

# NGHIÊN CỨU TÁCH CHIẾT PHẦN ĐOẠN CAO CHIẾT CÓ KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA TỪ LÁ SEN (*Nelumbo nucifera* Gaertn)

Nguyễn Thị Ngọc Mai<sup>1</sup>, Ngô Đại Nghiệp<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Bách Khoa, Đại học Quốc Gia Tp. Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia Tp. Hồ Chí Minh

## TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, mục tiêu là tách chiết và xác định một số phân đoạn có hoạt tính kháng oxy hóa từ lá sen. Lá sen được sấy ở 80°C trong thời gian 30 phút để đạt độ ẩm bảo quản là 5,4%. Để thu dịch chiết lá sen sử dụng nước có nhiệt độ 80°C, với tỉ lệ so với nước là 1:25 trong thời gian 40 phút. Lá sen được xác định tổng hàm lượng polyphenol bằng phương pháp Folin – Ciocalteu (Atanasova M *et al.*, 2011) và tổng hàm lượng flavonoid dựa trên phương pháp so màu quang học (Atanasova M *et al.*, 2011). Hàm lượng polyphenol và flavonoid trong lá sen là 115,50 mg/g chất khô và 14,85 mg/g chất khô. Sau khi thu được dịch chiết lá sen, tiến hành cô quay chân không để thu cao chiết. Cao chiết tổng sẽ tiến hành kiểm tra hoạt tính kháng oxy hóa bằng các phương pháp: Khảo sát năng lực khử (Ferreira IC *et al.*, 2007), phương pháp DPPH (Hazra B *et al.*, 2008). Hoạt tính của cao chiết được so sánh với các chất kháng oxy hóa (vitamin C, BHA). Kết quả IC<sub>50</sub> của cao chiết là 13,98 µg/ml. Cao chiết lá sen được tách phân đoạn bằng kỹ thuật sắc ký bản mỏng và sắc ký cột hơi với hệ dung môi chloroform : metanol có độ phân cực tăng dần.

Từ khóa: Phenolic từ lá sen, tách chiết polyphenol, lá sen, tách chiết flavonoid

## MỞ ĐẦU

Sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn) là loài thực vật được trồng ở nhiều nơi trên thế giới như Ấn Độ, Nhật Bản, Trung Quốc, Việt Nam... là loại cây dễ trồng và sinh trưởng rất nhanh, thích hợp với điều kiện khí hậu của Việt Nam.

Từ lâu, cây sen được con người sử dụng làm thực phẩm cũng như làm thuốc Đông Y. Hầu hết các bộ phận của sen đều được khai thác sử dụng như: hoa, hạt, lá non, thân rễ... Theo Đông Y thì lá sen có chứa nhiều hợp chất alkaloid (nuciferin, nornuciferin, roemerin, quercetin,...) dùng để chữa bệnh mất ngủ, chảy máu chân răng, xuất huyết dưới da,... (Đỗ Tất Lợi, 2004).

Đã có nhiều nghiên cứu của các tác giả về hoạt tính kháng oxy hóa của lá sen với dung môi trích ly là ethanol (Huang *et al.*, 2010) và sử dụng methanol để trích ly (Wu *et al.*, 2003) với khả năng bắt gốc tự do DPPH (Hazra *et al.*, 2008) và năng lực khử (Ferreira *et al.*, 2007) của dịch chiết từ lá sen rất cao. Tuy nhiên, cao chiết từ những dung môi này lại khó ứng dụng trở lại vào thực phẩm vì khó hòa tan lại trong nước.

Vi vậy, nếu tách chiết được thành phần có khả năng kháng oxy hóa từ lá sen bằng dung môi nước, nhằm ứng dụng vào thực phẩm giúp nâng cao giá trị của lá sen và còn là cơ sở khoa học chứng minh lá sen có tác dụng tốt cho sức khỏe. Mục tiêu của đề tài là tách chiết và xác định một số phân đoạn có hoạt tính kháng oxy hóa trong cao nước của lá sen.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Vật liệu

Nguyên liệu sử dụng trong nghiên cứu thuộc giống sen cho hạt được trồng nhiều ở khu vực Đồng Tháp, An Giang...v.v. Lá sen sau khi thu hái được cắt bỏ phần cuống lá và làm sạch bụi bẩn trên lá trước khi tiến hành các khảo sát.

### Khảo sát thành phần trong lá sen:

Tiến hành khảo sát một số thành phần cơ bản trong lá sen: Độ ẩm nguyên liệu (cân sấy ẩm hiệu MB 23 OHAUS của Mỹ), độ tro (phương pháp vô cơ hóa mẫu), hàm lượng lipid (phương pháp Soxhlet), hàm lượng đường tổng (phương pháp phenol) (Lâm Thị Kim Châu *et al.*, 2004), tổng flavonoid (TF) và tổng phenolic (TP).

### Khảo sát nhiệt độ sấy:

Lá sen sử dụng trong nghiên cứu cần được làm khô đưa về độ ẩm có thể bảo quản trong suốt thời gian tiến hành nghiên cứu nhưng nhiệt độ sấy phải đảm bảo sự ảnh hưởng lên các hợp chất có hoạt tính sinh học là thấp nhất. Khảo sát tiến hành ở: 60, 70, 80, 90, 100°C (Lê Văn Việt Mẫn *et al.*, 2011).

### Khảo sát thời gian sấy:

Tương ứng với nhiệt độ thích hợp đã chọn, cần tiến hành khảo sát thời gian sấy để đạt được độ ẩm mong muốn và ít làm biến đổi các chất có hoạt tính sinh học. Thời gian sấy: 10, 20, 30, 40, 50, 60 phút.

Điều kiện trích ly mẫu: Mẫu được trích ly bằng phương pháp ngâm cầm (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007), các thông số cần khảo sát nhằm đạt hiệu suất trích được hợp chất có hoạt tính là cao nhất.

Khảo sát tỉ lệ nguyên liệu : nước (w/v): 1:20, 1:25, 1:30, 1:35, 1:40.

Nhiệt độ nước trích ly: 60, 70, 80, 90, 100°C

Thời gian trích ly: 10, 20, 30, 40, 50 phút.

Khảo sát hàm lượng flavonoid, polyphenol và khả năng bắt gốc tự do DPPH của lá sen so với trà xanh: Lá sen

sau khi sấy và trà xanh thương phẩm được tiến hành trích ly ở cùng điều kiện, sau đó mang dịch chiết đi định lượng flavonoid, polyphenol và kiểm tra hoạt tính kháng oxy hóa.

**Điều chế cao nước**

Sau khi tìm được các thông số tối ưu cho quá trình thu dịch chiết từ lá sen, tiến hành trích ly mẫu với khối lượng lớn mẫu. Khi thu được dịch chiết, làm lạnh đông dịch mẫu và tiến hành đông khô mẫu (sấy thăng hoa) → cao nước. Từ cao tổng tiến hành sắc ký cột để thu các phân đoạn bằng hệ dung môi dùng giải ly cột gồm có Chloroform, Methanol với tỷ lệ phân cực tăng dần tương ứng với tỉ lệ giữa Chloroform và Methanol là: 9 : 1; 7 : 3; 7 : 5;... Khi tìm được các phân đoạn tiến hành cô quay chân không để thu các phân đoạn này.

**Phương pháp nghiên cứu**

**Khảo sát năng lực khử:** Năng lực khử được xác định theo phương pháp của Ferreira và đồng tác giả (2007). Nguyên tắc của phương pháp này dựa trên khả năng cho điện tử của một chất khi chất đó tham gia vào phản ứng oxy hóa khử.

**Phương pháp xác định hoạt tính bắt gốc tự do DPPH:** 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) là một gốc tự do có màu tím và có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 517 nm. Khi có một chất chống oxy hóa, DPPH sẽ bị khử thành 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazine (DPPH-H) – chất này có màu vàng. Độ giảm hấp thụ ở bước sóng 517 nm để xác định khả năng bắt gốc tự do DPPH của chất có hoạt tính kháng oxy hóa (Hazra B *et al.*, 2008).

**Xác định tổng hàm lượng phenolic:** Sử dụng phương pháp Folin – Ciocalteu, sử dụng acid gallic làm chất chuẩn (nồng độ từ 10 – 160 mg/l), 0,4 ml dịch chiết mẫu, được thêm vào 3,6 ml nước cất và 0,4 ml thuốc thử Folin để trong 5 phút. Sau đó, thêm 4 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7%, định mức lên 10 ml bằng nước cất, ủ 90 phút ở nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 750 nm (Atanassova M *et al.*, 2011).

**Xác định tổng hàm lượng flavonoid:** Sử dụng phương pháp so màu ở bước sóng 510 nm, chất chuẩn là catechin (nồng độ 10, 20, 40, 60, 80, 100 mg/l). 1ml dịch chiết mẫu cho vào bình định mức 10, thêm vào 4 ml nước cất và 0,3 ml NaNO<sub>2</sub> 5%. Sau 5 phút, thêm vào 0,3 ml AlCl<sub>3</sub> 10%. Phút thứ 6, thêm vào hỗn hợp 2 ml NaOH 1M. Sau đó, định mức lên 10 ml và đo độ hấp thụ ở bước sóng 510 nm (Atanassova M *et al.*, 2011).

**Sắc ký cột hở:** Sắc ký cột hở được tiến hành ở điều kiện áp suất khí quyển. Pha tĩnh thường là những hạt có kích thước tương đối lớn (50 – 150 μm), được nạp trong cột thủy tinh, chất hấp thụ được nạp vào cột với tỉ lệ chiều cao chất hấp thụ so với đường kính trong của cột là 10 : 1 (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

**Sắc ký lớp mỏng:** Sắc ký lớp mỏng (TLC) dùng để định tính các hợp chất, giải ly với hệ dung môi Chloroform : Methanol (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

**KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**Một số thành phần trong lá sen:**

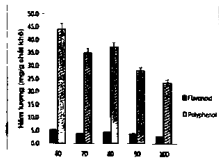
Kết quả khảo sát sơ bộ thành phần trong lá sen được trình bày trong Bảng 1.

**Bảng 1: Thành phần hóa học của lá sen**

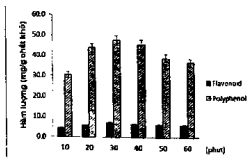
Thành phần	Độ ẩm	Độ tro	Chất béo	Đường tổng	Flavonoid	Polyphenol
Hàm lượng	72%	2,3%	1,06%	4,06%	14,85 mg/g	115,50 mg/g

Kết quả cho thấy hàm lượng flavonoid và polyphenol trong lá sen cao hơn 2,1 lần với flavonoid và 16,4 lần với polyphenol so với trong lá gừng (*Zingiber officinale*) có hàm lượng flavonoid là 7,05 mg/g và polyphenol là 39,10 mg/g (Ghasemzadeh *et al.*, 2010). Vì vậy, nghiên cứu các thành phần có hoạt tính sinh học từ lá sen là phù hợp.

**Khảo sát nhiệt độ sấy lá sen**



Hình 1: Sự ảnh hưởng nhiệt độ sấy lên hàm lượng flavonoid và polyphenol trong lá sen



Hình 2: Sự ảnh hưởng của thời gian sấy lên hàm lượng flavonoid và polyphenol trong lá sen

Theo kết quả khảo sát trong Hình 1, nhiệt độ sấy lá sen ở 60°C có hàm lượng flavonoid và polyphenol cao nhất. Tuy nhiên, ở nhiệt độ này độ ẩm sau khi sấy là 18,0%, với độ ẩm này rất khó bảo quản mẫu trong thời gian dài. Các mẫu nhiệt độ 90, 100°C cho hàm lượng các chất thấp nhất trong tất cả các mẫu khảo sát và nhiệt độ cao có thể làm mất hoạt tính của các chất. Mẫu khảo sát ở 70°C khác nhau không ý nghĩa so với mẫu ở 80°C và độ ẩm sau khi sấy của mẫu 70°C là 7,0% không thể bảo quản lá sen trong thời gian dài. Do đó, nhiệt độ sấy thích hợp là 80°C.

## Khảo sát thời gian sấy

Kết quả khảo sát trong Hình 2 cho thấy, khi thời gian sấy càng kéo dài (40, 50, 60 phút) thì hàm lượng các chất thu được càng giảm. Thời gian 10 phút cho kết quả độ ẩm sau sấy 15,6% và hàm lượng các chất thu được thấp nhất trong các mẫu khảo sát, do thời gian ngắn chưa đủ bắt hoạt enzyme polyphenoloxidase, chính enzyme này sẽ oxy hóa polyphenol thành hợp chất quinon. Các mẫu sấy trong thời gian 20, 30, 40 phút hàm lượng flavonoid và polyphenol thu được cao và có chênh lệch hàm lượng giữa các mẫu, tuy nhiên sự chênh lệch này không có ý nghĩa thống kê. Mẫu sấy ở 20 phút độ ẩm còn khá cao 6,4%, mẫu sấy ở 40 phút không đạt hiệu quả khi thời gian kéo dài tốn năng lượng và làm ảnh hưởng đến hoạt chất sinh học. Mẫu sấy ở 30 phút cho hàm lượng các chất cao nhất và đạt độ ẩm 5,4%. Vì vậy, có thể chọn thời gian sấy thích hợp là 30 phút.

Khảo sát tỉ lệ nguyên liệu : nước (w/v)

Bảng 2: Kết quả khảo sát tỉ lệ nguyên liệu : nước

Tỉ lệ (w/v)	1:20	1:25	1:30	1:35	1:40
Hàm lượng flavonoid (mg/g)	13,11 <sup>a</sup> ± 0,063	14,08 <sup>bc</sup> ± 0,026	14,33 <sup>b</sup> ± 0,138	14,40 <sup>b</sup> ± 0,447	13,85 <sup>a</sup> ± 0,304
Hàm lượng polyphenol (mg/g)	54,55 <sup>a</sup> ± 3,032	78,29 <sup>a</sup> ± 0,438	78,50 <sup>a</sup> ± 0,699	78,64 <sup>a</sup> ± 1,079	78,24 <sup>a</sup> ± 0,932

(\*) Chữ in thường khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự khác nhau giữa các giá trị trung bình là có ý nghĩa thống kê với  $\alpha = 5\%$ .

Theo kết quả khảo sát khi tăng tỉ lệ từ 1:20 lên 1:25 thì tăng hàm lượng flavonoid và polyphenol trong dịch chiết. Do khi tăng lượng nước trích ly, các chất hòa tan trong nguyên liệu sẽ khuếch tán ra ngoài dung dịch dễ dàng hơn. Khi tăng tỉ lệ lên 1:30 và 1:35, theo số liệu trong bảng 2 thì hàm lượng flavonoid và polyphenol có tăng lên nhưng lượng tăng này không đáng kể, vì mẫu ở tỉ lệ 1:25 so với 1:30, 1:35 và 1:40 khác nhau không có ý nghĩa thống kê. Khi tăng lượng nước nhưng không tăng thêm được lượng chất chiết sẽ gây tốn kém chi phí năng lượng cho quá trình cô quay và đồng khô sau này. Vì vậy, tỉ lệ thích hợp cho quá trình trích ly là 1:25 (w/v).

Khảo sát nhiệt độ trích ly

Bảng 3: Kết quả khảo sát nhiệt độ trích ly

Nhiệt độ (°C)	60	70	80	90	100
Hàm lượng flavonoid (mg/g)	6,72 <sup>ac</sup> ± 1,442	4,95 <sup>b</sup> ± 0,285	10,01 <sup>a</sup> ± 1,145	8,02 <sup>c</sup> ± 1,077	5,71 <sup>a</sup> ± 0,026
Hàm lượng polyphenol (mg/g)	65,03 <sup>a</sup> ± 3,428	59,34 <sup>a</sup> ± 4,653	81,50 <sup>a</sup> ± 5,286	75,33 <sup>ab</sup> ± 0,572	73,57 <sup>a</sup> ± 3,011

(\*) Chữ in thường khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự khác nhau giữa các giá trị trung bình là có ý nghĩa thống kê với  $\alpha = 5\%$ .

Nhiệt độ nước tăng sẽ làm tăng nhanh tốc độ phá vỡ tế bào và các chất hòa tan trong nguyên liệu khuếch tán ra ngoài dung dịch nhanh hơn. Vì thế, khi tăng nhiệt độ từ 60 – 70°C lên 80°C làm tăng hàm lượng chất chiết lên từ 1,5 đến 2 lần. Với mẫu có nhiệt độ là 90 và 100°C thì hàm lượng các chất lại giảm xuống, do nhiệt độ cao làm oxy hóa các hợp chất có hoạt tính sinh học. Theo kết quả khảo sát nhiệt độ nước trong quá trình trích ly cho thấy nhiệt độ 80°C phù hợp dùng để trích ly mẫu, với hàm lượng polyphenol và flavonoid tương ứng 81,5 và 10,0 mg/g chất khô.

Khảo sát thời gian trích ly

Là sen khô được trích ly bằng nước ở nhiệt độ 80°C, thời gian có ảnh hưởng lớn đến hiệu suất thu được các chất trong dịch chiết. Tuy nhiên, sử dụng nhiệt trong thời gian dài dễ gây biến đổi hoạt tính sinh học. Quá trình khảo sát cần quan tâm mục tiêu thu được hàm lượng các hợp chất cao nhưng không làm biến đổi hoạt tính của các hợp chất này. Kết quả thí nghiệm được trình bày trong Bảng 4.

Bảng 4: Kết quả khảo sát thời gian trích ly

Thời gian (phút)	10	20	30	40	50
Hàm lượng flavonoid (mg/g chất khô)	8,52 <sup>a</sup> ± 0,026	8,89 <sup>b</sup> ± 0,026	13,00 <sup>c</sup> ± 0,095	12,79 <sup>d</sup> ± 0,079	12,21 <sup>a</sup> ± 0,053
Hàm lượng polyphenol (mg/g chất khô)	75,81 <sup>a</sup> ± 0,159	77,83 <sup>a</sup> ± 0,318	86,45 <sup>a</sup> ± 0,238	105,78 <sup>a</sup> ± 0,095	79,57 <sup>a</sup> ± 0,191

(\*) Chữ in thường khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự khác nhau giữa các giá trị trung bình là có ý nghĩa thống kê với  $\alpha = 5\%$ .

Theo kết quả khảo sát trong bảng 4, khi tăng thời gian trích ly từ 10 phút đến 40 phút thì hàm lượng polyphenol và flavonoid cũng tăng theo, nhưng khi tăng thời gian lên 50 phút thì hàm lượng lại giảm xuống và thấp hơn mẫu ở 30 phút. Hàm lượng polyphenol của mẫu ở 40 phút là 105,78 ± 0,095 mg/g cao nhất trong 5 mẫu khảo sát. Tuy hàm lượng flavonoid của mẫu 30 phút (13,00 ± 0,095 mg/g) cao hơn ở 40 phút (12,79 ± 0,079 mg/g), nhưng trong lá sen thành phần polyphenol lại chiếm chủ yếu và gấp 7,78 lần flavonoid. Vì vậy, chọn thời gian thích hợp cho quá trình trích ly là 40 phút.

Khả năng bắt gốc tự do DPPH của cao tổng

Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của cao tổng (tương ứng với các nồng độ từ 50 – 250 µg/ml được thể hiện trong bảng 5 dưới đây).

Bảng 5: Khả năng bắt gốc tự do DPPH của cao tổng

Nồng độ mẫu (µg/ml)	10	20	30	40	50
Khả năng bắt gốc DPPH (%)	43,55 ± 0,594	67,61 ± 3,078	78,30 ± 0,236	79,01 ± 0,236	79,48 ± 0,238

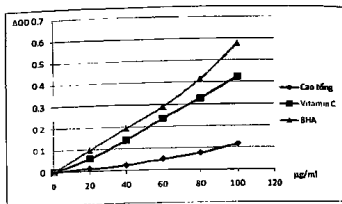
Kết quả nồng độ IC<sub>50</sub> của cao lá sen là 13,98 µg/ml, trong khi đó nồng độ IC<sub>50</sub> của vitamin C là 4,58 µg/ml và của BHA là 3,51 µg/ml. Kết quả cho thấy cao lá sen có hoạt tính kháng oxy hóa cao. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Wu H J và đồng tác giả (2003) với cao lá sen được trích bằng methanol có hoạt tính rất cao, ở nồng độ 50 µg/ml khả năng bắt gốc tự do của cao methanol là 95,1 ± 0,2 %.

**Khảo sát năng lực khử của cao tổng**

Năng lực khử của cao tổng được so sánh với các chất kháng oxy hóa như vitamin C và BHA với cùng nồng độ khảo sát là 100 µg/ml.

Theo kết quả kiểm tra năng lực khử trong hình 3 của cao tổng bằng 27,91% năng lực khử của vitamin C và bằng 20,69% năng lực khử của BHA.

Từ kết quả khả năng bắt gốc tự do và kiểm tra năng lực khử của cao tổng cho thấy, lá sen có hàm lượng chất kháng oxy hóa và hoạt tính của chúng rất cao, vì vậy có thể ứng dụng lá sen vào thực phẩm như một thành phần chất kháng oxy hóa tự nhiên.



Hình 3: Kết quả năng lực khử của cao tổng, vitamin C và BHA

**Khảo sát so sánh hàm lượng flavonoid và polyphenol của lá sen với trà xanh**

Theo kết quả nghiên cứu của các nhà khoa học trong nước và trên thế giới thì trà xanh là loại thực phẩm chứa thành phần chất kháng oxy hóa cao, giúp chống lại các gốc tự do trong cơ thể, v.v. Những nghiên cứu về thành phần chất kháng oxy hóa trong lá sen trích ly bằng nước còn hạn chế, khảo sát này cho thấy lá sen có thể ứng dụng trong thực phẩm nói chung và ngành công nghiệp nước giải khát nói riêng. Kết quả khảo sát được trình bày trong Bảng 6.

Bảng 6: Hàm lượng flavonoid và polyphenol của lá sen và trà xanh

Thành phần	Flavonoid (mg/g)	Polyphenol (mg/g)
Lá sen	2,71 ± 0,158	67,41 ± 0,311
Trà xanh	0,87 ± 0,601	2,71 ± 0,158
IC <sub>50</sub> (µg/ml) của DPPH	13,98	6,71

Hàm lượng polyphenol của trà xanh gấp 2,5 lần của lá sen nhưng hàm lượng flavonoid của lá sen cao hơn trong trà xanh 3 lần. Giá trị IC<sub>50</sub> của lá sen cao hơn trà xanh 2,08 lần, như vậy có thể xem khả năng bắt gốc tự do DPPH của lá sen bằng 50% hoạt tính bắt gốc tự do của trà xanh. Từ kết quả khảo sát cho thấy, việc ứng dụng lá sen vào trong thực phẩm là có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

**Kết quả sắc ký cột của cao tổng (cao nước của lá sen)**

Thu được 5 phân đoạn khác nhau với hệ dung môi giải ly là Chloroform (C) : Methanol (M)

Bảng 7: Kết quả thu phân đoạn từ cao tổng bằng sắc ký cột silica gel

Tên phân đoạn	Dung môi giải ly	Cao (g)	Sắc ký lớp mỏng	Thuốc thử hợp chất phenol*	Hoạt tính sinh học**
CS1	C:M (9:1)	0,0321	2 vết (ø)	Dương tính	Dương tính
CS2	C:M (9:1 và 7:3)	0,0175	1 vết (a)	Dương tính	Dương tính
CS3	C:M (7:3)	0,0502	2 vết (a)	Dương tính	Dương tính
CS4	C:M (7:3)	0,0621	2 vết (a)	Dương tính	Dương tính
CS5	C:M (5:5 và 3:7)	0,091	2 vết (a)	Dương tính	Dương tính

(a) Dung môi giải ly sắc ký bản mỏng là Methanol

(\*) Thuốc thử nhận biết hợp chất phenol khi phun xạ bản mỏng là Benedic, có hợp chất phenol sẽ hiện vết màu vàng trên nền xanh lá của thuốc thử

(\*\*) Thứ hoạt tính sinh học bằng dung dịch DPPH 0,05% trong Methanol, phun xạ bản mỏng, vết nào có hoạt tính kháng oxy hóa sẽ là mất màu tím tại vị trí đó

Kết quả giải ly cột cho đến thời điểm hiện tại thu được 5 phân đoạn đều cho kết quả dương tính với 2 loại thuốc thử, các phân đoạn được giải ly với hệ dung môi có độ phân cực từ trung bình đến phân cực mạnh. Tổng khối lượng cao của các phân đoạn này chiếm 30% so với khối lượng cao tổng ban đầu (0,50g). Kết quả này có ý nghĩa khi cần tìm phân đoạn có khối lượng lớn hoặc hoạt tính cao để tiếp tục khảo sát.

**KẾT LUẬN**

Qua quá trình nghiên cứu, chúng tôi rút ra được những kết luận như sau:

Nhiệt độ sấy thích hợp là 80°C trong thời gian 30 phút.

Tỉ lệ nguyên liệu : dung môi (nước) là 1 : 25 (w/v)

Nhiệt độ trong quá trình trích ly là 80°C, thời gian trích ly thích hợp là 40 phút.

Hiệu suất chiết cao là 17,5%.

Nồng độ IC<sub>50</sub> của cao tổng là 13,98 µg/ml, đây là cơ sở khoa học để chứng minh lá sen chứa thành phần rất tốt cho sức khỏe và có thể ứng dụng cao tổng (cao nước) này vào ngành công nghiệp nước giải khát.

Khi thu các phân đoạn cao chiết và kiểm tra hoạt tính của các phân đoạn này, làm tiền đề cho các nghiên cứu thu nhận chất tinh có hoạt tính cao và thử nghiệm trong các nghiên cứu y sinh.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lâm Thị Kim Châu, Văn Đức Chín, Ngô Đại Nghiệp (2004). Thực tập lớn sinh hóa. Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia TP Hồ Chí Minh.
- Đỗ Tất Lợi (2004). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học. 783 – 786.
- Lê Văn Việt Mẫn, Lại Quốc Đạt, Nguyễn Thị Hiền, Tôn Nữ Minh Nguyệt và Trần Thị Thu Trà (2011). Công nghệ chế biến thực phẩm. Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia TP Hồ Chí Minh.
- Nguyễn Kim Phi Phụng (2007). Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. Nhà xuất bản Đại Học Quốc Gia TP. Hồ Chí Minh. 73- 282
- Atanassova M, Georgieva S, Ivancheva K (2011). Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs, anassova. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* 46(1): 83- 84.
- Ferreira IC, Baptista P, Vilas – Boas M and Barros L (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chem* 100: 511–1516.
- Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Rahmat A (2010). Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules* 15: 4324-4333.
- Hazra B, Biswas S, Mandal N (2008). Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. *BMC Complement Altern Med* 8: 63.
- Wu M J, Wang L and Weng CY (2003). Antioxidant activity of methanol extract of the lotus leaf (*Nelumbo nucifera* Gaertn). *Am J Chin Med* 31(5): 687 – 698
- Huang B, Ban X, He J, Tong J, Tian J and Wang Y (2010). Hepatoprotective and antioxidant activity of ethanolic extracts of edible lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) leaves. *Food Chem* 120(3): 873–878.

## STUDY ON THE ISOLATION OF ANTIOXIDANT FRACTIONAL EXTRACTS ON LOTUS LEAF (*Nelumbo nucifera* Gaertn)

Nguyễn Thị Ngọc Mai<sup>1</sup>, Ngô Đại Nghiệp<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Bách Khoa, Đại học Quốc Gia Tp.HCM

<sup>2</sup>Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia Tp.HCM

### SUMMARY

In this study, the target is extraction and identify antioxidant fractional extracts on lotus leaf. Lotus leaf was dried in 80°C in 30 minutes to achieve moisture 5.4%. To isolation lotus leaf extract use water in 80°C with rate 1:25 in 40 minutes. Lotus leaf was identified the total polyphenol content using Folin-Ciocalteu method (Atanassova M *et al.*, 2011) and the total flavonoid content using optical colorimetric method (Atanassova M *et al.*, 2011). Polyphenols content and flavonoids content in lotus leaves is 115.50 ng/g dry plant material and 14.85 mg/g dry plant material. After isolation lotus leaf extract, drying it in vacuum environment to be extractive powder. Extractive powder were been test antioxidant activities using: Reducing power (Ferreira IC *et al.*, 2007), DPPH method (Hazra B *et al.*, 2008). Antioxidant activities of extractive powder were compared to the antioxidants (vitamin C, BHA). Results of extracts IC<sub>50</sub> is 13.98 µg/ml. Extractive powder was separated fractional extracts using thin-layer chromatography and classical open-column chromatography with solvents (chloroform : metanol) increasing polarization.

**Keywords:** Phenolics-Lotus Leaf, extract polyphenol, Lotus Leaf, extract flavonoid.

\* Author for correspondence: Tel: +84-9-08384920; Email: ngmainguyen@gmail.com