

KHẢO SÁT CHẤT CHỐNG OXI HÓA TỪ CÂY RAU NGÒ ÔM

ĐỖ QUÝ DIỄM, NGÔ DUY TÂM

Khoa Công Nghệ Hóa Học, Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh,
doquydiem@iuh.edu.vn

Tóm tắt. Rau ngò ôm (*Limnophila aromatica*) sau khi phơi khô, xay mịn được đem đi tách béo bằng hexan và sau đó trích li chất chống oxy hóa bằng dung môi methanol. Thời gian tách béo và thời gian trích li được thực hiện tại 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ. Các dịch chiết thô được xác định hiệu suất trích li và hàm lượng phenol tổng (TPC) bằng phương pháp Folin Ciocalteu. Kết quả cho thấy thời gian tách béo chỉ ảnh hưởng lên hiệu suất trích li không ảnh hưởng lên hàm lượng TPC. Trong khi đó thời gian trích càng lâu, hiệu suất trích li và TPC càng cao. Mẫu M3-3, có thời gian tách béo và trích li cùng là 3h, cho hiệu suất trích li (8,51%) và hàm lượng TPC (44,25 mg GAE/g rau) cao nhất. Hoạt tính chống oxy hóa của mẫu M3-3 được xác định bằng phương pháp DPPH. Giá trị IC_{50} của M3-3 là 49,58 $\mu\text{g/mL}$. Từ những kết quả này cho thấy rau ngò ôm là một nguồn gốc cho việc khai thác chất chống oxy hóa từ tự nhiên.

Từ khóa. Chất chống oxy hóa, DPPH, rau ngò ôm, thời gian trích li, thời gian tách béo

ANALYSING ANTIOXIDANTS FROM *LIMNOPHILA AROMATICA*

Abstract. After drying, *Limnophila aromatica* was defatted with hexane and then extracted antioxidants with methanol solvent. Time for fat removal and extraction were carried out at 1h, 2h, 3h. The crude extracts were calculated a yield and were determined total phenolic content (TPC) by Folin Ciocalteu method. The results showed that the time of fat removal only affects to yield and no effect to TPC. While, the longer extraction time, the higher TPC. The M3-3, defatted and extracted for 3 hours, has highest yield (8,51%) and highest TPC (44,25 mg GAE/g sample). Antioxidant activity of M3-3 was determined by DPPH method. IC_{50} of M3-3 is 49,58 $\mu\text{g/mL}$. These results show that *Limnophila aromatica* is as a source of natural antioxidants.

Keywords. antioxidants, DPPH, *Limnophila aromatic*, extraction time, defatted time.

1. GIỚI THIỆU

Rau ngò ôm được trồng ở các nước Đông Nam Á. Rau ngò ôm có tên khoa học là *Limnophila aromatic* (Lamk.) Merr. (syn. *Limnophila grastissima* Blume), thuộc họ Scrophulariaceae. Rau ngò ôm được sử dụng phổ biến trong thực phẩm làm tăng thêm hương vị cho thức ăn. Ngoài ra trong dân gian, người ta còn sử dụng rau ngò ôm dùng để chữa các loại bệnh như: sỏi thận, sỏi, cảm ho, sởi mũi, lợi tiêu, đau bụng, ... [1]. Tuy nhiên, trên thực tế có rất ít nghiên cứu về loại rau này để làm rõ các vấn đề trên. Thành phần tinh dầu của rau ngò ôm đã được nghiên cứu và được báo cáo rằng có hoạt tính chống oxy hóa cao [2]. Ngoài ra một nghiên cứu khác của nhóm cũng đã dùng cây rau ngò ôm để trích ly tinh bột. Kết quả cho thấy đây là nguồn nguyên liệu tốt cho tổng hợp polymer có thể phân hủy sinh học [3].

Chất chống oxy hóa được biết như là chất có tác dụng ngăn chặn quá trình oxy hóa từ đó ngăn chặn các bệnh như tim mạch, ung thư, nhiễm trùng, ... Hợp chất phenol trong thực vật được xem như là một nguồn chất chống oxy hóa tự nhiên. Chất chống oxy hóa nguồn gốc thực vật được biết là có hoạt tính được lý cao, ít biến chứng và độc tính thấp. Trong khi chất chống oxy hóa tổng hợp có nhiều khả năng gây tác dụng phụ khi sử dụng thuốc [4]. Theo khảo sát năm 2010, một nửa thuốc chống oxy hóa trên thị trường có nguồn gốc từ tự nhiên. Với tầm quan trọng của chất chống oxy hóa, ngày nay việc tìm ra nguồn trong tự nhiên chứa chất chống oxy hóa là một trong những lĩnh vực đang được tập chung nghiên cứu.

Để góp phần vào việc tìm kiếm nguồn chất chống oxy hóa tự nhiên, rau ngò ôm được sử dụng để nghiên cứu khả năng chống oxy hóa. Trong nghiên cứu này sẽ khảo sát sự ảnh hưởng của thời gian tách béo bằng dung môi hexan cũng như thời gian trích li tới hiệu suất trích li và hàm lượng phenol tổng đã được khảo sát.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất và thiết bị

Rau ngò ôm được mua từ chợ địa phương trong quận Gò Vấp. Thuốc thử Folin-Ciocalteu (FC), acid gallic và 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) được mua từ hãng Aldrich Sigma. Na₂CO₃ khan, NaNO₃, NaOH, methanol loại dùng cho phân tích sắc kí lỏng, n-Hexane (95%), ethanol (95%) và ete dầu hỏa mua từ công ty hóa chất Việt Nam. Thiết bị dùng phân tích mẫu là máy quang phổ (Thermo scientific genesis 20). Ngoài ra mẫu còn được phân tích bằng thiết bị sắc kí khí ghép phổ Trace GC Ultra (Thermo), MS (ISQ – single quadrupole MS).

2.2. Chuẩn bị mẫu

Rau ngò ôm sau khi mua từ chợ về sẽ được rửa sạch nhiều lần với nước, loại bỏ phần rễ cũng như những cây bị hư, bị sâu. Sau đó rau ngò ôm được mang đi phơi gió có ánh sáng nhẹ (tránh ánh nắng trực tiếp) khoảng 1 tuần. Rau khô được thu lại và xay mịn bằng cối xay sinh tố để được bột rau. Bột rau ngò ôm trước khi trích li chất chống oxi hóa sẽ được tách béo (tách lipid) với dung môi ete dầu hỏa theo phương pháp lắc. Quá trình tách béo được thực hiện như sau, lấy 10 g bột rau và 100 mL dung môi ete dầu hỏa được cho vào trong bình tam giác 500 mL. Sau đó hỗn hợp trong bình tam giác được đặt vào trong máy lắc và quá trình tách béo được thực hiện tại vận tốc là 135 vòng/phút, thời gian khảo sát là 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ. Kết thúc quá trình tách lipid, hỗn hợp được mang đi lọc chân không. Phần lỏng sau lọc được đem đi tách dung môi tách bằng máy cô quay chân không và chất rắn được đem cân để tính hàm lượng lipid tự do. Trong khi đó, phần chất rắn sau lọc được sấy khô trong tủ sấy tại nhiệt độ 50 °C, thời gian là 4 giờ và thu được bột rau ngò ôm đã tách lipid (M). Bột mẫu M được cất giữ nơi mát không có ánh sáng để dùng cho các quá trình thử nghiệm khác. Tóm lại, sau khi tách lipid và sấy ta có 3 mẫu bột rau: M1 (1 giờ tách lipid), M2 (2 giờ tách lipid), M3 (3 giờ tách lipid).

2.3. Trích li chất chống oxi hóa

Quá trình trích li chất chống oxi hóa trong rau ngò ôm được thực hiện: lấy 3 g bột rau đã tách béo cho vào bình tam giác 250 mL có chứa 100 mL methanol và lắc hỗn hợp trong 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ với tốc độ của máy lắc là 135 vòng/phút, tại nhiệt độ phòng. Sau đó, hỗn hợp được đem đi lọc chân không. Chất rắn được loại bỏ, dịch chiết được đem đi cô quay chân không để loại bỏ dung môi. Sau khi tách dung môi thu được cao chiết chất chống oxi hóa thô. Cao chất chống oxi hóa thô được sấy khô trong tủ sấy tại nhiệt độ 60°C, 10 giờ. Sau sấy, chất chống oxi hóa được cân để tính hiệu suất trích li. Cao khô tiếp tục được phân tích để biết được hàm lượng phenol tổng (TPC) và hoạt tính chống oxi hóa. Các cao khô mang đi khảo sát bao gồm các mẫu M1-1, M1-2, M1-3, M2-1, M2-2, M2-3, M3-1, M3-2, M3-3. Kí tự “M” biểu thị cho mẫu rau ngò ôm mịn đã tách béo, chữ số thứ nhất biểu thị cho thời gian tách béo, chữ số thứ 2 biểu thị cho thời gian trích li chất chống oxi hóa.

2.4. Xác định hàm lượng phenol tổng

Hàm lượng phenol tổng (TPC) của các dịch chiết được xác định bằng phương pháp Folin Ciocalteu tham khảo từ Do và các cộng sự [5]. Phương pháp được thực hiện như sau: Cao chiết khô (0,2g) được hòa tan trong 20 mL methanol. Sau đó lấy 0,5 mL dịch chiết cho vào bình định mức 10 mL và dùng nước để định mức lên 10 mL. Folin-Ciocalteu được pha loãng với nước cất theo tỉ lệ 1:2. Mẫu được tiến hành đo như sau: Cho 0,1mL FC loãng vào 1ml dịch chiết loãng, sau đó để hỗn hợp ổn định 20 phút tại nhiệt độ phòng. Thêm vào hỗn hợp 1ml dd Na₂CO₃ và 3,9ml H₂O cho hỗn hợp dung dịch đủ 6ml. Hỗn hợp sau đó được ổn định 20 phút tại nhiệt độ phòng cho đến khi hỗn hợp có màu xanh dương. Hỗn hợp được đo độ hấp thụ quang bằng máy quang phổ UV tại bước sóng 760 nm. Đường chuẩn được xây dựng bởi chất chuẩn acid gallic có nồng độ lần lượt là 10, 20, 30, 40, 50 µg/mL. Hàm lượng TPC được biểu diễn bằng mg acid Gallic có trong một gam rau đã tách béo (mg GAE/g rau).

2.5. Xác định hoạt tính chống oxi hóa bằng phương pháp DPPH

Hoạt tính chống oxi hóa của dịch chiết được xác định bằng phương pháp DPPH của Do và các cộng sự [5]. Phương pháp được thực hiện như sau: Dung dịch DPPH được chuẩn bị mỗi lần đo bằng cách hòa tan 6 mg DPPH trong 50 mL methanol (khoảng 0,3 mM). Cao chiết được hòa tan và pha loãng bằng methanol như phương pháp xác định hàm lượng phenol tổng bên trên thành dung dịch có nồng độ lần lượt là 50,

100, 150, 200, 250 $\mu\text{g/mL}$. Sau đó lấy 2,5 mL dịch chiết trộn lẫn với 2,5 mL dung dịch DPPH. Hỗn hợp được ổn định trong bóng tối tại nhiệt độ phòng 20 phút. Hỗn hợp sau ổn định đem đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 517 nm. Phần trăm ức chế gốc tự do được tính theo công thức sau:

$$\% \text{ Ức chế} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100 \quad (*)$$

Trong đó A_1 : độ hấp thụ của dung dịch DPPH không có dịch chiết; A_2 : độ hấp thụ của dịch chiết khi trộn với dung dịch DPPH solution. Giá trị IC_{50} được định nghĩa như là lượng chất chống oxi hóa cần để ức chế 50% DPPH.

2.6. Xác định thành phần hóa học bằng phương pháp sắc kí khí khối phổ (GC/MS)

Để xác định thành phần hóa học của cây rau ngò ôm. Cao chiết thô rau ngò ôm được phân tách thành hai phân đoạn theo phương pháp phân tách cột sắc kí rắn - lỏng. Quá trình phân tách được tiến hành như sau: 0,05 g cao chiết thô được đưa vào cột sắc kí có đường kính 0,5 mm, chiều cao 10 mm chứa 1 g silica gel. Sau đó cho 3 mL hexane đi qua cột, kế tiếp là 5 mL methanol. Tương ứng ta thu được các phân đoạn 3 mL hexane và 5 mL methanol. Các phân đoạn này được đem đi phân tích TPC và hoạt tính chống oxi hóa.

Phân đoạn methanol được dùng để xác định thành phần hóa học bằng máy sắc kí khí khối phổ Trace GC Ultra (Thermo), MS (ISQ – single quadrupole MS). Chương trình như sau: nhiệt độ injector cài đặt 280°C, tỉ lệ dòng (split ratio) 50:1 nhiệt độ transfer line 280 °C; nhiệt độ ion source: 200 °C; nhiệt độ oven cao nhất là 350 °C, vận tốc gia nhiệt là 10°C/phút; mass range: 29-450 amu, dwell or scan times: 0.2s, EI; vận tốc khí He là 1.2ml/min.

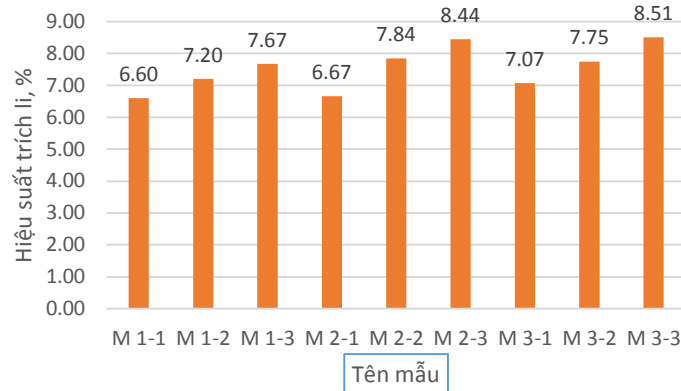
3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Khảo sát hiệu suất trích li (HSTL) chất chống oxi hóa theo thời gian tách béo và thời gian trích li

Bảng 1. Kết quả hàm lượng phenol tổng (TPC) của các mẫu rau ngò ôm

Tên mẫu	Thời gian tách béo, h	Thời gian trích li chất phenol, h	Hiệu suất trích li, %	TPC (mg GAE/g rau)
M 1-1	1	1	6.60	40.41
M 1-2	1	2	7.20	41.98
M 1-3	1	3	7.67	44.20
M 2-1	2	1	6.67	40.12
M 2-2	2	2	7.84	42.97
M 2-3	2	3	8.44	44.25
M 3-1	3	1	7.07	40.25
M 3-2	3	2	7.75	42.98
M 3-3	3	3	8.51	44.25

Theo Stalikas và các cộng sự [6] thì hiệu quả trích li phụ thuộc vào bản chất của mẫu, phương pháp trích li, kích thước mẫu, dung môi sử dụng trích li cũng như sự có mặt của các chất cản trở sự trích li có trong mẫu. Dung môi Ethanol và methanol được biết như là hai dung môi trích li hợp chất phenol hiệu quả và ít độc hại. Cho nên trong nghiên cứu này, ethanol đã được sử dụng để trích li chất chống oxi hóa có trong rau ngò ôm. Hiệu suất trích li (HSTL) chất chống oxi hóa của rau ngò ôm được khảo sát tại nhiệt độ phòng, pH không đổi nhưng thay đổi thời gian tách béo và thời gian trích li chất chống oxi hóa. Rau ngò ôm khô được tách chất béo trước khi tiến hành trích li chất chống oxi hóa. Thời gian tách chất béo được thực hiện là 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ. Ứng với mỗi mẫu rau ngò ôm đã tách béo lại được khảo sát thời gian trích li chất chống oxi hóa tại thời gian 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ. Cao chiết thô được xác định hiệu suất trích li và hàm lượng phenol tổng. Hình 1, hình 2 và bảng 1 biểu diễn hiệu suất trích li các chất phenolic và hàm lượng phenol tổng (TPC).



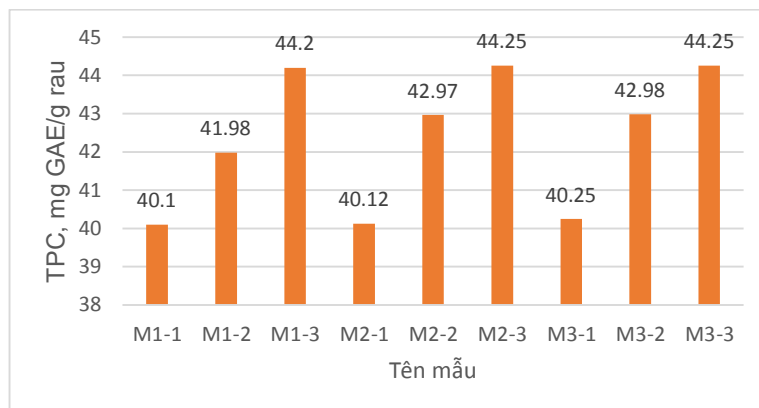
Hình 1. Thời gian tách béo và thời gian trích li ảnh hưởng đến hiệu suất trích li chất chống oxy hóa

Theo hình 1.1, thời gian tách béo và thời gian trích li chất chống oxy hóa có ảnh hưởng nhẹ tới hiệu suất trích li. Kết quả cho thấy trong cùng 1 giờ trích li, HSTL tăng khi thời gian tách béo tăng (M1-1>M2-1>M3-1). Hiệu suất trích li của mẫu M1-1 (6.6 %) có thời gian tách béo là 1 giờ nhỏ hơn mẫu M2-1 (6.67 %) có thời gian tách béo là 2 giờ, và HSTL của mẫu M2-1 nhỏ hơn mẫu M3-1 (7.07 %) có thời gian tách béo là 3 giờ. Tương tự, HSTL của các mẫu có thời gian trích li là 2 giờ và 3 giờ tăng dần theo thời gian tách béo. Số liệu trong bảng 1 và hình 1 còn cho thấy khi tăng thời gian trích li với methanol từ 1 đến 3 giờ thì hiệu suất trích li cũng tăng nhẹ. Cụ thể là ứng với mẫu có thời gian tách béo 1 giờ thì mẫu có thời gian trích li 3 giờ M1-3 sẽ có hiệu suất trích li cao nhất (7.07 %). Ứng với các mẫu có thời gian tách béo 2 giờ thì mẫu có thời gian trích li 3 giờ M2-3 (8.44 %) là cao nhất. Trong các mẫu có thời gian tách béo 3 giờ cũng cho thấy M3-3 (8.51 %) có thời gian trích li 3 giờ là cao nhất. Tóm lại khi khảo sát thời gian tách béo và thời gian trích li đều cho một kết quả là khi tăng thời gian tách béo và thời gian trích li từ 1 giờ đến 3 giờ thì HSTL tăng. Kết quả này cũng được thấy tương tự như trích li chất chống oxy hóa polyphenol từ cây móng tay (henna) của tác giả Tan và các cộng sự [7]. Điều này có thể giải thích là ứng với thời gian tách béo cao, các tế bào của rau được phá vỡ nhiều hơn do đó khi rau tiếp tục được trích li với methanol các chất trong rau dễ dàng tan vào dung môi methanol. Ứng với kết quả khảo sát trong nghiên cứu này cho thấy mẫu M3-3 có HSTL cao nhất ứng với thời gian trích li và tách béo là 3 giờ, thời gian trích li là 3 giờ.

3.2. Khảo sát hàm lượng phenol tổng (TPC) theo thời gian tách béo và thời gian trích li

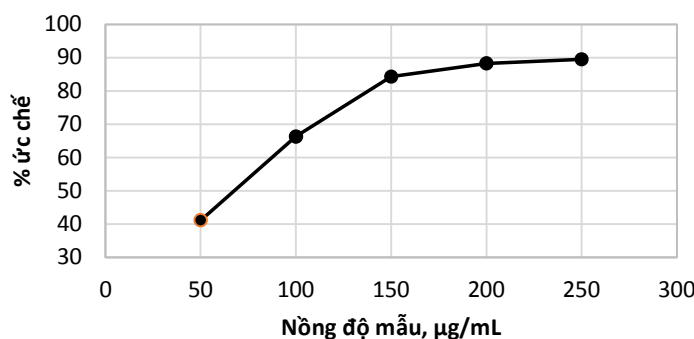
Khảo sát ảnh hưởng của thời gian tách béo và thời gian trích li đến hàm lượng TPC được thực hiện trong khoảng thời gian tách béo thay đổi từ 1 giờ đến 3 giờ và thời gian trích li cũng thay đổi từ 1 giờ đến 3 giờ. Hàm lượng TPC được xác định bởi phương pháp của McDonald và có chỉnh sửa như đã trình bày ở phần 2.4. Đường chuẩn cho phương pháp xác định TPC dùng chất chuẩn acid Gallic có phương trình đường chuẩn là $y = 80.72x - 5.88$ tương ứng với bình phương cực tiểu là $R^2 = 0.9834$. Trong đó x là độ hấp thụ quang phổ, y là nồng độ gallic acid ($\mu\text{g/mL}$). Hàm lượng TPC được biểu diễn tương đương miligam acid Gallic trên một gam rau ngò ôm khô (mg GAE/g rau). Kết quả TPC ở hình 2 cho thấy thời gian tách béo gần như không ảnh hưởng đến hàm lượng TPC. Các mẫu có cùng thời gian trích li 1 giờ, 2 giờ hoặc 3 giờ nhưng thời gian tách béo khác nhau có hàm lượng TPC gần giống nhau. Ví dụ, hàm lượng TPC của M1-1 là 40.10 mg GAE/g rau, TPC của M2-1 là 40,12 mg GAE/g rau và của M3-1 là 40,25 mg GAE/g rau. Trong khi đó, hàm lượng TPC tăng đáng kể khi tăng thời gian trích li hợp chất chống oxy hóa. Ứng với thời gian tách béo là 1 giờ, hàm lượng TPC tăng dần theo thời gian trích li M1-1 (40.10 mg GAE/g rau) > M1-2 (41.98 mg GAE/g rau) > M1-3 (44.20 mg GAE/g rau). Quy luật này cũng được thấy với các mẫu có thời gian tách béo 2 giờ và 3 giờ. Tăng thời gian trích li thì dẫn tới hàm lượng TPC cũng tăng còn được gặp trong khảo sát thời gian trích li ảnh hưởng tới hàm lượng TPC của Chew và các cộng sự [8]. Tóm lại, khi sử dụng hexane tách béo và dùng methanol trích li chất chống oxy hóa trong rau ngò ôm, ta thấy rằng khi tăng thời gian tách béo và thời gian trích li thì HSTL tăng. Trong khi đó, hàm lượng TPC chỉ tăng khi thời gian trích li tăng và gần như không phụ thuộc vào thời gian tách béo. Điều này có thể giải thích rằng:

các chất không phải chất phenolic (chẳng hạn protein) tan vào dung môi methanol làm cho HSTL tăng. Điều này cũng được giải thích giống với Zieliński & Kozłowska [9].



Hình 2. Thời gian tách béo và thời gian trích li ảnh hưởng đến hàm lượng TPC của các cao chiết thô

3.3. Xác định hoạt tính chống oxi hóa bằng phương pháp DPPH



Hình 3. Khả năng quét gốc tự do của dịch chiết rau ngô ôm

Gốc DPPH' là gốc tự do hữu cơ bền có hấp thụ quang phổ ở bước sóng 410 nm. Khi gốc tự do DPPH' nhận điện tử hoặc một gốc tự do khác tạo ra một sự đổi màu trực quan đáng chú ý từ màu tím sang màu vàng (hấp thụ quang phổ ở bước sóng 517 nm). Hoạt tính chống oxi hóa của M3-3 được xác định bằng phương pháp DPPH. Hình 2 là kết quả hoạt tính chống oxi hóa của rau ngô ôm được khảo sát theo một số nồng độ mẫu (50, 100, 150, 200, 250 µg/mL). Khả năng quét gốc tự do của dịch chiết rau ngô ôm tăng khi nồng độ rau tăng. Nhưng ở khoảng nồng độ nhỏ (50 - 150 µg/mL) khả năng quét gốc tự do tăng mạnh, còn nồng độ cao (150 - 250 µg/mL) hoạt tính chống oxi hóa tăng chậm. Kết quả này cũng giống kết quả khảo sát hoạt tính chống oxi hóa của một vài lá cây của Asadujjaman [10].

Giá trị IC_{50} của một chất biểu diễn lượng chất chống oxi hóa để quét 50 % gốc tự do DPPH' và được nội suy từ phân tích tuyến tính khảo sát % ức chế với nồng độ mẫu rau bằng phương pháp DPPH. Theo Liu [11], giá trị IC_{50} càng thấp, hoạt tính chống oxi hóa càng cao. Giá trị IC_{50} của rau ngô ôm là 49,58 µg/mL. Giá trị này biểu thị rau ngô ôm có hoạt tính chống oxi hóa cao.

3.4. Xác định thành phần hóa học bằng sắc kí khí khối phổ (GC/MS)

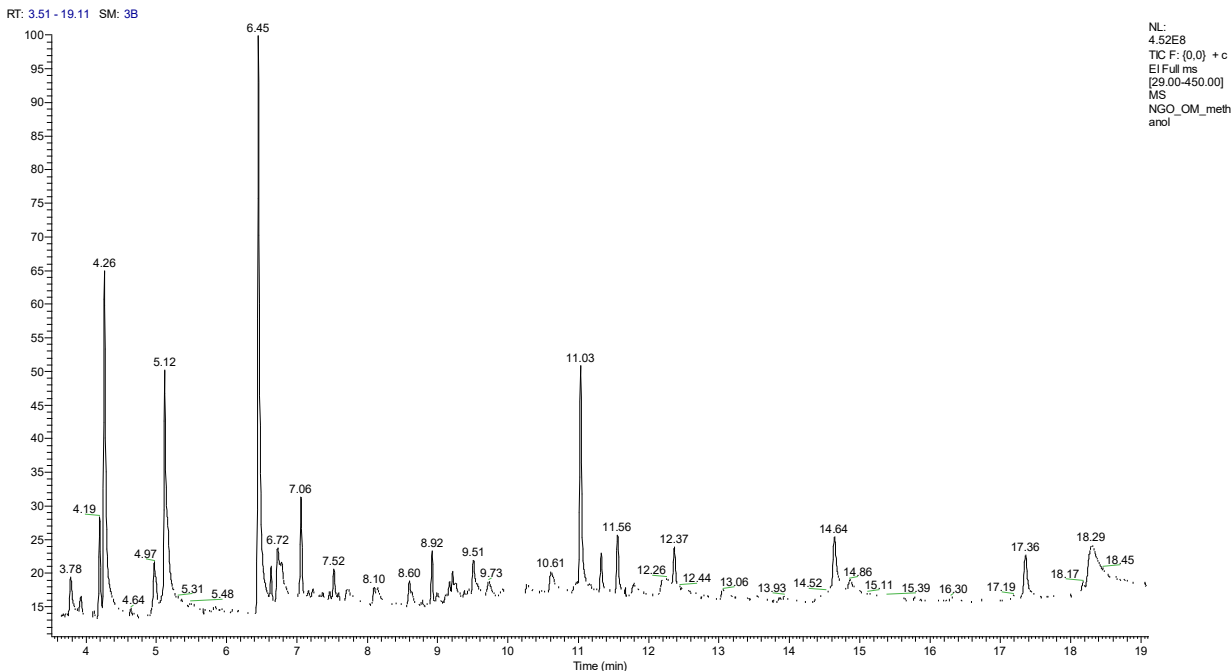
Bảng 2. Kết quả GC phân tích thành phần hóa học của dịch chiết rau ngò ôm

STT	Tên	CTPT
1	4- isopropenyl cyclohexanone	C ₉ H ₁₄ O
2	Borneol (2,7,7-Trimethyl bicyclo[2.2.1] heptan-2-ol)	C ₁₀ H ₁₈ O
3	2-(4-methyl-3-xyclohexene-1-yl)-2-propanol	C ₁₀ H ₁₈ O
4	Trans-capan, 4,5-epoxi	C ₁₀ H ₁₆ O
5	Tricyclo[4.2.1.1(2,5)] decan-9-ol, stereoisomer	C ₁₀ H ₁₆ O
6	(S)-(-)-(4- isopropenyl-1-cyclohexenyl)methanol	C ₁₀ H ₁₆ O
7	trans-shisool (4- isopropenyl cyclohexenyl)methanol	C ₁₀ H ₁₈ O
6	p-Menth-1(7)-en-9-ol {2-(4-methylenecyclohexyl)-1-propanol}	C ₁₀ H ₁₈ O
7	5-isopropenyl-2-methylcyclohexyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
8	Cyclopentane, 1-acetoxymethyl-3-isopropenyl-2-methyl	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
9	Caryophyllene {Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene,4,11,11-trimethyl-8-methylene}	C ₁₅ H ₂₄
10	1-cyclohexene-1-methanol,4-(1-methylethenyl)-,acetate	C ₁₂ H ₁₈ O ₂
11	α-Caryophyllene {1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,7-tetramethyl}	C ₁₅ H ₂₄
12	2,4-ditert-butylphenol	C ₁₄ H ₂₂ O
13	1,6,10-Dodecatrien-3-ol,3,7,11-trimethyl	C ₁₅ H ₂₆ O
14	2(4H)-benzofuranonne, 5,6,7,7α-tetrahydro-4,4,7α-trimethyl	C ₁₁ H ₁₆ O ₂
15	3-Cyclohexen-1-carboxaldehyde,3,4-dimethyl	C ₉ H ₁₄ O
16	τ-cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O
17	Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O
18	Humulene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O
19	2-cyclohexen-1-one, 4-(3-hydroxy-1-butenyl)-3,5,5-trimethyl	C ₁₃ H ₂₀ O ₂
20	6-(3-hydroxy-but-1-enyl)-1,5,5-trimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]heptan-2-ol	C ₁₃ H ₂₂ O ₃
21	3-buten-2-one, 4-(4-hydroxy-2,2,6-trimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]hept-1-yl	C ₁₃ H ₂₂ O ₃
22	Octadecane	C ₁₈ H ₃₈
23	Eicosane	C ₂₀ H ₄₂
24	neophytadiene {2,6,10-trimethyl, 14-ethylene-14-pentadecne}	C ₂₀ H ₃₈
25	3,7,11,115-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	C ₂₀ H ₄₀ O
26	Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-methyl ester	C ₁₈ H ₂₈ O ₃
27	Phytol	C ₂₀ H ₄₀ O
28	Heptadecanoic acid, 16-methyl, methylester	C ₁₈ H ₃₈ O ₂
29	3(3-hydroxy-cyclo[2,2,1]-hept-2-ylidene)-2-methyl-propionic acid methyl ester	C ₁₂ H ₁₈ O ₃
30	4,14-dimethyl-11-isopropyltricyclo[7.5.0.0(10,14)]tetradec-4-en-8-one	C ₁₉ H ₃₀ O
31	Phenol, 2-(3,7-dimethylocta-2,6-dienyl) 2-[(2E)-3,7-dimethyl-2,6-octadienyl]phenol	C ₁₆ H ₂₂ O
32	1,2-benzendicarboxylic acid, diisooctyl ester	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
33	Campesterol	C ₂₈ H ₄₈ O
34	Stigmasterol	C ₂₉ H ₄₈ O
35	τ-sitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O
36	Urs-12-en-28-onic acid, 3β-hdroxy, methylester	C ₃₁ H ₅₀ O ₃

Cao chiết thô M3-3 sau khi được xử lý sơ bộ trong cột sắc kí (0.5x10mm, 1g silica gel) để loại bỏ bớt thành phần béo hoặc không phân cực, phân đoạn methanol được đem phân tích sắc kí khí khối phổ. Hình 4 là sắc kí khí đồ của cao chiết. Bảng 2 là thành phần chính của dịch chiết rau ngò ôm. Kết quả này có được khi so sánh kết quả GC/MS với thư viện sắc kí đồ.

Từ kết quả của bảng 2 cho thấy rằng, mặc dù dịch chiết thô đã được phân tách bằng cột sắc kí để loại bỏ bớt chất béo nhưng kết quả GC/MS cho thấy vẫn còn có các chất béo như: Octadecane; Eicosane; neophytadiene (2,6,10-trimethyl, 14-ethylene-14-pentadecane); 3,7,11,115-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol;

Đồng thời trong bảng 2 không có flavonoid, các hợp chất phenol có trong dịch chiết chủ yếu là phenol đơn giản. Điều này có thể giải thích rằng do đây là phân tích dịch chiết thô gồm rất nhiều chất, các chất trong dịch chiết chưa hoàn toàn được phân tách riêng biệt. Chính vì thế mà sắc kí đồ chưa được rõ. Để có được kết quả rõ hơn, cần có những nghiên cứu sâu hơn như dùng sắc kí cột để phân tách các chất chống oxy hóa.



Hình 4. Sắc kí khí đồ của phân đoạn methanol

4. KẾT LUẬN

Quá trình nghiên cứu bước đầu để xác định sơ bộ nguồn chứa chất chống oxy hóa tự nhiên. Trong nghiên cứu đã khảo sát sơ bộ ảnh hưởng của thời gian tách bèo và thời gian trích li chất chống oxy hóa. Quá trình tách bèo được thực hiện trước quá trình trích li chất chống oxy hóa. Thời gian tách bèo và trích li được khảo sát là 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ. Kết quả cho thấy cả hai thời gian tách bèo và trích li ảnh hưởng đến hiệu suất trích li: thời gian càng lâu, hiệu suất trích li càng cao. Mẫu M3-3 có thời gian tách bèo và trích li là 3h, có hiệu suất trích li cao nhất. Khi xác định hàm lượng phenol tổng, kết quả cho thấy thời gian tách bèo gần như không ảnh hưởng. Trong khi đó, hàm lượng phenol tổng của các dịch chiết tăng theo thời gian trích li. Mẫu M3-3 lại một lần nữa có kết quả TPC cao nhất. Phương pháp DPPH được sử dụng cho mẫu M3-3 nhằm khẳng định hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết rau ngò ôm. Tại nồng độ dịch chiết thấp (50-150 μ l/ml), hoạt tính chống oxy hóa được thể hiện qua khả năng quét gốc tự do DPPH tăng nhanh. Nhưng tại nồng độ cao (150-250 μ l/ml), hoạt tính chống oxy hóa tăng chậm. Giá trị IC_{50} là 49,58 μ g/mL. Từ những kết quả cho thấy rau ngò ôm là một nguồn tự nhiên chứa chất chống oxy hóa. Hứa hẹn cho việc nghiên cứu sâu hơn để ứng dụng trong thực phẩm, mỹ phẩm cũng như dược phẩm. Việc xác định sơ bộ chất hóa học trong rau ngò ôm được tiến hành bằng sắc kí khí khối phổ. Kết quả cho thấy các chất phenol có trong rau chủ yếu là các chất phenol đơn giản. Để có được kết quả tốt hơn khi nghiên cứu thành phần chất hóa học có trong rau ngò ôm cần có những nghiên cứu sâu hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. T.L. Do, Cây thuốc Việt Nam. Vietnam: Medicine Publishing House, 1999.
2. Mahidol., Antioxidant activity of *Limnophila aromatica* Merr., 2004.
3. C. Wijaya, Q.D. Do, Y.H. Ju, S.P. Santoso, J.N. Putro, L. Laysandra, F.E. Soetaredjo, and S. Ismadji, Isolation and characterization of starch from *Limnophila aromatica*. *Heliyon*. 5(5): p. e01622, 2019.
4. B.M. Naveena, A.R. Sen, S. Vaithyanathan, Y. Babji, and N. Kondaiah, Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. *Meat Science*. 80(4): p. 1304-1308, 2008.
5. Q.D. Do, A.E. Angkawijaya, P.L. Tran-Nguyen, L.H. Huynh, F.E. Soetaredjo, S. Ismadji, and Y.-H. Ju, Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*. 22(3): p. 296-302, 2014.
6. C.D. Stalikas, Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*. 30(18): p. 3268-3295, 2007.
7. M.C. Tan, Tan, C. P., Ho, C. W., Effects of extraction solvent system, time and temperature on total phenolic content of henna (*Lawsonia inermis*) stems. *International Food Research Journal*. 20(6): p. 3117-3123, 2013.
8. K.K. Chew, M. Z Khoo, S. Y Ng, Y. Y. Thoo, W. M. Wan Aida, and C. W Ho., Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts. *International Food Research Journal*. p. 1427-1435, 2011.
9. H. Zieliński and H. Kozłowska, Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Cereal Grains and Their Different Morphological Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(6): p. 2008-2016, 2000.
10. M. Asadujjaman, Aslam Hossain, Md., and Utpal Kumar Karmakar., Assessment of DPPH free radical scavenging activity of some medicinal plants. *PharmacologyOnline*. p. 161 - 165, 2013.
11. S.-C. Liu, J-T Lin, C-K Wang, and H-Y and Yang, D-J. Chen., Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers. *Food Chemistry*. p. 577-581, 2009.

Ngày nhận bài: 30/04/2019

Ngày chấp nhận đăng: 10/06/2019