

PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN HÓA HỌC TRONG ĐÀI HOA BỤP GIẤM TƯƠI TRỒNG TẠI ĐẮK LẮK (*HIBISCUS SABDARIFFA* L.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP KHỐI PHỔ PHÂN GIẢI CAO

A STUDY ON CHEMICAL COMPONENTS OF FRESH ROSELLE PETALS (*HIBISCUS SABDARIFFA* L.) PLANTED IN DAK LAK BY HR-MS

Phùng Văn Trung¹, Phạm Hồng Ngọc¹, Nguyễn Thị Hồng Thắm¹,

Ngô Thị Phương², Lê Ngọc Hùng¹, Lê Minh Hà^{2*}

¹Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam; halm2vn@gmail.com

Tóm tắt - 61 hợp chất đã được phát hiện có mặt trong cao tổng cồn/nước đài hoa búp giấm tươi trồng tại Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk bằng việc sử dụng kỹ thuật sắc ký lỏng phân giải cao ghép nối khối phổ. Các nhóm hợp chất chính có mặt trong cao chiết là amino axit và amin (chiếm 36,44%), các axit hữu cơ (chiếm 12,65%), các hợp chất phenol (chiếm 21,85%), đường và dẫn xuất đường (chiếm 1,48%) và một số nhóm hợp chất khác. Ngoài ra, cũng xác định được hàm lượng tổng polyphenol và flavonoid (tương ứng là 7,09 mg GEA/g và 3,45 mg GE/g) trong cao tổng cồn nước đài hoa búp giấm tươi. Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết cồn nước theo phương pháp bắt gốc tự do DPPH cho thấy, cao chiết thể hiện tác dụng chống oxy hóa với giá trị SC50 là 128,2 µg/ml. Đây là những công bố bước đầu về kết quả nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hóa của đài hoa búp giấm tươi trồng tại Đắk Lắk.

Từ khóa - *Hibiscus sabdariffa*; búp giấm; khối phổ phân giải cao; phân tích hóa học; chống oxy hóa

Abstract - In this study we evaluate the chemical content of fresh roselle petals planted in Buon Ma Thuot, Dak Lak. Its ethanol/water extract is analyzed by HPLC – HRMS. It is found that the extract contains 61 compounds mainly grouped as amino acid and amines (36.44%), organic acids (12.65%), phenol (21.85%), glycoside and derivatives (1.48%) and other groups. The quantity of total polyphenol and quantity of total flavonoids content are respectively 7.09 mg GAE/g and 3.45 mg GE/g. Results of the antioxidant activity of water – ethanol extracts by DPPH radical scavenging show that antioxidant activity has SC50 value of 128.2 µg/ml. These are the initial reports on chemical composition and antioxidant activity of fresh roselle petals planted in Dak Lak.

Key words - *Hibiscus Sabdariffa*; roselle; HR-MS; chemical analysis; antioxidant

1. Đặt vấn đề

Cây Búp giấm (*Hibiscus sabdariffa* L.) thuộc họ Bông (Malvaceae) được du nhập vào Việt Nam từ châu Phi và đã được trồng tại miền Bắc và Tây Nguyên. Về hóa học đã xác định được thành phần chính có hoạt tính sinh học quý trong đài hoa búp giấm là các anthocyanin khoảng 1,5% và một ít sắc tố khác; lên tới 12% là các polyphenol và các flavonoid; các axit hữu cơ khoảng 15-30%; các vitamin A, B1, B2, C, E, F và nhiều loại khoáng chất như sắt, đồng, canxi, magie, kẽm... [1]. Hiện nay, ở Việt Nam, việc sử dụng kỹ thuật sắc ký lỏng phân giải cao (ví dụ: model Ultimate 3000 RSLC) ghép nối khối phổ phân giải cao (ví dụ: model Q Exactive Focus của Thermo Scientific – Mỹ, sử dụng công nghệ bẫy quay – orbitrap hay model X500R theo công nghệ thời gian bay – TOF của ABSciex – Mỹ) để phân tích định tính các hợp chất tự nhiên dựa trên số khối (m/z) của các ion mẹ (MS) và ion con (phân mảnh bằng va chạm MS/MS) bằng thư viện dữ liệu phổ (HRAM MS2 Spectral Library Match-mzCloud) còn chưa được ứng dụng nhiều, do mới được đầu tư về trang thiết bị và các phần mềm phân tích, xử lý số liệu. Trong khi đó, trên thế giới, các kỹ thuật này đã sử dụng từ rất lâu và rất có hiệu quả trong việc phát hiện và phân tích các thành phần hoạt chất trong các bộ phận của cây dược liệu. Trong bài báo này, nhóm tác giả công bố các kết quả đạt được ban đầu về thành phần hóa học của các hợp chất có mặt trong cao tổng chiết cồn/nước đài hoa búp giấm tươi trồng tại Đắk Lắk, hàm lượng tổng polyphenol và flavonoid cùng với hoạt tính chống oxy hóa của đài hoa búp giấm bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH (sử dụng chất chuẩn tạo

gốc tự do là 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl theo phương pháp của MacDonald và cộng sự [9]).

2. Thực nghiệm và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Nguyên liệu: Mẫu đài hoa búp giấm tươi (*Hibiscus sabdariffa* Linn) được trồng tại Công ty Năng lượng xanh (Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk) và được thu vào tháng 9 năm 2016, được xác định tên khoa học bởi GS. Kit Chin (Đại học Louisiana, Mỹ). Mẫu tiêu bản được lưu tại Phòng Hóa được, Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, trực thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST).

Hóa chất: Ammonium format, methanol, nước, axit formic dùng cho phân tích HPLC (sắc ký lỏng hiệu năng cao) từ hãng Fisher Scientific. Chất chuẩn: Chất chuẩn để phân tích quang phổ bao gồm ninhydrin (98%), gallic acid (97,5%), dung dịch chuẩn phenol folin – ciocalteu 2 N và muối natri cacbonat (99,8%) được đặt mua từ hãng Sigma Aldrich (St. Louis, MO, Mỹ). Dung dịch chuẩn phenol folin – ciocalteu được pha với nước cất để có hàm lượng 10 % theo thể tích. Dung dịch chuẩn ninhydrin được pha với nước cất để có hàm lượng theo khối lượng/thể tích là 2%. Chất chuẩn để phân tích khoáng chất bao gồm 65% HNO₃, 30% H₂O₂, và 100ppm chất chuẩn của Fe, Cu, Mg, Zr từ hãng Merck (Đức). Nước loại ion được sử dụng trong nghiên cứu này.

Thiết bị sử dụng: Hệ thống sắc ký lỏng phân giải cao ghép nối khối phổ phân giải cao bao gồm sắc ký lỏng Ultimate 3000 RSLC, khối phổ phân giải cao Q Exactive

Focus Orbitrap MS (Thermo Scientific), thiết bị quang phổ UV-VIS model Cary 60 (Agilent Technologies) và ICP-MS 7900 (Agilent Technologies).

Điều kiện phân tích HPLC: Phân tích HPLC được thực hiện trên Ultimate 3000 RSLC với đầu dò khối phổ phân giải cao QTOF (Thermo Scientific, Mỹ). Thực hiện phân tách trên cột Thermo Scientific Hypersil GOLD™ aQ Polar Endcapped cột C18, 1,9 μm , 2,1 mm $\times$ 100 mm. Pha động gồm 4 mM ammonium format pha trong dung dịch 0,1% axit formic (dung môi A) và 4 mM ammonium format pha trong dung dịch methanol 0,1% axit formic (dung môi B). Chương trình gradient như sau: 0 – 1 phút: 5% (B), 1 – 7 phút: 98% (B), 7 – 10 phút: 98% (B), 10,1 – 13 phút: 5% (B). Nhiệt độ: 30°C. Thể tích tiêm mẫu: 10 μL . Tốc độ dòng: 300 $\mu\text{L}/\text{min}$.

Điều kiện chạy cho khối phổ phân giải cao Q Exactive Focus Orbitrap MS: Khối phổ tứ cực - phân giải cao (Quadrupole-Orbitrap MS) sử dụng nguồn ion hóa H-ESI (ion hóa phun điện tử được gia nhiệt) với điện áp phun: 4.500 V (positive), -4.000 V (negative), nhiệt độ của bộ hóa hơi: 40°C, nhiệt độ ống chuyển ion: 275°C. Lưu lượng khí phun: 40 unit, lưu lượng khí hỗ trợ: 15 unit. Sử dụng phương pháp scan sàng lọc hợp chất: FS-ddMS2 (Full Scan + Data-dependent MS/MS). Độ phân giải toàn dải quét: 70.000 FWHM tại m/z 200. Độ phân giải MS/MS: 17.500 FWHM tại m/z 200. Dải scan: m/z 100 đến 1.000. Phân cực riêng. Tự động xử lý 10 tín hiệu phụ thuộc lớn nhất. Năng lượng và chạm được chuẩn hóa: được chia bậc với ba mức 10, 30 và 60. Precursor isolation width: 1,2 m/z. Tự động thực hiện MS/MS trên ngưỡng cường độ: 1,5E4.

Phần mềm sử dụng: Phần mềm Thermo Scientific Compound Discoverer 2.0.

Xử lý dữ liệu: Các hợp chất được xác định dựa trên mzCloud bằng việc ghép nối khối phổ MS/MS từ thư viện dữ liệu phổ HRAM MS2 Spectral Library Match-mzCloud. Các dữ liệu chưa xử lý của dung môi blank và các mẫu chưa xác định đã được xử lý và phát hiện các đặc tính (các hợp chất giả định được đặc trưng bởi số khối của chúng) trong dữ liệu MS đầy đủ và ID giả định được chỉ định cho các tính năng này bằng cách tìm kiếm số khối chính xác và phổ MS/MS dựa vào thư viện phổ mzCloud. Các dữ liệu chưa xử lý từ phân cực dương (positive) và âm (negative) được xử lý riêng.

2.2. Phương pháp tiến hành

2.2.1. Chuẩn bị mẫu và xác định độ ẩm trong đài hoa búp giấm

Chiết xuất cao tổng cồn/nước: Đài hoa búp giấm tươi (100 gram) được cắt thành mảnh nhỏ và ngâm chiết trong 500 ml cồn : nước (7:3), siêu âm ở 50°C trong 20 phút. Lọc thu dịch chiết và quá trình chiết được lặp lại 3 lần. Gộp dịch chiết và quay cất chân không để loại kiệt dung môi, thu được cao tổng cồn nước, ký hiệu HS.

Xác định độ ẩm trong đài hoa búp giấm theo phương pháp sấy, thử theo ĐVN IV, phụ lục 9.6 [8]. Mẫu đài hoa búp giấm được cho vào chén cân dùng để xác định độ ẩm, có nắp và đã được cân bì trước 5 - 10g mẫu thử. Cho chén chứa mẫu thử (đã mở nắp) vào tủ sấy, sấy ở nhiệt độ 100 – 105°C trong 1 giờ. Cho chén vào bình hút ẩm đến khi nguội. Đậy nắp và cân. Làm lại nhiều lần đến khi chênh

lệch trọng lượng giữa 2 lần cân không vượt quá 0,5mg.

Độ ẩm (A%) của đài hoa búp giấm được tính theo công thức: $A\% = (T-S)/P \times 100$, trong đó T: số gam của mẫu thử trước khi sấy và S: số gam của mẫu thử sau khi sấy.

2.2.2. Khảo sát định tính thành phần hóa học

Việc khảo sát thành phần hóa học được thực hiện bằng các phương pháp khối phổ. Hệ thống khối phổ phân giải cao Q Exactive Focus Orbitrap MS (Thermo Scientific), và so sánh số liệu phổ với tài liệu tham khảo [2].

2.2.3. Phân tích tổng polyphenol bằng phương pháp Ainsworth và Gillespie [3]

Trong bình cầu 25 ml hòa tan 1,0 mg cao tổng chiết cồn/nước đài hoa búp giấm trong 1 ml nước cất ở 80°C trong 30 phút. Dung dịch trên được trộn với 200 μL dung dịch thuốc thử phenol Folin – Ciocalteu 10% theo thể tích và dung dịch natri cacbonat 700 mmol/L. Các dung dịch mẫu, mẫu chuẩn và mẫu trắng được ghi phổ trên máy UV-VIS Cary 60 ở bước sóng 765 nm. Axit gallic là chất chuẩn có nồng độ chuẩn từ 10 – 150 μL với hệ số điều chỉnh Pearson R2 là 0,998 và kết quả định lượng được tính tương đương theo mg axit gallic (mg GAE).

2.2.4. Phân tích tổng flavonoid bằng phương pháp thuốc thử Neu [4]

Trong bình cầu 25 ml cho 1 ml dung dịch 25 mg cao tổng chiết cồn/nước đài hoa búp giấm hòa tan trong 1 ml nước cất ở 80°C trong 30 phút. Sau 24 giờ, lấy 0,5 ml dung dịch và đưa vào 100 μL dung dịch thuốc thử Neu. Các dung dịch được ghi bằng thiết bị phổ kế UV-VIS ở bước sóng 404 nm. Dung dịch chuẩn chứa quercetin có nồng độ 0,05 mg/ml được đo với cùng nồng độ dung dịch thuốc thử Neu để so sánh. Hàm lượng flavonoid định lượng được tính tương đương theo mg quercetin (mg QE/g cao chiết) theo công thức $C = (0,05 \times \text{Achiét}/\text{Aquer}) \times 100/\text{Cchiét} (\%)$ trong đó Achiét và Aquer lần lượt là cường độ hấp thụ của mẫu chiết và mẫu quercetin chuẩn, Cchiét là nồng độ cao tổng chiết cồn/nước đài hoa búp giấm (25 mg/ml). Dung dịch chuẩn Neu được pha bằng cách hòa tan 1 g ete của diphenylboric acid và β -ethylamino trong 100 ml cồn metanol tuyệt đối.

2.2.5. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH [5]

Hoạt tính chống oxy hóa của đài hoa búp giấm được xác định bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH. Dung môi phản ứng tối ưu là EtOH và MeOH. Pha dung dịch DPPH 0,6 mM trong MeOH. Mẫu đài hoa búp giấm được pha trong MeOH và có nồng độ trong khoảng 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ - 24 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Lấy 0,5 ml mẫu thử ở các nồng độ khảo sát cho phản ứng với 0,5 ml dung dịch DPPH. Thêm MeOH vừa đủ 10 ml (hệ số pha loãng là 20). Hỗn hợp sau khi pha được để ở nhiệt độ phòng 30 phút. Độ hấp thụ cực đại nằm ở bước sóng 515 nm. Thời gian đo độ hấp thụ phụ thuộc vào hàm lượng mẫu đem phản ứng và nhóm tác giả chọn để mẫu phản ứng 30 phút trước khi đo. Mỗi mẫu được đo 3 lần. Phần trăm ức chế gốc tự do DPPH được tính theo công thức: $I (\%) = (A_b - A_s)/A_b \times 100$; trong đó A_b là độ hấp thụ của dung dịch DPPH trong MeOH, A_s là độ hấp thụ của dung dịch DPPH còn lại sau phản ứng.

3. Kết quả nghiên cứu và bình luận

3.1. Độ ẩm mẫu đài hoa búp giấm tươi

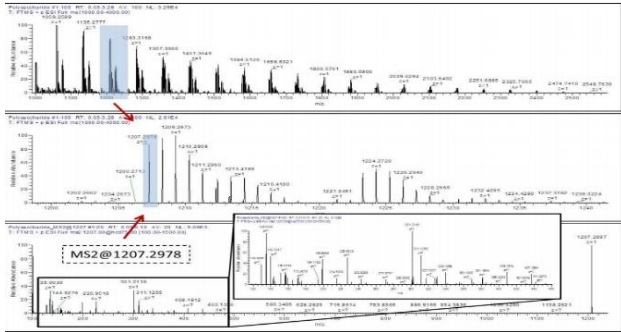
Kết quả xác định độ ẩm của đài hoa búp giấm tươi được thể hiện ở Bảng 1. Kết quả cho thấy đài hoa búp giấm tươi có độ ẩm trung bình là 89,86% so với khối lượng đài tươi. Lượng nước cao trong đài hoa búp giấm tươi có ảnh hưởng nhiều đến công nghệ chế biến thành các sản phẩm thực phẩm như trà khô, mứt và đặc biệt là rượu vang hoa búp giấm.

Bảng 1. Độ ẩm mẫu đài hoa búp giấm tươi

Mẫu	Khối lượng mẫu tươi – Giá trị trung bình (g)	Khối lượng mẫu khô – Giá trị trung bình (g)	Độ ẩm – Giá trị trung bình (%)
Đài hoa búp giấm	10,119	1,026	89,86

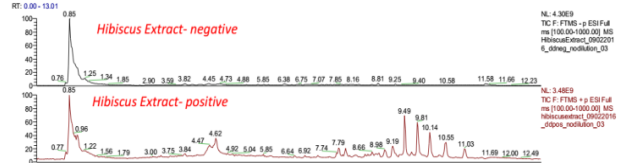
3.2. Kết quả xác định thành phần hóa học của cao tổng chiết cồn/nước đài hoa búp giấm tươi Đắk Lắk bằng phổ khối phân giải

Bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ phân giải cao, nhóm tác giả tách các hợp chất trên cột sắc ký bằng thiết bị sắc ký lỏng và định danh các hợp chất được tách trong sắc ký đồ khối phổ bằng phổ khối ion mẹ MS và ion con MS/MS (Hình 1).



Hình 1. Các bước định danh trong sắc ký đồ khối phổ từ phổ khối ion mẹ MS và ion con MS/MS

Kết quả đã xác định được sự có mặt của 61 hợp chất được phân trong các nhóm chất trong cao tổng chiết cồn/nước đài hoa búp giấm tươi Đắk Lắk.



Hình 2. Sắc ký đồ cao tổng chiết cồn/nước đài hoa búp giấm tươi Đắk Lắk

Thành phần hóa học định tính và thành phần phần trăm tổng (theo diện tích pic) của cao tổng chiết cồn/nước đài hoa búp giấm (*Hibiscus sabdariffa* L.) được thể hiện ở Hình 2 và Bảng 2. Kết quả cho thấy trong cao chiết cồn nước chứa các nhóm flavonoid, polyphenol, amino axit, axit hữu cơ, đường và dẫn xuất đường, hydrocacbon, muối... Trong đó, các amino axit và amin chiếm tỷ lệ cao nhất (36,44%), tiếp đến là các axit hữu cơ (12,65%), flavonoid (2,31%), polyphenol (21,85%), este (0,22%), alkaloid (2,78), hydrocacbon (0,03%), muối (17,30%) và còn lại là các nhóm hợp chất khác.

Bảng 2. Thành phần hóa học cao tổng cồn/nước đài hoa búp giấm tươi Đắk Lắk

TT	Tên chất	Tỷ lệ %	KLPT	Thời gian lưu phút	Nhận danh Mz Cloud
	Đường và dẫn xuất của đường	1,48			
1	D-(+)-Mannose	1,23	180,063	0,82	93
2	D-(-)-Lyxose	0,25	150,0525	0,99	89
	Flavonoid	2,31			
3	Epigallocatechingallate	0,01	458,0836	4,69	72
4	Rutin	0,19	610,1526	5,7	92
5	Myricetin	0,37	318,0371	5,96	90
6	Quercetin	1,43	302,0422	6,39	91
7	Quercetin-3β-D-glucoside	0,17	464,0951	5,71	82
8	Luteolin	0,14	286,0474	6,77	81
	Alkaloid	2,78			
9	Trigonelline	2,78	137,0475	0,89	91
	Hydrocacbon	0,03			
10	1,2,3,4-tetramethyl-1,3-cyclopentadiene	0,03	122,1094	4,79	77
	Amino acid và amin	36,44			
11	N-Methyl-D-aspartic acid (NMDA)	0,49	147,053	0,84	80
12	L-Norleucine	1,30	131,0945	0,86	76
13	Betaine	34,03	117,0788	1,01	92
14	Paracetamol	0,05	151,0632	1,5	92
15	L-Phenylalanine	0,10	165,0789	2,69	95
16	2-Amino-1,3,4-octadecanetriol	0,34	317,2929	8,23	86
17	Prolylleucine	0,08	228,1472	1,42	89
18	D-Sphingosine	0,05	299,2825	8,44	71
	Acid hữu cơ	12,65			
19	2-Oxoglutaric acid	8,86	146,0212	0,88	78
20	DL-Malic acid	1,54	134,0212	0,89	95
21	Methylmalonic acid	0,15	118,0264	0,9	89
22	6-Hydroxypicolinic acid	0,08	139,0266	1,48	87
23	3-Hydroxy-3-methylglutaric acid	0,12	162,0524	1,61	86
24	Thymidine 5'-diphosphate	0,27	402,0229	2,24	75
25	Gentisic acid	0,22	154,0264	3,6	93
26	Isophthalic acid	0,02	166,0263	4,16	93
27	2-(Acetylamino) hexanoic acid	0,01	173,105	4,55	86
28	2-Methylbenzoic acid	0,05	136,0522	4,72	83
29	Caffeic acid	0,53	180,042	4,72	95
30	2,4-dihydroxybenzoic acid	0,09	154,0264	4,89	74
31	4-Anisic acid	0,01	152,0471	5,04	77
32	Benzoic acid	0,01	122,0366	5,05	95
33	2-Hydroxycinnamic acid	0,04	164,0472	5,12	89
34	Suberic acid	0,02	174,089	5,27	83
35	Salicylic acid	0,15	138,0314	5,35	93
36	Isoferulic acid	0,06	194,0576	5,68	85
37	Azelaic acid	0,14	188,1046	5,84	96

38	Perfluoro-1-butanefulfonic acid(PFBS)	0,05	299,9499	5,98	96
39	Atenolol acid	0,17	267,1472	6,75	90
40	Hexadecanedioic acid	0,01	286,2141	8,14	96
41	16-Hydroxy hexadecanoic acid	0,02	272,2351	8,74	95
42	Ursolic acid	0,02	456,3599	8,78	81
43	Stearic acid	0,01	284,2711	9,94	96
	Aldehyde	0,55			
44	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxybenzaldehyde	0,04	234,1621	7,6	90
45	2,5-Dihydroxy benzaldehyde	0,51	138,0314	4,02	88
	Phenol	21,85			
46	Catechol	0,01	110,0365	3,6	91
47	Gallic acid	0,15	170,0214	2,37	93
48	2,6-Dihydroxybenzoic acid	0,03	154,0265	3,08	82
49	3-Methoxysalicylic acid	0,28%	168,0422	4,88	88
50	2-Methoxyresorcinol	21,34	140,0471	4,44	77
51	Benzophenone	0,04	182,0732	7,13	85
	Muối	17,3			
52	4-Dodecylbenzenesulfo nate	0,12	326,1912	8,14	95
53	Choline	17,18	103,0996	0,94	89
	Ester	0,22			
54	1-Stearoylglycerol	0,22	358,3081	9,39	87
	Một số chất khác	4,10			
55	6,7-Dihydroxy-4-methylcoumarin	0,54	192,0422	5,23	83
56	Resorcinol monoacetate	0,02	152,0471	4,4	89
57	7-Hydroxycoumarine	0,86	162,0315	4,44	72
58	Coumarin	0,17	146,0366	4,78	83
59	Erucamide	2,42	337,3344	9,65	90
60	Oleamide	0,05	281,2718	8,41	91
61	Oleoyl-L- α -lysophosphatidic acid	0,04	436,2586	8,55	93

3.3. Kết quả xác định hàm lượng tổng polyphenol của cao chiết cồn/nước dãi hoa búp giấm tươi Đắk Lắk

Bảng 3. Hàm lượng và thành phần polyphenol trong cao tổng cồn nước của dãi hoa búp giấm

TT	Tên chất	Tỷ lệ % (theo cao tổng)	Hàm lượng (mg GAE/g cao)
	Tổng phenol (%) trong cao	21,85	7,091
1	Catechol	0,01	0,003
2	Gallic acid	0,15	0,049
3	2,6-Dihydroxybenzoic acid	0,03	0,010
4	3-Methoxysalicylic acid	0,28	0,091
5	2-Methoxyresorcinol	21,34	6,925
6	Benzophenone	0,04	0,013

Tổng hàm lượng polyphenol có trong cao tổng cồn nước của dãi hoa búp giấm tươi xác định bằng phương pháp thuốc thử phenol Folin – Ciocalteu là 7,09 mg GAE/g. Bằng phương pháp HPLC – QTOF, nhóm tác giả đã xác

định được từng hoạt chất và tỷ lệ % của mỗi hoạt chất trên trong tổng polyphenol (Bảng 3) và từ đó xác định định lượng hàm lượng của từng polyphenol trong cao tổng cồn nước của dãi hoa búp giấm dựa vào tổng hàm lượng polyphenol được xác định. Kết quả được thể hiện ở Bảng 3. Các polyphenol có trong các cây được liệu có tính chất chống oxy hóa rất quan trọng để hỗ trợ điều trị các bệnh về gan, dạ dày cũng như các bệnh về tim mạch, suy giảm trí nhớ, tăng cường sức khỏe [6].

3.4. Kết quả xác định hàm lượng tổng flavonoid của cao chiết cồn/nước dãi hoa búp giấm tươi Đắk Lắk

Nhóm tác giả đã tiến hành xác định hàm lượng tổng flavonoid có trong cao tổng cồn nước của dãi hoa búp giấm tươi theo phương pháp thuốc thử Neu. Kết quả cho thấy, hàm lượng tổng flavonoid có trong cao tổng cồn nước của dãi hoa búp giấm tươi là 3,45 mg QE/g. Bằng phương pháp HPLC – QTOF, nhóm tác giả đã xác định được từng hoạt chất và tỷ lệ % của mỗi hoạt chất trên trong tổng flavonoid (Bảng 4), từ đó, nhóm tác giả định lượng hàm lượng của từng flavonoid trong cao tổng cồn nước của dãi hoa búp giấm dựa vào tổng hàm lượng flavonoid được xác định. Kết quả được thể hiện ở Bảng 4. Các flavonoid có trong các cây được liệu thường thể hiện hoạt tính kháng viêm, kháng khuẩn, chống oxy hóa và tiêu độc rất mạnh, dùng để hỗ trợ điều trị các bệnh về huyết áp, tiểu đường và cúm [6].

Bảng 4. Hàm lượng và thành phần flavonoid trong cao tổng cồn nước của dãi hoa búp giấm tươi

TT	Tên chất	Tỷ lệ % (theo cao)	Hàm lượng (mg QE/g cao)
	Tổng flavonoid (%) trong cao	2,62	3,45
1	Epigallocatechin gallate	0,01	0,01
2	Rutin	0,43	0,57
3	Myricetin	0,44	0,58
4	Quercetin	1,43	1,88
5	Quercetin-3 β -D-glucoside	0,17	0,22
6	Luteolin	0,14	0,19

3.5. Hoạt tính chống oxy hóa của cao tổng chiết cồn/nước dãi hoa búp giấm

Kết quả thử hoạt tính chống oxy hóa trên hệ DPPH cho thấy, cặn chiết cồn nước thể hiện hoạt tính chống oxy hóa với giá trị SC50 là 128,2 μ g/ml. Giá trị SC50 của mẫu dãi hoa búp giấm tươi thu tại Đắk Lắk cho giá trị thấp hơn nhiều so với các mẫu được thu tại châu Phi là 0,24 mg/ml [7]. Lý do chính của kết quả khó so sánh là do dãi hoa búp giấm được sử dụng trong công bố trên là mẫu khô. Hoạt tính chống oxy hóa của các hoạt chất phenol, flavonoid trong mẫu dãi hoa búp giấm tươi liên quan tới khả năng hấp thụ và trung hòa các gốc tự do nên là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá hoạt tính sinh học.

4. Kết luận

Bằng kỹ thuật sắc ký lỏng phân giải cao ghép nối khối phổ gồm: Sắc ký lỏng Ultimate 3000 RSLC và khối phổ phân giải cao Q Exactive Focus Orbitrap MS (Thermo Scientific) và phát hiện các hợp chất dựa trên mzCloud bằng việc ghép nối khối phổ MS/MS từ thư viện dữ liệu phổ HRAM MS2 Spectral Library Match-mzCloud, 61

hợp chất đã được phát hiện có mặt trong cao tổng cồn nước của đài hoa búp giấm tươi (*Hibiscus sabdariffa* L.) được thu hoạch tại Đắc Lắc vào tháng 9 năm 2016. Các nhóm hợp chất chính có mặt trong cao chiết là amino axit và amin, tiếp đến là các axit hữu cơ. Các nhóm hoạt chất có hoạt tính sinh học cao cũng có mặt trong cao chiết là flavonoid, polyphenol ở tỷ lệ thấp hơn. Hàm lượng đường có trong cao chiết tổng cồn/nước khá thấp là 1,48 % nhưng lại gây khó khăn khi chưng cất loại dung môi do dễ tạo bọt.

Các kết quả phân tích định lượng tổng hàm lượng polyphenol bằng thuốc thử phenol Folin – Ciocalteu trong dung dịch chiết cồn/nước là 7,09 mg GAE/g và tổng flavonoid bằng thuốc thử Neu là 3,45 mg QE/ g cao tổng cồn nước của đài hoa tươi. Từ kết quả phân tích sắc ký lỏng khối phổ phân giải cao, nhóm tác giả cũng đã xác định hàm lượng từng polyphenol và flavonoid trong các phân đoạn trên. Kết quả nghiên cứu cho thấy sắc ký lỏng phân giải cao ghép nối khối phổ là phương pháp hữu hiệu, nhanh và đơn giản, có độ chính xác cao để nhận dạng và xác định thành phần hóa học của cao chiết tổng và các cao chiết phân đoạn của các dược liệu.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả cảm ơn Dự án Đầu tư xây dựng phòng thí nghiệm chuyên ngành hóa dược đã đầu tư thiết bị và kinh phí để thực hiện bài báo này. Cảm ơn Công ty Năng lượng xanh đã cung cấp mẫu đài hoa búp giấm để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Cissé, M., Dornier, M., Sakho, M., Ndiaye, A., Reynes, M., Sock, O., “Le bissap (*Hibiscus sabdariffa* L.): Composition et principales utilisations”, *Fruits*, 64 (3), 2009, pp. 179–193.
- [2] Shan Lia, Chuanxing Wan, Lili Hec, Zhigang Yan, Kaishun Wanga, Muhua Yuana, Zhifeng Zhanga, “Rapid identification and quantitative analysis of chemical constituents of *Gentiana veitchiorum* by UHPLC-PDA-QTOF-MS”, *Rev. bras. Farmacogn.*, Vol. 27, No. 2, 2017, pp. 188 – 194.
- [3] Siriwoham T., Wrolstad R.E., Finn C.E., “Influence of cultivar, maturity, and sampling on blackberry (*Rubus* L. Hybrids) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 52, 2004, pp. 8021 – 8030.
- [4] Hariri E. B., Sallé G., Andary C., “Involvement of flavonoids in the resistance of two poplar cultivars to mistletoe (*Viscum album* L.)”, *Protoplasma*, 162 (1), 1991, pp. 20-26.
- [5] T. Andzi BarhéG.R.Feuya Tchouya, “Comparative study of the antioxidant activity of the total polyphenols extracted from *Hibiscus Sabdariffa* L., *Glycine max* L. Merr., yellow tea and red wine through reaction with DPPH free radicals”, *Arabian Journal of Chemistry*, Vol. 9, Issue 1, 2016, pp. 1-8.
- [6] Mahadevan S., Pradeep K., “*Hibiscus sabdariffa* Linn – an overview”, *Natural product Radiance*, 8(1), 2009, pp. 77 - 83.
- [7] Obouayeba Abba Pacôme, Djyha Nazaire Bernard, Diabate Sékou, Djaman Allico Joseph, N'Guessan Jean David, Kone Mongomaké và Koukou Tanoh Hilaire, “Phytochemical and antioxidant activity of *Roselle* (*Hibiscus Sabdariffa* L.) petal extracts”, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(2), 2014, pp. 1453 - 1465.

(BBT nhận bài: 27/11/2017, hoàn tất thủ tục phản biện: 22/12/2017)