



Original Article

Study of Ultrasound-assisted Acid Hydrolysis to Obtain Quercetin and their Antioxidant Activities from some Plants

Le Huy Hoang^{1,2}, Pham Thi Phuong², Nguyen Thi Hanh²,
Ho Ba Do³, Nguyen Quang Huy^{1,*}

¹Faculty of Biology, VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Hanoi, Vietnam

²Institute of New Technology, Academy of Military Science and Technology, Hoang Sam, Hanoi, Vietnam

³National Institute of Nutrition, 48B Tang Bat Ho, Hai Ba Trung, Hanoi, Vietnam

Received 10 October 2019

Revised 26 November 2019; Accepted 26 November 2019

Abstract: In this study, acidic hydrolysis to release the aglycone quercetin from plant extracts under ultrasound-assisted conditions was investigated. Based on the stability of quercetin, the suitable conditions were as follows: methanol/H₂O (50:20, v/v) was added to the powder plants (ratio 50:1, ml/g), these mixtures were placed in ultrasonic bath of 37 kHz/550W; kept at 70°C within 30 min and then filtered. The filtrate was acidified with HCl (70:8, ml/ml). Lastly, the ultrasonication was carried out for hydrolysis for 1 hour (the second ultrasound) to obtain quercetin. We have obtained quercetin containing hydrolyzed extract from 10 plants to determine quercetin concentrations (using the HPLC optimized conditions) and evaluate the antioxidant activity (the capability to scavenge the DPPH radical). In 10 samples of plants that were obtained, both quercetin concentrations and antioxidant activity in the plant extract of the flower buds of *Sophora japonica* L have the highest value, then to the plant extract of *Nelumbo nucifera* Gaertn. In the *Sophora* flower-bud and the lotus leaf, quercetin content is calculated on dry material (mg/100g), 15423.04 and 5190.82 respectively; the average percentage inhibition of DPPH 100 μM (%) 55.26% and 32.23%, respectively.

Keywords: Quercetin, HPLC, acid hydrolysis, ultrasound-assisted, antioxidant activity.

* Corresponding author.

Email address: nguyenhoanghuy@vnu.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4961>



Nghiên cứu điều kiện thủy phân có hỗ trợ siêu âm để thu nhận và đánh giá hoạt tính chống oxy hoá của quercetin từ một số thực vật

Lê Huy Hoàng^{1,2}, Phạm Thị Phương², Nguyễn Thị Hạnh²,
Hồ Bá Do³, Nguyễn Quang Huy^{1,*}

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN, 334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam

²Viện Công nghệ mới, Viện Khoa học và Công nghệ quân sự, 17 Hoàng Sâm, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

³Viện Dinh dưỡng, Bộ Y tế, 48B Tầng Bạt Hồ, Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 10 tháng 10 năm 2019

Chỉnh sửa ngày 26 tháng 11 năm 2019; Chấp nhận đăng ngày 26 tháng 11 năm 2019

Tóm tắt: Bài báo nghiên cứu điều kiện thủy phân trong axit, có hỗ trợ siêu âm để thu nhận quercetin từ thực vật. Từ kết quả đánh giá sự ổn định của quercetin, điều kiện chiết xuất được xác định. Theo đó, nguyên liệu thực vật được thêm methanol/H₂O (50:20, ml/ml) ở tỉ lệ 1:50 (g/ml) và siêu âm lần 1 trong 30 phút ở nhiệt độ 70°C, cường độ 37kHz, công suất 550W để thu dịch chiết. Sau đó, dịch chiết được lọc, bổ sung axit HCl (70:8, ml/ml) và siêu âm lần 2 trong 60 phút để thủy phân. Dịch chiết thủy phân 10 mẫu thực vật được thu nhận, xác định hàm lượng quercetin (bằng phương pháp HPLC) và hoạt tính chống oxy hóa (thể hiện qua khả năng quét gốc tự do DPPH). Trong 10 mẫu thu nhận từ thực vật, nụ hoa hòe có hàm lượng quercetin và hoạt tính chống oxy hóa là cao nhất, tiếp đến lá sen với hàm lượng quercetin tương ứng là 15423,04 và 5190,82 (mg/100g nguyên liệu khô) và hoạt tính chống oxy hóa lần lượt là 55,26% và 32,23%.

Từ khóa: Quercetin, HPLC, thủy phân, hỗ trợ siêu âm, chống oxy hóa.

1. Mở đầu

Quercetin thuộc nhóm flavonoid, có trong nhiều loài cây thuốc và rau quả, tồn tại ở dạng tự do (aglycon) hoặc kết hợp (glycosid) [1]. Quercetin (dạng aglycon) có hoạt tính chống oxy hóa mạnh với tác dụng sinh học đa dạng và nhiều tiềm năng ứng dụng trong y dược để cải thiện tình trạng stress oxy hóa [1].

Hiện nay, chế phẩm quercetin ở dạng tinh khiết hoặc hỗn hợp với các hợp chất tự nhiên, được thu nhận theo điều kiện chiết xuất khác nhau, phụ thuộc vào mục đích sử dụng [1, 2]. Quercetin tinh khiết được thu nhận chủ yếu từ thủy phân rutin trong hệ dung môi chứa axit, sử dụng cho nghiên cứu hoạt tính sinh học hoặc nguyên liệu sản xuất thực phẩm, thực phẩm chức

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: nguyenhoanhuy@vnu.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4961>

năng và mỹ phẩm [1]. Trong khi đó, chế phẩm hỗn hợp chứa quercetin từ thực vật được chiết xuất chủ yếu cho định lượng, chưa được chú trọng phát triển để thu nhận quercetin dưới dạng bán tinh khiết cho nghiên cứu hoạt tính sinh học [1, 2].

Khi chiết xuất quercetin từ thực vật, hệ dung môi methanol hoặc ethanol kết hợp với H₂O, HCl thường được sử dụng [1, 2]. Trong đó, điển hình là điều kiện trích ly và thủy phân đồng thời từ bột thực vật, theo kỹ thuật chiết nóng ở nhiệt độ 90°C, được mô tả bởi Nishimuro và cộng sự [2]. Điều kiện chiết xuất này được nhiều tác giả sử dụng để thu nhận dịch thủy phân chứa quercetin từ cây thuốc và rau quả cho phân tích HPLC để nghiên cứu hàm lượng quercetin cùng với một số flavonol khác. Tuy nhiên, các dịch thủy phân này chưa được thu lại để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa. Đồng thời, kỹ thuật chiết nóng có nhược điểm là hiệu suất thấp và thời gian kéo dài. Hiện nay, chiết xuất hỗ trợ siêu âm là phương pháp góp phần khắc phục những hạn chế của phương pháp chiết nóng truyền thống [3, 4].

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm phát triển điều kiện chiết xuất của Nishimuro và cộng sự [2] để tạo chế phẩm chứa quercetin từ một số thực vật cho xác định hàm lượng bằng HPLC và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa. Kết quả bài báo sẽ là cơ sở cho việc thu nhận quercetin dạng bán tinh khiết từ thực vật để nghiên cứu hoạt tính sinh học.

2. Thục nghiệm

2.1. Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị

- 10 mẫu thực vật: cây rau má (*Centella asiatica* (L.) Urban.), lá của cây đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms.), lá của cây chùm ngây (*Moringa oleifera* Lam.) thu hái ở Bắc Giang; nụ hoa của cây hòe (*Sophora japonica* L.) thu ở Thái Bình; lá của cây sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) thu hái ở Bắc Ninh; cây rau đắng biển (*Bacopa monnieri* (L.) Wettst.) thu ở Ninh Thuận, đài hoa của cây búp giấm (*Hibiscus sabdariffa* L.) thu ở Hà Nội, củ hành tây (*Allium cepa* L.) thu ở Đà Lạt, quả ngũ vị tử (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill)

và rễ cam thảo (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch. ex DC.) thu ở Hà Nội. Mẫu được phân loại bởi ThS. Nguyễn Anh Đức và giữ tại Khoa Sinh học, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên.

- Hóa chất: Quercetin, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) được mua từ Sigma Aldrich (Mỹ), rutin từ hãng Boipurify (Trung Quốc), hóa chất đạt chất lượng phân tích được cung cấp bởi công ty TNHH Tekco (Việt Nam).

2.2. Phương pháp phân tích HPLC

Phương pháp HPLC được áp dụng với thể tích mẫu (10 µl), tốc độ dòng (1,0 ml/phút) [5]. Một số điều kiện sắc ký được tiếp cận theo phương pháp của Hoàng và cộng sự [5], sử dụng cột ZORBAX SB-C18 (nhiệt độ 25°C), bước sóng 370 nm. Hệ pha động của HPLC gồm methanol (15%), acetonitril (20%) và hỗn hợp C (65%). Trong đó hỗn hợp C gồm methanol: acetonitril: H₂O: có tỉ lệ % thể tích 40:15:45 và bổ sung axit axetic có nồng độ cuối cùng là 1%.

2.3. Chiết xuất quercetin từ thực vật

- Thiết lập điều kiện chiết [2, 3, 6]: Dung môi methanol/H₂O (tỉ lệ thể tích 50:20); dung môi bổ sung axit (methanol/H₂O/HCl, 50:20:8); tỉ lệ bột nguyên liệu và dung môi là 1:50, g/ml; điều kiện chiết không siêu âm (KSA) ở 90°C; chiết siêu âm (SA) ở 70°C trong bể có tần số 37Hz. Thời gian khảo sát, lựa chọn 15, 30, 60, 90 và 120 phút. Nghiên cứu sự ổn định trên mẫu quercetin chuẩn nồng độ 10 µg/ml [6, 7].

2.4. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa

- Các mẫu sau chiết được sấy khô dưới áp lực giảm thu cao, kiểm tra đã hết axit và bảo quản ở nhiệt độ dưới 4°C. Hoạt tính chống oxy hóa được thực hiện theo phương pháp của Williams và cộng sự với các điều kiện phản ứng được khảo sát [8]:

- Nồng độ dung dịch DPPH là 100 µM; mẫu thủy phân từ thực vật được pha loãng 50 lần từ nồng độ gốc của mẫu phân tích HPLC; tỉ lệ thể tích mẫu: dung dịch DPPH là 0,1:3,9; tổng thể tích phản ứng là 4,0 ml; ủ ở 37°C trong 30 phút. Quercetin chuẩn được bổ sung ở nồng độ 5 µg/ml và tỉ lệ 1:1.

- Độ hấp thụ quang được đo tại bước sóng 517 nm. Từ giá trị hấp thụ quang, số mol DPPH ban đầu và phản ứng của các mẫu cũng như mẫu đối chứng được tính từ phương trình tương quan giữa độ hấp thụ và nồng độ DPPH, $y = 0,0163x - 0,0598$ với $R^2 = 0,9978$, khoảng tuyến tính của nồng độ DPPH là 10 μM đến 115 μM .

Phần trăm quét gốc tự do DPPH 100 μM được xác định theo công thức:

$$\% \text{ DPPH} = \frac{\text{Số mol DPPH phản ứng}}{\text{Số mol DPPH ban đầu}} \times 100 \%$$

2.5. Phương pháp đánh giá, xử lý số liệu

- Các thông số sắc ký được xác định theo phần mềm Open LAB CDS của thiết bị HPLC và đánh giá độ lặp lại tương đối (RSD) theo phương pháp của Hoàng và cộng sự [5]. Diện tích pic HPLC quercetin được sử dụng để đánh giá sự ổn định quercetin theo phần trăm thu hồi bằng công thức [6, 7]:

$$\frac{\text{Diện tích pic khảo sát (mAU.s)}}{\text{Diện tích pic ban đầu (mAU.s)}} \times 100 \%$$

- Hàm lượng (mg) quercetin được xác định bằng phương pháp HPLC theo công thức:

$$C_Q \times H \times 11,15 \times 0,001$$

Trong đó C_Q ($\mu\text{g/ml}$): nồng độ quercetin tính theo đường chuẩn, H là hệ số pha loãng của dịch thủy phân.

- Các kết quả được xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel 2010.

3. Kết quả thảo luận

3.1. Đánh giá độ ổn định của các thông số trong sắc ký HPLC

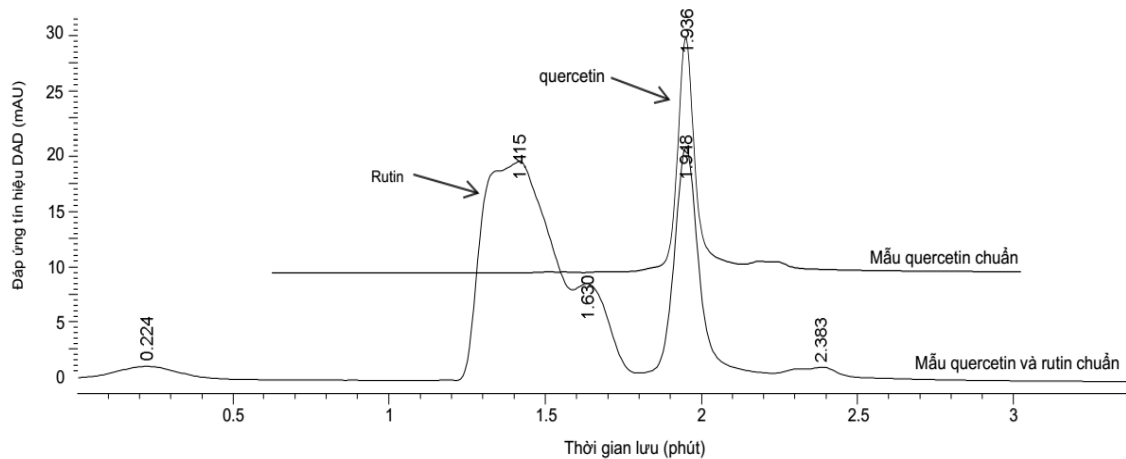
Nghiên cứu của Hoàng và cộng sự đã xác định được quercetin trong dịch chiết methanol nụ hoa hòe bằng phương pháp HPLC [5]. Trong nghiên cứu này, mẫu phân tích là dịch thủy phân có hàm lượng quercetin lớn hơn nhiều lần với thay đổi về pH, thành phần hóa học so với mẫu dịch chiết [1]. Do vậy, chúng tôi đã nghiên cứu để tối ưu thể tích tiêm mẫu và tốc độ dòng của điều kiện sắc ký HPLC nhằm tăng hiệu quả phân tách với thời gian lưu của đỉnh quercetin là ngắn nhất.

Kết quả thu được cho thấy với thể tích tiêm mẫu (10 μl), tốc độ dòng (1,0 ml/phút) quercetin chuẩn có thời gian lưu hơn 8 phút trong nghiên cứu của Hoàng và cộng sự đã giảm xuống dưới 2 phút. Độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của các thông số sắc ký đều dưới 2%, RSD của thời gian lưu dưới 1% (bảng 1 và hình 1) là đạt yêu cầu [5].

Theo bảng 1, phương pháp HPLC được thiết lập, có độ chính xác trên 99%, giới hạn phát hiện 0,1 $\mu\text{g/ml}$ và giới hạn định lượng là 0,3 $\mu\text{g/ml}$. Phương trình biểu diễn mối liên hệ giữa nồng độ và diện tích pic có độ tương quan tuyến tính khá chặt ($R^2 = 0,9994$). Phương pháp HPLC này được sử dụng cho định lượng quercetin trong các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 1. Các thông số của phương pháp HPLC được tối ưu trong nghiên cứu

Thông số kiểm tra trên mẫu quercetin chuẩn	Giá trị	RSD (%)
Nồng độ phân tích ($\mu\text{g/ml}$)	$10 \pm 0,03$	0,6
Thể tích tiêm mẫu (μl)	10	-
Tốc độ dòng (ml/phút)	1,0	-
Thời gian lưu (phút)	$1,94 \pm 0,001$	0,067
Diện tích pic (mAU.S)	$289,76 \pm 0,629$	0,217
Hệ số bất đối xứng	$1,19 \pm 0,013$	1,079
Hệ số kéo đuôi	$1,53 \pm 0,013$	0,860
Số đĩa lý thuyết	$3158,6 \pm 15,39$	0,487
Độ chính xác	$99,47 \pm 1,53$	1,54
Tương quan tuyến tính giữa diện tích pic và nồng độ	$y = 32,794x - 14,292$; $R^2 = 0,9994$; khoảng nồng độ từ 0,5 đến 50 ($\mu\text{g/ml}$); diện tích pic từ 2,11 đến 1625,41(mAU.s)	-
Giới hạn phát hiện ($\mu\text{g/ml}$)	0,1	-
Giới hạn định lượng ($\mu\text{g/ml}$)	0,3	-

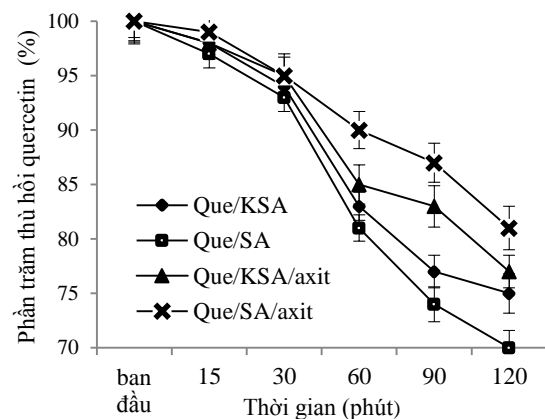


Hình 1. Sắc ký đồ HPLC của mẫu quercetin chuẩn và hỗn hợp mẫu chuẩn.

3.2. Thiết lập điều kiện thủy phân có hỗ trợ siêu âm để thu nhận quercetin

Theo Dmitrienko và cộng sự, khi thu nhận quercetin dung môi tách thường là methanol/H₂O hoặc ethanol/H₂O. Các dung môi này khi được bổ sung thêm axit sẽ tăng hàm lượng quercetin từ 2 đến 50 lần [1]. Tuy nhiên sự ổn định của quercetin trong các hệ dung môi này chưa được đánh giá. Nghiên cứu của chúng tôi phát triển điều kiện chiết xuất của Nishimuro kết hợp với Zhao và cộng sự, để thiết lập và đánh giá sự ổn định của quercetin theo hệ methanol/H₂O (50:20) hoặc methanol/H₂O/HCl (tỉ lệ 50:20:8), chiết trong điều kiện không siêu âm (KSA) hoặc siêu âm (SA) [2, 3].

Sự ổn định được đánh giá dựa trên phần trăm về hàm lượng quercetin được thu hồi. Phần trăm thu hồi càng lớn chứng tỏ sự ổn định của quercetin càng cao [6, 7]. Kết quả hình 2, sự ổn định của quercetin theo các thí nghiệm được tách dần theo thời gian, thể hiện rõ nét ở thời điểm sau 30 đến 120 phút. Trong đó, sự ổn định quercetin theo hệ dung môi có axit và siêu âm (Que/SA/axit) là cao nhất và thấp nhất là siêu âm và không có axit (Que/SA). Kết quả cũng cho thấy sự ổn định của quercetin ở 2 hệ dung môi có bổ sung axit là lớn hơn hệ không có axit.



Hình 2. Hàm lượng quercetin (Que) thu hồi trong methanol/H₂O và methanol/H₂O/axit, chiết siêu âm (SA) hoặc không siêu âm (KSA).

Theo thời gian tính từ thời điểm đầu đến 30 phút, hàm lượng quercetin thu hồi đều trên 93% và không có sự khác biệt rõ rệt giữa điều kiện không siêu âm (KSA) và siêu âm (SA). Trong khi đó, mức độ chênh lệch trong nghiên cứu của Biesaga khoảng 20% [9]. Theo Paniwnyk khi chiết xuất hỗ trợ siêu âm, tăng hàm lượng nước sẽ gia tăng các gốc tự do và chất chống oxy hóa mạnh như quercetin sẽ bị giảm hàm lượng [7, 10]. Hệ dung môi trong nghiên cứu của chúng tôi có hàm lượng nước (từ 25,64% đến 28,57%) thấp hơn so với nghiên cứu của Biesaga (40%)

nên quercetin có sự ổn định tốt hơn [9]. Sau thời gian 60 phút, các mẫu Que/KSA, Que/SA, Que/KSA/axit, Que/SA/axit có mức thu hồi quercetin tương ứng là 83%, 81%, 85% và 90% (hình 2).

Thời gian kéo dài, hàm lượng quercetin có xu hướng giảm đi và sau 120 phút, các mẫu có quercetin còn lại tương ứng là 75%, 70%, 75% và 81%. Trong nghiên cứu, hàm lượng quercetin bị giảm khoảng 25% (điều kiện KSA) và 30% (điều kiện SA) sau 120 phút ở 90°C. Kết quả này là phù hợp với nghiên cứu về sự ổn định của quercetin trong các môi trường có pH khác nhau, trong đó sự phân hủy quercetin có thể lên đến 27% khi thủy phân 120 phút ở 80°C [6].

Với kết quả nghiên cứu thời điểm 30 và 60 phút cùng với kỹ thuật siêu âm (SA) được lựa chọn. Khi đó, điều kiện thủy phân có hỗ trợ siêu âm được thiết lập gồm 2 bước: bước 1, siêu âm 30 phút thu dịch chiết với hệ methanol/H₂O (50:20), tiếp theo bổ sung axit HCl (dịch chiết:axit = 70:8) và bước 2: siêu âm lần 2 trong 60 phút để thủy phân.

3.3. Đánh giá hàm lượng, hoạt tính chống oxy hóa của quercetin thu nhận từ thực vật

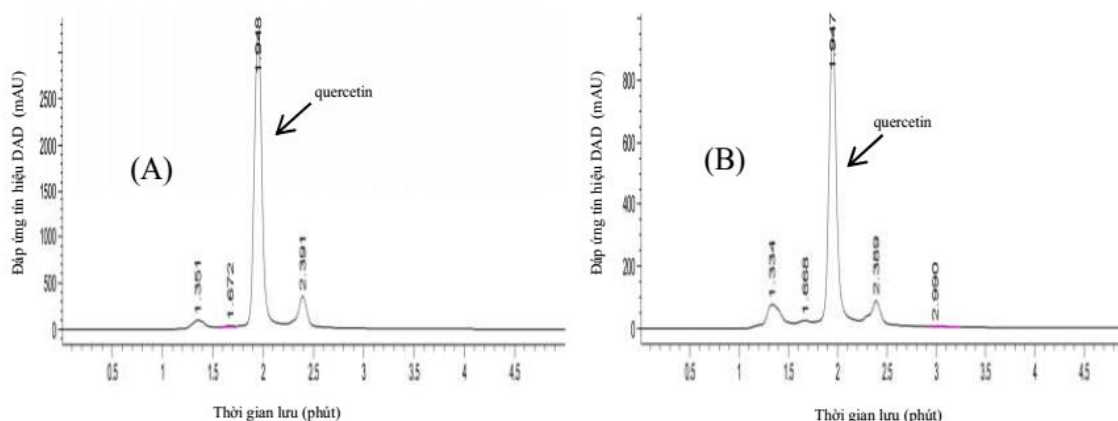
Hàm lượng quercetin trong dịch thủy phân trong một số thực vật, xác định bằng HPLC được chuẩn hóa, thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Hàm lượng quercetin

TT	Mẫu thực vật	Hàm lượng quercetin (mg/100g)
1	Nụ hoa hòe	15423,04 ± 630,97
2	Lá sen	5190,82 ± 295,59
3	Lá chùm ngây	2840,03 ± 156,68
4	Rễ cam thảo	130,24 ± 6,92
5	Vỏ hành tây	127,62 ± 7,69
6	Đài hoa búp giấm	50,83 ± 4,12
7	Rau đắng biển	41,02 ± 3,05
8	Rau má	40,24 ± 3,08
9	Quả ngũ vị tử	34,33 ± 0,85
10	Lá đinh lăng	33,21 ± 3,39

Các thực vật được xác định là có quercetin, Trong bảng 2 cho thấy hàm lượng quercetin trong các thực vật có giá trị từ 33,21 mg/100g đến 15423,04 mg/100g. Trong đó, cao nhất là nụ hoa hòe (15423,04 mg/100g), lá sen (5190,82 mg/100g) và lá chùm ngây (2840,03 mg/100g), sau đó đến các mẫu thực vật còn lại. Đối với hành tây (thực vật được chú trọng nghiên cứu chiết xuất quercetin ở một số nước trên thế giới), nghiên cứu của chúng tôi xác định vỏ hành tây Việt Nam có hàm lượng quercetin thấp hơn so với một số nghiên cứu trước [1, 6].

Kết quả xác định hàm lượng quercetin trong lá sen và nụ hoa hòe phù hợp nghiên cứu của He [11]. Kết quả sắc ký đồ đã cho thấy trong dịch chiết thủy phân thu nhận từ nụ hoa hòe và lá sen, quercetin là thành phần chủ yếu, chiếm ưu thế (hình 3).



Hình 3. Sắc ký đồ HPLC của mẫu thu nhận từ nụ hoa hòe (A) và lá sen (B).

Mẫu thu nhận từ 10 thực vật tiếp tục được xác định hoạt tính quét gốc tự do DPPH 100 μ M, kết quả thu được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Phần trăm quét gốc tự do DPPH

TT	Mẫu thực vật	Phần trăm quét gốc tự do DPPH (%)	
		Ban đầu	Bổ sung quercetin chuẩn, tỉ lệ 1:1
1	Nụ hoa hòe	55,26 \pm 1,58	45,19 \pm 1,12
2	Lá sen	32,23 \pm 1,20	23,41 \pm 1,15
3	Lá chùm ngây	18,45 \pm 2,0	23,05 \pm 1,98
4	Rễ cam thảo	11,15 \pm 1,85	15,56 \pm 1,73
5	Vỏ hành tây	11,71 \pm 0,88	16,31 \pm 1,12
6	Đài hoa búp giấm	16,31 \pm 1,23	17,69 \pm 1,45
7	Rau đắng biển	20,46 \pm 1,34	22,23 \pm 1,26
8	Rau má	10,71 \pm 1,56	14,99 \pm 1,43
9	Quả ngũ vị tử	12,66 \pm 2,01	15,81 \pm 1,97
10	Lá đinh lăng	11,91 \pm 1,21	15,68 \pm 1,36

Theo bảng 3, ở cùng nồng độ, nụ hoa hòe có hoạt tính chống oxy hóa cao nhất (55,26%) sau đó đến lá sen (32,23%). Trong đó, ba mẫu thực vật có phần trăm quét gốc tự do DPPH trên 20%, gồm nụ hoa hòe, lá sen và rau đắng biển. Lá chùm ngây mặc dù có hàm lượng quercetin xếp thứ 3 (bảng 3) trên rau đắng biển nhưng có hoạt tính chống oxy hóa là 16,31% lại thấp hơn. Kết quả bảng 3 cho thấy mẫu bổ sung quercetin chuẩn (tỉ lệ 1:1) ở nụ hoa hòe, lá sen có hoạt tính chống oxy hóa thấp hơn so với mẫu chưa thêm chuẩn. Sự giảm đi này, có thể là do khi thêm quercetin đã pha loãng mẫu. Ngược lại, ở các mẫu thực vật còn lại khi bổ sung thêm quercetin chuẩn đều thấy hoạt tính chống oxy hóa tăng lên là do quá trình làm giàu hàm lượng quercetin trong mẫu hoặc do sự hiệp đồng tác dụng. Các kết quả này phù hợp với nghiên cứu Bae và cộng sự khi bổ sung 10 μ g/ml quercetin vào dịch chiết thực vật làm thay đổi hoạt tính quét gốc tự do DPPH [12].

4. Kết luận

Đã tối ưu về thể tích tiêm mẫu (10 μ l), tốc độ dòng (1,0 ml/phút) của phương pháp HPLC phù

hợp cho xác định quercetin từ dịch thủy phân các mẫu thực vật.

Đã xây dựng phương pháp thủy phân có hỗ trợ siêu âm gồm tỉ lệ nguyên liệu: dung môi là 1:50 (g/ml); bể siêu âm (tần số 37kHz, công suất 550W và nhiệt độ 70°C), thời gian siêu âm 90 phút với 2 lần (lần 1: 30 phút với hệ methanol/H₂O tỉ lệ 50:20, sau đó bổ sung HCl với tỉ lệ dịch chiết: axit là 70:8 và siêu âm lần 2 trong 60 phút).

Mẫu nụ hoa hòe và lá sen có hàm lượng quercetin cao hơn so với các thực vật còn lại với hàm lượng quercetin tính theo nguyên liệu khô (mg/100g) tương ứng là 15423,04 và 5190,82; phần trăm quét gốc tự do ở nồng độ DPPH 100 μ M của mẫu quercetin từ nụ hoa hòe và lá sen là 55,26 % và 32,23 %.

Tài liệu tham khảo

- [1] S.G. Dmitrienko, V.A. Kudrinskaya, V.V. Apyari, Methods of extraction, preconcentration, and determination of quercetin, *Journal of Analytical Chemistry* 67 (4) (2012) 299-311. <https://doi.org/10.1134/S106193481204003X>.
- [2] H. Nishimuro, H. Ohnishi, M. Sato, M. Ohnishi-Kameyama, I. Matsunaga, S. Naito, K. Ippoushi, H. Oike, T. Nagata, H. Akasaka, S. Saitoh, K. Shimamoto, M. Konori, Estimated daily intake and seasonal food sources of quercetin in Japan, *Nutrients* 7 (4) (2015) 2345-2355. <https://doi.org/10.3390/nu7042345>.
- [3] C. Zhao, X. Ren, C. Li, H. Jiang, J. Guan, W. Su, Y. Li, Y. Tian, T. Wang, S. Li, Coupling ultrasound with heat-reflux to improve the extraction of quercetin, kaempferol, ginkgetin and sciadopitysin from Mairei Yew leaves, *Applied Sciences* 9 (4) (2019) 795-810. <https://doi.org/10.3390/app9040795>.
- [4] J. Azmir, M.S.I. Zaidul, M.M. Rahman, K.M. Sharif, A. Mohamed., F. Sahena, A.H.M. Jahurul, K. Ghafoor, N.A.N. Norulain, K.A.M. Omar, Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review, *Journal of Food Engineering* 117 (4) (2013) 426-434. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>.
- [5] L.H. Hoang, D.T.H. Anh, D.T. Hue, T.T.K. Oanh, N.Q. Huy, Determination of Quercetin Aglycone in Flos Sophorae japonicae Extract by High Performance Liquid Chromatography, VNU

- Journal of Science: Natural Sciences and Technology 33 (1S) (2017) 214-223 (in Vietnamese). <https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4534>.
- [6] A.M. Nuutila, K. Kammiovirta, M. Oksman-Caldentay, Comparison of methods for the hydrolysis of flavonoids and phenolic acids from onion and spinach for HPLC analysis, *Food Chemistry* 76 (4) (2002) 519-525. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00305-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00305-3).
- [7] L. Qiao, Y. Sun, R. Chen, Y. Fu, W. Zhang, X. Li, J. Chen, Y. Shen, X. Ye, Sonochemical effects on 14 flavonoids common in citrus: Relation to stability, *Plos One* 9 (2) (2014) e87766. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087766>.
- [8] W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT - Food Science and Technology* 28 (1995) 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- [9] M. Biesaga, Influence of extraction methods on stability of flavonoids, *Journal of Chromatography A* 1218 (2011) 2505-2512. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.059>.
- [10] L. Paniwnyk, E. Beaufoy, J.P. Lorimer, T.J. Manson, The extraction of rutin from flower buds of *Sophora japonica*, *Ultrasonics Sonochemistry* 8 (3) (2001) 299-301. [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(00\)00075-4](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(00)00075-4).
- [11] X. He, Y. Bai, Z. Zhao, X. Wang, J. Fang, L. Huang, M. Zeng, Q. Zhang, Y. Zhang, Z. Zheng, Local and traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Sophora japonica* L.: A review, *Journal of Ethnopharmacology* 187 (2016) 160-182. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.014>.
- [12] I.Y. Bae, B.Y. Kwak, H.G. Lee, Synergistic antiradical action of natural antioxidants and herbal mixture for preventing dioxin toxicity, *Food Science and Biotechnology* 21 (2) (2012) 491-496. <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0062-9>.