



NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT HỌC VÀ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA CỎ BẠC ĐẦU NHIỀU LÁ (*Kyllinga polyphylla* WILLD. EX KUNTH), HỌ CÓI (Cyperaceae)

Phan Thành Đạt, Lâm Vĩ Nhã, Nguyễn Trọng Hồng Phúc, Nguyễn Phúc Đảm và Phùng Thị Hằng*
Khoa Sư phạm, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Phùng Thị Hằng (email: pthang@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 12/05/2022

Ngày nhận bài sửa: 06/06/2022

Ngày duyệt đăng: 28/07/2022

Title:

*Study on botanical characteristics and chemical composition of (*Kyllinga polyphylla* Willd. ex Kunth), Cyperaceae family*

Từ khóa:

*Bột dược liệu, cỏ bạc đầu nhiều lá (*Kyllinga polyphylla* Willd. ex Kunth), giải phẫu, hình thái, thành phần hóa học, thực vật học*

Keywords:

*Anatomical, botanical, *Kyllinga polyphylla* Willd. ex Kunth, medicinal powder, morphological, phytochemical*

ABSTRACT

**Kyllinga polyphylla* Willd. ex Kunth is a species of Cyperaceae family found in several provinces in the Mekong Delta. The database system from plant characteristics to the chemical composition of *K. polyphylla* species will be the premise for future studies. Fresh samples were collected for morphology and anatomical structure assessment. Plant powders and chemical compounds were also investigated using 5 solvents of different polarities (distilled water, ethanol, methanol, chloroform, diethyl ether). The results showed that many secondary metabolic products such as calcium oxalate, essential oil, resin, and starch were found in the anatomical structure and medicinal powder of this species. The study identified 22 chemical compounds including alkaloids, carbohydrates, cardiac glycosides, flavonoids, phenols, proteins, amino acids, saponins, sterols, tannins, terpenoids, phytosterols, gums, glycosides, xanthoproteic, anthocyanins, coumarins, essential oils, carotenoids, diterpenes, resins, betalains, and organic acids. These data show the potential and medicinal significance of *K. polyphylla* species in the medical area.*

TÓM TẮT

*Cỏ bạc đầu nhiều lá (*Kyllinga polyphylla* Willd. ex Kunth) thuộc họ Cói (Cyperaceae), có nhiều tại một số tỉnh ở Đồng bằng sông Cửu Long. Hệ thống cơ sở dữ liệu từ đặc điểm thực vật đến thành phần hóa học của loài *K. polyphylla* sẽ là tiền đề cho các nghiên cứu sử dụng loài này trong tương lai. Mẫu tươi được thu thập, mô tả chi tiết về hình thái và cấu trúc giải phẫu. Bột dược liệu và hợp chất trong cây cũng được khảo sát và định tính. Kết quả cho thấy có nhiều sản phẩm chuyển hóa thứ cấp như oxalate calcium, tinh dầu, nhựa, tinh bột được tìm thấy trong cấu trúc giải phẫu và bột dược liệu của loài này. Trong nghiên cứu này, 22 nhóm hợp chất hóa học được xác định gồm alkaloid, carbohydrate, cardiac glycoside, flavonoid, phenol, protein và acid amine, saponin, sterol, tannin, terpenoid, phytosterol, gum, glycoside, xanthoproteic, anthocyanin, coumarin, tinh dầu, carotenoid, diterpene, nhựa, betalains và acid hữu cơ. Các dữ liệu này cho thấy tiềm năng và ý nghĩa về mặt dược liệu của loài *K. polyphylla* trong nghiên cứu y học.*

1. GIỚI THIỆU

Cây dược liệu có vai trò quan trọng trong việc duy trì sức khỏe của con người (Shukla et al., 2015). Hơn 60% dân số thế giới và 80% dân số ở các nước đang phát triển sử dụng thực vật để làm thuốc (Murugan et al., 2013). Các giá trị y học của thực vật liên quan đến hàm lượng các sản phẩm chuyên hóa thứ cấp của chúng (Ghasemzadeh et al., 2011). Các sản phẩm chuyên hóa thứ cấp này là những chất có hoạt tính sinh học như phenol, tannin, flavonoid, saponin, carbohydrate, alkaloid, phytosterol, v.v. (Yadav et al., 2017). Đặc tính quan trọng của thành phần hóa học thực vật là hiệu quả điều trị tốt, ít hoặc không có tác dụng phụ so với thuốc tổng hợp thường sử dụng (Ramamurthy et al., 2017). Vì vậy, việc tìm kiếm nguồn thực vật nhiều hợp chất hóa học có hoạt tính sinh học ngày càng được phát triển. Chi cỏ bạc đầu (*Kyllinga*) thuộc họ Cói Cyperaceae, có khoảng 40 loài được phân bố ở các vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới và ôn đới ẩm trên thế giới (Jaramillo et al., 2016). Ở Việt Nam, chi *Kyllinga* có 10 loài (Khôi, 2002). Các loài thuộc chi này được sử dụng nhiều trong y học cổ truyền để điều trị các bệnh như cảm mạo, ho gà, viêm phế quản, viêm họng sưng đau, sốt rét, ly trực tràng, tiêu chảy, viêm gan vàng da, rắn cắn, mụn nhọt, v.v (Chi, 2012; Viện Dược liệu, 2016). Các hợp chất hóa học của nhiều loài trong chi *Kyllinga* cũng đã được xác định, ví dụ như *K. nemoralis* (cỏ bạc đầu) có tinh dầu, carbohydrate, alkaloid, phytosterol, phenolic, protein và amino acid, glycoside, flavonoid, chất béo (Majumder, 2013; Rajagopal et al., 2016), *K. triceps* (cỏ bạc đầu tam bông) có steroid, alkaloid, phenolic, flavonoid, saponin, tannin, anthraquinone (Int & Life, 2014; Upadhyay et al., 2018), *K. monoceps* có coumarin, quinone, tannin, saponin, steroid, terpenoid (Babu & Savithramma, 2014). Loài *K. polypylla* (cỏ bạc đầu nhiều lá) là loài mọc khá phổ biến ở các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long nhưng ít được chú ý. Trong nghiên cứu này, các dữ liệu chi tiết sẽ được bổ sung cho loài *K. polypylla* và chi *Kyllinga* tại Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đổi tượng nghiên cứu

Cỏ bạc đầu nhiều lá (*Kyllinga polypylla* Willd. ex Kunth), họ Cói Cyperaceae, lớp Hành Liliopsida, ngành Ngọc Lan Magnoliophyta. *K. polypylla* được mô tả trong Cây cỏ Việt Nam quyển 3 (Hộ, 2003) và Thực vật chí Việt Nam tập 3 (Khôi, 2002). Mẫu được thu hái (cả bụi gồm giai đoạn sinh trưởng khác nhau) tại Sóc Trăng, Cần Thơ và lưu giữ tại Phòng thí nghiệm thực vật, Bộ môn Sư phạm Sinh học, Khoa Sư phạm, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Mẫu tươi được thu hái, mô tả về dạng sống, dạng thân, lá, hoa, quả (Chung, 2006; Thìn, 2007) và chụp hình đặc điểm hình thái bằng kính hiển vi soi nòi Motic DM143.

Các cơ quan sinh dưỡng được cắt ngang để quan sát cấu trúc giải phẫu. Rễ được cắt ở miền lồng hút và miền trưởng thành (khoảng 1 cm tính từ chóp rễ). Thân rễ được giải phẫu phần giữa, không cắt phần chồi non và mắt lá. Các loại lá gồm vảy lá, lá sinh dưỡng, lá bắc được cắt ở phần chóp lá ở giai đoạn lá trưởng thành; thân khí sinh được cắt ở giữa thân, giai đoạn thân mang hoa. Mẫu được cắt mỏng bằng tay và được nhuộm kép bằng Carmin aluné –vert d' iod (Mondolot, 2001).

Mẫu khảo sát bột được liệu gồm rễ, thân rễ và phần trên mặt đất, được phơi khô và sấy ở nhiệt độ 60°C. Mẫu sấy được nghiên thành bột, sàng qua rây với đường kính lỗ rây 0,1 mm và quan sát các thành phần của bột trong nước cát (Gurav, 2014; Bộ Y tế, 2017).

Mẫu giải phẫu và bột được liệu được quan sát bằng kính hiển vi Olympus-CX23 có gắn camera kỹ thuật số và đo kích thước mẫu bằng phần mềm Touview.

Các hợp chất hóa học thực vật từ rễ, thân, phần trên mặt đất và toàn cây của cỏ bạc đầu nhiều lá được xác định trong 5 dung môi: nước, ethanol, methanol, chloroform, diethyl ether (Narasinga & Kaladhar, 2012; Odette et al., 2013; Abegunde & Ayodele-Oduola, 2015; Manurung et al., 2019).



Hình 1. Mẫu khô và bột các bộ phận cỏ bạc đầu nhiều lá

Mười gram bột khô được cân và cho vào bình tam giác thể tích 250 mL, sau đó, nó được ngâm trong 200 mL dung môi (nước, methanol, ethanol, diethyl ether và chloroform) trong 12 giờ trên máy lắc quỹ đạo ở nhiệt độ phòng. Các dịch chiết được lọc bằng giấy lọc, dung môi được bay hơi đến khi còn 150 mL và được lưu trữ ở nhiệt độ 4°C. Các hợp chất hóa học của cỏ bạc đầu nhiều lá được xác định theo phương pháp được liệt kê ở Bảng 1.

Bảng 1. Phương pháp xác định hợp chất hóa học của loài *K. polypyphylla*

Hợp chất	Dịch chiết Thuốc thử	Hiện tượng
Alkaloid	2 mL	3 giọt thuốc thử Wagner
Carbohydrate	1 mL	1 mL dung dịch Fehling A và 1 mL dung dịch Fehling B, đun sôi 10 phút
Glycoside tim	5 mL	2 mL acid acetic lạnh, 1 giọt dung dịch FeCl_3 , Xuất hiện vòng màu nâu hoặc nâu tím
Flavonoid	3 mL	1 mL dung dịch NaOH 10%
Phenol	2 mL	3 giọt dung dịch nước FeCl_3 5%
Acid amin, protein	2 mL	2 mL thuốc thử biuret
Saponin	2 mL	6 mL nước cát, lắc mạnh trong 15 phút
Sterol	1 mL	1 giọt chloroform, acetic anhydride và H_2SO_4 đặc
Tannin	2 mL	3 giọt dung dịch FeCl_3 10%
Terpenoid	2 mL	1 mL chloroform, 3 giọt H_2SO_4 đặc
Quinones	2 mL	3 giọt HCl đặc
Oxalate	2 mL	3 giọt acid acetic
Phlobatannin	2 mL	3 giọt HCl 1%, đun sôi
Phytosterol	5 mL	1 mL acetic anhydrid, 3 giọt H_2SO_4
Gum	5 mL	0,5 mL nước cát và 1,5 mL cồn tuyệt đối
Chất béo	3 giọt	Giấy lọc mỏng, đế khô
Glycoside	2 mL	3 mL chloroform, 3 giọt amoniac 10%
Xanthoproteic	2 mL	3 giọt acid nitric
Anthocyanin	2 mL	2 mL NH_4Cl 2N và amoniac
Coumarin	2 mL	3 mL NaOH 10%
Leucoanthocyanin	5 mL	5 mL ancol isoamyl
Cholesterol	2 mL	2mL chloroform, 10 giọt acetic anhydrid, 2-3 giọt H_2SO_4
Emodins	2 mL	2mL NH_4OH và 3mL benzen
Tinh dầu	2 mL	0,1 mL NaOH 10%, 3 giọt HCl loãng
Carotenoid	1 mL	5 mL chloroform lắc đều thêm từ từ H_2SO_4 Hình thành màu xanh lam ở lớp trên
Polyuronid	5 mL	Đun cách thủy 15 phút, 10 mL cồn 95%
Diterpenes	2 mL	Đến 3 giọt đồng acetat
Chất nhầy	2 mL	2 mL cồn 95°
Nhựa	2 mL	H_2SO_4 /acid acetic lạnh
Betalains	2 mL	1 mL NaOH 2N đun nóng 5 phút
Acid hữu cơ	2 mL	1 mL nước cát, một ít tinh thể Na_2CO_3 , Bọt khí nhỏ sủi lên

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái

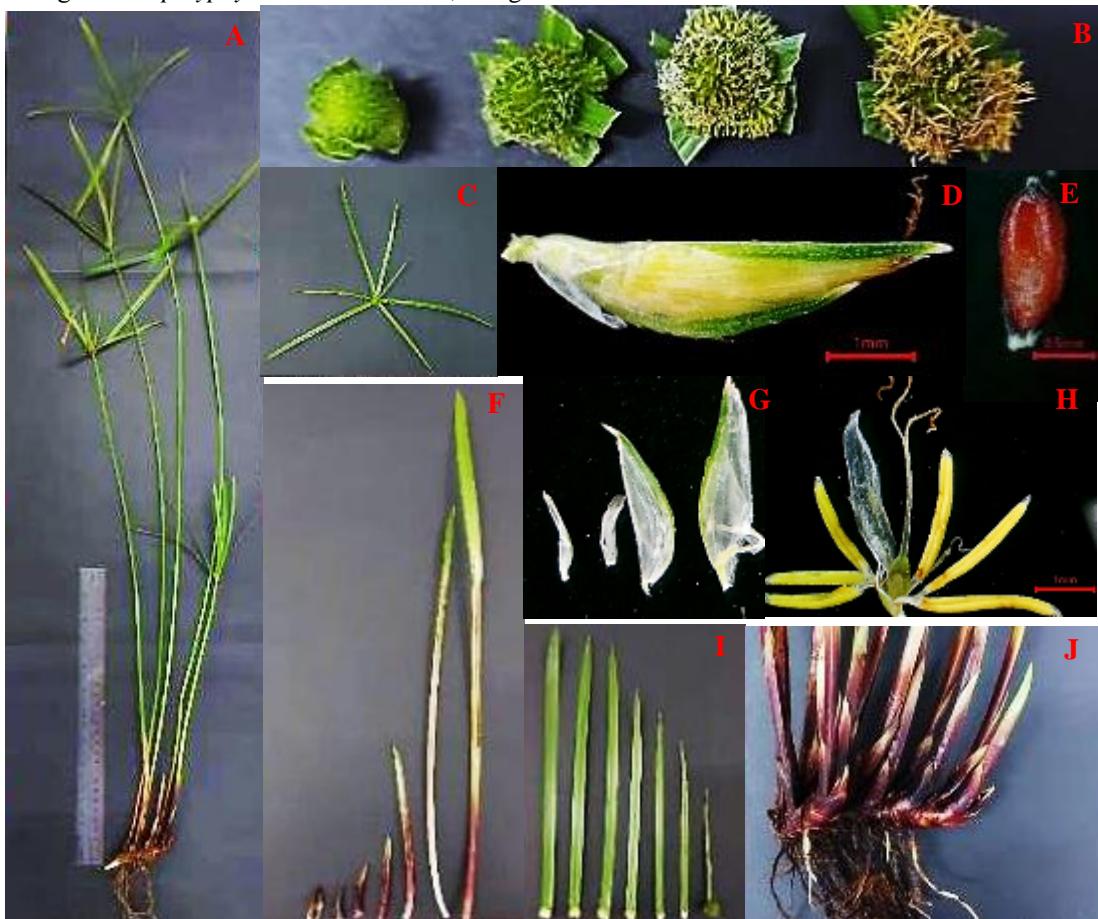
Cỏ bắc đầu nhiều lá *K. polypyphylla* dạng thảo nhiều năm, cây cao khoảng 50-60 cm (Hình 2-A). Thân rễ cứng, màu nâu đen, phân nhánh ngắn (Hình 2-J).

Lá có 2 dạng: (1) Lá tiêu biến thành vảy, màu nâu đỏ, mỏng, bao bọc thân, số lượng từ 4 đến 5 lá, ôm thân, lá nhỏ nhất nằm ngoài cùng, lá trong cùng là lá lớn nhất có chiều dài 5-6 cm; (2) Lá sinh dưỡng có bẹ ôm thân số lượng từ 3 đến 4 lá, phần dưới tạo

bẹ dài, ôm thành vòng bao bọc thân khí sinh, phần trên có dạng lá thật, màu xanh, quang hợp được, dài từ 10 đến 30 cm (Hình 2-F). Thân khí sinh cao 50-60 cm, có 3 cạnh. Đỉnh thân mang cụm hoa hình đầu, có 7-8 lá bắc dài 10-15 cm (Hình 2-C và Hình 2-I). Bông chét hình bầu dục đẹp (Hình 2-D), có 4 vảy bao bọc gồm 2 vảy nhỏ dài khoảng 1 mm không có vân lồng, hai vảy lớn dài khoảng 4 mm có vân lồng màu xanh, có lông cứng, mép bên màu trắng trong (Hình 2-G). Hoa lưỡng tính, bộ nhị đực có 6 nhị, mỗi nhị chia thành 4 rãnh, tạo 2 buồng phấn. Bầu noãn thương (trên), bầu nhụy có 1 vòi thẳng,

đầu vòi nhụy chia thành 2 nướm dài (Hình 2-H). Quả bé, dẹt 2 bên hình trứng, bì mặt trơn láng, khi già màu nâu đỏ dài 2,5-3 mm, rộng 1 mm (Hình 2-E). Xét về hình thái, *K. polyphylla* có nhiều điểm tương đồng với các loài trong chi. Tuy nhiên, vẫn có thể dựa vào số lượng, màu sắc của các đầu hoa; Kích thước, số lượng lá bắc để phân biệt loài này với các loài cùng chi. *K. polyphylla* có 2-4 đầu hoa, trong

khi có một số loài như *K. peruviana*, *K. erecta* var *polyphylla* và *K. erecta* var. *erecta* chỉ có 1 đầu hoa. Loài *K. erecta* var. *africana* và *K. tenuifolia* cũng có 3-4 đầu hoa (Getliffe Norris, 1983) Tuy nhiên, *K. polyphylla* có đến 7-8 lá bắc, nhiều hơn so với các loài cùng chi chỉ từ 2 đến 6 lá bắc (Chimezie & Alozie, 2019).



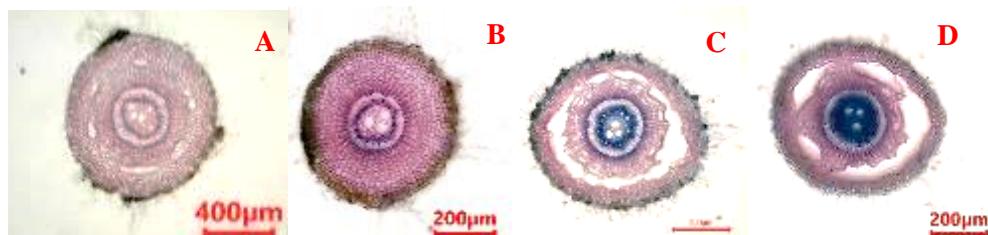
Hình 2. Hình thái có bắc đầu nhiều lá

(A: toàn cây/bụi nhiều cây; B: các giai đoạn phát triển của cụm hoa đầu từ non đến già; C: cụm hoa đầu với 7 lá bắc; D: bông chét; E: quả khi chín; F: các dạng lá ôm thân; G: các dạng vảy của bông chét; H: bộ nhụy đực và cái; I: lá bắc; J: cách mọc thân và sự phân nhánh của thân rễ)

3.2. Đặc điểm giải phẫu

Mẫu giải phẫu được nhuộm kép bằng Carmin aluné –vert d’ iod, với mục đích nhuộm màu vào vách tế bào, từ đó làm nổi bật hình dạng và cấu trúc của tế bào. Carmin aluné sẽ tám vào cellulose ở các tế bào có vách còn non (vách sơ cấp), tạo màu hồng cho vách. Vert d’ iod tám vào các hợp chất lignin ở những vách già hơn (vách thứ cấp) làm cho vách có màu xanh (Mondolot, 2001).

Rễ có tiết diện cắt ngang hình tròn, chia thành 2 vùng vỏ và vùng trụ. Hình ảnh vi phẫu tại những vùng khác nhau của rễ cho thấy sự phát triển của cương mô và bó dẫn. Nhu mô ở vùng vỏ cũng có sự khác biệt, có thể là nhu mô đạo hoặc nhu mô bọng. Sự khác biệt này còn tùy thuộc vào điều kiện môi trường của cây (Hình 3).

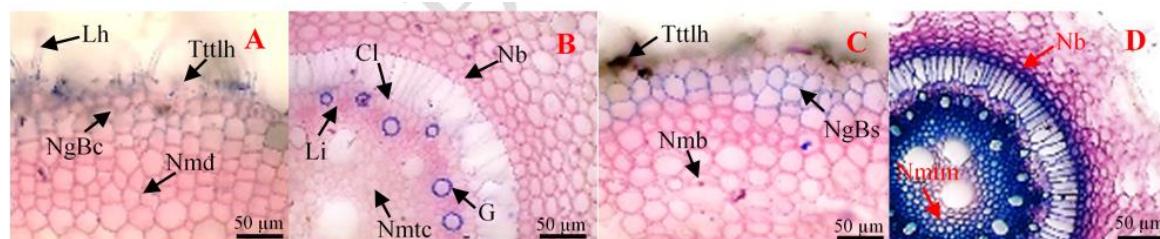


Hình 3. Cấu trúc giải phẫu rễ có bạc đầu nhiều lá tại các vị trí khác nhau

(A: lát cắt qua miền hút; B, C, D: lát cắt tại miền trưởng thành)

Lát cắt ngang miền lông hút từ ngoài vào trong gồm biểu bì có lông hút, bên dưới biểu bì là ngoại bì, nhu mô vỏ là loại nhu mô đạo hoặc nhu mô đặc (Hình 4-A). Lông hút ở lớp biểu bì sẽ bị rụng đi (trở thành lớp tồn tích tầng lông hút) khi miền hút trở thành miền trưởng thành. Lớp ngoại bì được tẩm thêm suberin. Khoảng trống giữa các tế bào nhu mô vỏ (khoảng gian bào) cũng được nới rộng hơn (Hình 4-C). Nội bì chưa có đai casprian hay sube hình chữ U. Bên trong nội bì có 1 vòng tế bào lớn, dài, xếp song song với nhau, ngăn cách chu luân và nội bì.

Vách tế bào này mỏng ở miền hút và tẩm thêm mộc tố khi tế bào già hơn. Vùng trục của rễ *K. polypylla* đặc sắc với nhiều lớp có vách cellulose dày bao toàn bộ tế bào (khi lát cắt ở miền hút), cellulose sẽ được tẩm thêm mộc tố (lignin) khi tế bào già hơn. Như vậy, bao xung quanh vùng trục (lát cắt ở miền trưởng thành) là vòng chu luân và vòng nội bì đã được tẩm lignin. Libe gỗ xếp xen kẽ, gỗ sáp xếp hướng tâm với những mạch gỗ lớn xuất hiện sau, chiếm tâm. Các tế bào nhu mô tuy cũng được tẩm thêm mộc tố ở miền trưởng thành.

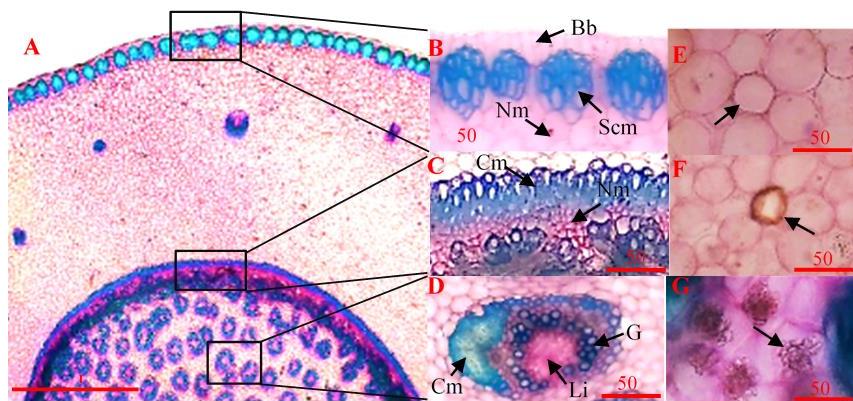


Hình 4. Cấu trúc giải phẫu rễ có bạc đầu nhiều lá. A, B: lát cắt vùng lông hút; C, D: lát cắt vùng trưởng thành

(A, C: miền vỏ; B, D: miền trung tâm. Lh: lông hút; Ttth: tồn tích tầng lông hút; NgB: ngoại bì; NgBs: ngoại bì tẩm suberin, NgBc: ngoại bì có vách cellulose dày, Nmd: nhu mô đạo; Nmb: nhu mô bong, Nb: nội bì, Cl: chu luân; Li: libe; G: gỗ; Nmtc: nhu mô tuy với vách còn cellulose, Nmtm: nhu mô tuy có vách tẩm mộc tố)

Thân rễ có vùng vỏ dày, đa phần là nhu mô vỏ với một số bó dẫn nằm rải rác. Các bó dẫn chiếm toàn bộ vùng trục với nhiều vòng đồng tâm không rõ ràng (Hình 5-A). Biểu bì có vách ngoài dày, tế bào hình chữ nhật dài, xếp thẳng đứng và song song với nhau. Các cụm cường mô sắp xếp xen kẽ với nhu mô tạo thành một vòng bên dưới biểu bì của vùng

vỏ (Hình 5-B). Vùng trục được ngăn cách vùng vỏ bởi vòng gồm 2-3 lớp tế bào cường mô. Mạch gỗ có kích thước đồng đều làm thành 1 vòng bao lấy libe bên trong, mỗi bó dẫn đều có bó sợi cường mô (Hình 5-C và Hình 5-D). Tế bào nhu mô vỏ và nhu mô tuy đều chứa oxalat canxi dạng hạt cát hoặc dạng cầu gai (Hình 5-G). Một số tế bào có hình dạng đặc biệt chứa chất tiết bên trong (Hình 5-E và Hình 5-F).

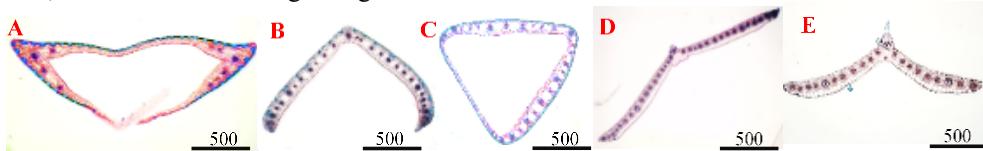


Hình 5. Cấu trúc giải phẫu thân rễ cỏ bạc đàu nhiều lá

(A: tiết diệt ngang với vùng vỏ và vùng trü; B: các cụm cương mô bên dưới bielbì; C: vòng cương mô ngăn cách vùng vỏ và vùng trü; D: một bó dẫn; E, F: tế bào tiết; G: tế bào nhu mô chứa tinh thể oxalat canxi; Cm: cương mô; Li-G: bó libe – gỗ; Nm: nhu mô; Bb: bielbì; TBT: tế bào tiết; OC: oxalat canxi, Scm: sợi cương mô)

Lá được cắt ở các vị trí khác nhau ở tất cả các dạng lá như lá biến thành vảy (Hình 6-A và Hình 6-B); Bẹ lá tạo thành vòng tam giác ôm thân

khí sinh (Hình 6-C), lá sinh dưỡng (Hình 6-D) và lá bắc (Hình 6-E).

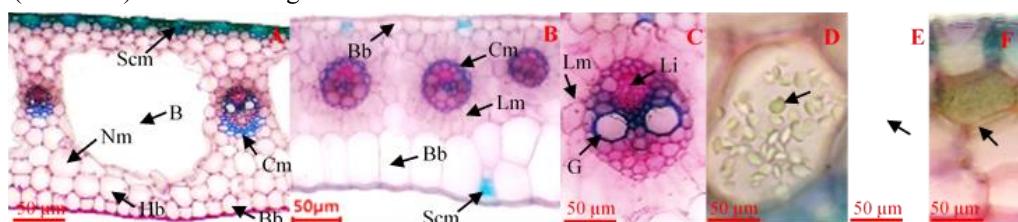


Hình 6. Cấu trúc giải phẫu các dạng lá của cỏ bạc đàu nhiều lá

(A: vảy lá ngoài cùng; B: chót lá của vảy thứ 2; C: bẹ lá sinh dưỡng; D: chót lá sinh dưỡng; E: lá Lá bắc)

Cấu trúc giải phẫu của lá phù hợp với từng chức năng của nó. Vì vậy, vi phẫu của vảy và bẹ lá (Hình 7-A, Hình 7-B và Hình 7-C) làm nhiệm vụ bảo vệ có đặc điểm giống nhau. Tế bào bielbì có vách dày không đều, vách tiếp xúc với môi trường dày hơn các vách phía trong. Đặc biệt, vách tế bào bielbì ngoài còn được thêm suberin và có nhiều cụm sợi cương mô ở bên dưới bielbì. Bó dẫn được phân bố đều ở giữa vảy lá, bao bọc bó dẫn là nhu mô và được cách nhau bằng các khoảng trống lớn (bọng) (Hình 7-A). Tế bào nhu mô có thể chứa nhiều hạt tinh bột (Hình 7-D). Lá sinh dưỡng và lá bắc có cấu

trúc tương tự (Hình 7-D và Hình 7-E). Bielbì không có lớp suberin nhưng bên ngoài bielbì có lớp cutin dày, số lượng bó sợi cương mô dưới bielbì ít hơn so với cấu trúc vảy nhưng phân bố cả bielbì trên và bielbì dưới (Hình 7-F). Phiến lá không có bọng lớn. Lục mô (Hình 7-E) (sắp xếp thành vòng hoa thị) bao lấy bó dẫn và chiếm 2/3 diện tích phiến lá. Hạ bì với một lớp tế bào kích thước lớn, chiếm 1/3 diện tích phiến lá còn lại (Hình 7-B). Bó dẫn có libe-gỗ xếp chồng chất, bao quanh là lớp tế bào cương mô (Hình 7-C).

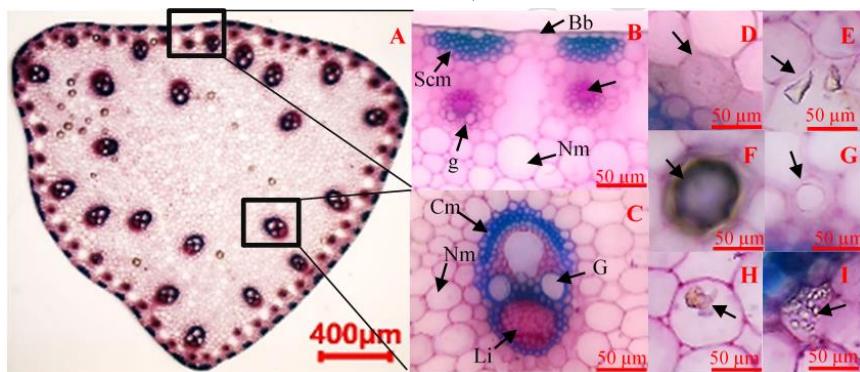


Hình 7. Cấu trúc giải phẫu lá cỏ bạc đàu nhiều lá

(A: phiến của vảy; B: phiến của lá sinh dưỡng và lá bắc; C: bó dẫn của phiến lá; D: tế bào chứa tinh bột; E: diệp lục có trong lục mô; F: bó sợi cương mô bên dưới bielbì; Cm: cương mô; Bb: bielbì; Li: libe; G: gỗ; Lm: lục mô; Hb: hạ bì; Nm: nhu mô; Scm: sợi cương mô; Tb: tinh bột, LL: lục lạp; B: bọng)

Thân khí sinh có tiết diện hình tam giác. Ngoài cùng là lớp tế bào biểu bì mỏng. Các bó sợi cường mô nằm rải rác bên dưới biểu bì. Các bó dẫn được sắp xếp thành nhiều vòng, càng vào vùng trung tâm lượng bó dẫn giảm nhưng kích thước càng lớn. Các bó dẫn nhỏ được bao bọc bởi vòng lục mô hình hoa thị (Hình 8-A và Hình 8-B). Libe và gỗ xếp chồng chất, thấy rõ vòng cương mô bao bên ngoài ở các bó

dẫn lớn (Hình 8-C). Nhu mô là mô chiếm diện tích lớn nhất trong thân. Nhu mô sắp xếp tạo các khoảng trống lớn (bọng) nằm xen kẽ với các bó dẫn nhỏ, các khoảng trống này nhỏ hơn ở vùng tuỷ (Hình 8-B và Hình 8-C) và chứa nhiều sản phẩm chuyển hóa thứ cấp như khói nhựa (Hình 8-H), tanin (Hình 8-F), tinh dầu (Hình 8-G), oxalat canxi hạt cát (Hình 8-D), hạt tinh bột (Hình 8-I) và oxalat canxi hình khối (Hình 8-E).



Hình 8. Cấu trúc giải phẫu thân khí sinh cỏ bạc đầu nhiều lá

(A: tiết diện cắt ngang; B: bó sợi cương mô, bó dẫn và bọng dưới biểu bì; C: bó dẫn, các tế bào nhu mô; D: chứa oxalat canxi dạng cát; E: chứa oxalat canxi dạng khối; F: chứa tanin; G: chứa khói nhựa; H: chứa hạt tinh bột; I: chứa tinh dầu. Scm: sợi cương mô; Cm: cường mô; Li-G: bó libe-gỗ; Nm: nhu mô; Bb: biểu bì; B: bọng)

3.3. Đặc điểm bột dược liệu

Bột dược liệu được sử dụng trong dược lý học là một công cụ hữu ích để xác định loài và đóng một vai trò quan trọng trong việc xác thực nguyên liệu làm thuốc. Các đặc điểm của dược liệu có thể là tiêu chuẩn cho một loại thuốc thảo dược cụ thể bằng cách kiểm tra các hình ảnh hiển vi (Roy et al., 2011). Các

hình ảnh về vi mẫu bột dược liệu của các bộ phận khác nhau được thể hiện ở Hình 9, 10 và 11.

Bột rễ có màu nâu đỏ, không mùi, không vị. Bột rễ có tinh thể oxalat canxi, lông hút bị gãy, hạt tinh dầu, bó sợi màu vàng, mảnh mô mềm màu xám, mảnh mạch vạch và mạch điểm, nhu mô có tinh thể oxalat canxi khối, khói nhựa (Hình 9).



Hình 9. Bột dược liệu rễ cỏ bạc đầu nhiều lá

(A: lông hút; B: oxalat canxi hạt cát; C: mạch vạch; D: mảnh nhu mô; E: bó sợi; F: nhu mô có chứa chất tiết; G: nhu mô có tinh thể; H: mạch điểm; I: khói nhựa)

Bột thân rễ có màu nâu vàng, mùi thơm nhẹ, không vị, bột dược liệu có các cấu trúc như mảng biểu bì màu nâu vàng, mảng cường mô, mảng nhu mô, mảng nhu mô có tinh dầu, tinh dầu, các loại

mạch như mạch vạch, mạch mạng, mạch vòng, mảnh mạng màu, cường mô có tinh bột, khói nhựa, mảnh bần (Hình 10).



Hình 10. Bột dược liệu thân rễ cỏ bạc đầu nhiều lá

(A: mảng biểu bì; B: mảng mô dày; C: mảng nhu mô; D: mạch vạch; E: mạch vòng; F: mạch mạng; G: khói nhựa)

Bột phần trên mặt đất có màu xanh, mùi thơm, không vị. Trong bột phát hoa có mảng mạch vạch, mạch mạng và mạch vòng. Mảng biểu bì có các màu

cam, đỏ, xanh nhạt, bên trên biểu bì có khí khổng. Mảnh nhu mô màu cam nhạt, mảnh giao mô có màu cam hoặc đỏ, mảnh nhu mô có lục lạp, sợi cương mô màu xanh dương, bó sợi, khói nhựa (Hình 11).



Hình 11. Bột dược liệu các bộ phận trên mặt đất của cỏ bạc đầu nhiều lá

(A: mạch vạch; B: mạch mạng; C: mạch vòng; D-F: mảnh biểu bì; G, O: sợi cương mô; H: lông che chở; I: mảnh nhu mô có tinh bột; J, K, N: mảnh nhu mô chứa tannin; M: khói nhựa; L: mảnh nhu mô chứa tinh dầu; P: mảnh nhu mô có diệp lục)

3.4. Thành phần hóa học

Qua kết quả khảo sát thành phần hóa học, 22 hợp chất hóa học có trong cỏ bạc đầu nhiều lá được ghi nhận gồm alkaloid, carbohydrate, glycoside tim, flavonoid, phenol, protein và acid amin, saponin, sterol, tannin, terpenoid, phytosterol, gum, glycoside, xanthoproteic, anthocyanin, coumarin, tinh dầu, carotenoid, diterpenes, nhựa, betalains và acid hữu cơ. Kết quả này tương tự như các nghiên cứu về thành phần hóa học của các loài cùng chi, *K. nemoralis* có glycoside, flavonoid, tannin, carbohydrate, triterpenoid, protein, acid amin và phenolic (Rajagopal et al., 2016; Majumder, 2013); *K. triceps* có steroid, alkaloid, glycoside, phenolic, flavonoid, saponin, tannin and amino acid (Aneela, Dey & De 2014; Babu & Savithramma, 2014); *K. monoceps* có coumarin, saponin, steroid, tannin, terpenoid (Babu & Savithramma, 2014).

Qua phân tích kết quả khảo sát thành phần hóa học từng bộ phận, có thể thấy rằng rễ có 16 hợp chất, thân rễ và phần trên mặt đất có 17 hợp chất. Có 11 hợp chất gồm carbohydrate, glycoside tim, flavonoid, phenol, tannin, xanthoproteic, coumarin, tinh dầu, betalains, acid hữu cơ và nhựa xuất hiện ở tất cả các bộ phận.

Trong nghiên cứu, 5 dung môi được sử dụng để tách chiết các hợp chất trong thực vật gồm 3 dung môi phân cực (nước, methanol, ethanol) và 2 dung môi không phân cực (chloroform, diethyl ether). Nhóm dung môi không phân cực xác định được số hợp chất ít hơn so với nhóm phân cực, số hợp chất xác định được tăng dần từ diethyl ether (10 hợp chất) < chloroform (12 hợp chất) < nước (13 hợp chất) <

ethanol, methanol (15 hợp chất). Trong nhóm dung môi không phân cực, một số chất được xác định từ dịch chiết chloroform như carbohydrate, sterol, terpenoid và tinh dầu. Trong khi đó, từ dịch chiết bằng diethyl ether lại có những hợp chất khác như carotenoid, nhựa và acid hữu cơ. Tương tự, các dung môi phân cực cũng cho thấy sự khác biệt khi tách chiết thành phần hóa học, dịch chiết nước có alkaloid, saponin trong khi dịch chiết ethanol và methanol không có; Dịch chiết methanol và nước có anthocyanin mà dịch chiết ethanol không có; Dịch chiết ethanol xuất hiện xanthoproteic, ngược lại dịch chiết nước và methanol không có phản ứng. Như vậy, từ kết quả trên cho thấy, để xác định được các hợp chất có trong thực vật, nhiều loại dung môi cần được sử dụng, bởi mỗi hợp chất trong thực vật sẽ có dung môi tách chiết thích hợp. Một dung môi không chiết xuất được tất cả các hợp chất hóa học từ thực vật mà có thể phải sử dụng một số dung môi để thu được kết quả tốt nhất của các hợp chất cụ thể.

Thành phần hóa học cỏ bạc đầu nhiều lá có nhiều hợp chất chuyển hóa thứ cấp có hoạt tính sinh học và tác dụng được lý giải, mang lại lợi ích cho sức khỏe như alkaloid, glycoside tim, flavonoid, phenol, saponin, tannin, glycoside (Wahab et al., 2018). Alkaloid có các hoạt tính sinh học như chống viêm, chống sốt rét, kháng khuẩn và gây độc tế bào (Iqbal et al., 2015). Các glycoside tim được sử dụng trong điều trị suy tim sung huyết và rối loạn nhịp tim (Madike et al., 2017). Flavonoid được công bố với nhiều tác dụng kháng khuẩn, kháng viêm, chống ung thư, giảm đau, kháng virus, chống dị ứng, kích thích miễn dịch (Madike et al., 2017; Ramamurthy & Sathiyadevi, 2017; Arunakumar N. & Ranjith Y,

2020). Các phenol thực vật có khả năng chống oxy hóa, kháng viêm, kháng u, kháng khuẩn và hạ huyết áp (Madike et al., 2017; Wahab et al., 2018). Các nghiên cứu đã công bố tannin kháng u, kháng virus (Iqbal et al., 2015), kháng oxy hóa (Ramamurthy & Sathiyadevi, 2017), lành vết thương (Babu & Savithramma, 2013; Arunakumar & Ranjith, 2020). Saponin được dùng làm thuốc bổ tim, ngăn ngừa tiêu đường, chống HIV và chống xơ vữa động mạch (Banno et al., 2004). Các coumarin có khả năng kháng viêm, chống đông máu, kháng khuẩn, kháng nấm, kháng virus, kháng ung thư, hạ huyết áp, chống lão hóa, chống co giật, chống dị ứng, hạ đường huyết (Venugopala et al., 2013), giảm đau, hạ nhiệt (Leal

et al., 2000; Jain & Joshi, 2012; Edori & Marcus, 2019). Anthocyanin giúp hệ thống miễn dịch chống lại các bệnh nhiễm virus (Berekci et al., 2018). Hợp chất hóa học thực vật là các chất chuyển hóa thứ cấp được tạo ra từ các bộ phận trong cây có thể được sử dụng để điều trị được nhiều bệnh khác nhau (Edori & Marcus, 2019; Food and Drug Administration, 2019). Việc phân tích và xác định đặc tính của các hợp chất có hoạt tính sinh học từ thực vật là quan trọng để xác định giá trị dược liệu của chúng. Kết quả phân tích thành phần hóa học cho thấy, cỏ bạc đầu nhiều lá có nhiều tiềm năng trong việc điều trị các bệnh như giảm đau, chống viêm, tăng hệ miễn dịch, trợ tim, hạ đường huyết.

Bảng 1. Thành phần hóa học các bộ phận của cỏ bạc đầu nhiều lá (*K. polyphylla*)

Dung môi	Diethyl ether				Chlorofrom				Ethanol				Methanol				Nước			
	R	T	P	Tc	R	T	P	Tc	R	T	P	Tc	R	T	P	Tc	R	T	P	Tc
Bộ phận																				
Alkaloid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Carbohydrate	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Glycoside tim	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
Flavonoid	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Phenol	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Amino acid, protein	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Saponin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Sterol	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Tannin	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+
Terpenoid	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Quinones	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxalate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phlobatannin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phytosterol	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gum	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chất béo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glycoside	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Xanthoproteic	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anthocyanin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Coumarin	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
Leucoanthocyanin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cholesterol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Emodins	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tinh dầu	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Carotenoid	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Polyuronid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diterpenes	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
Chất nhầy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nhựa	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
Betalains	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Acid hữu cơ	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

Chú thích: R: Rễ, T: Thân, P: Phần trên mặt đất, Tc: Toàn cây, “+” có xuất hiện hợp chất, “-” không xuất hiện hợp chất

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã trình bày chi tiết đặc điểm hình thái, giải phẫu và bột dược liệu các bộ phận khác nhau của cỏ bạc đầu nhiều lá. Những đặc điểm này là cơ sở giúp nhận dạng và kiểm nghiệm về mặt vi

học loài. Các dữ liệu về hình thái, giải phẫu và bột dược liệu trong nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu về chi *Kyllinga* trên thế giới. Qua kết quả khảo sát thành phần hóa học, 22 nhóm hợp chất đã được xác định trong đó có các hợp chất hóa học có

hoạt tính sinh học như alkaloid, cardiac glycoside, flavonoid, phenol, saponin và tannin. Các hợp chất này có khả năng chống oxy hóa, kháng viêm, kháng u, kháng khuẩn, giảm đau, hạ huyết áp, trợ tim, v.v. Qua đó cho thấy, cỏ bạc đầu nhiều lá là loài tiềm năng cần được nghiên cứu thêm và có thể ứng dụng trong y học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abegunde, S. M., & Ayodele-Oduola, R. O. (2015). Comparison of efficiency of different solvents used for the extraction of phytochemicals from the leaf, seed and stem bark of *Calotropis Procera*. *International of Science and Research (USR)*, 4, 835-838.
- Aneela, S., Dey, A., & De, S. (2014). Evaluation of Anthelmintic Activity of *Kyllinga triceps*. *Int. J. Pharm. Life Sci.*, 5(3), 3385–3388.
- Arunakumar, N. C., & Ranjith, Y. (2020). Preliminary phytochemical screening of medicinal plants used in traditional medicine. *International Journal for Modern Trends in Science and Technology*, 6(10), 109-112. <https://doi.org/10.46501/IJMTST061019>
- Babu, R. H., & Savithramma, N. (2013). Phytochemical screening of underutilized species of Poaceae. *JPR: BioMedRx: An International Journal*, 1(10), 947–951.
- Babu, R. H., & Savithramma, N. (2014). Screening of secondary metabolites of underutilized species of Cyperaceae. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 24(2), 182–187.
- Banno, N. B., Akihisa, T., Tokuda, H., Yasukawa, K., Higashihara, H., & Ukiya, M. (2004). Triterpene acids from the leaves of *Perilla frutescens* and their anti-inflammatory and antitumor-promoting effects. *Biosci Biotechnol Biochem*, 68(1), 85–90. <https://doi.org/10.1271/bbb.68.85>
- Berekci, M. S., Hassaine, H., Bekhechi, C., & Abdelouahid, D. E. (2018). Evaluation of antibacterial activity of some medicinal plants extracts commonly used in Algerian traditional medicine against some Pathogenic bacteria. *Pharmacognosy Journal*, 10(3), 507–512. <https://doi.org/10.5530/pj.2018.3.83>
- Bộ Y tế (2017). *Dược điển Việt Nam V tập 2*. Nhà xuất bản Y học.
- Chi, V. V. (2012). *Từ điển cây thuốc Việt Nam - Tập 1*. Nhà xuất bản Y học.
- Chimezie, E., & Alozie, O. C. (2019). Morphological description and culm anatomy in the identification of *Kyllinga Rottb.* (Cyperaceae) from some parts of Nigeria. *International Journal of Plant & Soil Science*, 26(4), 1–15. <https://doi.org/10.9734/ijpss/2018/v26i430049>
- Chung, H. (2006). *Phương pháp nghiên cứu về quần xã thực vật*. Nhà xuất bản Giáo dục.
- Edori, O. S., & Marcus, A. C. (2019). Phytochemical and anti-microbial screening of *Phyllanthus fraternus* and *Taraxacum officinale* leaves. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 08(1), 1–5. <https://doi.org/10.35248/2161-1009.19.8.376>
- Food and Drug Administration. (2009). Guidance for industry: Evidence-based review system for the scientific evaluation of health claims. *Center for Food Safety and Applied Nutrition*.
- Getliffe Norris, F. M. (1983). Anatomy of the genus *Kyllinga* in South Africa. *Bothalia – African Biodiversity and Conservation*, 14 (3/4), 809–817. <https://doi.org/10.4102/abc.v14i3/4.1247>
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, HZE., & Rahmat, A. (2011). Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in two varieties of young ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) extracts. *Journal of Medicinal Plant Researches*, 5(7), 1147–1154.
- Gurav, S. S. & Gurav, N. S. (2014). *Indian Herbal Drug Microscopy*. Springer New York. Doi: 10.1007/978-1-4614-9515-4
- Hô, P. H. (2003). *Cây cỏ Việt Nam - Tập 3*. Nhà xuất bản Trẻ.
- Iqbal, E., Salim, K. A., & Lim, L. B. L. (2015). Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam. *Journal of King Saud University - Science*, 27(3), 224–232. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2015.02.003>
- Jain, P. K., & Joshi, H. (2012). Coumarin: Chemical and pharmacological profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(6), 236–240.
- Khôi, N. K. (2002). *Thực Vật Chí Việt Nam 3 Họ Cói - Cyperaceae Juss.* Nhà xuất bản Khoa Học và Kỹ Thuật.
- Leal, LKA., Ferreira, A. A., Bezerra, G., Matos, F. J., & Viana, G. S. (2000). Antinociceptive, anti-inflammatory and bronchodilator activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin:

LỜI CẢM TẠ

Đề tài này được tài trợ bởi Dự án Nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA từ Chính phủ Nhật Bản.

- a comparative study. *Journal Ethnopharmacol*, 70(2), 151–159. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00165-8](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00165-8)
- Mondolot, L., Roussel, J. L., & Andary, C. (2001). New applications for an old lignified element staining reagent. *The Histochem Journal*, 33(7), 379–385.
- Madike, L. N., Takaidza, S., & Pillay, M. (2017). Preliminary phytochemical screening of crude extracts from the leaves, stems, and roots of *Tulbaghia violacea*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(10), 1300–1308. <https://doi.org/10.25258/phyto.v9i10.10453>
- Majumder, P. (2013). Investigation of anthelmintic activity of an ignored plant “*Kyllinga nemoralis*” tuber - A potential hope. *International Journal of Pharma and Bio Science*, 4(1), 45–52.
- Manurung, H., Manurung, H., Kustiawan, W., Kusuma, I. W., & Nugroho, A. (2019). Growth, phytochemical profile, and antioxidant activity of cultivated tabat barito (*Ficus deltoidea* Jack) under drought stress. *International Journal Bioscience*, 14(1), 366–378. <https://doi.org/10.12692/ijb/14.1.366-378>
- Murugan, T., Wins, J., & Murugan, M. (2013). Antimicrobial activity and phytochemical constituents of leaf extracts of *Cassia auriculata*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 75(1), 122–125. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.113546>
- Narasinga, R. V., & Kaladhar, D. K. (2012). Biochemical and phytochemical analysis of the medicinal plant, *Kaempferia galanga* rhizome extracts. *International Journal of Scientific Research*, 3(1), 18–20. <https://doi.org/10.15373/22778179/JAN2014/6>
- Odette, K. N., Félicien, L. L., Pius, M.T., Nadège, N. K., Fatiany, R. P., & Baholy, R. (2013). Phytochemical screening of some medicinal plants traditionally used by African women in Kinshasa city (DR Congo) for their intimate hygiene and evaluation of the pH of derived recipes. *Journal of Modern Drug Discovery And Drug Delivery Research*, 1(3), 1-7.
- Rajagopal, P. L., Sajith Kumar, P. N., Sreejith, K. R. & Premaletha, K. (2016). Phytochemical and Antioxidant Screening of the Aerial Parts of *Kyllinga nemoralis*. *International Journal of Science and Research methodology*, 4(2), 66–76.
- Ramamurthy, V., Sathiyadevi, M., & Preliminary. (2017). Preliminary phytochemical screening of methanol extract of *Indigofera trita* Linn. *Journal of Molecular History & Medical Physiology*, 2(1), 1–5.
- Roy, U., Alison, G., Georgina J., Reinhard, L., Elizabeth, W. & Diana, S. (2011). *Botanical Pharmacognosy : Microscopic Characterization of Botanical Medicines*. American Herbal Pharmacopoeia.
- Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K., & Latha, L. (2010). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v8i1.60483>
- Shukla, A., Vats, S. & Shukla, R. K. (2015). Phytochemical Screening, proximate analysis and antioxidant activity of *Dracaena reflexa* lam. Leaves. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 77(5), 640-644. Doi: 10.4103/0250-474X.16903
- Thin, N. N. (2007). *Các phương pháp nghiên cứu thực vật*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia.
- Upadhyay, A., Jain, S., Bhalla, N. & Arora, K. (2018). Phytochemical evaluation of monocot grass *Kyllinga triceps* rottb. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 8(5), 204-208. Doi: 10.22270/jddt.v8i5.1902
- Venugopala, K. N., Rashmi, V. & Odhav, B. (2013). Review on Natural Coumarin Lead Compounds for Their Pharmacological Activity. *BioMed Research International*, 2013(March), 1-14. Doi: 10.1155/2013/963248
- Viện dược liệu (2016). *Danh lục cây thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- Wahab, A. Jan, S. A., Rauf, A., Rehman, Z., Khan, Z., Ahmed, A., Syed, F., Safi, S. Z., Khan, H. & Imran, M. (2018). *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 19(2), 120-129. Doi: 10.1631/jzus.B1600443
- Yadav, R., Khare, R. K. & Singhal, A. (2017). Qualitative Phytochemical Screening of Some Selected Medicinal Plants of Shivpuri District (M.P.). *International Journal of Life-Sciences Scientific Research*, 3(1), 844-847. Doi: 10.21276/ijlssr.2017.3.1.16