

KHẢO SÁT ĐIỀU KIỆN TÁCH CHIẾT VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA, KHÁNG KHUẨN CỦA HỢP CHẤT POLYPHENOL TỪ VỎ THÂN CÂY QUAO NƯỚC (*Dolichandrone spathacea*)

Phạm Ngọc Khôi^{1*}, Nguyễn Thị Mỹ Duyên²

¹Bộ môn Mô Phôi - Di truyền – Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

²Trường Đại học Công nghệ TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài: 27-01-2017; ngày nhận bài sửa: 18-06-2017; ngày duyệt đăng: 20-12-2017

TÓM TẮT

Điều kiện tách chiết hợp chất polyphenol từ vỏ thân cây quao nước thích hợp là dung môi ethanol 90%, tỉ lệ nguyên liệu:dung môi là 1:12 (g/mL), nhiệt độ 60 °C, thời gian 9 giờ. Cao chiết polyphenol thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa khá cao với giá trị IC_{50} là 81,82 mg/mL, khả năng kháng *Escherichia coli* và *Vibrio cholerae* với đường kính vòng vô khuẩn là 2,1 và 1,8 cm ở nồng độ cao chiết là 90 mg/mL.

Từ khóa: cây quao nước, kháng khuẩn, kháng oxy hóa, IC_{50} .

ABSTRACT

Consider of conditioning agent extracted and antibacterial, antioxidant activities of polyphenol from mangrove trumpet tree (Dolichandrone spathacea)

The results showed that ethanol (90%); sample:ethanol rate (1:12, g/mL); temperature (60 °C); time (9 hours) to extract efficiency mangrove trumpet tree is highest. Moreover, mangrove trumpet tree extracts evaluated the ability to capture free radicals DPPH of this extract ($IC_{50} = 81.82$ mg/mL), inhibited the expression of *Escherichia coli* (2.1 cm) and *Vibrio cholerae* (1.8 cm) at 90 mg/mL.

Keywords: Mangrove trumpet tree, antibacterial, antioxidant, IC_{50} .

1. Mở đầu

Cây quao nước (*Dolichandrone spathacea*) là loài thực vật trong họ Núc nác (Bignoniaceae), phân bố ở vùng nhiệt đới châu Á, mọc rải rác ở Campuchia, Malaysia, Thái Lan, Việt Nam... Cây quao nước là một dược liệu quen thuộc của người Việt Nam được sử dụng trong các bài thuốc cổ truyền trị các bệnh về gan mật. Theo Y học cổ truyền, dân gian thường dùng lá quao nước, phối hợp với ích mẫu, ngải cứu, cỏ gấu, muồng hờ để làm thuốc điều kinh, bổ huyết. Lá quao nước còn dùng cho phụ nữ sau khi sinh uống vào để khoẻ người ăn ngon cơm. Vỏ và lá dùng làm thuốc nhuận gan. Lá dùng trị hen suyễn. Vỏ rễ dùng làm thuốc tiêu độc. Người ta đã dùng rễ và lá quao nước phối hợp với rễ hoặc cây ô rô chế thành

* Email: pnkhoi@pnt.edu.vn

biệt được ô rô - quao nước làm thuốc giải độc nhuận gan. Thường dùng vỏ cây, rễ và lá sắc nước để uống, hoặc dùng các bộ phận của cây nấu thành cao lỏng để dùng [1, 2]. Tuy nhiên, vẫn chưa có đề tài nghiên cứu nào nói đến tác dụng dược lí của vỏ, thân, lá, rễ của quao nước chỉ thấy nghiên cứu cho biết hạt quao nước có tác dụng kháng khuẩn và chống co thắt [1, 2, 3, 4, 5]. Vì thế, mục tiêu của nghiên cứu này là nhằm khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích li hàm lượng polyphenol để thu được hàm lượng polyphenol cao nhất trích từ vỏ thân cây quao nước (*Dolichandrone spathacea*) nhằm sử dụng trong việc kháng oxy hóa và kháng vi khuẩn có hại.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện xuyên suốt từ tháng 09/2016 đến tháng 01/2017 tại Phòng Thí nghiệm Công nghệ Sinh học - Bộ môn Công nghệ Sinh học - Khoa Khoa học Ứng dụng - Trường Đại học Tôn Đức Thắng. Vỏ thân cây quao nước được thu hái vào tháng 07/2016, tại xã Cẩm Sơn, thị xã Cai Lậy, tỉnh Tiền Giang. Chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, *Shigella* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium difficile* và *Vibrio cholerae* do Phòng Vi sinh - Khoa Xét nghiệm - Bệnh viện Từ Dũ TPHCM hỗ trợ nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xử lí nguyên liệu

Vỏ thân cây quao nước được thu hái, rửa sạch, sấy khô hay phơi đến trọng lượng không đổi ở nhiệt độ 40 °C và xay nhuyễn mẫu bằng máy xay thông thường đến khi mẫu thành bột mịn, sau đó đem chia đều khối lượng cho các mẫu trích li. Mục đích của việc xay nhuyễn mẫu là làm tăng diện tích tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi, tăng khả năng khuếch tán và thẩm thấu của các chất vào trong dung môi làm tăng khả năng trích li mẫu [6].

2.2.2. Xác định độ tinh khiết của dược liệu

2.2.2.1. Độ ẩm

Xác định khối lượng dược liệu trước và sau khi sấy khô đến khối lượng không đổi. Từ đó suy ra phần trăm khối lượng nước mất đi.

2.2.2.2. Độ tro

Xác định tro toàn phần là xác định độ tro còn lại sau khi đốt cháy dược liệu và nung nóng ở 500 °C đến khối lượng không đổi. Đốt cháy dược liệu trên bếp điện cho đến khi không còn bốc khói, cho vào lò nung đến khi vô cơ hóa hoàn toàn.

Xác định tro không tan trong HCl là lượng cặn không tan còn lại của tro toàn phần sau khi hòa tan tro toàn phần trong HCl. Tiến hành với chén nung đã xác định tro toàn phần, thêm acid đun trên bếp cho sôi rồi lọc qua giấy lọc không tro. Phần giấy lọc sau đó được làm khô và nung ở nhiệt độ 500 °C trong 2 giờ. Tro không tan trong HCl được tính giống như tro toàn phần.

2.2.3. *Xác định hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) và flavonoid tổng số (TFC)*2.2.3.1. *Xác định hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) bằng phương pháp Foline - Ciocalteu*

Công thức tính:

$$PP = \frac{X \cdot V \cdot k}{v \cdot m(1 - w)}$$

trong đó:

PP: hàm lượng polyphenol tổng số (mg GAE/g db)

X: nồng độ acid gallic xác định theo đường chuẩn (mg/mL)

V: thể tích dịch chiết từ m (g) mẫu vỏ thân quao nước (mL)

k: hệ số pha loãng

v: Thể tích dịch dược liệu sử dụng (mL)

m: khối lượng dược liệu thí nghiệm (g)

w: độ ẩm của dược liệu (%) [6, 7].

2.2.3.2. *Xác định hàm lượng flavonoid tổng số (TFC)*

TFC được xác định bằng phương pháp đo màu như mô tả của Ozsoy và cộng sự (2008). Các kết quả được thể hiện qua mg đương lượng quercetin (QE) trên mỗi gram chất khô mẫu phân tích (mg QE/g).

Công thức tính:

$$F(\mu\text{g/g}) = \frac{a \cdot V \cdot k \cdot 100}{m(1 - w)}$$

trong đó:

F: hàm lượng flavonoid tổng số ($\mu\text{g QE/g}$)

a: hàm lượng quercetin ($\mu\text{g/L}$) được xác định từ phương trình đường chuẩn

V: thể tích dịch chiết từ m (g) mẫu vỏ thân quao nước (mL)

k: hệ số pha loãng

m: khối lượng dược liệu thí nghiệm (g)

w: độ ẩm của mẫu (%) [6, 7].

2.2.4. *Khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố đến hàm lượng polyphenol trích từ vỏ thân quao nước*2.2.4.1. *Ảnh hưởng của loại dung môi đến hiệu quả trích li polyphenol từ vỏ thân quao nước*

Khảo sát ảnh hưởng của các loại dung môi khác nhau lên hiệu suất trích li để tìm ra loại dung môi cho hiệu suất trích li cao nhất, nhưng ít ảnh hưởng đến chất lượng của polyphenol. Sử dụng các loại dung môi ethanol, methanol, acetone, hexan và nước. Các thông số được giữ cố định về thời gian chiết, nhiệt độ, tỉ lệ nguyên liệu:dung môi lần lượt là 3 giờ, 30 °C, 1:10 [6, 7].

2.2.4.2. *Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hiệu quả trích li polyphenol từ vỏ thân quao nước*

Mục tiêu là nhằm xác định được nồng độ dung môi thích hợp cho quá trình trích li polyphenol từ vỏ thân quao nước. Sử dụng dung môi được chọn ở thí nghiệm trên với các nồng độ 60%, 70%, 80%, 96%, 99,9%. Các thông số được giữ cố định về thời gian chiết, nhiệt độ, tỉ lệ nguyên liệu:dung môi lần lượt là 3 giờ, 30 °C, 1:10 [6, 7].

2.2.4.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu:dung môi đến hiệu quả trích li polyphenol từ vỏ thân quao nước

Mục tiêu là nhằm xác định được tỉ lệ nguyên liệu:dung môi thích hợp cho quá trình trích li polyphenol từ vỏ thân quao nước. Các mẫu được tiến hành trích li ở các tỉ lệ nguyên liệu:dung môi (g/mL) như sau: 1:6; 1:8; 1:10; 1:12; 1:15 với nồng độ dung môi được chọn từ thí nghiệm trên; nhiệt độ trích li 30 °C, thời gian trích li 3 giờ [6, 7].

2.2.4.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu quả trích li polyphenol từ vỏ thân quao nước

Mục tiêu là nhằm tìm ra được nhiệt độ trích li tối ưu với loại dung môi tối ưu nhất (vừa khảo sát ở thí nghiệm loại dung môi) để hiệu suất trích li cao nhất. Các mẫu được tiến hành trích li ở các nhiệt độ như sau 30 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C. Thông số về thời gian trích li sẽ được giữ cố định trong 3 giờ [6, 7].

2.2.4.5. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu quả trích li polyphenol từ vỏ thân quao nước

Mục tiêu là nhằm tìm ra được mối quan hệ giữa thời gian trích li và hàm lượng polyphenol trong nguyên liệu với loại dung môi tối ưu nhất và nhiệt độ tối ưu nhất (vừa khảo sát ở thí nghiệm trên), để từ đó tìm ra thời điểm thích hợp để dừng quá trình trích li sao cho hiệu suất trích li là cao nhất và lượng dung môi hao hụt thích hợp. Các mẫu thí nghiệm được tiến hành trích li polyphenol theo các mức thời gian khác nhau: 1, 2, 6, 9, 18, 24 giờ [6, 7].

2.2.5. Định tính sơ bộ thành phần hóa học của cây quao nước

Nguyên tắc là nhằm chiết tách hỗn hợp các chất có trong nguyên liệu thực vật thành 3 phân đoạn theo độ phân cực tăng dần: kém phân cực, phân cực trung bình và phân cực mạnh rồi xác định các nhóm hợp chất trong dung dịch chiết bằng các phản ứng hóa học đặc trưng. Chiết tách nguyên liệu thành các phân đoạn theo độ phân cực tăng dần với các dung môi là ether ethylic, ethanol và nước. Xác định các nhóm hợp chất trong từng dịch chiết bằng các phản ứng hóa học đặc trưng theo phương pháp của Bộ môn Dược liệu - Trường Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh [6, 7].

2.2.6. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết trích từ vỏ thân cây quao nước

DPPH là một gốc tự do bền, dung dịch có màu tím, bước sóng cực đại hấp thu tại 515 nm. Các chất có khả năng kháng oxy hóa sẽ trung hòa gốc DPPH bằng cách cho hydrogen, làm giảm độ hấp thu tại bước sóng cực đại và màu của dung dịch phản ứng sẽ nhạt dần, chuyển từ tím sang vàng nhạt. Thuốc thử DPPH được pha ngay trước khi tiến hành thí nghiệm để hạn chế ảnh hưởng đến kết quả thí nghiệm. Vitamin C được biết đến với khả năng kháng oxy hóa vượt trội. Trong thí nghiệm này, ta dùng vitamin C làm dung dịch chuẩn để mẫu thử so sánh thông qua giá trị IC₅₀ (50% inhibitor concentration, nồng độ ức chế 50%).

IC₅₀ là một giá trị dùng để đánh giá khả năng ức chế mạnh hoặc yếu của mẫu khảo sát được định nghĩa là nồng độ của mẫu mà tại đó nó có thể ức chế 50% gốc tự do, hoặc tế bào, hoặc enzyme, mẫu có hoạt tính càng cao thì giá trị IC₅₀ sẽ càng thấp [6, 7].

2.2.7. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của các loại cao chiết trích từ vỏ thân cây quao nước

Hoạt tính kháng khuẩn được thực hiện dựa trên phương pháp pha loãng đa nồng độ. Đây là phương pháp thử hoạt tính kháng khuẩn nhằm đánh giá mức độ kháng khuẩn mạnh hay yếu của các mẫu thử thông qua các giá trị thể hiện hoạt tính là MIC (minium inhibitor concentration, nồng độ ức chế tối thiểu), IC₅₀, MBC (minium bactericidal concentration, nồng độ diệt khuẩn tối thiểu). Mức độ kháng khuẩn của mẫu được đánh giá theo T. Johnson và cộng sự (1995): Có thể kháng khuẩn (đường kính vòng kháng từ 1,0 cm hoặc ít hơn), kháng khuẩn trung bình (đường kính vòng kháng từ 1,1 - 1,5 cm), kháng khuẩn mạnh (đường kính vòng kháng lớn hơn 1,6 cm) [6, 7, 8].

2.2.8. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần để đảm bảo tiến hành phân tích ANOVA. Số liệu được phân tích ANOVA bằng phần mềm xử lý số liệu thống kê chuyên dụng SAS 8.0. Kiểm định Tukey 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 xác định độ tinh khiết của dược liệu

3.1.1. Độ ẩm

Bảng 1. Độ ẩm của bột thô vỏ thân quao nước

Lần	Khối lượng (g)	Độ ẩm (%)
1	0,99	12,97
2	1,03	12,00
3	1,02	12,00
Trung bình	1,01	12,42

Độ ẩm trung bình của dược liệu vỏ thân quao nước là 12,42%. Độ ẩm này nằm trong giới hạn cho phép về độ ẩm an toàn áp dụng đối với đa số dược liệu. Tất cả các dược liệu, trong điều kiện bảo quản bình thường, đều có chứa một lượng nước nhất định. Tỷ lệ phần trăm của lượng nước này trong dược liệu được gọi là độ ẩm (hay thủy phần) của dược liệu. Muốn bảo quản dược liệu, tránh hiện tượng lên meo mốc, hoạt chất trong dược liệu bị biến đổi thì dược liệu phải có độ ẩm không quá 13%, đó là độ ẩm an toàn với đa số dược liệu. Ngoài ra, xác định độ ẩm cũng cần thiết trong việc tính kết quả định lượng hay hiệu suất chiết của hoạt chất trong dược liệu.

3.1.2. Độ tro

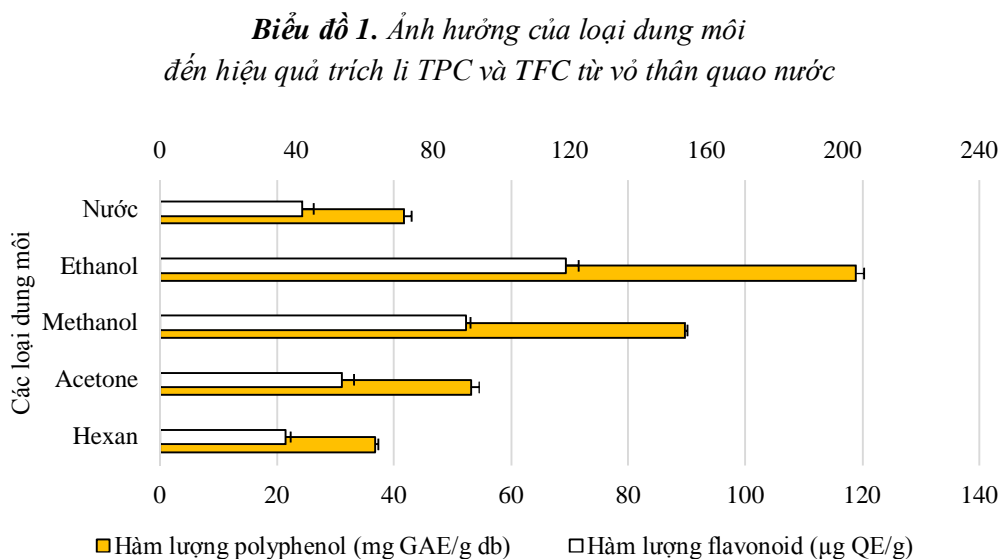
Bảng 2. Tro toàn phần và tro không tan trong HCl của vỏ thân quao nước

Lần	Tro toàn phần (%)	Tro không tan trong HCl (%)
1	5,49	2,74
2	5,33	2,33
3	6,80	2,22
Trung bình	5,87	2,43

Tro toàn phần và tro không tan trong HCl của dược liệu vỏ thân quao nước tương ứng là 5,87% và 2,43%. Tro toàn phần là cặn còn lại khi ta đốt cháy hoàn toàn một dược liệu. Các ion trong tro toàn phần ở dưới dạng carbonate hay oxyd. Tro không tan trong acid hydrochloric là lượng cặn không tan còn lại của tro toàn phần sau khi hòa tan tro toàn phần trong HCl. Mỗi dược liệu có độ tro giới hạn trong một khoảng nhất định, thường là khoảng từ 4 - 12%. Một vài trường hợp, độ tro có thể cao tới 15 - 18%. Nếu một dược liệu có độ tro toàn phần bất thường (quá cao hay quá thấp so với quy định) phải nghĩ đến giả mạo hoặc dược liệu lẫn nhiều tạp chất. Nếu một dược liệu có độ tro không tan trong acid hydrochloric cao bất thường so với quy định có thể là do dược liệu bị lẫn nhiều đất cát.

3.2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố đến hàm lượng polyphenol trích từ vỏ thân quao nước

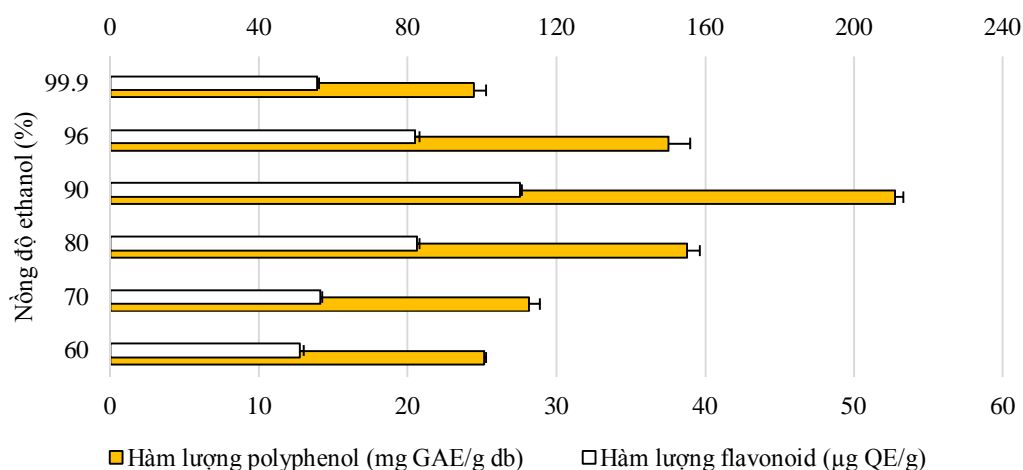
3.2.1. Kết quả ảnh hưởng của loại dung môi đến hiệu quả trích li polyphenol từ vỏ thân quao nước



Kết quả cho thấy dung môi chiết ethanol 99,9%, methanol 99,9% cho hàm lượng polyphenol cao hơn đáng kể so với dung môi chiết acetone 99,9%, hexan 99,9% và nước. Trong các dung môi khảo sát thì ethanol cho hiệu quả trích li polyphenol cao nhất với TPC đạt 118,93 mgGAE/g db và TFC đạt 316,75 μ gQE/g. Trong khi đó, hexan lại cho hiệu quả trích li polyphenol thấp nhất với TPC đạt 36,79 mgGAE/g db và TFC đạt 99,03 μ gQE/g. Từ kết quả thu được, hiệu quả trích li polyphenol bằng dung môi được sắp xếp theo thứ tự tăng dần: hexan < nước < acetone < methanol < ethanol. Trong thực tế, không tồn tại dung môi lí tưởng, nhưng chọn lựa dung môi sử dụng phải dựa vào các yêu cầu sau đây: Giá thành không đắt (chi phí và sự mất mát có giới hạn), trích li có chọn lọc và dễ dàng, trợ với máy móc và ít hư hỏng, hàm lượng bản thấp, không có khả năng cháy nổ, ít độc... Vì vậy, trong khảo sát này chúng tôi chọn dung môi để trích li polyphenol từ vỏ thân cây quao nước là ethanol để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

3.2.2. *Kết quả ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hiệu quả trích li polyphenol từ vỏ thân quao nước*

Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hiệu quả trích li TPC và TFC từ vỏ thân quao nước

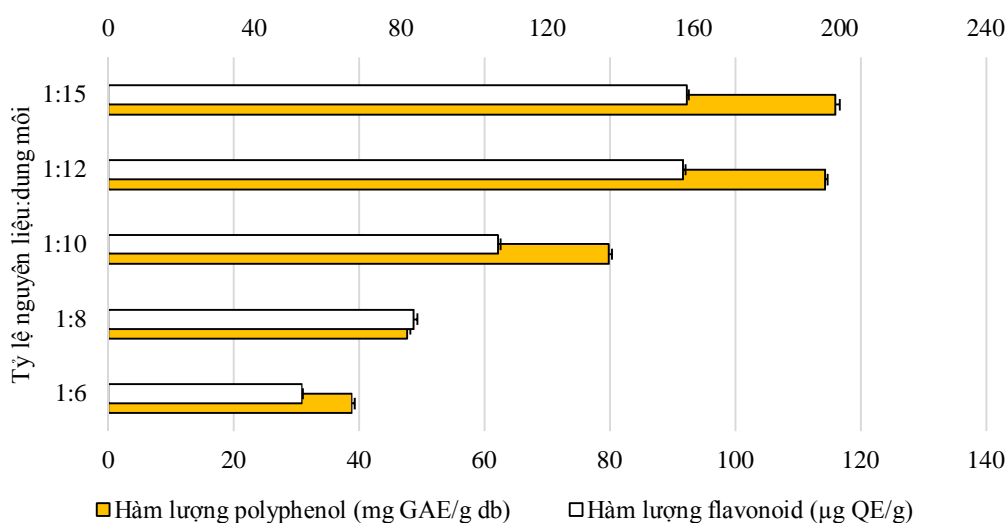


Kết quả cho thấy khi tăng nồng độ dung môi chiết ethanol thì TPC và TFC cũng tăng dần. Ở nồng độ 60% thì TPC là 25,14 mg GAE/g db, TFC là 51 μ g QE/g. Khi tăng nồng độ ethanol lên 70%, 80%, 90% thì TPC tăng dần tương ứng là 28,41; 38,81; 52,75 mg GAE/g db và TFC cũng tăng dần tương ứng là 56,46; 82,57; 110,23 μ g QE/g. Trong các nồng độ dung môi khảo sát thì ở mẫu chiết ở 90% cho giá trị TPC và TFC là cao nhất tương ứng là 52,75 mg GAE/g db, 110,23 μ g QE/g. Khi tăng nồng độ ethanol lên 96% và

99,9% thì TPC và TFC trong các mẫu chiết lại giảm: Ở 96% còn 37,53 mg GAE/g db; 81,79 μ gQE/g và ở 99,9% chỉ còn 27,42 mg GAE/g db; 55,68 μ g QE/g. Vì vậy, trong khảo sát này chúng tôi chọn nồng độ ethanol để trích li polyphenol từ vỏ thân cây quao nước là 90% để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

3.2.3. *Kết quả ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu:dung môi đến hiệu quả trích li polyphenol từ vỏ thân quao nước*

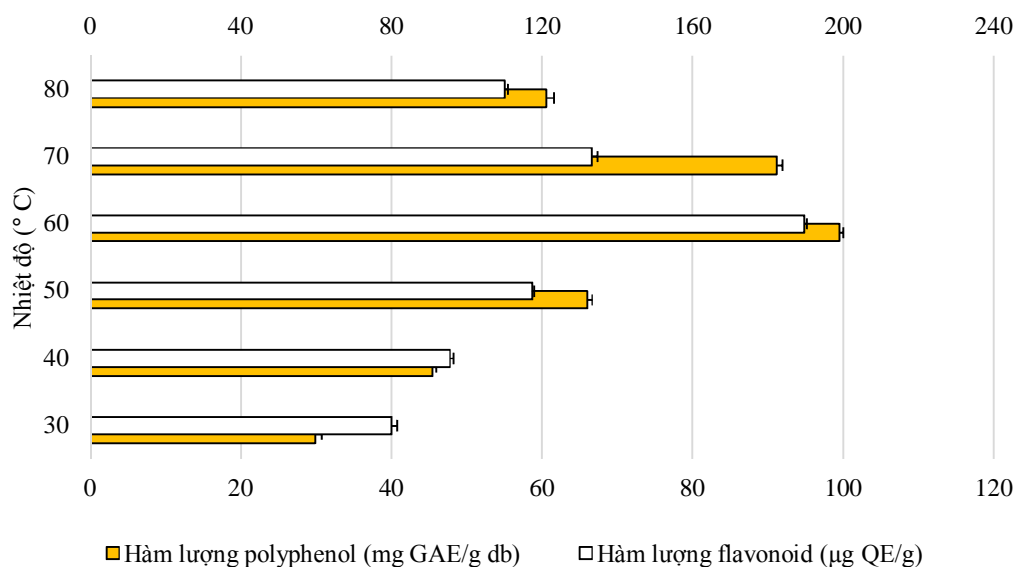
Biểu đồ 3. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu:dung môi đến hiệu quả trích li TPC và TFC từ vỏ thân quao nước



Kết quả cho thấy khi tăng tỉ lệ nguyên liệu:dung môi thì TPC và TFC tăng dần. Khi tăng tỉ lệ nguyên liệu:dung môi từ 1:6 lên 1:8 thì TPC tăng 8,78 mg GAE/g db (tăng 1,226 lần) và TFC là 30,69 μ g QE/g (tăng 1,581 lần). Với tỉ lệ nguyên liệu:dung môi là 1:15 sẽ cho hàm lượng cao nhất ở cả TPC và TFC tương ứng là 115,94 mg GAE/g db và 158,25 μ g QE/g. Khi sử dụng càng nhiều dung môi để trích li thì khả năng khuếch tán của polyphenol vào dung môi càng lớn. Dung môi dễ dàng thẩm thấu vào nguyên liệu và hòa tan các cấu tử cần trích li nên lượng polyphenol trong dung môi càng cao. Tuy nhiên, ở một giới hạn nhất định thì lượng polyphenol thu được sẽ tăng lên không đáng kể dù tăng lượng dung môi. Vì vậy, trong khảo sát này chúng tôi chọn tỉ lệ nguyên mẫu:dung môi để trích li polyphenol từ vỏ thân cây quao nước là 1:12 để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

3.2.4. *Kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu quả trích li polyphenol từ vỏ thân quao nước*

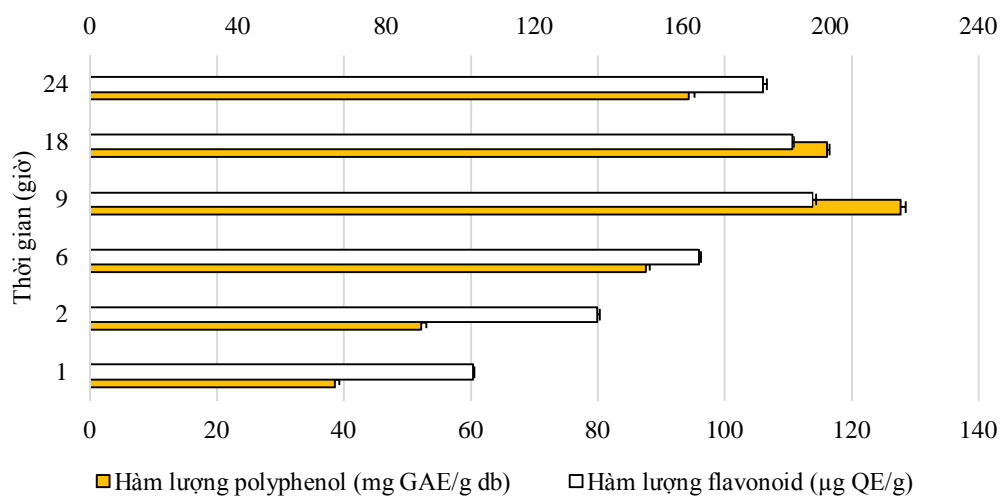
Biểu đồ 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu quả trích li TPC và TFC từ vỏ thân quao nước



Kết quả cho thấy khi tăng nhiệt độ thì hàm lượng TPC và TFC tăng dần rồi giảm. Từ 30 °C - 60 °C thì hiệu suất trích li tăng nhanh, hàm lượng TPC tăng 69,56 mg GAE/g db (tăng 3,327 lần) và TFC là 109,71 µg QE/g (tăng 2,753 lần). Từ 60 °C - 80 °C thì hiệu suất trích li giảm dần, hàm lượng TPC giảm 38,89 mg GAE/g db (giảm 1,642 lần) và TFC là 79,54 µg QE/g (giảm 1,722 lần). Nhiệt độ 60 °C cho hàm lượng cao nhất ở cả TPC và TFC tương ứng là 99,45 mg GAE/g db và 189,69 µg QE/g. Bởi vì, nhiệt độ càng cao thì polyphenol và dung môi dễ hòa tan vào nhau, lượng polyphenol sẽ trích li ra nhiều hơn. Mặt khác, nhiệt giúp cho quá trình trích li dễ dàng bằng cách phá hủy màng tế bào bởi việc làm biến tính màng tế bào và bởi các bọt khí tạo thành, nó làm tăng khả năng hoà tan của bột quao nước cần trích li. Nhiệt độ trích li thấp quá thì hiệu suất trích li không cao, hàm lượng polyphenol trong bã còn nhiều. Nhiệt độ tác động phức tạp, nhiệt độ tăng làm tăng hiệu suất trích li. Nhưng nhiệt độ quá cao sẽ có tác động ngược lại bởi việc làm biến tính các sản phẩm cần trích li. Vì vậy, trong khảo sát này chúng tôi chọn nhiệt độ để trích li polyphenol từ vỏ thân cây quao nước là 60 °C để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

3.2.5. Kết quả ảnh hưởng của thời gian đến hiệu quả trích li polyphenol từ vỏ thân quao nước

**Biểu đồ 5. Ảnh hưởng của thời gian
đến hiệu quả trích li TPC và TFC từ vỏ thân quao nước**



Kết quả cho thấy khi tăng thời gian thì hàm lượng TPC và TFC tăng dần rồi giảm. Từ 1 - 9 giờ thì hiệu suất trích li tăng nhanh đáng kể, hàm lượng TPC tăng 89,13 mg GAE/g db (tăng 3,308 lần) và TFC là 91,73 µgQE/g (tăng 1,886 lần). Từ 9 - 24 giờ thì hiệu suất trích li giảm dần, hàm lượng TPC giảm 33,38 mg GAE/g db (giảm 1,354 lần) và TFC là 13,31 µgQE/g (giảm 1,073 lần). Thời gian 9 giờ cho hàm lượng cao nhất ở cả TPC và TFC tương ứng là 127,75 mg GAE/g db và 195,27 µgQE/g. Sự kéo dài của thời gian kéo theo sự gia tăng hiệu suất trích li, nhưng không nên kéo dài vì điều này sẽ làm giảm hiệu suất trích li, bởi vì polyphenol trong bã ngày càng giảm. Vì vậy, trong khảo sát này chúng tôi chọn thời gian để trích li polyphenol từ vỏ thân cây quao nước là 9 giờ để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Kết quả định tính thành phần hóa học của cây quao nước

Bảng 3. Phân tích sơ bộ hóa học vỏ thân quao nước

Nhóm hợp chất	Thuốc thử	Kết quả
Alkaloid	Thuốc thử chung alkaloid	-
Coumarin	Phát quang trong kiềm	+++
	Đóng mở vòng lacton	+++
Anthraglicosid	Borntrager	-
Carotenoid	Carr-Price	-
	H ₂ SO ₄	-
Flavonoid	Cyanidin	+

Glicoside	Thuốc thử Fehling	+
Tannin	FeCl ₃ 1% (polyphenol)	+++
	Gelatin muối	-
Triterpenoid tự do	Liebermann-Burchard	+++
Saponin	Tạo bọt	+
Chất béo	Nhỏ lên giấy lọc	+

Ghi chú: (-): không có; (+): có; (+++): có nhiều

Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật cho thấy vỏ thân quao nước có các hợp chất như coumarin, acid hữu cơ, triterpenoid tự do, tannin, flavonoid, chất béo.

3.4. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết trích từ vỏ thân cây quao nước

Các nồng độ vitamin C và phần trăm ức chế được biểu thị dưới dạng đường thẳng với phương trình $y = 0,613x + 42,542$ với hệ số tương quan $R^2 = 0,99288$. Thay $x = 50\%$ vào phương trình tìm được $IC_{50} = 73,192$ (mg/mL). Các nồng độ cao chiết polyphenol trích từ vỏ thân cây quao nước và phần trăm ức chế được biểu thị dưới dạng đường thẳng với phương trình $y = 0,605x + 51,57$ với hệ số tương quan $R^2 = 0,938$. Thay $x = 50\%$ vào phương trình tìm được $IC_{50} = 81,82$ (mg/mL). Trong thử nghiệm DPPH, DPPH là gốc tự do có màu tím nhờ vào điện tử N chưa ghép đôi, nhưng sau khi phản ứng với oxy nguyên tử của chất dập tắt gốc tự do sẽ bị giảm màu tím. Hoạt tính chống oxy hóa của cao quao nước thể hiện qua việc làm giảm màu DPPH dẫn đến giảm độ hấp thu ở bước sóng 515 nm. Tuy nhiên, khi so sánh hai giá trị IC_{50} của vitamin C và cao quao nước thì thấy hoạt tính kháng oxy hóa của cao quao nước kém hơn vitamin C.

3.5. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết trích từ vỏ thân cây quao nước

Bảng 4. Đường kính vòng kháng khuẩn của cao polyphenol trích từ vỏ thân cây quao nước

Loại vi sinh vật	Đường kính vòng kháng khuẩn (cm)			
	Nồng độ cao chiết (mg/ml)			Mẫu đối chứng (DMSO)
	30	60	90	
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0
<i>Shigella</i> spp.	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	0,6	1,5	2,1	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0
<i>Clostridium difficile</i>	0	0	0	0
<i>Vibrio cholerae</i>	1,1	1,2	1,8	0

Nồng độ ức chế tối thiểu là nồng độ cao chiết thấp nhất mà tại đó xuất hiện vòng vô khuẩn; nên nồng độ ức chế tối thiểu càng thấp thì khả năng kháng khuẩn càng cao. Đối với *Escherichia coli* và *Vibrio cholerae* thì đường kính vòng kháng khuẩn ở mẫu cao chiết từ vỏ thân cây quao nước có nồng độ 30 mg/ml là nhỏ nhất, đường kính vòng kháng khuẩn tăng dần theo nồng độ cao chiết vỏ thân cây quao nước và cao nhất ở nồng độ 90 mg/ml. Ở cả 3 nồng độ của cao chiết đều có vòng kháng khuẩn, cho thấy cao chiết từ vỏ thân cây quao nước có khả năng kháng *Escherichia coli* và *Vibrio cholerae* mạnh. Đối với *Staphylococcus aureus*, *Shigella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium difficile* ở tất cả các nồng độ cao chiết đều không có vòng kháng khuẩn, giống như mẫu đối chứng DMSO, điều này cho thấy cao chiết từ vỏ thân cây quao nước không có khả năng kháng bốn loại vi khuẩn nói trên. Nhìn chung, cao polyphenol trích từ vỏ thân cây quao nước có khả năng kháng vài loài vi khuẩn.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thu được một số kết quả như khi thử độ tinh khiết của dược liệu vỏ thân quao nước với kết quả là độ ẩm 12,42%, độ tro toàn phần là 5,87%, độ tro không tan trong HCl là 2,43%; khi sơ bộ phân tích thành phần hóa thực vật cho thấy trong quao nước có các hợp chất như coumarin, triterpenoid, tannin, flavonoid, chất béo; khi dùng cao quao nước để khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa, kết quả cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa của cao quao nước kém hơn vitamin C; cuối cùng là khi dùng cao quao nước để khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, kết quả cho thấy cao quao nước có khả năng kháng mạnh *Escherichia coli* và *Vibrio cholerae* để xác định rõ cơ chế nhằm định hướng nghiên cứu sâu hơn cho chế phẩm điều trị. Trong Y học cổ truyền, cây quao nước được sử dụng để khử trùng vết thương, làm thuốc điều kinh, bổ huyết, nhuận gan, trị hen suyễn, tiêu độc [1, 2, 3, 4]. Rõ ràng đây là một dược liệu có nhiều tác dụng sinh học quý mà lại dễ xây dựng nguồn nguyên liệu nên tiềm năng ứng dụng sản xuất là rất lớn; do đó, cần nghiên cứu đưa ra quy trình sản xuất ra chế phẩm đóng vai trò quan trọng nhằm phục vụ công tác điều trị các căn bệnh thời đại.

Do điều kiện nghiên cứu còn giới hạn nên còn nhiều khía cạnh vẫn chưa thể khai thác được, chúng tôi xin có một số đề nghị như cần phân lập thành phần hóa học của cây để làm sáng tỏ thêm tác dụng dược lý của cây, bằng chứng như khi khảo sát sơ bộ hóa thực vật, chúng tôi nhận thấy phản ứng của triterpenoid khá rõ nên nếu có thể, chúng tôi đề nghị tiến hành nghiên cứu các thành phần này để góp phần làm rõ hơn về mặt hóa học của cây quao nước. Bên cạnh đó, cần tiến hành thử nghiệm tác dụng của cây quao nước trong điều trị một số bệnh nhiễm khuẩn, nhiễm trùng trên động vật thử nghiệm, từ đó ứng dụng vào việc phòng và trị bệnh trên người.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Võ Văn Chi, Trần Hợp, *Cây cỏ có ích ở Việt Nam*. NXB Giáo dục, tập I, tr. 619, 1999.
- [2] Võ Văn Chi, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. NXB Y học, tập II, tr. 440 - 441, 2012.
- [3] Trương Thị Đẹp, *Thực vật dược*. NXB Giáo dục, tr. 282 - 283, 2009.
- [4] Phạm Hoàng Hộ, *Cây cỏ Việt Nam*. NXB Trẻ, Tập II, tr. 506 - 509, 2006.
- [5] Viện Dược liệu, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, tập I, tr. 541 - 542, 2003.
- [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*, tập 20, Phụ bản số 20, tr.436 - 446, 2016.
- [7] Phạm Ngọc Khôi, Lê Trọng Nghĩa, “Khảo sát các điều kiện thu hồi dịch chiết và hoạt tính kháng khuẩn, kháng oxy hóa của dịch chiết bắp cải tím (*Brassica oleracea*),” *Tạp chí Khoa học Yersin*, số 1 (11/2016), tr.23 - 29, 2016.
- [8] Phạm Ngọc Khôi, Nguyễn Bùi Minh Tâm, “Khảo sát khả năng kháng khuẩn của dịch chiết bromelain từ cây Dứa (*Ananas comosus*) trên vi khuẩn *Shigella* và *Salmonella* ứng dụng trong phòng ngừa và điều trị bệnh đường tiêu hóa,” *Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh*, tập 20, Phụ bản số 5, tr.21 - 26, 2016.