

# KHẢO SÁT ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY FLAVONOID TỪ LÁ DIẾP CÁ (*HOUTTUYNIA CORDATA*)

● NGUYỄN THỊ HẢI HÒA - NGUYỄN THỊ LIÊN PHƯỢNG

## TÓM TẮT:

Diếp cá chứa nhiều chất có hoạt tính sinh học được ứng dụng nhiều trong y học và dược phẩm, trong đó nổi bật là flavonoid một loại hợp chất sinh học quý có khả năng chống oxy mạnh, kháng khuẩn, làm chậm quá trình lão hóa và đột biến của các tế bào trong cơ thể, phòng chống ung thư... Nghiên cứu nhằm khảo sát sự ảnh hưởng của dung môi đến quá trình trích ly flavonoid bằng dung môi từ diếp cá. Kết quả nghiên cứu thu được hàm lượng flavonoid tổng trong diếp cá sau trích ly là 3185.4359 mgQE/100g tại điều kiện: dung môi methanol 80%, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi 1/20 (w/v) ở 60°C trong 2 giờ.

**Từ khóa:** Diếp cá, dung môi, methanol, flavonoid, trích ly.

## 1. Đặt vấn đề

Flavonoid là một nhóm hợp chất thường gặp trong thực vật, có mặt trong tất cả các bộ phận của cây diếp cá, đặc biệt là ở lá. Flavonoid có khả năng ngăn chặn quá trình oxy hóa do các gốc tự do, xúc tác ngăn cản các phản ứng oxy hóa, bảo vệ cơ thể, ngăn ngừa xơ vữa động mạch, tai biến mạch, lão hóa, thoái hóa gan, tổn thương do bức xạ, làm bền thành mạch, được dùng trong các trường hợp rối loạn chức năng tĩnh mạch, giãn hay suy yếu tĩnh mạch, trĩ, rối loạn tuần hoàn vòng mạc, chống độc, làm giảm thương tổn gan, bảo vệ chức năng gan...[1].

Diếp cá là một loại rau rất quen thuộc trong bữa ăn hàng ngày của người Việt Nam. Ngoài ra, diếp cá còn có rất nhiều những công dụng khác. Theo Đông y, diếp cá có vị đắng, tính ôn, có tác

dụng: Giải nhiệt và giải độc, làm giảm sưng viêm, trị ung nhọt trong các trường hợp ung nơi phổi, ngoài da, trị ho ra máu, chữa vết thương do rấn cắn hay côn trùng cắn, làm thông thoát khí ứ đọng, giúp tiêu hóa tốt và lợi tiểu. Đặc biệt tác dụng chữa bệnh trĩ rất hiệu quả, do có khả năng bảo vệ làm bền thành mao mạch [2].

Flavonoid diếp cá có chứa thành phần flavonoid hết sức phong phú. Các flavonoid đáng chú ý trong diếp cá có thể kể đến như quercetin, quercitrin, isoquercitrin. Với những lợi ích hết sức phong phú mà diếp cá cũng như Flavonoid trong diếp cá mang lại. Bài viết bước đầu nghiên cứu quá trình phân lập flavonoid chính trong diếp cá để góp phần tạo cơ sở khoa học và nâng cao giá trị sử dụng của loại cây này.

**2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu**

**2.1. Vật liệu**

Nguyên liệu diếp cá được thu mua ở cửa hàng Bách Hóa Xanh, địa chỉ 171 Võ Thành Trang, phường 11, quận Tân Bình, Thành phố Hồ Chí Minh. Diếp cá tại đây được trồng theo quy trình đạt tiêu chuẩn VietGAP. Cây tươi được rửa sạch, lấy phần lá, loại bỏ lá sâu, sấy ở nhiệt độ 60°C (độ ẩm dưới 11%). Diếp cá khô được bảo quản trong túi ni-lon và được xay nhỏ trước khi sử dụng [3].

**2.2. Phương pháp nghiên cứu**

Khảo sát sự ảnh hưởng của điều kiện trích ly flavonoid bằng phương pháp ngâm chiết

Nguyên liệu diếp cá khô sau khi xử lý theo khảo sát. Cân 1g mẫu nguyên liệu diếp cá, cho thêm dung môi có nồng độ, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi theo từng khảo sát. Dung dịch được ủ trong bể ổn nhiệt tránh ánh sáng mặt trời, ở thời gian và nhiệt độ trích ly theo khảo sát. Dịch trích được đem đi ly tâm 5.500 vòng trong 15 phút, lọc bỏ bã, thu dịch. Tiến hành xác định hàm lượng flavonoid trong dịch trích theo phương pháp tạo màu với AlCl<sub>3</sub>.

Thực hiện khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng flavonoid: Khảo sát từng bộ phận trong diếp cá (thân, lá, thân và lá). Loại dung môi (methanol, ethanol, nước cất), nồng độ dung môi (50%, 60%, 70%, 80%, 90%, nguyên chất), tỉ lệ nguyên liệu/dung môi (1/10, 1/15, 1/20, 1/25), nhiệt độ trích ly (nhiệt độ phòng, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C), thời gian ủ (0.5h, 1h, 1.5h, 2h, 2.5h, 3h). Khảo sát từng yếu tố, kết quả khảo sát ở yếu tố cho hàm lượng flavonoid sau trích ly cao hơn sẽ được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

**2.3. Phương pháp phân tích**

*Phương pháp xác định độ ẩm*

Độ ẩm được xác định bằng cân sấy ẩm hồng ngoại Ohaus MB35. Thông số kỹ thuật, nhiệt độ 50-160°C, thời gian sấy: 1-120 phút, trọng lượng mẫu sấy lớn nhất: 35g.

*Phương pháp phân tích hàm lượng flavonoid*

Hàm lượng flavonoid tổng được xác định dựa vào đặc tính tạo phức màu rất mạnh của các flavonoid với kim loại Al<sup>3+</sup> trong môi trường trắc quang bằng cách xây dựng đường chuẩn với

Quercetin, đo độ hấp thụ quang học ở bước sóng 385 nm [4][5].

Hàm lượng flavonoid tổng được tính theo công thức:

$$\text{Flavonoid tổng (mgQE/100g)} = (C.V.f)/(m.10)$$

Trong đó:

C: Nồng độ flavonoid tổng trong dịch chiết tính theo quercetin (µg/ml).

V: Thể tích dịch chiết (ml); m: Khối lượng chất khô (g); f: Hệ số pha loãng.

**2.4. Phương pháp xử lý số liệu**

Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần, xử lý số liệu theo phương pháp thống kê ANOVA (α =5 %) bằng phần mềm Statgraphics. Đồ thị được vẽ bằng Microsofe Excel 2010.

**3. Kết quả và thảo luận**

**3.1. Khảo sát sự ảnh hưởng của dung môi đến quá trình trích ly flavonoid bằng phương pháp ngâm chiết**

**3.1.1. Khảo sát nguyên liệu**

Mỗi bộ phận trong cây diếp cá sẽ có hàm lượng flavonoid khác nhau. Tiến hành khảo sát với các bộ phận thân, lá, thân và lá. Kết quả khảo sát nguyên liệu được thể hiện ở Bảng 1.

**Bảng 1: Kết quả khảo sát nguyên liệu**

STT	Bộ phận	Hàm lượng flavonoid tổng (g/100gck)
1	Thân	(87.6538±0.744) <sup>a</sup>
2	Lá	(1600.1795±2.246) <sup>c</sup>
3	Thân + Lá	(1045.9936±2.885) <sup>b</sup>

Theo lý thuyết lá sẽ chiếm hàm lượng flavonoid cao nhất trong cây và kết quả ở số liệu Bảng 1 cũng đã chứng minh điều này. Do đó, bộ phận lá được dùng để khảo sát các điều kiện tiếp theo.

**3.1.2. Khảo sát loại dung môi**

Các flavonoid có độ hòa tan khác nhau tùy theo số nhóm hydroxyl và các nhóm thế khác có trong cấu trúc hóa học, nên khó có một dung môi đặc trưng để trích ly flavonoid ra khỏi mẫu thực vật [6]. Mỗi loại dung môi có độ phân cực khác nhau, ảnh hưởng đến quá trình trích ly flavonoid [7]. Kết quả khảo sát loại dung môi nước cất,

methanol, ethanol đến trích ly flavonoid được thể hiện ở Bảng 2.

Các dung môi etanol và methanol được biết đến như là các dung môi đa năng, tính phân cực cao có khả năng hòa tan hầu hết các hợp chất có trong mẫu, dung môi methanol thì có độ phân cực cao hơn ethanol. Nên khả năng lôi kéo flavonoid ra khỏi mẫu của methanol cao hơn của ethanol và nước cất. Từ kết quả Bảng 2, dung môi methanol được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

**3.1.3. Khảo sát loại nồng độ dung môi**

Các nồng độ dung môi khác nhau sẽ ảnh hưởng rất lớn đến hiệu suất trích ly thu được. Vì khi được pha loãng với nước sẽ tăng tính phân cực của dung môi giúp thu nhận nhiều hợp chất flavonoid hơn [6]. Sau khi lựa chọn được nguyên liệu lá diếp cá và dung môi, tiến hành khảo sát nồng độ dung môi (50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 99.6%), kết quả được thể hiện ở Bảng 3.

Kết quả thu được ở Bảng 3 chỉ ra, nồng độ dung môi tăng từ 50%-90% thì hàm lượng flavonoid tổng cũng tăng theo, đến nồng độ methanol nguyên chất thì hàm lượng flavonoid tổng giảm. Vì vậy, nồng độ 90% là nồng độ thích hợp cho để tiến hành cho các thí nghiệm sau.

**3.1.4. Khảo sát tỷ lệ nguyên liệu/dung môi**

Động lực của quá trình trích ly là do sự chênh lệch gradient nồng độ giữa cấu tử trích ly trong nguyên liệu và dung môi. Sự vận chuyển chất tan từ bên trong tế bào thực vật ra bên ngoài dung môi qua con đường khuếch tán là chủ yếu. Sự khuếch tán này sẽ giúp cho quá trình chiết rút các cấu tử cần trích ly từ trong nguyên liệu vào dung môi xảy ra nhanh và triệt để hơn [6]. Do đó lượng dung môi khác nhau sẽ dẫn đến hàm lượng chất tan được chiết rút ra là khác nhau. Vì vậy, sau khi lựa chọn được dung môi trích ly, tiếp tục khảo sát tỷ lệ nguyên liệu/dung môi với các tỷ lệ (1/10, 1/15, 1/20, 1/25), kết quả được thể hiện ở Bảng 4.

Thực tế nghiên cứu cho thấy khi tăng tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lên từ 1:10 đến 1:20, hàm lượng flavonoid tổng thu được tăng lên đáng kể, nhưng khi tiếp tục tăng lên 1:25, hàm lượng flavonoid tổng tăng nhưng không có sự khác biệt khi xử lý thống kê. Để tiết kiệm chi phí cũng như thuận tiện hơn ở giai đoạn sau, chọn tỷ lệ nguyên

**Bảng 2: Kết quả khảo sát loại dung môi**

STT	Dung môi	Hàm lượng flavonoid tổng (g/100gck)
1	Ethanol	(1070.5833±2.008) <sup>b</sup>
2	Methanol	(1581.6684±2.806) <sup>c</sup>
3	Nước cất	(547.0824±1.529) <sup>a</sup>

**Bảng 3: Kết quả khảo sát nồng độ dung môi**

STT	Nồng độ	Hàm lượng flavonoid tổng (g/100gck)
1	50%	(954.3590±4.1982) <sup>a</sup>
2	60%	(1012.6282±4.3624) <sup>b</sup>
3	70%	(1269.1027±5.9166) <sup>c</sup>
4	80%	(1575.7692±3.5106) <sup>d</sup>
5	90%	(1894.5217±3.9319) <sup>f</sup>
6	99.6%	(1684.8397±6.6627) <sup>e</sup>

**Bảng 4: Kết quả khảo sát tỷ lệ nguyên liệu/dung môi**

STT	Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi	Hàm lượng flavonoid tổng (g/100gck)
1	1/10	(1272.4231±4.8039) <sup>a</sup>
2	1/15	(1983.9869±5.4731) <sup>b</sup>
3	1/20	(2596.2308±0.8104) <sup>c</sup>
4	1/25	(2602.4936±0.7134) <sup>c</sup>

liệu/dung môi 1/20. Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của Ngô Hoàng Linh (2017) về quy trình công nghệ chiết tách các chất flavonoid và stearyl từ cây diếp cá ở Nghệ An [7].

**3.1.5. Khảo sát nhiệt độ trích ly**

Nhiệt độ làm tăng khả năng hòa tan và khuếch tán của các hợp chất, làm giảm độ nhớt dung môi, tăng khả năng truyền khối và xâm nhập của dung môi vào trong tế bào. Tuy nhiên không phải tăng nhiệt độ càng cao thì quá trình trích ly càng tốt [6]. Sau khi chọn được bộ phận lá được trích ly với dung môi thích hợp methanol 90% và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi phù hợp nhất 1/20, tiếp tục khảo sát để tìm nhiệt độ trích ly (Nhiệt độ phòng (khoảng 32°C), 40°C, 50°C, 60°C, 70°C), kết quả được thể hiện ở Bảng 5.

**Bảng 5: Kết quả khảo sát nhiệt độ trích ly**

STT	Nồng độ	Hàm lượng flavonoid tổng (g/100gck)
1	Nhiệt độ phòng	(1671.2051±4.2366) <sup>a</sup>
2	40°C	(1774.4103±3.7945) <sup>b</sup>
3	50°C	(2613.0000±5.2349) <sup>c</sup>
4	60°C	(2943.7051±3.6807) <sup>e</sup>
5	70°C	(2235.8333±5.1980) <sup>c</sup>

Hơn nữa, chỉ có một số hợp chất phenolic nhất định như các họ flavonoid (chủ yếu là anthocyanin và các dẫn xuất flavan-3-ol) có khả năng chịu nhiệt, nên việc khảo sát khoảng nhiệt độ trích ly rất quan trọng để đảm bảo được hoạt tính của hợp chất chúng ta cần trích ly. Điều quan trọng nhất, vì chúng sử dụng dung môi methanol: Nước để chiết mà methanol là hợp chất dễ bay hơi nên với nhiệt độ trích ly quá cao sẽ làm thay đổi tỉ lệ methanol: nước dẫn đến sai số. Kết quả Bảng 5 cũng chỉ ra rằng, khi nhiệt độ trích ly tăng thì hàm lượng flavonoid tổng tăng, đến 70°C thì hàm lượng Flavonoid giảm. Do vậy, ta chọn nhiệt độ trích ly thích hợp là 60°C. Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của Ngô Hoàng Linh (2017) [7].

### 3.1.6. Khảo sát thời gian trích ly

Thời gian trích ly cũng ảnh hưởng đến khả năng thu nhận flavonoid [8]. Sau khi chọn được bộ phận lá được trích ly với dung môi thích hợp methanol 90%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi phù hợp nhất 1/20 và nhiệt độ trích ly tối ưu là 60°C. Chúng tôi tiếp tục khảo sát để tìm thời gian trích ly (0.5; 1; 1.5; 2; 2.5; 3h), kết quả được thể hiện ở Bảng 6.

**Bảng 6: Kết quả khảo sát thời gian trích ly**

STT	Thời gian (h)	Hàm lượng Flavonoid tổng (g/100gck)
1	0.5	(1003.3052±2.3581) <sup>a</sup>
2	1	(1951.7820±1.9737) <sup>b</sup>
3	1.5	(2347.4231±10.0975) <sup>c</sup>
4	2	(2876.9103±6.4483) <sup>d</sup>
5	2.5	(3185.4359±4.3060) <sup>e</sup>
6	3	(3203.2436±1.4393) <sup>e</sup>

Từ bảng 6 cho thấy, khi thời gian trích ly tăng thì hàm lượng Flavonoid tổng cũng tăng theo, nhưng đến 3 giờ thì hàm lượng flavonoid tăng nhưng không có sự khác biệt khi xử lý thống kê so với 2,5 giờ. Trong quá trình trích ly, thời gian trích ly quá ngắn sẽ không bảo đảm được hiệu suất tách chiết. Ngược lại, nếu thời gian trích ly quá dài sẽ làm tăng khả năng phân hủy các chất. Ngoài ra, thời gian quá dài cũng làm thất thoát lượng dung môi dẫn đến sai số cũng như tốn kém về mặt kinh tế. Vì thế, thời gian là 2,5 giờ được chọn cho quá trình trích ly flavonoid từ lá diếp cá.

### 4. Kết luận

Bằng phương pháp ngâm chiết đã khảo sát được sự ảnh hưởng của dung môi đến quá trình trích ly flavonoid với kết quả: Mẫu lá diếp cá khô sau khi xử lý sẽ được ngâm chiết với dung môi Methanol 90% với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1/20, tiến hành ủ ở 60°C trong 2.5 giờ sẽ đạt được hàm lượng flavonoid tổng cao nhất là 3185.4359 mgQE/100gCK ■

### TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Yujie Chen et al (2010), Determination of total flavonoids in three Sedum crude drugs by UV-Vis spectrophotometry. *Pharmacognosy Magazine*, 6 (24): 259-263.
2. Tapan Seal (2016), Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves. *Sonchus arvensis* and *Oenanthe linearis* of North-Eastern region in India. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6 (02): 157- 166.
3. Trần Thị Việt Hoa, Lê Thị Kim Oanh (2008). Phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất từ cây diếp cá (*Houttuynia cordata* thumb) của Việt Nam. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*, 11 (7): 73 - 77.
4. Chang C. et al. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10 (3):178-182.

5. Ưu Thúy Diễm (2013), *Xây dựng quy trình phân tích tổng flavonoid từ một số cao dược liệu bằng phương pháp UV-VIS*, Trường Đại học Cần Thơ - Khoa Khoa học Tự nhiên.
6. Phan Thị Kim Ngọc (2017), *Tối ưu hóa quá trình thu nhận flavonoid từ củ cải trắng (Raphanus sativus L.) với sự hỗ trợ của vi sóng*, Trường Đại học Bà Rịa - Vũng Tàu.
7. Ngô Hoàng Linh (2017), *Nghiên cứu quy trình công nghệ chiết tách các chất flavonoid và stearyl từ cây diếp cá ở tỉnh nghệ An*, Sở KH&CN Nghệ An.
8. Phan Văn Cư (2010), *Phân lập flavonoid từ cao butanol trong cây diếp cá (Houttuynia cordata thunb) ở tỉnh Thừa Thiên Huế*, *Tạp chí Khoa học, Đại học Huế*, 63, 27 - 32.

**Ngày nhận bài: 25/6/2020**

**Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 5/7/2020**

**Ngày chấp nhận đăng bài: 15/7/2020**

*Thông tin tác giả:*

**1. ThS. NGUYỄN THỊ HẢI HÒA**

**Giảng viên Khoa Công nghệ Thực phẩm**

**Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh**

**2. NGUYỄN THỊ LIÊN PHƯƠNG**

**Sinh viên Khoa Công nghệ Thực phẩm**

**Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh**

## **A STUDY ON THE CONDITIONS OF EXTRACTING FLAVONOID FROM *HOUTTUYNIA CORDATA***

● Master. **NGUYEN THI HAI HOA**

Faculty of Food Science and Technology  
Ho Chi Minh City University of Food Industry

● **NGUYEN THI LIEN PHUONG**

Student, Faculty of Food Science and Technology,  
Ho Chi Minh City University of Food Industry

### **ABSTRACT:**

Houttuynia Cordata has lots of bioactive compounds which are used in medical and pharmaceutical sectors. In which, flavonoid which is a precious biological compound of Houttuynia Cordata has strong antioxidant and antibacterial properties that slow down the aging process and mutation of cells in the body, and prevent cancers. This study is to examine the impact of solvents on the extraction process of flavonoids. This study's results show that the total flavonoid content in Houttuynia Cordata, after the extraction process, is at 3185.4359 mgQE / 100g with the methanol solvent at 80%, and the material / solvent ratio (w/v) at 1/20 at 60°C in 2 hours.

**Keywords:** Houttuynia Cordata, solvent, methanol, flavonoid, extraction.