

Bước đầu chiết xuất và bào chế gel chứa dịch chiết giàu polyphenol từ cây Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.)

Initial extraction and gel formulation containing polyphenol-rich extract from Mugwort (*Artemisia vulgaris* L.)

Nguyễn Thị Ngọc Huyền, Trần Thị Diễm Thùy, Nguyễn Thị Thùy Trang*
Nguyen Thi Ngoc Huyen, Tran Thi Diem Thuy, Nguyen Thi Thuy Trang*

Khoa Dược, Trường Y Dược, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam
Faculty of Pharmacy, College of Medicine and Pharmacy, Duy Tan University, Da Nang, 550000, Vietnam

(Ngày nhận bài: 02/7/2023, ngày phản biện xong: 16/01/2024, ngày chấp nhận đăng: 25/01/2024)

Tóm tắt

Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.) là dược liệu có nguồn cung dồi dào và dễ thu hái ở Việt Nam; đồng thời, cây cũng chứa lượng chất chống oxy hóa đáng kể, đặc biệt là các hợp chất polyphenol như luteolin dạng liên hợp, quercetin, kaempferol,...

Quy trình chiết xuất từ phần trên mặt đất của Ngải cứu khô được khảo sát trên nhiều yếu tố như: loại dung môi chiết, lượng than hoạt sử dụng để loại tạp diệp lục, tỷ lệ dược liệu/dung môi, phương pháp và thời gian chiết, nhiệt độ chiết, dựa trên sự thuận lợi quá trình chiết xuất và hàm lượng phenol tổng số (μg đương lượng acid gallic (GAE)/g dược liệu khô - dw) để lựa chọn thông số phù hợp nhất của yếu tố cần khảo sát. Kết quả cho thấy chiết bằng dung môi ethanol 70%, tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/30, chiết bằng siêu âm trong 60 phút ở nhiệt độ 60-80°C cho quá trình chiết xuất thuận lợi và hàm lượng polyphenol cao nhất (7333,00 μg GAE/g dw). Với quy trình chiết trên, thử nghiệm đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của căn chiết Ngải cứu bằng phương pháp DPPH cho giá trị $\text{IC}_{50} = 47,15 \mu\text{g/ml}$.

Khảo sát công thức bào chế gel chứa dịch chiết giàu polyphenol từ Ngải cứu với các yếu tố như: loại và nồng độ tá dược tạo gel, tỷ lệ propylen glycol (PG)/glycerin. Kết quả khảo sát lựa chọn công thức gel gồm: tá dược tạo gel Carbomer 940 nồng độ 1% với tỷ lệ PG/glycerin là 2/1. Với công thức gel trên đạt các chỉ tiêu về: cảm quan; pH; độ đồng nhất và độ đàn mỏng; hàm lượng polyphenol tổng số trong gel là 3543,35 μg GAE/g gel (đạt hàm lượng 96,65%); hoạt tính chống oxy hóa cho kết quả giá trị IC_{50} là 50,81 $\mu\text{g/ml}$.

Từ khóa: Ngải cứu; *Artemisia vulgaris* L.; chiết xuất; gel chứa Ngải cứu; hàm lượng polyphenol tổng số; hoạt tính chống oxy hóa.

Abstract

Mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) is a plant which has an abundant supply and is easy to collect in Vietnam. Besides, the plant also contains significant amounts of antioxidants, especially polyphenols such as conjugated luteolin, quercetin, kaempferol, etc.

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Thùy Trang
Email: nguyentthuytrang57@duytan.edu.vn

The process of extracting aerial part of dried Mugwort was investigated on many influencing factors such as: solvent, the amount of activated carbon used to remove chlorophyll, ratio of material/solvent, extraction method, time and temperature, based on the convenience of extraction process and total phenol content (TPC: $\mu\text{g GAE/g dry weight - dw}$) to choose suitable parameters. The result indicated that extracting with ethanol 70%, ratio of material/solvent was 1/30, ultrasonic extraction (UAE) for 60 minutes at a temperature of 60-80°C gave a favorable extraction and the highest TPC – 7333.00 $\mu\text{g GAE/g dw}$. The antioxidant activity of ethanol extract was evaluated by DPPH method with IC_{50} value = 47.15 $\mu\text{g/ml}$.

Investigation of various factors for the formulation of gel containing Mugwort such as: type and concentration of gelling excipients, ratio of propylene glycol (PG)/glycerine. The result showed that gel formulation containing Carbomer 940 with concentration of 1% and ratio of PG/glycerine was 2/1 reached about organoleptic, pH, uniformity and thinness, TPC - 3543.35 $\mu\text{g GAE/g gel}$ (96.65%) and the antioxidant activity with IC_{50} value of 50.81 $\mu\text{g/ml}$.

Keywords: Mugwort; *Artemisia vulgaris* L.; extraction; gel containing Mugwort; total polyphenol content, antioxidant activity.

1. Đặt vấn đề

Hiện nay, xu hướng sử dụng mỹ phẩm có nguồn gốc thiên nhiên đang dần phổ biến và được nhiều người tin dùng. Theo xu thế đó, các nguồn dược liệu hiện đang thu hút sự quan tâm lớn của các nhà nghiên cứu, người tiêu dùng và ngành công nghiệp dược mỹ phẩm. Trong đó, dược liệu Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.) với nguồn cung dồi dào và dễ thu hái ở Việt Nam đang rất được quan tâm. Cây có nhiều hoạt tính sinh học có lợi với con người, dịch chiết Ngải cứu cũng chứa lượng chất chống oxy hóa đáng kể; do đó, cây cũng được ứng dụng nhiều vào các sản phẩm mỹ phẩm làm đẹp, sử dụng chống lão hóa da [3]. Tuy vậy, các đề tài nghiên cứu về dịch chiết Ngải cứu còn ít, chưa vận dụng nhiều vào các dạng bào chế phục vụ cho nhu cầu làm đẹp. Việc nghiên cứu chiết xuất giàu thành phần polyphenol hướng tới bào chế gel chứa dịch chiết từ nguồn gốc tự nhiên đem lại nhiều lợi ích và giá trị, giúp nâng cao hiệu quả ứng dụng các nguồn thảo dược tự nhiên. Chính vì vậy, đề tài “Bước đầu chiết xuất và bào chế gel chứa dịch chiết giàu polyphenol từ cây Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.)” được tiến hành thực hiện với 2 mục tiêu: 1. Xây dựng được quy trình chiết xuất dịch chiết giàu polyphenol của cây Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.) ở quy mô phòng thí nghiệm; 2. Bào chế được gel chứa dịch chiết Ngải cứu và đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng của gel tạo thành.

Từ đó, là tiền đề xây dựng được quy trình chiết xuất dịch chiết Ngải cứu có hàm lượng polyphenol cao ở quy mô lớn hơn và ứng dụng vào dạng bào chế gel chứa dịch chiết Ngải cứu có tác dụng chống oxy hóa, định hướng sử dụng trong việc chống lão hóa da.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Phần trên mặt đất của cây Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.).

Dịch chiết phần trên mặt đất của cây Ngải cứu.

Gel chứa dịch chiết giàu polyphenol từ Ngải cứu.

2.2. Nguyên liệu, hóa chất, thiết bị

Nguyên liệu: Phần trên mặt đất đã được làm khô của Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.). Nguyên liệu mua tại Công ty TNHH TM và DV Thanh Bình (quận Gò Vấp, Thành phố Hồ Chí Minh). Nguyên liệu được đóng trong túi zip kín khí, bảo quản ở nơi khô ráo, thoáng mát, tránh ánh nắng trực tiếp, tránh ẩm ướt trong quá trình nghiên cứu.

Hóa chất: Tá dược (Carbomer 940, gồm xanthan, hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) E15, PG, glycerin, triethanolamin (TEA), Tween 80, nipagin, nipasol), dung môi (ethanol, methanol, nước cất), chất chuẩn (acid gallic, acid ascorbic), thuốc thử (Folin-ciocalteu, Na_2CO_3 khan, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)).

Thiết bị: Cân kỹ thuật OHAUS, cân phân tích, tủ sấy MEMMERT, bể siêu âm Elma S60 (150W, 37kHz), máy đo quang phổ UV-VIS, bếp cách thủy, máy đo pH, máy đo độ ẩm.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp chiết xuất dịch chiết giàu polyphenol từ Ngải cứu: Cân chính xác khoảng 10,0g dược liệu Ngải cứu khô, tiến hành chiết theo phương pháp ngâm hoặc siêu âm với các thông số khảo sát về quá trình chiết xuất (loại dung môi, thể tích dung môi, thời gian, nhiệt độ). Dịch chiết sau đó được gạn lọc qua bông và loại tạp diệp lục bằng than hoạt, lọc nóng. Cô dịch chiết đến cạn để bảo quản và sử dụng.

Phương pháp bào chế gel chứa dịch chiết giàu polyphenol từ Ngải cứu: Cân và hòa tan nóng hỗn hợp gồm: nipagin, nipasol, PG và glycerin thu được dung dịch đồng nhất. Cân tá dược tạo gel và phối hợp từ từ vào dung dịch trên, để trương nở qua đêm. Hòa tan hoàn toàn cần chiết với 5ml dung môi thích hợp (tương ứng đã sử dụng trong quá trình chiết), sau đó phối vào hỗn hợp trên để đồng nhất. Điều chỉnh pH bằng TEA tạo thể chất gel (nếu sử dụng Carbomer 940). Thêm 1g Tween 80, bổ sung nước cất vừa đủ 20g. Khuấy nhẹ nhàng tạo gel đồng nhất, đóng tuýp/lọ.

Phương pháp định lượng hàm lượng phenol tổng số: Thí nghiệm được tiến hành theo mô tả của Kumar, S.G. (2018) [4] cùng các cộng sự, có hiệu chỉnh:

Thuốc thử: dung dịch Folin-ciocalteu 10%.

Dung dịch mẫu thử: hòa tan toàn bộ cần chiết trong 5ml dung môi thích hợp (tương ứng đã sử dụng trong quá trình chiết), thu được dung dịch trong, tiếp tục pha loãng đến nồng độ phù hợp. Lấy 1ml dịch đã pha loãng vào bình định mức 10ml. Thêm 2ml thuốc thử Folin-ciocalteu 10% và để phản ứng trong 5 phút. Tiếp tục, thêm 4ml Na_2CO_3 7,5%, bổ sung nước cất vừa đủ 10ml và lắc đều. Để yên trong vòng 90 phút, sau đó đo độ

hấp thụ quang ở bước sóng 765nm. Đối với gel chứa Ngải cứu, tiến hành tương tự, thay bước hòa tan cần trong dung môi thích hợp bằng phân tán/hòa tan 1g gel trong dung môi thích hợp (tương ứng đã sử dụng trong quá trình chiết).

Dung dịch chuẩn acid gallic: pha dung dịch chuẩn gốc (nồng độ 100 $\mu\text{g/ml}$). Chuẩn bị 1 dãy dung dịch chuẩn từ 10-100 $\mu\text{g/ml}$. Hút chính xác 1ml dung dịch acid gallic trong dãy chuẩn đã pha loãng trên cho vào bình định mức 10ml và tiến hành tương tự mẫu thử. Acid gallic được sử dụng để xây dựng đường chuẩn và kết quả được biểu thị bằng μg đương lượng acid gallic trên 1g dược liệu khô ($\mu\text{g GAE/g dw}$).

Công thức tính:

- Đối với dịch chiết:

$$TPC = \frac{A_{th} \times C_{ch} \times k \times V}{A_{ch} \times m_1 \times (100\% - H_1\%)}$$

- Đối với gel chứa dịch chiết:

$$TPC = \frac{A_{th} \times C_{ch} \times k \times V}{A_{ch} \times m_1} \times m_2$$

Trong đó:

- TPC : hàm lượng polyphenol tổng số ($\mu\text{g GAE/g dw}$)
 A_{th} : độ hấp thụ của mẫu thử
 A_{ch} : độ hấp thụ của chuẩn acid gallic
 C_{ch} : nồng độ acid gallic xác định theo đường chuẩn ($\mu\text{g/ml}$)
 V : thể tích dung môi hòa mẫu thử (ml)
 K : hệ số pha loãng
 m_1 : khối lượng của dược liệu (g)
 m_2 : khối lượng gel chứa dịch chiết (g)
 $H_1\%$: độ ẩm của dược liệu (%)

Phương pháp đánh giá hoạt tính chống oxy hóa bằng thuốc thử DPPH: Hoạt tính chống oxy hóa được đánh giá theo mô tả của Madhav, K. (2018) [5] và Nguyen, Q.V. (2011) [9] cùng các cộng sự, có hiệu chỉnh:

Thuốc thử: pha thuốc thử DPPH trong methanol nồng độ $6 \times 10^{-5}\text{M}$.

Dung dịch thử:

Đối với căn chiết: hòa tan hoàn toàn một lượng chính xác căn chiết (tương ứng với 1 mẻ chiết xuất 10g dược liệu khô) bằng 5ml dung môi thích hợp (tương ứng đã sử dụng trong quá trình chiết), sau đó thêm methanol vừa đủ đến 50ml để được dung dịch thử gốc nồng độ khoảng 1 mg/ml. Chuẩn bị dãy các dung dịch thử nồng độ thích hợp (từ 10–80 µg/ml).

Đối với gel: hòa tan chính xác khoảng 3g gel vào dung môi methanol sau đó thêm methanol vừa đủ đến 25ml để được dung dịch thử gốc nồng độ polyphenol khoảng 1 mg/ml. Chuẩn bị dãy các dung dịch thử nồng độ thích hợp (từ 10–80 µg/ml).

Ống thử: 1ml dung dịch thử + 10ml dung dịch DPPH

Ống chứng: 1ml methanol + 10ml dung dịch DPPH

Lắc đều các ống trong 15 giây, để trong tối 30 phút và đo quang ở bước sóng 517nm. Thí nghiệm được lặp lại 03 lần.

Acid ascorbic được sử dụng làm chứng dương. Mẫu acid ascorbic được dùng để so sánh thông qua giá trị IC₅₀ để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa. Sử dụng phương pháp đường chuẩn để tính IC₅₀.

Hoạt tính chống oxy hóa (I%) được tính theo công thức:

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

Trong đó:

I (%): Hoạt tính chống oxy hóa DPPH

A_c: Mật độ quang ống chứng

A_s: Mật độ quang ống thử

Phương pháp đánh giá các chỉ tiêu của gel chứa dịch chiết giàu polyphenol từ Ngải cứu:

- **Cảm quan:** Quan sát, ghi nhận về màu sắc, mùi hương và thể chất của gel tạo thành.

- **pH:** Cân khoảng 1g gel phân tán vào 10ml nước cất và tiến hành đo pH bằng máy đo pH, ghi lại giá trị hiển thị trên máy.

- **Độ đồng nhất (thực hiện ở công thức tốt nhất):** Lấy 04 mẫu gel, mỗi mẫu khoảng 0,02g đến 0,03g, trải đều chế phẩm trên 4 phiến kính. Đặt mỗi phiến kính bằng một phiến kính thứ 2 và ép mạnh cho tới khi tạo thành một vết có đường kính khoảng 2cm. Quan sát vết thu được bằng mắt thường (cách mắt khoảng 30cm). Gel đạt về độ đồng nhất nếu không có tiểu phân nào được quan sát thấy bằng mắt thường.

- **Độ dàn mỏng (thực hiện ở công thức tốt nhất):** Sử dụng 2 tấm kính, đặt một lượng chế phẩm nhất định (khoảng 1g) lên trên một tấm kính, sau đó đặt tấm kính còn lại lên trên. Đọc đường kính của khối thuốc mỡ đã tán ra. Tỷ lệ diện tích tán ra của chế phẩm trên khối lượng (hay còn gọi là độ dàn mỏng của chế phẩm) được tính theo công thức:

$$S = \frac{\pi d^2}{4}$$

Trong đó:

S: Độ dàn mỏng của chế phẩm (mm²/g)

π = 3,1416

d: Đường kính tán ra của chế phẩm (mm)

Giới hạn đạt khi giá trị nằm trong khoảng 1200–5000 (mm²/g).

3. Kết quả nghiên cứu và bàn luận

3.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng các yếu tố đến quy trình chiết xuất Ngải cứu

Khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quy trình chiết xuất Ngải cứu theo các thông số quy trình có trong Bảng 1.

Bảng 1. Các công thức khảo sát yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất Ngải cứu

Yếu tố khảo sát	Công thức	Loại dung môi	Lượng than hoạt	Thể tích dung môi	Phương pháp	Thời gian	Nhiệt độ
Lượng than hoạt thêm vào	CT1 đến CT9	Nước, EtOH 70%, MeOH	0,5g, 1g, 1,5g, 2g	100ml	Ngâm	16 giờ	PTN
Loại dung môi chiết	CT10 đến CT15	Nước + 0g than hoạt EtOH 70% + 1g than hoạt MeOH + 1 g than hoạt			Ngâm trong 16 giờ, Siêu âm trong 15 phút		
Tỷ lệ được liệu/ dung môi	CT16 đến CT19	EtOH 70%	1g	100ml, 300ml	Ngâm trong 16 giờ, Siêu âm trong 15 phút		
Phương pháp chiết và thời gian chiết	CT20 đến CT23	EtOH 70%	1g	300ml	Ngâm trong 16 giờ, Ngâm trong 36 giờ		PTN
					Siêu âm trong 15 phút, Siêu âm trong 60 phút		
Nhiệt độ chiết	CT24						
	CT25	60–80°C					

Ghi chú: MeOH: Methanol EtOH: ethanol

PTN: nhiệt độ phòng thí nghiệm (không gia nhiệt)

Khối lượng được liệu khô sử dụng cho mỗi công thức: 10,0g

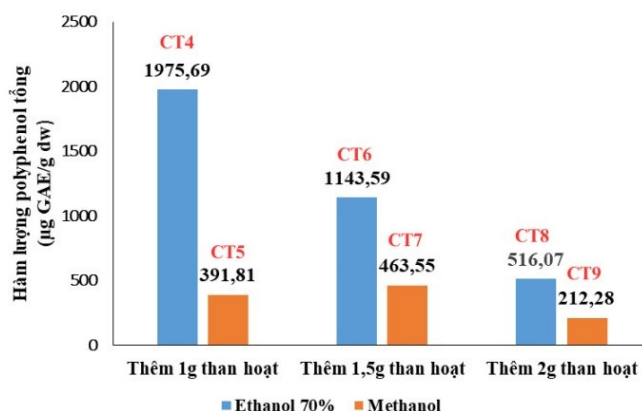
3.1.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của lượng than hoạt tính sử dụng để loại tạp

Mục đích việc thêm than hoạt tính vào dịch chiết Ngải cứu nhằm loại tạp, đặc biệt là tạp diệp lục. Tạp diệp lục sẽ ảnh hưởng đến gel bào chế từ cồn chiết Ngải cứu, sẽ gây bám màu trên da. Tuy nhiên, một số nghiên cứu cũng khuyến cáo cần sử dụng lượng than hoạt tính ở mức phù hợp, tránh việc loại cả polyphenol có trong dịch chiết.

Khảo sát lượng than hoạt tính ở 4 mức: 0,5g; 1g; 1,5g; 2g cho 3 dung môi chiết gồm: nước, ethanol 70% và methanol. Khi sử dụng than hoạt tính ở mức 0,5g ở cả 3 dung môi: nước, ethanol 70% và MeOH (tương ứng các công thức CT1, CT2, CT3), thực nghiệm cho thấy dịch chiết ở CT2 và CT3 cho màu xanh đậm (màu xanh của tạp diệp lục) trong khi dịch chiết ở CT1 không xuất hiện màu xanh. Điều này có thể giải thích do thành phần chính của diệp lục là clorophyll – hợp chất tan được trong ethanol và methanol,

không tan trong nước. Với tính chất này, không cần sử dụng than hoạt tính để loại tạp khi chiết bằng dung môi nước.

Kết quả tại Hình 1 cho thấy lượng than hoạt tính sẽ ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol tổng số có trong dịch chiết Ngải cứu. Hàm lượng polyphenol tổng số khi chiết bằng dung môi ethanol 70% có xu hướng giảm khi lượng than hoạt tính tăng dần từ 1g đến 2g; trong khi đó, chiết bằng methanol cho thấy sự thay đổi không đáng kể khi lượng than hoạt tính tăng từ 1g đến 1,5g nhưng giảm dần khi tăng đến 2g. Dựa vào tính chất của than hoạt tính, diệp lục và polyphenol, lựa chọn than hoạt để tập trung loại tạp diệp lục (chất hữu cơ không phân cực) là phù hợp, trong khi polyphenol là chất phân cực do chứa nhiều –OH phenol. Tuy nhiên, nếu sử dụng quá nhiều ngoài mục đích loại tạp, than hoạt tính có thể sẽ loại luôn hợp chất polyphenol (đối tượng cần chiết) trong Ngải cứu.



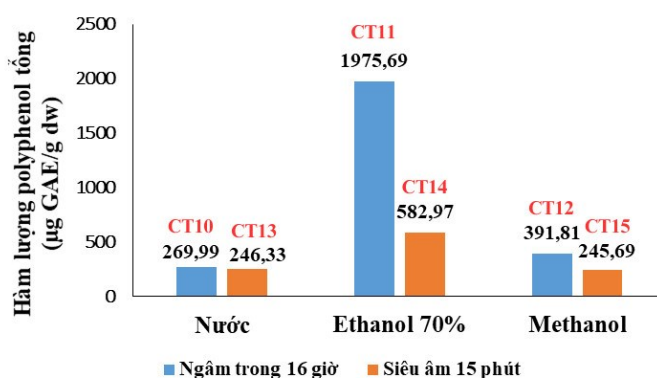
Hình 1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của yếu tố lượng than hoạt tính sử dụng để loại tạp

Kết quả cũng cho thấy mỗi dung môi có độ phân cực khác nhau sẽ có ái lực khác nhau với than hoạt và ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol tổng số. Lựa chọn sử dụng 1g than hoạt tính để loại tạp diệp lục trong dịch chiết ethanol 70% và methanol cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.1.2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của loại dung môi

Dung môi là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến việc chiết các hợp chất có

hoạt tính sinh học từ nguồn nguyên liệu tự nhiên. Hiệu suất chiết phụ thuộc vào độ phân cực của dung môi và bản chất của chất cần chiết xuất trong nguyên liệu. Kết quả khảo sát ảnh hưởng loại dung môi chiết đến hàm lượng polyphenol tổng số thể hiện tại Hình 2 cho thấy kết quả đạt cao nhất khi chiết bằng dung môi ethanol 70% ở cả 2 phương pháp (ngâm 16 giờ - công thức CT11 và siêu âm 15 phút – công thức CT14) với kết quả hàm lượng polyphenol tổng số lần lượt là 1975,69 µg GAE/g dw và 582,97 µg GAE/g dw.



Hình 2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của yếu tố dung môi chiết

Kết quả này tương đồng với nhiều nghiên cứu về khả năng hòa tan polyphenol trong dung môi chiết phụ thuộc vào độ phân cực của dung môi, trong đó methanol và ethanol là một trong những dung môi thích hợp, được sử dụng rộng rãi để chiết tách polyphenol từ thực vật [14, 15]. Tuy nhiên, ethanol là dung môi không độc, rẻ tiền, dễ kiếm, thân thiện môi trường, trong khi methanol là dung môi hạn chế sử dụng để bào chế mỹ

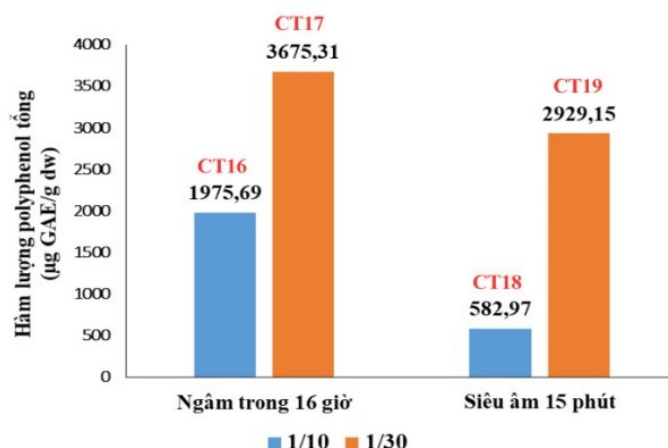
phẩm trên da. Vì vậy, lựa chọn ethanol 70% là dung môi để chiết xuất trong các khảo sát tiếp theo.

3.1.3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ dược liệu/dung môi

Tỷ lệ dược liệu/dung môi là yếu tố không chỉ ảnh hưởng đến chiết xuất mà còn ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế và các giai đoạn bào chế gel từ

dịch chiết. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ dược liệu/dung môi đến hàm lượng polyphenol tổng số thể hiện tại Hình 3 cho thấy lượng dung môi được sử dụng có tỷ lệ thuận với hàm lượng polyphenol tổng số. Đối với cả 2 phương pháp chiết, hàm lượng polyphenol đều tăng đáng kể khi tăng tỷ lệ từ mức thấp (1/10) – tương ứng

công thức CT16 và CT18 lên mức cao (1/30) – tương ứng công thức CT17 và CT19. Nguyên nhân của sự thay đổi trên có thể giải thích khi lượng dung môi ở tỷ lệ 1/10 chưa đủ để hòa tan, chiết xuất tối đa polyphenol ra khỏi tế bào dược liệu. Khi tỷ lệ này tăng lên, hàm lượng polyphenol cũng tăng lên.



Hình 3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của yếu tố: tỷ lệ dược liệu/dung môi

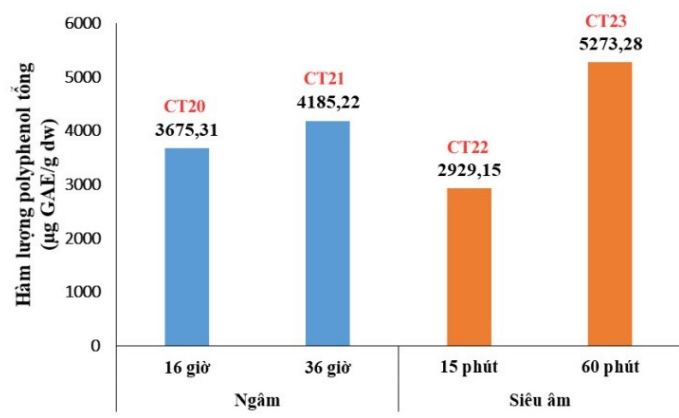
Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Oreopoulou, A. và cộng sự (2019) về các yếu tố ảnh hưởng chiết xuất polyphenol ở thực vật, tỷ lệ dược liệu/dung môi thích hợp hay được sử dụng là từ 1/20 đến 1/40, nếu tỷ lệ này vượt quá thì hiệu suất chiết polyphenol sẽ giảm. Nguyên nhân có thể do khi tăng lượng dung môi thì ngoài tăng hiệu suất chiết polyphenol, còn kéo theo những tạp khác ra khỏi dược liệu [10]. Do đó, để cân bằng hiệu quả chiết xuất và lượng dung môi sử dụng, tiến hành lựa chọn tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/30 (10g/300ml) cho những thí nghiệm sau.

3.1.4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của phương pháp và thời gian chiết

Xác định phương pháp chiết và thời gian chiết của quá trình chiết xuất là cần thiết để có thể chiết xuất được hầu hết các hợp chất polyphenol. Kết quả thể hiện tại Hình 4 cho thấy tăng thời gian chiết ở cả 2 phương pháp chiết ngâm và siêu âm đều cho hàm lượng polyphenol tổng số tăng.

Trong đó, độ chênh lệch của phương pháp siêu âm đáng kể hơn so với độ chênh lệch của phương pháp ngâm, cụ thể: khi chiết bằng cách ngâm tăng 20 giờ (từ 16 lên 36 giờ) thì hàm lượng polyphenol tổng số chỉ tăng gấp 1,3 lần; còn khi chiết bằng siêu âm thêm 45 phút (từ 15 lên 60 phút) thì có sự tăng hàm lượng vượt trội - xấp xỉ 2 lần.

Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu tiến hành vào năm 2014 khi so sánh và lựa chọn chiết xuất Ngải cứu bằng phương pháp ngâm và phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm, theo đó chiết siêu âm là phương pháp chiết tốt hơn, giàu hàm lượng polyphenol. Ưu điểm của chiết siêu âm có thể kể đến là quy trình có thời gian chiết nhanh hơn, cho chất lượng dịch chiết cao hơn so với phương pháp ngâm, cụ thể: siêu âm trong 2 giờ cho hàm lượng polyphenol tổng số tương đương với ngâm trong 48 giờ (hàm lượng polyphenol tổng số lần lượt là 8,4 mg GAE/g dw và 7,92 mg GAE/g dw) [7].



Hình 4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố: phương pháp và thời gian chiết

3.1.5. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ chiết

Nhiệt độ có ảnh hưởng lớn đến quá trình chiết Ngải cứu. Kết quả khảo sát cho thấy việc gia nhiệt (chiết nóng ở 60°C–80°C) cho hàm lượng polyphenol tổng số cao hơn khi không có tác động của nhiệt độ (Bảng 2).

Kết quả này cũng tương tự các nghiên cứu khác về sự tương quan giữa nhiệt độ và hàm lượng polyphenol tổng số, cụ thể, dịch chiết càng giàu polyphenol khi nhiệt độ chiết tăng dần từ 20°C đến 80°C, nhiệt độ chiết ở 60°C – 80°C được lựa chọn là khoảng nhiệt độ tối ưu trong nhiều nghiên cứu liên quan [1, 8, 10, 16]. Về lý

thuyết, khi tăng nhiệt độ chiết dẫn đến tăng tính thấm của thành tế bào, vì vậy, tăng độ hòa tan của hợp chất polyphenol; đồng thời xảy ra hiện tượng phá hủy các liên kết este, ete, lignin của hợp chất polyphenol, giải phóng các hợp chất polyphenol ở dạng liên kết thành dạng tự do [1, 10].

Ngoài ra, nếu nhiệt độ chiết cao hơn 80°C có thể hình thành các sản phẩm mới của phản ứng phụ Maillard do polyphenol kém bền với nhiệt [1] và bản chất dung môi chiết cũng bị ảnh hưởng ở nhiệt độ cao [8]; do đó, sẽ làm giảm hiệu suất quá trình chiết xuất các hợp chất polyphenol [2].

Bảng 2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của yếu tố nhiệt độ chiết

Quy trình	Nhiệt độ chiết	Hàm lượng polyphenol tổng số (µg GAE/g dw)
CT24	Nhiệt độ phòng (≈ 25°C–30°C)	5273,28
CT25	Nhiệt độ nóng (60°C–80°C)	7333,00

Từ các kết quả khảo sát trên, lựa chọn các yếu tố khảo sát thuận lợi cho quá trình chiết (quy mô 10g dược liệu khô) và thu được dịch chiết có hàm lượng polyphenol tổng số cao, gồm: dung môi chiết: ethanol 70%; lượng than hoạt dùng loại tạp diệp lục: 1g; tỷ lệ dược liệu/dung môi: 1/30 (10g/300ml); phương pháp chiết: siêu âm trong 60 phút; nhiệt độ chiết xuất: 60 – 80°C.

3.2. Kết quả khảo sát về bào chế gel chứa dịch chiết Ngải cứu ở quy mô phòng thí nghiệm

Tiến hành bào chế gel với tổng khối lượng 20g theo các yếu tố có trong Bảng 3, sau đó đánh giá trên các chỉ tiêu: cảm quan, pH, hàm lượng polyphenol tổng số.

Bảng 3. Các công thức khảo sát thành phần gel chứa dịch chiết Ngải cứu (quy mô 20g)

Yếu tố khảo sát	Công thức	Tá dược tạo gel	Nồng độ (% w/w)	Khối lượng PG/Glycerin
Loại và nồng độ tá dược tạo gel	G1, G2	Carbomer 940	0,5%, 1%	1g/1g
	G3, G4	Gôm xanthan	0,5%, 1%	
	G5, G6	HPMC E15	8%, 9%	
Tỷ lệ PG/Glycerin	G2	Carbomer 940	1%	1g/1g
	G8			2g/1g

Ghi chú: Tá dược tăng tính thấm: Tween 80 (1g);

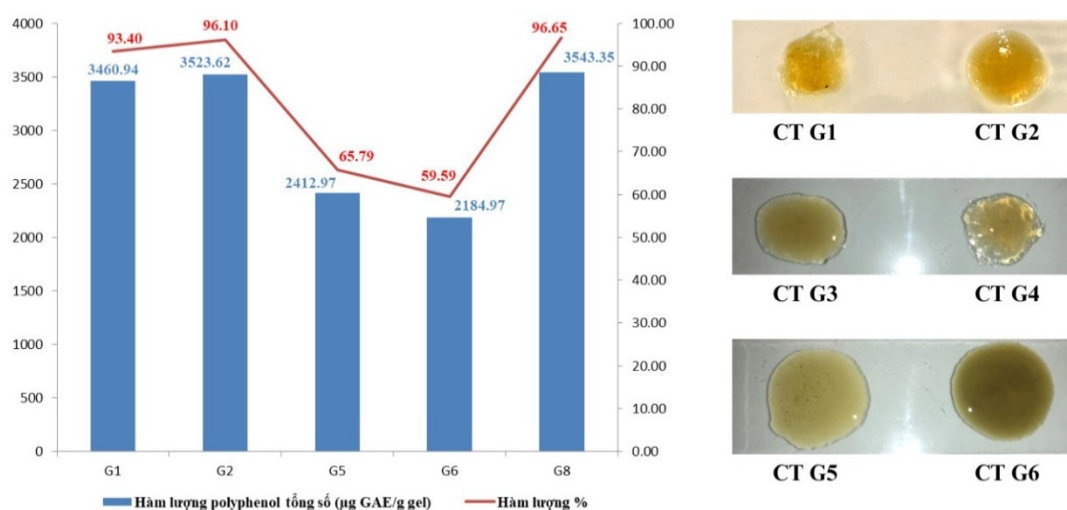
Tá dược bảo quản: Nipagin (0,18%), Nipasol (0,02%)

Nước cất vừa đủ 20g

- **Cảm quan gel:** hầu hết các công thức gel cho cảm quan có màu nâu, có mùi thơm Ngải cứu dịu nhẹ (Hình 5). Công thức gel có thể chất phù hợp, có độ đặc vừa phải là công thức G2 khi sử dụng tá dược tạo gel là Carbomer 940 với nồng độ 1%. Trong khi đó, công thức chứa tá dược tạo gel

gôm xanthan (G3, G4) cho cảm quan không đạt (nhiều lợn cợn) nên không tiến hành định lượng.

- **pH gel:** tất cả các công thức gel đều nằm trong khoảng pH từ 4-6. Đây là khoảng pH thích hợp, được khuyến cáo có thể sử dụng cho da (khoảng pH cho da là 4,5 – 6,5) [6].



Hình 5. Kết quả giá trị hàm lượng polyphenol tổng số và hình ảnh cảm quan của các công thức gel

- **Hàm lượng polyphenol tổng số có trong gel Ngải cứu** (Hình 5)

Nhóm công thức gel sử dụng Carbomer 940 (G1, G2) cho kết quả cao hơn so với các công thức sử dụng tá dược tạo gel gôm xanthan hay HPMC E15. Trong đó, công thức G2 (sử dụng Carbomer 940 1%) cho kết quả cao nhất: 3523,62 μg GAE/g gel, hàm lượng đạt 96,10%.

Khi khảo sát về tỷ lệ PG/Glycerin, hàm lượng polyphenol tổng số trong cả 2 công thức gel đều

không có sự chênh lệch đáng kể (G2 và G8). Hàm lượng polyphenol tổng số cao nhất ở tỷ lệ 2/1 (3543,35 μg GAE/g gel, hàm lượng đạt 96,65%). Điều này cũng tương đồng với kết quả của Sari, D.P. và các cộng sự (2022) khi nghiên cứu bào chế gel từ Ngải cứu [13].

Từ kết quả thực nghiệm trên, lựa chọn tá dược tạo gel phù hợp là Carbomer 940 1% và PG/Glycerin ở tỷ lệ 2/1 khi tiến hành bào chế gel.

Do vậy, công thức được lựa chọn cho bào chế gel chứa dịch chiết giàu polyphenol từ Ngải cứu (tổng khối lượng 20g) gồm các thành phần sau: tá dược tạo gel: Carbomer 940 (0,2g); tá dược giữ ẩm và tăng hấp thu qua da: PG (2g) và glycerin (1g); tá dược tăng tính thẩm qua da: Tween 80 (1g); tá dược bảo quản: nipagin (0,036g) và nipasol (0,004g); nước cất vừa đủ 20g.

Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng ở công thức gel tốt nhất (G8) cho kết quả gel đạt

về cảm quan; pH = 6,02; đạt về độ đồng nhất (không quan sát thấy tiểu phân) và độ đàn mỏng (3374,07 mm²/g); hàm lượng polyphenol tổng số trong gel là 3543,35 µg GAE/g gel (đạt hàm lượng 96,65%).

3.3. Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của căn chiết Ngải cứu và gel chứa dịch chiết giàu polyphenol từ Ngải cứu

Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của căn chiết và gel chứa dịch chiết giàu polyphenol từ Ngải cứu thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của căn chiết và gel chứa dịch chiết giàu polyphenol từ Ngải cứu

Đối tượng	Căn chiết	Gel	Acid ascorbic chuẩn
IC ₅₀ (µg/ml)	47,15	50,81	25,75

Kết quả cho thấy giá trị IC₅₀ của căn chiết Ngải cứu cao hơn gấp 1,83 lần so với dung dịch acid ascorbic chuẩn trong cùng điều kiện thử nghiệm. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Pandey, B.P và các cộng sự năm 2017 - kết quả hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết Ngải cứu có giá trị IC₅₀ là 48,77 ± 0,11 µg/ml, cao hơn gấp 1,39 lần so với giá trị IC₅₀ của acid ascorbic là 35,05 ± 0,11 µg/ml [11].

Giá trị IC₅₀ của gel chứa dịch chiết Ngải cứu là 50,81 µg/ml (nằm trong khoảng 50–100 µg/ml), được xếp vào nhóm hoạt tính chống oxy hóa trung bình [12]. Giá trị này cao hơn gấp 1,97 lần so với dung dịch acid ascorbic chuẩn và gấp 1,07 lần so với căn chiết Ngải cứu.

Từ đó cho thấy hoạt tính chống oxy hóa của căn chiết Ngải cứu xấp xỉ gel chứa dịch chiết giàu polyphenol từ Ngải cứu, tuy nhiên thấp hơn so với dung dịch acid ascorbic chuẩn. Vì vậy, có thể vận dụng bào chế gel chứa dịch chiết giàu polyphenol từ Ngải cứu có tác dụng chống oxy hóa, hướng tới ứng dụng phòng, ngăn ngừa lão hóa da, chống nếp nhăn.

4. Kết luận và đề xuất

Đã khảo sát được các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất Ngải cứu ở quy mô phòng thí nghiệm (quy mô 10g/mẻ), từ đó thu được các thông số phù hợp cho quá trình chiết xuất Ngải cứu bao gồm: dung môi chiết: ethanol 70%, loại tạp diệp lục với lượng than hoạt sử dụng: 1g, tỷ lệ dược liệu/dung môi: 1/30 (10g/300ml) và chiết bằng phương pháp siêu âm trong 60 phút ở nhiệt độ 60-80°C. Kết quả cho căn chiết có hàm lượng polyphenol tổng số là 7333,00 µg GAE/g dw; hoạt tính chống oxy hóa với giá trị IC₅₀ = 47,15 µg/ml.

Đã bào chế được gel chứa dịch chiết giàu polyphenol từ Ngải cứu ở quy mô phòng thí nghiệm (quy mô 20g). Công thức bào chế gel tốt nhất (G8) cho sản phẩm gel: đạt về cảm quan; pH; độ đồng nhất và độ đàn mỏng; hàm lượng polyphenol tổng số trong gel là 3543,35 µg GAE/g gel (đạt hàm lượng 96,65%); hoạt tính chống oxy hóa với giá trị IC₅₀ là 50,81 µg/ml.

Tiếp tục tối ưu hóa về bào chế gel và đánh giá khả năng giải phóng qua màng, độ ổn định của gel; thử nghiệm lên men dịch chiết trước khi bào chế gel và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết Ngải cứu trước và sau lên men với các vi khuẩn họ *Bacillus sp.*; đánh giá thêm một số tác dụng khác của Ngải cứu như: chống viêm, kháng nấm, kháng khuẩn.

Tài liệu tham khảo

- [1] Antony, A., et al. (2022). "Effect of temperatures on polyphenols during extraction". *Applied Sciences*, 12(4), pp. 2107-2121. DOI: 10.3390/app12042107
- [2] Dent, M., et al. (2013). "The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in Dalmatian wild sage (*Salvia officinalis* L.) extracts". *Food technology and biotechnology*, 51(1), PP. 84-91.
- [3] Ekiert, H., et al. (2020). "Significance of *Artemisia Vulgaris* L. (Common Mugwort) in the History of Medicine and Its Possible Contemporary Applications Substantiated by Phytochemical and Pharmacological Studies". *Molecules*, 25(19), pp. 1-32. DOI: 10.3390/molecules25194415
- [4] Kumar, S.G., et al. (2018). "Qualitative and quantitative phytochemical profile and *in vitro* antioxidant activity of methanolic extract of *Artemisia vulgaris*". *The Pharma Innovation Journal*, 7(9), pp. 348-354.
- [5] Kunal, M., et al. (2018). "Antioxidant analysis of essential oils and methanolic extracts of *Artemisia vulgaris*", *International Journal of Agriculture Sciences*, pp. 5710-5713.
- [6] Mappa, T., et al. (2013). "Formulasi gel ekstrak daun sasaladahan (*Peperomia pellucida* (L.) HBK) dan uji efektivitasnya terhadap luka bakar pada kelinci (*Oryctolagus cuniculus*)". *Pharmakon*, 2(2), pp. 49-55.
- [7] Melguizo-Melguizo, D., et al. (2014). "The potential of *Artemisia vulgaris* leaves as a source of antioxidant phenolic compounds". *Journal of functional foods*, 10, pp. 192-200. DOI: 10.1016/j.jff.2014.05.019
- [8] Morsli, F., et al. (2021). "Appraisal of the combined effect of time and temperature on the total polyphenol yield in batch stirred-tank extraction of medicinal and aromatic plants: The extraction efficiency factor". *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 25, pp. 1-7. DOI: 10.1016/j.jarmap.2021.100340
- [9] Nguyen, Q.V., et al. (2011). "Antioxidant activity of solvent extracts from Vietnamese medicinal plants", *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(13), pp. 2798-2811.
- [10] Oreopoulou, A., et al. (2019). Chapter 15: Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: an overview of the methods and the effect of extraction parameters. In Watson, R.R. (Eds.), *Polyphenols in plants: Isolation and Analysis of Polyphenol Structure* (pp. 243-259). United States of America: Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-813768-0.00025-6
- [11] Pandey, B.P., et al. (2017). "Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oil and methanol extract of *Artemisia vulgaris* and *Gaultheria fragrantissima* collected from Nepal". *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(10), pp. 952-959. DOI: 10.1016/j.apjtm.2017.09.005
- [12] Phongpaichit, S., et al. (2007). "Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants". *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 51(3), pp. 517-525. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2007.00331.x
- [13] Sari D.P., et al. (2022). "The Effectiveness of Mugwort Leaf Extract and Gotu Kola Leaf Extract against Acne Bacterial Activity". *ASEAN Journal of Science and Engineering*, 2(3), pp. 249-256. DOI: 10.17509/xxxx.xxxx
- [14] Singh, R., et al. (2012). "Total phenolic, flavonoids and tannin contents in different extracts of *Artemisia absinthium*". *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 1(2), pp. 101-104. DOI: 10.5455/jice.20120525014326
- [15] Sumbe, R.B., et al. (2023). "A pharmacotherapeutic screening of *Artemisia vulgaris* whole plant: A brief review". *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 12(1), pp. 298-302.
- [16] Wu, W., et al. (2021). "Polyphenols from *Artemisia argyi* leaves: Environmentally friendly extraction under high hydrostatic pressure and biological activities". *Industrial Crops and Products*, 171, pp. 1-9. DOI: 10.1016/j.indcrop.2021.113951.