KHẢO SÁT QUY TRÌNH VÀ ĐỊNH TÍNH SƠ BỘ CÁC HỢP CHẤT CHIẾT XUẤT TỪ LÁ MÓNG (*LAWSONIA INERMIS* L.)

Nguyễn Thị Linh Tuyền*, Bùi Chí Công
Trường Đại học Y Dược Cần Thơ
**Email: ntltuyen@ctump.edu.vn*

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: *Lá móng (Lawsonia inermis L.) được sử dụng để nhuộm tóc, móng tay, da và len từ hàng ngàn năm nay. Lá móng còn được dùng chữa tổn thương, chảy máu, ứ máu, phụ nữ kinh nguyệt không đều. Ngoài ra, Lá móng còn dùng ngoài chữa mụn nhọt, ghẻ lở và sâu bọ độc cắn. Với nhiều công dụng từ dược liệu trên nên việc chiết xuất cao đặc từ dược liệu là điều cần thiết.* ***Mục tiêu nghiên cứu:*** *Khảo sát quy trình chiết xuất và định tính sơ bộ nhóm hợp chất từ Lá móng.* ***Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:*** *Khảo sát ảnh hưởng dung môi chiết (nước, cồn 20%, cồn 40%), tỷ lệ dược liệu/dung môi (1:12; 1:14: 1:16), thời gian chiết (30 phút, 45 phút, 60 phút), số lần chiết (1 lần, 2 lần, 3 lần) và nhiệt độ chiết (60^{o}C, 70^{o}C, 80^{o}C) đến hiệu suất cao đặc tạo thành và định tính sơ bộ bằng các phản ứng hoá học của dịch chiết Lá móng.* ***Kết quả:*** *Đã xác định được dung môi chiết xuất là nước, tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1:12, thời gian chiết xuất là 45 phút, số lần chiết là 2 lần và nhiệt độ chiết xuất là 60^{o}C. Dịch chiết Lá móng có chứa các nhóm hợp chất như anthraquinon, triterpenoid thuỷ phân, polyphenol, flavonoid.* ***Kết luận:*** *Đã xác định quy trình chiết xuất Lá móng và xác định các nhóm hợp chất trong Lá móng.*

Từ khóa: *Lá móng, chiết xuất, cao đặc.*

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EXTRACTION PROCESS AND PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL ANALYSIS FROM HENNA LEAVES (*LAWSONIA INERMIS* L.)

Nguyen Thi Linh Tuyen*, Bui Chi Cong
Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: *Henna (Lawsonia inermis L.), also called Henna tree is a flowering plant used since antiquity to dye skin, hair, fingernails, leather, and wool for thousands of years. Henna are also used to treat injuries, bleeding, blood stasis, irregular menstrual periods. In addition, Henna are also used to treat boils, scabies and poisonous insect bites. With many uses from Henna, it is necessary to prepare solid extracts from medicinal herbs.* ***Objective:*** *To survey on the extraction process and preliminary phytochemical analysis from Henna leaves.* ***Methods:*** *Observation of the influence of extraction solvent (distilled water, 20% alcohol, 40% alcohol), the ratio of medicinal*

herbs and solvent (1:12; 1:14; 1:16), extraction time (30 min, 45 min, 60 min), the number of times of extraction (1 time, 2 times, 3 times) and extraction temperature (60°C, 70°C, 80°C) to the higher the extraction yield and preliminary phytochemical analysis of Henna extract. ***Results:*** *It was determined that the extraction solvent was distilled water, the ratio of medicinal herbs and solvent was 1:12, the extraction time was 45 minutes, the number of times of extraction was 2 times and the extraction temperature was 60°C. Henna leaves extract contained groups of compounds such as anthraquinones, hydrolysed triterpenoids, polyphenols and flavonoides.* ***Conclusions:*** *determined the extraction process and groups of compounds of Henna leaves.*

Keywords: *Henna, extraction, semi-solid extract.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Henna (*Lawsonia inermis* L.) được sử dụng để nhuộm tóc, móng tay, da và len trong hàng ngàn năm nay [1]. Từ thời nữ hoàng Cleopatra, Nefertiti, và người La Mã cổ đại đã sử dụng Lá móng để sơn móng tay và nhuộm tóc. Ngoài ra, Lá móng được dùng chữa tổn thương, chảy máu, ứ máu, phụ nữ kinh nguyệt không đều. Bên cạnh đó, Lá móng còn dùng ngoài chữa mụn nhọt, ghẻ lở và sâu bọ độc cắn [1], [2]. Cây phát triển tự nhiên ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới của Châu Phi, Nam Á, Đông Nam Á và phía bắc Australia ở các vùng bán khô cằn. Ở Việt Nam, Lá móng được trồng ở một số vùng núi, các đồng bào dân tộc sử dụng cây Lá móng để vẽ hình cơ thể hay nhuộm móng tay vào dịp Tết Đoan Ngọ. Thành phần chính trong Lá móng là lawson chiếm khoảng 1%. Lawson khi liên kết với các protein trong tế bào da hoặc tóc sẽ cho ra màu nâu đỏ [1]. Do đó, Lá móng được xem như là một loại thuốc nhuộm tự nhiên.

Vì vậy, việc bào chế cao đặc từ dược liệu Lá móng làm bán thành phẩm để sản xuất các thành phẩm tiếp theo là việc cần thiết. Xuất phát từ lý do trên chúng tôi thực hiện nghiên cứu với mục tiêu là khảo sát quy trình chiết xuất và định tính sơ bộ nhóm hợp chất từ Lá móng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Dược liệu Lá móng (độ ẩm 11%) được cung cấp bởi cửa hàng dược liệu Đại Nam (TPHCM) đạt tiêu chuẩn kiểm nghiệm theo DĐVN V [3].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Quy trình chiết xuất dược liệu bằng phương pháp đun hồi lưu: Cân chính xác 200g Lá móng (được làm mịn ở kích thước 1,0-1,6 mm) cho vào erlen nút mài 2000ml. Dược liệu được chiết xuất bằng dung môi (nước, cồn 20%, cồn 40%), tỷ lệ dược liệu/dung môi (1/12; 1/14; 1/16), thời gian chiết xuất (30 phút, 45 phút, 60 phút), số lần chiết (1 lần, 2 lần, 3 lần), chiết xuất bằng phương pháp đun hồi lưu ở nhiệt độ (60°C, 70°C, 80°C). Các yếu tố khảo sát ảnh hưởng đến quy trình chiết xuất được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Các yếu tố khảo sát ảnh hưởng đến quy trình chiết xuất

STT	Dung môi (A)	Tỷ lệ dược liệu/ dung môi (B)	Thời gian chiết (C)	Số lần chiết (D)	Nhiệt độ chiết (E)
1	Nước	1:12	30 phút	1 lần	60°C
2	Cồn 20%	1:12	30 phút	1 lần	60°C
3	Cồn 40%	1:12	30 phút	1 lần	60°C
4	A	1:12	30 phút	1 lần	60°C
5	A	1:14	30 phút	1 lần	60°C

STT	Dung môi (A)	Tỷ lệ dược liệu/ dung môi (B)	Thời gian chiết (C)	Số lần chiết (D)	Nhiệt độ chiết (E)
6	A	1:16	30 phút	1 lần	60ºC
7	A	B	30 phút	1 lần	60ºC
8	A	B	45 phút	1 lần	60ºC
9	A	B	60 phút	1 lần	60ºC
10	A	B	C	1 lần	60ºC
11	A	B	C	2 lần	60ºC
12	A	B	C	3 lần	60ºC
13	A	B	C	D	60ºC
14	A	B	C	D	70ºC
15	A	B	C	D	80ºC

Trong đó, A: dung môi được chọn; B: tỷ lệ dược liệu/dung môi được chọn; C: thời gian chiết được chọn; D: số lần chiết được chọn

Toàn bộ dịch chiết ở các lần chiết được gộp lại, cô đặc trên máy cô quay chân không Heidolph Hei-VAP Core XL để thu được cao đặc.

Xác định hiệu suất cao đặc tạo thành theo công thức:

$$H = \frac{b.(100 - h_2)}{a.(100 - h_1)}$$

Trong đó: H là hiệu suất cao đặc tạo thành

a là khối lượng dược liệu đem thử (g)

b là khối lượng cao đặc thu được (g)

h_1 là độ ẩm của dược liệu (%)

h_2 là độ ẩm của cao đặc (%)

Tiến hành định tính sơ bộ bằng các phản ứng hoá học của cao đặc từ dược liệu Lá móng để xác định nhóm hợp chất anthraquinon, tannin, triterpenoid, coumarin, flavonoid, polyphenol, glycosid tim, alkaloid, acid hữu cơ có trong dịch chiết [4] bằng các phản ứng sau:

Phản ứng Borntrager dùng nhận biết có anthraquinon.

Phản ứng với dung dịch gelatin muối dùng nhận biết có tannin

Phản ứng Liebermann-Burchard dùng nhận biết có triterpenoid thuỷ phân

Phát quang trong môi trường kiềm dùng nhận biết có coumarin

Phản ứng với dung dịch $FeCl_3$ dùng nhận biết có polyphenol

Phản ứng với Mg/HCl đậm đặc dùng nhận biết có flavonoid

Phản ứng Raymond-Marthoud và Keller - Kiliani dùng nhận biết có vòng lacton 5 cạnh và đường.

Phản ứng Dragendroff, Bouchardat, Mayer dùng nhận biết có alkaloid

Phản ứng với Na_2CO_3 dùng nhận biết có acid hữu cơ

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Kết quả khảo sát dung môi chiết xuất được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Khảo sát dung môi chiết xuất

Dung môi	Nước	Cồn 20%	Cồn 40%
Hiệu suất chiết (%)	4,92	4,45	4,39

Nhận xét: ở các điều kiện khảo sát cho thấy dung môi nước cho hiệu suất tạo cao đặc là cao nhất. Do đó, chọn dung môi nước để chiết xuất dược liệu Lá móng.

Kết quả khảo sát tỷ lệ dược liệu/dung môi được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Khảo sát tỷ lệ dược liệu/dung môi

Tỷ lệ dược liệu/dung môi	1:12	1:14	1:16
Hiệu suất chiết (%)	4,92	4,28	3,83

Nhận xét: kết quả khảo sát cho thấy tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1:12 cho hiệu suất chiết là cao nhất. Do đó, chọn tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1:12 để chiết xuất dược liệu Lá móng.

Kết quả khảo sát thời gian chiết xuất được trình bày trong Bảng 4.

Bảng 4. Khảo sát thời gian chiết xuất

Thời gian chiết	30 phút	45 phút	60 phút
Hiệu suất chiết (%)	4,92	5,11	5,12

Nhận xét: kết quả khảo sát cho thấy thời gian chiết xuất là 45 phút cho hiệu suất tương đương với thời gian chiết xuất là 60 phút. Do đó, chọn thời gian là 45 phút để chiết xuất dược liệu Lá móng.

Kết quả khảo sát số lần chiết được trình bày trong Bảng 5.

Bảng 5. Khảo sát số lần chiết

Số lần chiết	1 lần	2 lần	3 lần
Hiệu suất chiết (%)	5,11	6,30	6,28

Nhận xét: kết quả khảo sát cho thấy số lần chiết 2 lần cho hiệu suất chiết cao nhất. Do đó, chọn số lần chiết là 2 lần để chiết xuất dược liệu Lá móng.

Kết quả khảo sát nhiệt độ chiết được trình bày trong Bảng 6.

Bảng 6. Khảo sát nhiệt độ chiết

Nhiệt độ	60^{o}C	70^{o}C	80^{o}C
Hiệu suất chiết (%)	6,30	6,32	6.29

Nhận xét: kết quả khảo sát cho thấy nhiệt độ không ảnh hưởng nhiều đến hiệu suất chiết, nhưng nếu nhiệt độ quá cao sẽ phá huỷ các hoạt chất trong dược liệu. Do đó, chọn nhiệt độ là 60oC để chiết xuất dược liệu Lá móng.

Kết quả định tính sơ bộ các nhóm hợp chất bằng các phản ứng hoá học cao đặc từ dược liệu Lá móng được trình bày ở Bảng 7.

Bảng 7. Kết quả định tính các nhóm hợp chất trong cao đặc từ dược liệu Lá móng

Nhóm hợp chất	Thuốc thử	Phản ứng dương tính	Kết quả định tính trên các dịch chiết		Kết quả định tính chung
			Không thuỷ phân	Thuỷ phân	
Anthraquinon	Borntrager	Dung dịch kiềm có màu hồng đến đỏ		+	Có
Tannin	Dung dịch gelatin muối	Tủa bông trắng	-		Không
Triterpenoid thuỷ phân	Liebermann-Burchard	Đỏ nâu - tím, lớp trên có màu xanh lục		+	Có
Coumarin	Phát quang trong kiềm	Phát quang mạnh hơn	-	-	Không
Flavonoid	Mg/HCl đậm đặc	Dung dịch có màu hồng đến đỏ	+	+	Có

Nhóm hợp chất	Thuốc thử	Phản ứng dương tính	Kết quả định tính trên các dịch chiết		Kết quả định tính chung
			Không thuỷ phân	Thuỷ phân	
Polyphenol	Dung dịch $FeCl_3$	Xanh đen hay xanh rêu	+		Có
Glycosid tim	Raymond-Marthoud	Tím không bền	-	-	Không
	Keller – Kiliani	Đỏ nâu	-		
Alkaloid	Dragendroff	Kết tủa nâu đỏ	-	-	Không
	Bouchardat	Kết tủa nâu đỏ	-	-	
	Mayer	Kết tủa trắng	-	-	
Acid hữu cơ	Na_2CO_3	Sủi bọt	-		Không

Nhận xét: kết quả phân tích sơ bộ thành phần hoá học cho thấy cao đặc Lá móng có các nhóm hợp chất như anthraquinon, triterpenoid thuỷ phân, polyphenol, flavonoid. Trong đó, nhóm anthraquinon là chất có khả năng nhuộm màu tự nhiên được biết từ lâu.

IV. BÀN LUẬN

Việc lựa chọn phương pháp chiết xuất thích hợp phụ thuộc vào bản chất của nguyên liệu thực vật, dung môi chiết xuất, nhiệt độ và tỷ lệ dược liệu/dung môi [5]. Theo nghiên cứu của Ghodekar Anuradha và cộng sự (2019) [6] và nghiên cứu của Lizbeth Raju và cộng sự (2018) [8] đã sử dụng các phương pháp chiết xuất khác nhau để chiết xuất dược liệu Lá móng như phương pháp ngâm lạnh và phương pháp chiết bằng Soxhlet thì phương pháp chiết bằng Soxhlet chiếm ưu thế do có sử dụng thêm yếu tố nhiệt độ. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi, dược liệu lá Móng được chiết xuất bằng phương pháp đun hồi lưu với nhiệt độ 60^oC vì đây là phương pháp phổ biến được áp dụng rộng rãi ở quy mô phòng thí nghiệm và quy mô công nghiệp. Đồng thời, phương pháp này có thời gian chiết nhanh, hiệu suất chiết cao và dung môi sử dụng ít.

Theo nghiên cứu của Ghodekar Anuradha và cộng sự (2019) [6], khi chiết dược liệu Lá móng bằng các dung môi nước, methanol, ethyl acetat, hexan, thì trong dịch chiết của ethyl acetat, hexan chỉ phát hiện sự có mặt của nhóm hoạt chất polyphenol và tanin, trong khi đó tại dung môi nước và methanol chiết được các nhóm hợp chất như flavonoid, anthraquinon, polyphenol, triterpenoid… [6]. Hơn nữa, từ kết quả nghiên cứu cho thấy dung môi nước là dung môi rẻ tiền đồng thời cho hiệu suất chiết cao.

Tỷ lệ dược liệu/dung môi cũng là yếu tố quan trọng nhằm mục đích chiết kiệt hoạt chất trong dược liệu. Nếu tỷ lệ dược liệu/dung môi thấp hơn hoặc bằng mặt dược liệu kết quả sẽ cho hiệu suất chiết không cao, còn nếu tỷ lệ dược liệu/dung môi cao hơn nhiều so với bề mặt dược liệu sẽ thu nhiều tạp trong quá trình chiết xuất. Ngoài ra, còn mất nhiều thời gia trong quá trình thu hồi dung môi tạo cao đặc. Từ thực nghiệm cho thấy, tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1:12 cho hiệu suất chiết là tối ưu [7].

Thời gian chiết ngắn sẽ không chiết được hết hoạt chất trong dược liệu, nhưng nếu thời gian chiết quá dài, dịch chiết sẽ bị lẫn nhiều tạp, gây bất lợi cho quá trình tinh chế và bảo quản. Do đó, cần phải lựa chọn thời gian chiết xuất sao cho phù hợp với thành phần

dược liệu, dung môi và phương pháp chiết xuất. Kết quả thực nghiệm cho thấy thời gian chiết xuất 45 phút là tối ưu [8].

Tương tự như thời gian chiết xuất, số lần chiết xuất quá nhiều sẽ gây mất thời gian cho quá trình chiết xuất, đồng thời tạp chất trong dịch chiết cũng nhiều. Theo nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn số lần chiết xuất là 2 lần [9].

Nhiệt độ chiết xuất khác nhau sẽ cho hiệu suất chiết khác nhau. Khi nhiệt độ tăng thì độ nhớt của dung môi giảm, do đó tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình chiết xuất. Tuy nhiên đối với những hợp chất kém bền với nhiệt, nhiệt độ tăng cao sẽ gây phá hủy một số hoạt chất như vitamin, glucosid, alkaloid,.... Khi nhiệt độ tăng thì độ tan của hoạt chất tăng lên đồng thời độ tan của tạp cũng tăng theo, dịch chiết sẽ bị lẫn nhiều tạp. Trong nghiên cứu này cho thấy, nhiệt độ ít ảnh hưởng đến hiệu suất chiết. Nhưng để hạn chế tạp chất lẫn vào dịch chiết, tiết kiệm năng lượng và giảm phá huỷ các hoạt chất trong dược liệu, nên chúng tôi đã lựa chọn nhiệt độ 60^{o}C làm nhiệt độ chiết xuất [6].

Trong định tính sơ bộ các nhóm hợp chất trong dược liệu Lá móng bằng phản ứng hoá học cho thấy sự hiện diện của các nhóm hợp chất anthraquinon, triterpenoid thuỷ phân, polyphenol, flavonoid [5]. Trong đó, nhóm hợp chất anthraquinon được tìm thấy trong dịch chiết có ý nghĩa trong việc sản xuất các chất màu từ dược liệu. Việc nghiên cứu cứu và chiết xuất chất màu từ dược liệu sẽ làm cơ sở cho việc sản xuất mỹ phẩm tiếp theo.

V. KẾT LUẬN

Đã xác định quy trình chiết xuất dược liệu Lá móng gồm dung môi là nước, tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1:12, thời gian chiết xuất 45 phút, số lần chiết là 2 lần, nhiệt độ chiết là 60^{o}C và các nhóm hợp chất trong dịch chiết Lá móng như anthraquinon, triterpenoid thuỷ phân, polyphenol, flavonoid.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học Hà Nội. 2014.
2. Nguyễn Xuân Cường và cộng sự. Hai hợp chất lignan glycosid phân lập từ lá cây Lá móng (*Lawsonia inermis*). *Tạp chí khoa học*, 2009, 9, 96-101.
3. Bộ Y tế. Dược Điển Việt Nam V tập 1. Nhà xuất bản Y học Hà Nội. 2018.
4. Phạm Thanh Kỳ. Dược liệu I, Nhà xuất bản Y học Hà Nội. 2018.
5. Gagandeep Chaudhary, Sandeep Goyal, Priyanka Poonia. *Lawsonia inermis* Linnaeus: A Phytopharmacological Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. 2010. 2(2), 91-98.
6. Ghodekar Anuradha, Jarande Kajal, Satav Pallavi, Patil Neha and Waghmode Meghmala. *In Vitro* Activities of *Lawsonia inermis* L. (Henna) Leaves Extract. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 2019. 9(3), 256-266. DOI: 10.21276/ijpbs.2019.9.3.37.
7. Abdulganiyu Umar. Effect of Selected Mordants on Fastness Properties of Cotton Fabric Dyed with Henna Leaves Extract. *ChemSearch Journal*. 2020. 11(1), 126-131.
8. Lizbeth Raju, Shwetha Nambiar, Dominic Augustine, Sowmya S. V., Vanishri C. Haragannavar, Ashok Babu and Roopa S. Rao. *Lawsonia inermis* (Henna) extract: A possible natural substitute to eosin stain. *Journal of interdisciplinary histopathology*, 2018, 6(2), 54–60. Doi: 10.5455/jihp.20180726085949.
9. Amin Pasandi Pour, Hassan Farahbakhsh. *Lawsonia inermis* L. leaves aqueous extract as a natural antioxidant and antibacterial product, *Natural Product Research*, 2020, 34(23), 3399-3403. DOI: 10.1080/14786419.2019.1569006.

(Ngày nhận bài: 01/03/2023 - Ngày duyệt đăng: 15/5/2023)