

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN CHIẾT XUẤT MỘT SỐ HỢP CHẤT CÓ TRONG CÂY MỘC LAM TỬ THU HÁI TẠI TỈNH NINH BÌNH BẰNG PHƯƠNG PHÁP HỖ TRỢ VI SÓNG

STUDY ON CHEMICAL COMPONENTS OF THE *FICUS PUMILA* L. COLLECTED IN NINH BINH PROVINCE BY MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION

Vũ Thị Phương¹, Nguyễn Thị Thanh Mai^{1*}

DOI: <https://doi.org/10.57001/huih5804.2023.094>

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này bằng phương pháp sắc ký cột và chiết xuất hỗ trợ vi sóng đã phân lập được hợp chất: Naringenin. Ngoài ra, đã tối ưu được quy trình tạo cao chiết từ mộc lam tử bằng phương pháp chiết xuất có hỗ trợ vi sóng, với các điều kiện chiết xuất được tối ưu: tỉ lệ nguyên liệu/ dung môi chiết là 1/25 g/mL; thời gian chiết trong vòng 4 phút và ở mức năng lượng vi sóng 450W. Hiệu suất tạo cao chiết bằng phương pháp có hỗ trợ vi sóng lớn hơn so với phương pháp ngâm chiết thông thường, lần lượt là 2,2744% và 1,4494%. Bên cạnh đó, hợp chất Naringenin được phân lập và chứng minh sự có mặt trong mộc lam tử, đây là một hợp chất có nhiều hoạt tính sinh học tốt. Từ đó, đã bào chế thành công trà hòa tan từ mộc lam tử giúp giảm căng thẳng, mệt mỏi, thư giãn, giúp hỗ trợ điều trị các bệnh lý về xương khớp. Qua đó, nghiên cứu tạo tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm ứng dụng và bào chế các sản phẩm dựa trên hoạt tính của Naringenin và *Ficus pumila* L. cho ngành y tế.

Từ khóa: Mộc lam tử, chiết xuất hỗ trợ vi sóng, Naringenin, trà hòa tan.

ABSTRACT

From the extraction process of *Ficus pumila* L. collected in Ninh Binh province. By column chromatography and microwave-assisted extraction, the structure of the compound: Naringenin (FPE2) has been isolated and determined. In addition, the procedure for isolating Naringenin compound isolated from the extract generated by microwave assisted method was optimized with a solid/liquid ratio of 1/25 g/mL, extraction time of 4 min and at microwave power 450W. After optimizing the extraction process by microwave assisted extraction, the extraction efficiency is higher than that of the conventional extraction method, the microwave assisted extraction efficiency and the extraction efficiency from conventional extraction was 2.2744%. and 1.4494%. Besides, soluble tea have been successfully prepared from *Ficus pumila* L. has been used to reduce stress, relax, clear heat, detoxify and help relieve joint pain. Thereby, study creates a premise for further studies, aiming at the application and preparation of products based on the activities of Naringenin and *Ficus pumila* L. for the medical industry.

Keywords: *Ficus pumila* L., microwave-assisted extraction, Naringenin, soluble tea.

¹Khoa Công nghệ hóa học, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

*Email: mainguyen65hb@gmail.com

Ngày nhận bài: 28/12/2022

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 17/02/2023

Ngày chấp nhận đăng: 26/4/2023

1. MỞ ĐẦU

Mộc lam tử hay còn gọi là *Ficus pumila* L., là loài cây thuộc họ Dâu tằm (*Moraceae*), dạng cây dây leo nhỏ, mọc bám nhờ rễ phụ, cành ngắn và mềm, ưa sáng, sinh trưởng mạnh trong mùa mưa ẩm [1,2]. Mộc lam tử có nguồn gốc từ Nhật Bản, Trung Quốc, phân bố tự nhiên từ Trung Quốc đến Việt Nam, Lào; cây còn phân bố khắp vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới Châu Á. Ở Việt Nam cây phân bố gần như ở khắp nơi, trừ vùng núi cao trên 1500m. Trong vỏ quả có chứa 13% chất gôm, khi thủy phân chất này cho glucose, fructose và arabinose [2]. Ngoài ra, 3 hợp chất pumilaside A, B và C cũng đã được phát hiện trong mộc lam tử với khả năng chống oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn [3].

Naringenin là thành phần đã được chứng minh có trong mộc lam tử [4], nó có hoạt tính chống oxy hóa, kháng viêm và chống ung thư. Đặc biệt, Naringenin có khả năng ức chế bạch cầu, tăng cường khả năng chống oxy hóa bằng cách kích hoạt Nrf2 gây ra biểu hiện HO-1 và ngăn chặn sự hoạt hóa của NF-κB trong đại thực bào - nguyên nhân sản sinh các cytokine tiền viêm như IL-33, TNF-α, IL-1β và IL-6 [5].

Phương pháp chiết xuất có hỗ trợ vi sóng là một phương pháp tốt để chiết xuất các hợp chất thuộc nhóm flavonoid. Với những ưu điểm như hiệu suất chiết xuất cao, thời gian chiết ngắn, an toàn, thân thiện với môi trường, phương pháp này đang ngày càng trở nên phổ biến và được sử dụng rộng rãi trong việc chiết xuất và trích ly các hợp chất hữu cơ, đặc biệt là các hợp chất có nguồn gốc từ tự nhiên [6].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu điều kiện chiết xuất một số hợp chất có trong mộc lam tử bằng phương pháp có hỗ trợ vi sóng. Đồng thời tiến hành phân lập và bào chế trà hòa tan từ mộc lam tử. Cấu trúc các hợp chất được xác định thông qua dữ liệu phổ NMR.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, thiết bị

Hóa chất: Ethanol (EtOH), *n*-hexane, ethyl acetate (EtOAc), methanol (MeOH), độ tinh khiết 99%, Sigma Aldrich. Bản mỏng TLC Silica gel 60 F₂₅₄, Merck.

Thiết bị: Phổ NMR được đo trong dung môi DMSO trên máy Bruker Avance (Brucker, Berlin, Đức) tại các tần số 600 và 150MHz tại viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Chuẩn bị nguyên liệu

Mộc lam tử được thu hái vào tháng 5 năm 2022 tại tỉnh Ninh Bình. Sau khi thu hái, mẫu được chuyển vào một buồng kín của tủ sấy chân không ở 40°C, 10mbar, và sấy khô cho đến khi độ ẩm dưới 10%. Sau đó, mẫu được chuyển qua nghiền nhỏ bằng thiết bị nghiền búa với sàng 60 mesh và được lưu trữ trong hộp kín để tránh hiện tượng ẩm trong quá trình nghiên cứu.

2.3. Tạo cao chiết

500 (g) mẫu được chiết sử dụng lò vi sóng gia dụng (Whirpool Oven, công suất 140, 280, 450, 650, 800W) với dung môi ethanol 70° tại 50 °C với tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết (1/10; 1/20; 1/25; 1/40; 1/50 g/mL) và thời gian chiết xuất (2, 3, 4, 5, 6 phút). Phần dịch chiết được lọc và cất thu hồi dung môi dưới áp suất thấp thu được 13(g) tổng flavonoid. Lần lượt chiết phân bố với n-hexan và EtOAc thu được cao n-hexan (1,251g) và cao EtOAc (11,372g) ký hiệu là **MLT1**.

500 (g) mẫu được ngâm chiết với ethanol 70° ở nhiệt độ thường trong 24h, tiến hành ngâm chiết 3 lần, gộp chung các dịch chiết, cô cạn dung môi dưới áp suất giảm thu được cặn chiết EtOH. Lần lượt chiết phân bố với n-hexan và EtOAc thu được cao n-hexan (2,765g), cao EtOAc (7,247g) ký hiệu **MLT2** và cao nước (14,231g).

2.4. Quá trình chiết xuất, kết tinh và thu hồi Naringenin

MLT1 tiến hành chạy sắc ký cột silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi với độ phân cực tăng dần từ n-hexan đến MeOH thu được 8 phân đoạn (FPA1-FPA8). Phân đoạn FPA4 (6,42g) được phân tích trên cột sắc ký silicagel rửa giải bằng phương pháp gradient tăng dần từ CH₂Cl₂ đến MeOH/ H₂O (1:1) thu được 4 phân đoạn ký hiệu là FPA4.1 đến FPA4.4. Phân đoạn FPA4.2 (4,14g) đưa lên cột slicagel, rửa giải với hệ dung môi CH₂Cl₂/MeOH với tỉ lệ 98:2 đến 9:1 thu được 3 phân đoạn (FPA4.2.1 đến FPA4.2.3). Phân đoạn FPA4.2.2 (2,56g) được kết tinh lại, rửa bằng dung môi methanol và acetone thu được tinh thể dạng hạt mịn, màu trắng ký hiệu là **Fpa**.

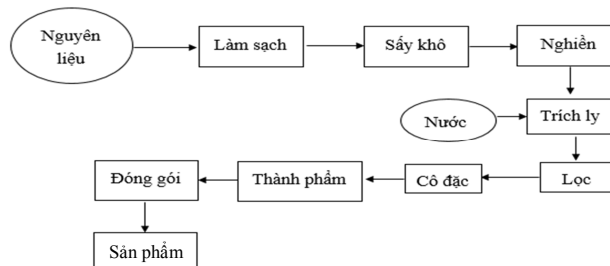
MLT2 được đưa lên sắc ký cột silica gel, rửa giải bằng hệ dung môi với độ phân cực tăng dần từ n-hexan đến EtOAc, MeOH thu được 8 phân đoạn (FPE1-FPE8). Phân đoạn FPE4 (1,05g) được đưa lên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải tăng dần (CH₂Cl₂-MeOH, 10/1 - 0/1, v/v) thu được 4 phân đoạn (FPE4.1 đến FPE4.4). Phân đoạn FPE4.2 (0,98g) đưa lên cột silicagel, rửa giải với hệ dung môi CH₂Cl₂/MeOH với tỉ lệ 98:2 đến 9:1 thu được 3 phân đoạn (FPE4.2.1 đến FPE4.2.3). Phân đoạn 4.2.2 (123,6mg) kết tinh lại, rửa bằng dung môi methanol và acetone thu được tinh thể dạng hạt mịn, màu trắng ký hiệu **FPE2**.

Tiến hành chấm so sánh sắc ký lớp mỏng của hai hợp chất FPA và FPE2 trong hệ dung môi CH₂Cl₂-MeOH 95:5 thu

được cùng khoảng R_f/100 = 58. Cấu trúc của hợp chất FPE2 được xác định bằng các dữ liệu phổ NMR.

2.5. Bào chế trà hòa tan

Mộc lam tử sau khi sấy thăng hoa được nghiền nhỏ với kích thước 60 mesh, được tiến hành trích ly với nước trong khoảng 4 - 5 giờ, sau đó tiến hành lọc dịch trích ly đây là quá trình cần thiết để loại cặn không tan trong nước còn sót lại khi lọc dịch chiết, tránh hiện tượng tách lớp khi pha trà. Dịch chiết được đem đi cô đặc dưới áp suất giảm ở nhiệt độ 50 - 60°C, với áp suất 0,6atm thu được thành phẩm. Tiến hành đóng gói và bảo quản thành phẩm.



Sơ đồ 1. Sơ đồ bào chế trà hòa tan

2.6. Chỉ tiêu đánh giá trà hòa tan từ mộc lam tử

- Tính chất cảm quan: Hình thức cảm quan của sản phẩm được đánh giá thông qua vị giác và thị giác.
- Độ ẩm, độ tro: Chỉ tiêu đạt yêu cầu về TCVN 9739:2013 ISO 6079:1990
- Hàm lượng kim loại nặng
- Các chỉ tiêu vi sinh:
 - + Xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí theo TCVN 4884-1:2015.
 - + Xác định vi khuẩn *E. coli* theo TCVN 7924-2:2008.
 - + Xác định vi khuẩn Coliform theo TCVN 6848:2007.
 - + Xác định tổng số bào tử nấm men, nấm mốc theo TCVN 8275-2:2010.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Tối ưu quy trình chiết xuất bằng phương pháp có hỗ trợ vi sóng

3.1.1. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi đến việc chiết xuất tổng flavonoid

Bảng 1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu

Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (g/mL)	KL nguyên liệu (g)	Thể tích dung môi chiết L ₁ ; L ₂ ; L ₃ (mL)	Thể tích dịch chiết L ₁ ; L ₂ ; L ₃ (mL)	Tổng flavonoid (g)	Hiệu suất chiết (%)
1/10	20	200; 150; 75	150; 140; 140	0,468	2,34
1/20	20	400; 300; 280	340; 290; 280	0,484	2,42
1/25	20	500; 460; 455	560; 460; 440	0,512	2,56
1/30	20	600; 525; 560	530; 525; 540	0,518	2,59
1/40	20	800; 750; 760	725; 745; 760	0,520	2,60

Ghi chú: - L₁(lần chiết thứ nhất); L₂(lần chiết thứ hai); L₃(lần chiết thứ ba);

Quá trình chiết xuất được thực hiện với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (g/mL) từ 1/10 đến 1/20, quá trình chiết xuất không triệt để dẫn đến hiệu suất thu hồi thấp. Bên cạnh đó, với quá trình trích ly sử dụng lượng dung môi chiết lớn hơn, cụ thể với tỷ lệ 1/25 - 1/40 thì hiệu suất thu hồi chênh lệch không đáng kể. Pan và cộng sự đã chỉ ra tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lớn đòi hỏi sử dụng nhiều dung môi và năng lượng vì sóng lớn hơn [7]. Do đó, quá trình kết tinh và thu hồi hợp chất FPE2 đạt hiệu quả tối ưu khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đạt 1/25 (g/mL).

3.1.2. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất của quá trình chiết xuất tổng flavonoid

Bảng 2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian

Thời gian chiết (phút)	KL nguyên liệu (g)	Thể tích dung môi chiết (mL)	Tổng flavonoid thô (g)	Hiệu suất chiết (%)
2	20	500	0,478	2,39
3	20	500	0,486	2,43
4	20	500	0,514	2,57
5	20	500	0,510	2,55
6	20	500	0,498	2,49

Ghi chú: Quá trình khảo sát này chỉ chiết 1 lần

Hiệu suất thu hồi flavonoid sau quá trình chiết xuất được thể hiện trong bảng 2. Kết quả chỉ ra rằng, khi chiết xuất bằng cồn 70°, quá trình chiết xuất đạt hiệu suất tối đa trong thời gian chiết là 4 phút. Với quá trình chiết xuất thực hiện ở thời gian ngắn hơn (2 - 3 phút), màu dịch chiết sáng hơn, tuy nhiên hiệu suất thu được thấp. Khi tăng thời gian của quá trình chiết lên 5 - 6 phút, dịch chiết thu được chứa nhiều tạp chất và cặn, phần dịch chiết đặc chứa nhiều đường gây ảnh hưởng đến quá trình chưng cất thu hồi dung môi và tinh chế sản phẩm dẫn đến hiệu suất thu hồi thấp, do hợp chất bị phân hủy bởi nhiệt [8], dẫn đến quá trình chiết và hiệu suất thu hồi thấp [9].

3.1.3. Ảnh hưởng của năng lượng vi sóng đến hiệu suất quá trình chiết xuất tổng flavonoid

Bảng 3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng năng lượng vi sóng đến hiệu suất của quá trình chiết

Năng lượng vi sóng (W)	KL nguyên liệu (g)	Thể tích dung môi chiết	Thể tích dịch chiết	Tổng flavonoid thô (g)	Hiệu suất chiết (%)
140	20	500	450	0,476	2,38
280	20	500	465	0,482	2,41
450	20	500	465	0,516	2,58
600	20	500	450	0,508	2,54
800	20	500	435	0,494	2,47

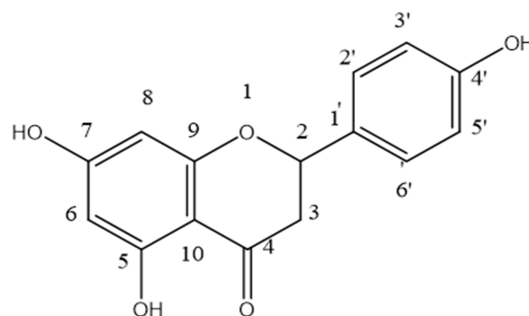
Ghi chú: Quá trình khảo sát này chỉ chiết 1 lần

Hiệu suất thu hồi flavonoid tổng ở các mức năng lượng vi sóng khác nhau được thể hiện trong bảng 3. Kết quả cho thấy, khi sử dụng mức vi sóng 450W cho hiệu suất phân lập

lớn nhất chiếm 2,58%. Ở các mức năng lượng thấp hơn 140W - 280W, hiệu suất thu hồi lần lượt là 2,38% và 2,41% do quá trình chiết xuất và phân lập diễn ra không triệt để. Trong khi đó ở mức năng lượng lớn là 600W và 800W cho hiệu suất thu hồi đạt 2,54% và 2,47% do quá trình thu hồi dịch chiết có nhiều cặn đen, hợp chất bị phân hủy dẫn đến hiệu suất chiết không cao. Khi sử dụng mức vi sóng 450W thì hiệu suất thu hồi flavonoid tổng là lớn nhất (2,58%). Một nghiên cứu đã cho thấy khi tăng năng lượng vi sóng từ 200 lên 1000W hiệu quả trích ly và thu hồi sản phẩm tăng [10]. Tuy nhiên, mức năng lượng vi sóng cao có thể làm hỏng sản phẩm hoặc phân hủy các hợp chất có trong mẫu, ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi [11].

3.2. Hợp chất FPE2 được phân lập bằng phương pháp sắc ký cột

Hợp chất **FPE2** được phân lập thu được hợp chất có màu trắng, có nhiệt độ nóng chảy ở 166 - 171°C. Cấu trúc của hợp chất **FPE2** được xác định thông qua phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR, từ đó khẳng định hợp chất **FPE2** là Naringenin, dữ liệu phổ hoàn toàn phù hợp với dữ liệu phổ của hợp chất này đã được công bố trước đây bởi Lane G. A [12].



Hình 1. Cấu trúc hợp chất FPE2

Hợp chất FPE2: ¹H-NMR (600Hz, DMSO): δ_H 12,14 (7-OH, s); 10,754 (5-OH, s); 9,560 (4'-OH, s); δ_H 7,32 (2H, d, H-2', H-6', J = 8,4Hz); 6,802 (2H, d, H-3', H-5', J = 8,4Hz); δ_H 5,883 (1H, s, H-8), 5,448 (1H, d, H-6, J = 15,6Hz); 3,34 (1H, s, H-2); 2,701 (1H, d, J = 19,8Hz, H_a-3), 3,277 (1H, d, J = 29,4Hz, H_b-3).

Phổ ¹H NMR xuất hiện tín hiệu 3 nhóm hydroxyl tại δ_H 12,14 (7-OH, s); 10,754 (5-OH, s); 9,560 (4'-OH, s) và một hệ vòng thơm kiểu A₂B₂ được xác định bởi hai tín hiệu có cường độ peak mạnh gấp đôi tại δ_H 7,32 (2H, d, H-2', H-6', J = 8,4Hz); 6,802 (2H, d, H-3', H-5', J = 8,4Hz), hai proton thể dạng meta tại δ_H 5,883 (1H, s, H-8), 5,448 (1H, d, H-6, J = 15,6Hz) và tín hiệu của một nhóm metin tại δ_H 3,34 (1H, s, H-2) và một nhóm metylen tại δ_H 2,701 (1H, d, J = 19,8Hz, H_a-3), 3,277 (1H, d, J = 29,4Hz, H_b-3).

Khối lượng cao chiết EtOAc được tạo bằng phương pháp hỗ trợ vi sóng có khối lượng 11,372g/500 (g) mẫu mộc lam tử, hiệu suất tạo cao chiết đạt kết quả cao 2,2744%. Trong khi đó, khối lượng cao chiết EtOAc được tạo bằng phương pháp ngâm chiết thông thường chỉ đạt 7,247g/500(g) mẫu mộc lam tử (hiệu suất tạo cao chiết đạt khoảng 1,4494%). Bên cạnh đó trong quá trình kết tinh, hợp chất FPE2 được phân lập từ cao tạo bằng phương pháp

chiết xuất hỗ trợ vi sóng chất thu được tinh khiết hơn so với tạo cao bằng phương pháp ngâm chiết thông thường.

3.3. Kết quả bào chế trà hòa tan

Hiện nay, các bệnh lý về phong thấp, đau nhức xương khớp ngày càng phổ biến khiến cơ thể cảm giác mệt mỏi. Theo đông y, mộc lam tử là một loại thảo dược có vị ngọt, tính bình với nhiều tác dụng: làm thuốc bổ, chữa di tinh, chữa viêm khớp xương, nhức mỏi chân tay. Ngoài ra còn có tác dụng bổ khí huyết, thanh nhiệt và giải khát để giúp giải tỏa căng thẳng, an thần, cải thiện tình trạng lão hóa và bồi bổ cơ thể, nâng cao sức đề kháng [1, 2]. Theo nghiên cứu của nhóm tác giả đã chỉ ra rằng, uống trà mộc lam tử làm giảm rõ rệt chỉ số BMI, sBP, dBP, TC, LDL-C, γ -GTP, UA, TG, HDL-C và TG/HDL trong huyết thanh và tăng nồng độ HDL-C trong huyết thanh với khả năng chống oxy hóa của chất chiết xuất mộc lam tử đã góp phần quan trọng trong sự phát triển của huyết áp, chuyển hóa chất béo và bệnh gút, tác dụng của mộc lam tử đối với hội chứng chuyển hóa phụ thuộc rất nhiều vào mức độ tăng huyết áp, tăng lipid máu và tăng axit uric máu xảy ra với bệnh lối sống [13]. Bên cạnh đó hợp chất phân lập được là Naringenin có khả năng ức chế bạch cầu, tăng cường khả năng chống oxy hóa, kháng viêm [5] và được sử dụng để điều trị bệnh loãng xương, ung thư và các bệnh tim mạch, đồng thời cho thấy các đặc tính hạ lipid và giống như insulin [14]. Do đó trà hòa tan bào chế từ mộc lam tử giúp giảm stress, thư thái, thanh nhiệt, giải độc và hỗ trợ giảm đau nhức xương khớp

Các chỉ tiêu đánh giá trà hòa tan được đánh giá và trình bày như sau:

Độ ẩm, độ tro

Bảng 4. Kết quả độ ẩm và độ tro của sản phẩm trà hòa tan

Chỉ tiêu	Lần đo			Trung bình	SD (%)	RSD (%)	TCVN 9739:2013
	1	2	3				
Độ ẩm (%)	3,35	3,45	3,51	3,44	0,08	2,32	≤6,0
Độ tro (%)	10,49	10,56	10,50	10,52	0,04	0,38	≤20,0

Kết quả khảo sát cho thấy, mẫu trà có độ ẩm 3,44% và độ tro khoảng 10,52%, đạt yêu cầu về TCVN 9739:2013 ISO 6079:1990 đối với trà hòa tan.

Hàm lượng kim loại nặng

Bảng 5. Kết quả xác định hàm lượng kim loại nặng

STT	Tên kim loại nặng	Đơn vị tính	Kết quả
1	Cadimi (Cd)	$\mu\text{g}/\text{kg}$	Không phát hiện
2	Chì (Pb)	$\mu\text{g}/\text{kg}$	Không phát hiện
3	Thủy ngân (Hg)	$\mu\text{g}/\text{kg}$	Không phát hiện

Kết quả xác định hàm lượng kim loại nặng cho thấy các chỉ tiêu kim loại nặng nằm trong sự cho phép sử dụng, an toàn, không ảnh hưởng đến sức khỏe con người của dạng chè hòa tan trong Quyết định số 11776-15/2017/QĐ-BYT của Bộ Y tế.

Chỉ tiêu vi sinh vật

Bảng 6. Kết quả đánh giá chỉ tiêu vi sinh vật trong sản phẩm trà hòa tan

STT	Chỉ tiêu thử nghiệm	Phương pháp phân tích	Kết quả	Đơn vị tính
1	Tổng số vi sinh vật hiếu khí	TCVN 4884-1:2015	Không phát hiện (LOD=10)	CFU/g
2	<i>E. coli</i>	TCVN 7924-2:2008	Không phát hiện (LOD=10)	CFU/g
3	<i>Coliforms</i>	TCVN 6848:2007	Không phát hiện (LOD=10)	CFU/g
4	Tổng số bào tử nấm men, nấm mốc	TCVN 8275-5:2010	Không phát hiện (LOD=10)	CFU/g

Kết quả từ bảng 6 cho thấy, các chỉ tiêu vi sinh vật như tổng số vi sinh vật hiếu khí, tổng số bào tử nấm men, nấm mốc, vi khuẩn *E. coli* và *Coliforms* trong mẫu trà hòa tan không đường đều ở dưới ngưỡng phát hiện (LOD = 10) được quy định trong TCVN.

4. KẾT LUẬN

Sau khi tối ưu quá trình chiết xuất bằng phương pháp tạo cao chiết có hỗ trợ vi sóng, hiệu suất thu hồi cao hơn phương pháp tạo cao chiết thông thường. Khối lượng cao chiết EtOAc được tạo bằng phương pháp hỗ trợ vi sóng có khối lượng 11,372g/500 (g) mẫu mộc lam tử, hiệu suất tạo cao chiết đạt kết quả cao 2,2744%. Trong khi đó, khối lượng cao chiết EtOAc được tạo bằng phương pháp ngâm chiết thông thường chỉ đạt 7,247g/500(g) mẫu mộc lam tử (hiệu suất tạo cao chiết đạt khoảng 1,4494%). Sau khi tối ưu hóa quá trình thực nghiệm flavonoid, hiệu suất thu hồi flavonoid tổng từ mộc lam tử đạt khoảng 2,57%. Ngoài ra, sử dụng phương pháp phân lập có hỗ trợ vi sóng tiêu tốn ít dung môi hơn, thời gian phân lập ngắn hơn và chất thu được tinh khiết hơn so với các phương pháp truyền thống, có thể so sánh ngang bằng với các phương pháp chiết xuất khác bao gồm chiết xuất siêu tới hạn và chiết xuất áp suất cao.

Từ mẫu cây mộc lam tử được thu hái tại tỉnh Ninh Bình đã tối ưu được quá trình phân lập hợp chất Naringenin bằng phương pháp hỗ trợ vi sóng với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/25 g/mL, thời gian chiết là 4 phút và năng lượng vi sóng là 450W. Quá trình chiết bằng vi sóng thu được hiệu suất nhiều hơn so với chiết bằng phương pháp chạy sắc ký cột. Cấu trúc của hợp chất trên được xác định dựa trên dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$. Bên cạnh đây đã bào chế trà hòa tan từ mộc lam tử có công dụng giảm stress, thư thái, thanh nhiệt, giải độc và giúp hỗ trợ giảm đau nhức xương khớp. Các kết quả của nghiên cứu này tạo tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn, nhằm hướng tới mục tiêu ứng dụng và bào chế các sản phẩm dựa trên hoạt tính của Naringenin và mộc lam tử phục vụ cho ngành y dược.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Do Tat Loi, 2004. *Nhung cay thuc va vi thuc Viet Nam*. Medical Publishing House, Hanoi.

- [2]. Do Huy Bich, Dang Quang Trung, Bui Xuan Chuong, Nguyen Thuong Dong, Do Trung Dam, Pham Van Hien, Vu Ngoc Lo, Pham Duy Mai, Pham Kim Man, Doan Thi Nhu, 2006. *Cay thuoc va dong vat lam thuoc o Viet Nam - tap II*. Science and Technics Publishing House, Hanoi.
- [3]. Junichi Kitajima, Kaoru Kimizuka, Yasuko Tanak, 2000. *Three new sesquiterpenoid glucosides of Ficus pumila Furit*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin 48(1), 77-80.
- [4]. Pham Hong Cuc, 2019. *Nghien cuu so bo thanh phan hoa hoc cay trau co Ficus pumila*. Hanoi National University of Education.
- [5]. Patel, 2014. *Naringenin is a flavonoid that belongs to the flavanone family and is found principally in citrus fruits and tomatoes skin*. Elsevier B.V.
- [6]. Mandal, Y. Mohan, S. Hemalatha, 2007. *Microwave assisted extraction - an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research*. Pharmacognosy Reviews 1(1).
- [7]. Pan Xuejun, Liu Huizhou, Jia Guanghe, Shu Youn Yuen, 2000. *Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root*. Biochemical Engineering Journal, 5(3), pp.173-177.
- [8]. Hao Jin-yu, Han Wei, Huang Shun-de, Xue Bo-yong, Deng Xiu, 2002. *Microwave-assisted extraction of artemisinin from Artemisia annua L*. Separation and Purification Technology, 28, pp.191-196.
- [9]. Pan Xuejun, Niu Guoguang, Liu Huizhou, 2003. *Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves*. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 42(2), pp.129-133.
- [10]. Hu Zhuoyan, Cai Ming, Liang Han-Hua, 2008. *Desirability function approach for the optimization of microwave-assisted extraction of saikosaponins from Radix Bupleuri*. Separation and Purification Technology, 61(3), pp.266-275.
- [11]. Ma Wenyan, Lu Yanbin, Dai Xiaojing, Liu Rui, Hu Ruilin, Pan Yuanjiang, 2009. *Determination of Anti-Tumor Constitute Mollugin from Traditional Chinese Medicine Rubia cordifolia: Comparative Study of Classical and Microwave Extraction Techniques*. J Separation Science & Technology 44, pp.1006 - 1995.
- [12]. Geoffrey A. Lane, Roger H. Newman, 1986. *Isoflavones from Lupinus angustifolius root*. Phytochemistry, 26(1), pp.295-300.
- [13]. K. Suzuki, K. Gonda, Y. Kishimoto, Y. Katsumoto, S. Takenoshita, 2020. *Potential curing and beneficial effects of Ooitabi (Ficus pumila L.) on hypertension and dyslipidaemia in Okinawa*. J Hum Nutr Diet. 34(2).
- [14]. Kanika Patel, Gireesh Kumar Singh, 2014. *A Review on Pharmacological and Analytical Aspects of Naringenin*. Chin J Integr Med 24(7), pp.551-560.

AUTHORS INFORMATION

Vu Thi Phuong, Nguyen Thi Thanh Mai

Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry