Technology*, 10, 217-222. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00049-7](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00049-7)
- Tadhani, M., & Subhash, R. (2006). Preliminary studies on *Stevia rebaudiana* leaves: Proximal composition, mineral analysis and phytochemical screening. *Journal of Medical Sciences*, 6(3), 321-326. <https://doi.org/10.3923/jms.2006.321.326>
- Tong, T. H., Vu, T. B. P., Duong, C. K., & Quach, N. D. P. (2017). Khảo sát hoạt tính sinh học cây giao co lam (*Gynostemma pentaphyllum* Thunb. Makino) [Biological activities of (*Gynostemma pentaphyllum* Thunb. Makino)]. *Science & Technology development Journal: Natural Science*, 1(6), 49-57.
- Wang, Z., Wang, Z., Huang, W., Suo, J., Chen X., Zhang, H. (2019). Antioxidant and anti-inflammatory activities of an anti-diabetic polysaccharide extracted from *Gynostemma pentaphyllum* herb. *International Journal of Biological Macromolecules*, 145, 484-491. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.213>
- Xie, Z., Liu, W., Huang, H., Slavin, M., Zhao, Y., Whent M, Blackford, J., Lutterodt, H., Zhou, H., Chen, P., Wang, T. T., Wang, S., & Yu, L. L. (2010). Chemical composition of five commercial *Gynostemma pentaphyllum* sample and their radical scavenging, antioproliferative, and anti-inflammatory properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (21), 11243-11249. <https://doi.org/10.1021/jf1026372>

**A STUDY ON PRODUCING SUPERCRITICAL CO₂ EXTRACTION
FROM JIAOGULAN (*Gynostemma pentaphyllum*)**

**Nguyen Chau Anh*, Pham Quang Thang, Truong Quynh Tram,
Vu Thi Thu Thao, Dang Thi Yen Thu, Pham Thi Ha Van**

Research and Development center - Agricultural High Technology Park

**Corresponding author: Nguyen Chau Anh – Email: nguyenchauanh870@gmail.com*

Received: October 21, 2023; Revised: January 02, 2024; Accepted: January 07, 2024

ABSTRACT

To get the value of Jiaogulan, we researched supercritical CO₂ extraction to diversify medical products for health. The material was treated by freeze-drying at a temperature of 30⁰ C and a humidity of 9% to get high sensory quality. The optimization of saponin was carried out at a temperature of 50⁰ C, pressure of 300,5 bar, and extraction time of 120 minutes. The antioxidant activity of the extract by the SFE-CO₂ method was significantly high, with the inhibited capacity DPPH, hydroxyl, chelated Fe²⁺ (IC₅₀ = 0,38 ± 0,01 mg/ml, 1,57 ± 0,07 mg/ml, 1,16 ± 0,05 mg/ml). The extract has low color change and retains its characteristic flavor and medicinal properties (saponins and polyphenols) during storage for three months at room temperature (28 ± 2⁰ C, a humidity of 60 ± 5%).

Keywords: freeze-drying; Jiaogulan; supercritical CO₂ extraction