

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA DỊCH CHIẾT GƯƠNG SEN

Đặng Thị Hồng Nhung¹, Trần Đăng Khoa¹, Phạm Duy Khương¹,
Nguyễn Hồng Thắm¹ và Nguyễn Thị Hồng Hạnh^{2*}

¹Sinh viên, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Đồng Tháp, Việt Nam

²Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Đồng Tháp, Việt Nam

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Hồng Hạnh, Email: nthhanh@dthu.edu.vn

Lịch sử bài báo

Ngày nhận: 21/5/2023; Ngày nhận chỉnh sửa: 12/7/2023; Ngày duyệt đăng: 14/8/2023

Tóm tắt

Gương sen là sản phẩm phụ của giống sen lấy hạt (*Nelumbo nucifera*), nó được phơi khô và sử dụng như chất đốt, sử dụng làm vật trang trí có độ thẩm mỹ cao hoặc được dùng để nấu nước uống. Dịch chiết từ gương sen chứa một số hoạt chất như alkaloid, polyphenol, flavonoid, glycoside, tanin, steroid, saponin.... Trong đó polyphenol là loại hợp chất thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa mạnh. Trong bài báo này tiến hành khảo sát phương pháp chiết, dung môi để tăng hàm lượng polyphenol. Đồng thời đánh giá hàm lượng polyphenol, flavonoid, hiệu quả kháng oxy hóa của cao chiết gương sen. Kết quả cho thấy với phương pháp đun hồi lưu, dung môi ethanol 70%, thời gian chiết 90 phút, nhiệt độ 70°C, chiết 3 lần thu được cao chiết với hiệu suất 34,06%. Thành phần hóa học của gương sen gồm polyphenol, alkaloid, flavonoid, terpenoid, tannin, coumarin. Hàm lượng flavonoid và polyphenol trong cao chiết đã được xác định cho giá trị lần lượt là $361.86 \pm 11,16$ mg QE/g và 585.12 ± 6.01 mg GAE/g. Kết quả cho thấy, gương sen có khả năng trung hòa gốc tự do DPPH, ABTS⁺ và khả năng khử (RP) tương ứng với giá trị EC50 lần lượt là 11.1 ± 0.14 µg/mL, 6.78 ± 0.52 µg/mL, 56.05 ± 0.73 µg/mL. Từ kết quả này cho thấy gương sen là nguồn dược liệu kháng oxy hóa tiềm năng.

Từ khóa: Gương sen, flavonoid, kháng oxy hóa, polyphenol.

DOI: <https://doi.org/10.52714/dthu.12.8.2023.1159>

Trích dẫn: Đặng, T. H. N., Trần, Đ. K., Phạm, D. K., Nguyễn, H. T., & Nguyễn, T. H. H. (2023). Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa dịch chiết gương sen. *Tạp chí Khoa học Đại học Đồng Tháp*, 12(8), 112-120. <https://doi.org/10.52714/dthu.12.8.2023.1159>.

INVESTIGATING ANTIOXIDANT EXTRACTION FROM *RECEPTACULUM NELUMBINIS*

Dang Thi Hong Nhung¹, Tran Dang Khoa¹, Pham Duy Khuong¹,
Nguyen Hong Tham¹, and Nguyen Thi Hong Hanh^{2*}

¹Student, Faculty of Natural Sciences, Dong Thap University, Vietnam

²Faculty of Natural Sciences, Dong Thap University, Vietnam

*Corresponding author: Nguyen Thi Hong Hanh, Email: nthhanh@dthu.edu.vn

Article history

Received: 21/5/2023; Received in revised form: 12/7/2023; Accepted: 14/8/2023

Abstract

Receptaculum Nelumbinis, also known as *Lotus receptacle*, is a byproduct of the seed-harvesting process of *Nelumbo nucifera*. It is dried and used as fuel, aesthetic decoration or for cooking drinking water. Extracts from *Lotus receptacle* contain several active compounds such as alkaloids, polyphenols, flavonoids, glycosides, tannins, steroids, and saponins. Among these, polyphenols are a compound of strong antioxidant activity. In this study, the extraction method and solvent were investigated to increase the polyphenol content. The polyphenol and flavonoid contents and the antioxidant activity of the *Lotus receptacle* extract were also evaluated. The results showed that the highest yield of the extract (34,06%) was obtained using the reflux method with 70% ethanol as the solvent, a 90-minute extraction time, and a temperature of 70°C. The chemical composition of the *Lotus receptacle* extract included polyphenols, alkaloids, flavonoids, terpenoids, tannins, and coumarins. The extract's flavonoid and polyphenol contents were determined to be 361.86 ± 11.16 mg QE/g and 585.12 ± 6.01 mg GAE/g, respectively. The *Lotus receptacle* extract also exhibited strong antioxidant activity, as demonstrated by its ability to scavenge DPPH and ABTS⁺ free radicals and its reducing power (RP), with corresponding EC₅₀ values of 11.10 ± 0.14 µg/mL, 6.78 ± 0.52 µg/mL and 56.05 ± 0.73 µg/mL, respectively. These results suggest that the *Lotus receptacle* is a potential source of antioxidant phytochemicals.

Keywords: Antioxidation, flavonoid, polyphenol, *Receptaculum Nelumbinis*.

1. Đặt vấn đề

Sen có tên khoa học là *Nelumbo nucifera* còn được gọi là Sen hồng thuộc họ Sen Nelumbonaceae (Đỗ, 2004). Trong kho tàng thực vật và cây thuốc Việt Nam, cây Sen là một trong số ít các dược liệu mà tất cả các bộ phận đều là những vị thuốc quý, có giá trị sinh học cao (Đỗ, 2004). Theo kết quả nghiên cứu dựa trên số liệu thu thập từ 52 nông hộ trồng sen tại huyện Tháp Mười, tỉnh Đồng Tháp. Năng suất sen bình quân là 3,61 tấn/ha. Lợi nhuận bình quân là 30,64 triệu đồng/ha. Hiệu quả kỹ thuật (TE=0,81) và hiệu quả phân phối (AE=0,76) đạt khá (Cao & Dương, 2019). Điều này cho thấy tiềm năng kinh tế cao của sen. Ngoài ra ngó sen dùng làm thức ăn, thuốc cầm máu, tiểu tiện ra máu (Đỗ, 2004). Hạt sen chứa một loạt các chất sinh học bao gồm alkaloid, flavonoid, polysaccharide, tinh dầu, glycoside, polyphenol, triterpenoids, v.v. Arooj & cs., 2021). Hoạt chất có trong hạt sen có khả năng kháng oxy hóa, chống béo phì, tim mạch, bảo vệ gan, điều hòa miễn dịch, cải thiện trí nhớ, hạ đường huyết cũng như để điều trị bệnh phong, chứng hôi miệng (Arooj & cs., 2021). Lá sen chứa alkaloid, flavonoid, tinh dầu, polysaccharide thể hiện các hoạt tính nổi trội bao gồm phòng ngừa tiểu đường, chống rối loạn thần kinh, kháng viêm, điều trị ung thư, bảo vệ gan, v.v. (Wang & cs., 2021). Hạt sen, lá sen, ngó sen, tim sen đang được sử dụng và nghiên cứu với những tiềm năng dùng làm thực phẩm, dược phẩm, thực phẩm chức năng.

Gương sen, vỏ hạt sen là những phụ phẩm sau khi thu hoạch thường được bỏ đi hoặc có thể làm chất đốt. Các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra gương sen có nhiều hoạt chất có tiềm năng chữa bệnh. Hoạt tính kháng oxy hóa của 6 dịch chiết gương sen (ethanol 80%; hexane; chloroform; ethyl acetate; butanol; nước) được khảo sát thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH lần lượt là 94,3%; 33,3%; 85,2%; 76,1%; 93,9%; 94,5%; và ABTS⁺ lần lượt là 92,9 %; 9,8%; 93,9%; 85,7%; 93,1%; 95,1% ở nồng độ 0,8 mg/L (Kim & Shin, 2012). Kết quả cho thấy dịch chiết ethanol, butanol, nước của gương sen thể hiện khả năng kháng oxy hóa tốt.

Có 4 hợp chất polyphenol: một flavan-3-ol (catechin); ba flavonoid (kaemferol, quercetin, hyperoside) đã được tìm thấy trong gương sen. Kết quả nghiên cứu chỉ ra hàm lượng tổng polyphenol

34,23 µg GAE/mg dịch chiết. Hiệu quả kháng oxy hóa của cao ethanol xác định dựa trên khả năng trung hòa gốc tự do DPPH, gốc anion superoxide, gốc hydroxyl, ABTS⁺ có giá trị lần lượt là 89,38%, 99,82%, 68,25%, 95,82% với nồng độ cao chiết 1,6 mg/ml. Khả năng khử Fe³⁺ của dịch chiết ethanol của gương sen là 0,605 ở 0,32 mg/ml, tương đương với glutathione. Dịch chiết cho thấy khả năng tạo phức kim loại 31,79% và khả năng ức chế 87,79% quá trình tự oxy hóa linoleic acid ở 1,6 mg/ml. Dịch chiết cho thấy độc tính tế bào đối với các dòng tế bào HepG2 và LNCap trong ống nghiệm với giá trị IC₅₀ lần lượt là 44,59 và 11,50 µg/ml (Shen & cs., 2019)2019. Thêm vào đó, Liu cũng cho thấy dịch chiết gương sen có khả năng bảo vệ gan (Liu & cs., 2019). Những nghiên cứu trên cho thấy polyphenol trong gương sen là chất chống oxy hóa tiềm năng.

Ngoài ra người ta cũng sử dụng gương sen như là một chất hấp phụ. Cụ thể vật liệu composite polyaniline-gương sen (PANi-gương sen) được sử dụng như hấp phụ kim loại nặng trong nước. Dung lượng hấp phụ Cu²⁺ cực đại của composite PANi-gương sen đạt 25,91 mg/g (Đặng & Nguyễn, 2020).

Các kết quả nghiên cứu cho thấy dịch chiết gương sen chứa hoạt chất có khả năng kháng oxy hóa mạnh và phân bã nguyên liệu sau khi chiết suất nước cũng có thể được dùng làm vật liệu hấp phụ. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành khảo sát hai điều kiện ảnh hưởng đến hiệu suất chiết suất polyphenol (dung môi, phương pháp chiết). Đồng thời đánh giá hiệu suất chiết xuất, hàm lượng polyphenol, flavonoid, khả năng kháng oxy hóa từ cao chiết gương sen.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên liệu

Gương sen được thu hoạch vào ngày 06 tháng 6 năm 2022 được thu mua tại huyện Cao Lãnh, tỉnh Đồng Tháp. Mẫu thực vật được định danh dựa trên các đặc điểm mô tả hình thái theo bộ sách Cây cỏ Việt Nam (quyển 3) (Phạm, 1999).

2.2. Hóa chất và thiết bị

2.2.1. Hóa chất

Ethanol 96% (Việt Nam), glycerol ≥ 99,0% (Trung Quốc), folin - ciocalteu (Sigma, Trung Quốc), sodium carbonate ≥ 98,0% (Trung Quốc), gallic acid

≥ 98,5% (Trung Quốc), sodium nitrite ≥ 99,0% (Trung Quốc), aluminium chlohydride hexahydrate ≥ 97,0% (Trung Quốc), sodium hydroxide ≥ 96,0% (Trung Quốc), quercetin ≥ 97% (Trung Quốc), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) ≥ 98% (ABTS) (Merck), potassium persulfate ≥ 99,5% (Merck).

2.2.2. Thiết bị

Bể rửa siêu âm S300H; bếp đun bình cầu; máy ly tâm EBA 21, máy hút chân không; máy cô quay IKA WERKE RV06-ML, hệ thống Soxhlet, UV - vis 2650, máy ly tâm lạnh (Mikro 12-24, Hettich, Đức), cân phân tích (AB104-S, Mettler Toledo, Thụy Sĩ) tủ, sấy (BE 200, Memmert, Đức), bể ủ (Mettler, Đức), máy vortex (ZX3, Velp, Ý), micropipette 100 µL, 500 µL, 1000 µL (Thermo LabSystems), máy đo quang phổ (Thermo Scientific Multiskan GO, Phần Lan), máy cân sấy ẩm YOKE-10A.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Xác định độ ẩm

Xác định độ ẩm nguyên liệu và cao chiết: Áp dụng phương pháp mất khối lượng do làm khô, dùng cân sấy ẩm YOKE-10A. Cho 0,5 g bột/cao chiết gương sen vào đĩa cân. Vận hành cân và ghi độ ẩm của mẫu.

2.3.2. Xác định hiệu suất chiết

Hiệu suất chiết cao được tính dựa vào tỉ lệ giữa trong lượng thu được so với trọng lượng mẫu ban đầu. Hiệu suất chiết được tính theo công thức:

$$H = \frac{m_{\text{cao chiết}}}{m_{\text{nguyên liệu}}} \times 100 \quad (1)$$

Trong đó: H: Hiệu suất cao chiết (%)

$m_{\text{cao chiết}}$: Khối lượng cao (đã trừ ẩm) thu được khi cô quay dung môi.

$m_{\text{nguyên liệu}}$: Khối lượng bột mẫu (đã trừ ẩm) đem chiết.

2.3.3. Khảo sát ảnh hưởng điều kiện chiết xuất đến hàm lượng polyphenol

• Ảnh hưởng dung môi

Cho 2 g mẫu vào 40 ml dung môi (nước cất 2 lần, ethanol 50%, ethanol 70%, ethanol 80%, ethanol 96% và glycerol). Mẫu được siêu âm trong thời gian 30 phút, lặp lại 3 lần ở nhiệt độ 70°C. Sau đó tiến hành định lượng polyphenol để chọn ra dung môi có khả năng chiết polyphenol tốt nhất. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần để lấy giá trị trung bình.

• Ảnh hưởng phương pháp chiết đến hàm lượng tổng polyphenol

Sau khi chọn ra được dung môi tốt nhất, tiến hành khảo sát các phương pháp chiết: ngâm dầm, siêu âm, soxhlet, đun hồi lưu. Với điều kiện là dung môi ethanol 70%, ở nhiệt độ 70°C và trong thời gian 90 phút, 3 lần. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần để lấy giá trị trung bình.

2.3.4. Định tính thành phần hóa học của dịch chiết gương sen

Phương pháp định tính được thực hiện với cao chiết được định tính với các hóa chất và thuốc thử. Các bước thực hiện như Bảng 1 (Sofowora, 1996), (Tiwari & cs., 2011).

Bảng 1. Các phương pháp định tính các hợp chất tự nhiên

Hợp chất	Thực hiện phản ứng định tính	Hiện tượng
Phenolic và Tannin	50 µL dd cao chiết + 500 µL H ₂ O + 3-5 giọt FeCl ₃ (5%)	Kết tủa xanh đen
Flavonoid	50 µL dd cao chiết + 500 µL Pb(CH ₃ COO) ₂ (10%)	Tủa màu vàng
Alkaloid	50 µL dd cao chiết + vài giọt thuốc thử Wagner	Tủa màu nâu đỏ
Terpenoid	50 µL dd cao chiết + 500 µL CH ₃ Cl + 2-3 giọt H ₂ SO ₄ dd	Màu đỏ gạch
Coumarin	50 µL dd cao chiết + 3-4 giọt NaOH (10%)	Màu vàng
Saponin	1ml cao chiết + 1ml nước cất	Bọt bền

2.3.5. Định lượng polyphenol và flavonoid trong cao chiết gương sen

● Định lượng polyphenol: Hàm lượng polyphenol được xác định theo phương pháp của Singleton & cs. (1999) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 250 μL cao chiết trong 250 μL nước và 250 μL thuốc thử folin-ciocalteu, lắc đều. Sau đó, thêm vào 250 μL Na_2CO_3 10% rồi ủ 30 phút ở 40°C trong bể điều nhiệt. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm. Gallic acid được sử dụng như chất chuẩn để xây dựng phương trình đường chuẩn. Hàm lượng polyphenol trong cao ethanol gương sen được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn gallic acid (Singleton & cs., 1999).

● Định lượng flavonoid: Hàm lượng flavonoid được xác định bằng phương pháp so màu AlCl_3 của Bag & cs. (2015) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 1 mL cao chiết pha trong 1 mL nước khử ion rồi lắc đều. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được thêm vào 200 μL NaNO_2 5%, để yên 5 phút tiếp tục thêm 200 μL AlCl_3 10%, lắc đều. Hỗn hợp phản ứng sau khi ủ 6 phút được thêm 2 mL NaOH 1 M. Cuối cùng nước được thêm vào cho đủ 5 mL và đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 510 nm. Quercetin được sử dụng như chất đối chứng dương. Hàm lượng flavonoid toàn phần trong các cao chiết được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn quercetin (Bag & cs., 2015).

2.3.6. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết gương sen

● Khảo sát hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl): Khả năng kháng oxy hóa của cao chiết được xác định nhờ phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH của Sharma và Bhat (2009) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 40 μL DPPH (1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) và 960 μL cao chiết. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong tối 30°C trong thời gian 30 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ của DPPH ở bước sóng 517 nm (Sharma & Bhat, 2009).

● Khảo sát hiệu quả trung hòa gốc tự do $\text{ABTS}^{+\cdot}$

[2,2'-azino-bis(3-ethybenzothiazoline-6-sulfonic acid)]: Hoạt tính kháng oxy hóa được xác định bằng phương pháp khử màu $\text{ABTS}^{+\cdot}$ mô tả bởi Nenadis & cs. (2004). $\text{ABTS}^{+\cdot}$ được tạo ra bởi phản ứng ABTS 7 mM với 2,45 mM potassium persulfate. Hỗn hợp được ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng 12-16 giờ trước khi sử dụng. Sau đó, hỗn hợp được pha loãng và đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm là 0,700,05. Tiến hành khảo sát bằng cách cho 10 μL cao chiết phản ứng với 990 μL $\text{ABTS}^{+\cdot}$ ở nhiệt độ phòng trong 6 phút. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm (Nenadis & cs., 2004).

● Khảo sát hiệu quả kháng oxy hóa dựa trên hoạt động khử sắt: Khả năng khử sắt của các cao chiết được thực hiện theo phương pháp của Oyaizu (1986). Hỗn hợp phản ứng lần lượt gồm 500 μL cao chiết, 500 μL đệm phosphate (0,2 M, pH = 6,6) và 500 μL $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1%. Sau khi hỗn hợp phản ứng được ủ ở 50°C trong 20 phút, thêm 500 μL CCl_3COOH 10% rồi ly tâm 3000 vòng/phút trong 10 phút. Phần dịch sau khi ly tâm được rút 500 μL cho vào 500 μL nước và 100 μL FeCl_3 0,1%, lắc đều. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 700 nm (Oyaizu, 1986).

2.3.7. Phân tích và xử lý số liệu

Tất cả các phép thử nghiệm được thực hiện ba lần và kết quả được biểu thị bằng giá trị trung bình \pm độ tin cậy. Các kết quả được phân tích sâu hơn bằng EXCEL.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Thành phần hóa học của dịch chiết

Khi tiến hành định tính dịch chiết ethanol gương sen nhận thấy hiện diện một số hợp chất có hoạt tính sinh học như: phenolic và tannin, flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid. Đặc biệt, khi định tính phenolic và tannin thì lượng kết tủa đen thu được rất nhiều. Từ đó cho thấy lượng phenolic và tannin trong dịch chiết gương sen rất cao. Không thấy sự hiện diện của coumarin.

Bảng 2. Thành phần hóa học dịch chiết gương sen

Hợp chất	Thực hiện phản ứng định tính	Hiện tượng	Kết quả
Phenolic và Tannin	50 μL dd cao chiết + 500 μL H_2O + 3-5 giọt FeCl_3 (5%)	Kết tủa xanh đen	+
Flavonoid	50 μL dd cao chiết + 500 μL $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (10%)	Tủa màu vàng	+
Alkaloid	50 μL dd cao chiết + vài giọt thuốc thử Wagner	Tủa màu nâu đỏ	+

Terpenoid	50 µL dd cao chiết + 500 µL CH ₃ Cl + 2-3 giọt H ₂ SO _{4dd}	Màu đỏ gạch	+
Coumarin	50 µL dd cao chiết + 3-4 giọt NaOH (10%)	Màu vàng	-
Saponin	1ml cao chiết + 1ml nước cất	Bọt bền	+

3.2. Độ ẩm và hiệu suất chiết cao

3.2.1. Độ ẩm của gương sen

Bảng 3: Độ ẩm của gương sen

	Bột gương sen	Cao gương sen
Độ ẩm	13,88	8,03

Phương pháp mất khối lượng được sử dụng xác định độ ẩm của bột nguyên liệu và cao chiết. Kết quả cho thấy độ ẩm bột gương sen <14%, độ ẩm cao chiết khoảng 8%. Độ ẩm là một trong những cơ sở để đánh giá kết quả các thí nghiệm.

3.2.2. Hiệu suất chiết cao

Khối lượng bột gương sen ban đầu: 10 g

Khối lượng cao gương sen: 3,189 g

$m_{\text{cao chiết}}$: Khối lượng cao (đã trừ ẩm) thu được khi cô quay dung môi 2,933 g.

$m_{\text{nguyên liệu}}$: Khối lượng mẫu (đã trừ ẩm) đem chiết 8,612 g.

Hiệu suất chiết cao: sử dụng công thức (1).

$$H = \frac{m_{\text{cao chiết}}}{m_{\text{nguyên liệu}}} \times 100\%$$

$$= \frac{2,933 \times 100}{8,612} = 34,06\%$$

Trên cơ sở kết quả khảo sát điều kiện chiết gương sen, tiến hành ly trích 10 g (có độ ẩm 13,88) bột gương sen bằng phương pháp đun hồi lưu, dung môi ethanol 70%, thời gian 90 phút, nhiệt độ 70° C thu được 3,189 g (có độ ẩm là 8,03). Kết quả thu được cao gương sen với hiệu suất chiết khá cao (34,6%).

3.3. Kết quả khảo sát điều kiện chiết xuất dịch chiết gương sen

3.3.1. Ảnh hưởng dung môi đến hàm lượng tổng polyphenol

Khi khảo sát các dung môi: nước cất 2 lần, ethanol 50%, ethanol 70%, ethanol 96%, glycerol 70%) thì hàm lượng polyphenol trong dịch chiết tăng từ dung môi nước đến ethanol 70% giá trị tương ứng là $89,47 \pm 4,15$ mg GAE/g đến $145,40 \pm 2,39$ mg GAE/g. Tuy nhiên, dung môi ethanol 96% có nồng độ cao nhưng hàm lượng polyphenol giảm còn $129,62 \pm 1,94$ mg GAE/g và hàm lượng glycerol vẫn thấp hơn ethanol 70%. Trong đó cho thấy dung môi nước mặc dù có ưu điểm là dung môi xanh nhưng hàm lượng hoạt chất thu được thấp. Trong đó với nồng độ ethanol khác nhau cho hiệu suất chiết hoạt chất khác nhau, trong đó có ethanol 70% có hàm lượng cao nhất đạt $145,40 \pm 2,39$ mg GAE/g. Nhóm nghiên cứu chọn dung môi ethanol 70% để tiến hành các thí nghiệm khảo sát tiếp theo.

Bảng 4. Ảnh hưởng dung môi đến hàm lượng tổng polyphenol

Dung môi	Hàm lượng polyphenol				
	Nước	Ethanol 50%	Ethanol 70%	Ethanol 96%	Glycerol 70%
Bột chiết (mg GAE/g)	$89,47 \pm 4,15$	$127,76 \pm 4,19$	$145,40 \pm 2,39$	$129,62 \pm 1,94$	$93,02 \pm 2,32$

3.3.2. Ảnh hưởng phương pháp chiết xuất đến hàm lượng tổng polyphenol

Kết quả thể hiện ở bảng 5 cho thấy phương pháp chiết Soxhlet cho hàm lượng polyphenol thấp nhất

$81,75 \pm 3,68$ mg GAE/g, phương pháp đun hồi lưu cho hàm lượng polyphenol cao nhất $195,66 \pm 1,13$ mg GAE /g. Từ kết quả này chọn phương pháp đun hồi lưu để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 5. Ảnh hưởng phương pháp chiết xuất đến hàm lượng tổng polyphenol

Phương pháp	Hàm lượng polyphenol			
	Ngâm dầm	Siêu âm	Soxhlet	Hồi lưu
Bột chiết (mg GAE/g)	116 ± 2,76	174,72 ± 3,75	81,75 ± 3,68	195,66 ± 1,13

3.3.3. Kết quả định lượng polyphenol, flavonoid dịch chiết gương sen

Gallic acid là một acid hữu cơ thuộc nhóm polyphenol. Polyphenol là hợp chất chuyển hóa thứ cấp với hơn 8000 loại tồn tại trong các loài thực vật và dược liệu, có tác dụng tốt đối với cơ thể con người. Từ phương trình tuyến tính của gallic acid $y = 0,0162x - 0,0158$ ($R^2 = 0,9988$) (trục y tương ứng giá trị độ hấp thụ quang (Abs), trục x tương ứng nồng độ chất chuẩn galic acid). Trong khảo sát này, giá trị Abs của mẫu có cao chiết đo được 0,856 giá trị này được đưa vào phương trình đường chuẩn của gallic acid và hàm lượng polyphenol tổng số trong cao chiết gương sen được xác định là 538,1481 mg GAE/g cao chiết.

Quercetin là một hợp chất thuộc nhóm flavonoid. Đường chuẩn quercetin được sử dụng để xác định sự hiện diện của nhóm chất flavonoid có phương trình đường chuẩn $y = 0,0064x - 0,004$ (trục y tương ứng giá trị độ hấp thụ quang, trục x tương ứng nồng độ chất chuẩn quercetin) và hệ số $R^2 = 0,9996$. Trong khảo sát này, giá trị Abs của mẫu có cao chiết đo được 0,173 giá trị này được đưa vào phương trình đường chuẩn của quercetin và hàm lượng flavonoid tổng số có trong cao chiết gương sen được xác định là 332,8125 mg QE/g cao chiết.

3.4. Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết gương sen

Một số phương pháp loại bỏ gốc 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate) (ABTS⁺), loại bỏ gốc 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH·). Thử nghiệm chuyển hóa Fe³⁺- Fe²⁺, thử nghiệm khả năng khử chất chống oxy hóa bằng sắt (FRAP), thử nghiệm khả năng khử ion cupric (Cu²⁺) (Cuprac), khả năng khử Folin-Ciocalteu (thử nghiệm FCR), nhật gốc peroxy, nhật gốc superoxide anion (O₂⁻), nhật gốc hydrogen peroxide (H₂O₂), nhật gốc hydroxyl (OH·), oxy nhóm đơn (¹O₂) thử nghiệm dập tắt và thử nghiệm nhật gốc nitric oxide (NO·) được phác thảo và thảo luận. Trong các phương pháp này, các hoạt động chelating kim loại RP, DPPH, ABTS⁺ được sử

dụng thường xuyên (Gülçin, 2012). Để đánh giá khả năng chống oxy hóa được biểu diễn qua hoạt tính kháng oxy hóa, giá trị EC50 (Effective concentration of 50%) là nồng độ chất chống oxy hóa thấp nhất cần thiết để khử đi 50% nồng độ gốc tự do ban đầu. Vitamin C được sử dụng làm chất đối chứng dương. Giá trị EC50 càng nhỏ chứng tỏ khả năng liên kết của chất chống oxy hóa với gốc tự do càng lớn hay mẫu có hoạt tính chống oxy hóa càng cao (Mensor & cs., 2001).

3.4.1. Hiệu quả kháng oxy hóa dịch chiết gương sen bằng phương pháp ABTS⁺

Hiệu quả loại bỏ gốc tự do của cao ethanol gương sen được xác định thông qua khả năng kháng oxy hóa của cao chiết gương sen ($EC_{50} = 6,85 ± 0,52 μg/ml$) thấp hơn so với vitamin C ($EC_{50} = 5,42 μg/ml$) được dùng để khảo sát trong thí nghiệm 1,2628 lần. Tuy nhiên, cao chiết gương sen có khả năng hấp thu gốc tự do cao hơn cao chiết lá cây sen hồng ($EC_{50} = 11,81 μg/ml$) khi khảo sát dùng phương pháp ABTS⁺ đến 1,71 lần (Huỳnh, 2017). Kết quả cho thấy, nồng độ cao chiết tăng từ 1 μg/mL đến 10 μg/mL, khả năng trung hòa gốc tự do ABTS tương ứng từ $8,40 ± 0,52$ đến $80,06 ± 0,93%$ (Bảng 6). Thử nghiệm cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết gương là rất tốt.

Bảng 6. Hiệu quả trung hòa gốc tự do ABTS⁺ của cao chiết ethanol gương sen

Nồng độ cao chiết (μg/ml)	Khả năng trung hòa gốc tự do ABTS (%)
1	8,40 ± 0,52
2	15,62 ± 1,85
4	28,44 ± 1,88
6	40,31 ± 3,30
8	53,54 ± 5,03
10	66,02 ± 4,15

3.4.2. Hiệu quả kháng oxy hóa của gương sen bằng phương pháp DPPH

Hiệu quả loại bỏ gốc tự do của cao ethanol gương sen được xác định thông qua khả năng kháng oxy hóa của cao gương sen ($EC_{50} = 11,10 \pm 0,14 \mu\text{g/ml}$) thấp hơn so với vitamin C ($EC_{50} = 7,40 \mu\text{g/ml}$) được dùng để khảo sát trong thí nghiệm 1,5 lần. Tuy nhiên, cao chiết gương sen có khả năng hấp thu gốc tự do cao hơn cao chiết lá cây sen hồng ($EC_{50} = 24,06 \mu\text{g/ml}$) khi khảo sát dùng phương pháp DPPH đến 2,17 lần (Huỳnh, 2017). Kết quả cho thấy, nồng độ cao chiết tăng từ 1 $\mu\text{g/mL}$ đến 20 $\mu\text{g/mL}$, khả năng trung hòa gốc tự do DPPH tương ứng từ $6,57 \pm 3,10$ đến $80,06 \pm 0,93\%$ (Bảng 7). Thử nghiệm cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết gương sen là rất tốt.

Bảng 7. Hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH của cao chiết ethanol gương sen

Nồng độ cao chiết ($\mu\text{g/ml}$)	Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH (%)
1	$6,57 \pm 3,10$
4	$20,27 \pm 2,38$
8	$34,55 \pm 2,54$
12	$50,25 \pm 2,75$
16	$65,48 \pm 1,00$
20	$80,06 \pm 0,93$

3.4.3. Hiệu quả kháng oxy hóa của gương sen bằng phương pháp RP

Hiệu quả kháng oxy hóa của cao chiết gương sen dựa trên khả năng khử sắt được tính tương đương $\mu\text{g/mL}$ vitamin C. Kết quả được trình bày trong Bảng 8. Hàm lượng chất kháng oxy hóa có trong cao chiết gương sen tính tương đương với vitamin C dựa vào đường chuẩn $y = 0,0966x$ ($R^2 = 0,9985$). Kết quả cho thấy, nồng độ cao chiết tăng từ 10 $\mu\text{g/mL}$ đến 100 $\mu\text{g/mL}$, hàm lượng chất kháng oxy hóa tăng dần tương ứng từ $0,11 \pm 0,01$ đến $0,80 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ (Bảng 8). Khả năng kháng oxy hóa cao chiết ethanol gương sen của chất chuẩn là vitamin C ($EC_{50} = 5,19 \mu\text{g/mL}$) cao hơn ($EC_{50} = 56,05 \pm 0,73 \mu\text{g/mL}$) 10,8 lần (Huỳnh, 2017).

Bảng 8. Hiệu quả khử sắt của cao chiết ethanol gương sen

Nồng độ cao chiết ($\mu\text{g/mL}$)	Hàm lượng chất kháng oxy hóa ($\mu\text{g/mL}$)
10	$0,109 \pm 0,005$
20	$0,203 \pm 0,010$
40	$0,321 \pm 0,009$
60	$0,503 \pm 0,210$
80	$0,642 \pm 0,008$
100	$0,802 \pm 0,006$

4. Kết luận

Nghiên cứu về điều kiện trích ly dịch chiết gương sen làm tăng khả năng thu hồi hoạt chất sinh học và khảo sát hoạt tính sinh học của cao chiết gương sen. Qua khảo sát 5 dung môi và 4 phương pháp trích ly xác định phương pháp đun hồi lưu, dung môi ethanol 70% có khả năng thu hồi polyphenol tốt nhất.

Thành phần hóa học của dịch chiết gương sen có sự hiện diện của nhiều hợp chất có hoạt tính kháng oxy hóa như polyphenol, flavonoid, alkaloid, terpenoid, tannin. Đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết gương sen bằng những phương pháp như phương pháp trung hòa gốc tự do ABTS⁺⁺ (2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)), phương pháp RP (Reducing power), khảo sát hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

Đồng thời định lượng hàm lượng polyphenol và flavonoid có trong cao chiết. Kết quả cho thấy cao chiết gương sen thật sự là một nguồn nguyên liệu tiềm năng để nghiên cứu sâu hơn về phòng trị bệnh.

Lời cảm ơn. Nghiên cứu này được hỗ trợ bởi đề tài mã số SPD2022.02.03./.

Tài liệu tham khảo

Arooj, M., Imran, S., Inam-ur-Raheem, M., Riaz, M. S., Sameen, A., Siddique, R., Sahar, A., Tariq, S., Riaz, A., Hussain, A., Siddeeg, A., & Aadil, R. (2021). Lotus seeds (Nelumbinis semen) as an emerging therapeutic seed: A comprehensive review. *Food Science and Nutrition*, 9, 3971-3987. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2313>.

- Bag, G. C., Devi, P. G., & Bhaigayabati, T. (2015). Assessment of total flavonoid content and antioxidant activity of methanolic rhizome extract of three *Hedychium* species of Manipur Valley. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 30(1), 154-159. <https://doi.org/10.4236/vp.2020.64020>.
- Cao, T. T., & Dương, N. T. (2019). Phân tích hiệu quả sản xuất sen tại huyện Tháp Mười tỉnh Đồng Tháp. *Tạp chí Khoa học Đại học Đồng Tháp*, 39, 26-34. <https://doi.org/10.52714/dthu.39.8.2019.713>.
- Đặng, K. T., & Nguyễn, T. M. T. (2020). Nghiên cứu khả năng hấp thụ Cu^{2+} trong môi trường nước của composite polyaniline-gương sen. *Tạp chí Khoa học công nghệ Việt Nam*, 62(11), 7-11.
- Đỗ, T. L. (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam* Hà Nội: NXB Y học.
- Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345-391. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>.
- Huỳnh, T. K. (2017). Khảo sát hoạt tính các hợp chất kháng oxy hóa trong lá và thân cây chùm ngây (*Moringa oleifera*). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, (CD Nông nghiệp 2016), 179-184. <https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2016.086>.
- Kim, M. J., & Shin, H. S. (2012). Antioxidative effect of lotus seed and seedpod extracts. *Food Science and Biotechnology*, 21(6), 1761-1766. <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0234-7>.
- Liu, Y. T., Lai, Y. H., Lin, H. H., & Chen, J. H. (2019). Lotus Seedpod Extracts Reduced Lipid Accumulation and Lipotoxicity in Hepatocytes. *Nutrients*, 11(12), 2895. <https://doi.org/10.3390/nu11122895>.
- Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitão, G. G., Reis, A. S., Santos, T. C. D., Coube, C. S., & Leitão, S. G. (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy research : PTR*, 15, 127-130. <https://doi.org/10.1002/ptr.687>.
- Nenadis, N., Wang, L. F., Tsimidou, M., & Zhang, H. Y. (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS(*+) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4669-4674. <https://doi.org/10.1021/jf0400056>.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307-315.
- Phạm, H. H. (1999). *Cây cỏ Việt Nam* (Quyển 3). TP Hồ Chí Minh: NXB Trẻ.
- Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113(4), 1202-1205. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.008>.
- Shen, Y., Guan, Y., Song, X., He, J., Xie, Z., Zhang, Y., Zhang, H., & Tang, D. (2019). Polyphenols extract from lotus seedpod (*Nelumbo nucifera* Gaertn.): Phenolic compositions, antioxidant, and antiproliferative activities. *Food Science and Nutrition*, 7(9), 3062-3070. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1165>.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299 (152-178). Elsevier: Academic Press.
- Sofowora, A. (1996). Research on medicinal plants and traditional medicine in Africa. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 2(3), 365-372.
- Tiwari, P. K., Kaur, M., & Kaur, H. (2011). Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1, 98-106.
- Wang, Z., Cheng, Y., Zeng, M., Wang, Z., Qin, F., Wang, Y., Chen, J., & He, Z. (2021). Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) leaf: A narrative review of its Phytoconstituents, health benefits and food industry applications. *Trends in Food Science & Technology*, 112, 631-650. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.033>.