

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG FLAVONOID TỔNG, ANTHOCYANIN TỔNG VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA CỦA CÁC PHÂN ĐOẠN CAO CHIẾT HOA ĐẬU BIẾC (*Clitoria ternatea*)

Trương Văn Xạ*, Trần Kim Thoa, Nguyễn Thị Huỳnh Như

Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long

*Tác giả liên hệ: xatv@vnlute.edu.vn

Ngày nhận bài: 03.08.2021

Ngày chấp nhận đăng: 01.03.2022

TÓM TẮT

Cao chiết hoa đậu biếc (*Clitoria ternatea*) thu được bằng cách trích ly trong 2 loại dung môi là ethanol 60% và methanol 50%; các cao phân đoạn được rửa giải bằng hệ dung môi hexane: ethyl acetate có độ phân cực tăng dần. Kết quả nghiên cứu đã xác định được hiệu suất trích ly cao tổng ethanol lớn hơn so với cao tổng methanol lần lượt là 17,01% và 15,22%, so sánh với nguyên liệu. Hàm lượng flavonoid tổng trong phân đoạn 2 cao chiết methanol là $621,43 \pm 2,33$ mg QE/g cao chiết và anthocyanin tổng trong phân đoạn 3 cao chiết ethanol là $119,58 \pm 1,19$ mg/g cao chiết là lớn nhất. Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết phân đoạn hoa đậu biếc được khảo sát thông qua khả năng khử H_2O_2 và gốc tự do DPPH. Trong đó, giá trị IC_{50} cao phân đoạn 3 methanol là $166,29 \pm 2,53$ μ g/ml, có khả năng khử H_2O_2 mạnh hơn so với axit ascorbic là $176,23 \pm 3,21$ μ g/ml; giá trị IC_{50} của cao phân đoạn 2 và 3 methanol lần lượt là $589,27 \pm 4,09$ μ g/ml và $412,34 \pm 2,91$ μ g/ml đều khả năng khử DPPH mạnh hơn so với axit ascorbic là $656,23 \pm 3,44$ μ g/ml. Như vậy, cao phân đoạn 3 với dung môi rửa giải ethyl acetate là thích hợp để tách chiết các hợp chất thực vật từ hoa đậu biếc có khả năng chống oxy hóa mạnh nhất. Sản phẩm cao chiết hoa đậu có thể sử dụng trong các chế độ ăn kiêng với khả năng làm giảm stress oxy hóa.

Từ khóa: Anthocyanin tổng, cao chiết, đậu biếc, chống oxy hóa, flavonoid tổng.

Determination of Total Flavonoid, Anthocyanin Content and Antioxidant Activity of the Fractions Extract from Butterfly Pea (*Clitoria Ternatea*) Flowers

ABSTRACT

The extract from butterfly pea (*Clitoria ternatea*) flowers was done in ethanol 60% and methanol 50% and its fractions were eluted by hexane:ethyl acetate with increasing polarity. Total efficiency of flower extraction in ethanol (17.01%) was higher than total extraction of the flowers in methanol (15.22%). Fraction 2 of the flowers extracted in methanol showed the highest total flavonoid content (621.43 ± 2.33 mg QE/g extract). The highest total anthocyanin content in fraction 3 extracted in ethanol was 119.58 ± 1.19 mg QE/g extract. The antioxidant activities of extract from butterfly pea flowers were investigated through its ability to reduce H_2O_2 and free radical DPPH. The IC_{50} value in high fraction 3 of the extract in methanol was 166.29 ± 2.53 μ g/ml and its ability to reduce H_2O_2 was stronger than that of ascorbic acid at 176.23 ± 3.21 μ g/ml. The IC_{50} value in high fraction 2 and 3 of the flower extract in methanol was 589.27 ± 4.09 and 412.34 ± 2.91 μ g/ml, respectively and all of these was able to deoxidize DPPH stronger than that of ascorbic acid at 656.23 ± 3.44 μ g/ml. Thus, high fraction 3 with ethyl acetate eluent was suitable for the extraction of plant compounds from butterfly pea flowers with the strongest antioxidant activities. Furthermore, it is suggested that *Clitoria ternatea* can be used in dietary applications with a the potential to reduce oxidative stresses.

Keywords: Antioxidant activity, *Clitoria ternatea*, extract, total anthocyanin, total flavonoid.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Stress oxy hóa là sự mất cân bằng giữa việc sản xuất các gốc tự do và hoạt động của

các chất chống oxy hóa trong cơ thể. Stress oxy hóa là nguyên nhân của nhiều loại bệnh tật nguy hiểm như ung thư, rối loạn thần kinh, tăng huyết áp, rối loạn hô hấp, xơ vữa động

mạch, viêm loét dạ dày, thoái hóa khớp (Bakhtiar & cs., 2017). Hiện nay, có nhiều nghiên cứu sử dụng dịch chiết thực vật như là chất chống oxy hóa tự nhiên như: dịch chiết cây Cỏ tranh (*Imperata cylindrica*) (Parvathy & cs., 2011; Võ Thị Kiều Ngân & cs., 2017); lá bầu đất (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr. (Rosidah & cs., 2008; Phạm Thị Kim Quyên & cs., 2016); cây Môn ngựa (*Colocasia esculenta*) (Pritha & cs., 2015; Nguyễn Văn Bân & cs., 2018); lá Đinh lăng (*Syzygium aromaticum*) (Nguyễn Thị Dung & cs., 2019); rễ Me keo (*Pithecellobium dulce* (ROXB). BENTH) (Katekhaye & Kale, 2012; Nguyễn Thị Ái Lan & cs., 2019); lá Bình bát nước (*Annona glabra* L.) (Huỳnh Thanh Duy & cs., 2020). Hợp chất sinh học thứ cấp được tìm thấy trong các loài thực vật là nguồn dược liệu quý có tác dụng phòng và chữa bệnh (Kasote & cs., 2015; Lumlerdkij & cs., 2018). Flavonoid là một nhóm các hợp chất phenolic có hoạt tính chống oxy hóa có trong các loại thực phẩm đặc biệt là trái cây và rau quả với tác dụng giảm nguy cơ mắc các bệnh mãn tính (Pandey & Agnihotri, 2015). Anthocyanin là hợp chất màu tự nhiên có tác dụng chống ung thư (Ding & cs., 2006), ngăn ngừa bệnh tim mạch và xơ vữa động mạch (Bell & Gochnaur, 2006), bệnh đái tháo đường, phòng ngừa các bệnh do tác nhân oxy hóa gây nên (Martin & cs., 2017).

Cây hoa đậu biếc (*Clitoria ternatea*) là loài cây thân thảo sống lâu năm, thuộc họ đậu và phát triển tốt trong đất ẩm, trung tính (Karel & cs., 2018). Hoa đậu biếc có hai loại đơn và kép, hoa có màu xanh tím hoặc xanh lam đậm đôi khi còn có màu trắng (Bishoyi & Geetha, 2012). Trong hoa đậu biếc có chứa các hợp chất thực vật thứ cấp như flavonoid, alkaloid, tannin, terpenoid, glycoside, phenolic acid và anthocyanin (Rai, 2010; Pendbhaje, 2011; Kavitha & Premalakshmi, 2013). Tại Ấn Độ, hoa đậu biếc được sử dụng như loại dược liệu để điều trị các loại bệnh phổ biến như tăng huyết áp, rối loạn hô hấp, xơ vữa động mạch, viêm loét dạ dày (Chauhan & cs., 2012; Bakhtiar & cs., 2017). Hiện nay, hoa đậu biếc được sử dụng để làm màu thực phẩm, làm trà uống giải nhiệt,

chỉ thị màu hàn the trong thực phẩm. Nghiên cứu này sử dụng dung môi rửa giải hexane: ethyl acetate có độ phân cực tăng dần nhằm ly trích được flavonoid tổng và anthocyanin tổng trong cao chiết hoa đậu biếc; đồng thời khảo sát khả năng chống oxy hóa của các phân đoạn này. Mục tiêu nghiên cứu này nhằm xác định được hàm lượng flavonoid tổng và anthocyanin tổng cũng như khả năng chống oxy hóa của các phân đoạn cao chiết hoa đậu biếc thông qua phương pháp: khả năng khử gốc tự do DPPH và H_2O_2 . Sản phẩm cao chiết hoa đậu biếc là nguồn nguyên liệu tự nhiên tiềm năng có thể sử dụng trong các chế độ ăn kiêng với khả năng làm giảm stress oxy hóa.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Hoa đậu biếc được thu hái ở thành phố Vĩnh Long từ 7-8 giờ sáng và vận chuyển về phòng thí nghiệm, rửa sạch qua nước máy để tiến hành điều chế cao chiết.

Hóa chất: Các hóa chất cần thiết cho nghiên cứu bao gồm: Ethanol (Việt Nam), hexane (Việt Nam), ethyl acetate (Việt Nam), methanol (Việt Nam), Na_2SO_4 khan (Trung Quốc), quercetin (Trung Quốc), H_2O_2 30% (Trung Quốc), axit ascorbic (Trung Quốc) và một số hóa chất khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tách chiết cao tổng và cao phân đoạn

Thí nghiệm bố trí 3 lần lặp lại, với dung môi ethanol 60% và methanol 50% (tỉ lệ 1:1 w/v). Dịch chiết được thu nhận sau 24 giờ, quá trình được lặp lại đến khi chiết kiệt nguyên liệu (khi cánh hoa bị mất màu tím hoàn toàn và chuyển sang màu vàng nhạt). Mẫu dịch chiết được lọc qua Na_2SO_4 khan. Mẫu dịch chiết được làm giàu bằng hệ thống cô quay chân không ở nhiệt độ 45°C, áp suất 0,095atm và tốc độ quay 110 vòng/phút (Hệ thống gồm: máy cô quay WEV-1010, bể điều nhiệt tuần hoàn lạnh MaXircu CL-12 và bơm chân không WEV-0095). Sau đó, mẫu được sấy đối lưu (tủ sấy DS-80) ở nhiệt độ 45°C trong 48 giờ.

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm tách chiết cao phân đoạn hoa đậu biếc

Nghiệm thức	Ký hiệu	Hệ dung môi rửa giải	Tỷ lệ
Cao tổng ethanol	CT-E	Ethanol 60%	1:1 (w/v)
Cao phân đoạn 1 ethanol	E-H1	Hexane: Ethyl acetate	10:0 (v/v)
Cao phân đoạn 2 ethanol	E-H2	Hexane: Ethyl acetate	5:5 (v/v)
Cao phân đoạn 3 ethanol	E-H3	Hexane: Ethyl acetate	0:10 (v/v)
Cao tổng methanol	CT-M	Methanol 50%	1:1 (w/v)
Cao phân đoạn 1 methanol	M-H1	Hexane: Ethyl acetate	10:0 (v/v)
Cao phân đoạn 2 methanol	M-H2	Hexane: Ethyl acetate	5:5 (v/v)
Cao phân đoạn 3 methanol	M-H3	Hexane: Ethyl acetate	0:10 (v/v)

Cao phân đoạn thu được bằng cách trích ly cao tổng ethanol (CT-E) hoặc cao tổng methanol (CT-M) với 2 loại dung môi hexane và ethyl acetate có độ phân cực tăng dần theo bảng 1. Các cao phân đoạn tương ứng được tiến hành cô quay chân không và sấy ở nhiệt độ 45°C đến khi bay hết dung môi. Các sản phẩm cao tổng và cao phân đoạn được trữ trong tủ đông -20°C

2.2.2. Xác định flavonoid tổng

Định lượng flavonoid tổng được thực hiện theo phương pháp của Chang & cs. (2002) có điều chỉnh. Đường chuẩn quercetin với dãy nồng độ 25, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g/ml}$ được chuẩn bị trong methanol. Hỗn hợp phản ứng gồm 0,5ml mẫu cao chiết và 1,5ml methanol và để ổn định trong 5 phút. Sau đó, thêm 0,1ml AlCl_3 10% và cho phản ứng trong 5 phút. Cuối cùng, thêm 0,1ml CH_3COOK 1M và 2,8ml nước cất, lắc đều và để ổn định 45 phút ở nhiệt độ phòng. Mẫu thí nghiệm được tiến hành được đo quang phổ hấp thụ tại 415nm.

Hàm lượng flavonoid tổng trong mẫu cao chiết được tính dựa vào đường chuẩn quercetin (QE) theo công thức sau:

$$\text{Flavonoid tổng (mg QE/g cao chiết)} = \frac{c \times V}{m}$$

Trong đó: c là hàm lượng flavonoid tổng được suy ra từ đường chuẩn quercetin ($\mu\text{g/ml}$), V là thể tích dịch chiết (ml), m là khối lượng cao chiết có trong V (g).

2.2.3. Xác định anthocyanin tổng

Hàm lượng anthocyanin tổng được xác định theo phương pháp pH vi sai ở pH 1 và pH 4,5

bằng cách đo quang phổ hấp thụ ở bước sóng 520 và 700nm (Wrolstand, 1993; Giusti & cs., 1999; Lee & cs., 2005). Hàm lượng anthocyanin được tính theo cyanidin-3-glucoside tương đương. Anthocyanin tổng (mg/g cao chiết) = $[(A \times M_w \times DF) / (\epsilon \times l)] \times (V/m) \times 10^3$

Trong đó: $A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4.5}$;

M_w : khối lượng phân tử = 449,2 g/mol cho cyanidin-3-glucoside;

DF: hệ số pha loãng mẫu;

l: chiều dày của cuvet (1cm);

ϵ : hệ số hấp thụ phân tử của anthocyanins ($\epsilon = 26.900$);

V: tổng thể tích mẫu chiết (ml);

m: khối lượng cao chiết (g).

2.2.4. Khảo sát hoạt tính khử hydrogen peroxide (H_2O_2)

Thí nghiệm xác định hoạt tính khử H_2O_2 của cao chiết được tiến hành theo phương pháp của Rahate & cs. (2013) có điều chỉnh. Đường chuẩn phân trăm ức chế H_2O_2 của axit ascorbic với dãy nồng độ 50; 100; 150; 200; 250 $\mu\text{g/ml}$ được pha trong methanol; với giá trị $x = \text{IC}_{50}$ của axit ascorbic mà tại đó ức chế 50% H_2O_2 ($y = 50\%$). Hỗn hợp phản ứng gồm 2ml dung dịch cao chiết nồng độ tương ứng 50; 100; 150; 200; 250 $\mu\text{g/ml}$ được pha trong methanol và 1ml H_2O_2 4mm, cho phản ứng trong 20 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó đo độ hấp phụ quang phổ ở bước sóng 230nm. Đối với mẫu đối chứng thì 1ml H_2O_2 được thay bằng 1ml methanol.

Xác định hàm lượng flavonoid tổng, anthocyanin tổng và hoạt tính chống oxy hóa của các phân đoạn cao chiết hoa đậu biếc (*Clitoria ternatea*)

$$\text{Xác định phân trăm ức chế H}_2\text{O}_2 (\%) = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

Trong đó: A_0 là giá trị hấp thụ mẫu đối chứng, A là giá trị hấp thụ của mẫu có H_2O_2 .

2.2.5. Khảo sát khả năng khử gốc tự do 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch cao chiết được tiến hành theo phương pháp của Blois (1958) có điều chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 2 ml dung dịch cao chiết nồng độ tương ứng 100; 250; 500; 750; 1.000 $\mu\text{g/ml}$ được pha trong methanol và 1ml DPPH 0,1mm, lắc đều và ủ tối trong 30 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó đo độ hấp phụ quang phổ. Mẫu thí nghiệm được tiến hành đo quang phổ hấp thụ tại 517nm. Mẫu đối chứng thì 1ml DPPH được thay bằng 1ml methanol.

$$\text{Xác định khử gốc tự do DPPH (\%)} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

Trong đó: A_0 là giá trị hấp thụ mẫu đối chứng, A là giá trị hấp thụ của mẫu có DPPH. Giá trị IC_{50} là nồng độ dịch chiết cho khả năng khử gốc tự do DPPH là 50%.

2.2.6. Phân tích và xử lý số liệu

Kết quả thực nghiệm được nhập liệu bằng Microsoft Excel 2016 và phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS 16.0. Mỗi thí nghiệm được bố trí ba lần lặp lại. Phân tích phương sai ANOVA theo hai nhân tố với phép thử Duncan để xác định và so sánh các giá trị trung bình.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định khối lượng cao chiết

Kết quả nghiên cứu xác định được khối lượng cao tổng ethanol được tách chiết từ 1.000g hoa đậu biếc tươi là $170,62 \pm 5,21\text{g}$; đối với cao

tổng methanol là $152,16 \pm 3,74\text{g}$; hiệu suất trích ly cao tổng của ethanol cao hơn so với methanol lần lượt là 17,01% và 15,22% (Bảng 2). Theo Zhang (2015), các dung môi có độ phân cực khác nhau sẽ chiết xuất hợp chất từ thực vật khác nhau; trong đó độ phân cực của methanol và ethanol lần lượt là 0,762 và 0,654 (Reichardt & Welton, 2010).

Sử dụng mỗi loại cao tổng 120g để thực hiện sắc ký nhanh cột khô. Trong đó, khối lượng silica gel trộn mẫu là 150g, khối lượng silica gel pha tĩnh là 300g, cột sắc ký có đường kính 8,5cm, chiều cao lớp silica gel là 6cm, dung môi rửa giải tương ứng với bảng 1.

Kết quả thí nghiệm cho thấy, đối với cao tổng ethanol thì hiệu suất nhỏ nhất ở cao phân đoạn 1 (E-H1); đối với cao tổng methanol thì ở phân đoạn 3 (M-H3). Trong khi đó, phân đoạn 2 của cao chiết ethanol (E-H2) và methanol (M-H2) có hiệu suất trích ly lớn nhất lần lượt là $15,23 \pm 0,60\%$ và $16,43 \pm 1,36\%$. Như vậy, hỗn hợp dung môi hexane: ethyl acetate (tỉ lệ 5:5 v/v) cho khả năng rửa giải được nhiều hợp chất thực vật từ nguồn cao tổng tương ứng nên hiệu suất thu hồi của phân đoạn này luôn cao hơn so với các phân đoạn còn lại.

Trong thí nghiệm đã sử dụng dung môi không phân cực (hexane), dung môi có độ phân cực thấp (hexane:ethyl acetate) và dung môi phân cực trung bình (ethyl acetate, ethanol) để rửa giải các hợp chất thực vật. Theo Talla & cs. (2014), một số hợp chất thực vật thường có xu hướng lưỡng cực vì chúng có một nhóm hydroxyl (OH) trên mạch carbon nhưng mạch carbon này lại không phân cực, có thể trong thí nghiệm này các hợp chất thực vật có mạch carbon không phân cực đã tham gia phản ứng với dung môi có độ phân cực thấp, do đó hiệu suất thu hồi cao chiết của dung môi này luôn cao hơn các dung môi còn lại.

Bảng 2. Khối lượng cao chiết và hiệu suất trích ly các cao phân đoạn hoa đậu biếc

	Thí nghiệm							
	CT-E	E-H1	E-H2	E-H3	CT-M	M-H1	M-H2	M-H3
Cao chiết (g)	$170,62 \pm 5,21$	$7,16 \pm 0,37$	$18,28 \pm 0,72$	$10,87 \pm 1,06$	$152,16 \pm 3,74$	$9,72 \pm 1,04$	$19,72 \pm 1,65$	$9,23 \pm 0,88$
Hiệu suất (%)	$17,01 \pm 2,21$	$5,97 \pm 0,31$	$15,23 \pm 0,60$	$9,06 \pm 0,88$	$15,22 \pm 0,37$	$8,10 \pm 0,87$	$16,43 \pm 1,36$	$7,69 \pm 0,73$

Ghi chú: CT-E: Cao tổng ethanol; E-H1, E-H2, E-H3: Cao phân đoạn 1, 2, 3 ethanol; CT-M: Cao tổng methanol; M-H1, M-H2, M-H3: Cao phân đoạn 1, 2, 3 methanol.

Bảng 3. Hàm lượng flavonoid tổng và anthocyanin tổng các cao phân đoạn hoa đậu biếc

Nghiệm thức	Hàm lượng flavonoid tổng (mg QE/g cao chiết)	Hàm lượng anthocyanin tổng (mg/g cao chiết)
CT-E	332,20 ^f ± 0,59	94,39 ^c ± 0,76
E-H1	123,89 ^h ± 1,19	23,98 ^h ± 0,12
E-H2	499,19 ^e ± 1,93	75,29 ^e ± 1,02
E-H3	403,74 ^e ± 3,10	119,58 ^a ± 1,19
CT-M	423,60 ^d ± 0,44	78,35 ^d ± 0,89
M-H1	215,22 ^g ± 0,53	34,79 ^g ± 0,23
M-H2	621,43 ^a ± 2,33	55,34 ^f ± 1,22
M-H3	549,67 ^b ± 1,44	98,92 ^b ± 1,10

Ghi chú: Trên cùng một cột các giá trị trung bình mang chữ cái giống nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) bằng phép thử Duncan.

Bảng 4. Hoạt tính chống oxy hóa các cao chiết phân đoạn hoa đậu biếc

Nghiệm thức	Nồng độ ức chế 50% H ₂ O ₂ - IC ₅₀ (µg/ml)	Nồng độ ức chế 50% DPPH - IC ₅₀ (µg/ml)
CT-E	340,36 ^e ± 5,87	730,56 ^a ± 9,67
E-H1	478,78 ^a ± 7,01	739,17 ^a ± 7,22
E-H2	231,30 ^e ± 2,92	591,79 ^e ± 5,08
E-H3	193,47 ^f ± 1,98	521,86 ^f ± 4,65
CT-M	248,97 ^d ± 6,43	711,67 ^b ± 4,51
M-H1	410,26 ^b ± 4,74	678,38 ^c ± 5,19
M-H2	235,20 ^e ± 3,07	589,27 ^e ± 4,09
M-H3	166,29 ^h ± 2,53	412,34 ^g ± 2,91
Axit ascorbic	176,23 ^g ± 3,21	656,23 ^d ± 3,44

Ghi chú: Trên cùng một cột các giá trị trung bình mang chữ cái giống nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) bằng phép thử Duncan.

3.2. Hàm lượng flavonoid tổng và anthocyanin tổng

Kết quả khảo sát hàm lượng flavonoid tổng và anthocyanin tổng của cao tổng ethanol (CT-E), cao tổng methanol (CT-M) và cao 3 phân đoạn tương ứng được trình bày ở bảng 3. Hàm lượng flavonoid tổng của cao chiết methanol lớn hơn so với cao chiết ethanol, đối với hàm lượng anthocyanin tổng thì ngược lại. Các cao phân đoạn sử dụng dung môi hexane và ethyl acetate có độ phân cực tăng dần theo bảng 1, thì khả năng phân tách hợp chất flavonoid tổng và anthocyanin tổng có trong cao chiết càng lớn. Trong đó, hàm lượng flavonoid tổng

trong phân đoạn 2 cao chiết methanol (M-H2) là 621,43 ± 2,33mg QE/g cao chiết và hàm lượng anthocyanin tổng trong phân đoạn 3 cao chiết ethanol (E-H3) là 119,58 ± 1,19 mg/g cao chiết, khác biệt ý nghĩa thống kê ($P > 0,01$) bằng phép thử Duncan so với các nghiệm thức khác.

Nghiên cứu xác định hàm lượng anthocyanin tổng trong cao chiết dung môi ethanol lớn hơn so với cao chiết methanol; kết quả nghiên cứu hoàn toàn tương đồng với Trương Văn Xạ & cs. (2021) và Lê Phương Uyên & cs. (2019) đã xác định ethanol nồng độ 50-60% là dung môi thích hợp để trích ly anthocyanin trên các loại nguyên liệu thực vật bản địa.

3.3. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết

Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết phân đoạn hoa đậu biếc được khảo sát thông qua khả năng khử H_2O_2 và gốc tự do DPPH (Bảng 4); kết quả đánh giá được thể hiện qua giá trị nồng độ cao chiết mà tại đó có thể ức chế 50% H_2O_2 hoặc 50% DPPH (IC_{50}). Giá trị IC_{50} càng thấp thì mẫu có hoạt tính chống oxy hóa càng mạnh và ngược lại. Đối chứng dương của thí nghiệm là hoạt tính chống oxy hóa của axit ascorbic.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, các cao chiết phân đoạn methanol có khả năng khử H_2O_2 và gốc tự do DPPH mạnh hơn so với cao chiết ethanol. Các cao chiết phân đoạn được rửa giải với hệ dung môi hexane và ethyl acetate có độ phân cực tăng dần thì khả năng chống oxy hóa càng mạnh. Trong đó, nghiên cứu đã xác định được khả năng khử H_2O_2 của M-H3 ($166,29 \pm 2,53 \mu\text{g/ml}$) có khả năng khử mạnh hơn axit ascorbic ($176,23 \pm 3,21 \mu\text{g/ml}$). Trong khi đó, khả năng khử gốc tự do DPPH thì các phân đoạn 2 và 3 của cao chiết đều khả năng khử mạnh hơn so với axit ascorbic; mạnh nhất là phân đoạn M-H3 ($412,34 \pm 2,91 \mu\text{g/ml}$). Kết quả nghiên cứu tương đồng với nghiên cứu của Huỳnh Thanh Duy & cs. (2020), phân đoạn cao chiết lá Bình bát nước có tỉ lệ hexane:ethyl acetate (0:1 v/v) cũng khả năng chống oxy hóa mạnh nhất. Như vậy, khả năng khử H_2O_2 và DPPH cao chiết hoa đậu biếc được rửa giải bằng dung môi hexane:ethyl acetate (0:1 v/v) là mạnh hơn so với axit ascorbic, giá trị IC_{50} lần lượt là $166,29 \pm 2,53$ và $412,34 \pm 2,91 \mu\text{g/ml}$.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định hiệu suất trích ly cao tổng hoa đậu biếc trong dung môi ethanol 60% và methanol 50%. Hiệu suất thu hồi ba phân đoạn cao tương ứng được rửa giải từ dung môi hexane: ethyl acetate có độ phân cực tăng dần thì càng ít. Hàm lượng flavonoid tổng của cao chiết methanol đều lớn hơn so với cao chiết ethanol ở tất cả các nghiệm thức khảo sát. Trong khi đó, anthocyanin tổng thì ngược lại,

ethanol là dung môi thích hợp hơn methanol trong trích ly anthocyanin từ hoa đậu biếc. Khả năng chống oxy hóa của cao chiết methanol và 3 phân đoạn tương ứng đều mạnh hơn cao chiết ethanol. Trong đó, phân đoạn 3 cao chiết methanol có khả năng khử H_2O_2 và phân đoạn 2, 3 cao metanol có khả năng khử gốc tự do DPPH đều thấp hơn so với axit ascorbic có ý nghĩa ở mức thống kê 95%. Như vậy, phân đoạn 3 với dung môi rửa giải ethyl acetate là thích hợp để tách chiết cao phân đoạn hoa đậu biếc có khả năng chống oxy hóa mạnh nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bakhtiar L.M., Nigar S.M., Eleas J., Md. A.bbur R. & Ismail H. (2017). Phytochemistry and pharmacological activities of *Clitoria ternatea*. International Journal of Natural and Social Sciences. 4(1): 1-10.
- Bell D.R. & Gochenaur K. (2006). Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. Journal of Applied Physiology. 100(4): 1164-70. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00626.2005>.
- Bishoyi S.K. & Geetha K. (2012). Polymorphism in flower colour and petal type in Aparajita (*Clitoria ternatea*). Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 3(2): 12-14.
- Blois M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 181: 1199-1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M. & Chern J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and drug analysis. 10(3): 178-182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Chauhan N., Rajvaidhya S. & Dudey B.K. (2012). Pharmacognostical, phytochemical and pharmacological review on *Clitoria ternatea* for antiasthmatic activity. International Journal of Pharmaceutical and Sciences and Researches. 3: 398-404.
- Ding M., Feng R., Wang S.Y., Bowman L., Lu Y., Qian Y., Castranova V., Jiang B.H., Shi X. (2006). Cyanidin-3-glucoside, a natural product derived from blackberry, exhibits chemopreventive and chemotherapeutic activity. Journal of Biological Chemistry. 281(25): 17359-68. <https://doi.org/10.1074/jbc.M600861200>.
- Giusti M.M., Rodríguez-Saona L.E. & Wrolstad R.E. (1999). Molar absorptivity and color characteristics

- of acylated and non-acylated pelargonidin-based anthocyanins. *Journal of agricultural and food chemistry*. 47(11): 4631-4637.
- Huỳnh Thanh Duy, Lương Phong Dũ, Nguyễn Văn Thành & Nguyễn Đức Độ. (2020). Khảo sát thành phần hóa học và khả năng chống oxy hóa của các phân đoạn cao chiết lá già từ cây Bình bát nước (*Annona glabra* L.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp*, Trường Đại học Nông Lâm Huế. 4(1): 1668-1678.
- Karel A., Kumar H. & Chowdhary B. (2018). *Clitoria ternatea* L.A Miraculous Plant. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 7(9): 672-674.
- Katekhaye S.D. & Kale M.S. (2012). Antioxidant and free radical scavenging activity of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. wood bark and leaves. *Free Radicals and Antioxidants*. 2(3): 47-57. <https://doi.org/10.5530/ax.2012.3.7>
- Kavitha R. & Premalakshmi V. (2013). Phytochemical analysis of ethanolic extract of leaves of *Clitoria ternatea* L. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. pp. 236-242.
- Lê Phương Uyên, Ngô Đại Hùng & Võ Thanh Sang. (2019). Khảo sát điều kiện tách chiết anthocyanin có hoạt tính chống oxy hóa cao từ quả Sim Phú Quốc. *Tuyển tập báo cáo toàn văn Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc 2019*. YD-003: 192-197.
- Lee J., Durst R.W. & Wrolstad R.E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *J. AOAC Int*. 88: 1269-1278.
- Martin J., Kuskoski E.M., Navas M.J. & Asuero A.G. (2017). Antioxidant capacity of anthocyanin pigments. *Intech: Rijeka*.
- Nguyễn Thị Ái Lan, Trà Lâm Tuấn Vũ & Đái Thị Xuân Trang (2019). Khả năng chống oxy hóa của cao methanol rễ Me keo (*Pithecellobium dulce* (ROXB). BENTH) trên chuột bị stress oxy hóa. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 55(1A): 47-53.
- Nguyễn Thị Dung, Phạm Hải Sơn, Lê Thị Huyền, Đoàn Thị Tám, Lưu Thị Phương Thảo, Nguyễn Văn Toàn & Nguyễn Đăng Quân (2019). So sánh hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn của cao chiết ethanol từ một số cây thảo dược. *Tuyển tập báo cáo toàn văn, hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc 2019*. HS-021: 134-138.
- Nguyễn Văn Bản, Huỳnh Thanh Duy, Trần Hải Dương, Trần Thị Tuyết Nhung, Thạch Trọng Nghĩa, Nguyễn Đức Độ & Huỳnh Ngọc Thanh Tâm (2018). Khảo sát hàm lượng polyphenol, saponin, hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn từ cao chiết rễ và củ rễ cây Môn ngựa (*Colocasia esculenta*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp*, Trường Đại học Nông Lâm Huế. 2(3): 831-838.
- Pandey A. & Agnohitri V. (2015). Antimicrobials from medicinal plants: Research initiatives, challenges, and the future prospects. *Biotechnology of Bioactive Compounds: Sources and Applications in Food and Pharmaceuticals*, John Wiley & Sons, Ltd. pp. 123-150.
- Parvathy N.G, Padma R., Renjith V., Kalpana P., Rahate & Saranya T.S. (2011). Phytochemical screening and anthelmintic activity of methanolic extract of *Imperata cylindrica*. *International Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 4(1): 232-234.
- Pendbhave N.S., Sudheendra G., Pthan S.M. & Musmade D.S. (2011). Ethanopharmacology, pharmacognosy and phytochemical profile of *Clitoria ternatea* Linn: An overview. *Pharmacology online*. 4(3): 166-175.
- Phạm Thị Kim Quyên, Nguyễn Văn Minh & Nguyễn Thế Hân (2016). Ảnh hưởng của điều kiện chiết đến hàm lượng polyphenol và khả năng chống oxy hóa của dịch chiết Lá bầu đất (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) trồng tại Khánh Hòa. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 14(8): 1348-1360.
- Pritha C., Papiya D., Sudeshna C., Bohnisikha C. & Abraham J. (2015). Cytotoxicity and antimicrobial activity of *Colocasia esculenta*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(12): 627-635.
- Rahate K.P., Padma R., Parkavi N.G. & Renjith V. (2013). Quantitative estimation of tannins, phenols and antioxidant activity of methanolic extract of *Imperata cylindrica*. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 4(1): 73-77.
- Rai K.S. (2010). Neurogenic Potential of *Clitoria ternatea* Aqueous Root Extract - A Basis for Enhancing Learning and Memory. *World Academy of Science, Engineering and Technology*. 70: 237-240.
- Reichardt C. & Welton T. (2010). Solvents and solvent effects in organic chemistry. *John Wiley & Sons*.
- Rosidah Yam M.F., Sadikun A. & Asmawi M.Z. (2008). Antioxidant potential of *Gynura procumbens*. *Pharmaceutical Biology*. 46: 616-625. <https://doi.org/10.1080/13880200802179642>.
- Talla E., Tamfu A.N., Biyanzi P., Sakava P., Asobo F.P., Mbafor J.T. & Ndjouenkeu R. (2014). Phytochemical screening, antioxidant activity, total polyphenols and flavonoids content of different extracts of propolis from Tekel (Ngaoundal,

Xác định hàm lượng flavonoid tổng, anthocyanin tổng và hoạt tính chống oxy hóa của các phân đoạn cao chiết hoa đậu biếc (*Clitoria ternatea*)

- Adamawa region ameroon). The Journal of Phytopharmacology. 3(5): 321-329.
- Trương Văn Xạ, Nguyễn Trung Trực & Huỳnh Thị Phương Thảo (2021). Ảnh hưởng của sóng siêu âm lên hàm lượng anthocyanins trích ly từ bắp cải tím (*Brassica oleracea* var. capitata) và rau dền đỏ (*Amaranthus tricolor*). Tạp chí Khoa học và Công nghệ. 3-4: 82-87.
- Võ Thị Kiều Ngân, Nguyễn Thị Ngọc Mai, Nguyễn Thanh Hoàng, Trần Hồng Đức & Nguyễn Đức Độ (2017). Khảo sát hàm lượng phenolic tổng, flavonoid tổng, hoạt tính chống oxy hóa và hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết ethanol và methanol của lá và thân rễ cây Cỏ Tranh (*Imperata cylindrica*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 52(B): 16-22.
- Wrolstad R.E. (1993). Color and pigment analyses in fruit products. Agricultural Experiment Station, Oregon State University, Station Bulletin.
- Zhang Q. (2015). Effects of extraction solvents on phytochemicals and antioxidant activities of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. European Journal of Food Science and Technology. 3(5): 15-21.