

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG TỚI VIỆC CHIẾT TÁCH VÀ XÁC ĐỊNH TÍNH KHÁNG KHUẨN, KHÁNG OXY HÓA CỦA DỊCH CHIẾT POLYPHENOL TỪ CÂY CHUA ME ĐẤT HOA VÀNG (OXALIS CORNICULATA L.)

PHẠM NGỌC KHÔI¹, NGUYỄN THỊ HOÀI NHIÊN²

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

²Khoa Khoa học ứng dụng, Trường Đại học Tôn Đức Thắng;

pnkhai@pnt.edu.vn

Tóm tắt.

Đặt vấn đề: Cây chua me đất hoa vàng (*Oxalis corniculata* L.) được biết đến qua kinh nghiệm dân gian với công dụng chữa ho, viêm họng, sát trùng, mụn nhọt, tay chân lở loét; song hiện vẫn chưa có công trình nào nghiên cứu xác thực giá trị khoa học của loài cây này.

Mục tiêu: Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát sự ảnh hưởng của điều kiện tách chiết đến hàm lượng polyphenol, đánh giá khả năng kháng khuẩn, kháng oxy hóa của dịch chiết polyphenol từ cây chua me đất hoa vàng.

Phương pháp nghiên cứu: Xác định độ tinh khiết của dược liệu, khảo sát sự ảnh hưởng của một số yếu tố đến hàm lượng polyphenol chiết được từ dược liệu, định tính sơ bộ thành phần hóa học của dược liệu và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, kháng oxy hóa của hợp chất polyphenol chiết được từ dược liệu.

Kết quả: Điều kiện chiết thích hợp nhất là: dung môi là methanol, nồng độ 90%, tỷ lệ mẫu:dung môi là 1:10 (g/mL), thời gian 6 giờ, nhiệt độ 60 °C. Khả năng kháng khuẩn ở mức trung bình đến mạnh ở một số chủng vi khuẩn của dịch chiết polyphenol từ cây chua me đất hoa vàng thể hiện qua đường kính vòng vô khuẩn đối với *Streptococcus fecalis*, *Proteus mirabili*, *Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli* lần lượt là 10,9 mm, 18,2 mm, 21,4 mm và 25,2 mm ở nồng độ dịch chiết là 100 mg/mL. Dịch chiết polyphenol từ cây chua me đất hoa vàng còn thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa khá cao với giá trị IC₅₀ của khả năng bắt gốc tự do DPPH là 42,27 mg/mL khi so sánh với giá trị IC₅₀ của vitamin C là 45,81 mg/mL.

Kết luận: Cây chua me đất hoa vàng là một loại dược liệu mới chứa các hợp chất polyphenol có khả năng kháng khuẩn và kháng oxy hóa. Loại dược liệu này có tiềm năng trong công nghệ bào chế dược phẩm và thực phẩm chức năng phục vụ sức khỏe con người.

Từ khóa. Cây chua me đất hoa vàng, kháng khuẩn, kháng oxy hóa, IC₅₀

EXAMINE OF CONDITIONING AGENT EXTRACTED AND ANTIBACTERIAL, ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF POLYPHENOL FROM YELLOW OXALIS (OXALIS CORNICULATA L.)

Abstract.

Background: Yellow oxalis (*Oxalis corniculata* L.) is known from experience with the treatment of cough, sore throat, antiseptic, pimples, sores limbs, but has not yet studied.

Objectives: In this study, we determine the conditioning agent extracted, antibacterial and antioxidant effects of polyphenol from yellow oxalis.

Methods: Determining the purity of medicinal herb, examining the factors to be extracted polyphenol content, prequalitating tests and surveying antibacterial, antioxidant activity from yellow oxalis.

Results: The most suitable extraction conditions are: methanol (90°); methanol:sample rate (1:10, g/mL); temperature (60 °C); time (6 hours). In addition, yellow oxalis extract (100 mg/mL) inhibited the growth of *Streptococcus fecalis* (10.9 mm), *Proteus mirabili* (18.2 mm), *Staphylococcus aureus* (21.4 mm) and *Escherichia coli* (25.2 mm). This study also evaluated the ability to capture free radicals DPPH of yellow oxalis extract (IC₅₀ = 42.27 mg/mL) compared with vitamin C (IC₅₀ = 45.81 mg/mL).

Conclusions: Yellow oxalis is one of medicinal species contain polyphenol compounds which have antibacterial and antioxidant activities. This plant has the potential pharmaceutical and functional foods to serve human health.

Keywords. *Oxalis corniculata* L., antibacterial, antioxidant, IC₅₀

1. MỞ ĐẦU

Ở Việt Nam, cây chua me đất hoa vàng (*Oxalis corniculata* L.) được coi là loài cây khá quen thuộc, bởi sự phân bố rộng rãi khắp nơi, từ vùng núi xuống đến trung du, đồng bằng và trên các đảo. Cây chua me đất hoa vàng thường mọc xen lẫn với các loài cây khác trong vườn, ngoài đồng ruộng, bãi sông, trên đồi và nương rẫy. Nó ưa sống nơi đất ẩm. Hàng năm, cây non mọc từ hạt xuất hiện vào cuối mùa xuân, sinh trưởng nhanh trong mùa hè và có thể tàn lụi vào mùa thu, sau khi đã ra hoa kết quả [1, 4]. Trong các bài thuốc dân gian, cây chua me đất hoa vàng chữa sốt cao, trần trọc khát nước, ho do nắng nóng, viêm họng sưng đau, an thần, chữa mất ngủ, chữa huyết áp cao, chữa vàng da do viêm gan, chữa kiết lỵ, chữa đại tiểu tiện không thông, chữa bị ngã bong gân sưng đau, rôm sảy, ngứa ngứa [1, 2]. Trong những nghiên cứu gần đây đã chứng minh cao nước từ cây chua me đất hoa vàng lại có hoạt tính kháng tụ cầu vàng, nước ép toàn cây có hoạt tính kháng khuẩn cao và cũng có tác dụng diệt côn trùng [2].

Mục tiêu nghiên cứu

Vì thế, mục tiêu của nghiên cứu này là nhằm khảo sát các yếu tố ảnh hưởng của các phương pháp khác nhau lên hiệu suất thu dịch chiết cây chua me đất hoa vàng, đồng thời khảo sát khả năng kháng khuẩn gây bệnh và kháng oxy hóa của dịch chiết polyphenol từ cây chua me đất hoa vàng trong điều kiện nuôi trồng và nghiên cứu tại miền Nam Việt Nam.

2. ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện xuyên suốt từ tháng 09.2016 đến tháng 03.2017 tại phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học, Bộ môn Công nghệ sinh học, Khoa Khoa học ứng dụng, Đại học Tôn Đức Thắng, TP.HCM. Cây chua me đất hoa vàng thu hái toàn cây trong các vườn nhà ở khu vực Huyện Mỏ Cày Bắc, Tỉnh Bến Tre. Chúng vi khuẩn gram dương: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus feacalis* và vi khuẩn gram âm: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis* do Phòng Vi sinh, Khoa Xét nghiệm, Bệnh viện Từ Dũ TP.HCM hỗ trợ chúng vi khuẩn dùng trong nghiên cứu.

2.2. Xử lý nguyên liệu

Cây chua me đất hoa vàng lấy toàn cây, làm sạch để loại bỏ tạp chất, sau đó sấy khô ở nhiệt độ 50 °C đến khối lượng không đổi. Nguyên liệu được nghiền mịn thành dạng bột với mục đích tăng diện tích tiếp xúc giữa dung môi và nguyên liệu, tăng khả năng khuếch tán và thâm thấu của các chất vào trong dung môi, làm tăng khả năng ly trích.

2.3. Xác định độ tinh khiết của nguyên liệu

2.3.1. Định lượng độ ẩm của dược liệu

Định lượng độ ẩm trong dược liệu là xác định tỷ lệ phần trăm nước trong dược liệu đó nhằm kiểm tra xem dược liệu có đạt tiêu chuẩn về độ ẩm hay không. 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.

2.3.2. Xác định độ tro của dược liệu

Các loại độ tro thường được xác định trong kiểm nghiệm dược liệu là: tro toàn phần, tro không tan trong HCl và tro sulfate. Tro toàn phần là cặn còn lại khi đốt cháy hoàn toàn một dược liệu, các ion trong tro toàn phần tồn tại dưới dạng carbonate hay oxyd. Tro không tan trong HCl là cặn không tan còn lại của tro toàn phần sau khi hòa tan trong HCl. Còn tro sulfat là cặn còn lại khi đốt cháy hoàn toàn dược liệu sau khi đã cho dược liệu đó tiếp xúc với acid sulfuric đậm đặc. Mỗi dược liệu có độ tro giới hạn trong một khoảng nhất định, thường trong khoảng từ 4 - 12%. Tuy nhiên trong một vài trường hợp thì độ tro có thể cao trong khoảng 15 - 18%.

2.4. Khảo sát sự ảnh hưởng của một số yếu tố đến hàm lượng polyphenol chiết được từ cây chua me đất hoa vàng

Mục tiêu là xác định điều kiện nào thích hợp nhất dùng để chiết polyphenol từ dược liệu là cây chua me đất hoa vàng. Hiệu quả của quá trình trích ly polyphenol sẽ thể hiện qua hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) và flavonoid tổng số (TFC) là chỉ tiêu theo dõi trong các nghiên cứu này [3, 5, 6].

2.4.1. Xác định hàm lượng polyphenol tổng số (TPC)

$$\text{Công thức: PP} = \frac{XVk}{vm(1-w)}$$

Trong đó:

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

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

V: thể tích dịch chiết từ m (g) mẫu (mL)

k: hệ số pha loãng

v: thể tích dịch chiết dùng (mL)

m: khối lượng mẫu dùng (g)

w: độ ẩm mẫu

2.4.2. Xác định hàm lượng flavonoid tổng số (TFC)

$$\text{Công thức: F} = \frac{aVk100}{m(1-w)}$$

Trong đó:

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

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

V: thể tích dịch chiết từ m (g) mẫu (mL)

k: hệ số pha loãng

m: khối lượng mẫu dùng (g)

w: độ ẩm mẫu

2.5. Định tính sơ bộ thành phần hóa học có trong cây chua me đất hoa vàng

Dịch chiết từ cây chua me đất hoa vàng được dùng để định tính sơ bộ thành phần hóa học của dược liệu dựa theo nguyên tắc: phân tách hỗn hợp các chất trong nguyên liệu thành những phân đoạn đơn giản, dùng các phản ứng hóa học đặc trưng (thường là các phản ứng kết tủa, phản ứng màu) để phát hiện các nhóm hợp chất có trong dịch chiết. Chiết tách hỗn hợp các chất có trong nguyên liệu thành 3 phân đoạn theo độ phân cực tăng dần: kém phân cực, phân cực trung bình và phân cực mạnh bằng cách chiết nguyên liệu lần lượt với các dung môi: hexan, ethanol (hay methanol) và nước. Xác định các nhóm hợp chất trong từng dịch chiết bằng các phản ứng hóa học đặc trưng.

2.6. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết polyphenol từ cây chua me đất hoa vàng

Áp dụng phương pháp đặt đĩa giấy để khảo sát khả năng kháng vi khuẩn của dịch chiết polyphenol từ dược liệu thông qua đường kính vòng vô khuẩn. Số lượng chủng vi khuẩn là 6 chủng (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*) dùng trong nghiên cứu này. Số đĩa petri cho 1 loại vi khuẩn là 3 đĩa. Số nghiệm thức/đĩa là 4 nghiệm thức với X₁ (mẫu đối chứng, DMSO), X₂ (dịch chiết 50 mg/mL), X₃ (dịch chiết 75 mg/mL) và X₄ (dịch chiết 100 mg/mL) [3, 5, 6].

Mức độ kháng khuẩn của mẫu được đánh giá theo đường kính vòng vô khuẩn (T.Johnson, 1995): có khả năng kháng khuẩn: ≤ 10 mm, kháng khuẩn trung bình: 11 - 15 mm và kháng khuẩn mạnh: ≥ 16 mm.

2.7. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết polyphenol từ cây chua me đất hoa vàng

Khả năng kháng oxy hóa và độc tính tế bào của các hợp chất polyphenol có trong dược liệu được tính dựa trên phần trăm ức chế (I %) xác định theo công thức sau:

$$I(\%) = \frac{Ac - As}{Ac} \times 100\%$$

Trong đó:

Ac: giá trị OD của mẫu trắng

As: giá trị OD của mẫu chiết

IC50 (inhibitory concentration) được định nghĩa là nồng độ chất oxy hóa cần để ức chế 50% gốc tự do DPPH trong khoảng thời gian xác định. IC50 là một giá trị dùng để đánh giá khả năng ức chế mạnh hay yếu của mẫu chiết. Mẫu có hoạt tính càng cao thì giá trị IC50 sẽ càng thấp. Tiến hành khảo sát hoạt tính của mẫu chiết ở 4 nồng độ: 20, 40, 60 và 80 mg/mL. Với những mẫu có hoạt tính biến thiên tuyến tính với nồng độ, ta vẽ đồ thị tỷ lệ ức chế gốc tự do của mẫu dưới dạng đường thẳng có phương trình $y = ax + b$ (với y là phần trăm ức chế I %, x là nồng độ mẫu). Thay $y = 50$ vào phương trình trên, ta sẽ thu được giá trị IC50 [3, 5].

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. Thuộc thử DPPH là một gốc tự do bền, dung dịch có màu tím, bước sóng cực đại hấp thụ tại 517 nm. Các chất có khả năng kháng oxy hóa sẽ trung hòa gốc DPPH bằng cách cho hydrogen, làm giảm độ hấp thụ tại bước sóng cực đại và màu dung dịch phản ứng sẽ nhạt dần, chuyển từ tím sang vàng nhạt.

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. Xác định độ tinh khiết của nguyên liệu

Bảng 1. Kết quả độ tinh khiết của dược liệu

Chỉ tiêu	Kết quả
Độ ẩm	11,28%
Độ tro (tro toàn phần)	13,47%
Tro tan trong HCl	3,12%

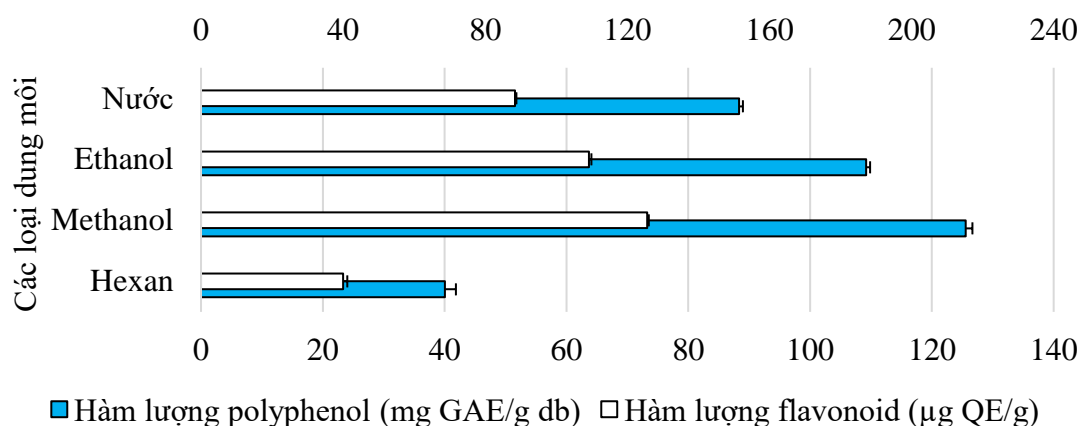


Hình 1. Đốt dược liệu trên bếp điện (trái) và dược liệu được vô cơ hóa hoàn toàn (phải)

3.2. Khảo sát sự ảnh hưởng của một số yếu tố đến hàm lượng polyphenol chiết được từ cây chua me đất hoa vàng

3.2.1. Ảnh hưởng của dung môi đến hàm lượng polyphenol chiết được từ dược liệu

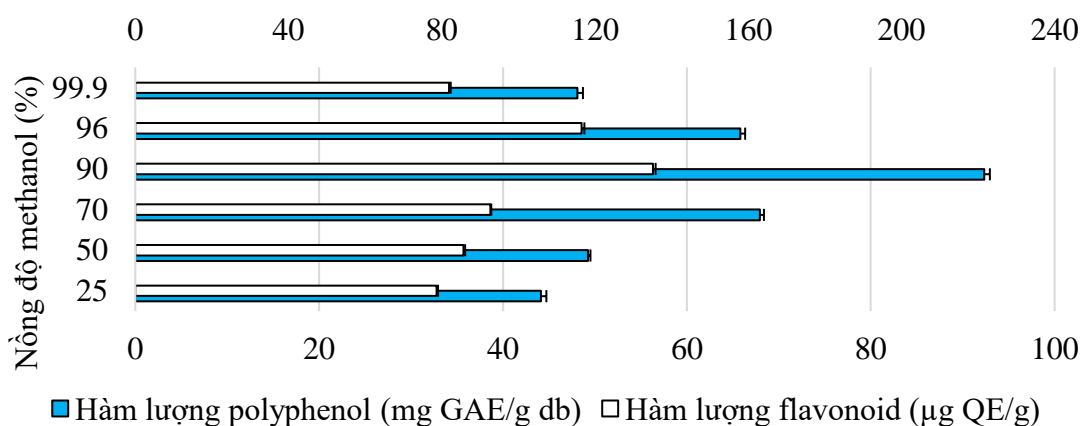
Đồ thị 1. Ảnh hưởng của các loại dung môi đến hàm lượng polyphenol



Kết quả cho thấy methanol 99,9% cho hàm lượng polyphenol cao nhất với TPC đạt 125,56 mg GAE/g db và TFC đạt 195,39 µg QE/g. Ethanol 99,9 % cũng cho hiệu quả trích ly khá cao, TPC đạt 109,28 mg GAE/g db và TFC đạt 148,49 µg QE/g. Hexan cho hiệu quả trích ly thấp nhất với TPC là 40,02 mg GAE/gdb và TFC là 92,48 µg QE/g. Từ kết quả thu được, hiệu suất chiết polyphenol bằng dung môi được sắp xếp theo thứ tự giảm dần, có nghĩa là methanol > ethanol > nước > hexan. Các kết quả thu được hoàn toàn phù hợp về độ phân cực của các dung môi dùng để chiết tách và tính tan của các hợp chất polyphenol trong dược liệu. Ethanol và methanol là dung môi vạn năng để chiết kiệt các hợp chất có trong bột cây với giá thành khá rẻ.

3.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hàm lượng polyphenol chiết được từ dược liệu

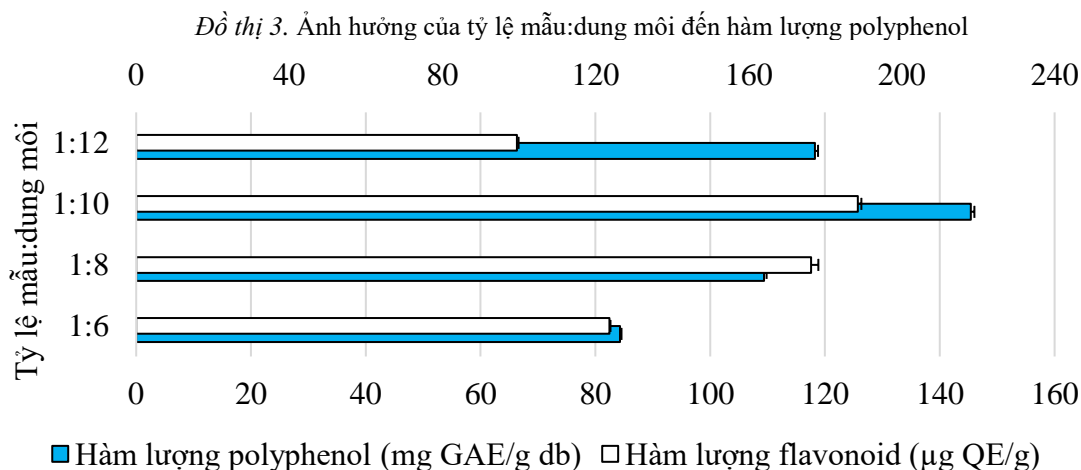
Đồ thị 2. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hàm lượng polyphenol



Kết quả cho thấy khi tăng nồng độ dung môi methanol thì trị số TPC và TFC trong dịch chiết tăng dần. Ở các nồng độ 25%, 50%, 70% thì TPC lần lượt là 44,02; 49,28 và 67,96 mg GAE/g db; TFC lần lượt là 79,25; 85,67 và 92,68 µg QE/g. Khi tăng nồng độ methanol lên 90% cho giá trị TPC (92,37 mg GAE/g db) và TFC (135,12 µg QE/g) là cao nhất. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ methanol lên 96%

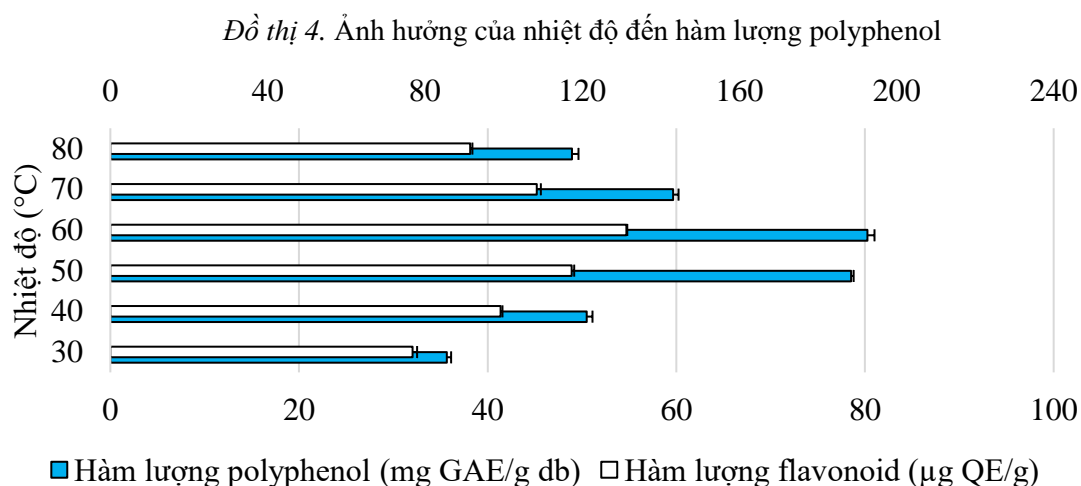
và 99,9% thì TPC và TFC trong các mẫu này lại giảm, chỉ còn 65,72 mg GAE/g db; 116,48 μ g QE/g ở 96% và 48,01 mg GAE/g db; 81,89 μ g QE/g ở 99,9%.

3.2.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ mẫu:dung môi đến hàm lượng polyphenol chiết được từ dược liệu



Kết quả cho thấy khi tăng tỷ lệ mẫu:dung môi thì hàm lượng polyphenol cũng tăng theo. Cụ thể là khi tăng tỷ lệ từ 1:6 lên 1:8 thì TPC và TFC tăng đáng kể (TPC từ 84,29 tăng lên 109,37 mg GAE/g db và TFC từ 123,68 tăng lên 176,34 μ g QE/g). Tiếp tục tăng tỷ lệ mẫu:dung môi lên 1:10 cho hàm lượng polyphenol cao nhất, TPC đạt 145,38 mg GAE/g db và TFC đạt 188,54 μ g QE/g. Tuy nhiên, ở tỷ lệ dung môi:mẫu là 1:12 thì hiệu quả trích ly lại giảm xuống (TPC giảm còn 118,25 mg GAE/g db và TFC giảm còn 99,48 μ g QE/g).

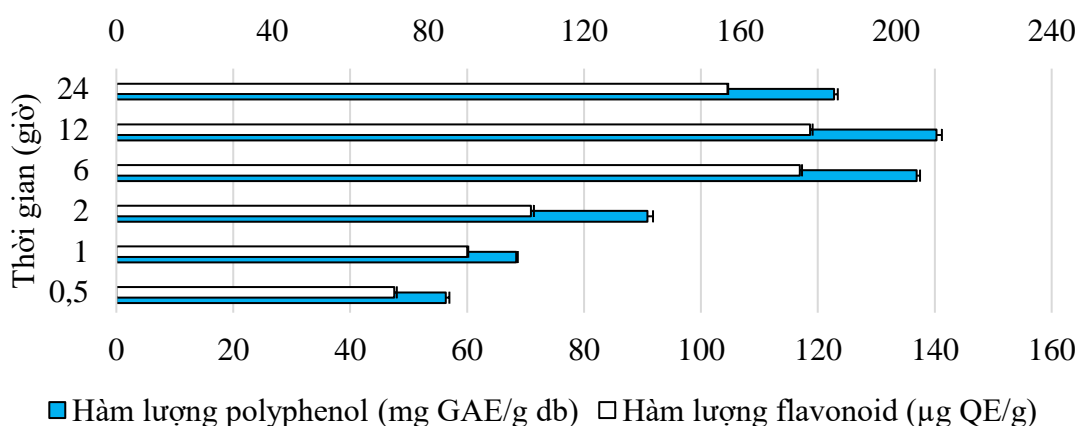
3.2.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng polyphenol chiết được từ dược liệu



Kết quả cho thấy hàm lượng polyphenol trong dịch chiết tăng lên khi tăng nhiệt độ. Cụ thể là khi tăng từ 30 °C lên 60 °C, TPC tăng từ 35,68 lên 80,25 mg GAE/g db, TFC tăng từ 76,89 lên 131,26 μ g QE/g. Hiệu quả trích ly đạt cao nhất ở 60 °C; giảm khi ở 70 °C và 80 °C.

3.2.5. Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng polyphenol chiết được từ dược liệu

Đồ thị 5. Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng polyphenol



Thời gian chiết cũng là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới hàm lượng polyphenol chiết được cũng như hiệu quả kinh tế của quá trình. Nếu thời gian quá ngắn, không đủ để dung môi xâm nhập vào trong tế bào, hòa tan polyphenol và khuếch tán ra ngoài dung môi ít thì hàm lượng polyphenol thu được thấp, ngược lại khi thời gian chiết quá dài polyphenol có thể bị oxy hóa và giảm hiệu quả kinh tế. Kết quả cho thấy khi kéo dài thời gian chiết thì hàm lượng polyphenol tăng theo. Cụ thể khi tăng từ 0,5 giờ lên 6 giờ thì cả TPC và TFC tăng đáng kể (TPC từ 56,35 tăng lên 136,92 mg GAE/mg db, TFC từ 71,34 tăng lên 175,38 µg QE/g). Khi kéo dài thời gian đến 12 giờ, hàm lượng trích ly chỉ tăng nhẹ, không đáng kể (TPC từ 136,92 tăng nhẹ lên 140,28 mg GAE/mg db, TFC từ 175,38 tăng nhẹ lên 177,98 µg QE/g). Tuy nhiên, khi kéo dài thời gian chiết đến 24 giờ, hàm lượng polyphenol lại giảm xuống. Qua những nghiên cứu trên ta thấy được rằng đối với từng loại dược liệu thì điều kiện chiết khác nhau phụ thuộc vào thành phần và cấu trúc của các polyphenol có trong dược liệu khác nhau. Khảo sát sự ảnh hưởng của từng yếu tố đến hiệu quả trích ly hợp chất cần chiết của dược liệu cần nghiên cứu là thiết yếu. Từ đó, xác định được điều kiện thích hợp nhất về loại dung môi, nồng độ dung môi, tỷ lệ mẫu:dung môi, nhiệt độ cũng như thời gian chiết để cho hiệu quả trích ly là tối đa và kinh tế nhất.

3.3. Định tính sơ bộ thành phần hóa học có trong cây chua me đất hoa vàng

Bảng 2. Kết quả định tính sơ bộ thành phần hóa học của dược liệu

Nhóm hợp chất	Hóa chất/ Cách thực hiện	Phản ứng dương tính	Kết quả định tính trên các dịch chiết		
			Dịch chiết hexan	Dịch chiết methanol	Dịch chiết nước
Tinh dầu	Bốc hơi tới cạn	Có mùi thơm	+++	+	-
Carotenoid	H ₂ SO ₄	Xanh dương đậm hoặc xanh lục tới xanh dương	+	++	-
Triterpenoid tự do	Liebermann - Burchard	Đỏ nâu đến tím, lớp trên có màu xanh lục	+	++	-
Glycoside tim	Thuốc thử Fehling	Kết tủa đỏ gạch	-	++	+

Anthraquinon	KOH 10%	Dung dịch kiềm có màu hồng tới đỏ	-	+	-
Saponin	Lắc mạnh dung dịch	Bọt bền	-	-	+
Alkaloid	Thuốc thử Bouchardat	Dung dịch đục hơn hoặc có tủa nâu	+	++	-
Coumarin	Nhỏ lên giấy lọc + FeCl ₃ 1%	Xuất hiện màu xanh	+	+++	+
Flavonoid	Magnesi kim loại + HCl đậm đặc	Màu hồng tới đỏ	+	+++	++
Anthocyanosid	HCl	Đỏ	-	++	++
	KOH	Xanh	-	++	+
Proanthocyanidin	HCl/t°	Đỏ	-	-	-
Tannin	FeCl ₃ 5%	Xanh rêu đến xanh đen	-	++	++
	Gelatin muối	Tủa bông trắng	-	+	-

Chú thích: (-): không có; (+): có ít; (++): có nhiều; (+++): có rất nhiều

Qua khảo sát sơ bộ thành phần hóa học trong cây chua me đất hoa vàng có sự hiện diện của các hợp chất như: tinh dầu, carotenoid, triterpenoid tự do, glycoside tim, alkaloid, coumarin, flavonoid, anthocyanosid, tannin; không thấy có sự hiện diện của các hợp chất như: anthraquinon, saponin, proanthocyanidin.

3.4. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết polyphenol từ cây chua me đất hoa vàng

Bảng 3. Đánh giá khả năng kháng khuẩn của dịch chiết từ cây chua me đất hoa vàng

Loài vi sinh vật	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)			
	Nồng độ dịch chiết (mg/mL)			Mẫu đối chứng (DMSO)
	50	75	100	
<i>Staphylococcus aureus</i>	13,1	18,9	21,4	0
<i>Streptococcus feacalis</i>	8,2	9,8	10,9	0
<i>Escherichia coli</i>	14,8	23,7	25,2	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	12,3	16,8	18,2	0

Kết quả khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết từ cây chua me đất hoa vàng được thể hiện qua bảng 3 cho thấy hợp chất polyphenol có trong dịch chiết có khả năng kháng lại 4/6 chủng vi khuẩn thực nghiệm và được sắp xếp theo độ tăng dần của đường kính vòng vô khuẩn là: *Streptococcus feacalis* < *Proteus mirabilis* < *Staphylococcus aureus* < *Escherichia coli*; không kháng được *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*; ứng với mẫu đối chứng (DMSO) không có vòng vô khuẩn.

Khi tăng nồng độ dịch chiết từ 50 mg/mL lên 75 mg/mL, đường kính vòng vô khuẩn tăng mạnh. Tuy nhiên khi tiếp tục tăng nồng độ lên đến 100 mg/mL, đường kính vòng kháng khuẩn vẫn tăng theo nhưng chậm lại. Điều đó chứng tỏ với nồng độ 100 mg/mL là mức vừa cần và vừa đủ để dịch chiết kháng khuẩn, không cần thiết phải tăng nồng độ dịch chiết thêm nữa. Nhìn chung, hoạt chất polyphenol chiết từ cây me đất hoa vàng có hoạt tính kháng khuẩn mạnh và kháng khá đa dạng loài vi khuẩn.

3.5. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết polyphenol từ cây chua me đất hoa vàng

Các nồng độ vitamin C và phần trăm ức chế I (%) được biểu thị dưới dạng đường thẳng với phương trình $y = 1,0707x + 0,9512$, với hệ số tương quan $R = 0,9944$. Thay $y = 50$ vào phương trình tìm được $IC_{50} = 45,81$ (mg/mL) [3]. Các nồng độ của dịch chiết polyphenol trích từ cây chua me đất hoa vàng và phần trăm ức chế I (%) được biểu thị dưới dạng đường thẳng với phương trình $y = 0,4955x + 29,05$, với hệ số tương quan $R = 0,9905$. Thay $y = 50$ vào phương trình tìm được $IC_{50} = 42,27$ (mg/mL). Hiệu quả loại bỏ gốc tự do của cây chua me đất hoa vàng phụ thuộc vào nồng độ dịch chiết, khi nồng độ dịch chiết tăng thì hiệu quả loại bỏ gốc tự do DPPH tăng theo và ngược lại. Hiệu quả loại bỏ gốc tự do của cây chua me đất hoa vàng được so sánh dựa vào khả năng loại bỏ 50% lượng gốc tự do DPPH. Giá trị IC_{50} của vitamin C là 45,81 mg/mL, trong khi đó giá trị IC_{50} của dịch chiết này là 42,27 mg/mL. So sánh 2 giá trị IC_{50} trên cho thấy hoạt chất polyphenol thu được có hoạt tính kháng oxy hóa cao hơn vitamin C. Kết quả nghiên cứu này cho thấy tiềm năng ứng dụng rất cao của cây chua me đất hoa vàng trong phòng và điều trị các bệnh có nguyên nhân từ stress oxy hóa.

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, bột dược liệu chua me đất hoa vàng có các giá trị về độ ẩm (11,28%), độ tro toàn phần (13,47%) và độ tro không tan trong HCl (3,12%) nằm trong giới hạn an toàn cho phép đúng theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam IV. Nghiên cứu cũng xác định được điều kiện thích hợp nhất để chiết tách polyphenol từ rễ cây chua me đất hoa vàng cho hiệu suất cao nhất là dung môi methanol, nồng độ methanol 90%, tỷ lệ mẫu:dung môi là 1:10 (g/mL), thời gian chiết 6 giờ, nhiệt độ chiết 60 °C. Cây chua me đất hoa vàng được định tính sơ bộ thành phần hóa học có chứa các hợp chất polyphenol như tinh dầu, carotenoid, triterpenoid tự do, glycoside tim, alkaloid, coumarin, flavonoid, anthocyanosid và tannin. Nghiên cứu còn khảo sát được hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết polyphenol từ cây chua me đất hoa vàng, ở nồng độ 100 mg/mL với đường kính vòng vô khuẩn cao nhất ở mỗi chủng tăng dần như sau: *Streptococcus feacalis* < *Proteus mirabilis* < *Staphylococcus aureus* < *Escherichia coli*; và không kháng được *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*. Khi tăng nồng độ của dịch chiết thì khả năng kháng khuẩn sẽ tăng theo. Tuy nhiên, tăng nồng độ dịch chiết từ 80 mg/mL lên 100 mg/mL, đường kính vòng kháng khuẩn nhỏ bắt đầu tăng chậm lại cho thấy rằng 100 mg/mL là nồng độ vừa cần và vừa đủ để dịch chiết kháng khuẩn. Nghiên cứu còn đánh giá được khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết polyphenol từ cây chua me đất hoa vàng thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH với hoạt tính kháng oxy hóa khá cao với giá trị IC_{50} là 42,27 (mg/mL) cao hơn IC_{50} của vitamin C là 45,81 (mg/mL) chứng tỏ rằng dịch chiết polyphenol từ cây chua me đất hoa vàng có hoạt tính kháng oxy hóa cao hơn cả vitamin C.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, *Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật*, Hà Nội, tập II, trang 301 - 304, 912 - 915, 1007 - 1010, 2004.
- [2] Đỗ Tất Lợi, Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, *Nhà xuất bản Y học*, trang 44 - 47, 116 - 119, 186 - 187, 2001.

- [3] 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, 436 - 446, 2016.
- [4] Phạm Hoàng Hộ, Cây có vị thuốc ở Việt Nam, *Nhà xuất bản Trẻ*, trang 575, 2006.
- [5] 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 01 (11/2016), 23 - 29, 2016.
- [6] 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, 21 - 26, 2016.

Ngày nhận bài: 31/03/2017

Ngày chấp nhận đăng: 08/07/2017