PHÂN TÍCH HOẠT CHẤT SINH HỌC VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA CỦA DỊCH TRÍCH CÂY TRÂM ỒI (*Lantana camara*)

Nguyễn Phạm Tuấn¹, Bằng Hồng Lam², Nguyễn Thị Bảo Trân³, Nguyễn Phạm Tú⁴

ANALYSIS OF BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Lantana camara* LEAVES EXTRACT

Nguyen Tam Tuan¹, Bang Hong Lam², Nguyen Thi Bao Tran³, Nguyen Pham Tu⁴

Tóm tắt – Nghiên cứu phân tích một số hợp chất có hoạt tính sinh học và khả năng kháng oxy hóa của cao chiết lá cây trâm ổi. Kết quả nghiên cứu là tiền đề cho quá trình sản xuất các sản phẩm có khả năng hỗ trợ và điều trị bệnh. Cao lá cây trâm ổi được chiết xuất theo phương pháp ngâm dầm với các dung môi (nước, ethanol 80°, methanol) và kết hợp với sóng siêu âm. Khả năng kháng oxy hóa được xác định bằng phương pháp DPPH; hàm lượng phenolic, flavonoid, polysaccharide và tannin được xác định bằng phương pháp quang phổ. Kết quả cho thấy, độ ẩm của lá cây trâm ổi đạt 67,8% và hiệu suất trích cao của lá cây trâm ổi trong khoảng 4,29% – 6,13%. Cao chiết lá cây trâm ổi có sự hiện diện của các hợp chất sinh học như alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, tannin và phenol. Hàm lượng phenolic, flavonoid, polysaccharide và tannin của

cao chiết lá trâm ổi lần lượt là 251,52 mg gallic acid/g, 41,58 mg quercetin/g cao, 11,06 mg GE/g cao và 34,44 mg tannic acid/g cao. Cao chiết lá cây trâm ổi có khả năng kháng oxy hóa khi thử nghiệm bằng phương pháp DPPH với giá trị IC₅₀ của cao chiết trong dung môi nước, ethanol 800, methanol 100% lần lượt là 259,11 µg/mg, 150,29 µg/mg, 75,43 µg/mg. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nguyên liệu lá cây trâm ổi chứa nhiều hoạt chất có hoạt tính sinh học và có khả năng kháng oxy hóa và đây là nguồn nguyên liệu tiềm năng cho các nghiên cứu và ứng dụng.

Từ khóa: cây trâm ổi, DPPH, flavonoid, kháng oxy hóa, polysaccharide, phenolic.

Abstract – The study was conducted to analyze some of the bioactive compounds and the antioxidant capacity of *Lantana camara* leaves extract. This research was a prerequisite for the production of products with capability of supporting and treating diseases. *L. camara* leaves extract was extracted by combining the immersion method with different solvents (water, ethanol 80° and methanol) and ultrasound. Oxidation resistance was tested by DPPH method and the con-

^{1,4}Trung tâm Công nghệ Sinh học tỉnh An Giang

^{2,3}Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài: 06/9/2020; Ngày nhận kết quả bình duyệt: 03/12/2020; Ngày chấp nhận đăng: 25/12/2020

Email: ngphamtuan1983@gmail.com

¹An Giang Biotechnology center

²An Giang University, Viet Nam National University Ho Chi Minh City

Received date: 06th September 2020; Revised date: 03rd December 2020; Accepted date: 25th December 2020

tent of phenolic, flavonoid, polysaccharide, tannin were determined by the spectrophotometer method. The results showed that the moisture content was 67.8% and extraction efficiency of L.camara leaves ranged from 4.29% to 6.13%. The extract of L. camara leaves contained biological compounds such as alkaloids, saponin, flavonoids, steroids, tannins and phenols. The phenolic, flavonoid, polysaccharide and tannin content of L. camara leaves per g of dry weight were 251.52 mg gallic acid/g; 41.58 mg quercetin/g; 11.06 mg GE/g and 34.44 mg tannic acid/g, respectively. L.camara leaves has antioxidant ability by DPPH method with IC₅₀ value of water, ethanol 800 and methanol 259.11 µg/mg; 150.29 µg/mg; 75.43 µg/mg, respectively. The results indicated that L. camara leaves contains many anti-oxidative bioactive ingredients, which were potential materials for further research and applications.

Keywords: *antioxidant, DPPH, flavonoid, Lantana camara, phenolic, polysaccharide.*

I. MỞ ĐẦU

Gốc tự do là nguồn gốc của sự lão hóa và các bệnh tật. Gốc tự do có thể được sinh ra và tích lũy trong cơ thể theo độ tuổi bởi các quá trình chuyển hóa tự nhiên hoặc từ môi trường. Chất kháng oxy hóa là chất có khả năng ngăn chặn các phản ứng oxy hoá của các gốc tự do xảy ra trong tế bào. Chất này luôn được sự quan tâm, nghiên cứu của các nhà khoa học trong và ngoài nước. Chất kháng oxy hoá được tổng hợp từ hai nguồn: nhân tạo và tự nhiên. Các chất chống oxy hoá nhân tạo, như BHA và BHT, thường được sử dụng

trong công nghiệp thực phẩm và mỹ phẩm. Tuy nhiên, các chất này sẽ gây ra tác dụng phụ nếu sử dụng liên tục trong thời gian dài. Do đó, người ta đang hướng tới sử dụng các chất chống oxy hoá có nguồn gốc tự nhiên để thay thế các chất tổng hợp. Chất chống oxy hoá tự nhiên được tìm thấy ở thực vật, động vật, tảo [1]. Cây trâm ổi (*Lantana camara* L.) là một loại cây có nguồn gốc từ châu Phi và châu Mỹ. Cây trâm ổi được trồng làm cây cảnh ở nhiều quốc gia và được xem như là một trong những cây được liệu quan trọng của thế giới. Cây trâm ổi được sử dụng như một thảo dược dân gian để điều trị một số bệnh như chống viêm, kháng khuẩn và chống oxy hóa. Cây trâm ổi có khả năng hỗ trợ và điều trị bệnh bởi có chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học như flavonoid, anthocyanin, alkaloids, flavon, isoflavone, coumarin, lignans, isocatechin, catechin, tannin, saponin và triterpenoids. Ngoài ra, tinh dầu từ cây trâm ổi được sử dụng như chất chống oxy hóa, có khả năng kháng viêm và kháng khuẩn [3]. Việc sử dụng các cây thuốc có hàm lượng chất chống oxy hóa cao đã được xem như một phương pháp trị liệu hiệu quả cho các tổn thương về gan trên mô hình động vật và thực nghiệm trên người. Bên cạnh đó, chế độ ăn cũng ảnh hưởng rất nhiều đến sức khỏe. Một số nghiên cứu cho thấy, các hợp chất chống oxy hóa có nguồn gốc từ thực vật thuộc các loại hợp chất như phenol, flavonoid, tannin, vitamin và carotenoids [2]. Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân tích hàm lượng phenolic, flavonoid, polysaccharide, tannin và khả năng kháng oxy hóa của cao chiết lá cây trâm ổi và góp phần tạo nguồn nguyên liệu cho quá trình sản xuất các sản phẩm có khả năng hỗ trợ và điều trị bệnh.

II. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

Chất kháng oxy hoá là chất giúp ngăn chặn các phản ứng oxy hoá của các gốc tự do xảy ra trong tế bào. Gốc tự do là nguyên nhân gây ra các bệnh như tiểu đường, đục thủy tinh thể, Alzheimer, các bệnh về tim mạch và ung thư [2]. Chất kháng oxy hoá tự nhiên được tìm thấy ở thực vật, động vật, tảo. Xu hướng trên thế giới và Việt Nam là tìm những hợp chất thiên nhiên có khả năng kháng oxy hóa, vì các hợp chất thiên nhiên có ưu điểm ít gây tác dụng phụ hơn các hợp chất hóa học tổng hợp. Việt Nam có rất nhiều loại cây dược liệu chứa những hợp chất thiên nhiên có hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn cao như flavonoid có trong quả mơ, phenol và flavonoid, đặc biệt là quercetin của lá cây ổi và cây diếp cá, aloin có trong cây lô hội, taxol từ cây thông đỏ [3].

III. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

A. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu lá cây trám ổi được tiến hành thu thập tại nhà lưới của Trung tâm Công nghệ Sinh học tỉnh An Giang. Hóa chất và thiết bị gồm máy đo quang phổ (Human, Hàn Quốc), máy đông khô (Christ, Đức), máy cô quay chân không (Eyala, Nhật Bản), quercetin, gallic acid, glucose (Sigma, Mỹ), hóa chất và thiết bị cần thiết khác.

B. Phương pháp nghiên cứu

1) *Phương pháp tạo cao chiết lá cây trám ổi*: Lá cây trám ổi tươi thu về từ nhà lưới được rửa sạch và đông khô bằng máy đông khô chân không. Sau đó, mẫu lá cây trám ổi được nghiền thành bột mịn, 200 g bột lá cây trám ổi được ngâm dầm với

các loại dung môi khác nhau (ethanol 80%, methanol 100% và nước) với tỉ lệ dung môi và nguyên liệu 1 : 10 (w/v) và đánh sóng siêu âm ở nhiệt độ 50°C trong 12 giờ và để yên trong tối 36 giờ. Sau 72 giờ, hỗn hợp được tiến hành lọc và li tâm với tốc độ 5.000 vòng/phút trong 20 phút, thu phần dịch và bỏ phần cặn. Phần dịch được tiến hành cô quay chân không để đuổi dung môi bằng máy cô quay chân không ở nhiệt độ 50°C. Dịch lọc sau khi cô quay chân không được đông khô bằng máy đông khô thu cao khô và bảo quản ở nhiệt độ -20°C và tiến hành thí nghiệm.

2) *Định tính một số hợp chất sinh học có trong cao chiết lá cây trám ổi*:

Chúng ta tiến hành xác định một số hợp chất trong cao chiết lá cây trám ổi theo Yadav [4], Pieme [5], Yadav and Agarwala [6], Dubois [7], Kavitha and Indira [8] như alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, tanin và phenol.

Phân tích hàm lượng flavonoid tổng của cao chiết lá cây trám ổi

Hàm lượng flavonoid tổng được tiến hành theo mô tả của Pieme [5]: lấy 10 mg quercetin hòa tan trong 1 mL ethanol 80%, sau đó pha loãng ra các nồng độ 25 – 400 $\mu\text{g/mL}$. Hút 0,1 mL quercetin, thêm vào 0,3 mL nước cất, 0,03 mL NaNO_2 5%. Ủ 05 phút ở 25°C, thêm 0,03 mL AlCl_3 10%. Ủ thêm 05 phút, sau đó cho thêm 0,2 mL NaOH 1 mM. Thêm nước cất để tổng thể tích là 1 mL. Đo ở bước sóng 510 nm. Tiến hành tương tự với cao chiết lá cây trám ổi. Hàm lượng flavonoid tổng được xác định theo công thức: $C = c * V / m$

C: hàm lượng flavonoid tổng (mg quercetin/g chiết xuất), c: giá trị x từ đường chuẩn với quercetin (mg/mL), V: thể tích dịch chiết (mL), m: khối lượng cao chiết có trong V (g).

Phân tích hàm lượng phenolic tổng của cao chiết lá cây trà ổi

Hàm lượng phenolic tổng được xác định theo mô tả của Yadav and Agarwala [6]: chuẩn bị dung dịch gallic acid chuẩn (nồng độ 0 – 100 $\mu\text{g/mL}$). Lần lượt cho 1 mL dung dịch gallic acid vào 2,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% và để phản ứng trong 05 phút; sau đó, thêm tiếp vào 2 mL dung dịch Na_2CO_3 2%. Sau 45 phút phản ứng ở nhiệt độ phòng, độ hấp thụ được xác định bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 765 nm. Tương tự, các mẫu cao chiết được thực hiện tương tự. Hàm lượng phenolic tổng được tính theo công thức: $P = a \times V/m$

P: hàm lượng phenolic tổng (mg gallic acid/g cao chiết), a: giá trị x từ đường chuẩn với gallic acid ($\mu\text{g/mL}$), V: thể tích dung dịch cao chiết (mL), m: khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

Phân tích hàm lượng polysaccharide tổng của cao chiết lá cây trà ổi

Hàm lượng polysaccharide của cao chiết lá cây trà ổi được xác định dựa theo Dubois [7]. Sử dụng glucose làm chất chuẩn đối chiếu (0, 0,2, 0,4, 0,6 và 0,8 mg/mL). Phản ứng được tiến hành bằng cách cho 1 mL dung dịch glucose thêm 5 mL dung dịch phenol 5%. Sau đó, thêm vào hỗn hợp 5 mL dung dịch H_2SO_4 đậm đặc, phản ứng trong mười phút và tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng $\lambda = 490$ nm. Chúng ta tiến hành tương tự đối với mẫu cao chiết lá cây trà ổi. Hàm lượng polysaccharide được tính toán dựa trên đường chuẩn glucose.

Phân tích hàm lượng tannin của cao chiết lá cây trà ổi

Hàm lượng tannin của cao chiết lá trà ổi được xác định dựa theo phương pháp của Kavitha and Indira [8]; đồng thời, chúng tôi có sự hiệu chỉnh cho phù hợp.

Chúng tôi sử dụng tannic acid làm chất chuẩn đối chiếu (0, 20, 40, 60, 80 và 100 $\mu\text{g/mL}$). Phản ứng được tiến hành bằng cách cho 0,1 mL dung dịch tannic acid bổ sung thêm 7,5 mL nước cất và 0,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu, thêm 1 mL dung dịch Na_2CO_3 35% và bổ sung thêm nước cất đủ 10 mL, để phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng $\lambda = 700$ nm. Hàm lượng tannin được tính theo công thức: $P = a \times V/m$

P: hàm lượng phenolic tổng (mg tannic acid/g cao chiết), a: giá trị x từ đường chuẩn với tannic acid ($\mu\text{g/mL}$).

V: thể tích dung dịch cao chiết (mL), m: khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

Phân tích khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH

Khảo sát khả năng ức chế gốc tự do DPPH của cao chiết lá cây trà ổi được thực hiện theo phương pháp của Shekhar and Anju [9], có hiệu chỉnh như sau: 1 mL cao chiết ở các nồng độ khác nhau phản ứng với 1 mL dung dịch DPPH 0,1 M. Để hỗn hợp phản ứng ở điều kiện nhiệt độ phòng trong 30 phút và trong điều kiện tối để tránh hiện tượng oxy hoá. Sau đó, hỗn hợp được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng $\lambda = 517$ nm. Khả năng ức chế gốc tự do DPPH của cao chiết lá cây trà ổi được xác định theo công thức sau: $AA\% = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$

Trong đó, AA%: phần trăm ức chế gốc tự do DPPH.

A_0 : độ hấp thụ quang phổ của mẫu đối chứng, A_1 : độ hấp thụ quang phổ của mẫu cao chiết. Vitamin C là chất chuẩn được thực hiện tương tự mẫu cao chiết.

C. Phương pháp thống kê

Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và phần mềm Statgraphics 16.0. Sự khác biệt giữa các giá trị trung bình được kiểm tra theo phép thử Duncan và LSD.

IV. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

A. Phương pháp tạo cao chiết lá cây trà ôi

Để đánh giá hiệu quả của phương pháp trích cao, người ta thường dựa trên hiệu suất trích cao. Hiệu suất trích cao phản ánh sự tối ưu của việc kết hợp các điều kiện khác nhau trong phương pháp li trích. Quy trình trích cao chiết lá cây trà ôi được thực hiện với nguyên liệu ban đầu là 200 gram (khô). Độ ẩm của lá cây trà ôi là 64,87% (Bảng 1). Hiệu suất trích li của cao chiết có sự khác biệt giữa các dung môi sử dụng nghiên cứu. Hiệu suất chiết cao nước đạt 4,29%, trong khi đó, hiệu suất chiết cao ethanol và methanol đạt 5,71% và 6,13%.

Quá trình tạo cao chiết từ các loại dung môi khác nhau cho hiệu suất trích li khác nhau (Bảng 1). Sự khác biệt này là do các yếu tố sau: (i) nếu sử dụng nước làm loại dung môi để li trích thì mẫu trích nhiễm nhiều tạp chất như các acid hữu cơ, đường và protein tan trong nước ảnh hưởng tới quá trình định tính hay định lượng các hợp chất thiên nhiên; (ii) dung môi ethanol 80% được sử dụng cho quá trình li trích sẽ tạo một môi trường tối ưu cho việc li trích, tăng sự tiếp xúc mẫu và dung môi, tăng hiệu suất trích li và bảo quản mẫu khỏi các vi sinh vật [10]. Ngoài ra, sử dụng cồn tuyệt đối sẽ giảm hiệu suất chiết cao do ethanol khó thấm vào mẫu; (iii) trong khi đó, dung môi methanol 100% là dung môi

được sử dụng nhiều trong quá trình li trích các hợp chất có hoạt tính sinh học từ thực vật nên hiệu suất trích cao đạt cao nhất.

B. Định tính một số hợp chất sinh học có trong cao chiết lá cây trà ôi

Kết quả định tính của cao chiết lá cây trà ôi bằng phương pháp hóa học cho thấy, cao chiết lá cây trà ôi có chứa các hợp chất như alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, tannin và phenol (Bảng 2). Kết quả này tương tự nghiên cứu của Akumu [11] và Sushama [12]. Hai tác giả này cho rằng, dịch trích lá cây trà ôi có chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học như alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, tannin và phenol.

C. Phân tích hàm lượng phenolic tổng của cao chiết lá cây trà ôi

Những hợp chất phenolic là một trong những nhóm lớn, chúng có tác dụng chống ung thư, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng oxy hóa, bảo vệ tim mạch; đồng thời, nó giúp tiêu thụ tốt thức ăn [13]. Hàm lượng phenolic tổng được phân tích bằng phương pháp quang phổ và đường chuẩn $y = 0,0049x + 0,0127$ với hệ số $R^2 = 0,9985$ (Hình 2a). Hàm lượng phenolic tổng có sự khác biệt giữa các loại dung môi khi trích li tạo cao chiết lá cây trà ôi (Bảng 3). Hàm lượng phenolic thấp nhất ở cao chiết lá cây trà ôi bằng nước là 205,29 mg gallic acid/g cao chiết, kế đến là hàm lượng phenolic ở cao chiết lá bằng ethanol đạt 220,88 mg gallic acid/g cao chiết. Cao nhất là hàm lượng phenolic ở cao chiết lá bằng methanol đạt 251,52 mg gallic acid/g cao chiết.

Bảng 1: Kết quả phân tích độ ẩm, hiệu suất trích cao của lá cây trầm ổi

Chỉ tiêu theo dõi	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol	Cao chiết methanol
Khối lượng mẫu tươi (g)	1.000	1.000	1.000
Độ ẩm (%)	64,87	64,87	64,87
Khối lượng mẫu khô (g)	200	200	200
Khối lượng cao khô (g)	8,58	11,42	12,26
Hiệu suất chiết (%)	4,29	5,71	6,13

Bảng 2: Phân tích định tính các hợp chất sinh học trong cao chiết lá cây trầm ổi

TT	Hoạt chất	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol	Cao chiết methanol
1	Alkaloid	-	+	+
2	Flavonoid	+	+	+
3	Saponin	+	+	-
4	Steroid	+	+	+
5	Terpenoid	-	-	+
6	Tannin và phenol	+	+	+

(Ghi chú: “+”: dương tính, “-”: âm tính)

Hình 1: Đường chuẩn quercetin (a) và đường chuẩn glucose (b)

Hình 2: Đường chuẩn gallic acid (a) và đường chuẩn tannin acid (b)

Kết quả nghiên cứu của Sanjiv [14] cho thấy, hàm lượng phenolic ở cao chiết của bốn loại lá cây trà ổi Ấn Độ cao nhất với hàm lượng là 232,99 mg gallic acid/g cao chiết khi trích li bằng dung môi methanol. Đồng thời, nghiên cứu của Mortada [3] cũng cho thấy, hàm lượng phenolic ở cao chiết lá cây trà ổi đạt cao nhất với hàm lượng 180,30 mg gallic acid/g khi trích li với dung môi methanol. Sự khác biệt về hàm lượng phenolic so với nghiên cứu của Sanjiv [14] có thể là do sự khác nhau về nguồn gốc cây trồng và phương pháp trích li có sự hỗ trợ của sóng siêu âm. Các phenolic acid như caffeic acid và rosmarinic acid đã được báo cáo là một trong những hợp chất phong phú từ các bộ phận của cây trà ổi khi trích li bằng methanol [15], [16].

D. Phân tích hàm lượng flavonoid tổng của cao chiết lá cây trà ổi

Flavonoid là một nhóm lớn của các hợp chất polyphenolic có cấu trúc benzene – γ – pyrone và chúng được tổng hợp thông qua chu trình phenylpropanoid. Nhiều báo cáo cho thấy rằng, các quá trình chuyển hóa thứ cấp của các hợp chất phenolic tự nhiên bao gồm các flavonoid thể hiện các hoạt tính dược lí đa dạng. Các hợp chất flavonoid có nhiều ích lợi cho sức khỏe con người. Các nhóm chức năng hydroxy ở flavonoid có khả năng chống oxy hóa bằng việc loại bỏ các gốc tự do hoặc kết hợp với các ion kim loại. Flavonoid còn có khả năng tăng cường hệ enzyme, kháng khuẩn, virus, bệnh tim mạch, ung thư và các bệnh liên quan tới lão hóa. Flavonoid được biết là chất có tác dụng hạ đường huyết và phục hồi tế bào β của tuyến tụy, chống viêm, kháng khuẩn, kháng virus, chống dị

ứng, điều trị các bệnh thoái hóa thần kinh, kháng oxy hóa [17].

Flavonoid tổng của cao chiết lá cây trà ổi từ các dung môi khác nhau cho hàm lượng khác nhau (Bảng 3). Hàm lượng flavonoid tổng được phân tích bằng phương pháp quang phổ và đường chuẩn $y = 0,0054x + 0,0185$ với hệ số $R^2 = 0,9992$ (Hình 1a). Cụ thể, hàm lượng flavonoid tổng cao nhất ở cao chiết lá cây trà ổi bằng methanol (41,58 mg quercetin/g cao chiết), kế đến là cao chiết lá cây trà ổi bằng ethanol (38,29 mg quercetin/g cao chiết) và thấp nhất là cao chiết lá cây trà ổi bằng nước (19,25 mg quercetin/g cao chiết).

Kết quả này cao hơn so với nghiên cứu của Sanjiv [14], hàm lượng flavonoid ở cao chiết lá cây trà ổi đạt cao nhất là 25,22 mg quercetin/g cao chiết khi trích li bằng dung môi methanol của bốn loại lá cây trà ổi được thu thập ở Ấn Độ. Ngược lại, theo Mortada [3], hàm lượng flavonoid ở cao chiết lá cây trà ổi đạt cao nhất là 63,77 mg quercetin/g cao chiết khi trích li với dung môi methanol.

E. Phân tích hàm lượng polysaccharide tổng của cao chiết lá cây trà ổi

Những nhóm hợp chất polysaccharide có tác dụng chống ung thư, giảm đường trong máu, ngăn ngừa thoái hóa tế bào, thiết lập hệ thống miễn dịch, giải độc cơ thể [18]. Hàm lượng polysaccharide tổng của cao chiết lá cây trà ổi từ các dung môi khác nhau thì khác nhau (Bảng 3). Hàm lượng polysaccharide tổng được phân tích bằng phương pháp quang phổ và đường chuẩn $y = 1,0415x + 0,0068$ với hệ số $R^2 = 0,989$ (Hình 1b). Cụ thể, hàm lượng polysaccharide tổng cao nhất

Bảng 3: Kết quả phân tích hàm lượng phenolic tổng, flavonoid tổng, polysaccharide tổng và tannin của cao chiết lá cây trà ổi

Hoạt chất	Mẫu cao chiết		
	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol	Cao chiết methanol
Hàm lượng phenolic (mg gallic acid/g cao chiết)	205,29 ^c ±0,11	220,88 ^b ±0,17	251,52 ^a ±0,19
Hàm lượng flavonoid (mg quercetin/g cao chiết)	19,25 ^c ±0,08	38,29 ^b ±0,28	41,58 ^a ±0,24
Hàm lượng polysaccharide (mg GE/g cao chiết)	4,94 ^b ±0,19	9,68 ^{ab} ±0,02	11,06 ^a ±0,14
Hàm lượng tannin (mg tannic acid/g cao chiết)	15,53 ^c ±0,20	26,01 ^b ±0,23	34,44 ^a ±0,10

(Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình và sai số chuẩn, thống kê mức ý nghĩa 5%.)

ở cao chiết lá cây trà ổi bằng methanol (11,06 mg GE/g cao chiết), kế đến là cao chiết lá cây trà ổi bằng ethanol (9,68 mg GE/g cao chiết) và thấp nhất là cao chiết lá cây trà ổi bằng nước (4,94 mg GE/g cao chiết).

F. Phân tích hàm lượng tannin của cao chiết lá cây trà ổi

Theo Amarowicz [19], tannin không chỉ là một chất kháng oxy hoá sơ cấp bằng cách cho nguyên tử hydro hay electron, mà tannin còn hoạt động như một chất oxy hoá thứ cấp với khả năng chelate hoá các ion kim loại như Fe (II) và làm chậm sự oxy hoá bằng cách can thiệp vào các phản ứng Fenton. Ngoài ra, tannin ngăn cản sự oxy hoá chất béo thông qua ức chế cyclooxygenase. Hàm lượng tannin tổng được phân tích bằng phương pháp quang phổ và đường chuẩn $y = 0,0128x + 0,0122$ với hệ số $R^2 = 0,9899$ (Hình 2b). Hàm lượng tannin tổng có sự khác biệt giữa các loại dung môi khi tiến hành trích li tạo cao

chiết lá cây trà ổi (Bảng 3). Hàm lượng tannin thấp nhất ở cao chiết lá cây trà ổi bằng nước đạt 15,53 mg tannic acid/g cao khô, kế đến là ở cao chiết lá cây trà ổi bằng ethanol đạt 26,01 mg tannic acid/g cao khô và cao nhất là lượng tannin ở cao chiết bằng methanol đạt 34,44 mg tannic acid/g cao khô.

Kết quả này cao hơn so với nghiên cứu của Vedavathi [20], hàm lượng tannin tổng trong lá cây trà ổi được trích li bằng dung môi ethanol ở các điều kiện lạnh, nóng và sóng siêu âm lần lượt là 4,67 mg tannic acid/g cao khô, 6,92 mg tannic acid/g cao khô và 7,29 mg tannic acid/g cao khô. Sự khác biệt về hàm lượng tannin tổng trong lá của cây trà ổi là do: (i) phương pháp trích cao giống nhau có thể cho kết quả khác nhau bởi vì sự khác biệt về các yếu tố như giai đoạn sinh trưởng và thời gian lấy mẫu thí nghiệm [21]; (ii) hợp chất có hoạt tính sinh học trong thực vật bậc cao ở những vị trí khác nhau có hàm lượng, thành phần khác nhau. Tóm lại, dung môi methanol 100% cho hiệu quả

trích li các hợp chất sinh học trong cao chiết lá cây trà ổi (phenolic, flavonoid, polysaccharide và tannin) cho hàm lượng hoạt chất cao nhất với hàm lượng lần lượt là 251,52 mg gallic acid/g cao chiết, 41,58 mg quercetin/g cao chiết, 11,06 mg GE/g cao chiết và 34,44 mg tannic acid/g cao chiết.

G. Phân tích khả năng kháng oxy hóa của cao chiết lá cây trà ổi

DPPH là một gốc tự do có chứa nguyên tử nitrogen bền ở trung tâm. Vì vậy, nó có thể nhận electron hay gốc hydrogen để hình thành một phân tử nghịch từ bền. Hợp chất có hoạt động kháng oxy hoá càng mạnh khi khả năng cho hydrogen càng cao. Gốc DPPH phản ứng với các chất khử phù hợp và nhận electron. Từ đó, màu của dung dịch DPPH bị mất dần từ tím sang vàng phụ thuộc vào số electron nhận được [22].

Vitamin C được sử dụng như chất chuẩn vì vitamin C là một chất kháng oxy hóa mạnh, có khả năng loại bỏ các gốc tự do cao. Hiệu quả khử gốc tự do của vitamin C được thực hiện ở các nồng độ khác nhau (0 – 0,1 $\mu\text{g/mL}$). Phần trăm khử gốc tự do của vitamin C đạt cao nhất ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$, đạt hiệu quả 85,27%. Kế đến là nồng độ 80 $\mu\text{g/mL}$ với hiệu suất 71,15% và thấp nhất là nồng độ 20 $\mu\text{g/mL}$, phần trăm khử gốc tự do là 23,28% (Bảng 4). Tiến hành vẽ đường biểu diễn thể hiện của phần trăm ức chế gốc tự do, phương trình đường chuẩn $y = 0,8383x + 3,2718$; từ đó, ta suy ra giá trị IC_{50} của vitamin C là 55,73 $\mu\text{g/mL}$.

Hiệu quả khử gốc tự do của cao chiết nước lá cây trà ổi được thực hiện ở các nồng độ khác nhau (0 – 300 $\mu\text{g/mL}$). Phần

Bảng 4: Hiệu quả kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH của vitamin C

Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Kháng oxy hóa	Phương trình
0	0,0 ^f	
20	23,28 ^a $\pm$ 0,12	Y = 0,8383x+3,2718 R ² = 0,9948
40	37,19 ^d $\pm$ 0,05	
60	54,22 ^c $\pm$ 0,21	
80	71,15 ^b $\pm$ 0,19	
100	85,27 ^a $\pm$ 0,13	
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	55,73	

(Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình và sai số chuẩn và thống kê mức ý nghĩa 5%.)

trăm khử gốc tự do của cao chiết nước đạt cao nhất ở nồng độ 300 $\mu\text{g/mL}$ với hiệu quả 57,75%. Kế đến là nồng độ 250 $\mu\text{g/mL}$ với hiệu suất 47,72% và thấp nhất là nồng độ 50 $\mu\text{g/mL}$ với phần trăm khử gốc tự do là 8,11% (Bảng 5). Chúng ta tiến hành vẽ đường biểu diễn phần trăm ức chế gốc tự do và phương trình đường chuẩn $y = 0,1999x - 1,7973$ có $R^2 = 0,975$; từ đó, ta suy ra giá trị IC_{50} của cao chiết nước lá cây trà ổi là 259,11 $\mu\text{g/mL}$.

Tương tự, hiệu quả khử gốc tự do của cao chiết ethanol lá cây trà ổi được thực hiện ở các nồng độ khác nhau (0 – 300 $\mu\text{g/mL}$). Phần trăm khử gốc tự do của cao chiết ethanol đạt cao nhất ở nồng độ 300 $\mu\text{g/mL}$ (93,11%). Kế đến là nồng độ 250 $\mu\text{g/mL}$ với hiệu suất 82,71% và thấp nhất là nồng độ 50 $\mu\text{g/mL}$ với phần trăm khử gốc tự do là 22,18% (Bảng 5). Tiến hành vẽ đường biểu diễn thể hiện của phần trăm ức chế gốc tự do và phương trình đường chuẩn $y = 0,3142x + 2,71$ và có $R^2 = 0,9786$; ta suy ra được giá trị IC_{50} của cao chiết ethanol lá cây trà ổi là 150,50 $\mu\text{g/mL}$.

Bảng 5: Hiệu quả kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH cao chiết lá cây trám ổi

Nồng độ (µg/mL)	Mẫu cao chiết		
	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol	Cao chiết methanol
0	0	0	0
50	8,11±0,05	22,18±0,18	45,18±0,03
100	20,18±0,09	34,21±0,11	53,83±0,08
150	23,19±0,15	42,98±0,09	67,28±0,10
200	42,11±0,25	73,66±0,02	77,76±0,20
250	47,72±0,28	82,71±0,16	87,17±0,22
300	57,75±0,31	93,11±0,24	99,13±0,28
	259,11	150,50	75,43
IC ₅₀ (µg/mL)	Y= 0,1999x-1,7973 R ² = 0,975	Y= 0,3142x+2,71 R ² = 0,9786	Y= 0,221x+33,33 R ² = 0,9845

(Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình và sai số chuẩn và thống kê mức ý nghĩa 5%.)

Hiệu quả khử gốc tự do của cao chiết methanol lá cây trám ổi cũng được thực hiện ở các nồng độ khác nhau (0 – 300 µg/mL). Phần trăm khử gốc tự do của cao chiết methanol đạt cao nhất ở nồng độ 300 µg/mL với hiệu quả 99,13%. Kể đến là nồng độ 250 µg/mL với hiệu suất 87,17% và thấp nhất là nồng độ 50 µg/mL với phần trăm khử gốc tự do là 45,18% (Bảng 5). Chúng ta tiến hành vẽ đường biểu diễn thể hiện của phần trăm ức chế gốc tự do và phương trình đường chuẩn $y = 0,221x + 33,33$ và có $R^2 = 0,9845$; ta suy ra được giá trị IC₅₀ của cao chiết ethanol lá cây trám ổi là 75,43 µg/mL.

Giá trị IC₅₀ là giá trị mà tại đó ức chế 50% gốc tự do DPPH. Giá trị IC₅₀ của cao chiết lá cây trám ổi và vitamin C được xác định và trình bày trong Bảng 6. Giá trị IC₅₀ của cao chiết nước lá cây trám ổi cao hơn giá trị IC₅₀ của vitamin C là 46,63 lần. Trong khi đó, giá trị IC₅₀ của cao chiết ethanol 80^o lá cây trám ổi cao hơn giá trị IC₅₀ của vitamin C là 2,7 lần. Cuối cùng, giá trị IC₅₀ của cao chiết methanol 100% lá cây trám ổi cao hơn giá trị IC₅₀ của vitamin C là 1,35 lần. Điều này có

Bảng 6: Giá trị IC₅₀ của vitamin C và cao chiết lá cây trám ổi bằng phương pháp DPPH

STT	Mẫu	Giá trị IC ₅₀ (µg/mL)
1	Vitamin C	55,73
2	Cao chiết nước lá cây trám ổi	259,11
3	Cao chiết ethanol 80 ^o lá cây trám ổi	150,50
4	Cao chiết methanol 100% lá cây trám ổi	75,43

thể lí giải như sau: vitamin C là sản phẩm thương mại có độ tinh sạch cao, trong khi cao chiết lá cây trám ổi đã qua quá trình lọc trong li trích nhưng vẫn còn chứa nhiều tạp chất nên hiệu quả thấp hơn.

Nghiên cứu của Sanjiv [14] thử khả năng kháng oxy hóa của cao chiết methanol bốn loại lá cây trám ổi thu ở Ấn Độ bằng phương pháp DPPH cho giá trị IC₅₀ lần lượt là 33,30, 40,32, 475,33, 927,16 µg/mL. Trong nghiên cứu của Mortada [3], cao chiết methanol của lá cây trám ổi được kiểm tra khả năng kháng

oxy hóa bằng phương pháp DPPH cao giá trị IC_{50} là 47,33 $\mu\text{g/mL}$. Cao chiết lá cây trâm ổi có khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH là do cao chiết có chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học như flavonoid, alkaloid, tannin và phenol. Các nhóm hợp chất phenolic và flavonoid là các hợp chất oxy hóa mạnh bởi vì các hợp chất phenolic và flavonoid có khả năng hấp thụ và trung hòa các gốc tự do cũng như khử các phản ứng oxy hóa [23].

V. KẾT LUẬN

Lá cây trâm ổi là nguồn nguyên liệu chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học và có khả năng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực. Hàm lượng phenolic, flavonoid, polysaccharide và tannin của cao chiết lá trâm ổi lần lượt là 117,15 mg gallic acid/g, 207,19 mg quercetin/g cao khô, 118,26 mg GE/g cao khô và 118,26 mg tannic acid/g cao khô. Cao chiết lá cây trâm ổi có khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH với giá trị IC_{50} của nước, ethanol 80°, methanol 100% lần lượt là 259,11 $\mu\text{g/mg}$, 150,29 $\mu\text{g/mg}$, 75,43 $\mu\text{g/mg}$. Nghiên cứu đánh giá hiệu quả sinh học của cao chiết lá cây trâm ổi đối với một số bệnh như đái tháo đường, kháng khuẩn, kháng nấm trong điều kiện *in vitro* và *in vivo*.

LỜI CẢM ƠN

Chân thành cảm ơn Trung tâm Công nghệ Sinh học tỉnh An Giang, Sở Khoa học và Công nghệ An Giang đã tạo điều kiện để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Prior RL, X Wu, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53(10):4290–4302.
- [2] Raghavendra M, Reddy AM, Yadav PR, Raju AS, Kumar LS. Comparative studies on the *in vitro* antioxidant properties of methanolic leafy extracts from six edible leafy vegetables of India. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2013; 6(3):96–99.
- [3] Mortada ME, Hashash MM, Afaf AA, Abdel-Hady H, Abdel-Lateef EE, Morsi EA. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of Lantana camara and Cucurbita pepo (squash) extracts as well as gc-ms analysis of Lantana camara essential oils. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2017; 6(1):137–153.
- [4] Yadav M, Chatterji S, Watal G. Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine. *International Journal of Pharma and Biosciences*. 2014; 6(5):539–542.
- [5] Pieme C, Joseph N, Claude N, Bruno M, Borgia N, Vicky M, Jacqueline Mi, Jeanne N. Syzyguim guineense Extracts Show Antioxidant Activities and Beneficial Activities on Oxidative Stress Induced by Ferric

- Chloride in the Liver Homogenate. *Antioxidants*. 2014; 3(3):618–635.
- [6] Yadav RNS, Agarwala M. Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*. 2011; 3(12):10–14.
- [7] Dubois M, Gilles K, Hamilton J, Rebers P, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 1956; 28:350–356.
- [8] Kavitha CCI, Indira G. Quantitative estimation of total phenolic, flavonoids, tannin and chlorophyll content of leaves of *Strobilanthes Kunthiana* (Neelakurinji). *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2016; 4(4):282–286.
- [9] Shekhar TC, Anju G. Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of *Ageratum conyzoides* Linn. Leaves. *American Journal of Ethnomedicine*. 2014; 1(4):244–249.
- [10] Bandar H, Hijazi A, Rammal H, Hachem A, Saad A, Badran B. Techniques for the extraction of bioactive compounds from Lebanese *Urtica Dioica*. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*. 2013; 6:507–513.
- [11] Akumu EO, Swamy A, Ngule MC, Obey JK, Miyogo E. Phytopharmacological evaluation of *Lantana camara* leaves' smoke. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 2014; 4(2):28–34.
- [12] Sushama RR. Preliminary phytochemical screening of *L. camara*, L., a major invasive species of Kerala using different solvents. *Annals of plant Science*. 2017; 6(11):1794–1798.
- [13] Han X, Shen T, Lou H. Dietary Polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*. 2007; 8:950–988.
- [14] Sanjiv K, Sandhir R, Ojha S. 2014. Evaluation of antioxidant activity and total phenol in different varieties of *Lantana camara* leaves. *BMC Research Notes*. 2014; 7:560–569.
- [15] Bangou MJ, Almaraz-Abarca N, Zeba B, Millogo-Rasolodimby J, Nacoulma OG. Polyphenolic composition of *Lantana camara* and *Lippia chevalieri*, and their antioxidant and antimicrobial activities. I. *Journal of Phytomedicine*. 2012; 4:115–124.
- [16] Vamanu E, Nita S. Antioxidant capacity and the correlation with major phenolic compounds, anthocyanin, and tocopherol content in various extracts from the wild edible *Boletus edulis* mushroom. *BioMed Research International*. 2013; 1–11.
- [17] Harleen KS, Bimlesh K, Manoj S, Pardee S. A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Inter Pharmaceutica-scienza*. 2011; 1(1):25–35.
- [18] Nguyễn Văn Bình, Phạm Thị Phương, Nguyễn Tá Lợi. Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly hàm lượng polysaccharide toàn phần trong nấm linh chi đỏ. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*. 2018; 180(04):3–8.
- [19] Amarowicz R. Tannins: the new natural antioxidants?. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2007; 109(6):549–551.
- [20] Vedavathi T, Bhargavi K, Mythri K. Estimation of flavonoid, phenolic content and free

- radical scavenging activity of fresh unripe fruits of *Lantana camara* linn (verbenaceae). *International Journal of Research in Pharmacology & Pharmacotherapeutics*. 2013; 2(1):286–294.
- [21] Weecharangsan W, Opanasopit P, Sukma M, Ngawhirunpat T, Sotanaphun U. Antioxidative and neuroprotective activities of extracts from the fruit hulls *Garcinia mangostana* Linn. *Medicinal Principles and Practice*. 2006; 15:281–287.
- [22] Patel RM, Natvar JP. In vitro antioxidant activity of coumarin compounds by DPPH, Super oxide and nitric oxide free radical scavenging methods. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*. 2011; 1:52–68.
- [23] Nimse SB, Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Royal Society of Chemistry Advance*. 2015; 5(35):27986–28006