

DOI: 10.59715/pntj.mp.1.3.2

Khảo sát thành phần hóa thực vật và xây dựng quy trình điều chế cao dược liệu có hàm lượng Polyphenol cao từ cây dền gai (*Amaranthus spinosus* L.)

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

Căn cứ theo y học cổ truyền, cây dền gai hay cây dền hoang (*Amaranthus spinosus* L.) là một loại thảo dược quý thuộc họ Dền (Amaranthaceae) dùng trong việc hỗ trợ điều trị đau nhức, gai cột sống, thoát vị đĩa đệm, đau nhức xương khớp, sỏi thận, mụn nhọt, đau họng. 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 tổng số từ cây dền gai. 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, saponin, glycoside. Điều kiện tách chiết polyphenol tổng số từ cây dền gai thích hợp nhất là dung môi ethanol 70%, tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 1:6 (g/ml), thời gian chiết 150 phút, nhiệt độ chiết 50 °C. Nghiên cứu này đã xác định được một số nhóm chất tự nhiên và khảo sát được điều kiện chiết tách polyphenol tổng số tối ưu nhất từ cây dền gai.

Từ khóa: Cây dền gai, nhóm chất tự nhiên, polyphenol.

Abstract

Research on plant chemical composition and establishing process for extracting high polyphenol content from spiny amaranth (*Amaranthus spinosus* L.)

According to traditional medicine, spiny amaranth (*Amaranthus spinosus* L.) is a valuable herb of the Amaranthaceae family used in the treatment of aches and pains, spondylosis, herniated disc, osteoarthritis pain, kidney stones, acne, sore throat. This study was conducted to identify some natural compounds and factors affecting the extraction conditions of polyphenol compounds from *Amaranthus spinosus* L. Studying the composition of natural compounds of *Amaranthus spinosus* L. Showed the presence of important natural compounds such as polyphenol, flavonoid, tannin, alkaloid, steroid, saponin, glycoside. The most appropriate condition for extracting polyphenol, flavonoid compounds from *Amaranthus spinosus* L. Was ethanol 70%, the ratio of material:solvent 1:6 (g/ml), extraction time of 150 minutes, and extraction temperature of 50°C. A number of natural compounds have been identified and the best conditions for extracting polyphenol, flavonoid from *Amaranthus spinosus* L. Were investigated.

Keyword: Spiny amaranth, natural compounds, polyphenol.

Ngày nhận bài:

31/10/2021

Ngày phản biện:

20/6/2022

Ngày đăng bài:

20/7/2022

Tác giả liên hệ:

Phạm Ngọc Khôi

Email: pnkhoi@pnt.edu.vn

ĐT: 0909 097 802

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, cây rau dền thường được dùng làm rau ăn gồm có ba loại chủ yếu là dền đỏ hay dền tía (*Amaranthus tricolor*), dền cơm hay dền trắng (*Amaranthus viridis*) và dền gai (*Amaranthus spinosus*). Trong đó, cây dền gai thuộc nhóm cây mọc hoang và cũng được trồng khắp nơi. Đây là cây dạng thân thảo, dễ trồng, khả năng chống chịu tốt với thời tiết khắc nghiệt. Đặc điểm nổi bật của cây là trên thân và cành đều có chứa gai, hoa chụm lại thành chùm ở đầu cành. Tuổi đời của cây phát triển trong khoảng 2 tháng. Cây dền gai chứa một tỷ lệ các chất khoáng cao như sodium, potassium. Do cây có nhiều potassium nên có tính lợi tiểu thường dùng để điều trị phù thũng. Bên cạnh đó, cây dền gai còn chứa chất sắt, vitamin A, B2, B3, C, calcium và chứa nhiều amino acid thiết yếu cho cơ thể [1].

Căn cứ theo y học cổ truyền, cây dền gai có vị ngọt nhạt, tính hàn, không độc, có tác dụng thanh nhiệt. Trong dân gian thường dùng cả thân, lá, rễ, hạt của cây dền gai để làm thuốc như phân cây trên mặt đất được dùng làm thuốc chữa bỏng, đắp tiêu viêm mụn nhọt, phần lá có tính long đờm và được dùng trị ho và các bệnh về đường hô hấp, trong khi phần hạt thường dùng để đắp, băng bó chấn thương [2]. Thành phần đặc trưng khi chiết xuất cây dền gai là các hợp chất phenolic bao gồm cả betalains, trong đó amaranthine và isoamaranthine là các betalain chính trong cây dền gai đã được xác định. Các chất chiết xuất khác từ cây dền gai bao gồm hydroxycinnamates, quercetin, kaempferol glycoside. Tổng lượng của các hợp chất này nằm trong khoảng từ 305 mg trong 100 g nguyên liệu ban đầu [3]. Ngoài ra, các chất chiết xuất thu được từ cây dền gai đã được sàng lọc về các đặc tính chống sốt rét đáng kể khi thử nghiệm trên mô hình chuột [4].

Hiện nay ở Việt Nam các công trình nghiên cứu về loại cây này chưa nhiều, vì vậy trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu chính là định tính một số nhóm chất tự nhiên (polyphenol, flavonoid, tannin, alkaloid, steroid, saponin, glycoside) và khảo sát các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình tách

chiết polyphenol từ cây dền gai (dung môi, nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu:dung môi, thời gian, nhiệt độ).

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mẫu nghiên cứu

Cây dền gai 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

Xử lý mẫu cây dền gai. Kiểm nghiệm mẫu nghiên cứu (dựa theo Dược điển Việt Nam V, [5]): bằng cách xác định độ ẩm. Chia làm 2 bước.

- Bước 1: 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). 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 hoạt chất polyphenol thì chọn polyphenol làm đối tượng nghiên cứu tiếp tục và thực hiện tiếp bước 2.

- Bước 2: 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 từ cây dền gai. So sánh các điều kiện đã khảo sát và xác định được điều kiện tách chiết tối ưu nhất. Thu được dịch chiết tổng số có hàm lượng polyphenol cao tách chiết từ cây dền gai. Cô dịch chiết thành cao chiết. Tính hiệu suất chiết cao.

2.3.1. Xử lý nguyên liệu

Một kilogram cây dền gai sau khi được thu hái chỉ sử dụng những lá trưởng thành, loại bỏ cành, lá non và lá bị dập nát. Rửa sạch bằng nước nhằm loại bỏ bụi bẩn. Mẫu được sấy tới trọng lượng không đổi trong tủ sấy ở nhiệt độ 40 - 45°C và sau đó được xay nhỏ thành bột khô

bằng máy xay nhằm mục đích tăng diện tích tiếp xúc giữa dung môi và nguyên liệu, làm tăng khả năng khuếch tán, khả năng trích ly và khả năng thẩm thấu của các chất vào trong dung môi. Sau đó bảo quản nơi khô ráo ở nhiệt độ phòng.

2.3.2. Xác định độ ẩm

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 0,5g 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.

2.3.3. Phương pháp ngâm kiệt

Sau khi chuẩn bị cây đèn gai, ngâm 20g bột khô cây đèn gai 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 cây đèn gai 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 [6].

2.3.4. Định tính một số nhóm chất tự nhiên của cây đèn gai

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 lắc nhẹ, 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 lắc nhẹ, 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 glycoside: sử dụng thuốc thử Fehling. Lấy 1 ml dịch chiết mẫu cho vào ống nghiệm, nhỏ từ từ từng giọt thuốc thử dọc theo thành ống nghiệm. Sau đó đun sôi ống nghiệm trên đèn cồn trong 1 phút. Nếu thấy xuất hiện kết tủa nâu đỏ chứng tỏ có sự hiện diện của glycoside.

- 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: $CSB = 100 \cdot (10/i)$, 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 [7, 8].

2.3.5. **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 Na₂CO₃ 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: $TPC = \frac{X * V * k}{v * m * (1 - w)}$, trong đó TPC là hàm lượng polyphenol tổng số (mg GAE/g db) (db, dry basic, chất khô), X là nồng độ gallic acid xác định theo đường chuẩn (mg/ml), V là thể tích dịch chiết từ m (g) mẫu cây đèn gai (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 dược liệu (%) [9].

2.3.6. **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 từ cây đèn gai được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Khảo sát điều kiện tách chiết

STT	Điều kiện tách chiết	Nghiệm thức
1	Dung môi chiết	Acetone, ethanol, methanol, nước
2	Nồng độ dung môi chiết (%)	50, 60, 70, 80, 90, 96
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, 240
5	Nhiệt độ chiết (°C)	30, 40, 50, 60, 70

2.3.7. **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.

2.4. **Phương pháp xử lý số liệu**

Mỗi thí nghiệm được lặp lại ba lần và sử dụng phần mềm thống kê SAS 8.1 và Microsoft Excel 2010 để tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và sự sai khác có ý nghĩa của ba lần lặp lại. Từ đó, biết được các kết quả thí nghiệm có ý nghĩa không và các yếu tố có ảnh hưởng lên kết quả thí nghiệm không. Thực hiện kiểm định Tukey 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 cây đèn

gai được xác định lần lượt là 10,7% và 15,2%. Dược liệu và cao chiết cây đèn gai 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 10,7% và cao chiết dạng sệt là 15,2% của cây đèn gai 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 cây đèn gai 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	Glycoside	Fehling	Kết tủa nâu đỏ	+
7	Saponin	Phản ứng tạo bọt	CSB>100	+

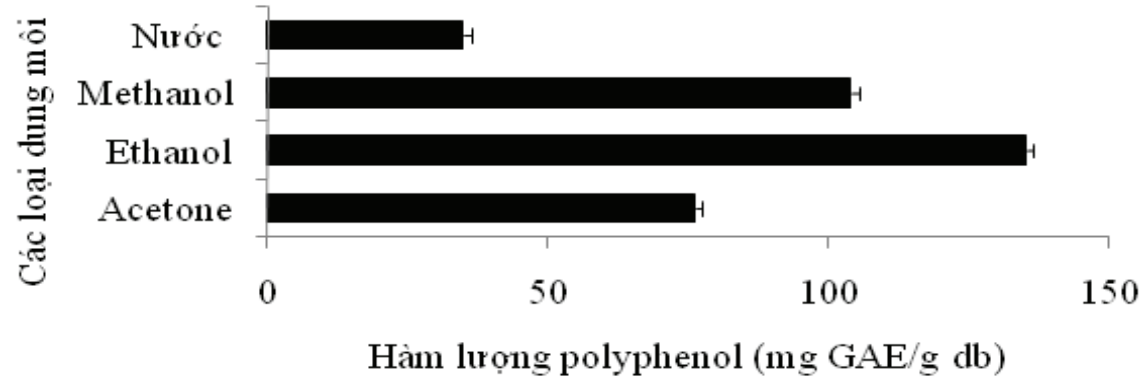
Chú thích: (–): không có sự hiện diện; (+): có sự hiện diện

Từ kết quả định tính trên, ta thấy trong cây đèn gai đều có các nhóm chất tự nhiên quan trọng như polyphenol, flavonoid, tannin, alkaloid, steroid, glycoside, saponin. Trong đó, nhóm chất polyphenol 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.

3.3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện tách chiết đến hàm lượng polyphenol trích ly từ cây đèn gai

- Ảnh hưởng của loại dung môi đến hàm lượng polyphenol trích ly từ cây đèn gai

Khảo sát tách chiết polyphenol từ cây đèn gai bằng bốn loại dung môi là acetone, ethanol, methanol và nước với khối lượng mẫu là 2 g và thể tích dung môi là 20 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.

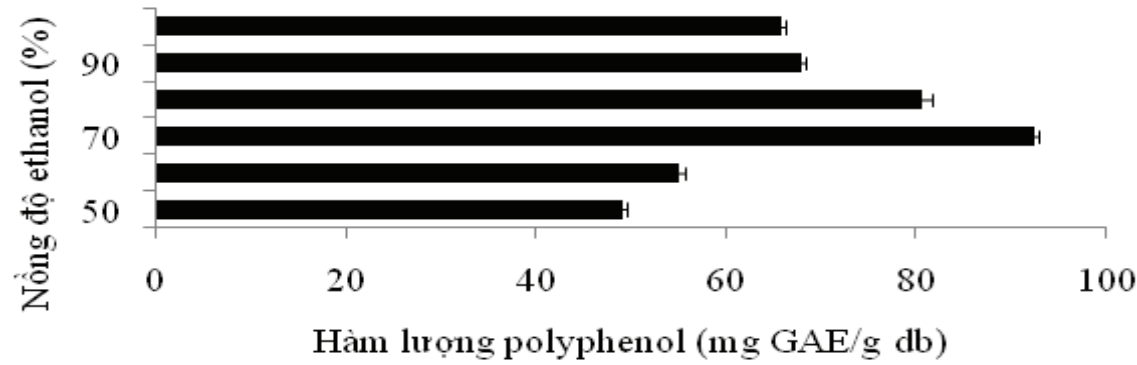


Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của các loại dung môi đến hàm lượng polyphenol trích từ cây đèn gai

Từ biểu đồ 1 cho thấy các loại dung môi có ảnh hưởng trực tiếp đến hàm lượng polyphenol tổng số thu được từ nguyên liệu. Theo kết quả thì dung môi ethanol cho hàm lượng polyphenol tổng số cao nhất đạt 135,24 mg GAE/g db. Nước cho hiệu quả chiết thấp nhất với hàm lượng polyphenol tổng số là 34,75 mg GAE/g db. Qua các kết quả thu được thì ta có thể sắp xếp hiệu suất chiết polyphenol bằng các loại dung môi theo thứ tự tăng dần: nước → acetone → methanol → ethanol.

- Ảnh hưởng của nồng độ dung môi ethanol đến hàm lượng polyphenol trích ly từ cây đèn gai

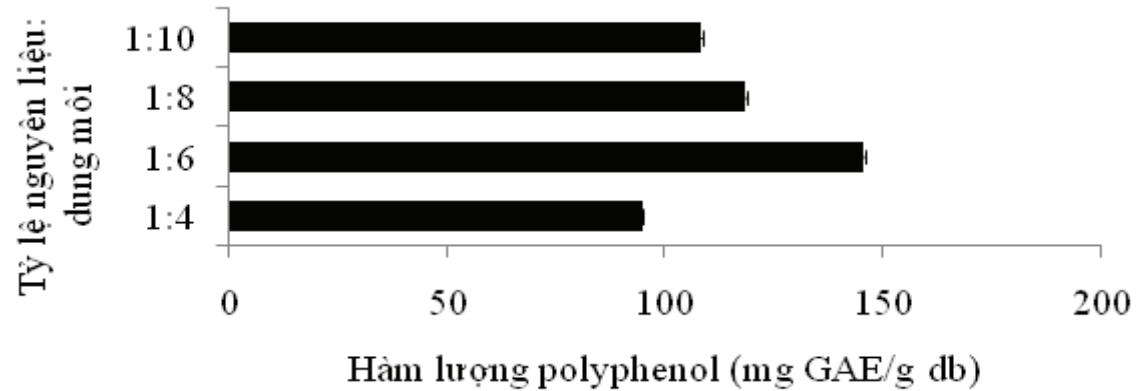
Sau khi chọn được dung môi tách chiết tốt nhất là ethanol. Tiến hành khảo sát các nồng độ dung môi ethanol khác nhau là 50, 60, 70, 80, 90, 96% với khối lượng mẫu là 2 g, chiết với tỷ lệ là 1:10 trong 60 phút ở nhiệt độ 50°C. Kết quả thu được thể hiện thông qua biểu đồ 2.



Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi ethanol đến hàm lượng polyphenol trích từ cây đèn gai

Qua kết quả ở biểu đồ 2, ta nhận xét rằng ở nồng độ dung môi ethanol 70% thì hàm lượng polyphenol tổng số cho kết quả cao nhất là 92,33 mg GAE/g db. Và có thể thấy rằng khi tăng dần nồng độ ethanol từ 50% đến 70% thì hàm lượng polyphenol tổng số tăng từ 49,23 mg GAE/g db lên 92,33 mg GAE/g db, tuy nhiên nếu tiếp tục tăng nồng độ ethanol từ 70% lên 96% thì hàm lượng polyphenol tổng số giảm mạnh từ 92,33 mg GAE/g db xuống 65,81 mg GAE/g db. Qua các kết quả thu được thì ta có thể sắp xếp hiệu suất chiết polyphenol bằng nồng độ của dung môi ethanol theo thứ tự tăng dần: 50% → 60% → 96 % → 90 % → 80 % → 70%.

- Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu:dung môi đến hàm lượng polyphenol trích ly từ cây đèn gai
Sau khi chọn được dung môi tách chiết tốt nhất là ethanol 70%, 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 2g, chiết bằng dung môi ethanol trong 60 phút ở nhiệt độ 50°C. Kết quả thu được thể hiện thông qua biểu đồ 3.

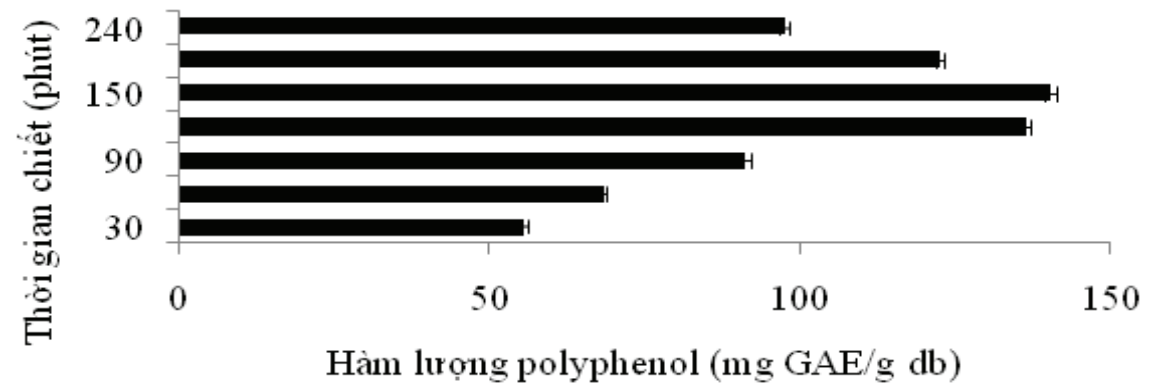


Biểu đồ 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu: dung môi đến hàm lượng polyphenol trích từ cây đèn gai

Qua số liệu của biểu đồ 3, cho thấy rằng ở tỷ lệ nguyên liệu: dung môi trích ly 1:6 thì hàm lượng polyphenol tổng số là 145,19 mg GAE/g db đạt cao nhất. Kết quả cho thấy tỷ lệ nguyên liệu và dung môi ethanol từ 1:4 tới 1:6 cho hàm lượng polyphenol tổng số tăng dần và đạt cao nhất ở 1:6, nhưng khi tỷ lệ nguyên liệu và dung môi ethanol là 1:8 thì hàm lượng polyphenol tổng số giảm chỉ còn 118,22 mg GAE/g db. Điều đó chứng tỏ có sự ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu và dung môi ethanol đến hàm lượng polyphenol tổng số. Vì vậy, ta lựa chọn tỷ lệ nguyên liệu và dung môi ethanol là 1:6 để thu được hàm lượng polyphenol tổng số cao nhất của cây đèn gai. Qua các kết quả thu được thì ta có thể sắp xếp hiệu suất chiết polyphenol bằng tỷ lệ nguyên liệu:dung môi theo thứ tự tăng dần: 1:4 → 1:10 → 1:8 → 1:6.

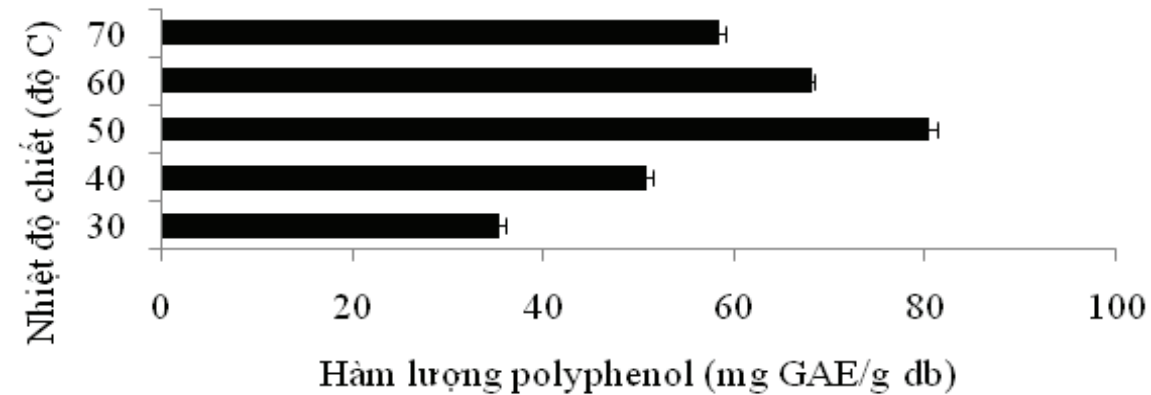
- Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng polyphenol trích ly từ cây đèn gai

Sau khi chọn được tỷ lệ nguyên liệu: dung môi tách chiết tốt nhất là 1:6 (g/mL), tiếp tục khảo sát với 7 mốc thời gian chiết khác nhau là: 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240 phút với khối lượng mẫu là 2g, chiết bằng dung môi ethanol với tỷ lệ là 1:6 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 trích từ cây đèn gai
Theo số liệu biểu đồ 4, cho thấy ở mốc thời gian trích ly 150 phút thì cho hàm lượng polyphenol tổng số cao nhất là 140,46 mg GAE/g db so với các mốc thời gian trích ly còn lại. Tuy nhiên, thời gian càng tăng lên sau 150 phút thì hàm lượng polyphenol tổng số giảm dần. Qua các kết quả thu được thì ta có thể sắp xếp hiệu suất chiết polyphenol bằng thời gian chiết theo thứ tự tăng dần: 30 phút → 60 phút → 90 phút → 240 phút → 180 phút → 120 phút → 150 phút.

- Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng polyphenol trích ly từ cây đèn gai
Tiến hành khảo sát đến nhiệt độ chiết với 5 nhiệt độ khác nhau là: 30, 40, 50, 60, 70°C với khối lượng mẫu là 2g, chiết bằng dung môi ethanol với tỷ lệ là 1:6 trong 150 phút. Kết quả thu được thể hiện thông qua biểu đồ 5.



Biểu đồ 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng polyphenol trích từ cây đèn gai
Cùng với dung môi, nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu:dung môi, thời gian chiết thì nhiệt độ chiết cũng được xem là yếu tố có ảnh hưởng lớn nhất đến hiệu suất trích ly và hoạt tính sinh học của dịch chiết cây đèn gai. Theo số liệu của biểu đồ 5, cho thấy rằng khi tăng nhiệt độ từ 30°C đến 50 °C thì hàm lượng polyphenol tổng số tăng dần từ 35,51 mg GAE/g db đến 80,46 mg GAE/g db là cao nhất. Từ 50°C đến 70°C thì hàm lượng polyphenol tổng số giảm mạnh còn 58,44 mg GAE/g db. Qua các kết quả thu được thì ta có thể sắp xếp hiệu suất chiết polyphenol bằng nhiệt độ chiết theo thứ tự tăng dần: 30°C → 40°C → 70°C → 60°C → 50°C.

Như vậy, sau khi khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện tách chiết đến hàm lượng polyphenol tổng số trích từ cây đèn gai, chúng tôi xác định được các thông số tách chiết tốt nhất sau: dung môi chiết là ethanol, nồng độ của dung môi ethanol là 70%, tỷ lệ nguyên liệu:dung môi là 1:6, thời gian chiết là 150 phút, nhiệt độ chiết là 50°C.

3.4. Kết quả tính hiệu suất chiết cao

Tiến hành tách chiết dịch chiết tổng số có hàm lượng polyphenol cao từ cây đèn gai theo điều kiện tách chiết đã khảo sát như ở trên (dung môi ethanol là 70%, tỷ lệ nguyên liệu:dung môi là 1:6, thời gian chiết là 150 phút, nhiệt độ chiết là 50°C). Sau đó cô dịch chiết thành cao chiết. Thông qua phương pháp cân để tính hiệu suất chiết cao. Hiệu suất chiết cao là tỷ số giữa khối lượng cao chiết thu được (g) với khối lượng nguyên liệu ban đầu (g) [10]. 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)	1820
Khối lượng cao chiết thu được (g)	19,26
Hiệu suất chiết cao (%)	38,52

Từ kết quả ở bảng 3, ta thấy hiệu suất chiết cao polyphenol từ cây đèn gai ở điều kiện tách chiết đã khảo sát là 38,52%.

4. BÀN LUẬN

Hiện nay, cây đèn gai có rất nhiều ứng dụng điều trị trong y học cổ truyền đặc biệt là điều trị các bệnh về xương khớp. Tuy nhiên, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cây đèn gai thì ít được nghiên cứu đến. Do đó chưa có nhiều tài liệu khoa học cụ thể nào liên quan đến cây đèn gai phục vụ trong y học hiện đại. Thành phần hóa học của cây đèn gai chủ yếu chứa flavonoid, phenol, acid hữu cơ, amino acid, đường. Toàn cây có tác dụng lợi tiểu, lá chữa sốt, ly, viêm phổi. Lá cây rau đèn gai có chứa các dẫn xuất anthraquinone, glycoside tim và saponin. Hạt cây rau đèn gai ngoài các thành phần như vitamin A, vitamin C còn giàu đạm thực vật, tinh bột và lysine [2].

Các nghiên cứu trên thế giới trong những năm gần đây đã khảo sát khả năng kháng viêm của lá cây đèn gai [11], hỗ trợ điều trị đái tháo đường và hạ cholesterol trong máu với ba dịch chiết methanol của ba loài *Amaranthus* như *Amaranthus caudatus*, *Amaranthus spinosus* và *Amaranthus viridis* [12]. Ở Việt Nam, toàn cây

đèn gai có chứa sterol, alkane, các acid béo, rễ cây chứa spinasterol, phần trên mặt đất chứa rutin, lá cây chứa rutin, hydrocyanic acid, potassium. Ngoài ra cây đèn gai còn có chứa các thành phần hóa học khác như 3-hexen-1-ol, 3-methyl-1-butanol, 2-heptanon, 3-methylbutannal. Tác dụng dược lý của các chất có trong cây đèn gai có khả năng kích thích quá trình thực bào. Cao nước đèn gai có tác dụng diệt nấm *Cercospora cruenta* gây bệnh trên cây trồng [2]. Trong một nghiên cứu gần đây cho thấy chất chiết từ cây đèn gai có khả năng kháng oxy hóa cao với giá trị IC50 = 61,80 µg/ml, tuy nhiên khả năng kháng oxy hóa này vẫn thấp hơn khi đối sánh với vitamin C là mẫu đối chứng (IC50 = 46,36 µg/ml). Chất chiết toàn phần từ cây đèn gai còn có khả năng kháng lại một số chủng vi khuẩn như *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ở nhiều nồng độ khảo sát khác nhau (20 - 60 mg/ml) [13].

Kết quả trong nghiên cứu này đã xác định thành phần các hợp chất tự nhiên có trong cây đèn gai như polyphenol, flavonoid, tannin, alkaloid, steroid, glycoside, saponin và khảo sát các yếu tố ảnh hưởng như 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 tổng số cao nhất từ cây đèn gai. Tuy nhiên, nghiên cứu này vẫn còn hạn chế vì chưa sử dụng được các kỹ thuật tiên tiến trong định tính và định lượng như phương pháp khối phổ hoặc sắc ký lỏng hiệu năng cao mà đang sử dụng phương pháp hóa học có độ nhạy kém vì thế có thể gây ra một số sai sót. Bên cạnh đó, tuy công bố được hiệu suất chiết cao polyphenol nhưng chưa công bố được độ tinh khiết đi kèm.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã chứng minh được trong cây đèn gai có sự hiện diện của các nhóm chất tự nhiên quan trọng như polyphenol, flavonoid, tannin, alkaloid, steroid, glycoside, saponin. Ngoài ra, nghiên cứu này còn xác định được điều kiện tách chiết hàm lượng polyphenol tổng số có trong dịch chiết cây đèn gai cho hiệu quả tốt nhất

khi sử dụng dung môi ethanol, nồng độ ethanol là 70%, tỷ lệ nguyên liệu:dung môi là 1:6 (g/ml), thời gian chiết là 150 phút, nhiệt độ chiết 50 °C với hiệu suất tạo cao chiết là 38,52%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ. Cây cỏ Việt Nam, Quyển 1: Từ khuyết thực vật, lã tử, hoa - cánh-rời đến họ Đậu. Nhà xuất bản Trẻ; 2003: 728.
2. Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học; 2004: 521.
3. Florian C. Stintzing, Dietmar Kammerer, Andreas Schieber, Hilou Adama, Odile G. Nacoulma, Reinhold Carle. Betacyanins and phenolic compounds from *Amaranthus spinosus* L. and *Boerhavia erecta* L. Z. Naturforsch C. J. Biosci. 2004; 59(1-2): 1 - 8.
4. A. Hilou, O. G. Nacoulma, T. R. Guiguemde. In vivo antimalarial activities of extracts from *Amaranthus spinosus* L. and *Boerhaavia erecta* L. in mice. J. Ethnopharmacol. 2006; 103(2):236-240.
5. Bộ Y tế. Phụ lục 12, Dược điển Việt Nam V. Nhà xuất bản Y học; 2017.
6. 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.
7. Phạm Ngọc Khôi. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa từ cao chiết polyphenol cây cải xoăn (*Brassica oleracea*). Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh 2018; 6(22): 14 - 18.
8. 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.
9. 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.
10. Phạm Ngọc Khôi. Khảo sát thành phần hóa học và điều kiện tách chiết polyphenol và flavonoid từ lá cây thạch vĩ (*Pyrrosia lingua*). Tạp chí Y Dược học Phạm Ngọc Thạch 2022; 2(4): 97 - 105.
11. Olumayokun A. Olajide, Babatunde R. Ogunleye, Temitope O. Erinle. Anti-inflammatory properties of *Amaranthus spinosus* leaf extract. Pharmaceutical Biology 2014; 42(7): 521 - 525.
12. K. Girija, K. Lakshman, Chandrika Udaya, Sachi Ghosh Sabhya, T. Divya. Anti-diabetic and anti-cholesterolemic activity of methanol extracts of three species of *Amaranthus*. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 2011; 1(2):133-138.
13. Phạm Ngọc Khôi. Khảo sát một số hoạt tính sinh học từ chất trích cây dền gai (*Amaranthus spinosus* L.). Tạp chí Khoa học - Đại học Sài Gòn 2022; 80(02/2022): 45 - 50.