

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY SIÊU ÂM MỘT SỐ HỢP CHẤT CÓ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA TỪ LÁ CÂY SEN (*Nelumbo nucifera*) Ở TỈNH NGHỆ AN

Mai Văn Khánh¹, Phạm Đình Nhật Trung¹, Nguyễn Thành Nguyên¹,

Trần Phan Tuấn Anh¹, Nguyễn Tân Thành^{1,*}

¹Viện Công nghệ Hóa sinh và Môi trường, Trường Đại học Vinh

*Email: nguyentanthanh@vinhuni.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt (Response Surface Methodology) để xác định điều kiện trích ly tối ưu hàm lượng tổng phenolic, tổng flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa (DPPH) từ lá cây Sen (*Nelumbo nucifera*) có sự hỗ trợ của sóng siêu âm. Bố trí thí nghiệm theo thiết kế Box - Behnken, đã xây dựng được mô hình tối ưu quy trình trích ly các hàm mục tiêu trên với ba yếu tố là: Nhiệt độ trích ly (X_1), thời gian trích ly (X_2), nồng độ ethanol (X_3). Điều kiện tối ưu các thông số công nghệ của quá trình trích ly được xác định tại nhiệt độ trích ly 71°C, thời gian trích ly 50 phút và nồng độ dung môi là 44%, kết quả thu được như sau: Hàm lượng tổng phenolic là $45,12 \pm 0,15$ mg GAE/g, hàm lượng tổng flavonoid là $14,04 \pm 0,11$ mg CE/g, hoạt tính chống oxy hóa thông qua xác định khả năng khử gốc tự do DPPH đạt $79,15 \pm 0,22\%$.

Từ khóa: *Nelumbo nucifera*, phenolic, flavonoid, DPPH, phương pháp bề mặt đáp ứng, trích ly, siêu âm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Sen còn có tên là quỳ, liên, tên khoa học *Nelumbo nucifera* Gaertn., thuộc họ Nelumbonaceae. Sen thường mọc dưới nước, có thân rễ hình trụ nằm trong bùn thường gọi là ngó sen. Lá sen (liên diệp) mọc lên khỏi mặt nước, có cuống lá dài, có gai nhỏ, phiến lá hình lòng to, đường kính 60 - 70 cm có gân tỏa tròn. Sen được trồng nhiều nơi ở nước ta để ăn và dùng làm thuốc. Mùa thu hái vào các tháng 7 - 9 [1]. Trong lá sen chứa nhiều các hợp chất có hoạt tính sinh học, tuy nhiên thành phần chủ yếu là các hợp chất: Flavonoid [2], alkaloid [3], tanin, vitamin C, axit citric, axit tauric, axit oxalic... [4, 5]. Ngoài ra, các thành phần hóa học này cũng có nhiều trong các bộ phận khác của cây Sen [6, 7]. Lá sen có vị đắng, tính mát, dùng làm thuốc an thần, hạ huyết áp, chữa bệnh tả, băng huyết, đi ngoài ra máu, nôn ra máu, tăng lipid máu, sốt và các bệnh về da [8]. Đã có nhiều nghiên cứu về các hoạt tính có trong lá sen được công bố như: Hoạt tính chống oxy hóa

[9], hoạt tính kháng virus [2], chống béo phì... [10].

Trích ly siêu âm là một phương pháp trích ly bằng cách sử dụng sóng siêu âm để tạo ra các cung cấp năng lượng cơ học nhẹ nhàng nhằm phá vỡ cấu trúc tế bào và giải phóng các chất hoạt tính từ nguyên liệu. Nó cho phép trích ly chất từ các mẫu vật liệu khác nhau bằng cách sử dụng sóng siêu âm để tăng cường quá trình trích ly. Công nghệ này đã được sử dụng trong nhiều lĩnh vực, từ sản xuất thực phẩm đến dược phẩm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu và thiết bị

2.1.1. Vật liệu

Lá cây Sen được thu hái tại huyện Nam Đàn, tỉnh Nghệ An vào tháng 8 năm 2023. Mẫu sau khi thu nhận được rửa sạch, thái lát, sấy khô (sử dụng phương pháp sấy bơm nhiệt ở nhiệt độ 40 - 45°C, thời gian 15 - 16 tiếng đến khi độ ẩm nhỏ hơn 8%) và nghiền nhỏ (máy nghiền búa) qua lưới nghiền

có kích thước 2 mm. Mẫu sau khi nghiền được hút chân không và bảo quản ở 0 - 2°C trước khi tiến hành các bước tiếp theo.

2.1.2. Thiết bị

Thiết bị siêu âm của hãng Chín Ying Fa, Đài Loan (ký hiệu: CYF-TES600N-4S), máy sấy bơm nhiệt (CYF- EL040), máy nghiền búa (CYF-G12), thiết bị UV-Vis (Agilent 8453 UV-Visible Spectrophotometer), cân phân tích.

2.1.3. Hóa chất

Các dung môi dùng trong trích ly ethanol (EtOH) đều là loại tinh khiết dùng cho nghiên cứu chiết tách các hợp chất tự nhiên. Các chất chuẩn phân tích: Catechin, axit gallic, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl được mua từ Sigma-Aldrich (Mỹ) với độ tinh khiết > 99,5%. Các hóa chất khác mua từ Trung Quốc.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Hàm lượng tổng phenolic (TPC)

Hàm lượng tổng phenolic từ dịch chiết lá cây Sen được xác định theo phương pháp của Singleton và cs (1999) [11]. Hút 1 ml dịch mẫu pha loãng, thêm 5 ml thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% và lắc đều, sau 3 phút tiếp tục thêm 4 ml dung dịch Na₂CO₃ 7,5%, lắc đều và để yên 1 giờ trong bóng tối, sau đó tiến hành so màu ở bước sóng 765 nm bằng máy đo quang phổ Agilent 8453. Đơn vị mg GAE/g bột khô.

2.2.2. Hàm lượng tổng flavonoid (TFC)

Hàm lượng tổng flavonoid từ dịch chiết lá cây Sen được xác định theo phương pháp của D. Marinova và cs (2005) [12] dựa trên sự hình thành phức hợp Al-flavonoid. Sử dụng catechin làm chất chuẩn, một phần dịch chiết (1 ml) hoặc dung dịch catechin chuẩn đã được thêm vào bình định mức 10 ml chứa 4 ml H₂O, sau đó thêm 0,3 ml NaNO₂ 5%. Sau 5 phút, thêm tiếp 0,3 ml dd AlCl₃ 10%. Sau 6 phút, cho thêm 2 ml NaOH 1M và định mức đến thể tích 10 ml bằng nước cất. Dung dịch được trộn đều và độ hấp thụ được đo ở bước sóng 510 nm bằng máy đo quang phổ Agilent 8453. Đơn vị mg CE/g bột khô.

2.2.3. Xác định hoạt tính chống oxy hóa theo khả năng khử gốc tự do DPPH

Hoạt tính chống oxy hóa thông qua xác định khả năng khử gốc tự do DPPH từ dịch chiết lá cây Sen được xác định theo phương pháp của Fu và cs (2002) [13]. Lấy khoảng 20 – 140 µl dịch chiết pha với nước cất để hỗn hợp dịch đạt thể tích 3 ml. Sau đó thêm 1 ml dung dịch DPPH 0,2 mM, lắc đều và để yên trong bóng tối 30 phút. Độ hấp thụ quang học được đo ở bước sóng 517 nm.

Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định theo công thức (1):

$$\text{DPPH (\%)} = 100 \times (\text{Abs}_s - \text{Abs}_c) / \text{Abs}_s \quad (1)$$

Trong đó: Abs_s là độ hấp thụ quang học của mẫu trắng không chứa dịch chiết; Abs_c là độ hấp thụ quang học của mẫu có chứa dịch chiết.

2.2.4. Trích ly siêu âm

Tiến hành nghiên cứu các thí nghiệm theo tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/30 (g/ml), công suất siêu âm là 300 W. Mỗi thí nghiệm cân 5 g mẫu cho vào bình tam giác thể tích 500 ml, thêm dung môi với tỷ lệ cho trước. Cho bình vào thiết bị siêu âm có thể tích 20 L, điều chỉnh công suất sóng siêu âm 300 W. Tiến hành trích ly và phân tích kết quả tại các điều kiện thí nghiệm.

2.2.5. Bố trí thí nghiệm

Sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng để xác định điều kiện tối ưu quá trình trích ly hàm lượng tổng phenolic, tổng flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa từ lá cây Sen. Nghiên cứu ảnh hưởng của các thông số nhiệt độ trích ly (X₁), thời gian trích ly (X₂) và nồng độ của dung môi ethanol (X₃). Sử dụng phương án thiết kế các thí nghiệm theo Box – Behnken với 12 thí nghiệm ở hai mức (trên và dưới) và 5 thí nghiệm ở tâm. Mỗi thí nghiệm được tiến hành 3 lần và lấy kết quả trung bình. Mô hình toán học có dạng tổng quát như sau:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j \quad (2)$$

Trong đó: Y là hàm mục tiêu; X_i, là các biến mã hóa ảnh hưởng đến hàm mục tiêu; β₀, β_i, β_{ij} là các hệ số hồi quy.

Trong nghiên cứu này, đã lựa chọn miền khảo sát của các yếu tố để tiến hành tối ưu hóa điều kiện trích ly hàm lượng tổng phenolic, tổng flavonoid và DPPH với các giá trị: Nhiệt độ 50 - 80°C, thời gian 30 - 60 phút, nồng độ ethanol 30 - 70% [14].

Bảng 1. Mã hóa của các biến độc lập

Các biến độc lập	Kí hiệu	Các mức mã hóa		
		-1	0	+1
Nhiệt độ trích ly (°C)	X ₁	50	65	80
Thời gian trích ly (phút)	X ₂	30	45	60
Nồng độ dung môi (%)	X ₃	30	50	70

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thiết lập mô hình

Sử dụng phương án thiết kế thí nghiệm theo Box – Behnken của phần mềm Design-Expert®,

phiên bản 11.0 để tiến hành tối ưu hóa điều kiện trích ly nhằm thu được tối đa hàm lượng tổng phenolic, tổng flavonoid và DPPH.

Bảng 2. Thiết kế thí nghiệm và kết quả

Thí nghiệm	Nhiệt độ trích ly X ₁ (°C)	Thời gian trích ly X ₂ (phút)	Nồng độ dung môi X ₃ (%)	Hàm lượng tổng phenolic Y ₁ (mg GAE/g)	Hàm lượng tổng flavonoid Y ₂ (mg CE/g)	Hoạt tính chống oxy hóa DPPH Y ₃ (%)
1	50	60	50	37,25	10,52	77,51
2	65	45	50	44,85	13,84	80,42
3	50	45	70	41,09	10,57	77,67
4	65	30	70	40,26	13,33	79,21
5	65	30	30	36,22	13,26	78,91
6	65	60	30	42,40	14,47	79,47
7	80	30	50	37,45	13,28	79,14
8	65	60	70	42,69	13,42	79,15
9	80	60	50	43,43	13,51	79,47
10	65	45	50	45,27	13,71	80,39
11	65	45	50	45,83	13,78	80,25
12	65	45	50	45,02	13,76	80,33
13	65	45	50	45,64	13,82	80,45
14	50	45	30	36,88	10,49	77,49
15	50	30	50	35,70	9,53	77,31
16	80	45	30	43,05	14,12	79,31
17	80	45	70	42,84	13,52	79,37

3.2. Phân tích sự có nghĩa và sự tương quan của mô hình

Kết quả phân tích ANOVA của các hàm mục tiêu được đánh giá thông qua các giá trị F, p và R² tương ứng (Bảng 3). Giá trị F của cả ba hàm mục tiêu đều thỏa mãn điều kiện p < 0,05 với độ tin cậy đều là 99,99% (p < 0,0001). Hệ số tương quan bội (R²) của các mô hình đều có giá trị cao (trên 99%), điều đó cho thấy sự thay đổi của các hàm mục tiêu phụ thuộc rất lớn vào các biến ảnh hưởng. Giá trị chuẩn F của các mô hình đều chỉ ra “sự không tương thích” là vô nghĩa, có nghĩa là các mô hình đều phù hợp với bức tranh thực nghiệm.

Dựa trên kết quả các thí nghiệm và sử dụng phần mềm Design-Expert®, phiên bản 11.0 đã xây dựng các phương trình hồi quy của các hàm mục tiêu: Hàm lượng tổng phenolic (3), tổng flavonoid (4) và DPPH (5) tương ứng là:

$$Y_1 = 45,32 + 1,98X_1 + 2,02X_2 + 1,04X_3 + 1,11X_1X_2 - 1,10X_1X_3 - 0,94X_2X_3 - 3,15X_1^2 - 3,72X_2^2 - 1,21X_3^2 \quad (3)$$

$$Y_2 = 13,78 + 1,66X_1 + 0,32X_2 - 0,19X_3 - 0,19X_1X_2 - 0,17X_1X_3 - 0,28X_2X_3 - 1,76X_1^2 - 0,31X_2^2 + 0,15X_3^2 \quad (4)$$

$$Y_3 = 80,37 + 0,91X_1 + 0,13X_2 + 0,03X_3 + 0,30X_1X_2 - 0,03X_1X_3 - 0,16X_2X_3 - 1,37X_1^2 - 0,64X_2^2 - 0,54X_3^2 \quad (5)$$

Bảng 3. Kết quả phân tích hồi quy hàm lượng tổng phenolic, tổng flavonoid và DPPH

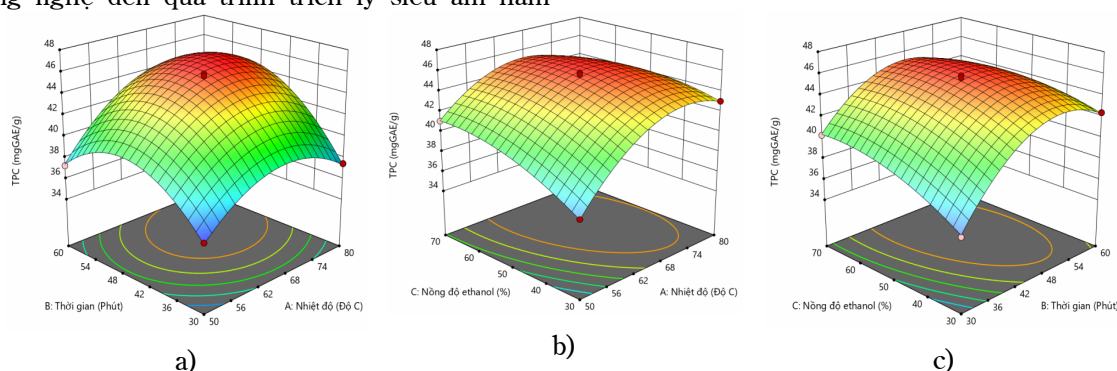
Nguồn	Hàm lượng tổng phenolic Y ₁ (mg GAE/g)		Hàm lượng tổng flavonoid Y ₂ (mg CE/g)		DPPH Y ₃ (%)	
	Giá trị F	Giá trị p	Giá trị F	Giá trị p	Giá trị F	Giá trị p
Mô hình	188,14	< 0,0001 ^S	713,52	< 0,0001 ^S	337,70	< 0,0001 ^S
X ₁	263,16	< 0,0001 ^S	3792,93	< 0,0001 ^S	1082,78	< 0,0001 ^S
X ₂	272,88	< 0,0001 ^S	135,76	< 0,0001 ^S	21,50	0,0024 ^S
X ₃	72,69	< 0,0001 ^S	48,10	0,0002 ^S	0,9807	0,3550 ^{NS}
X ₁ X ₂	41,12	0,0004 ^S	24,70	0,0016 ^S	0,6849	0,4352 ^{NS}
X ₁ X ₃	40,93	0,0004 ^S	19,77	0,0030 ^S	0,5836	0,4699 ^{NS}
X ₂ X ₃	29,46	0,0010 ^S	53,63	0,0002 ^S	15,58	0,0056 ^S
X ₁ ²	349,23	< 0,0001 ^S	2226,78	< 0,0001 ^S	1276,32	< 0,0001 ^S
X ₂ ²	487,89	< 0,0001 ^S	70,77	< 0,0001 ^S	281,72	< 0,0001 ^S
X ₃ ²	51,75	0,0002 ^S	16,53	0,0048 ^S	199,00	< 0,0001 ^S
Không tương thích	0,3145	0,8154 ^{NS}	3,78	0,1119 ^{NS}	0,9239	0,5061 ^{NS}
R ²	0,9959		0,9989		0,9977	

Ghi chú: S (significant) – có nghĩa ($p < 0,05$); NS (non-significant) – không có nghĩa ($p > 0,05$).

3.3. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly

Tiến hành phân tích ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến quá trình trích ly siêu âm hàm

lượng tổng phenolic (TPC), tổng flavonoid (TFC) và DPPH từ dịch chiết lá cây Sen được thể hiện ở hình 1, 2, 3.



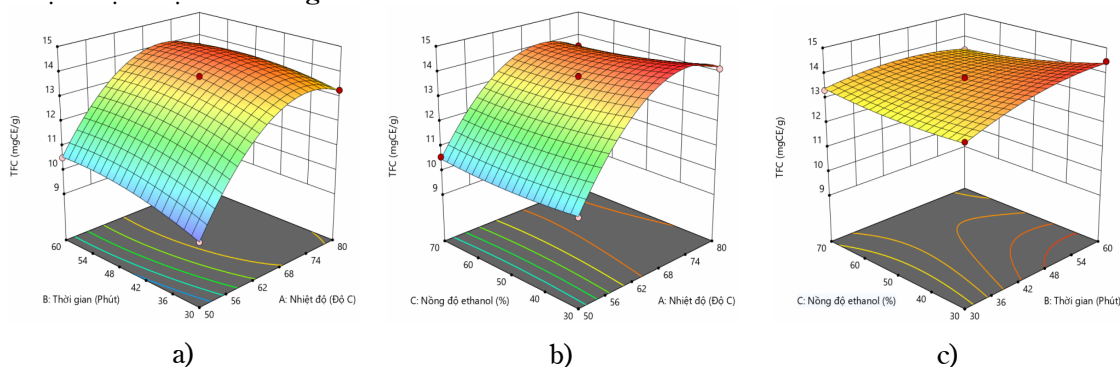
Hình 1. Bề mặt đáp ứng hàm mục tiêu TPC của quá trình trích ly dịch chiết từ lá cây Sen

Hình 1 thể hiện ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến quá trình trích ly siêu âm hàm lượng tổng phenolic từ lá cây Sen. Hình 1a cho thấy ảnh hưởng tương tác của nhiệt độ và thời gian

trích ly đến sự thay đổi của hàm mục tiêu khi yếu tố cố định là nồng độ ethanol (50%). Giá trị $p < 0,05$ (Bảng 3) cho thấy sự tương tác của hai yếu tố này là ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm mục tiêu TPC.

Hình 1a thể hiện hàm lượng tổng phenolic tăng dần khi nhiệt độ tăng từ 50 - 68°C, khi nhiệt độ trích ly tiếp tục tăng lên thì hàm lượng tổng phenolic thu được có xu hướng giảm dần (từ 68 - 80°C), điều này cũng phù hợp với tính chất hóa lý của các axit gallic dễ bị phân hủy ở nhiệt độ cao, hàm lượng tổng phenolic cao nhất khi nhiệt độ trích ly nằm trong khoảng 62 - 74°C, kết quả này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Thanh (2023) [15]. Tương tự, với yếu tố thời gian, khi tăng từ 30 - 48 phút thì TPC có xu hướng tăng, TPC giảm dần khi thời gian tiếp tục tăng lên từ 48 - 60 phút, thời gian siêu âm ảnh hưởng lớn đến quá trình trích ly một số hợp chất được lựa chọn, thời gian trích ly càng lâu sẽ thu được nhiều hơn các loại hợp chất cao phân tử, dẫn đến việc hạn chế thu nhận được hoạt chất mong muốn.

Hình 1b và 1c cho thấy ảnh hưởng của các cặp yếu tố giữa nồng độ ethanol với nhiệt độ trích ly và giữa nồng độ ethanol với thời gian trích ly. So sánh tương tác giữa nồng độ ethanol và nhiệt độ trích ly thì đồ thị bề mặt đáp ứng cho thấy yếu tố nhiệt độ ảnh hưởng lớn hơn. Hàm lượng tổng phenolic tăng khi nồng độ ethanol tăng trong vùng nghiên cứu, yếu tố nhiệt độ cũng giống như phân tích ở hình 1a. Tương tự, hình 1c cho thấy ảnh hưởng của các yếu tố nhiệt độ và nồng độ dung môi giống như đã phân tích ở hình 1a và 1b. Kết quả các thí nghiệm trên mô hình đa biến này cho thấy, xu hướng biến đổi của hàm mục tiêu TPC cũng tương tự như khi khảo sát đơn yếu tố khi cố định các thông số công nghệ khác [14]. Kết quả này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Yang và cs (2023) [16].



Hình 2. Bề mặt đáp ứng hàm mục tiêu TFC của quá trình trích ly dịch chiết từ lá cây Sen

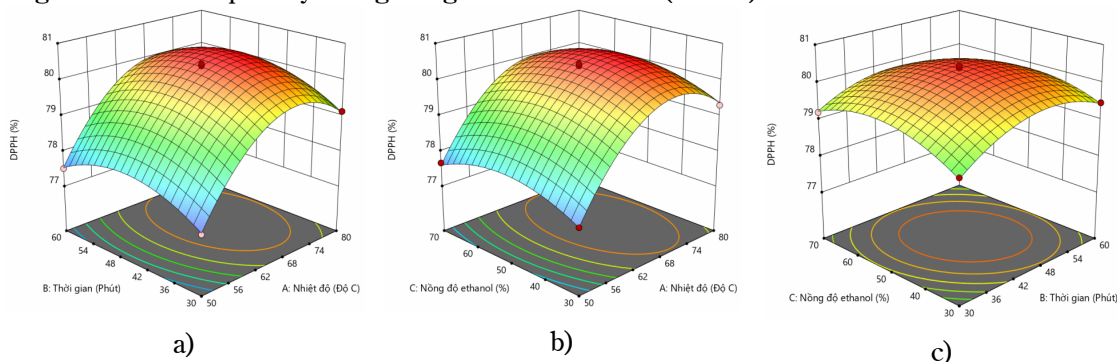
Hình 2 và bảng 3 thể hiện ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly hàm lượng tổng flavonoid (TFC) từ lá cây Sen. Sự tương tác của các yếu tố công nghệ quá trình trích ly được phân tích tương tự như phân tích bề mặt đáp ứng của quá trình trích ly hàm lượng tổng phenolic. Trong nghiên cứu này, dựa vào đồ thị bề mặt đáp ứng, có thể dễ dàng nhận thấy ảnh hưởng của các yếu tố đến TFC chủ yếu là ảnh hưởng tuyến tính, TFC cao nhất khi nhiệt độ trích ly trong khoảng 65 - 70°C, thời gian từ 55 - 60 phút và nồng độ ethanol trong khoảng 60 - 70%. Nghiên cứu đa yếu tố cho thấy, hàm lượng tổng flavonoid ảnh hưởng khá lớn bởi yếu tố nhiệt độ, sự ảnh hưởng của 2 yếu tố thời gian và nồng độ dung môi tương đối ít đến TFC (Hình 2b và 2c). Kết quả này có sự khác biệt so với khi khảo sát yếu tố thời gian chiết xuất. Khi khảo

sát đơn yếu tố, hàm lượng TFC có xu hướng tăng khi thời gian chiết xuất tăng, tuy nhiên trong nghiên cứu đa biến thể hiện xu hướng giảm sau mới tăng. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Wang và cs (2018) [17].

Hình 3 và bảng 3 thể hiện ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly khả năng khử gốc tự do DPPH từ lá cây Sen. Sự tương tác của các yếu tố công nghệ quá trình trích ly được phân tích tương tự như phân tích bề mặt đáp ứng ở hình 1 và 2. Hình 3a thể hiện ảnh hưởng tương tác của nhiệt độ và thời gian trích ly đến sự thay đổi của hàm mục tiêu DPPH khi cố định yếu tố nồng độ ethanol (50%). Hình 3a cho thấy khả năng khử gốc tự do DPPH tăng dần khi nhiệt độ tăng từ 65 - 75°C, khi nhiệt độ trích ly tiếp tục tăng lên thì DPPH có xu hướng giảm dần, kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Thanh (2024) [18].

Tương tự, đối với yếu tố thời gian và nồng độ dung môi thì DPPH đạt giá trị cao nhất trong khoảng thời gian 40 - 52 phút và nồng độ dung môi trong khoảng 40 - 60%. Kết quả này tương đồng với kết

quả nghiên cứu các yếu tố độc lập ảnh hưởng đến hàm lượng DPPH [14]. Xu hướng thay đổi như trong mô phỏng bề mặt đáp ứng hàm mục tiêu DPPH (Hình 3).



Hình 3. Bề mặt đáp ứng hàm mục tiêu DPPH của quá trình trích ly dịch chiết từ lá cây Sen

3.4. Tối ưu hoá quá trình trích ly

Quá trình trích ly dịch chiết từ lá cây Sen tiến hành nhằm thu được hàm lượng tổng phenolic, tổng flavonoid và khả năng khử gốc tự do DPPH là cao nhất. Phân tích kết quả tối ưu hóa trên phần mềm Design-Expert® 11.0 cho kết quả như sau: Nhiệt độ trích ly 71,35°C, thời gian trích ly 49,95 phút, nồng độ dung môi 44,11% trong điều kiện trích ly có hỗ trợ của sóng siêu âm ở công suất siêu âm là 300 W và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi được cố định là 1/30 g/ml. Với điều kiện này thì hàm lượng tổng phenolic dự đoán thu được là

45,83 mg GAE/g, hàm lượng tổng flavonoid dự đoán là 14,33 mg CE/g và DPPH dự đoán đạt 80,45%.

Tiến hành thực nghiệm lại mô hình tối ưu tại các thông số phù hợp với điều kiện thiết bị và công nghệ: Nhiệt độ trích ly 71°C, thời gian trích ly 50 phút, nồng độ dung môi 44%, kết quả thu được như sau: Hàm lượng tổng phenolic là $45,12 \pm 0,15$ mg GAE/g, hàm lượng tổng flavonoid là $14,04 \pm 0,11$ mg CE/g, DPPH đạt $79,15 \pm 0,22\%$. Kết quả thí nghiệm lại cho thấy, quy trình trích ly phù hợp với giá trị tối ưu của mô hình.

Bảng 4. Kết quả trích ly dịch chiết lá cây Sen theo điều kiện tối ưu

Điều kiện tối ưu			Các hàm mục tiêu	Giá trị dự đoán	Giá trị thực nghiệm*
X ₁	X ₂	X ₃			
71°C	50 phút	44%	Hàm lượng tổng phenolic Y ₁	45,83 mg GAE/g	$45,12 \pm 0,15$ mg GAE/g
			Hàm lượng tổng flavonoid Y ₂	14,33 mg CE/g	$14,04 \pm 0,11$ mg CE/g
			DPPH Y ₃	80,45%	$79,15 \pm 0,22\%$

Ghi chú: * là giá trị trung bình của ba lần thực nghiệm (n = 3).

4. KẾT LUẬN

Các điều kiện tối ưu để trích ly dịch chiết từ lá cây Sen trồng ở huyện Nam Đàn, tỉnh Nghệ An là: Nhiệt độ trích ly 71°C, thời gian trích ly 50 phút, nồng độ ethanol 44% thì thu được dịch trích ly có

hàm lượng tổng phenolic đạt giá trị $45,12 \pm 0,15$ mg GAE/g, hàm lượng tổng flavonoid đạt $14,04 \pm 0,11$ mg CE/g và DPPH đạt $79,15 \pm 0,22\%$. Dịch trích ly từ lá cây Sen có giá trị dược liệu cao, chứa nhiều các hợp chất có hoạt tính sinh học, ứng

dụng để sản xuất các loại thực phẩm và thực phẩm chức năng phục vụ sức khỏe con người.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi (2000). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nxb Y học.
2. Kashiwada, Y., Aoshima, A., Ikeshiro, Y., Chen, Y. P., Furukawa, H., Itoigawa, M., Fujioka, T., Mihashi, K., Cosentino, L. M. & Morris-Natschke, S. L. (2005). Anti-HIV benzyloquinoline alkaloids and flavonoids from the leaves of *Nelumbo nucifera* and structure-activity correlations with related alkaloids. *Bioorg. Med. Chem*, 13, 443 - 448.
3. Luo, X. B., Chen, B., Liu, J. J. & Yao, S. Z. (2005). Simultaneous analysis of *N*-nornuciferine, *O*-nornuciferine, nuciferine, and roemerine in leaves of *Nelumbo nucifera* Gaertn by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection-electrospray mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 538, 129 - 133.
4. Sahu, R. & Sahu, B. (2024). Insights into the chemical composition, nutritional value and pharmacological activities of *Nelumbo nucifera* Gaertn. *Journal of Biomed Research*, 5(1), 26 – 28.
5. Zaidi, A. & Srivastava, A. K. (2019). Nutritional and therapeutic importance of *Nelumbo nucifera* (sacred lotus). *Era's Journal of Medical Research*, 6(2), 98 - 102.
6. Rho, T. & Yoon, K. D. (2017). Chemical constituents of *Nelumbo nucifera* seeds. *Natural Product Sciences*, 23(4), 253.
7. Awal, M. R., Rahmatullah, S. & Nasrin, S. (2020). Nutrient composition of lotus (*Nelumbo nucifera*) fruits. *Asian-Australasian Journal of Bioscience and Biotechnology*, 5(3), 115 – 120.
8. National Commission of Chinese Pharmacopoeia (2010). Pharmacopoeia of the People's Republic of China. China Medical Science and Technology Press: Beijing, China, 258 – 259.
9. Wu, M. J., Wang, L., Weng, C. Y. & Yen, J. H. (2003). Antioxidant activity of methanol extract of the lotus leaf (*Nelumbo nucifera* Gaertn.). *Am. J. Chin. Med*, 31, 687 - 698.
10. Ono, Y., Hattori, E., Fukaya, Y., Imai, S. & Ohizumi, Y., (2006). Anti-obesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rats. *J. Ethnopharmacol*, 106, 238 - 244.
11. Singleton, V. L., Orthofer R. & Lamuela-Raventos R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth. Enzymol*, 299, 152 - 178.
12. Marinova, D., Ribarova, F. & Atanassova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoid in Bulgarian fruits and vegetables, *J. Univ. Chem. Tech. Metallurg*, 40(3), 255 - 260.
13. Fu, H. Y. & Shieh, D. E. (2002). Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. *Journal of Food Lipid*, 9, 35 - 46.
14. Nguyễn Tân Thành, Nguyễn Thị Huyền, Trần Đình Thắng, Cao Tiến Trung, Hoàng Văn Trung, Nguyễn Đức Diệm, Hoàng Vinh Phú & Nguyễn Lê Ái Vĩnh (2019). Ứng dụng tiến bộ khoa học kỹ thuật xây dựng mô hình sản xuất thử nghiệm các sản phẩm từ cây Sen trồng ở Nghệ An. Đề tài khoa học cấp Tỉnh.
15. Thanh, N. T. (2023). Optimization of microwave-assisted extraction of antioxidant compounds from roots of *Polygonum multiflorum* Thunb. at Vietnam using response surface methodology. *Malaysian Journal of Chemistry*, 25(4), 21 - 29.
16. Yang, J., Yan, Z., Li, L., Zhang, L., Zhao, M., Yi, H., Wang, Z., Li, G., Wang, Z., Li, M. & Ma, C. (2023). Green extraction of phenolic compounds from Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) leaf using deep eutectic solvents: Process optimization and antioxidant activity. *Separations*, 10(5), 272 - 289.
17. Wang, B., Qu, J. & S. Luo, S. (2018). Optimization of ultrasound-assisted extraction of flavonoids from olive (*olea europaea*) leaves and evaluation of their antioxidant and anticancer activities, *Molecules*, 23(10), 2513 - 2518.
18. Thanh, N. T., Nguyen, N. T., Thanh, T. Q. & Quang, H. D. (2024). Optimization of

antioxidant activity extraction conditions from the stems of *Rourea oligophlebia* Merr. Using the response surface methodology. *Malaysian Journal of Chemistry*, 26(4), 76 - 87.

RESEARCH ON ULTRASONIC EXTRACTION CONDITIONS OF SOME ANTIOXIDANT ACTIVITY COMPOUNDS FROM LOTUS LEAVES (*Nelumbo nucifera*) IN NGHE AN PROVINCE

Mai Van Khanh¹, Pham Dinh Nhat Trung¹, Nguyen Thanh Nguyen¹,
Tran Phan Tuan Anh¹, Nguyen Tan Thanh¹

¹*School of Chemistry Biology and Environment, Vinh University*

Abstract

The study used response surface methodology to determine the optimal extraction conditions for total phenolic content, total flavonoid and antioxydant activity (DPPH) from lotus leaves (*Nelumbo nucifera*) with the support of ultrasound waves. The experiment was arranged according to Box-Benhken design, and a model was built to optimize the extraction process of the above objective functions with three factors: extraction temperature (X_1), extraction time (X_2) and ethanol concentration (X_3). The optimal conditions for the technological parameters of the extraction process were determined at an extraction temperature of 71°C, an extraction time of 50 minutes and a solvent concentration of 44%. The results were as follows: total phenolic content was 45.12 ± 0.15 mg GAE/g, total flavonoid content was 14.04 ± 0.11 mg CE/g and antioxidant activity was $79.15 \pm 0.22\%$.

Keywords: *Nelumbo nucifera*, total phenolic, total flavonoid, response surface methodology, extraction, ultrasonic.

Ngày nhận bài: 12/7/2024

Ngày chuyển phản biện: 19/7/2024

Ngày thông qua phản biện: 26/8/2024

Ngày duyệt đăng: 15/4/2025