

ẢNH HƯỞNG CỦA DUNG MÔI CHIẾT XUẤT ĐẾN HÀM LƯỢNG POLYPHENOL, HÀM LƯỢNG FLAVONOID VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA CỦA CAO CHIẾT LÁ TRẦU KHÔNG

● ĐỖ ĐÌNH NHẬT

TÓM TẮT:

Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của các dung môi chiết (nước và ethanol 96%, 80%, 60% và 40%) đến hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa dựa vào khả năng khử gốc tự do DPPH của cao chiết lá trầu không (*Piper betle* L.) đã được khảo sát. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hàm lượng phenolic tổng đạt cao nhất khi sử dụng dung môi chiết ethanol 40% (143,126 mg GAE/g DW). Hàm lượng flavonoid đạt giá trị cao nhất khi sử dụng dung môi ethanol 40% (255,94 mg QE/g DW). Đối với khả năng chống oxy hóa, dịch chiết lá trầu không khi sử dụng dung môi ethanol 60% cho thấy khả năng kháng oxy hóa cao nhất so với các dung môi còn lại (124,80 mg AAE/g DW). Các kết quả cho thấy tiềm năng ứng dụng lớn của dịch chiết lá trầu không cho các ngành mỹ phẩm, thực phẩm hiện nay.

Từ khóa: dung môi, chống oxy hóa, cao chiết lá trầu không, lá trầu không.

1. Đặt vấn đề

Các dược liệu thiên nhiên ngày càng được quan tâm và được coi là nguồn chất chống oxy hóa và chất kháng khuẩn tự nhiên lý tưởng. Nhờ những lợi thế về an toàn khi sử dụng, tính sẵn có lớn, ít tác dụng phụ, các nguồn dược liệu tự nhiên ngày càng trở nên quan trọng đối với việc chăm sóc sức khỏe con người. Các nghiên cứu cho thấy, một lượng lớn các hợp chất phenolic và flavonoid trong dược liệu tự nhiên với đặc tính khác nhau chịu trách nhiệm cho các hoạt tính sinh học mạnh mẽ và đặc tính dược lý đặc biệt của chúng [1].

Piper betle Linn., thường được gọi là trầu không, là loài thực vật thuộc họ Piperaceae phân bố rộng khắp ở Đông Phi và các vùng nhiệt đới của châu Á. Cây trầu không được trồng rộng rãi, là một nguồn tài nguyên quý giá trong y học và thực phẩm truyền thống, chúng được sử dụng phổ biến như một loại thực phẩm chức năng và được sử dụng rộng rãi như một loại thuốc thảo dược để điều trị các bệnh khác nhau. Lá trầu không bao gồm chất béo, carbohydrate, nước, chất xơ, canxi, protein, photpho, sắt, vitamin A, vitamin C, riboflavin, iốt, axit nicotinic và thiamine. Chiết xuất từ lá trầu không

chứa đáng kể số lượng hợp chất có hoạt tính sinh học như eugenol, estragol, chavicol, chavibetol và các polyphenol như quercetin, kaempferol, catechin và epicatechin [2].

Các nghiên cứu cho thấy rằng dịch chiết lá trầu không có nhiều công dụng cho sức khỏe bao gồm chống ung thư, kháng khuẩn và các hoạt động chống viêm, chống oxy hóa, sát trùng, kháng nấm, chống đột biến, chống mảng bám và trị đái tháo đường [3]. Ngoài ra, các polyphenol trong dịch chiết lá trầu không có tính chất chống oxy hóa mạnh mẽ, giúp bảo vệ tế bào khỏi sự tổn thương của các gốc tự do và ngăn chặn quá trình lão hóa. Các nghiên cứu cụ thể được thực hiện để đánh giá hiệu quả của dịch chiết lá trầu không trong việc chống oxy hóa đã chứng minh rằng dịch chiết lá trầu không có khả năng chống oxy hóa mạnh, chống lại sự hình thành các gốc tự do và giảm thiểu thiệt hại oxy hóa của lipid và protein, làm giảm sự tổn thương của tế bào do gốc tự do và bảo vệ tế bào khỏi sự oxy hóa [4-5].

Đã có một số nghiên cứu về chiết xuất và phân lập các hợp chất cũng như các đặc tính sinh học từ lá trầu không. Tuy nhiên, thành phần của dịch chiết thực vật thay đổi mạnh tùy thuộc vào nguồn gốc địa lý cũng như kỹ thuật chiết xuất. Trong kỹ thuật chiết xuất, dung môi chiết có ảnh hưởng lớn đến sự phân lập nhiều hợp chất trong dịch chiết và làm thay đổi các hoạt tính sinh học của dịch chiết lá trầu không. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của các dung môi chiết (nước và ethanol 96%, 80%, 60% và 40%) đến hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa dựa vào khả năng khử gốc tự do DPPH của cao chiết lá trầu không (*Piper betle* L.) đã được khảo sát. Kết quả của nghiên cứu có thể đóng góp những hiểu biết, những tư liệu mới cũng như tiềm năng ứng dụng của dịch chiết lá trầu không cho các ngành mỹ phẩm, thực phẩm hiện nay.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu lá trầu không được sử dụng trong suốt quá trình nghiên cứu được thu hoạch tại xã Vị Thủy, huyện Vị Thủy, tỉnh Hậu Giang. Hóa chất được sử dụng trong nghiên cứu gồm ethanol, DPPH

và ABTS, acid gallic, trolox, folin-ciocalteu reagent, quercetin, vitamin C, kali persulfate, đệm natri photphat có xuất xứ từ Merk (Đức) được cung cấp bởi Cửa hàng kinh doanh hóa chất và thiết bị Hóa Nam, quận 10, TP. Hồ Chí Minh. Thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu gồm có hệ thống chiết Soxhlet (Đức); Máy cô quay chân không Heidolph Hei-VAP (Đức); Máy quang phổ UV-VIS Shimadzu (Nhật Bản).

2.2. Quy trình chiết xuất

Lá trầu không tươi được rửa sạch để loại bỏ bụi bẩn và được làm khô trong tủ sấy. Sau đó, nguyên liệu được nghiền nhỏ thành bột mịn. Nguyên liệu dạng bột được chiết xuất bởi hệ thống chiết Soxhlet với các dung môi khác nhau gồm nước và ethanol 96%, 80%, 60% và 40%. Quá trình chiết được thực hiện với 20g nguyên liệu, 400 mL dung môi và tiến hành thực hiện trong 8 giờ. Dịch chiết được tiến hành lọc, cô quay chân không thu hồi cao chiết và tiến hành các phân tích tiếp theo. Để kiểm tra độ tái lập của thử nghiệm, mỗi thử nghiệm được thực hiện ba lần và các giá trị trung bình đã được báo cáo.

2.3. Xác định hàm lượng polyphenol (TPC)

Xác định hàm lượng polyphenol trong mẫu cao chiết thu được thực hiện bằng phương pháp Folin-Ciocalteu [6]. Ngắn gọn, 0,6 mL dịch mẫu đã được pha loãng phản ứng với 1,5 mL thuốc thử Folin (pha loãng 10 lần) ủ trong bóng tối 10 phút. 1,2 mL Na_2CO_3 được thêm vào, hỗn hợp phản ứng được ủ 60 phút trong bóng tối. Dùng UV-Vis để đo độ hấp thụ với $\lambda = 765 \text{ nm}$. Hàm lượng TPC được tính toán dựa vào đường chuẩn gallic acid và được biểu diễn bằng đơn vị mg đương lượng gallic acid/g chất khô (mg GAE/g DW). Ảnh hưởng của các loại dung môi chiết xuất đến hàm lượng polyphenol tổng được khảo sát.

2.4. Xác định hàm lượng Flavonoid (TFC)

Hàm lượng flavonoid (FC) được kiểm tra bằng phương pháp so màu nhôm trichloride (AlCl_3) như Sassa-deepaeng và cộng sự được mô tả trước đây [7]. Hàm lượng Flavonoid được xác định bằng cách lấy 0,5 mL cao chiết đã pha loãng với 0,15 mL NaNO_2 5% ủ trong 6 phút ở nhiệt độ môi trường. Tiếp theo thêm 0,3 mL $\text{AlCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 10% vào, ủ 5

phút ở nhiệt độ môi trường. Cuối cùng thêm 1 mL NaOH 4% và 2 mL nước cất, đo độ hấp thụ ở 510 nm. Việc định lượng flavonoid được thực hiện ba lần và lấy trung bình. Dùng Quercetin để tạo đường chuẩn ($R^2 = 0.99$) (thử nồng độ khác nhau để tạo đường chuẩn phù hợp). Flavonoid được biểu thị bằng mg đường lượng quercetin /g chất khô (mg QE/g DW).

2.5. Xác định hoạt tính khử gốc tự do DPPH

Hoạt tính khử gốc tự do DPPH được mô tả bởi Brand-Williams và cộng sự (1995) với một số sửa đổi [8]. 0,024 g DPPH được hòa tan trong 100 mL methanol và bảo quản 4°C trong 24 h. Hiệu chỉnh bằng methanol về độ hấp thụ $1,10 \pm 0,02$ ở bước sóng 515 nm. Để xác định hoạt tính khử gốc tự do DPPH, lấy 0,15 mL cao đã pha loãng phản ứng với 2,85 mL DPPH 30 phút trong bóng tối, đo độ hấp thụ ở 515 nm. Công thức tính % ức chế = $[(Ac-As) / Ac] \times 100$. Trong đó, Ac là độ hấp thụ của đối chứng, As là độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng. Hoạt tính chống oxy hóa DPPH được tính toán dựa vào đường chuẩn acid ascorbic - % ức chế và đơn vị là mg đường lượng acid ascorbic/g chất khô (mg AAE/g DW).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của dung môi chiết xuất đến hàm lượng phenolic tổng

Một trong những yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất lá trầu không là dung môi chiết xuất. Trong nghiên cứu này, các loại dung môi chiết có độ phân cực khác nhau bao gồm nước và dung môi ethanol với các nồng độ khác nhau: 96%, 80%, 60% và 40% đã được sử dụng. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của của dung môi chiết lên hàm lượng polyphenol tổng được thể hiện trên Hình 1.

Hình 1 biểu diễn ảnh hưởng của dung môi chiết xuất đến hàm lượng phenolic tổng. Hàm lượng phenolic tổng của cao chiết lá trầu không với dung môi khác nhau được khảo sát có giá trị thay đổi từ

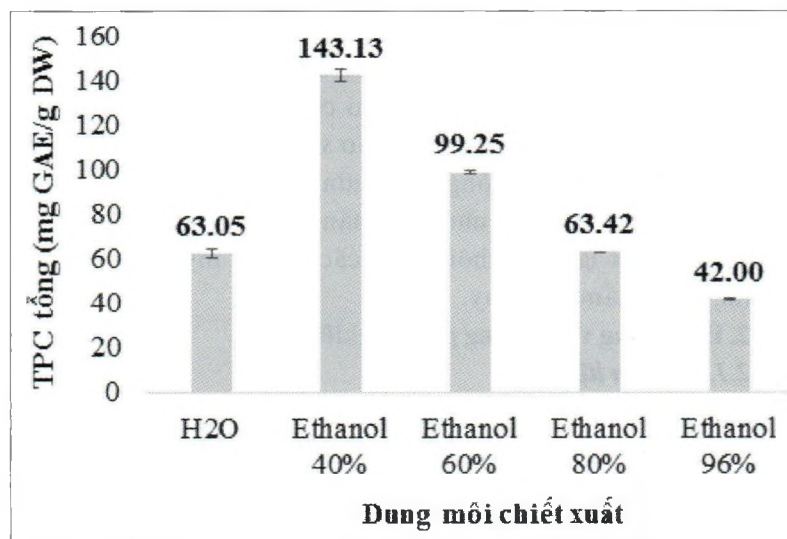
41,98 mg GAE/g DW đến 143,13 mg GAE/g DW và được sắp xếp theo thứ tự tăng dần như sau: ethanol 96% (41,98 mg GAE/g DW) < H₂O (63,05 mg GAE/g DW) < ethanol 80% (63,42 mg GAE/g DW) < ethanol 60% (99,25 mg GAE/g DW) < ethanol 40% (143,13 mg GAE/g DW). Trong đó, mẫu ethanol 40% là có hàm lượng phenolic tổng cao nhất, gấp 1,4 lần mẫu ethanol 60% và 3,4 lần mẫu thấp nhất là ethanol 96% trong các khảo sát trên. Điều này được giải thích bởi hàm lượng polyphenol của cao chiết phụ thuộc vào độ phân cực của dung môi chiết xuất. Polyphenol trong cao chiết lá trầu không có chứa nhiều nhóm hydroxyl linh động, độ phân cực của chúng gần xấp xỉ độ phân cực của ethanol ở nồng độ ethanol 40% nên chúng hòa tan tốt hơn so với các mẫu chiết khác [9].

3.2. Ảnh hưởng của dung môi chiết xuất đến hàm lượng Flavonoid (TFC)

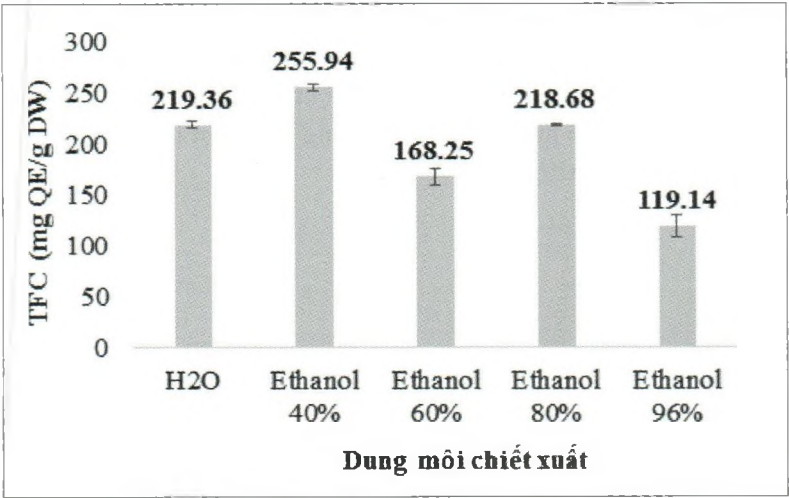
Ảnh hưởng của dung môi chiết xuất đến hàm lượng flavonoid tổng (TFC) của cao chiết lá trầu không được thể hiện ở Hình 2 được xác định từ đường chuẩn quercetin.

Hình 2 cho thấy ảnh hưởng của dung môi chiết xuất đến hàm lượng flavonoid. Hàm lượng flavonoid của cao chiết lá trầu không với các dung môi khác nhau được khảo sát có giá trị thay đổi từ 119,14 mg QE/g DW đến 255,94 mg QE/g DW và

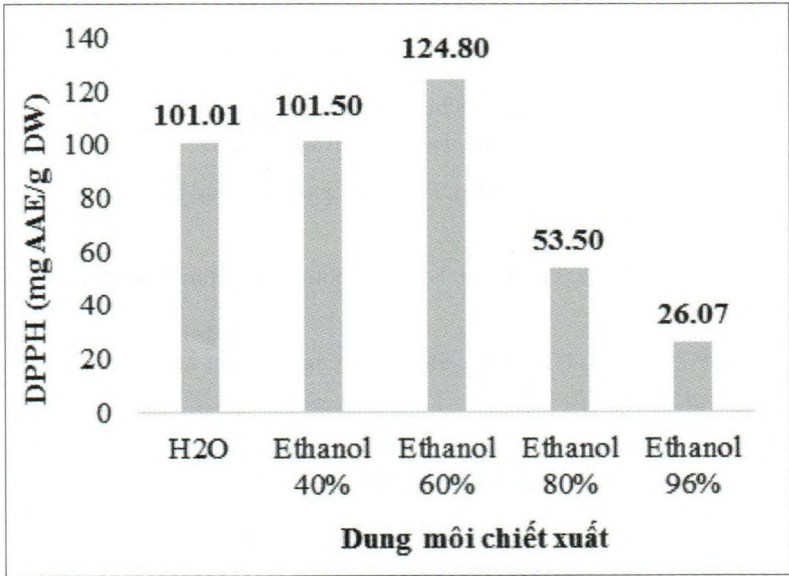
Hình 1: Hàm lượng polyphenol của cao chiết lá trầu không



Hình 2: Hàm lượng flavonoid của cao chiết lá trầu không



Hình 3: Hoạt tính khử gốc tự do DPPH



được sắp xếp theo thứ tự tăng dần như sau: ethanol 96% (119,14 mg QE/g DW) < ethanol 60% (168,25 mg QE/g DW) < ethanol 80% (218,68 mg QE/g DW) < H₂O (219,36 mg QE/g DW) < ethanol 40% (255,94 mg QE/g DW). Trong đó, mẫu cao chiết ethanol 40% là có hàm lượng flavonoid cao nhất, gấp 1,17 lần so với mẫu H₂O và gấp 2,15 lần so với mẫu thấp nhất là ethanol 96%. Cũng giống như hàm lượng phenolic, hàm lượng flavonoid cũng bị ảnh hưởng bởi độ phân cực của dung môi. Nồng độ dung môi có độ phân cực tương đương với hợp chất chiết sẽ hòa tan chất

đó tốt hơn [10]. Chính vì vậy, trong nghiên cứu này cao chiết có nồng độ ethanol 40% là phù hợp nhất để thu hồi các hợp chất phenolic và flavonoid trong cao chiết lá trầu không.

3.3. Ảnh hưởng của dung môi chiết xuất đến hoạt tính chống oxy hóa

Ảnh hưởng của dung môi chiết đến khả năng chống oxy hóa được nghiên cứu dựa trên tổng năng lực khử và khả năng bắt gốc tự do DPPH được trình bày ở Hình 3.

Kết quả Hình 3 cho thấy hoạt tính chống oxy hóa dựa vào khả năng khử gốc tự do DPPH của các dịch chiết với dung môi nước và ethanol ở các nồng độ khác nhau có giá trị thay đổi từ 26,07 đến 124,8 mg AAE/g DW và sắp xếp theo thứ tự tăng dần như sau: Ethanol 96% (26,07 mg AAE/g DW) < Ethanol 80% (53,5 mg AAE/g DW) < nước (101,01 mg AAE/g DW) < Ethanol 40% (101,05 mg AAE/g DW) < Ethanol 60% (124,80 mg AAE/g DW). Ta thấy được rằng, hoạt tính kháng oxy hóa của ethanol 96% là thấp nhất và dịch chiết ethanol 60% có hoạt tính chống

oxy hóa cao nhất. Khả năng chống oxy hóa của cao chiết lá trầu không dựa trên sự có mặt của các hợp chất phenolic và flavonoid và sự tương tác của các hoạt chất khác có trong cao chiết. Xu hướng này cũng được quan sát trong một số nghiên cứu trước đó [4,9]. Trong nghiên cứu này, dịch chiết lá trầu không với dung môi ethanol 60% cho thấy khả năng kháng oxy hóa tốt nhất.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, quá trình chiết xuất cao chiết lá trầu không (*Piper betle* L.) từ các dung môi nước và ethanol ở các nồng độ khác

nhau đã được thực hiện, từ đó xác định được ảnh hưởng của dung môi chiết xuất đến hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa dựa vào khả năng khử gốc tự do DPPH của cao chiết. Kết quả cho thấy, hàm lượng phenolic và flavonoid tổng đạt cao nhất khi sử dụng dung

môi chiết là ethanol 40%. Đối với khả năng chống oxy hóa dựa vào khả năng khử gốc tự do DPPH, dịch chiết lá trầu không khi sử dụng môi ethanol 60% cho thấy khả năng kháng oxy hóa cao nhất so với các dung môi còn lại (124,80 mg AAE/g DW) ■

Lời cảm ơn:

Cảm ơn Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam đã hỗ trợ về thời gian và cơ sở vật chất cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Chung, P. V., Lư, N. H., Nhung, P. T. N., Trang, N. T. H., Hiên, H. M., Tuấn, Đ. H., & Hùng, T. V. (2022). Tình hình chất lượng một số thực phẩm bảo vệ sức khỏe chứa được liệu được kiểm nghiệm tại Thành phố Hồ Chí Minh giai đoạn 2015-2021. *Vietnam Journal of Food Control-vol*, 5(2), 516.
2. Rekha, V. P. B., Kollipara, M., Gupta, B. R. S. S., Bharath, Y., & Pulicherla, K. K. (2014). A review on Piper betle L.: natures promising medicinal reservoir. *American Journal of Ethnomedicine*, 1(5), 276-289.
3. Saini, S. A. P. N. A., Dhiman, A. N. J. U., & Nanda, S. A. N. J. U. (2016). Pharmacognostical and phytochemical studies of Piper betle Linn. leaf. *Int J Pharm Pharm Sci*, 8(5), 222-6.
4. Arambewela, L., Arawawala, M., & Rajapaksa, D. (2006). Piper betle: a potential natural antioxidant. *International journal of food science & technology*, 41, 10-14.
5. Bhuvaneswari, S., Sripriya, N., Deepa, S., & Prakash, N. U. (2014). Studies on antioxidant activities of six cultivars of Piper betle linn. *Int. J. Pharm. Pharmaceut. Sci*, 6, 270-273.
6. M Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature protocols*, 2(4), 875-877.
7. Yodthong, W., Nuanmanee, S., Wanachantararak, P., Khumpirapang, N., & Sassa-deepaeng, T. (2020). The extraction of estrogen-like compounds from Pueraria mirifica, the properties characterization and the preparation of nucleated nanoparticles. *Journal of Science and Agricultural Technology*, 1(2), 7-13.
8. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
9. Jaiswal, S. G., Patel, M., Saxena, D. K., & Naik, S. N. (2014). Antioxidant properties of Piper betel (L) leaf extracts from six different geographical domain of India. *J Bioresour Eng Technol*, 1, 18-26.
10. Nguyen, L. T. T., Nguyen, T. T., Nguyen, H. N., & Bui, Q. T. P. (2020). Simultaneous determination of active compounds in *Piper betle* Linn. leaf extract and effect of extracting solvents on bioactivity. *Engineering Reports*, 2(10), e12246.

Ngày nhận bài: 4/1/2023

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 4/2/2023

Ngày chấp nhận đăng bài: 15/2/2023

Thông tin tác giả:

ThS. ĐỖ ĐÌNH NHẬT

Khoa Kỹ thuật Thực phẩm và Môi trường

Đại học Nguyễn Tất Thành

**IMPACTS OF EXTRACTING SOLVENTS
ON THE POLYPHENOL AND FLAVONOIDS CONTENTS,
AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BETEL LEAF EXTRACT
(*PIPER BETLE* L.)**

● MSc. DO DINH NHAT

Faculty of Environmental and Food Engineering

Nguyen Tat Thanh University

ABSTRACT:

This study explores the impacts of extraction solvents (water and ethanol 96%, 80%, 60% and 40%) on the polyphenol content, flavonoids, and antioxidant activity based on free radical scavenging capacity DPPH of betel leaf extract (*Piper betle* L.) which is recovered by the soxhlet extraction method. The study finds out that the extract's total phenolic content is highest when 40% ethanol (143.126 mg GAE/g DW) is used. Meanwhile, the extract's flavonoid content reaches the highest value when 40% ethanol solvent (255.94 mg QE/g DW) is used. The extract has the highest antioxidant capacity when 60% ethanol solvent is used. These results show great potential for the use of betel leaf extract in the cosmetic, food processing and medical industries.

Keywords: solvent, antioxidant, betel leaf extract, betel leaf.