

ẢNH HƯỞNG CỦA HỆ DUNG MÔI CHIẾT ĐẾN HÀM LƯỢNG TỔNG CÁC HỢP CHẤT PHENOL, TỔNG FLAVONOID VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA CỦA CAO CHIẾT TỪ NẤM *OPHIOCORDYCEPS SOBOLIFERA*

Trần Văn Khoa, Lê Trung Hiếu*, Trần Thanh Minh,
Hồ Xuân Anh Vũ, Trần Thị Văn Thi

Khoa Hóa, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

*Email: lthieu@hueuni.edu.vn

Ngày nhận bài: 28/7/2020; ngày hoàn thành phản biện: 30/7/2020; ngày duyệt đăng: 02/10/2020

TÓM TẮT

Bài báo này đánh giá ảnh hưởng của hệ dung môi chiết ethanol- nước đến hàm lượng tổng các hợp chất phenol, tổng flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết từ nấm *Ophiocordyceps sobolifera*. Cao ethanol 70% (v/v) có khả năng chống oxy hóa tốt nhất và ở nồng độ 2 mg/mL khả năng bắt gốc tự do DPPH trên 80%, hàm lượng tổng các chất chống oxy hóa quy tương đương 17,90 ± 0,09 mg gallic acid (GA)/g hoặc 14,58 ± 0,03 mg ascorbic acid (AS)/g. Tổng các hợp chất phenol được xác định bằng phương pháp Folin – Ciocalteu là: 13,00 ± 0,02 mg GA/g. Hàm lượng tổng flavonoid được xác định bằng phương pháp tạo màu với AlCl₃ trong môi trường kiềm cho giá trị 7,86 ± 0,02 mg quercetin (QE)/g. So sánh với các mẫu được liệu khác, cho thấy mẫu nấm *Ophiocordyceps sobolifera* có tiềm năng về hoạt tính chống oxy hóa.

Từ khóa: hệ dung môi chiết, phenol, flavonoid, hoạt tính chống oxy hóa, nấm *Ophiocordyceps sobolifera*.

1. MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, nhiều loại nấm, đặc biệt là các nấm dược liệu, đã được nghiên cứu rộng rãi về hoạt tính chống oxy hóa. Các nghiên cứu trước cho thấy, việc tăng cường các chất chống oxy hóa có nguồn gốc tự nhiên làm giảm nguy cơ mắc nhiều bệnh về tim mạch và ung thư [1].

Chi *Cordyceps* được tìm thấy nhiều ở các nước châu Á như Việt Nam, Thái Lan, Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc [2], [3]. Một số loài *Cordyceps spp.* đã được sử dụng như một loại thuốc truyền thống để điều hòa hệ miễn dịch, chống mệt mỏi, kéo dài tuổi thọ và các chức năng khác [4], [5], [6]. *Ophiocordyceps sobolifera* (syn *Cordyceps sobolifera*) thuộc họ *Cordyceps*, là một loài nấm entomogenous ký sinh trên các loài ve

sâu không cánh. Các báo cáo trước đây chỉ ra rằng *Ophiocordyceps sobolifera* thể hiện hoạt tính ức chế sao chép ngược của virus HIV-1 [7], làm giảm tổn thương tuyến thượng thận ở chuột [8].

Bốn nhóm hợp chất chính tạo nên các hoạt tính chống oxy hóa từ các loài nấm Cordyceps: polysaccharide, terpenoid, các hợp chất phenol và alkaloid [2], [4], [6]. Trong số bốn nhóm hợp chất này, các hợp chất phenol là quan trọng đối với ứng dụng về các hoạt tính chống oxy hóa, và ung thư [5], [6].

Có nhiều kỹ thuật để chiết xuất các chất chống oxy hóa từ nấm, chẳng hạn như chiết Soxhlet, chiết CO₂ siêu tới hạn, chiết hồi lưu, và chiết hồi lưu có hỗ trợ siêu âm. Tuy nhiên, hàm lượng các hợp chất và hoạt tính chống oxy hóa không chỉ phụ thuộc vào phương pháp chiết mà còn phụ thuộc vào dung môi được sử dụng để chiết xuất. Các hợp chất chống oxy hóa khác nhau trong mẫu nguyên liệu, với các đặc tính và độ phân cực khác nhau, có thể hòa tan hay không hòa tan trong một dung môi cụ thể [9]. Dung môi phân cực thường được sử dụng để chiết xuất các hợp chất phenol. Các dung môi thích hợp nhất là hỗn hợp nước - ethanol, nước - methanol, và nước - acetone. Ethanol đã được xem là dung môi tốt và an toàn nhất để chiết các phenol. Methanol thường được sử dụng để chiết các phenol có khối lượng phân tử thấp hơn, trong khi đó acetone và nước lại tốt cho việc chiết các hợp chất phenol có khối lượng phân tử cao hơn [10]. Một số công trình nghiên cứu trước cho thấy, hỗn hợp ethanol - nước có khả năng chiết xuất hàm lượng các hợp chất phenol tốt hơn so với metanol - nước và acetone - nước [10], [11]. Mặt khác, cao chiết thu được từ hệ dung môi ethanol - nước có thể ứng dụng được đối với những mục đích liên quan đến an toàn thực phẩm.

Trên cơ sở đó, bài báo này khảo sát ảnh hưởng của hệ dung môi chiết ethanol - nước ở các tỷ lệ khác nhau, đến hàm lượng tổng các hợp chất phenol, tổng flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của cao chiết thu được từ nấm *Ophiocordyceps sobolifera*.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu

Giống nấm *Ophiocordyceps sobolifera* được mua từ Công ty Aloha Medicinals, 2300 Arrowhead Drive, Carson City, United States, Hoa Kỳ và được nuôi trồng thành sinh khối trong phòng thí nghiệm ở Việt Nam.

2.2. Hóa chất và thiết bị

Tất cả hóa chất đều đạt tiêu chuẩn phân tích: Na₂CO₃, NaOH, NaNO₂, AlCl₃, H₂SO₄, (NH₄)₂MoO₄, Gallic acid, Quercetin (Sigma-Aldrich), Folin -Ciocalteu, DPPH (Merck).

Thiết bị chính được sử dụng là máy siêu âm Power Sonic 420 (Hàn Quốc), máy quang phổ Jasco V-630 (Nhật Bản).

2.3. Tách chiết cao từ nấm *Ophiocordyceps sobolifera*

Mẫu nguyên liệu khô (0,5 gam) được chiết với các hệ dung môi chiết ethanol – nước với các nồng độ ethanol khác nhau (30%, 50%, 70% và 96% (v/v)), với các thông số chiết tương ứng: tỷ lệ mẫu: thể tích dung môi (g/mL) 1:50, thời gian chiết (phút): 90, số lần chiết: 3 lần, nhiệt độ 70 °C và có hỗ trợ của sóng siêu âm (tần số 40 Hz) quá trình chiết được dừng lại khi khối lượng cao chiết lần thứ n+1 thu được không đáng). Mẫu quá trình chiết được làm lạnh đến nhiệt độ phòng, lọc và gộp các dịch chiết, sau đó tiến hành cô quay chân không, thu được các cao tương ứng.

2.4. Phương pháp đánh giá khả năng chống oxy hóa

2.4.1. Phương pháp xác định tổng khả năng chống oxy hóa (total antioxidant capacity (TAC))

Tổng khả năng chống oxy hóa của mẫu được xác định thông qua việc đánh giá khả năng cho electron của mẫu thử bằng phương pháp phosphor molybdenum. Nguyên tắc của phương pháp này là dựa trên cơ sở khả năng khử Mo (VI) về Mo (V) tạo phức màu xanh lá cây trong môi trường acid.

Cao chiết được hòa tan trong methanol vừa đủ. Sau đó, lấy 0,3 mL dịch chiết thêm vào 3 mL dung dịch thuốc thử (H_2SO_4 0,6 M, NaH_2PO_4 28 mM và $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ 4 mM), đậy kín và ủ 95°C trong 90 phút. Mẫu được làm lạnh về nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ quang của dung dịch sau phản ứng được đo ở bước sóng 695 nm. Ethanol với nồng độ tương ứng được sử dụng làm mẫu trắng. Hàm lượng chất chống oxy hóa được quy tương đương với mg gallic acid/ gam dược liệu và được xác định thông qua phương trình hồi quy tuyến tính [12], [13]. Tất cả thí nghiệm được lặp lại 3 lần, giá trị biểu diễn dưới dạng: ($X_{\text{trung bình}} \pm S$ (S: stdev); n = 3).

2.4.2. Phương pháp xác định tác dụng bắt gốc tự do DPPH

Hoạt tính chống oxy hóa thể hiện qua khả năng làm giảm màu của DPPH, được xác định bằng phương pháp đo quang ở bước sóng 517 nm [12], [14] (DPPH là gốc tự do bền, màu tím, có độ hấp thụ cực đại mạnh tại bước sóng 517 nm. Quá trình chuyển màu tím sang vàng khi electron tự do của gốc DPPH bắt cặp với một electron từ chất chống oxy hóa hoặc một nguyên tử hydro để tạo thành DPPH-H khử). Pha dung dịch DPPH nồng độ 100 μM trong methanol ngay trước khi dùng. Hỗn hợp phản ứng có thể tích 3 mL, gồm 1,5 mL mẫu và 1,5 mL dung dịch DPPH nồng độ 100 μM đã pha trong methanol ở trên. Pha loãng để khảo sát ở các nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$; 80 $\mu\text{g/mL}$; 60 $\mu\text{g/mL}$; 40 $\mu\text{g/mL}$, 20 $\mu\text{g/mL}$. Các hỗn hợp phản ứng được lắc trong 1 phút và ủ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, rồi tiến hành đo quang ở bước sóng 517 nm. Tác dụng bắt gốc tự do DPPH được đánh giá qua giá trị IC_{50} . Giá trị IC_{50} được định nghĩa là nồng độ của

mẫu mà tại đó mẫu có thể ức chế 50% DPPH. Giá trị IC₅₀ càng nhỏ thì mẫu có hoạt tính càng cao.

Công thức tính:

$$SA_{DPPH} (\%) = [(Ac - As)/Ac] \times 100 \quad (2.1)$$

Trong đó: SA_{DPPH} (%): tỉ lệ bắt gốc tự do (Scavenging Activity) của mẫu nghiên cứu

As: mật độ quang của mẫu khảo sát

Ac: mật độ quang của dung dịch DPPH

2.5. Phương pháp xác định hàm lượng tổng các hợp chất phenol và tổng flavonoid

2.5.1. Phương pháp xác định hàm lượng tổng các hợp chất phenol (total phenolic content)

Dựa trên phản ứng tạo màu của các hợp chất phenol với thuốc thử Folin – Ciocalteu (thuốc thử Folin – Ciocalteu chứa chất oxi hóa là axit phospho-vonframic, trong quá trình khử, các nhóm hydroxy phenol dễ bị oxi hóa, chất oxi hóa này sinh ra màu xanh có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 760 nm). Lấy 0,5 mL dịch chiết hoặc dung dịch gallic acid chuẩn (có nồng độ từ 0,1 mg/mL đến 2 mg/mL) thêm vào 2,5 mL Folin – Ciocalteu (1:10), lắc đều. Sau 4 phút, thêm vào 2 mL dung dịch Na₂CO₃ bão hòa, lắc đều, ủ 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Mật độ quang của dung dịch sau phản ứng được đo ở bước sóng 760 nm và kết quả được quy tương đương theo số mg gallic acid (GA)/g mẫu [15], [16].

2.6. Phương pháp xác định hàm lượng tổng flavonoid (total flavonoid content)

Dựa vào phản ứng tạo phức màu của các flavonoid với ion Al³⁺ trong môi trường kiềm. Lấy 1 mL dịch chiết hoặc dung dịch quercetin chuẩn (có nồng độ từ 0,05 đến 0,25 mg/mL), thêm vào 4 mL nước cất 2 lần, sau đó, thêm vào 0,3 mL dung dịch NaNO₂ 5%. Sau 5 phút thêm tiếp 0,3 mL dung dịch AlCl₃ 10%, sau 6 phút cho vào 2 mL dung dịch NaOH 1 M và định mức đến thể tích 10 mL bằng nước cất. Độ hấp thụ quang của dung dịch phản ứng được đo ở bước sóng 510 nm. Quercetin được sử dụng làm chất chuẩn tham khảo và kết quả được quy tương đương theo số mg quercetin (QE)/g mẫu [16].

2.7. Xử lý số liệu

Tất cả các phân tích được thực hiện ít nhất là ba lần và các giá trị này sau đó được trình bày dưới dạng giá trị trung bình cùng với độ lệch chuẩn ($X_{\text{trung bình}} \pm Sd$ (S: Standard deviation)). Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm Excel. So sánh thống kê được thực hiện với phân tích phương sai một chiều và giá trị $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các công bố đây trước đây ([17], [18]) cho thấy: các hợp chất phenol và flavonoid là thành phần chính tạo nên hoạt tính chống oxy hóa của các loài nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps* [17], [18]. Hàm lượng của chúng, và do đó, hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết thu được để sử dụng phụ thuộc rất nhiều vào các điều kiện chiết.

3.1. Ảnh hưởng của hệ dung môi chiết đến hàm lượng tổng các chất phenol và tổng flavonoid

Xây dựng đường chuẩn với chất chuẩn là gallic acid trong khoảng nồng độ từ 0,05 mg/mL đến 0,30 mg/mL. Kết quả thu được phương trình hồi quy tuyến tính tương ứng:

$$Abs = 10,306 C_{GA} + 0,1183 \text{ với hệ số tương quan } R = 0,9998.$$

Công thức tính:

$$\text{Tổng hàm lượng các hợp chất phenol} = \frac{Abs - 0,1183}{10,306} \times V \times \frac{100}{m \times (100 - W)} \text{ (mg GA/g)} \quad (3.1)$$

Xây dựng đường chuẩn với chất chuẩn là quercetin trong khoảng nồng độ từ 0,02 mg/mL đến 0,20 mg/mL. Kết quả thu được phương trình hồi quy tuyến tính tương ứng:

$$Abs = 10,069 C_{QE} + 0,0545 \text{ với hệ số tương quan } R = 0,9978.$$

Công thức tính:

$$\text{Tổng hàm lượng các hợp chất flavonoid} = \frac{Abs - 0,0545}{10,069} \times V \times \frac{100}{m \times (100 - W)} \text{ (mg QE/g)} \quad (3.2)$$

Bảng 1. Ảnh hưởng của dung môi chiết đến hàm lượng tổng các hợp chất phenol và tổng flavonoid thu được từ nấm *Ophiocordyceps sobolifera*

Hệ dung môi chiết	nước	ethanol 30%	ethanol 50%	ethanol 70%	ethanol 96%
Hàm lượng tổng các hợp chất phenol (mg GA/g)	10,78 ± 0,01	11,17 ± 0,02	12,19 ± 0,04	13,00 ± 0,02	11,77 ± 0,09
Hàm lượng tổng flavonoid (mg QE/g)	6,48 ± 0,31	7,01 ± 0,03	7,61 ± 0,10	7,86 ± 0,02	6,32 ± 0,11

Hàm lượng tổng các hợp chất phenol trong cao chiết dao động từ 10,78 ± 0,01 (khi chiết bằng dung môi nước) đến 13,00 ± 0,02 mg GA/g (khi chiết bằng dung môi ethanol 70% (Bảng 1)). Giá trị này giảm dần theo các hệ dung môi chiết: ethanol 70% > ethanol 50% > ethanol 96% > ethanol 30% > nước. Hàm lượng tổng các chất phenol khi chiết bằng nước thấp hơn so với các hệ dung môi còn lại. Hàm lượng tổng các hợp chất

phenol khi chiết xuất bằng ethanol 70% cao hơn nhưng không nhiều so với ethanol 50%.

Nước và ethanol được xem là dung môi lý tưởng để chiết xuất các hợp chất phenol từ dược liệu. Tuy nhiên, các mẫu dược liệu khác nhau có chứa các hợp chất phenol với các bộ khung rất đa dạng với độ phân cực khác nhau và do đó, tương tác giữa các hợp chất phenol với dung môi nước hoặc ethanol cũng rất khác nhau. Điều đó dẫn đến hệ dung môi có thành phần ethanol- nước khác nhau thì khả năng chiết không giống nhau.

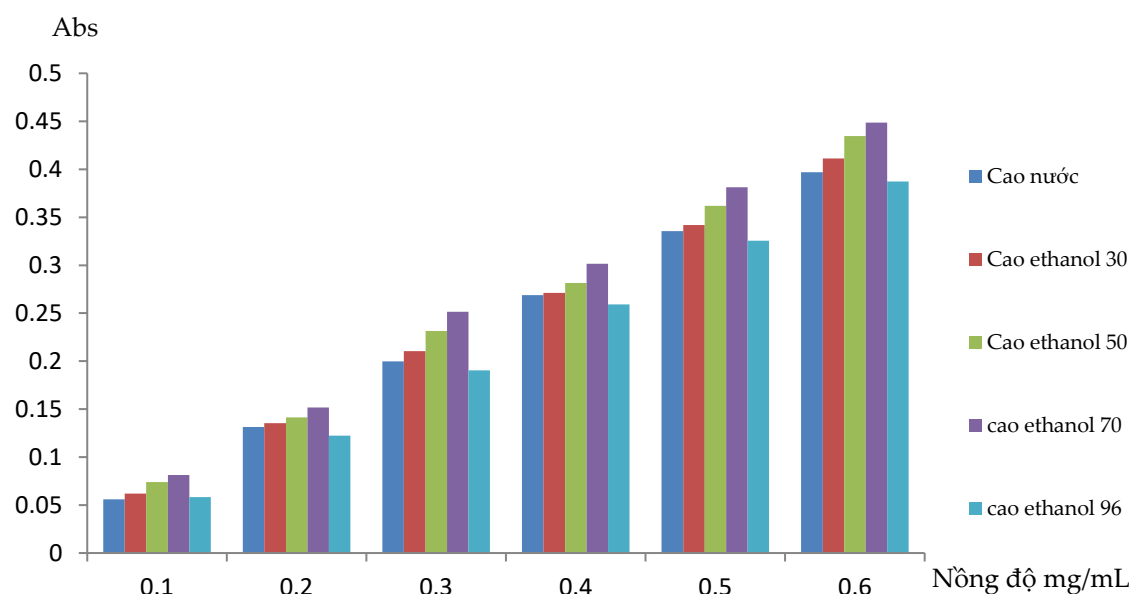
Bảng 1 cũng cho thấy, ảnh hưởng của hệ dung môi chiết đến hàm lượng tổng flavonoid trong cao chiết cũng giảm theo thứ tự trên. Tuy nhiên, hàm lượng flavonoid thu được của dung môi nước lớn hơn so với ethanol 96%, điều này được giải thích như sau: các flavonoid chứa nhiều nhóm OH nên dễ dàng tan trong dung môi nước hơn so với ethanol 96%. Hàm lượng tổng flavonoid thu được cao nhất thu được ở dung môi ethanol 70% ($7,86 \pm 0,02$ mg QE/g) và thấp nhất khi chiết bằng dung môi ethanol 96% ($6,32 \pm 0,11$ mg QE/g).

Như vậy, hệ dung môi thích hợp để chiết xuất các hợp chất phenol và flavonoid từ mẫu *O. sobolifera* nghiên cứu là ethanol 70%. Trong cao chiết ethanol 70% có chứa tổng các hợp chất phenol tương đương $13,00 \pm 0,02$ mg GA/g và tổng các flavonoid tương đương $7,86 \pm 0,02$ mg QE/g.

3.2. Ảnh hưởng của hệ dung môi đến hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết

3.2.1. Tổng khả năng chống oxy hoá theo mô hình phosphor molybdenum

Tổng khả năng chống oxy hóa được xác định bằng phương pháp phosphor molybdenum thể hiện qua giá trị mật độ quang, biểu diễn trên hình 1. Giá trị mật độ quang của mẫu càng lớn, lực chống oxy hoá càng cao [12].



Hình 1. Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết từ *Ophiocordyceps sobolifera* ở các nồng độ khác nhau.

Tất cả 05 cao chiết từ mẫu *Ophiocordyceps sobolifera* đều có khả năng chống oxy hóa, lực chống oxy hóa tăng dần theo nồng độ mẫu. Từ nồng độ 0,5 đến 0,6 mg/mL, hoạt tính tăng không nhiều khi nồng độ tăng nên dừng khảo sát. Khả năng chống oxy hóa giảm dần theo các hệ dung môi chiết: ethanol 70% > ethanol 50% > ethanol 30% > Nước > ethanol 96%.

Tổng hàm lượng chất chống oxy hóa (Total Antioxidant Concentration, TAC) có trong mẫu dược liệu được quy về mg gallic acid/g mẫu và mg ascorbic acid/g mẫu. Xây dựng đường chuẩn phosphor molybdenum với chất chuẩn là gallic acid hoặc ascorbic acid trong khoảng nồng độ từ 0,05 mg/mL đến 0,5 mg/mL. Các nồng độ dung dịch: 0,05 mg/mL; 0,1 mg/mL; 0,2 mg/mL; 0,3 mg/mL; 0,4 mg/mL; 0,5 mg/mL, tương ứng với mật độ quang: theo chất chuẩn gallic acid là 0,2847; 0,4263; 0,6339; 0,8415; 1,0100; 1,2064 và theo chất chuẩn ascorbic acid là 0,2352; 0,4720; 0,9487; 1,4313; 1,8938; 2,3858. Từ đó thu được phương trình hồi quy tuyến tính tương ứng của gallic acid:

$$Abs = 2,0114 C_{GA} + 0,2142 \text{ với hệ số tương quan } R = 0,9982$$

và của ascorbic acid:

$$Abs = 4,7699 C_{SA} - 0,0044, \text{ với hệ số tương quan } R = 0,9952.$$

Công thức tính:

$$(3.3) \quad \text{Tổng hàm lượng chất chống oxy hóa} = \frac{Abs - 0,2142}{2,0114} \times V \times \frac{100}{m \times (100 - W)} \text{ (mg GA/g)}$$

$$\text{Tổng hàm lượng chất chống oxy hóa} = \frac{\text{Abs} + 0,3231}{4,5974} \times V \times \frac{100}{m \times (100 - W)} \text{ (mg AS/g)}$$

(3.4)

Trong đó: Abs: mật độ quang của mẫu

V: thể tích dịch chiết thu được; m: khối lượng mẫu; W: độ ẩm của mẫu

Tổng khả năng chống oxy hóa của các dược liệu đều thể hiện cao nhất ở nồng độ cao chiết 0,6 mg/mL, tại nồng độ này hàm lượng chất chống oxy hóa quy về nguyên liệu nấm *Ophiocordyceps sobolifera* được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Hàm lượng chất chống oxy hóa quy tương đương gallic acid (GA) hoặc ascorbic acid (AS) trong mẫu nấm *Ophiocordyceps sobolifera* ($p = 0,95$; $n = 3$).

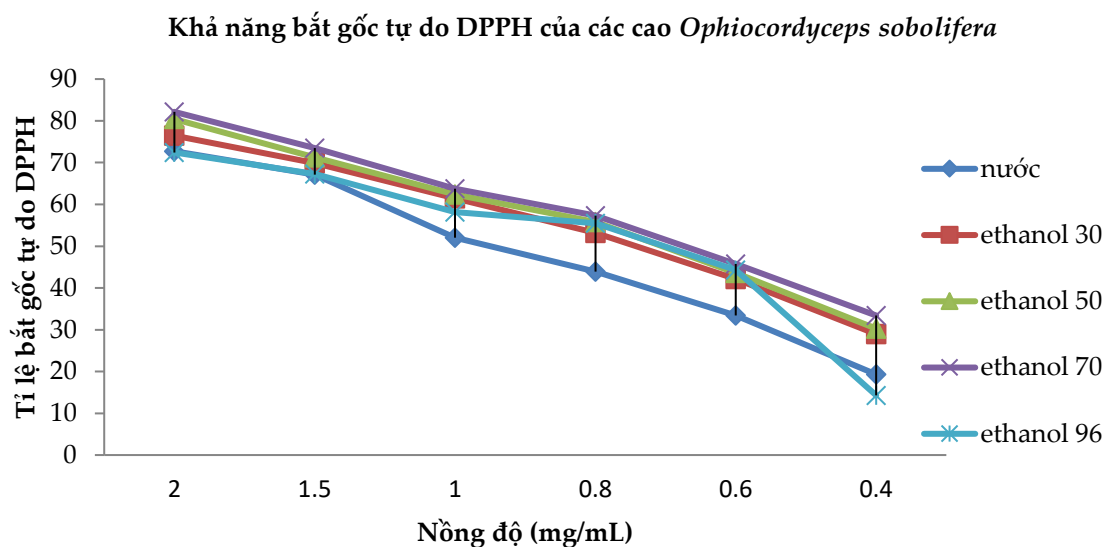
Mẫu	Hàm lượng chất chống oxy hóa	
	mg GA/g	mg AS/g
Cao nước	13,94 ± 0,07	12,91 ± 0,03
Cao ethanol 30°	15,05 ± 0,01	13,83 ± 0,04
Cao ethanol 50°	16,81 ± 0,04	14,13 ± 0,06
Cao ethanol 70°	17,90 ± 0,09	14,58 ± 0,03
Cao ethanol 96°	13,20 ± 0,04	12,60 ± 0,04

Điều đáng chú ý là hàm lượng tổng các chất chống oxy hóa giảm dần theo các hệ dung môi chiết: ethanol 70% > ethanol 50% > ethanol 30% > nước > ethanol 96°, tương tự như hàm lượng tổng các hợp chất phenol và tổng hàm lượng các flavonoid. Hàm lượng chất chống oxy hóa trong cao ethanol 70% là 17,90 ± 0,09 mg GA/g hoặc 14,58 ± 0,03 mg AS/g.

3.2.2. Khả năng bắt gốc tự do DPPH

Gốc DPPH là gốc tự do hữu cơ ổn định có sự hấp thụ ở bước sóng 517 nm. Khả năng hấp thụ này sẽ mất đi khi gốc DPPH nhận điện tử hoặc nguyên tử hydro, dẫn đến sự đổi màu đáng chú ý: từ màu tím sang màu vàng. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của các dung dịch chiết ở nồng độ khác nhau được trình bày ở hình 2.

Tương tự như khả năng chống oxy hóa theo mô hình phosphor molybdenum, khả năng bắt gốc tự do DPPH của các cao chiết cũng thể hiện tăng dần theo nồng độ dung dịch. Giá trị IC₅₀ của các dịch chiết theo chiều giảm dần: nước > ethanol 30% > ethanol 50%; ethanol 96% > ethanol 70% từ *Ophiocordyceps sobolifera* tương ứng là 0,95; 0,74; 0,70; 0,70 và 0,67 mg/mL. Giá trị IC₅₀ càng nhỏ cho thấy khả năng chống oxy hóa càng cao, cao ethanol 70% có giá trị IC₅₀ nhỏ nhất. Ở nồng độ 2 mg/mL, các cao chiết đều bắt trên 70% gốc tự do. Ở tất cả các nồng độ khảo sát, khả năng bắt gốc tự do của cao ethanol 70% đều lớn hơn các cao chiết còn lại.



Hình 2. Khả năng bắt gốc tự do DPPH của cao chiết từ *Ophiocordyceps sobolifera* ở các nồng độ.

Như vậy, thực nghiệm trên đã cho thấy kết quả rất thú vị đối với mẫu dược liệu *Ophiocordyceps sobolifera* có hoạt tính cao hơn nấm Linh chi và nấm Đông cô [19], tuy nhiên hoạt tính chống oxy hóa nhỏ hơn rất nhiều so với ascorbic acid $IC_{50} = 4,45 \mu\text{g/mL}$ (ở các nồng độ 2; 4; 6; 8; 10 $\mu\text{g/mL}$ khả năng bắt gốc DPPH là 28,92; 43,27; 66,25; 83,14; 95,52%).

4. KẾT LUẬN

- Các cao chiết từ nấm *Ophiocordyceps sobolifera* đều cho thấy khả năng chống oxy hóa trong cả hai mô hình phosphor molybdenum và bắt gốc tự do DPPH.

- Hàm lượng tổng các chất chống oxy hóa, hàm lượng tổng các hợp chất phenol và tổng các flavonoid đều giảm dần trong các cao chiết tương ứng với các hệ dung môi: ethanol 70% > ethanol 50% > ethanol 30% > nước > ethanol 96%. Có khả năng các hợp chất phenol và flavonoid là thành phần đóng góp chính trong tổng các chất chống oxy hóa này.

- Hệ dung môi thích hợp nhất để chiết xuất các hợp chất phenol và flavonoid từ mẫu *O. Sobolifera* nghiên cứu là ethanol 70%. Cao chiết thu được có chứa tổng các hợp chất phenol tương đương $13,00 \pm 0,02 \text{ mg gallic acid/g}$, tổng flavonoid tương đương $7,86 \pm 0,02 \text{ mg quercetin/g}$, hàm lượng tổng các chất chống oxy hóa là $17,90 \pm 0,09 \text{ mg GA/g}$ hoặc $14,58 \pm 0,03 \text{ mg AS/g}$.

- Cao chiết ethanol 70% cũng là cao có tổng khả năng chống oxy hóa tốt nhất và bắt gốc tự do DPPH tốt nhất: ở nồng độ 2 mg/mL có khả năng bắt trên 80% gốc tự do DPPH.

Như vậy, mẫu nấm *Ophiocordyceps sobolifera* có khả năng chống oxy hóa hứa hẹn là một nguồn dược liệu chống oxy hóa tiềm năng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Díaz-Rubio, M. E., Serrano, J., Goñi, I., & Saura-Calixto, F. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41(3), 274-285.
- [2] Tuli, H. S., Sandhu, S. S., & Sharma, A. K. (2014). Pharmacological and therapeutic potential of Cordyceps with special reference to Cordycepin. *3 Biotech*, 4(1), 1-12.
- [3] Shih, L., Tsai, K. L., & Hsieh, C. (2007). Effects of culture conditions on the mycelial growth and bioactive metabolite production in submerged culture of *Cordyceps militaris*. *Biochemical engineering journal*, 33(3), 193-201.
- [4] Nie, S., Cui, S. W., Xie, M., Phillips, A. O., & Phillips, G. O. (2013). Bioactive polysaccharides from *Cordyceps sinensis*: Isolation, structure features and bioactivities. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 1(1), 38-52.
- [5] Yang, S., & Zhang, H. (2016). Optimization of the fermentation process of *Cordyceps sobolifera* Se-CEPS and its anti-tumor activity *in vivo*. *Journal of biological engineering*, 10(1), 8.
- [6] Zhou, X., Gong, Z., Su, Y., Lin, J., & Tang, K. (2009). Cordyceps fungi: natural products, pharmacological functions and developmental products. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61(3), 279-291.
- [7] Wang, S. X., Liu, Y., Zhang, G. Q., Zhao, S., Xu, F., Geng, X. L., & Wang, H. X. (2012). Cordysobin, a novel alkaline serine protease with HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activity from the medicinal mushroom *Cordyceps sobolifera*. *Journal of bioscience and bioengineering*, 113(1), 42-47.
- [8] Chiu, C. H., Chyau, C. C., Chen, C. C., Lin, C. H., Cheng, C. H., & Mong, M. C. (2014). Polysaccharide extract of *Cordyceps sobolifera* attenuates renal injury in endotoxemic rats. *Food and chemical toxicology*, 69, 281-288.
- [9] Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, Y. S. (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food chemistry*, 99(4), 835-841.
- [10] Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- [11] Wang, H., & Helliwell, K. (2001). Determination of flavonols in green and black tea leaves and green tea infusions by high-performance liquid chromatography. *Food Research International*, 34(2-3), 223-227.

- [12]Nair, V. D., Panneerselvam, R., & Gopi, R. (2012). Studies on methanolic extract of Rauvolfia species from Southern Western Ghats of India–*In vitro* antioxidant properties, characterisation of nutrients and phytochemicals. *Industrial Crops and Products*, 39, 17-25.
- [13]Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*, 269(2), 337-341.
- [14]Wong, S. P., Leong, L. P., & Koh, J. H. W. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food chemistry*, 99(4), 775-783.
- [15]Gan, R. Y., Xu, X. R., Song, F. L., Kuang, L., & Li, H. B. (2010). Antioxidant activity and total phenolic content of medicinal plants associated with prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(22), 2438-2444.
- [16]Marinova, D., Ribarova, F., & Atanassova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the university of chemical technology and metallurgy*, 40(3), 255-260.
- [17]Liu, H. G., Li, T., Zhao, Y. L., Zhang, J., & Wang, Y. Z. (2011). Determination of some metabolites of *Cordyceps sobolifera*. *African Journal of Microbiology Research*, 5(30), 5518-5522.
- [18]Xiao, Y., Rui, X., Xing, G., Wu, H., Li, W., Chen, X., ... & Dong, M. (2015). Solid state fermentation with *Cordyceps militaris* SN-18 enhanced antioxidant capacity and DNA damage protective effect of oats (*Avena sativa* L.). *Journal of Functional Foods*, 16, 58-73.
- [19]Shah, P., & Modi, H. A. (2015). Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. *International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology*, 3(6), 636-41.

**EFFECT OF EXTRACTION SOLVENTS ON TOTAL PHENOL CONTENT,
TOTAL FLAVONOID CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY
OF EXTRACTS FROM *OPHIOCORDYCEPS SOBOLIFERA***

**Tran Van Khoa, Le Trung Hieu*, Tran Thanh Minh,
Ho Xuan Anh Vu, Tran Thi Van Thi**

Faculty of Chemistry, University of Sciences, Hue University

*Email: lthieu@hueuni.edu.vn

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the effect of solvents on the total phenolic content, total flavonoids, and antioxidant activity of *Ophiocordyceps sobolifera*. The ethanol 70% extract has the best antioxidant ability and inhibition over 80% DPPH radical scavenging activity at the concentration of 2 mg/mL, the total antioxidant capacity is 17.90 ± 0.09 mg GA/g or 14.58 ± 0.03 mg AS/g. Total phenolic content was determined, using Folin - Ciocalteu's method, total flavonoid content was based on the complex color reaction with Al^{3+} ions in alkaline. The contents of phenolic and flavonoid found in ethanol 70% extract were 13.00 ± 0.02 mg GA/g and 7.86 ± 0.02 mg QE/g, respectively. Comparing with other medicinal samples, it is showed that *Ophiocordyceps sobolifera* has antioxidant potential.

Keywords: extraction solvents, phenol, flavonoid, antioxidant activity, *Ophiocordyceps sobolifera*.



Trần Văn Khoa sinh ngày 20/5/1970 tại Thừa Thiên Huế. Ông tốt nghiệp cử nhân chuyên ngành Hoá học năm 1993 tại Trường Đại học Tổng hợp Huế, tốt nghiệp thạc sĩ chuyên ngành Hoá Hữu cơ năm 2015 tại Trường Đại học Khoa học, ĐH Huế. Ông đang là Nghiên cứu sinh chuyên ngành Hoá Hữu cơ tại Trường Đại học Khoa học, ĐH Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Hoá học các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học.



Lê Trung Hiếu sinh ngày 06/9/1987. Ông nhận bằng Cử nhân Hóa học năm 2009 tại Trường Đại học Khoa học, ĐH Huế; nhận học vị Thạc sĩ Hóa học năm 2011 tại Trường Đại học Khoa học, ĐH Huế. Từ năm 2011 đến nay, ông công tác tại Trường Đại học Khoa học, ĐH Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Hóa học các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học, phân tích hợp chất hữu cơ.



Trần Thanh Minh sinh ngày 30/01/1980 tại Thừa Thiên Huế. Ông tốt nghiệp Cử nhân Hóa học năm 2002 tại Trường Đại học Khoa học, ĐH Huế, tốt nghiệp Thạc sĩ chuyên ngành Hóa hữu cơ năm 2007 tại Trường Đại học Khoa học, ĐH Huế. Từ năm 2015, ông là nghiên cứu sinh chuyên ngành Hóa hữu cơ tại Trường Đại học Khoa học, ĐH Huế. Từ 2002 đến nay, ông công tác tại Trường Đại học Khoa học, ĐH Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Tổng hợp vật liệu và ứng dụng xúc tác, tách và ứng dụng hợp chất thiên nhiên, phân tích hữu cơ.



Hồ Xuân Anh Vũ sinh ngày 23/03/1985 tại Thừa Thiên Huế. Ông tốt nghiệp cử nhân Hóa học năm 2009 tại Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế; tốt nghiệp thạc sĩ chuyên ngành Hóa Phân tích năm 2012 tại trường Đại học Khoa học; Đại học Huế. Từ năm 2019 đến nay, ông đang là nghiên cứu sinh chuyên ngành Hóa Phân tích tại trường Đại học Khoa học, Đại học Huế. Từ 2017 đến nay, ông công tác tại Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Phân tích trắc quang, phân tích điện hóa, phân tích các hợp chất hữu cơ và đánh giá chất lượng nước.



Trần Thị Văn Thi sinh ngày 10/10/1962. Bà nhận bằng Cử nhân Hóa học năm 1984 và bằng Thạc sĩ Hóa học năm 1997 tại Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế. Năm 2002, bà nhận học vị Tiến sĩ Hóa hữu cơ tại Khoa Hóa, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia Hà Nội. Bà được phong học hàm Phó giáo sư năm 2006.

Lĩnh vực nghiên cứu: Hóa học hữu cơ cho thực phẩm, hóa dược, hóa nông nghiệp, Vật liệu xúc tác cho phản ứng hữu cơ.

