

OPTIMIZATION OF AN ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION CONDITION FOR ALKALOIDS COMPOUNDS FROM RHIZOMES OF *Curcuma zedoaria* USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

Nguyen Thi Ai Lan¹, Tran Chi Linh^{2*}

¹Tra Vinh University, ²Can Tho University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 02/4/2022	Response surface methodology using a Box-Behnken design was employed to optimize the conditions for extraction of alkaloids from the rhizomes of <i>Curcuma zedoaria</i> . Alkaloids from the rhizomes of <i>Curcuma zedoaria</i> are subjected to ultrasonic-assisted extraction. Four independent variables such as: ultrasonic temperature, ethanol concentration, material/solvent ratio, and ultrasonic time were investigated. In which, ultrasonic temperature, ethanol concentration, and ultrasonic time have a lot of influence on alkaloids content and are used to optimize for rhizomes of <i>Curcuma zedoaria</i> . The results showed that the experimental data could be fitted to a quadratic polynomial model using correlation analysis of the mathematical regression model. Response surface plots showed that all independent variables significantly affected the alkaloid content extracted from rhizomes of <i>Curcuma zedoaria</i> . The optimum extraction conditions were as follows: ethanol concentration of 69% (v/v), ultrasonic temperature of 62°C, ultrasonic time of 15 min, and the ratio of material to solvent of 1:30 (w/v). The alkaloids content yield under the optimum conditions was found to be 289.25±0.43 mg AE/g extract, which agreed with the predicted value of 288.24 mgAE/g extract.
Revised: 14/6/2022	
Published: 14/6/2022	
KEYWORDS	
<i>Curcuma zedoaria</i>	
Extraction	
Optimization	
Alkaloids	
Ultrasound	

TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN CHIẾT XUẤT CÓ SỰ HỖ TRỢ CỦA SÓNG SIÊU ÂM ĐỐI VỚI HỢP CHẤT ALKALOID TỪ THÂN CỦ NGHỆ ĐEN (*Curcuma zedoaria*) BẰNG CÁCH SỬ DỤNG PHƯƠNG PHÁP ĐÁP ỨNG BỀ MẶT

Nguyễn Thị Ái Lan¹, Trần Chí Linh^{2*}

¹Trường Đại học Trà Vinh, ²Trường Đại học Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 02/4/2022	Phương pháp đáp ứng bề mặt áp dụng thiết kế Box-Behnken đã được sử dụng để tối ưu hóa các điều kiện chiết xuất alkaloid từ thân củ nghệ đen. Alkaloid từ thân củ nghệ đen được chiết xuất với sự hỗ trợ của sóng siêu âm. Bốn biến số độc lập gồm: nhiệt độ siêu âm, nồng độ ethanol, tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi và thời gian siêu âm đã được khảo sát. Trong đó, nhiệt độ siêu âm, nồng độ ethanol và thời gian siêu âm có ảnh hưởng nhiều đến hàm lượng alkaloid và được sử dụng để tối ưu hóa cho thân củ nghệ đen. Kết quả cho thấy, dữ liệu thực nghiệm phù hợp với mô hình đa thức bậc hai bằng cách sử dụng phân tích tương quan của mô hình hồi quy toán học. Các biểu đồ bề mặt đáp ứng cho thấy, các biến độc lập ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng alkaloid chiết xuất từ thân củ nghệ đen. Các điều kiện chiết xuất tối ưu như sau: nồng độ ethanol 69%, nhiệt độ siêu âm 62°C, thời gian siêu âm 15 phút và tỷ lệ nguyên liệu so với dung môi là 1:30 (w/v). Hàm lượng alkaloid trong điều kiện tối ưu được xác định là 289,25±0,43 mg AE/g cao chiết, phù hợp với giá trị dự đoán là 288,24 mg AE/g cao chiết.
Ngày hoàn thiện: 14/6/2022	
Ngày đăng: 14/6/2022	
TỪ KHÓA	
Nghệ đen	
Chiết xuất	
Tối ưu hóa	
Alkaloid	
Siêu âm	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5804>

* Corresponding author. Email: tclinh@ctu.edu.vn

1. Giới thiệu

Alkaloid là một nhóm đa dạng về cấu trúc của các chất chuyển hóa thứ cấp chứa nitơ với sự phân bố tương đối rộng trong tự nhiên và phạm vi hoạt động sinh học đa dạng [1]. Các hợp chất thuộc nhóm alkaloid rất phổ biến trong thực vật và thường được ly trích để làm thuốc chữa bệnh. Trong y học hiện đại, nhiều alkaloid và các dẫn xuất của alkaloid đã được ứng dụng làm thuốc và thậm chí nhiều alkaloid hiện đang được điều tra trong các thử nghiệm lâm sàng để lựa chọn các alkaloid quan trọng để điều trị nhiều bệnh tật nguy hiểm [2], [3]. Nhu cầu sử dụng alkaloid cho y học là rất nhiều, tuy nhiên việc phân lập các hợp chất alkaloid với số lượng lớn là rất tốn kém và mất thời gian, ngay cả khi có thể phân lập được trên quy mô công nghiệp [1]. Do đó, việc nghiên cứu để tối ưu hóa quy trình chiết xuất alkaloid đang được các nhà khoa học hết sức quan tâm. Hiện nay để tối ưu hóa các điều kiện ly trích hợp chất thiên nhiên, các nhà khoa học thường áp dụng phương pháp đáp ứng bề mặt (Response Surface Methodology, RSM). Box và Wilson đã đề xuất sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt vào năm 1951, đây là một phương pháp tối ưu hóa cho thiết kế thí nghiệm toàn diện và mô hình toán học, đã được áp dụng rộng rãi trong việc chiết xuất các hợp chất thiên nhiên từ thực vật do ưu điểm là có độ chính xác cao và hiệu suất dự đoán tốt [4], [5].

Nhiều loài thực vật thuộc chi *Curcuma* đã được chứng minh đóng vai trò quan trọng trong điều trị nhiều bệnh tật nguy hiểm [6]. Trong đó, cây nghệ đen (*Curcuma zedoaria*) sở hữu các hoạt tính kháng oxy hóa, kháng nấm, kháng khuẩn và kháng viêm tốt [7]-[9]. Các đặc tính dược của cây nghệ đen là do sự hiện diện của các thành phần đa dạng như polyphenol, flavonoid và alkaloid [10]. Nhận thấy tầm quan trọng của các hợp chất thiên nhiên trong cây nghệ đen, một số nghiên cứu đã tiến hành tối ưu hóa điều kiện chiết xuất các hợp chất thiên nhiên từ loài thực vật này. Trong đó, nghiên cứu của Azahar và cộng sự (2017) đã tiến hành tối ưu điều kiện chiết xuất tối ưu để ly trích polyphenol và flavonoid từ lá nghệ đen [11]. Trong khi đó, những nghiên cứu tối ưu hóa điều kiện chiết xuất alkaloid từ thân củ nghệ đen vẫn chưa được quan tâm nghiên cứu.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Nghệ đen được thu lấy thân củ tại huyện Thạnh Phú, tỉnh Bến Tre, Việt Nam. Nghệ đen được định danh và lưu trữ tại phòng thí nghiệm Hóa Sinh Lâm Sàng (Phòng C11.105), bộ môn Hóa Sinh, Khoa Y - Dược, trường Đại học Trà Vinh với mã số lưu trữ là: BT_Cze202001010010.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xử lý nguyên liệu và xác định độ ẩm

Sau khi xử lý nhóm nghiên cứu đã thu được 6,25 kg thân củ nghệ đen tươi. Sau đó, thân củ nghệ đen được cắt lát mỏng phơi khô trong bóng râm và xay nhuyễn thu được 1,85 kg bột. Bột thân củ nghệ đen sẽ được đem rây qua khay để thu lấy hạt bột có kích thước 60 mesh và xác định độ ẩm theo mô tả của Dược Điển Việt Nam V [12]. Bột thân củ nghệ đen có độ ẩm là $7,15 \pm 0,25\%$ được bảo quản trong túi nhựa PE, đặt trong hộp nhựa kính, lưu trữ ở 4°C dùng cho các thử nghiệm tiếp theo.

2.2.2. Xác định ảnh hưởng của các yếu tố đơn và tối ưu hóa quy trình chiết xuất alkaloid

Alkaloid trong bột thân củ nghệ đen được chiết xuất bằng máy siêu âm gia nhiệt (Derui DR-MH30, China) với tần số cố định ở 40 kHz. Alkaloid trong thân củ nghệ đen được chiết xuất trong các điều kiện như sau: ethanol có nồng độ từ 40, 50, 60, 70, 80, 90 đến 99,5% (v/v); nhiệt độ siêu âm được thay đổi lần lượt là 30, 40, 50, 60, 70, 80 và 90°C ; thời gian siêu âm được tăng lần lượt từ 5, 10, 15, 20, 25, 30 đến 35 phút; tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi được thay đổi lần lượt từ 1/10, 1/15, 1/20, 1/25, 1/30, 1/35 đến 1/40 (w/v). Trong quá trình khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đơn nồng độ ethanol 90%, nhiệt độ 30°C , thời gian siêu âm 10 phút và tỷ lệ nguyên liệu/ dung

môi là 1/10 (w/v) được cố định. Tiến hành lọc dịch chiết cô đuổi dung môi thu lấy cao chiết và định lượng alkaloid theo mô tả trong mục 2.2.3. Sau khi tiến hành khảo sát các đơn nhân tố, nhóm nghiên cứu đã lựa chọn 03 yếu tố có ảnh hưởng nhiều đến hàm lượng alkaloid trong cao chiết thân củ nghệ đen để xây dựng quy trình chiết xuất tối ưu. Phương pháp đáp ứng bề mặt theo thiết kế thí nghiệm Box-Behnken với ba yếu tố, ba cấp độ trong phần mềm Design expert 11.0 được sử dụng để thiết kế thí nghiệm và đánh giá mô hình.

2.2.3. Phương pháp xác định hàm lượng alkaloid trong bột thân củ nghệ đen

Hàm lượng alkaloid được xác định theo phương pháp hình thành phức hợp với bromocresol green (BCG), tạo thành sản phẩm có màu vàng theo mô tả của Shamsa và cộng sự (2008) [13]. Cao chiết thân củ nghệ đen (1 mL) được cho phản ứng với 1 mL HCl 2N. Sau 5 phút, dung dịch trên được lọc bằng giấy lọc loại bỏ cặn. Dung dịch trên được cho vào bình tách chiết lần lượt thêm vào 5 mL BCG và 5 mL dung dịch đệm phosphate (pH=4,7). Cuối cùng, hỗn hợp phản ứng được lắc mạnh bằng bình tách chiết với 10 mL chloroform 5 phút ở nhiệt độ phòng. Tiến hành xác định độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 470 nm. Hàm lượng alkaloid trong cao chiết thân củ nghệ đen (mg AE/g cao chiết) được xác định dựa vào đường chuẩn atropine.

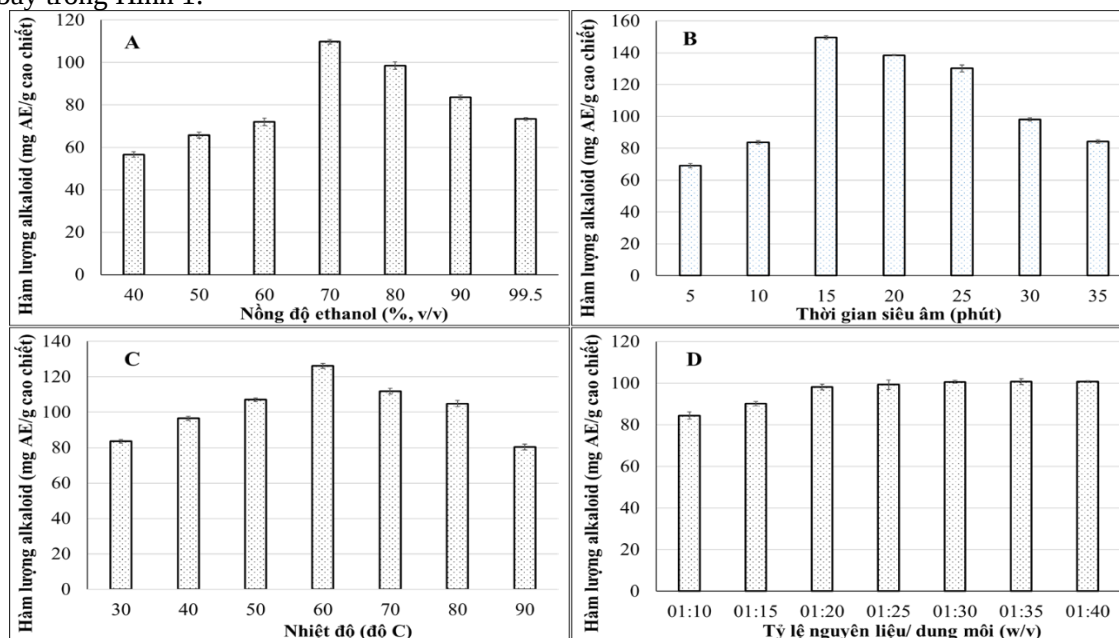
2.2.4. Xử lý và phân tích số liệu

Các số liệu trong khảo sát đơn yếu tố được trình bày dưới dạng Mean $\pm$ Stdev và xử lý bằng phần mềm Minitab 16.0 kiểm định ANOVA-Tukey's. Biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft excel 2013. Các số liệu trong mô hình tối ưu được xử lý bằng phần mềm Design expert 11.0.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của các yếu tố đơn đến quá trình chiết xuất alkaloid từ thân củ nghệ đen

Ảnh hưởng của các yếu tố đơn như nồng độ ethanol, nhiệt độ siêu âm, thời gian siêu âm và tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi đến hàm lượng alkaloid chiết xuất được từ thân củ nghệ đen được trình bày trong Hình 1.



Hình 1. Hàm lượng alkaloid trong dịch chiết từ thân củ nghệ đen

Ghi chú: A: Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến hàm lượng alkaloid; B: Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến hàm lượng alkaloid; C: Ảnh hưởng của nhiệt độ siêu âm đến hàm lượng alkaloid; D: Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi đến hàm lượng alkaloid.

Thân củ nghệ đen được chiết xuất ở các nồng độ ethanol khác nhau sẽ thu được hàm lượng alkaloid khác nhau. Khi sử dụng ethanol từ 40 đến 70% thì hàm lượng alkaloid tăng liên tục từ $56,67 \pm 1,33$ đến $109,78 \pm 1,02$ mg AE/g cao chiết. Hàm lượng alkaloid bắt đầu giảm khi tăng nồng độ ethanol lên 80% (Hình 1A). Nhóm nghiên cứu đã tiến hành khảo sát ảnh hưởng của các mốc thời gian siêu âm khác nhau từ 5 đến 35 phút đến hàm lượng alkaloid. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hàm lượng alkaloid chiết xuất được đạt mức tối đa ở 15 phút ($149,56 \pm 1,02$ mg AE/g cao chiết) và sau đó giảm khi kéo dài thời gian siêu âm (Hình 1B). Do đó, thời gian siêu âm trong khoảng thời gian từ 10 đến 20 phút đã được chọn cho các thí nghiệm tối ưu hóa tiếp theo.

Nhiệt độ cũng là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất. Qua Hình 1C có thể thấy được hàm lượng alkaloid trong cao chiết tăng nhanh ở khoảng nhiệt độ từ 30 đến 60°C, hàm lượng tăng cao từ $83,56 \pm 1,02$ lên $126,22 \pm 1,39$ mg AE/g cao chiết. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nhiệt độ lên 70°C thì hàm lượng alkaloid có xu hướng giảm. Một số nghiên cứu trước đây cũng cho thấy hàm lượng các hợp chất thiên nhiên trong quá trình chiết xuất sẽ tăng đến một nhiệt độ cố định và bắt đầu giảm dần sau đó, do sự phân hủy ở nhiệt độ cao của một số nhóm chất không bền với nhiệt [14], [15].

Từ kết quả của Hình 1D cho thấy, hàm lượng alkaloid tăng theo tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi. Hàm lượng alkaloid tăng từ $84,44 \pm 1,68$ lên $104,44 \pm 0,38$ mg AE/g cao chiết khi tăng tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi từ 1/10 đến 1/40 (w/v). Tuy nhiên, nhóm nghiên cứu nhận thấy, hàm lượng alkaloid chiết xuất được từ thân củ nghệ đen khi sử dụng tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi 1/30 (w/v) đạt $100,67 \pm 0,67$ mg AE/g khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$) so với tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi cao hơn. Do đó, nhóm nghiên cứu đã chọn tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi thích hợp là 1/30 để tiết kiệm nguyên liệu, dung môi và chi phí cho quá trình chiết xuất.

3.2. Tối ưu hóa quy trình chiết xuất alkaloid từ thân củ nghệ đen

Bảng 1. Ma trận thực nghiệm Box-Behnken ba yếu tố của thân củ nghệ đen

Thí nghiệm	Các biến độc lập			Hàm lượng alkaloid (mg GAE/g cao chiết)	
	Ethanol (%, v/v)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	Hàm lượng thực nghiệm	Hàm lượng dự đoán
1	60	50	15	$254,44^d \pm 3,01$	236,51
2	80	50	15	$232,89^e \pm 1,39$	227,03
3	60	70	15	$251,33^d \pm 0,67$	257,20
4	80	70	15	$274,67^c \pm 2,40$	265,81
5	60	60	10	$202,67^{gh} \pm 2,40$	194,83
6	80	60	10	$201,11^h \pm 1,02$	208,06
7	60	60	20	$213,33^f \pm 2,67$	206,39
8	80	60	20	$157,78^k \pm 2,34$	165,57
9	70	50	10	$190,44^i \pm 2,34$	189,36
10	70	70	10	$207,33^g \pm 1,76$	209,25
11	70	50	20	$179,33^j \pm 1,33$	177,42
12	70	70	20	$189,11^i \pm 2,34$	190,20
13	70	60	15	$287,56^b \pm 0,77$	286,85
14	70	60	15	$279,11^c \pm 1,68$	286,85
15	70	60	15	$293,56^a \pm 1,39$	286,85
16	70	60	15	$288,89^{ab} \pm 1,39$	286,85
17	70	60	15	$285,11^b \pm 2,14$	286,85

Ghi chú: Các ký tự theo sau trong cùng một cột giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Dựa vào kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đơn đến quá trình chiết xuất alkaloid từ thân củ nghệ đen, nhóm nghiên cứu đã chọn yếu tố nồng độ ethanol (60 đến 80%), nhiệt độ (50 đến 70°C) và thời gian siêu âm (10 đến 20 phút) để tiến hành tối ưu điều kiện chiết xuất. Trong đó, yếu tố tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi là 1/30 (w/v) được cố định trong quá trình tối ưu. Mô hình thiết kế thí nghiệm Box-Behnken với ba biến, ba cấp độ được sử dụng để xây dựng quy trình tối

ưu hóa chiết xuất alkaloid từ thân củ nghệ đen. Kết quả cho thấy, các nghiệm thức trung tâm (nghiệm thức 13 đến 17) có hàm lượng alkaloid chiết xuất được nhiều hơn các nghiệm thức còn lại. Trong đó, nghiệm thức 15 chiết xuất được hàm lượng alkaloid nhiều nhất là $293,56 \pm 1,39$ mg AE/g cao chiết. Bên cạnh đó, nghiên cứu cũng cho thấy, hàm lượng alkaloid của mô hình thực nghiệm và dự đoán không chênh lệch nhiều.

Qua phân tích thống kê, nghiên cứu đã áp dụng phương pháp phân tích hồi quy các số liệu thực nghiệm, thu được mô hình đa thức bậc hai thể hiện hàm lượng alkaloid như sau:

$$\text{Alkaloid} = -1641,886 + 18,5647 \times A + 14,90435 \times B + 112,4216 \times C + 0,112225 \times A \times B - 0,26995 \times A \times C - 0,03555 \times B \times C - 0,1567175 \times A^2 - 0,1784175 \times B^2 - 3,09807 \times C^2$$

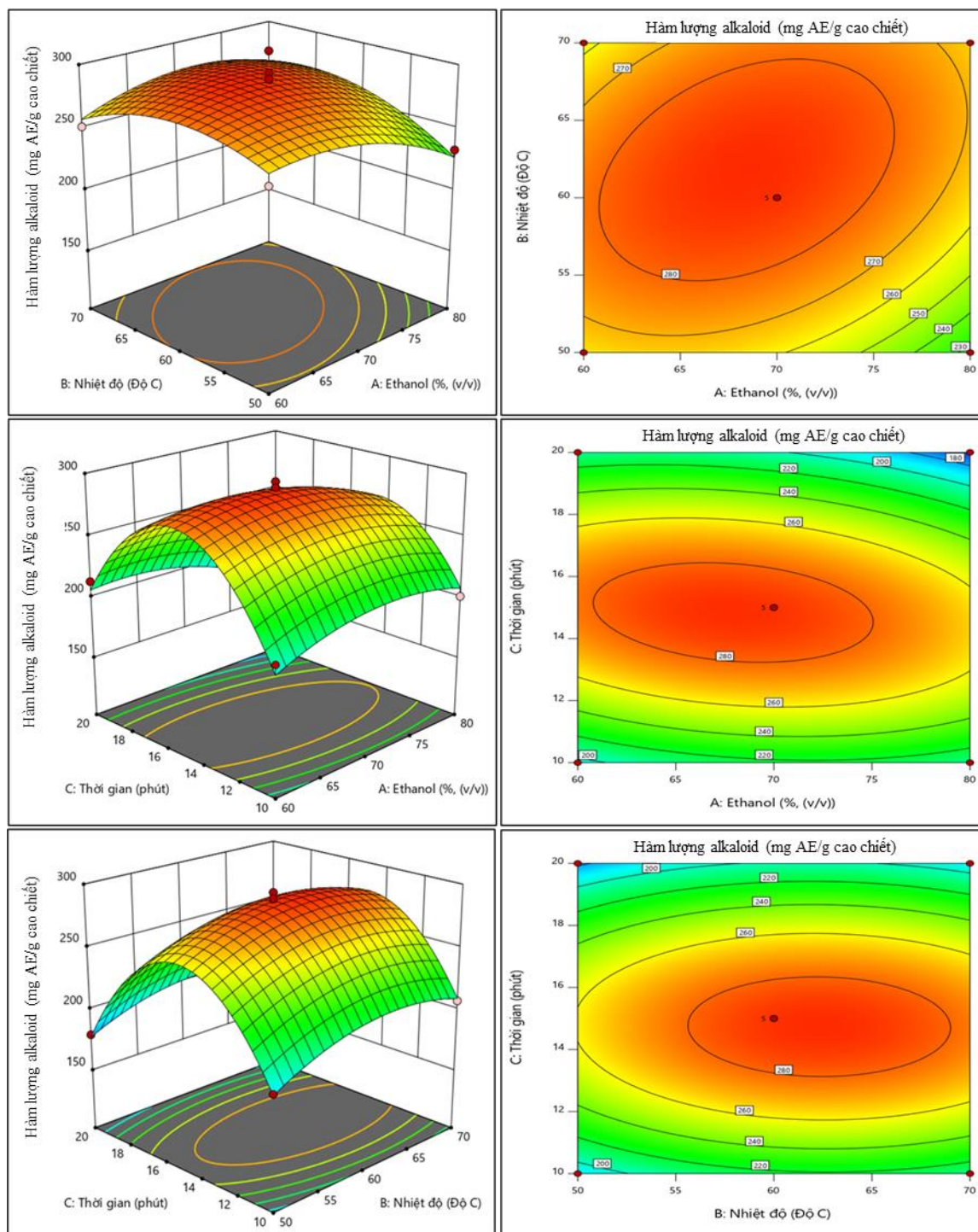
Trong đó, A là yếu tố nồng độ ethanol (% v/v); B là yếu tố nhiệt độ ($^{\circ}\text{C}$); C là yếu tố thời gian siêu âm (phút).

Kết quả phân tích thống kê ANOVA sự tương quan của các yếu tố được trình bày trong Bảng 2. Kết quả cho thấy, mô hình tương quan xây dựng với các hệ số tuyến tính, tương tác và bình phương của các yếu tố chiết xuất đều có ảnh hưởng đến hàm lượng alkaloid thu được với độ tin cậy 95%. Mô hình tương quan tốt cần có sự phù hợp giữa số liệu thực nghiệm và dự đoán (Bảng 1), vì vậy mô hình xây dựng với kiểm định Lack of fit (sự không phù hợp) không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) là điều cần thiết [16]. Thêm vào đó, mô hình tương quan tốt cần có hệ số xác định tương quan R^2 lớn hơn 0,8 [17]. Kết quả phân tích cho thấy hệ số tương quan R^2 của mô hình dự đoán là 0,9825 lớn hơn 0,8 và giá trị Lack of fit là 0,0692 lớn hơn 0,05. Vì vậy, khả năng phù hợp của mô hình dự đoán với thực nghiệm cho hàm lượng alkaloid là rất cao. Hệ số biến động (CV) đối với hàm lượng alkaloid là 3,83%, điều này cho thấy giá trị CV tương đối thấp, thể hiện mô hình phản hồi có độ tin cậy tốt [11]. Các hệ số trong phương trình hồi quy đều có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) ngoại trừ các hệ số A, BC ($p > 0,05$).

Bảng 2. Phân tích các hệ số tương quan của các yếu tố đến hàm lượng alkaloid

Nguồn	Sum of squares	Df	Mean square	F-value	p-value
Model	31789,91	9	3532,21	43,71	<0,0001
A-Ethanol	382,54	1	382,54	4,73	0,0661
B-Nhiệt độ	533,66	1	533,66	6,60	0,0370
C-Thời gian	480,50	1	480,50	5,95	0,0449
AB	503,78	1	503,78	6,23	0,0412
AC	728,73	1	728,73	9,02	0,0199
BC	12,64	1	12,64	0,1564	0,7043
A ²	1034,12	1	1034,12	12,80	0,0090
B ²	1340,33	1	1340,33	16,59	0,0047
C ²	25257,99	1	25257,99	312,56	<0,0001
Residual	565,67	7	80,81		
Lack of Fit	453,05	3	151,02	5,36	0,0692
Pure Error	112,62	4	28,16	N=17	CV=3,83%
Cor Total	32355,58	16	$R^2=0,9825$	$R^2_{\text{Adj}}=0,9600$	$R^2_{\text{Pre}}=0,7705$

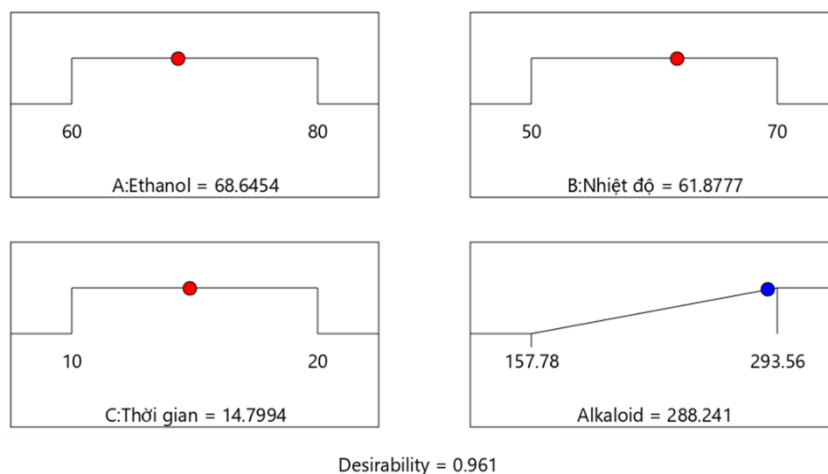
Đồ thị bề mặt đáp ứng ở Hình 2 cho thấy, các yếu tố chiết xuất như nồng độ ethanol, nhiệt độ và thời gian siêu âm đều có ảnh hưởng bậc 2 đến hàm lượng alkaloid. Khi nồng độ ethanol, nhiệt độ và thời gian siêu âm tăng thì hàm lượng alkaloid có khuynh hướng tăng, tuy nhiên tăng đến điểm tối ưu và có khuynh hướng giảm sau đó. Trong thời gian ngắn, nhiệt độ tăng cường quá trình chiết xuất nhưng trong thời gian tương đối dài, tác dụng bị đảo ngược do các hợp sinh học dễ bị mất hoạt tính bởi quá trình oxy hóa hoặc phân hủy ở nhiệt độ cao, thời gian chiết xuất kéo dài [18].



Hình 2. Bề mặt đáp ứng hàm lượng alkaloid của dịch chiết từ thân củ nghệ đen

Các thông số chiết xuất tối ưu đạt được từ mô hình với nồng độ ethanol là 68,65%, nhiệt độ siêu âm là 61,88°C và thời gian siêu âm là 14,80 phút. Với các thông số tối ưu này thì giá trị của hàm mục tiêu alkaloid đạt được là 288,24 mg AE/g cao chiết (Hình 3). Để kiểm định giá trị tối ưu tìm được từ mô hình dự đoán, nghiên cứu đã thực hiện theo phương án tốt nhất được đề ra: nồng độ ethanol 69%, nhiệt độ siêu âm 62°C, thời gian siêu âm là 15 phút và tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi là 1/30 (w/v); tiến hành kiểm định hàm lượng alkaloid trong cao chiết. Kết quả cho thấy hàm

lượng alkaloid ($289,25 \pm 0,43$ mg AE/g cao chiết) thu được có phần tương đương với kết quả dự đoán từ mô hình, chỉ chênh lệch nhau 1,01 mg AE/g cao chiết.



Hình 3. Hàm kỳ vọng và điều kiện chiết xuất tối ưu hàm lượng alkaloid

4. Kết luận

Nồng độ ethanol, nhiệt độ và thời gian siêu âm được xác định là các yếu tố ảnh hưởng nhiều đến quá trình chiết xuất alkaloid từ thân củ nghệ đen. Thông qua việc sử dụng mô hình thiết kế thí nghiệm Box-Behnken trong phần mềm Design expert, nghiên cứu đã xác định được điều kiện chiết xuất giàu alkaloid từ thân củ nghệ đen là sử dụng ethanol 68,65%, nhiệt độ siêu âm 61,88°C, thời gian siêu âm 14,80 phút và tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi là 1/30 (w/v), khi đó hàm lượng alkaloid đạt 288,24 mg AE/g cao chiết. Kết quả kiểm tra bằng thực nghiệm có độ tương thích cao. Như vậy, nghiên cứu đã xác định được quy trình chiết xuất dịch chiết giàu alkaloid từ thân củ nghệ đen.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] J. H. Schrittwieser and V. Resch, "The role of biocatalysts in the asymmetric synthesis of alkaloids," *RSC Advances*, vol. 3, no. 39, pp. 17602-17632, 2013.
- [2] M. Frederic, M. J. Jacquier, P. Thépenier, P. De Mol, M. Tits, G. Philippe *et al.*, "Antiplasmodial activity of alkaloids from various *Strychnos* species," *Journal of Natural Products*, vol. 65, no. 10, pp. 1381-1386, 2002.
- [3] C. J. Huang, W. C. Huang, W. T. Lin, L. H. Shu, J. R. Sheu, O. T. Tran, C. W. Hsia, T. Jayakumar, P.S. Bhavan, C. Y. Hsieh, and C. C. Chang, "Rutaecarpine, an alkaloid from *Evodia rutaecarpa*, can prevent platelet activation in humans and reduce microvascular thrombosis in mice: crucial role of the PI3K/AKT/GSK3B signal axis through a cyclic nucleotides/vasp—dependent mechanism," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 20, p. 11109, 2021.
- [4] V. Briones-Labarca, C. Giovagnoli-Vicuna, and R. Canas-Sarazua, "Optimization of extraction yield, flavonoids and lycopene from tomato pulp by high hydrostatic pressure-assisted extraction," *Food Chem*, vol. 278, pp. 751-759, 2019.
- [5] C. Agarwal, K. Mathe, T. Hofmann, and L. Csoka, "Ultrasound-Assisted Extraction of Cannabinoids from *Cannabis Sativa* L. Optimized by Response Surface Methodology," *J. Food Sci. Technol*, vol. 83, pp. 700-710, 2018.
- [6] Yuandani, I. Jantan, A. S. Rohani, and I. B. Sumantri, "Immunomodulatory effects and mechanisms of *Curcuma* species and their bioactive compounds: a review," *Front Pharmacol*, vol. 30, no. 12, pp. 643119, 2021.
- [7] Z. Ayati, M. Ramezani, M. S. Amiri, A. T. Moghadam, H. Rahimi, A. Abdollahzade, S. A. Emami, and A. Sahebkar, "Ethnobotany, phytochemistry and traditional uses of *Curcuma* spp. and pharmacological

- profile of two important species (*C. longa* and *C. zedoaria*): a review,” *Curr Pharm Des*, vol. 25, pp. 871-935, 2019.
- [8] T. K. Lee, T. A. Trinh, S. R. Lee, S. Kim, H. M. So, E. Moon, G. S. Hwang, K. S. Kang, J. H. Kim, N. Yamabe, and K. H. Kim, “Bioactivity-based analysis and chemical characterization of anti-inflammatory compounds from *Curcuma zedoaria* rhizomes using LPS-stimulated RAW264. 7 cells,” *Bioorg Chemistry*, vol. 82, pp. 26-32, 2019.
- [9] R. M. Lourebam, A. S. Yadav, G. C. Kundu, and P. B. Mazumder, “*Curcuma zedoaria* (christm.) roscoe inhibits proliferation of MDA-MB231 cells via caspase-cascade apoptosis,” *Orient Pharm Exp Med*, vol. 19, pp. 235-241, 2019.
- [10] S. Tariq, M. Imran, Z. Mushtaq, and N. Asghar, “Phytopreventive antihypercholesterolemia and antilipidemic perspectives of zedoary (*Curcuma zedoaria* Roscoe.) herbal tea,” *Lipids Health Dis*, vol. 15, p. 39, 2016.
- [11] N. F. Azahar, S. S. A. Gani, and N. F. Mohd Mokhtar, “Optimization of phenolics and flavonoids extraction conditions of *Curcuma zedoaria* leaves using response surface methodology,” *Chem Cent J*, vol. 11, no. 1, p. 96, 2017.
- [12] Ministry of Health, *Vietnam Pharmacopoeia V*. Medicine Publishing House, PL13-PL14, 2018.
- [13] F. Shamsa, H. Monsef, R. Ghamooshi, and M. Verdianrizi, “Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants,” *Thailand Journal Pharmacy Science*, vol. 32, pp. 17-20, 2008.
- [14] H. Teng and Y. H. Choi, “Optimization of ultrasonic-assisted extraction of bioactive alkaloid compounds from rhizoma coptidis (*Coptis chinensis* Franch.) using response surface methodology,” *Food Chemistry*, vol. 142, pp. 299-305, 2014.
- [15] J. Wu, D. Yu, H. Sun, Y. Zhang, W. Zhang, F. Meng, and X. Du, “Optimizing the extraction of anti-tumor alkaloids from the stem of *Berberis amurensis* by response surface methodology,” *Industrial Crops and Products*, vol. 69, pp. 68-75, 2015.
- [16] M. Zabeti, W. M. A. Daud, and M. K. Aroua, “Optimization of the activity of CaO/Al₂O₃ catalyst for biodiesel production using response surface methodology,” *Applied Catalysis A: General*, vol. 366, no. 1, pp. 154-159, 2009.
- [17] X. Guan and H. Yao, “Optimization of viscozyme L assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology,” *Food Chemistry*, vol. 106, pp. 345-351, 2008.
- [18] Y. Yilmaz and R. T. Toledo, “Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols,” *J Food Compos Anal*, vol. 19, pp. 41-48, 2006.