

DOI: 10.59715/pntjmp.1.2.11

Khảo sát thành phần hóa học và điều kiện tách chiết Polyphenol, Flavonoid từ lá cây thạch vĩ (*Pyrrosia lingua*)

Phạm Ngọc Khôi

Bộ môn Mô Phôi - Di truyền, Khoa Khoa học cơ bản

Y học cơ sở, Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch, TP.HCM

Tóm tắt

Theo y học cổ truyền, lá cây thạch vĩ (*Pyrrosia lingua*) là một loại thảo dược quý dùng trong việc hỗ trợ điều trị viêm phế quản mạn tính, rụng tóc, giải độc lưu huỳnh. Mục tiêu nghiên cứu của đề tài nhằm xác định một số nhóm chất tự nhiên bằng phương pháp hóa học và khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến điều kiện tách chiết hàm lượng nhóm chất polyphenol, flavonoid tổng số từ lá cây thạch vĩ. Kết quả của nghiên cứu cho thấy có sự hiện diện của các nhóm chất tự nhiên quan trọng như polyphenol, flavonoid, tannin, alkaloid, steroid, nhưng không có nhóm chất saponin. Điều kiện tách chiết polyphenol, flavonoid tổng số từ lá cây thạch vĩ tối ưu nhất là dung môi methanol 80%, tỷ lệ nguyên liệu - dung môi là 1:10 (g/ml), thời gian chiết 120 phút, nhiệt độ chiết 60 °C. Nghiên cứu này đã xác định được một số nhóm chất tự nhiên và khảo sát được điều kiện chiết tách polyphenol, flavonoid tổng số tối ưu nhất từ lá cây thạch vĩ.

Từ khóa: Lá cây thạch vĩ, nhóm chất tự nhiên, polyphenol, flavonoid.

Abstract

Investigation of chemical components and extracting conditions of polyphenol, flavonoid from tongue fern (*Pyrrosia lingua*)

According to traditional medicine, tongue fern (*Pyrrosia lingua*) is a precious herb medicine, whose active ingredients might prevent many diseases such as chronic bronchitis, hair loss, sulfur detoxification. This study was conducted to demonstrate some natural compounds by chemical methods and investigate the factors affecting the extraction conditions of polyphenol, flavonoid compounds from tongue fern. Qualification of the natural compounds composition of tongue fern showed in the presence of important natural compounds such as polyphenol, flavonoid, tannin, alkaloid, steroid, but no saponins. The most appropriate condition for extracting polyphenol, flavonoid compounds from tongue fern was methanol 80%; the ratio of material and solvent was 1:10 (g/ml); extraction time was 120 minutes; and temperature was 60 °C. A number of natural compounds have been identified and the best conditions for extracting polyphenol, flavonoid from tongue fern were investigated.

Keyword: Tongue fern (felt fern), natural compounds, polyphenol, flavonoid.

Ngày nhận bài:

15/02/2022

Ngày phản biện:

20/3/2022

Ngày đăng bài:

20/4/2022

Tác giả liên hệ:

Phạm Ngọc Khôi

Email:

pnkhoi@pnt.edu.vn

ĐT: 0909097802

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hợp chất thiên nhiên là các chất hóa học có nguồn gốc từ thiên nhiên hoặc được con người trích ra từ các loại động thực vật trong thiên nhiên có hoạt tính sinh học hoặc có tác dụng dược học dùng để làm thuốc. Hiện nay trên thế giới đang có

xu hướng sử dụng các hợp chất thiên nhiên để thay thế dần các loại thuốc được tổng hợp bằng phương pháp hóa dược với nhiều tác dụng không mong muốn. Do đó, việc nghiên cứu tìm ra một nguồn nguyên liệu chứa hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học ngày càng được quan tâm nhiều hơn.

Cây thạch vĩ (*Pyrrhosia lingua*) còn có tên khác là thạch vĩ, thạch bì, cỏ lưỡi mèo, thạch lan, phi đao kiếm, ráng hỏa mạc lưỡi, kim tinh thảo, thuộc họ Dương xỉ Polypodiaceae, là một vị thuốc nam khá thông dụng trong y học cổ truyền. Loài cây này mọc hoang hóa rất nhiều ở các vùng đồi núi nước ta. Cái tên thạch vĩ xuất phát từ đặc điểm của cây mọc trên các tảng đá thành từng bụi lớn (thạch: đá, vĩ: rộng lớn). Theo y học cổ truyền, cây thạch vĩ có vị hơi đắng, tính bình, là cây thuốc dân gian quý được sử dụng khá nhiều để chữa bệnh như làm cho tóc đen và mọc nhanh, chữa sỏi đường tiết niệu, chữa phế nhiệt sinh ho, chữa rong huyết bạch đới, ung nhọt lở loét. Nghiên cứu sơ bộ cho thấy cây thạch vĩ có phytosterol, tannin thuộc loại pyrocatechic, những đường khử oxy, các chất béo và các chất vô cơ [1].

Hiện nay ở Việt Nam các công trình nghiên cứu về các loại nhóm chất tự nhiên khác của cây thạch vĩ chưa nhiều, vì vậy mục tiêu chính của nghiên cứu này là khảo sát thành phần hóa học và điều kiện ảnh hưởng đến quá trình tách chiết polyphenol, flavonoid từ lá cây thạch vĩ.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mẫu nghiên cứu

Lá cây thạch vĩ được mua từ công ty thảo dược Đức Thịnh (Thành phố Thủ Đức, Thành phố Hồ Chí Minh) chuyên cung cấp dược liệu chăm sóc sức khỏe.

2.2. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học, Khoa Khoa học ứng dụng, Đại học Tôn Đức Thắng, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam.

2.3. Các bước tiến hành nghiên cứu

Dược liệu được xử lý và xác định độ ẩm dựa theo Phụ lục 12, Dược điển Việt Nam V [2]. Sau đó chia làm 2 bước tiến hành. Ở bước 1, tiến hành tách chiết nguyên liệu bằng phương pháp ngâm kiệt theo một điều kiện tách chiết ngẫu nhiên (dung môi ethanol 70%, tỷ lệ nguyên liệu - dung môi là 1:10 (g/ml), 60 phút, 50°C). Sau đó, định tính một số nhóm chất tự nhiên của dịch chiết vừa thu được bằng các phương pháp hóa học. Nếu thành phần hóa học của dịch chiết có chứa nhóm chất

polyphenol, flavonoid thì chọn polyphenol, flavonoid làm đối tượng nghiên cứu tiếp tục và thực hiện tiếp bước 2. Ở bước 2, tiếp tục khảo sát các điều kiện tách chiết (dung môi, nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu - dung môi, thời gian, nhiệt độ) ảnh hưởng đến quá trình tách chiết polyphenol, flavonoid từ lá cây thạch vĩ, tiến hành so sánh các điều kiện đã khảo sát và xác định được điều kiện tách chiết tối ưu nhất, thu được dịch chiết từ lá cây thạch vĩ có tổng số hàm lượng polyphenol, flavonoid tối ưu nhất. Cô dịch chiết thành cao chiết. Cuối cùng thì tính hiệu suất chiết cao.

2.4. Xác định độ ẩm lá cây thạch vĩ

Sau khi sấy hoặc phơi khô rồi nghiền nhỏ nguyên liệu cần tiến hành xác định độ ẩm của nguyên liệu, từ độ ẩm có thể xác định được hàm lượng chất khô có trong mẫu nguyên liệu. Tiến hành xác định độ ẩm của 0,5 g mẫu nguyên liệu bằng máy đo độ ẩm tự động. Cao chiết được tách chiết sau này cũng được tiến hành xác định độ ẩm tương tự như đã mô tả.

2.5. Phương pháp ngâm kiệt

Sau khi chuẩn bị lá cây thạch vĩ, ngâm 20 g bột khô lá cây thạch vĩ vào 200 ml dung môi ethanol 70% trong bình ngâm kiệt, đặt vào bể điều nhiệt 50°C trong 5 phút, thêm vào 10 ml nước cất sau đó tiếp tục chiết ở 50°C trên bể điều nhiệt trong 60 phút. Sau một khoảng thời gian xác định, rút nhỏ giọt dịch chiết ở phía dưới, đồng thời bổ sung thêm dung môi chảy rất chậm ở phía trên và liên tục qua lớp lá cây thạch vĩ nằm yên. Lọc lấy dịch làm mẫu thử. Cô dịch chiết thành cao chiết rồi đem đi xác định độ ẩm cùng với mẫu nguyên liệu ban đầu căn cứ theo hướng dẫn của Dược điển Việt Nam V [3].

2.6. Định tính một số nhóm chất tự nhiên của lá cây thạch vĩ

Phương pháp được tiến hành bằng cách cho mỗi thuốc thử cho vào từng ống nghiệm riêng lẻ để khảo sát sự hiện diện của các thành phần hóa học.

- Nhóm chất polyphenol: sử dụng thuốc thử (CH₃COO)₂Pb 10% và FeCl₃ 5%. Lấy 1 ml dịch chiết cho vào ống nghiệm. Thêm vài giọt thuốc thử (CH₃COO)₂Pb 10%, nếu xuất hiện kết tủa trắng hoặc thêm vào vài giọt FeCl₃ 5%, để yên và quan sát, nếu dung dịch chuyển sang

màu xanh đen, xanh đậm, xanh rêu hay nâu nhạt chứng tỏ có sự hiện diện của polyphenol.

- Nhóm chất flavonoid: sử dụng phản ứng cyanidin. Lấy 1 ml dịch chiết cho vào ống nghiệm. Thêm một ít bột magnesium sau đó nhỏ từ từ cho đến hết 1 ml HCl đậm đặc. Sau 1 - 2 phút nếu dung dịch có màu đỏ cam, đỏ thẫm, nâu đỏ hoặc đỏ tươi chứng tỏ có sự hiện diện của flavonoid.

- Nhóm chất tannin: sử dụng thuốc thử gelatin 1%. Lấy 1 ml dịch chiết cho vào ống nghiệm. Thêm 5 giọt gelatin 1%, nếu xuất hiện tủa bông trắng chứng tỏ có sự hiện diện của tannin.

- Nhóm chất alkaloid: sử dụng thuốc thử Dragendorff, Mayer và Bouchardat. Lấy 1 ml dịch chiết cho vào ống nghiệm. Thêm vào 2 ml HCl loãng, sau đó thêm 1 ml thuốc thử Dragendorff, nếu dung dịch chuyển sang màu cam đến nâu đỏ chứng tỏ có sự hiện diện của alkaloid trong dịch chiết. Hoặc thêm vào 2 ml HCl loãng, sau đó thêm 1 ml thuốc thử Mayer, nếu xuất hiện màu trắng sữa chứng tỏ có sự hiện diện của alkaloid trong dịch chiết. Còn nếu nhỏ từ từ cho đến hết 1 ml thuốc thử Bouchardat, để yên và quan sát, nếu dung dịch xuất hiện kết tủa màu nâu, nâu đỏ hoặc vàng đậm là dương tính với alkaloid.

- Nhóm chất steroid: sử dụng thuốc thử Liebermann - Burchard. Trước tiên cần cô cạn dung môi, rồi hòa lại trong dung môi hữu cơ. Lấy 1 ml dịch chiết, nghiêng ống và thêm vào cho đến hết 1 ml thuốc thử. Nếu dung dịch có màu đỏ đến nâu đỏ đối với thuốc thử Liebermann - Burchard chứng tỏ có sự hiện diện của steroid.

- Nhóm chất saponin: để đánh giá một nguyên liệu chứa saponin cần xác định chỉ số bọt. Chỉ số bọt (CSB) là số ml nước để hòa tan saponin trong 1 g nguyên liệu cho cột bọt cao 1 cm sau khi lắc. Chỉ số tạo bọt được tính theo công thức: $CSB = 100 * (10/i)$, trong đó CSB là chỉ số tạo bọt, i là số thứ tự của ống nghiệm đầu tiên có cột bọt cao 1 cm. Bịt miệng các ống nghiệm rồi lắc 30 lần/30 giây. Để yên 15 phút và đo chiều cao của các cột bọt. Nếu chỉ số bọt dưới 100 thì nguyên liệu không chứa saponin, ngược lại chỉ số bọt trên 100 thì chứng tỏ có sự hiện diện của saponin trong nguyên liệu [4].

2.7. Xác định hàm lượng polyphenol tổng số

Để xác định hàm lượng polyphenol tổng

số (TPC, total polyphenol concentration) cần tiến hành các bước sau đây: trước tiên là dịch chiết cần được pha loãng ở nồng độ thích hợp, sau đó lấy 0,1 ml dịch chiết đã pha loãng trước đó trộn với 0,9 ml nước cất trước khi thêm vào 1 ml thuốc thử Foline - Ciocalteu (còn gọi là phương pháp gallic acid equivalence (GAE), một hỗn hợp của phosphomolybdate và phosphotungstate dùng trong phương pháp đo màu in vitro để định lượng nhóm chất phenolic và polyphenolic kháng oxy hóa). Hỗn hợp được trộn đều trước khi thêm 2,5 ml Na_2CO_3 7,5%. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được giữ ở 30 °C trong 30 phút trước khi đi đo ở độ dài sóng 660 nm sử dụng máy quang phổ kế (Carry 50, Varian, Australia). Kết quả được xác định bởi miligam gallic acid tương đương (mg GAE)/g chất khô.

Công thức tính như sau: $TPC = X * V * k/v * m * (1 - w)$, trong đó PP là hàm lượng polyphenol tổng số (mg GAE/g db) (db, dry basic, chất khô), X là nồng độ gallic acid được xác định từ phương trình đường chuẩn (mg/ml), V là thể tích dịch chiết từ m (g) mẫu lá cây thạch vĩ (ml), k là hệ số pha loãng, v là thể tích dịch được liệu sử dụng (ml), m là khối lượng được liệu thí nghiệm (g), w là độ ẩm của được liệu (%) [5].

2.8. Xác định hàm lượng flavonoid tổng số

Để xác định hàm lượng flavonoid tổng số (TFC, total flavonoid concentration) được xác định bằng phương pháp đo màu như mô tả của Ozsoy và cộng sự (2008). Các kết quả được thể hiện qua μg đương lượng quercetin (QE) trên mỗi gram chất khô mẫu phân tích (μg QE/g db).

Công thức tính như sau: $TFC = a * V * k * 100/v * m * (1 - w)$, trong đó TFC là hàm lượng flavonoid tổng số (μg QE /g db), a là hàm lượng quercetin được xác định từ phương trình đường chuẩn ($\mu g/l$), V là thể tích dịch chiết từ m (g) mẫu lá cây thạch vĩ (ml), k là hệ số pha loãng, v là thể tích dịch được liệu sử dụng (ml), m là khối lượng được liệu thí nghiệm (g), w là độ ẩm của được liệu (%) [6].

2.9. Khảo sát điều kiện tách chiết

Khảo sát các điều kiện tách chiết (dung môi, nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu - dung môi, thời gian, nhiệt độ) ảnh hưởng đến quá trình tách chiết polyphenol, flavonoid từ lá cây thạch vĩ được trình bày ở **bảng 1**.

Bảng 1. Khảo sát điều kiện tách chiết

Số TT	Điều kiện tách chiết	Nghiệm thức
1	Dung môi chiết	n-hexane, acetone, ethanol, methanol, nước
2	Nồng độ dung môi chiết (%)	50, 60, 70, 80, 90, 99,5
3	Tỷ lệ nguyên liệu - dung môi chiết (g/ml)	1:4, 1:6, 1:8, 1:10
4	Thời gian chiết (phút)	30, 60, 90, 120, 150, 180
5	Nhiệt độ chiết (°C)	30, 40, 50, 60, 70, 80
6	Số lần trích ly	1, 2, 3

2.10. Tính hiệu suất chiết cao

Hiệu suất chiết cao được tính dựa vào phương pháp cân khi so sánh khối lượng mẫu ban đầu, thể tích dịch chiết và khối lượng cao chiết thu được.

2.11. Phương pháp xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được lặp lại ba lần và sử dụng phần mềm thống kê SAS 8.1 để tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và sự sai khác có ý nghĩa của ba lần lặp lại. Kiểm định Turkey được

thực hiện để đánh giá mức độ khác biệt có ý nghĩa giữa các giá trị với mức ý nghĩa $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ

3.1. Kết quả kiểm tra độ ẩm nguyên liệu

Bằng phương pháp sử dụng máy đo độ ẩm tự động, độ ẩm mẫu dược liệu và cao chiết lá cây thạch vĩ được xác định lần lượt là 10,24% và 14,71%. Dược liệu và cao chiết lá cây thạch vĩ thu được sau khi cô quay ở dạng sệt và dự trữ ở 4°C để sử dụng cho các thí nghiệm sau. Theo quy định trong Dược điển Việt Nam V thì quy định độ ẩm đạt được cho bột dược liệu $\leq 13\%$ và quy định cho cao chiết $\leq 20\%$. Vậy giá trị mất khối lượng do làm khô trung bình của mẫu dược liệu là 10,24% và cao chiết dạng sệt là 14,71% của lá cây thạch vĩ đã đạt được tiêu chuẩn trên.

3.2. Kết quả định tính một số nhóm chất tự nhiên

Khảo sát định tính sơ bộ các nhóm chất có trong lá cây thạch vĩ nhằm chọn được nhóm chất thích hợp cho các thí nghiệm cần nghiên cứu. Dịch chiết được chiết với dung môi ethanol 70%, tỷ lệ nguyên liệu - dung môi là 1:10 (g/ml), chiết trong 60 phút ở nhiệt độ 50°C. Kết quả khảo sát định tính được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả định tính một số nhóm chất tự nhiên

STT	Nhóm chất	Thuốc thử	Hiện tượng	Kết luận
1	Polyphenol	(CH ₃ COO) ₂ Pb 10%	Kết tủa trắng	+
		Dung dịch FeCl ₃ 5%	Dung dịch xanh đậm	+
2	Flavonoid	Phản ứng cyanidin	Dung dịch đỏ thẫm	+
3	Tannin	Gelatin 1%	Tủa bông trắng	+
4	Alkaloid	Dragendorff	Dung dịch cam	+
		Mayer	Kết tủa trắng sữa	+
		Bouchardat	Kết tủa nâu đỏ	+
5	Steroid	Liebermann - Burchard	Dung dịch nâu đỏ	+
6	Saponin	Phản ứng tạo bọt	CSB > 100	—

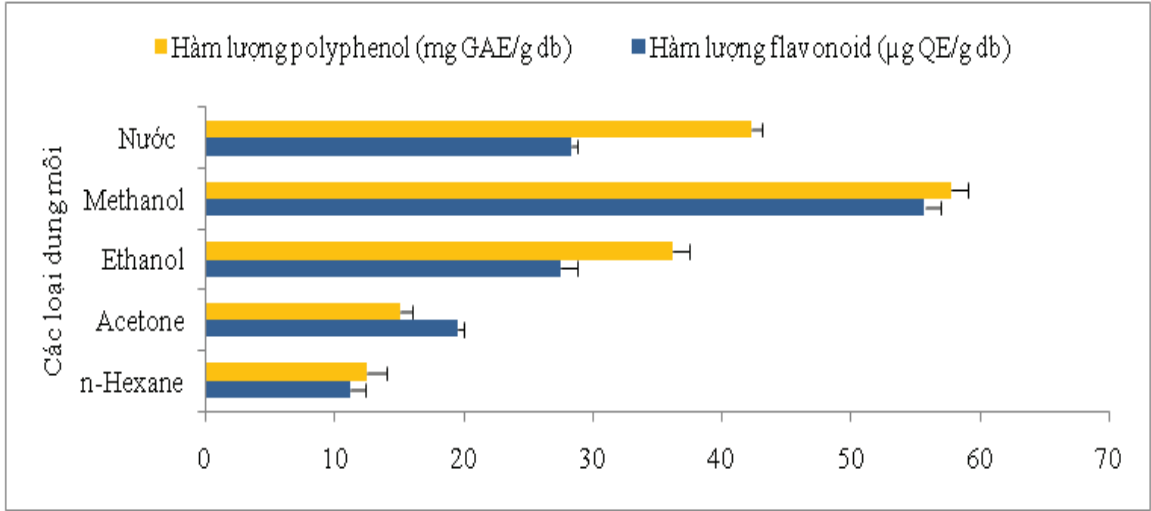
Chú thích: (—): không có sự hiện diện; (+): có sự hiện diện

Từ kết quả định tính trên, ta thấy trong lá cây thạch vĩ đều có các nhóm chất tự nhiên quan trọng như polyphenol, flavonoid, tannin, alkaloid, steroid, nhưng không có nhóm chất saponin. Trong đó, nhóm chất polyphenol, flavonoid cho kết quả dương tính, phù hợp với mục tiêu nghiên cứu ban đầu đặt ra nên tiếp tục thực hiện các thực nghiệm ở bước 2. Kết quả này bổ sung cho các nghiên cứu trước đây khi khảo sát thành phần hóa học chính có trong lá cây thạch vĩ gồm phytosterol, tannin của pyrocatechic, đường khử oxy, các chất béo, các chất vô cơ, diploptene và sitosterol [1].

3.3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện tách chiết đến hàm lượng polyphenol, flavonoid trích ly từ lá cây thạch vĩ

- Ảnh hưởng của loại dung môi đến hàm lượng polyphenol, flavonoid trích ly từ lá cây thạch vĩ

Khảo sát tách chiết polyphenol, flavonoid từ lá cây thạch vĩ bằng bốn loại dung môi là n-hexane, acetone, ethanol, methanol và nước với khối lượng mẫu là 2 g và thể tích dung môi là 100 ml, chiết với tỷ lệ là 1:10 trong 60 phút ở nhiệt độ 50°C. Kết quả thu được thể hiện thông qua biểu đồ 1.



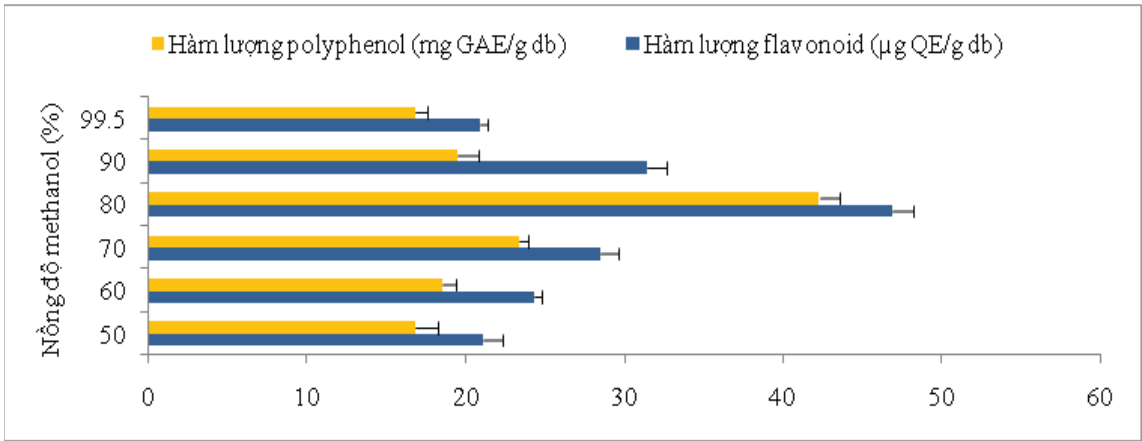
Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của các loại dung môi đến hàm lượng polyphenol, flavonoid trích từ lá cây thạch vĩ

Từ biểu đồ 1 cho thấy các loại dung môi có ảnh hưởng trực tiếp đến hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số thu được từ nguyên liệu. Theo kết quả thì dung môi methanol cho hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số cao nhất lần lượt là 57,75 mg GAE/g db, 55,75 µg QE/g db. Trong khi đó dung môi n - hexane cho hiệu quả chiết thấp nhất với hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số lần lượt là 12,56 mg GAE/g db, 11,23 µg QE/g db. Qua các kết quả thu được thì ta có thể sắp xếp hiệu suất chiết polyphenol, flavonoid bằng các loại dung môi theo thứ tự

tăng dần: n - hexane → acetone → ethanol → nước → methanol.

- Ảnh hưởng của nồng độ dung môi methanol đến hàm lượng polyphenol, flavonoid trích ly từ lá cây thạch vĩ

Sau khi chọn được dung môi tách chiết tốt nhất là methanol. Tiến hành khảo sát các nồng độ dung môi methanol khác nhau là 50, 60, 70, 80, 90, 99,5% với khối lượng mẫu là 2 g, chiết với tỷ lệ là 1:10 trong 60 phút ở nhiệt độ 50°C. Kết quả thu được thể hiện thông qua biểu đồ 2.



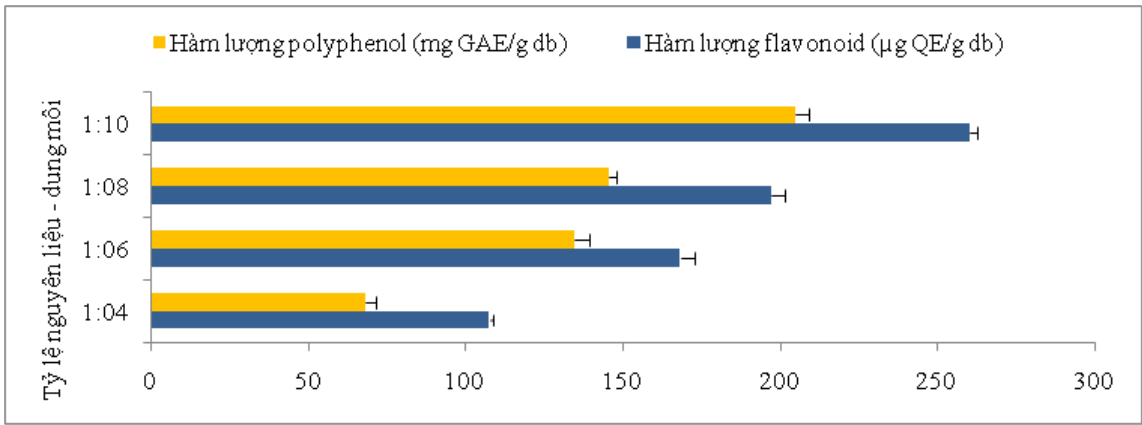
Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi methanol đến hàm lượng polyphenol, flavonoid trích từ lá cây thạch vĩ

Qua kết quả ở biểu đồ 2, ta nhận xét rằng ở nồng độ dung môi methanol 80% thì hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số cho kết quả cao nhất lần lượt là 42,29 mg GAE/g db, 46,88 µg QE/g db. Và có thể thấy rằng khi tăng dần nồng độ methanol từ 50% đến 80% thì hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số tăng dần, tuy nhiên nếu tiếp tục tăng nồng độ methanol từ 80% lên 99,5% thì hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số giảm mạnh. Qua các kết quả thu được thì ta có thể sắp xếp hiệu suất chiết polyphenol, flavonoid bằng nồng độ của dung

môi methanol theo thứ tự tăng dần: 50% → 99,5 % → 60% → 90 % → 70 % → 80%.

- Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu - dung môi đến hàm lượng polyphenol, flavonoid trích ly từ lá cây thạch vĩ

Sau khi chọn được dung môi tách chiết tốt nhất là methanol 80%, tiến hành khảo sát tiếp quá trình chiết với 4 tỷ lệ nguyên liệu - dung môi lần lượt là: 1:4, 1:6, 1:8, 1:10 với khối lượng mẫu là 2 g, chiết bằng dung môi methanol trong 60 phút ở nhiệt độ 50°C. Kết quả thu được thể hiện thông qua biểu đồ 3.



Biểu đồ 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu - dung môi đến hàm lượng polyphenol, flavonoid trích từ lá cây thạch vĩ

Qua số liệu của biểu đồ 3, cho thấy rằng ở tỷ lệ nguyên liệu - dung môi trích ly 1:10 thì hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số lần lượt là 204,72 mg GAE/g db, 260,33 µg QE/g db đạt cao nhất. Kết quả cho thấy tỷ lệ nguyên liệu

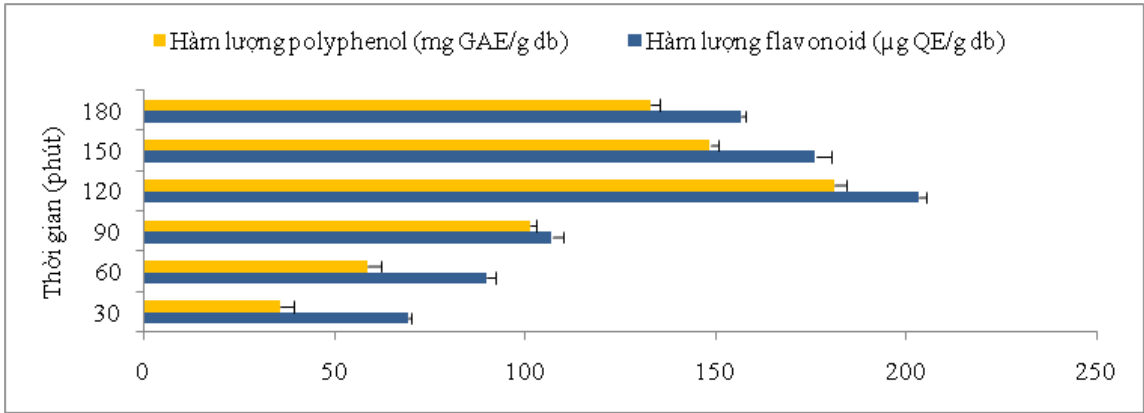
và dung môi methanol từ 1:4 tới 1:10 cho hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số tăng dần và đạt cao nhất ở 1:10. Điều đó chứng tỏ có sự ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu và dung môi methanol đến hàm lượng polyphenol, flavonoid

tổng số. Vì vậy, ta lựa chọn tỷ lệ nguyên liệu và dung môi methanol là 1:10 để thu được hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số cao nhất của lá cây thạch vĩ. Qua các kết quả thu được thì ta có thể sắp xếp hiệu suất chiết polyphenol, flavonoid bằng tỷ lệ nguyên liệu - dung môi theo thứ tự tăng dần: 1:4 → 1:6 → 1:8 → 1:10.

- Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng

polyphenol, flavonoid trích ly từ lá cây thạch vĩ

Sau khi chọn được tỷ lệ nguyên liệu - dung môi tách chiết tốt nhất là 1:10 (g/mL), tiếp tục khảo sát với 6 mốc thời gian chiết khác nhau là: 30, 60, 90, 120, 150, 180 phút với khối lượng mẫu là 2g, chiết bằng dung môi methanol với tỷ lệ là 1:10 ở nhiệt độ 50°C. Kết quả thu được thể hiện thông qua biểu đồ 4.



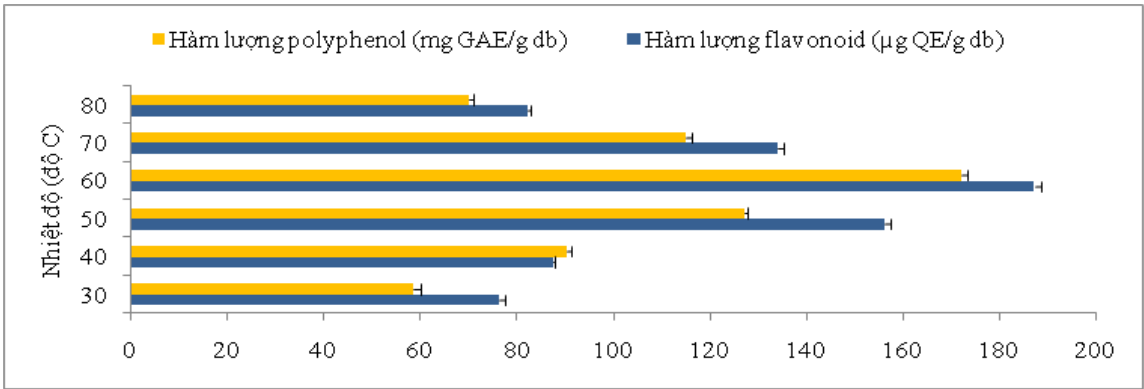
Biểu đồ 4. Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng polyphenol, flavonoid trích từ lá cây thạch vĩ

Theo số liệu biểu đồ 4, cho thấy ở mốc thời gian trích ly 120 phút thì cho hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số cao nhất lần lượt là 181,23 mg GAE/g db, 203,45 µg QE/g db so với các mốc thời gian trích ly còn lại. Tuy nhiên, thời gian càng tăng lên sau 120 phút thì hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số giảm dần. Qua các kết quả thu được thì ta có thể sắp xếp hiệu suất chiết polyphenol, flavonoid bằng thời gian chiết theo thứ tự tăng dần: 30 phút →

60 phút → 90 phút → 180 phút → 150 phút → 120 phút.

- Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng polyphenol, flavonoid trích ly từ lá cây thạch vĩ

Tiến hành khảo sát đến nhiệt độ chiết với 6 nhiệt độ khác nhau là: 30, 40, 50, 60, 70, 80°C với khối lượng mẫu là 2 g, chiết bằng dung môi methanol với tỷ lệ là 1:10 trong 120 phút. Kết quả thu được thể hiện thông qua biểu đồ 5.



Biểu đồ 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng polyphenol, flavonoid trích từ lá cây thạch vĩ

Theo số liệu của biểu đồ 5, cho thấy rằng khi tăng nhiệt độ từ 30°C đến 60°C thì hàm lượng

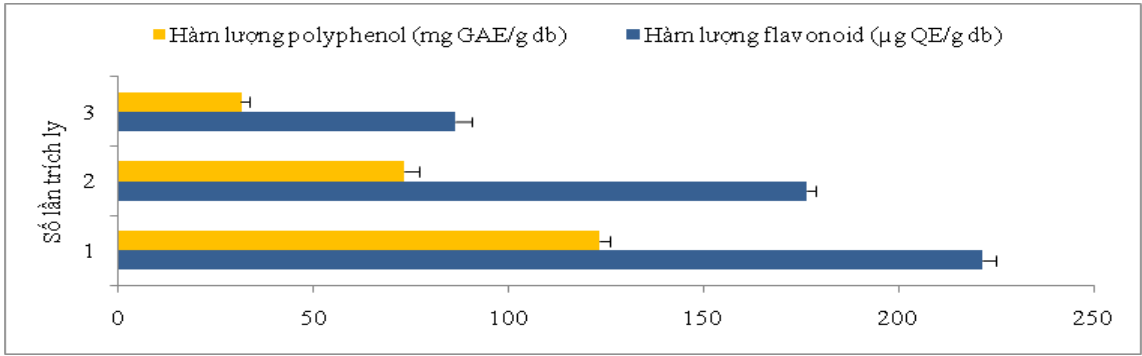
polyphenol, flavonoid tổng số tăng dần và đạt cao nhất ở nhiệt độ 60°C lần lượt là 172,12 mg

GAE/g db, 187,34µg QE/g db. Từ 60°C đến 80°C thì hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số giảm mạnh. Qua các kết quả thu được thì ta có thể sắp xếp hiệu suất chiết polyphenol, flavonoid bằng nhiệt độ chiết theo thứ tự tăng dần: 30°C → 80°C → 40°C → 70°C → 50°C → 60°C.

- Ảnh hưởng của số lần trích ly đến hàm lượng polyphenol, flavonoid trích ly từ lá cây

thạch vĩ

Tiến hành tách chiết dịch chiết tổng số có hàm lượng polyphenol, flavonoid cao từ lá cây thạch vĩ theo điều kiện tách chiết đã khảo sát như ở trên (dung môi methanol là 80%, tỷ lệ nguyên liệu - dung môi là 1:10, thời gian chiết là 120 phút, nhiệt độ chiết là 60°C). Kết quả thu được sau 3 lần trích ly được thể hiện thông qua biểu đồ 6.



Biểu đồ 6. Ảnh hưởng của số lần trích ly đến hàm lượng polyphenol, flavonoid trích từ lá cây thạch vĩ

Theo số liệu biểu đồ 6, cho thấy ở lần trích ly đầu tiên thì cho hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số cao nhất lần lượt là 123,43 mg GAE/g db, 221,56µg QE/g db. Số lần trích ly càng tăng lên thì hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số giảm dần.

Như vậy, sau khi khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện tách chiết đến hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số trích từ lá cây thạch vĩ, chúng tôi xác định được các thông số tách chiết tốt nhất sau: dung môi chiết là methanol, nồng độ của dung môi methanol là 80%, tỷ lệ nguyên liệu - dung môi là 1:10 9g/ml), thời gian chiết là 120 phút, nhiệt độ chiết là 60°C, số lần trích ly là 3 lần.

3.4. Kết quả tính hiệu suất chiết cao

Tiến hành tách chiết dịch chiết tổng số có hàm lượng polyphenol, flavonoid cao từ lá cây thạch vĩ theo điều kiện tách chiết đã khảo sát như ở trên (dung môi methanol là 80%, tỷ lệ nguyên liệu - dung môi là 1:10, thời gian chiết là 120 phút, nhiệt độ chiết là 60°C). Sau đó cô dịch chiết thành cao chiết. Thông qua phương

pháp cân để tính hiệu suất chiết cao. Kết quả tính hiệu suất chiết cao được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả tính hiệu suất chiết cao

Khối lượng nguyên liệu ban đầu (g)	50
Thể tích dịch chiết thu được (ml)	1732
Khối lượng cao chiết (g)	23,16
Hiệu suất chiết cao (%)	46,32

Từ kết quả ở bảng 3, ta thấy hiệu suất chiết cao polyphenol, flavonoid từ lá cây thạch vĩ ở điều kiện tách chiết đã khảo sát là 46,32% bằng cách tính tỷ số giữa khối lượng cao chiết thu được và khối lượng nguyên liệu ban đầu.

4. BÀN LUẬN

Cả thế giới đang bị cuốn theo bởi đại dịch gây ra bởi coronavirus (coronavirus disease 2019, COVID-19) với hội chứng suy hô hấp cấp tính nghiêm trọng. Chiết xuất thô hoặc các nhóm chất tinh khiết được phân lập từ cây thuốc đã cho thấy hiệu quả đầy hứa hẹn qua

việc ức chế đối với coronavirus. Theo nghiên cứu của Bikash Adhikari và cộng sự (2021) đã chứng minh cây thạch vĩ là 1 trong 93 dược liệu kháng coronavirus và có khả năng ứng dụng trong việc nghiên cứu tiềm năng phát triển thành thuốc kháng coronavirus trong tương lai [7].

Còn trong nghiên cứu của Ya - Ru Wang và Wu - de Yang (2018), dịch chiết chưng cất phân đoạn bằng ether dầu mỏ và dichloromethane từ cây thạch vĩ ở tỉnh Quý Châu, Trung Quốc có thể làm giảm nồng độ oxalic acid và calcium trong thận, tăng oxalic acid và calcium trong nước tiểu, có tác dụng ức chế đáng kể sự hình thành sỏi thận ở chuột thí nghiệm, làm tăng đáng kể hoạt động của superoxide dismutase, catalase trong các mô thận và làm giảm đáng kể mức malondialdehyde. Cũng trong nghiên cứu này, khi phân tích sắc ký ghép khối phổ cho thấy caffeine, citric acid và tartaric acid nằm trong số các hợp chất từ phân đoạn ether dầu mỏ và dichloromethane đều cho thấy tác dụng tốt trong việc phòng ngừa và điều trị bệnh tích tụ calcium và cơ chế này có thể liên quan đến việc chống oxy hóa, giảm lắng đọng tinh thể calcium oxalate và thúc đẩy giải phóng tinh thể calcium oxalate. Ngoài ra, caffeine, citric acid và tartaric acid còn có tác dụng làm dịu da [8].

Hiện nay ở Việt Nam chưa có nhiều công trình nghiên cứu về loại cây này. Kết quả trong nghiên cứu này đã bổ sung thêm các đặc tính sinh học của lá cây thạch vĩ như định tính một số nhóm chất tự nhiên (polyphenol, flavonoid, tannin, alkaloid, steroid) và khảo sát các yếu tố ảnh hưởng (dung môi, nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu - dung môi, thời gian chiết, nhiệt độ chiết) đến điều kiện tách chiết để đạt được hàm lượng nhóm chất polyphenol, flavonoid tổng số cao nhất từ lá cây thạch vĩ.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã chứng minh được trong lá cây thạch vĩ có sự hiện diện của các nhóm chất tự nhiên quan trọng như polyphenol, flavonoid, tannin, alkaloid, steroid, nhưng

không có nhóm chất saponin. Ngoài ra, nghiên cứu này còn xác định được điều kiện tách chiết hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số có trong dịch chiết lá cây thạch vĩ cho hiệu quả tốt nhất khi sử dụng dung môi methanol với nồng độ là 80%, tỷ lệ nguyên liệu - dung môi là 1:10 (g/ml), thời gian chiết là 120 phút, nhiệt độ chiết 60°C với hiệu suất tạo cao chiết là 46,32%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học; 2004: 249 - 250.
2. Bộ Y tế. Phụ lục 12, Dược điển Việt Nam V. Nhà xuất bản Y học; 2017.
3. Phạm Ngọc Khôi. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn và kháng nấm từ dịch chiết cây rau quế vị (*Limnophila rugosa* (Roth) Merr.). Tạp chí Y Dược học Phạm Ngọc Thạch 2022; 1(1): 105 - 111.
4. Phạm Ngọc Khôi. Khảo sát khả năng kháng khuẩn, kháng nấm từ cao chiết cây cải xoăn (*Brassica oleracea*). Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh 2019; 3(23): 78 - 84.
5. Phạm Ngọc Khôi. Khảo sát khả năng kháng oxy hóa và kháng khuẩn của dịch chiết lá cây lá lưa (*Cynometra ramiflora* L.). Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh 2020; 3(24): 34 - 43.
6. Nguyễn Minh Cẩm Tiên, Phạm Ngọc Khôi. Nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, kháng oxy hóa của hợp chất polyphenol chiết xuất từ rễ cây mướp gai (*Lasia spinosa* L.). Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh 2016; 20(20): 436 - 446.
7. Bikash Adhikari, Bishnu P. Marasini, Binod Rayamajhee, Bibek Raj Bhattarai, Ganesh Lamichhane, Karan Khadayat et al. Potential roles of medicinal plants for the treatment of viral diseases focusing on COVID-19: A review. *Phytother. Res.* 2021; 35(3):1298-1312.
8. Ya - Ru Wang, Wu - de Yang. Lithagogue effects of *Pyrrosia lingua* from Guizhou province on experimental renal calculus in rats. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 2018; 43(16):3291-3300.