

## ĐẶC ĐIỂM VI PHẪU VÀ KHẢ NĂNG CHỐNG OXY HÓA CỦA LÁ CÀ NA (*ELAEOCARPUS HYGROPHILUS*)

Trì Kim Ngọc<sup>1\*</sup>, Phạm Thành Trọng<sup>1</sup>, Huỳnh Ngọc Trung Dung<sup>1</sup>,  
Nguyễn Hữu Phúc<sup>1</sup> và Võ Văn Lẹo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Dược – Điều dưỡng, Trường Đại học Tây Đô  
(Email: pbkimngoc@gmail.com)

<sup>2</sup>Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Ngày nhận: 28/3/2018

Ngày phản biện: 30/4/2018

Ngày duyệt đăng: 05/5/2018

### TÓM TẮT

Cà na (*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz, *Elaeocarpaceae*) là loài cây hoang dại, chịu nước, mọc nhiều trên vùng đất phèn, mặn. Quả cà na được dùng làm thực phẩm ở một số nước vùng Đông Nam Á. Ở Việt Nam, Cà na mọc hoang rất nhiều ở các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. Đây là một nguồn nguyên liệu phong phú, dễ tìm, rẻ tiền nhưng cho đến nay, các công trình nghiên cứu trong nước và trên thế giới về loài cây này còn hạn chế. Vì thế đề tài được thực hiện nhằm nghiên cứu các đặc điểm vi phẫu và khả năng chống oxy hóa của cao chiết toàn phần và phân đoạn (n-hexan, cloroform, etylacetat, nước) từ lá Cà na bằng thử nghiệm DPPH với vitamin C làm chất đối chiếu. Kết quả phân tích cho thấy hoạt tính chống oxy hóa (% HTCO) ở nồng độ 20 µg/ml của cao etylacetat là cao nhất (92,82%) tương ứng với  $IC_{50} = 3,55$  µg/ml, vitamin C có  $IC_{50} = 2,31$  µg/ml, % HTCO ở nồng độ 20 µg/ml của các cao còn lại giảm dần theo thứ tự: cao nước (87,95%), cao còn toàn phần (85,64%), cao cloroform (45,73%), cao n-hexan (3,85%).

**Từ khóa:** HTCO, Cà na, chống oxy hóa, DPPH.

---

Trích dẫn: Trì Kim Ngọc, Phạm Thành Trọng, Huỳnh Ngọc Trung Dung, Nguyễn Hữu Phúc và Võ Văn Lẹo, 2018. Đặc điểm vi phẫu và khả năng chống oxy hóa của lá Cà na (*Elaeocarpus hygrophilus*). Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế, Trường Đại học Tây Đô. 03: 114-122.

\*Dược sĩ Trì Kim Ngọc, Khoa Dược – Điều dưỡng, Trường Đại học Tây Đô

## 1. GIỚI THIỆU

Tác hại của chất oxy hoá, phản ứng oxy hoá và sự cần thiết sử dụng chất chống oxy hoá để bảo vệ, duy trì sức khỏe là vấn đề rất được quan tâm trong lĩnh vực sức khỏe hiện nay. Các chất chống oxy hóa có rất nhiều từ các nguồn thiên nhiên là thực phẩm như rau cải, trái cây tươi và một số loại dược thảo, trong đó có cây Cà na.

Cà na (*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz, Elaeocarpaceae) là loài cây hoang dại, chịu nước, mọc nhiều trên vùng đất phèn, mặn... Cà na là cây thân gỗ cao từ 10 - 25m, có thể đến 30m. Lá hình phiến trái xoan ngược, mép có răng cưa, mặt trên màu lục, mặt dưới màu nhạt hơn. Rễ phát triển mạnh, lan tỏa rộng trong đất bùn, ở gốc thân có nhiều rễ khí sinh mọc thành chùm. Hoa mọc thành chùm có lông mềm, màu bạc ở nách những lá đã rụng. Quả hình bầu dục nhọn, quả già có màu xanh đậm, vị chát; còn trái non có màu xanh nhạt. Hạt hình thoi, có vỏ hạt cứng, mỗi quả có 1 hạt. Quả Cà na được dùng làm thực phẩm ở một số nước vùng Đông Nam Á. Ở Việt Nam, Cà na mọc hoang rất nhiều ở các tỉnh miền Tây. Đây là một nguồn nguyên liệu phong phú, dễ tìm, rẻ tiền nhưng hiện nay người dân chỉ mới dừng lại ở việc sử dụng quả Cà na như một loại rau rừng. Các công trình nghiên cứu trên thế giới về loài cây này chủ yếu trên trái cà na. Nghiên cứu về thực vật học, thành phần hóa học và khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của loài *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz, Elaeocarpaceae hiện nay còn hạn chế. Jittawan et al., (2011) có công bố nghiên cứu về thành phần vitamin C, acid

phenolic, flavonoid và đường trong quả Cà na bằng phương pháp đo độ hấp thụ quang phổ, HPLC và thử hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết bằng 3 phương pháp FRAP, DPPH, AEAC. Ngoài ra, nghiên cứu về các cây cùng loài của Fabian et al., (2016) công bố nghiên cứu về phân loại thực vật đối với loài *Elaeocarpus firdausii* (Elaeocarpaceae).

Nhìn chung, có ít công trình nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của lá và các bộ phận khác của cây Cà na. Đây là một nguồn nguyên liệu có tiềm năng, nhưng chưa được khai thác và sử dụng đúng mức. Do đó đề tài được thực hiện với mục tiêu nghiên cứu thực vật học và thử tác dụng chống oxy hóa *in vitro* bằng thử nghiệm DPPH của các cao chiết từ lá cây Cà na.

## 2. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Chuẩn bị nguyên liệu

Lá cây Cà na (*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz, Elaeocarpaceae) được thu hái tại huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang vào tháng 11 năm 2016. Nguyên liệu được định danh bằng cách quan sát hình thái thực vật, khảo sát vi học và so sánh với các tài liệu phân loại thực vật (Võ Văn Chi, Trần Hợp, 2002; Phạm Hoàng Hộ, 1999).

Lá được sấy ở 40 – 55°C cho đến khi xác định độ ẩm không quá 13,0%; và tiến hành xay thành bột, mẫu được lưu tại Bộ môn Dược liệu - Dược học cổ truyền, Khoa Dược – Điều dưỡng, Trường Đại học Tây Đô.

## 2.2. Dung môi, hóa chất, thuốc thử

Ethanol, methanol, n-hexan, cloroform, etylacetat, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (Sigma, USA), acid ascorbic (Vitamin C) (Sigma, USA), Carmin (Merck, Germany), green iod (Indian).

## 2.3. Khảo sát đặc điểm vi phẫu của bộ phận dùng

Quan sát vi phẫu cắt ngang của lá sau khi nhuộm kép trên kính hiển vi.

Chọn mẫu: dùng mẫu tươi.

**Cắt vi phẫu:** cắt xuyên tâm bằng tay với lưỡi lam. Chọn lát cắt thật mỏng để nhuộm. Nhuộm vi phẫu theo phương pháp nhuộm kép carmin – lục iod. Vi phẫu chuẩn bị xong soi bằng nước cất, quan sát dưới kính hiển vi quang học với vật kính 4X, 10X, 40X và ghi lại bằng cách chụp hình trực tiếp qua thị kính với máy ảnh.

**Bột dược liệu khô:** dược xay mịn để làm mẫu khảo sát vi học. Khảo sát bột dược liệu nhằm mục đích tìm ra các đặc điểm vi học đặc trưng giúp cho việc định danh cũng như phân biệt chống nhầm lẫn và giả mạo dược liệu nếu có. Cấu tạo vi phẫu và bột của cùng một bộ phận dược liệu có liên quan chặt chẽ với nhau, bổ sung cho nhau, do đó để nhận dạng các cấu tử trong bột dược liệu dễ dàng và chính xác nên cắt nhuộm vi phẫu trước. Các cấu tử của bột dược liệu quan sát dưới kính hiển vi quang học với vật kính 10X, 40X và ghi nhận lại bằng cách chụp hình trực tiếp qua thị kính với máy ảnh.

Thực hiện theo kỹ thuật kiểm nghiệm dược liệu bằng phương pháp vi học (Bộ môn dược liệu Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, 2017)

## 2.4. Phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật

Thực hiện theo phương pháp Ciulei được cải tiến và sửa đổi bởi Khoa Dược, trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, (2017):

Chiết mẫu thử lần lượt với 3 loại dung môi có độ phân cực tăng dần (dietylete, cồn, nước) thu dịch chiết dietylete chứa các nhóm chất kém phân cực các dịch chiết cồn, nước chứa các nhóm chất phân cực hơn.

Xác nhận sự hiện diện của các nhóm hợp chất trong các dịch chiết bằng các phản ứng tạo màu hoặc tạo tủa. Tiến hành thủy phân bằng cách đun các dịch chiết với acid HCl 10% để khảo sát thêm các aglycon.

## 2.5. Điều chế cao ethanol toàn phần và các cao phân đoạn

Một kg bột lá Cà na được chiết xuất bằng phương pháp ngâm kiệt với 20 lít cồn 80% thu dịch chiết cồn. Cô quay dưới áp suất giảm ở 40°C thu được 220,4 g cao cồn toàn phần (TP). Lấy 50 g cao cồn toàn phần kiểm tra hoạt tính chống oxy hóa và lưu mẫu, phần còn lại tiến hành pha loãng với 20 ml nước cất vừa đủ để thu được dạng cao lỏng, cao pha loãng được lắc phân bố lỏng – lỏng lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần n-hexan, cloroform, etylacetat (nhằm loại bớt tạp chất trong cao chiết ban đầu để thu được các phân

đoạn). Thu được các dịch *n*-hexan, dịch cloroform, dịch etylacetat và dịch nước, cô quay thu hồi dung môi dưới áp suất giảm được 34,0 g cao *n*-hexan (nH) , 19,9 g cao cloroform (CF), 43,9 g cao etylacetat (EA) và 38,5 g cao nước (N). Các cao này được dùng để kiểm tra tác dụng chống oxy hóa (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

**2.6. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa cao toàn phần và các cao phân đoạn**

Hoạt tính chống oxy hóa được xác định bằng thử nghiệm 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Kulisic et al., 2004; Obeid et al., 2005). DPPH là gốc tự do được dùng để thực hiện phản ứng mang tính chất sàng lọc hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) của các chất nghiên cứu. Các mẫu cao và Vitamin C được pha trong dung môi methanol với nồng độ là 20 µg/ml. 1 ml dung dịch mẫu thử được pha với 2 ml methanol và 1 ml dung dịch DPPH 0.5 trong methanol, lắc đều và để yên trong tối 30 phút. Hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu thử được thể hiện qua việc làm giảm màu của DPPH, được xác định bằng cách đo hỗn hợp dung dịch bằng máy hấp thụ

quang phổ ở bước sóng 517 nm. Mẫu đối chứng được thực hiện bằng cách sử dụng 1 ml methanol thay thế cho dung dịch mẫu thử. Các mẫu được lặp lại 3 lần.

Hoạt tính chống oxy hóa HTCO (%) được tính theo công thức:

Trong đó:

$$HTCO (\%) = \frac{(ODc - ODt)}{ODc} \times 100\%$$

ODc: mật độ quang của dung dịch đối chứng.

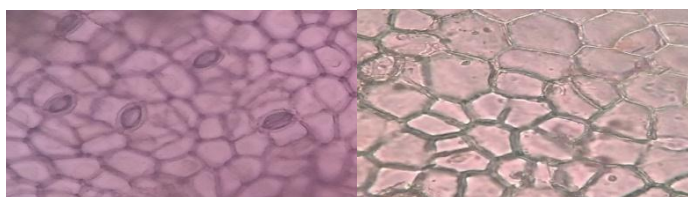
ODt: mật độ quang của dung dịch mẫu thử.

Từ dãy nồng độ mẫu thử đã pha và HTCO (%) tính toán được, phương trình hồi quy  $y = ax + b$  được xác định thể hiện mối tương quan giữa HTCO (%) (y) và nồng độ (x). IC<sub>50</sub> được xác định bằng cách thế  $y = 50$  vào phương trình hồi quy. IC<sub>50</sub> mẫu thử có nồng độ càng thấp tức là mẫu thử có tác dụng loại bỏ gốc tự do càng mạnh.

**3. KẾT QUẢ**

**3.1. Đặc điểm vi phẫu lá**

*Bóc tách biểu bì lá*



(1)

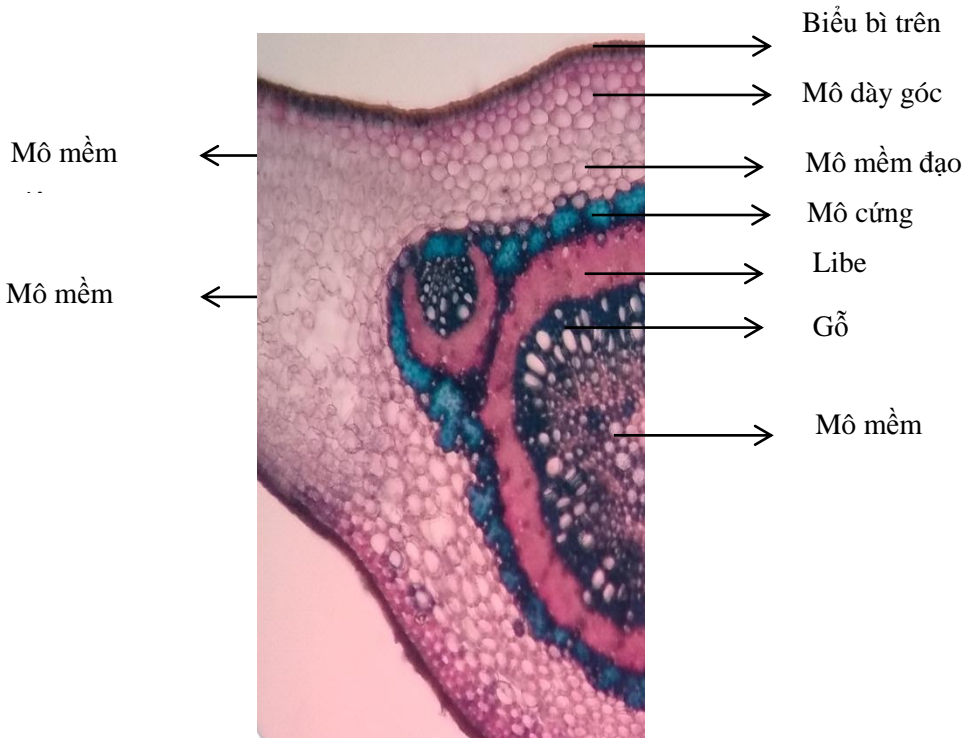
(2)

Hình 1. Biểu bì trên có lỗ khí kiểu hỗn bào (1), biểu bì dưới (2) của lá Cà na

**Vi phẫu**

Tế bào biểu bì ở gân chính có kích thước nhỏ hơn tế bào biểu bì ở phiến lá. Mặt trên và mặt dưới phiến lá nhẵn. Mô mềm giậu ở hai bên phiến lá có cấu tạo 2 lớp tế bào. Lớp mô dày góc nằm sát biểu bì trên và dưới của gân chính. Tế bào mô cứng xếp thành vòng bao quanh bó libe-

gỗ ở gân chính và gân phụ. Bó libe-gỗ tạo thành 2 vòng cung trên và dưới có khi tạo thành vòng khép kín, libe ở ngoài, gỗ ở trong, chính giữa là mô mềm đặc. Vòng mô cứng phát triển mạnh bao lấy bó libe gỗ là đặt điểm khác biệt của lá Cà na so với các loài khác.

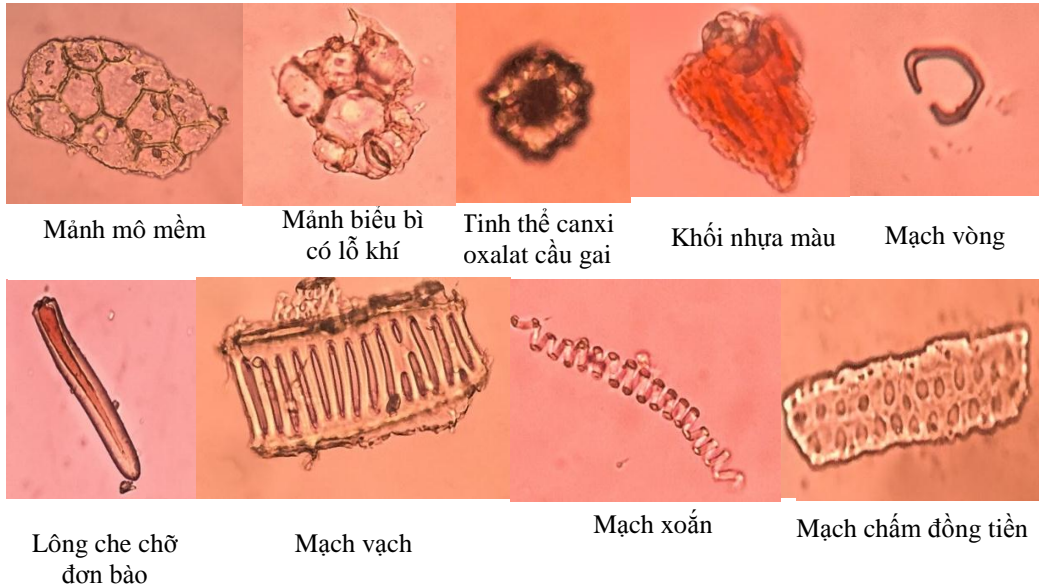


Hình 2. Vi phẫu chi tiết lá Cà na (*Folium Elaeocarpus hygrophilus*)

### 3.2. Soi bột lá Cà na (40X)

Soi kính hiển vi ở vật kính 40X thấy các cấu tử: tinh thể calci oxalat hình cầu gai, lỗ khí, mảnh mô mềm, lông che chở

đơn bào, khối nhựa màu, mạch vạch, mạch xoắn, mạch chắm đồng tiền và mạch vòng.



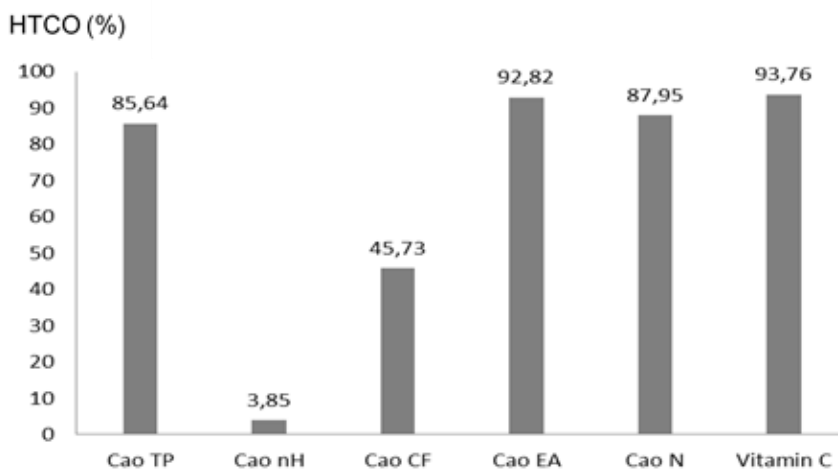
Hình 3. Các cấu tử trong bột lá Cà na

### 3.3. Sơ bộ thành phần hóa học

Kết quả phân tích cho thấy các dịch chiết lá Cà na cho phản ứng dương tính với các nhóm hợp chất sau: carotenoid, anthocyanosid, proanthocyanidin, acid hữu

cơ, chất khử và hợp chất polyuronic, trong đó các nhóm flavonoid, tanin, saponin cho phản ứng dương tính mạnh nhất.

### 3.4. Kết quả thử nghiệm DPPH in vitro



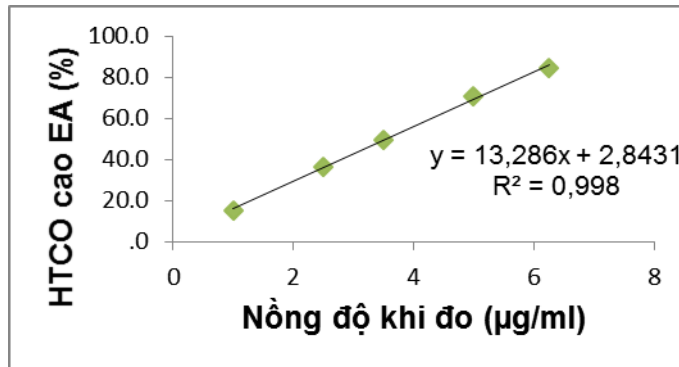
Hình 4. Biểu đồ kết quả thử HTCO (%) của các phân đoạn cao chiết

Kết quả ở Hình 4 cho thấy so với cao còn toàn phần và các cao phân đoạn thì tác dụng chống oxy hóa tại nồng độ 20 µg/ml của cao EA là mạnh nhất (92,82 %) gần bằng vitamin C (93,76 %).

Tiến hành khảo sát HTCO của cao EA và vitamin C ở các nồng độ khác nhau để xây dựng phương trình hồi quy và tìm IC<sub>50</sub>.

**Kết quả xây dựng phương trình hồi quy và tìm IC<sub>50</sub>**

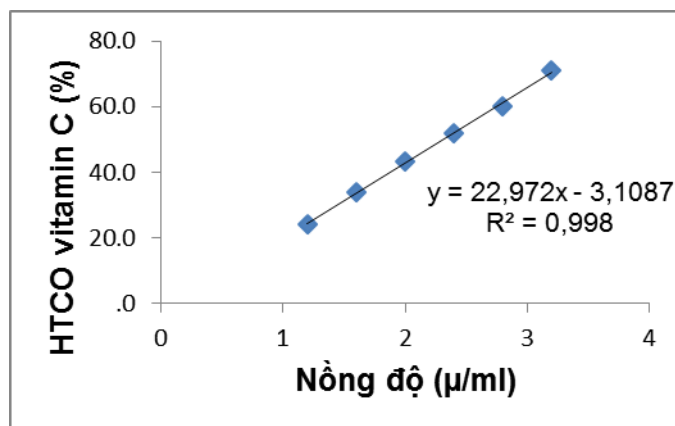
**Cao EA**



Hình 5. Xây dựng phương trình hồi quy cao EA

Kết quả: IC<sub>50</sub> cao EA (ở nồng độ khi đo) = **3,55** (µg/ml)

**Vitamin C**



Hình 6. Xây dựng phương trình hồi quy vitamin C

Kết quả: IC<sub>50</sub> vitamin C (ở nồng độ khi đo) = **2,31** (µg/ml)

**4. THẢO LUẬN**

Nghiên cứu về thực vật học, sơ bộ thành phần hóa học và khảo sát hoạt tính

chống oxy hóa của loài *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz, Elaeocarpaceae hiện nay còn hạn chế. Theo Jittawan et al., (2011) thì quả Cà na có tổng hàm lượng

vitamin C đạt  $0,49 \pm 0,01$  mg/g; tổng hàm lượng các loại đường ở mức  $70,27 \pm 2,00$  mg/g; tổng hàm lượng phenolic (gallic acid, p-hydroxy benzoic acid, chlorogenic acid, vanillic acid, caffeic acid, syringic acid, p-cormaric acid, ferulic acid, sinapicnic acid) ở mức  $152,94 \pm 13,78$  mg/g; tổng lượng flavonoid (rutin, myricetin, quercetin, apigenin) là  $15,22 \pm 3,19$  mg/g. Đặc biệt, dịch chiết quả Cà na có hoạt tính kháng oxy hóa rất mạnh (ức chế 97,05% DPPH), nghiên cứu này chỉ ngừng lại ở quả chừa chưa tiến hành trên lá Cà na.

Nhìn chung các nghiên cứu về các cây cùng họ cũng như về quả Cà na cho thấy trong thành phần hóa học có nhiều hợp chất nhóm flavonoid, tanin. Hoạt tính chống oxy hóa cho kết quả rất cao.

Nghiên cứu này thực hiện cụ thể trên lá cây Cà na ở tỉnh Tiền Giang, Việt Nam. Cung cấp các thông tin ban đầu về thực vật học, sơ bộ thành phần hóa học và tác dụng chống oxy hóa, làm tiền đề cho các nghiên cứu mở rộng hơn về loài cây này. Đây cũng là phần đầu tiên của đề tài nghiên cứu khoa học cấp trường Đại học Tây Đô về thử hoạt tính chống oxy hóa và phân lập các hợp chất tinh khiết từ lá Cà na.

## 5. KẾT LUẬN

Cây Cà na có những đặc trưng của chi *Elaeocarpus*, họ Côm (Elaeocarpaceae), được định danh là loài *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. Thành phần hóa thực vật đáng chú ý là flavonoid, tanin, saponin.

HTCO (%) ở nồng độ 20 µg/ml của cao etylacetat là cao nhất (92,82%) tương ứng với IC<sub>50</sub>=3,55 µg/ml, HTCO (%) ở nồng độ 20 µg/ml của các cao còn lại giảm dần theo thứ tự: cao nước (87,95%), cao cồn toàn phần (85,64%), cao cloroform (45,73%), cao n-hexan (3,85%).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn dược liệu, 2017. Phương pháp nghiên cứu dược liệu. Đại học Y dược Tp Hồ Chí Minh, tr. 118-126.
2. Fabian Brambach, Mark Coode, Siria Biagioni, Heike Culmsee, 2016. *Elaeocarpus firdausii* (Elaeocarpaceae), a new species from tropical mountain forests of Sulawesi. *PhytoKeys*, vol 62, pp. 1-14.
3. Hassan K. Obied, Malcolm S. Allen, Danny R. Bedgood, Paul D. Preznier, Kevin Robards, and Regine Stockmann, 2005. Bioactivity and Analysis of Biophenols Recovered from Olive Mill Waste. *J. Agric. Food Chem*, vol 53, pp. 823-837.
4. Jittawan Kubola, Sirithon Siriamornpun, Naret Meeso, 2011. Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. *Food Chemistry*, vol 126, pp. 976-977.
5. Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007. Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. NXB Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, tr 28-33, 181-200.
6. Phạm Hoàng Hộ, 1999. Cây cỏ Việt Nam quyển 1. NXB Trẻ, tr465-475.



7. T. Kulisic, A. Radonic, V. Katalinic, M. Milos, 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food Chemistry, vol 85, pp. 633-640.

8. Viện Dược liệu, 2006. Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr. 279-293.

9. Võ Văn Chi, Trần Hợp, 2002. Cây cỏ có ích ở Việt Nam. NXB giáo dục, tr. 281-282.

## MICROSURGERY CHARACTERISTICS AND POSSIBILITY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CA NA LEAVES (*ELAEOCARPUS HYGROPHILUS*, ELAEOCARPACEAE)

Tri Kim Ngoc<sup>1</sup>, Pham Thanh Trong<sup>1</sup>, Huynh Ngoc Trung Dung<sup>1</sup>,  
Nguyen Huu Phuc<sup>1</sup> and Vo Van Leo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Pharmacy and Nursing, Tay Do University  
(Email: pbkimngoc@gmail.com)

<sup>2</sup>HCMC University of Pharmacy and Medicine

### ABSTRACT

*Ca na (Elaeocarpus hygrophilus Kurz, Elaeocarpaceae) is a wild, water-resistant species, growing on saline soil. Fruit is used as food in some Southeast Asian countries. In Vietnam, this plant is growing wild largely in the Mekong delta. There is a rich source of materials, but characterization of this plant is still limited. The aim of this study was to investigate the microstructure and antioxidant properties of whole and fractional (n-hexane, chloroform, ethylacetate, water) extracted from Ca na leaves by using DPPH, compared to vitamins C as reference material. The antioxidant activity at the concentration of 20 µg/ml of ethyl acetate was highest (92.82%) corresponding to IC<sub>50</sub> = 3.55 µg/ml, vitamin C had IC<sub>50</sub> = 2.31 µg/ml, the antioxidant activity at the concentration of 20 µg/ml of the remaining residues was reduced in the order of water (87.95%), total ethanol (85.64%), chloroform (45.73% %), n-hexane (3.85%).*

**Keywords:** HTCO, *Elaeocarpus hygrophilus*, Antioxidant, DPPH.