NGHIÊN CỨU ĐỊNH LƯỢNG BERBERIN TRONG CÂY HOÀNG LIÊN Ô RÔ (*Mahonia* Nutt.) BẰNG SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Lưu Thúy Hòa[1], Nguyễn Thị Kiều Anh[2],
Trần Văn Ơn[2], Khuất Hữu Trung[3*]

TÓM TẮT

Hoàng liên ô rô (*Mahonia* Nutt.) được sử dụng từ lâu đời trong việc chữa các bệnh do đặc tính kháng khuẩn, nấm và đơn bào. Nhưng đến nay loài thực vật này chưa được ghi trong Dược điển Việt Nam. Hàm lượng berberin được xác định bởi phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao đáp ứng yêu cầu AOAC 2013 là một thông số quan trọng. Do đó, khảo sát điều kiện chiết, điều kiện sắc ký và xây dựng, thẩm định quy trình phù hợp, chính xác cho việc định lượng berberin ở Hoàng liên ô rô được tiến hành. Kết quả xây dựng được quy trình đáp ứng với các yêu cầu của AOAC 2013 như độ đặc hiệu phù hợp, độ chính xác cao, độ đúng tốt, khoảng tuyến tính phù hợp. Quy trình này được sử dụng định lượng hợp chất berberin trong 3 mẫu Hoàng liên ô rô thuộc cùng khu vực địa lý nhưng khác nhau về di truyền cho thấy: hàm lượng berberin ở mẫu MH9 (1,37%) cao hơn so với hàm lượng berberin ở hai mẫu MH10 (0,56%) và MH11 (0,30%). Kết quả của nghiên cứu này có ý nghĩa trong công tác định danh loài, bảo tồn, nhân giống và phát triển nguồn gen Hoàng liên ô rô và có thể làm cơ sở định hướng để thực hiện các bước tiếp theo, hướng đến việc tiêu chuẩn hóa loại cây này là dược liệu được ghi nhận trong Dược điển Việt Nam.

Từ khóa: Hoàng liên ô rô *(Mahonia* Nutt.), sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), berberin

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, Hoàng liên ô rô vốn được biết đến là một vị thuốc dùng để chữa các bệnh như kiết lỵ, tiêu chảy, viêm ruột, ăn uống không tiêu, vàng da, đau mắt, mẩn ngứa, ho lao (Đỗ Huy Bích và *cs.,* 2006). Hoàng liên ô rô còn có tên gọi khác là Ích hoàng liên, Hoàng bá gai, phân bố ở vùng ôn đới ấm hoặc cận nhiệt đới châu Á, bao gồm Trung Quốc, Ấn Độ và một số nước ở vùng Trung Á. Ở Việt Nam, Hoàng liên ô rô là cây thuốc thuộc diện quý hiếm, thường có ở các tỉnh Hà Giang, Cao Bằng, Lào Cai (Đỗ Tất Lợi, 2004). Thành phần hoá học của dược liệu Hoàng liên ô rô chủ yếu là các alkaloid như berberin, palmatin, berbamin, jatrozzhizin, magnoorin, oxyacanthin,…(Cao Thùy Hương và *cs*., 2009; Shion-Jane Lin *et al*., 1996). Trong đó, berberin là thành phần chính, chiếm từ 0,35 đến 2,5% trong bộ phận thân cây Hoàng liên ô rô (Nguyễn Quang Vĩnh và *cs*., 2017), đồng thời dược liệu này là nguồn nguyên liệu chính để sản xuất hợp chất berberin clorit.

Khảo sát quy trình định lượng berberin trong thân, cành của Hoàng liên ô rô bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) nhằm xây dựng phương pháp định lượng hàm lượng berberin trong các mẫu Hoàng liên ô rô phục vụ công tác định danh giống/loài, bảo tồn và phát triển dược liệu này.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu Hoàng liên ô rô thu hái ở vùng Tây Bắc (Sapa, Lào Cai) đã được đánh giá đa dạng di truyền thuộc 2 nhóm khác nhau: nhóm I [nhóm phụ 1.1 (MH9)], nhóm II [nhóm phụ 2.1 (MH10) và nhóm phụ 2.2 (MH11)] (Lưu Thúy Hòa và *cs*., 2017).

Các thiết bị, dụng cụ đã được hiệu chuẩn, đáp ứng yêu cầu GLP (Good Laboratory Practice - Thực hành tốt phòng thí nghiệm) của Tổ chức hợp tác và phát triển kinh tế (OECD), và các tài liệu cập nhật được công bố trên cổng thông tin điện tử của Bộ Y tế (http://moh.gov.vn), Cục Quản lý Dược (http://dav.gov.vn)...

Các dung môi, hóa chất sử dụng đều đạt tiêu chuẩn hóa chất tinh khiết phân tích (PA) hoặc

[1] Trường Đại học Hải Phòng
[2] Trường Đại học Dược Hà Nội
[3] Viện Di truyền Nông nghiệp, VAAS
Tác giả liên hệ, email: khuathuutrung@yahoo.com

HPLC được mua của hãng Merck (hoặc tương đương). Chất chuẩn berberin clorit hàm lượng 84,2% tính theo nguyên trạng, số lô C0420168.04 của Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương; kali dihydrophosphat, natri laurylsulfat trong 1.000 mL hỗn hợp nước - acetoniltril.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thẩm định quy trình định lượng berberin bằng phương pháp HPLC qua 3 giai đoạn khác nhau: giai đoạn 1 khảo sát và lựa chọn quy trình xử lý mẫu thử; giai đoạn 2 khảo sát và lựa chọn điều kiện sắc ký; giai đoạn 3 thẩm định các giá trị đảm bảo độ đặc hiệu, độ đúng, độ lặp lại và độ thích hợp với hệ thống sắc ký trong các điều kiện sắc ký đối với dung dịch thử.

2.2.1. Khảo sát lựa chọn điều kiện sắc ký

- Điều kiện sắc ký 1: Detector UV: 235 nm; Tốc độ dòng: 1,3 mL/phút; Thể tích tiêm mẫu: 10 µL. Chuẩn bị dung dịch: Hòa tan 9,93 g KH_2PO_4 trong 730 mL nước, thêm 270 mL acetonitril.

- Điều kiện sắc ký 2: Detector UV: 345 nm; chuẩn bị dung dịch: Hoà tan 3,4 g kali dihydrophosphat, 1,7 g natri laurylsulfat trong 1.000 mL hỗn hợp dung môi gồm nước - acetoniltril (1:1), lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,45 µm; tốc độ dòng: 0,7 mL/phút (điều kiện 2.1) và 1,3 mL/phút (điều kiện 2.2); Thể tích tiêm mẫu: 10 µL.

2.2.2. Khảo sát lựa chọn quy trình xử lý mẫu

- Quy trình xử lý mẫu 1: Dung môi được sử dụng là methanol - axit hydrocloric (100:1) để hòa tan bột dược liệu. Nghiền mịn bột từ thân, cành mẫu thu hái, rây qua rây, cỡ mắt rây 0,25 mm. Cân chính xác 0,07 g bột dược liệu vào bình nón nút mài có dung tích 100 mL, thêm 25 mL hỗn hợp dung môi gồm methanol - axit hydrocloric (100:1) và đun hồi lưu cách thuỷ 30 phút, để nguội, gạn lấy dịch chiết. Tiến hành tương tự thêm 2 lần nữa. Gộp các dịch chiết, làm bốc hơi trong cách thuỷ tới cắn. Cắn được hoà tan trong methanol và được chuyển vào bình định mức 50 mL, thêm methanol đến vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc cellulose acetate 0,45 µm (Bộ Y tế, 2009).

- Quy trình xử lý 2: Sử dụng hỗn hợp KH_2PO_4 0,1 M - acetonitril (6:4) để làm dung môi chiết. Nghiền mịn bột từ thân, cành mẫu thu hái. Rây qua rây cỡ mắt 0,25 mm. Cân chính xác 0,50 g bột dược liệu vào bình định mức 50 mL. Thêm 40 mL hỗn hợp KH_2PO_4 0,1 M - acetonitril (6:4). Siêu âm 15 phút và lắc bằng máy lắc xoáy trong 10 phút. Pha loãng tới vừa đủ cùng dung môi tới vạch rồi đem ly tâm. Pha loãng chính xác 5 mL dịch trong thành vừa đủ 20 mL với cùng dung môi. Lọc qua màng lọc cellulose acetate 0,45 µm.

2.2.3. Thẩm định quy trình định lượng berberin

Sau khi khảo sát lựa chọn xử lý mẫu theo quy trình 2 và điều kiện sắc ký 2 ở tốc độ dòng 1,3 mL/phút trong việc định lượng berberin trong thân, cành mẫu thử, mẫu thử được thẩm định theo quy trình định lượng berberin để khẳng định các điều kiện đáp ứng tiêu chuẩn AOAC 2013.

Dung dịch chuẩn định lượng: Cân chính xác 12,5 mg berberin clorit hòa tan trong 50 mL hỗn hợp methanol - nước (1 : 1). Tiếp tục pha loãng 5,0 mL dung dịch này với cùng dung môi thành 25 mL. Lọc qua màng lọc cellulose acetate 0,45 mm.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 3 năm 2016 đến tháng 8 năm 2018 tại Trường Đại học Dược Hà Nội.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát lựa chọn quy trình xử lý mẫu

Mẫu Hoàng Liên ô rô dùng trong khảo sát điều kiện xử lý mẫu là MH9. Mỗi quy trình đều được lặp lại 3 lần.

Dựa vào diện tích pic berberin trong sắc ký đồ của dung dịch thử, khối lượng mẫu thử, độ ẩm của mẫu thử tính hàm lượng berberin trong mẫu thử theo dược liệu khô. Kết quả được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả khảo sát quy trình chiết berberin trong mẫu Hoàng Liên ô rô (n = 3)

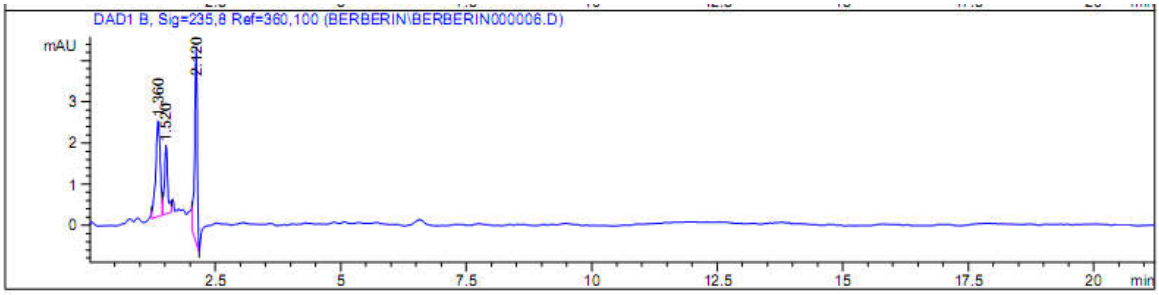
Số lần chiết	Hàm lượng (%) berberin tính theo dược liệu khô	
	Quy trình xử lý 1	*Quy trình xử lý 2*
1	1,15	1,35
2	1,31	1,37
3	1,24	1,42
Trung bình (%)	*1,233*	*1,380*
sd	*0,080*	*0,036*
SD (%)	*6,503*	*2,613*

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, lượng berberin chiết được theo 2 quy trình có chênh lệch nhau, tuy không cao. Cụ thể berberin trong quy trình 1 thu được là 1,233%, còn ở quy trình 2 là 1,380%. Trong mỗi lần lặp ở quy trình 1 có nhiều lần liên tiếp đun hồi lưu cách thủy tạo dịch chiết, tạo cắn. Có thể là lý do cho độ lệch giữa các lần lặp lại (6,503%) lớn hơn so với giá trị này ở quy trình 2 (2,613%). Mặt khác việc đun hồi lưu cách thủy tách chiết và tạo cặn berberin từ mẫu thu hái làm cho thời gian xử lý mẫu theo quy trình 1 rất dài, tốn nhiều thời gian hơn quy trình 2. Do đó, quy trình xử lý 2 trong định lượng berberin trong thân cành của mẫu thử được lựa chọn.

3.2. Khảo sát lựa chọn điều kiện sắc ký

Tiến hành phân tích dung dịch berberin chuẩn trên hệ thống HPLC, detector DAD, cột sắc ký: cột inertsil C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm) với các điều kiện sắc ký.

- Ở điều kiện sắc ký 1 kết quả định lượng trên hệ thống HPLC, detector DAD thu được hình ảnh sắc ký đồ như hình 1.

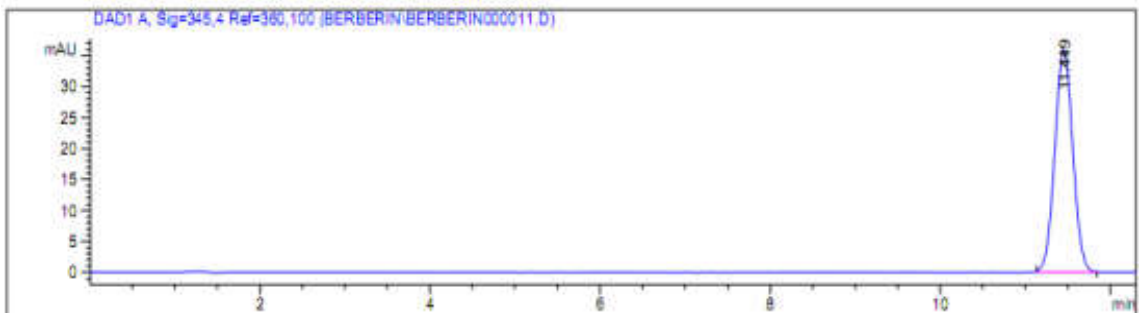


Hình 1. Sắc ký đồ của berberin chuẩn ở điều kiện phân tích 1

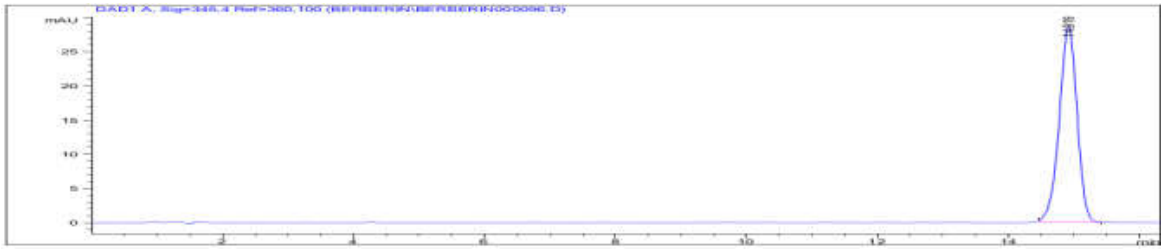
Thời gian phân tích trên 20 phút pic của berberin chưa xuất hiện pic của berberin clorit chuẩn.

- Ở điều kiện sắc ký 2, kết quả thu được sắc ký đồ hình 2a và hình 2b. Ở tốc độ dòng 1,3 mL/phút, kết quả pic của berberin trên sắc ký đồ sắc và gọn hơn, đồng thời có thời gian lưu ổn định hơn so với ở tốc độ dòng 0,7 mL/phút.

Mặt khác về thời gian khi so sánh giữa hai điều kiện sắc ký cho thấy, thời gian xuất hiện vùng UV ở điều kiện sắc ký 2 ngắn hơn thời gian xuất hiện vùng UV ở điều kiện sắc ký 1.



Hình 2a. Sắc ký đồ của berberin chuẩn ở điều kiện phân tích 2.1



Hình 2b. Sắc ký đồ của berberin chuẩn ở điều kiện phân tích 2.2

Với kết quả như vậy, điều kiện sắc ký 2, tốc độ dòng 1,3 mL/phút được lựa chọn để thực hiện thẩm định quy trình định lượng berberin trong mẫu thử.

3.3. Thẩm định phương pháp định lượng berberin

Sau khi khảo sát lựa chọn quy trình xử lý mẫu thu hái 2, điều kiện sắc ký 2 ở tốc độ dòng 1,3 mL/phút trong việc định lượng berberin trong thân, cành mẫu thử, phương pháp định lượng berberin trong mẫu thử được tiến hành thẩm định để khẳng định các điều kiện đáp ứng yêu cầu AOAC. Đó là cơ sở của phương pháp định lượng cành, thân nhiều mẫu thu hái Hoàng liên ô rô.

3.3.1. Độ thích hợp của hệ thống

Bảng 2. Kết quả đánh giá độ thích hợp của hệ thống sắc ký

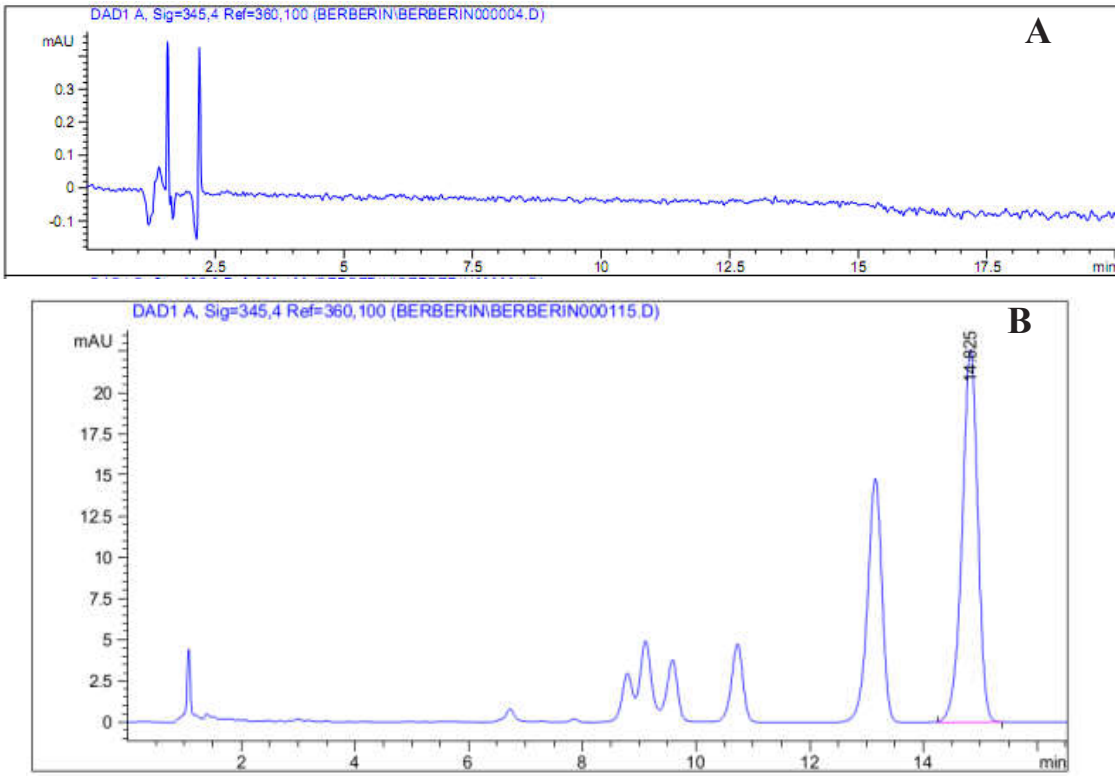
Lần	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic (mAU.s)
1	14,955	529,41809
2	14,961	529,99133
3	14,971	528,18768
4	15,049	529,01514
5	15,046	529,58337
6	14,975	530,56335
Trung bình	*14,993*	*529,460*
RSD (%)	*0,286*	*0,154*

Tiêm 6 lần dung dịch chuẩn berberin có nồng độ 40 µg/mL theo điều kiện sắc ký 2 đã lựa chọn, ghi lại sắc ký đồ. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Các giá trị trung bình từ 6 lần lặp lại sắc ký HPLC cho thấy, thời gian lưu ổn định 14,993 phút, diện tích pic là 529,460 mAU.s, với độ lệch chuẩn tương đối RSD (%) của thời gian lưu, diện tích pic berberin đều nhỏ hơn 1%, đạt yêu cầu độ thích hợp cho phép phân tích định lượng berberin.

3.3.2. Độ đặc hiệu

Tiến hành sắc ký 3 dung dịch: dung môi (dùng để pha mẫu), dung dịch chuẩn berberin clorid và dung dịch thử thu được sắc ký đồ ở hình 3 và hình 2b. Không xuất hiện pic berberin ở sắc ký dung môi tại thời gian lưu tương ứng của pic berberin, xuất hiện pic lần lượt ở phút thứ 14,9, thứ 14,8 đối với sắc ký dung dịch chuẩn berberin cloride, dung dịch thử MH9. Pic berberin gọn, cân đối, tách hoàn toàn khỏi nền mẫu MH9. Phương pháp sắc ký trong thí nghiệm này có độ đặc hiệu cao, có tính chọn lọc tốt.



Hình 3. Sắc ký đồ dung môi (A), mẫu thử MH9 (B)

3.3.3. Xây dựng đường chuẩn và khoảng nồng độ tuyến tính

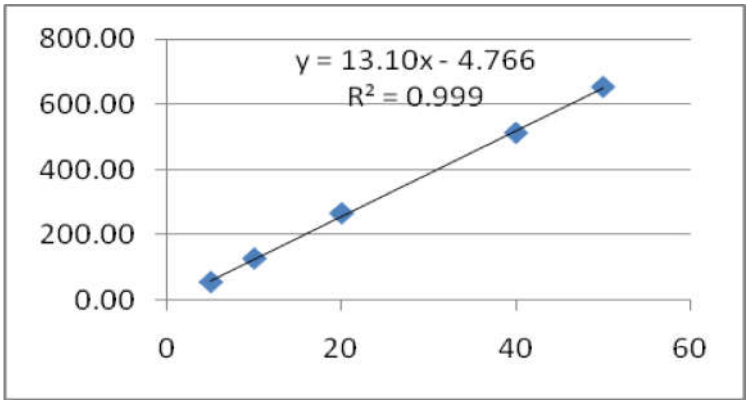
Chuẩn bị dung dịch chuẩn có dãy 5 nồng độ berberin 5; 10; 20; 40 và 50 µg/mL từ dung dịch chuẩn gốc của berberin pha loãng bằng hỗn hợp MeOH - nước (1 : 1). Tiến hành sắc ký theo điều

kiện đã lựa chọn, ghi lại sắc ký đồ với thông số diện tích pic của berberin. Kết quả được trình bày trong bảng 3 và hình 4. Đánh giá mối tương quan giữa nồng độ và diện tích pic thông qua đồ thị và hệ số R^2.

Bảng 3. Kết quả khảo sát tính tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic của berberin

Nồng độ (µg/mL)	5	10	20	40	50
Diện tích (mAU.s)	55,29	127,59	266,18	512,35	652,94
Phương trình hồi quy: y = 13,106x - 4,7667 (y: diện tích pic; x: nồng độ berberin)					
Hệ số tương quan (r): 0,9994					

Kết quả khảo sát tính tuyến tính cho thấy trong khoảng nồng độ từ 5 đến 50 µg/mL có sự tương quan chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic (hệ số tương quan r > 0,995) thông qua đường thẳng hồi quy y = 13,106x - 4,7667 với R^2 = 0,9994.



Hình 4. Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc giữa nồng độ (µg/mL) và diện tích pic (mAU.s)

3.3.4. Khảo sát độ lặp lại của phương pháp

Độ lặp lại của phương pháp được tính trên kết quả phân tích các mẫu độc lập trong cùng một điều kiện phân tích. Tiến hành định lượng 6 lần độc lập trên một mẫu thử theo quy trình chiết mẫu và phân tích đã lựa chọn trên. Tính hàm lượng berberin trong mẫu thử theo dược liệu khô, kết quả được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ lặp lại của phương pháp (mẫu MH 9)

Lần	**Lượng cân (g)**	**Diện tích pic (mAU.s)**	**Độ ẩm (%)**	**Hàm lượng berberin (%)**
1	0,5075	432,48	5,01	1,37
2	0,5082	435,12		1,38
3	0,5067	430,41		1,37
4	0,5021	436,50		1,38
5	0,5032	420,44		1,33
6	0,5027	447,01		1,42
Hàm lượng trung bình (%)				*1,376*
RSD (%)				*2,007*

Theo AOAC, tại mức nồng độ 100 ppm - 10 ppm độ lặp lại của phương pháp (RSD%) phải đạt < 5,3%. Kết quả phân tích cho thấy độ lặp lại khi định lượng berberin đạt yêu cầu. Như vậy, phương pháp có độ lặp lại đạt yêu cầu của AOAC.

3.3.5. Khảo sát độ đúng

Độ đúng được xác định bằng phương pháp thêm một lượng chính xác berberin chuẩn vào mẫu thử đã xác định hàm lượng berberin (MH 9) là 1,38% sao cho tổng nồng độ nằm trong khoảng tuyến tính đã khảo sát. Tiến hành chiết và định lượng thu được độ thu hồi của phương pháp. Thực hiện 5 lần làm lặp lại riêng biệt. Kết quả thu được ở bảng 5.

Với quy trình đã lựa chọn, định lượng berberin trong mẫu thử có độ thu hồi từ 98,4 đến 102,2%, đều nằm trong khoảng yêu cầu về thẩm định phương pháp đối với phân tích mẫu của AOAC (nằm trong khoảng 97 - 103% với hàm lượng mẫu ≥ 1 - 10%).

Bảng 5. Kết quả khảo sát độ đúng phương pháp

Lần	Lượng chuẩn thêm vào (mg)	Lượng chuẩn tìm lại (mg)	Độ thu hồi (%)
1	5,00	5,11	102,2
2	5,00	4,95	99,0
3	5,00	4,92	98,4
4	5,00	5,04	100,8
5	5,00	5,06	101,2
Giá trị trung bình:			*99,5*
RSD (%)			*2,47*

3.4. Ứng dụng phương pháp phân tích mẫu thực

Áp dụng quy trình trên để khảo sát hàm lượng berberin ở một số mẫu Hoàng liên ô rô. Những mẫu này đã được xác định mức độ tương đồng di truyền thuộc 3 nhóm khác nhau là nhóm phụ 1.1 (MH9), nhóm phụ 2.1 (MH10) và nhóm phụ 2.2 (MH11) (Lưu Thúy Hòa, 2017). Mỗi mẫu thử tiến hành lặp lại 3 lần. Kết quả thu được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Kết quả định lượng berberin trong các mẫu thử

Tên mẫu	STT	Khối lượng cân (g)	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic (mAU.s)	Độ ẩm (%)	Hàm lượng berberin trong mẫu (%)	Hàm lượng trung bình (%)
MH9	1	0,5075	14,806	432,47852	5,01	1,37	1,37
	2	0,5082	14,825	435,11783		1,38	
	3	0,5067	14,817	430,40897		1,37	
MH10	1	0,5012	14,906	679,47174	6,31	0,55	0,56
	2	0,5046	14,823	692,40875		0,56	
	3	0,5015	14,826	679,71191		0,55	
MH11	1	0,5033	14,859	373,64413	6,08	0,30	0,30
	2	0,5044	14,854	376,86500		0,30	
	3	0,5014	14,881	359,37143		0,29	

IV. KẾT LUẬN

Chất phân tích trong mẫu thử được chiết siêu âm bằng hỗn hợp KH_2PO_4 0,1 M - acetonitril (6 : 4). Dịch chiết được phân tích bằng HPLC với cột C18 (250 × 4,6 mm, 5 µm), bước sóng 345 nm, pha động gồm 3,4 g kali dihydrophosphat, 1,7 g natri laurylsulfat trong 1.000 mL hỗn hợp dung môi gồm nước - acetoniltril (1 : 1), tốc độ dòng 1,3 mL/phút, thể tích tiêm mẫu: 10 µL. Phương pháp được thẩm định theo AOAC 2013 với độ đặc hiệu phù hợp, độ chính xác cao, độ đúng tốt, khoảng tuyến tính phù hợp.

Kết quả phân tích các mẫu cho thấy hàm lượng berberin ở 3 mẫu là khác nhau, hàm lượng berberin ở MH9 (1,37%) cao gấp hơn 2 lần ở MH10 (0,56%) và hơn 4 lần ở MH11 (0,30%). Kết quả nghiên cứu này rất có ý nghĩa, phục vụ công tác định danh giống/loài nhằm bảo tồn, nhân giống và phát triển nguồn gen Hoàng liên ô rô.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiển, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn, 2006. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập I*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 956.

Bộ Y tế, 2009. *Dược điển Việt Nam IV*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 1191.

Lưu Thúy Hòa, Khuất Hữu Trung, Trần Đăng Khánh, Trần Văn Ơn, 2017. Nghiên cứu đa dạng di truyền cây hoàng liên ô rô trong chi *Mahonia nutt*. bằng chỉ thị RAPD. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 77 (4): 23-28.

Cao Thùy Hương, Phan Văn Đệ, Trần Công Luận, 2009. Nghiên cứu đặc điểm vi học và thành phần hóa học trong cây Hoàng liên ô rô *Mahonia nepalensis* DC. *Tạp chí Dược liệu,* 14 (2): 99-103.

Đỗ Tất Lợi, 2004. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Công Đoàn Việt Nam, Hà Nội, tr. 192.

Nguyễn Quang Vĩnh, Nguyễn Thị Phương, Bùi Tuấn Anh , Trần Văn Tú, Vũ Thị Hải, Lê Huy Công, 2017. Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn cơ sở dược liệu hoàng liên ô rô. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 80 (7): 105-110.

Shion-Jane Lin, Hshinn-Hshiung Tseng, KuoChing Wen, Tsi-Tee Suen, 1996. Determination of gentiopicroside, mangiferin, palmatine, berberine, baicalin, wogonin, and glycyrrhizin in the traditional Chinese medicinal preparation Sann-Joong-Kuey-JianTang by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 730: 17-23.

Researching Berberine quantitative process in *Mahonia* (Nutt.) by HPLC

Luu Thuy Hoa, Nguyen Thi Kieu Anh,
Tran Van On, Khuat Huu Trung

Abstract

Mahonia (Nutt.) has been used for a long time in traditional medicine to treat diseases because of its antibacterial, antifungal, and monocellular organism properties. Thus far, this plant has not been recorded in the Vietnamese Pharmacopoeia. The berberine content determined by high-performance liquid chromatography according to the 2013 AOAC requirements is an important parameter. We investigated the extraction conditions; chromatographic conditions; surveying and evaluating a suitable and highly accurate process for quantifying berberine in *Mahonia* (Nutt.). The results that enforced the requirements of AOAC 2013 with appropriate specificity, high accuracy, good precision, and appropriate linear range. This procedure was used to quantify berberine in 3 samples of *Mahonia* collected from the same geographical area but with genetic difference showed that: the berberine content in sample MH9 (1.37%) is higher than that in two samples MH10 (0.56%) and MH11 (0.30%). The results of this paper provide useful information for identifying varieties/species, conservation, propagation, and development of *Mahonia*. They could serve as criteria for determining whether it should be recognized as a medicinal herb in the Vietnam Pharmacopoeia.

Keywords: *Mahonia* (Nutt.), HPCL, berberine

Ngày nhận bài: 7/5/2024
Ngày phản biện: 22/5/2024
Người phản biện: TS. Lê Đăng Quang
Ngày duyệt đăng: 10/6/2024

HIỆN TRẠNG KHAI THÁC GIUN NHIỀU TƠ (POLYCHAETA) TRONG RỪNG NGẬP MẶN TỈNH CÀ MAU

Trần Trung Giang[1*], Nguyễn Hòa Liễm[2],
Lê Văn Lĩnh[2], Âu Văn Hóa[1] và Vũ Ngọc Út[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm đánh giá hiện trạng khai thác nguồn lợi giun nhiều tơ (rươi) trong rừng ngập mặn qua việc phỏng vấn nông hộ khai thác giun nhiều tơ tại các đầm nuôi tôm trong rừng ngập mặn tại 3 huyện Đầm Dơi, Năm Căn và Ngọc Hiển, tỉnh Cà Mau. Thời gian khảo sát từ tháng 7 đến tháng 9 năm 2022 với 120 hộ khai thác (40 hộ/huyện). Kết quả cho thấy các hộ khai thác có độ tuổi trung bình từ 45 đến 55 tuổi. Thời gian khai thác chủ yếu 1 buổi/ngày. Mùa vụ khai thác chính vào tháng 11 - 12 (âm lịch) trong năm. Khối lượng giun trung bình khoảng 1 g/con, tương đương 1.000 con/kg. Sản lượng giun khai thác từ 167 đến 371 kg/năm, cao nhất tại Ngọc Hiển do khai thác mỗi ngày, hai huyện còn lại chủ yếu khai thác theo mùa vụ. Giá bán từ 5.071 đến 251.724 đồng/kg. Tổng thu nhập của các hộ ở Ngọc Hiển cao gấp 7 đến 12 lần so với Đầm Dơi và Năm Căn. Sản lượng giun khai thác giảm qua các năm gần đây.

Từ khóa: Cà Mau, giun nhiều tơ (rươi), khai thác, rừng ngập mặn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, giun nhiều tơ (rươi) được biết đến từ rất lâu với vai trò làm mồi câu cá. Đến năm 1920, các nghiên cứu của chuyên gia nước ngoài đã ghi nhận loài giun miền Bắc là *Tylorrhynchus heterochaetus*. Viện Nghiên cứu Biển Nha Trang đã thu được 19 loài giun nhiều tơ sống nổi bằng cách sử dụng đèn chiếu sáng ban đêm tại Vịnh Thái Lan và phía Bắc Việt Nam. Trong đó, giun *T. heterochaetus* là loài động vật không xương sống, thuộc Lớp giun nhiều tơ (Polycheata), sống chủ yếu trong vùng nước lợ, có vai trò quan trọng trong hệ sinh thái, chúng thường xuất hiện nhiều ở Hải Phòng, Hải Dương, Thái Bình, Nam Định, Nghệ An, Khánh Hoà, Côn Đảo,… (Nguyễn Văn Khang, 1991). Năm 2009, Nguyễn Quang Chương đã nghiên cứu một số đặc điểm sinh học, sinh sản của loài rươi *T. heterochaetus* tại Hải Phòng. Nguyễn Văn Dũng và cộng sự (2011) cũng đã tiến hành nghiên cứu đặc điểm sinh học và thử nghiệm sinh sản nhân tạo giun nhiều tơ *Perinereis nuntia* var. *brevicirris*. Năm 2016, Trương Hà Phương và cộng sự đã tiến hành đánh giá chất lượng tôm sú bố mẹ *Penaeus monodon* và tôm thẻ bố mẹ *Litopenaeus vannamei* nuôi bằng thức ăn giun nhiều tơ *P. nuntia* được làm giàu bằng DHA và cho kết quả khả quan. Tran Thi Thanh Binh và cộng sự (2016) cho rằng, rươi *T. heterochaetus* là loài có giá trị kinh tế cao, là nguồn thực phẩm bổ dưỡng cho con người. Nguyen Ngoc Tuan và cộng sự (2018) đã tiến hành nghiên cứu đặc điểm sinh học và ảnh hưởng của độ mặn đến hoạt động sinh sản của loài rươi *T. heterochaetus*. Hiện nay, giun nhiều tơ đã và đang được sử dụng làm thực phẩm (nước mắm rươi, chả rươi) rộng rãi ở Việt Nam. Gần đây, việc sử dụng giun nhiều tơ làm thức ăn cho tôm bố mẹ đang ngày càng phổ biến trong các trại sản xuất tôm giống ở đồng bằng sông Cửu Long như Kiên Giang, Bạc Liêu, Cà Mau. Giun nhiều tơ là nguồn thức ăn tươi sống chính trong nuôi vỗ thành thục, phát dục tôm sú và tôm thẻ chân trắng bố mẹ. Với giá bán cao, chi phí đầu tư chủ yếu là công lao động nên đã thu hút rất nhiều người tham gia khai thác giun nhiều tơ tự nhiên dẫn đến lượng giun tự nhiên giảm mạnh (Nguyễn Thị Hà, 2019). Hiện nay giun nhiều tơ được khai thác nhiều trong các đầm nuôi tôm quảng canh trong khu vực rừng ngập mặn, nhất là ở Cà Mau. Việc khai thác quá mức dẫn đến suy giảm nguồn lợi, ảnh hưởng đến đa dạng sinh học, chuỗi thức ăn tự nhiên và những lợi ích quan trọng của nhóm sinh vật này trong các đầm nuôi. Tuy nhiên, hiện trạng khai thác giun nhiều tơ vẫn chưa được đánh giá, vì thế việc khảo sát, đánh giá hiện trạng khai thác nguồn lợi giun nhiều tơ ở tỉnh

[1] Trường Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ
[2] Phòng Nông nghiệp và Phát triển nông thôn huyện U Minh, tỉnh Cà Mau
* Tác giả liên hệ, email: trunggiang@ctu.edu.vn