



Original Article

Quantification of Total Polyphenols, Total Flavonoids, and Evaluation of the Antioxidant Activity of the Aerial Part of *Distichochlamys orlowii* K. Larsen & M.F. Newman

Nguyen Xuan Tung^{1,2}, Nguyen Thanh Hai¹, Le Thi Hong¹,
Nguyen Thi Van Anh², Le Hong Luyen^{2,*}

¹VNU University of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

²University of Science and Technology of Ha Noi, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

Received 20 June 2023

Revised 09 August 2023; Accepted 05 October 2023

Abstract: *Distichochlamys orlowii* K. Larsen & M.F. Newman is a type of ginger endemic to Vietnam with high usage values. This study aims to evaluate the total phenolic content, total flavonoid content, and antioxidant effect of the aerial part of *Distichochlamys orlowii*. The medicinal samples were extracted by ultrasonic method with different solvents, including methanol, ethanol, ethyl acetate, and dichloromethane. The total phenolic content was evaluated using the Folin-Ciocalteu reagent, and the total flavonoid content was evaluated by the aluminum chloride colorimetric method. The *in vitro* antioxidant effects of extracts were investigated through free radical scavenging models with DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)). The obtained results showed that the ethanol extract contained the highest content of total phenolic content and total flavonoid content with values of $12.81 \pm 0.05\%$ and $19.52 \pm 0.23\%$, respectively. Meanwhile, the methanol extract exhibited the strongest DPPH and ABTS free radical scavenging activities with IC_{50} values of $243.89 \pm 5.98 \mu\text{g/mL}$ and $33.58 \pm 3.14 \mu\text{g/mL}$, accordingly. The IC_{50} values of positive controls were $7.88 \pm 0.25 \mu\text{g/mL}$ for the former assay and $9.74 \pm 0.36 \mu\text{g/mL}$ for the latter assay. This is the first report on the chemical composition and antioxidant activity of the extracts from the aerial part of *Distichochlamys orlowii*.

Keywords: *Distichochlamys orlowii*, antioxidant, chemical compositions, DPPH, ABTS.

* Corresponding author.

E-mail address: le-hong.luyen@usth.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4530>

Định lượng polyphenol toàn phần, flavonoid toàn phần và đánh giá tác dụng chống oxy hóa của phân trên mặt đất cây gừng orlow (*Distichochlamys orlowii* K. Larsen & M.F. Newman)

Nguyễn Xuân Tùng^{1,2}, Nguyễn Thanh Hải¹, Lê Thị Hồng¹,
Nguyễn Thị Vân Anh², Lê Hồng Luyến^{2,*}

¹Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 20 tháng 6 năm 2023

Chỉnh sửa ngày 09 tháng 8 năm 2023; Chấp nhận đăng ngày 05 tháng 10 năm 2023

Tóm tắt: Gừng orlow (*Distichochlamys orlowii* K. Larsen & M.F. Newman) là một loại gừng đặc hữu của Việt Nam với giá trị sử dụng cao. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá hàm lượng phenolic toàn phần, flavonoid toàn phần và tác dụng chống oxy hóa của phân trên mặt đất cây gừng orlow. Mẫu dược liệu được chiết xuất bằng phương pháp siêu âm với các loại dung môi khác nhau gồm methanol, ethanol, ethyl acetat và dichloromethan. Hàm lượng phenolic toàn phần được đánh giá với thuốc thử Folin-Ciocalteu và hàm lượng flavonoid toàn phần được đánh giá bằng phương pháp đo màu với AlCl₃. Tác dụng chống oxy hóa *in vitro* của các mẫu cao chiết được khảo sát thông qua mô hình quét gốc tự do với DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) và ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)). Kết quả thu được cho thấy cao chiết ethanol chứa hàm lượng phenolic toàn phần và flavonoid toàn phần cao nhất với giá trị lần lượt là 12,81 ± 0,05% và 19,52 ± 0,23%. Trong khi đó, cao chiết methanol thể hiện hoạt tính quét gốc tự do DPPH và ABTS mạnh nhất với giá trị IC₅₀ lần lượt là 243,89 ± 5,98 µg/mL và 33,58 ± 3,14 µg/mL. Giá trị IC₅₀ của chứng dương đối với phương pháp DPPH là 7,88 ± 0,25 µg/mL và đối với phương pháp ABTS là 9,74 ± 0,36 µg/mL. Đây là nghiên cứu đầu tiên về thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết từ phân trên mặt đất của cây gừng orlow.

Từ khóa: Gừng orlow, *Distichochlamys orlowii*, chống oxy hóa, thành phần hóa học, DPPH, ABTS.

1. Mở đầu

Trong cơ thể con người luôn tồn tại sự cân bằng giữa các dạng oxy hoạt động và các dạng chống oxy hóa. Do ảnh hưởng của nhiều yếu tố tác động từ bên ngoài hay bên trong cơ thể, cân bằng này bị thay đổi theo chiều hướng gia tăng

các dạng oxy hoạt động, hình thành nhiều gốc tự do. Sự tăng số lượng các gốc tự do hoạt động trong tế bào làm các phân tử sinh học biến đổi, xuất hiện những protein bất thường trong cơ thể. Đây là một trong những nguyên nhân phát sinh nhiều bệnh nguy hiểm như xơ vữa động mạch, bệnh tim thiếu máu cục bộ, ung thư, tiểu đường,

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: le-hong.luyen@usth.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4530>

bệnh thoái hóa thần kinh và lão hóa [1]. Để chống lại tác hại gây bởi gốc tự do, mọi cơ thể sống đều có những hệ thống chống oxy hóa nội sinh gồm hệ thống enzym khử gốc tự do (catalase, proxidase, superoxide dismutase), hệ thống enzym sửa chữa ADN, phân hủy protein, lipid. Tuy nhiên, hệ thống này không thể bảo vệ cơ thể hoàn toàn mà cần phải có sự hỗ trợ của các hợp chất chống oxy hóa ngoại sinh có nguồn gốc tự nhiên hoặc tổng hợp [2]. Các hợp chất phenolic và flavonoid có trong tự nhiên đã được chứng minh có tác dụng chống oxy hóa quan trọng, chủ yếu dựa trên đặc điểm cấu trúc của chúng. Mặc dù có hoạt tính mạnh và đã được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp, nhiều chất chống oxy hóa tổng hợp như butyl hydroxyanisol (BHA), butyl hydroxytoluen (BHT) có thể gây ra một số tác dụng phụ và độc tính đối với sức khỏe con người [3]. Vì vậy, việc tìm kiếm các hợp chất tự nhiên tách chiết chủ yếu từ thực vật có khả năng chống oxy hóa cao, không gây tác dụng phụ ngày càng được đẩy mạnh và nhận được nhiều sự quan tâm.

Gừng orlow (hay còn gọi là gừng đen lá tím) có tên khoa học là *Distichochlamys orlowii* K. Larsen & M.F. Newman. Đây là loài gừng đặc hữu của Việt Nam, được mô tả lần đầu tiên vào năm 2001 bởi K. Larsen & M.F. Newman. Cây thường được tìm thấy ở ven suối, rừng thứ sinh, rừng nguyên sinh và trồng cây bụi. Giống như các loài khác thuộc họ gừng, cây được sử dụng chủ yếu để lấy tinh dầu [4]. Gần đây, một nghiên cứu cho thấy thành phần chính của tinh dầu từ rễ cây gừng orlow chủ yếu thuộc nhóm monoterpenes và sesquiterpenes như geranyl acetat, β -elemen, β -pinen, β -caryophyllen, α -humulen,... [5]. Các hợp chất này đã được chứng minh có tác dụng chống oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng nấm, chống ung thư [6-8]. Như vậy, gừng orlow có tiềm năng thể hiện nhiều công dụng dược lý quan trọng. Tuy nhiên, tại Việt Nam cũng như trên thế giới, chưa có bất kỳ nghiên cứu nào về tác dụng sinh học nói chung và hoạt tính chống oxy hóa nói riêng của gừng orlow. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá hàm lượng phenol toàn phần, hàm lượng flavonoid toàn phần và tác dụng

chống oxy hóa của các dịch chiết từ phần trên mặt đất cây gừng orlow.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Cây gừng orlow được thu hái tại tỉnh Nghệ An, Việt Nam vào tháng 11 năm 2021 và được giám định tên khoa học là *Distichochlamys orlowii* K. Larsen & M.F. Newman. Mẫu được lưu giữ tại Khoa Khoa học Sự sống, Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (số hiệu tiêu bản: SH/1196). Sau khi giám định, phần trên mặt đất của cây được rửa sạch để loại bỏ hết bùn đất, thái thành các đoạn dài khoảng 2-3 cm, phơi khô và xay nhỏ. Bột phần trên mặt đất của *D. orlowii* (100 g) được chiết xuất 3 lần bằng phương pháp siêu âm với các loại dung môi gồm methanol, ethanol, ethyl acetat, dichloromethan. Tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1:20 (kg/L). Quá trình siêu âm được diễn ra liên tục trong vòng 6 giờ ở nhiệt độ không quá 40°C. Gộp các dịch chiết, lọc và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được 3,82 g cao methanol (MeOH), 3,18 g cao ethanol (EtOH), 3,05 g cao ethyl acetat (EtOAc) và 0,64 g cao dichloromethan (DCM).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xác định hàm lượng phenolic toàn phần

Hàm lượng phenolic toàn phần của các mẫu cao chiết từ phần trên mặt đất của cây gừng orlow được đánh giá với thuốc thử Folin-Ciocalteu, sử dụng chất chuẩn là acid gallic theo phương pháp được mô tả bởi Singleton và cộng sự [9]. Nguyên tắc của phương pháp này dựa trên sự khử của phức hợp phosphovanfram-phosphomolybdat trong thuốc thử Folin-Ciocalteu bởi các hợp chất polyphenol ở trạng thái kiềm, tạo thành sản phẩm phản ứng có màu xanh lam của vonfram và molybden có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 765 nm [10]. Mẫu thử và mẫu chứng dương được pha trong MeOH

thành dãy các nồng độ khác nhau. Thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% và dung dịch Na_2CO_3 6% được pha loãng bằng nước cất. Tiến hành trộn đều 10 μL mẫu thử gồm các nồng độ khác nhau của cao chiết hoặc mẫu chứng dương (acid gallic) với 95 μL thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% trong 1 phút. Sau đó, thêm vào hỗn hợp 95 μL dung dịch Na_2CO_3 6%. Mẫu thử nghiệm chỉ chứa MeOH, thuốc thử Folin-Ciocalteu, Na_2CO_3 được sử dụng làm mẫu đối chứng. Dung dịch phản ứng cuối cùng được ủ ở nhiệt độ 40°C trong vòng 15 phút, tránh ánh sáng. Độ hấp thụ của phức chất màu xanh lam thu được sau khi ủ được đo bằng máy quang phổ Microplate (xMark, Bio-Rad) ở bước sóng 765 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đường chuẩn của acid gallic với các nồng độ khảo sát được xây dựng để ước tính hàm lượng phenol toàn phần tính theo acid gallic C (μg GAE/mL). Hàm lượng phenolic toàn phần trong các mẫu cao chiết được xác định bằng công thức:

$$\text{TPC} (\%) = \frac{C_{\text{GAE}}}{C_0} \times 100\%$$

Trong đó:

TPC (%): tổng hàm lượng phenolic trong mẫu thử;

C_{GAE} : nồng độ tương đương acid gallic (μg GAE/mL);

C_0 : nồng độ của mẫu ($\mu\text{g}/\text{mL}$).

2.2.2. Phương pháp xác định hàm lượng flavonoid toàn phần

Hàm lượng flavonoid toàn phần của các mẫu cao chiết từ phần trên mặt đất của cây gừng orlow được xác định bằng phương pháp đo quang phổ dựa vào phản ứng giữa các flavonoid với AlCl_3 tạo phức màu vàng cam và hấp thụ cực đại tại bước sóng 510 nm. Sử dụng chất chuẩn quercetin, xây dựng đường chuẩn thể hiện mối tương quan giữa độ hấp thụ quang (A) và nồng độ chất chuẩn (C). Từ đường chuẩn và giá trị mật độ quang của mẫu thử ở cùng điều kiện, xác định hàm lượng flavonoid trong dung dịch mẫu thử và tính hàm lượng flavonoid toàn phần tương đương quercetin trong mẫu thử [11]. Trong nghiên cứu này, mẫu thử và mẫu chứng dương được hòa tan và pha loãng bằng MeOH thành

dãy các nồng độ khác nhau. Các dung dịch NaNO_2 5%, AlCl_3 10% và NaOH 1M được pha loãng bằng nước cất. Tiến hành trộn 50 μL mẫu thử là các nồng độ khác nhau của cao chiết hoặc mẫu chứng dương với 10 μL NaNO_2 5% và ủ ở nhiệt độ phòng trong vòng 6 phút. Đối với mẫu chứng âm, mẫu thử được thay bằng MeOH. Sau đó, thêm lần lượt 10 μL AlCl_3 10%, 80 μL NaOH 1M và 50 μL EtOH 30% vào hỗn hợp. Dung dịch cuối cùng được ủ trong 15 phút ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ quang của hỗn hợp thu được sau khi ủ được đo z chiết được xác định bằng công thức:

$$\text{TFC} (\%) = \frac{C_Q}{C_0} \times 100\%$$

Trong đó:

TFC (%): tổng hàm lượng flavonoid trong mẫu thử;

C_Q : nồng độ tương đương quercetin (μg QE/mL);

C_0 : nồng độ của mẫu ($\mu\text{g}/\text{mL}$).

2.2.3. Phương pháp xác định khả năng quét gốc tự do DPPH

Ở nhiệt độ phòng, các chất chống oxy hóa sẽ kết hợp với gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) làm cho dung dịch chuyển từ màu tím sang màu vàng và làm giảm cường độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch ở bước sóng 517 nm. Để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của mẫu thử so với mẫu đối chứng, tiến hành đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 517 nm để xác định lượng DPPH còn lại [12]. Mẫu chứng dương (acid ascorbic) và mẫu thử gồm các cao chiết từ phần trên mặt đất của cây gừng orlow được hòa tan và pha loãng bằng dung môi MeOH thành dãy các nồng độ khác nhau. Trong mỗi giếng của đĩa 96 giếng, hỗn hợp gồm 190 μL dung dịch DPPH (nồng độ 0,1 mM pha trong MeOH) và 10 μL mẫu thử hoặc mẫu chứng dương ở các nồng độ khác nhau được trộn đều và ủ ở nhiệt độ phòng trong vòng 30 phút. Độ hấp thụ quang của hỗn hợp được đo tại bước sóng 517 nm. Tiến hành đo mẫu chứng âm với cùng điều kiện và thành phần gồm 190 μL dung dịch DPPH (nồng độ 0,1 mM pha trong MeOH) và 10 μL MeOH. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH của dung dịch thử được đánh giá thông qua giá trị phần trăm ức chế (I%) và được tính theo công thức:

$$I(\%) = \left(1 - \frac{OD_s}{OD_c}\right) \times 100\%$$

Trong đó:

I (%): phần trăm ức chế;

OD_s: mật độ quang trung bình của mẫu thử;

OD_c: mật độ quang trung bình của mẫu đối chứng.

Giá trị IC₅₀ của mẫu thử được tính dựa theo đồ thị tuyến tính thể hiện mối tương quan giữa nồng độ (C) và phần trăm ức chế (I%); từ đó xây dựng được phương trình hồi quy tuyến tính: $y = ax + b$ để xác định giá trị IC₅₀. Mẫu có giá trị IC₅₀ càng thấp thì khả năng chống oxy hóa càng cao.

2.2.4. Phương pháp xác định khả năng quét gốc tự do ABTS

Cation ABTS⁺ được tạo ra bởi quá trình oxy hóa ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) với kali persulfate (K₂S₂O₈). Đây là một chất phát quang màu xanh, có độ hấp thụ đặc trưng ở bước sóng 734 nm. Khi có sự có mặt của các chất chống oxy hóa, các chất chống oxy hóa này sẽ khử ABTS⁺ thành ABTS và làm giảm độ hấp thụ của dung dịch tại bước sóng 734 nm. Tiến hành đo độ giảm độ hấp thụ tại bước sóng 734 nm và so sánh với mẫu đối chứng để xác định hoạt tính chống oxy hóa của mẫu thử [13]. Trong nghiên cứu này, dung dịch hoạt động ABTS⁺ được chuẩn bị bằng cách trộn dung dịch K₂S₂O₈ (nồng độ 2,45 mM pha trong nước cất) và dung dịch ABTS (nồng độ 7 mM pha trong MeOH) với tỷ lệ thể tích bằng nhau rồi ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng từ 12 đến 16 giờ trước khi sử dụng. Sau khi ủ, pha loãng dung dịch ABTS⁺ trong EtOH tuyệt đối đến khi độ hấp thụ của dung dịch đạt giá trị khoảng $0,7 \pm 0,02$ ở bước sóng 734 nm. Mẫu thử gồm các cao chiết của phần trên mặt đất cây gừng orlow được hòa tan và pha loãng bằng MeOH thành các nồng độ khác nhau. Mẫu chứng dương (Trolox) được hòa tan trong EtOH tuyệt đối và được pha loãng với cùng loại dung môi thành các nồng độ khác nhau. Hỗn hợp phản ứng gồm 190 μ L dung dịch pha

loãng ABTS⁺ và 10 μ L mẫu thử hoặc mẫu chứng dương ở các nồng độ khảo sát được trộn đều, ủ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút, tránh ánh sáng. Độ hấp thụ quang của hỗn hợp được đo tại bước sóng 734 nm. Tiến hành song song với mẫu đối chứng trong cùng điều kiện và thành phần gồm 190 μ L dung dịch pha loãng ABTS⁺ và 10 μ L MeOH đối với mẫu thử và EtOH đối với mẫu chứng dương. Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

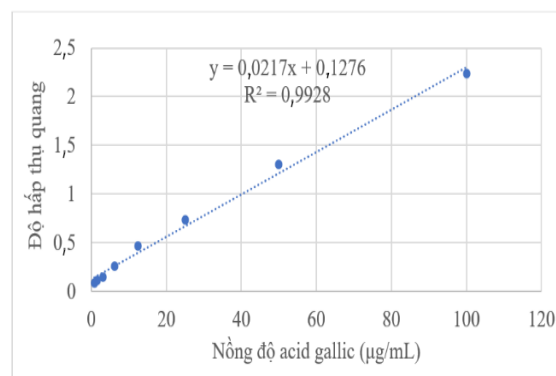
Giá trị IC₅₀ của mẫu thử được tính dựa theo phương pháp tương tự như mục 2.2.3. Mẫu có giá trị IC₅₀ càng thấp thì khả năng chống oxy hóa càng cao.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn ($X \pm SD$). Phân tích t-test và ANOVA được sử dụng để so sánh thống kê giữa các mẫu. Giá trị $p < 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê. Phần mềm Microsoft Excel 2016 được sử dụng để tính toán số liệu và vẽ đồ thị.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Xác định hàm lượng phenolic toàn phần



Hình 1. Đường chuẩn của acid gallic.

Acid gallic được sử dụng làm chất chuẩn để xác định hàm lượng phenolic toàn phần trong mẫu thử. Đây là một acid hữu cơ thuộc nhóm polyphenol. Để xây dựng đường chuẩn định lượng, tiến hành pha dãy dung dịch chuẩn có

nồng độ từ 2-100 $\mu\text{g/mL}$ theo mô tả ở mục 2.2.1. Kết quả thu được cho thấy độ hấp thụ quang của dung dịch chuẩn tỷ lệ thuận với nồng độ acid gallic theo phương trình $y = 0,0217x + 0,1276$ với hệ số $R^2 = 0,9928$ (Hình 1).

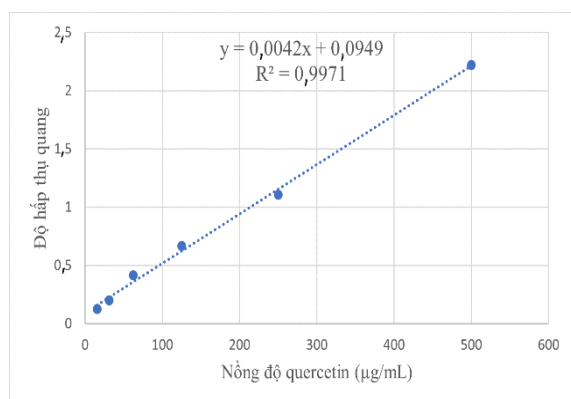
Bảng 1. Hàm lượng phenolic toàn phần của các mẫu cao chiết

Mẫu cao chiết	Hàm lượng phenol toàn phần (%)
MeOH	$11,69 \pm 0,02^{b,c,d}$
EtOH	$12,81 \pm 0,05^{a,c,d}$
EtOAc	$7,79 \pm 0,04^{a,b,d}$
DCM	$6,02 \pm 0,79^{a,b,c}$

Ghi chú: ^a $p < 0,05$ khi so sánh với cao MeOH; ^b $p < 0,05$ khi so sánh với cao EtOH; ^c $p < 0,05$ khi so sánh với cao EtOAc; ^d $p < 0,05$ khi so sánh với cao DCM.

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy cao chiết ethanol có hàm lượng phenolic toàn phần cao nhất với giá trị bằng $12,81 \pm 0,05\%$. Cao chiết methanol cũng chứa hàm lượng phenolic toàn phần cao với giá trị thu được là $11,69 \pm 0,02\%$. Trong khi đó, hàm lượng phenolic toàn phần trong các mẫu cao chiết ethyl acetat và dichloromethan thấp với giá trị lần lượt là $7,79 \pm 0,04\%$ và $6,02 \pm 0,79\%$.

3.2. Xác định hàm lượng flavonoid toàn phần



Hình 2. Đường chuẩn của quercetin.

Quercetin được sử dụng làm chất chuẩn để xác định hàm lượng flavonoid toàn phần trong mẫu thử. Đây là một hợp chất thuộc nhóm

flavonoid. Để xây dựng đường chuẩn định lượng, tiến hành pha dãy dung dịch chuẩn có nồng độ từ 10 – 1000 $\mu\text{g/mL}$ theo mô tả ở mục 2.2.2. Kết quả thu được cho thấy độ hấp thụ quang của dung dịch chuẩn tỷ lệ thuận với nồng độ quercetin theo phương trình $y = 0,0042x + 0,0949$ với hệ số $R^2 = 0,9971$ (Hình 2).

Bảng 2. Hàm lượng flavonoid toàn phần của các mẫu cao chiết

Mẫu cao chiết	Hàm lượng flavonoid toàn phần (%)
MeOH	$16,12 \pm 0,44^{b,c,d}$
EtOH	$19,52 \pm 0,23^{a,c,d}$
EtOAc	$16,65 \pm 0,48^{a,b}$
DCM	$17,11 \pm 0,38^{a,b}$

Ghi chú: ^a $p < 0,05$ khi so sánh với cao MeOH; ^b $p < 0,05$ khi so sánh với cao EtOH; ^c $p < 0,05$ khi so sánh với cao EtOAc; ^d $p < 0,05$ khi so sánh với cao DCM.

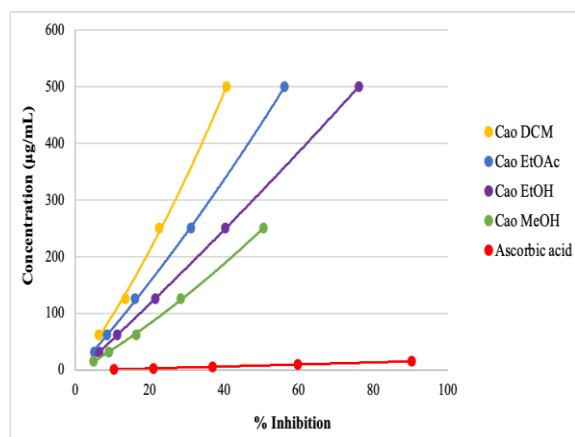
Hàm lượng flavonoid toàn phần của các mẫu cao chiết từ phần trên mặt đất của cây gừng orlow được trình bày trong Bảng 2. Kết quả ở Bảng 2 cho thấy hàm lượng flavonoid trong cao chiết ethanol có giá trị cao nhất là $19,52 \pm 0,23\%$. Các cao chiết còn lại có hàm lượng flavonoid toàn phần thấp hơn đáng kể với giá trị lần lượt là $16,12 \pm 0,44\%$; $17,11 \pm 0,38\%$; $16,65 \pm 0,48\%$ tương ứng với cao chiết methanol, dichloromethan và ethyl acetat.

3.3. Xác định tác dụng chống oxy hóa

3.3.1. Phương pháp DPPH

Hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của các loại cao chiết từ phần trên mặt đất của cây gừng orlow được đánh giá thông qua khả năng quét gốc tự do DPPH. Kết quả ở Hình 3 và Bảng 3 cho thấy khi nồng độ tăng thì khả năng quét gốc tự do DPPH của các mẫu khảo sát cũng tăng theo. Trong các mẫu thử, cao chiết methanol thể hiện tác dụng chống oxy hóa tốt nhất với giá trị IC_{50} là $243,89 \pm 5,98 \mu\text{g/mL}$, sau đó là cao chiết ethanol và cao chiết ethyl acetat với giá trị IC_{50} lần lượt là $320,90 \pm 13,24 \mu\text{g/mL}$ và $436,73 \pm 10,46 \mu\text{g/mL}$. Cao chiết dichloromethan có tác

dụng yếu nhất với giá trị IC_{50} là $661,42 \pm 44,86 \mu\text{g/mL}$. Song song với các mẫu thử, tiến hành với mẫu chứng dương là acid ascorbic thu được giá trị IC_{50} là $7,88 \pm 0,25 \mu\text{g/mL}$.



Hình 3. Đồ thị biểu diễn khả năng quét gốc tự do DPPH của các cao chiết từ phần trên mặt đất cây gừng orlow và acid ascorbic.

Bảng 3. Khả năng quét gốc tự do DPPH của các cao chiết từ phần trên mặt đất cây gừng orlow

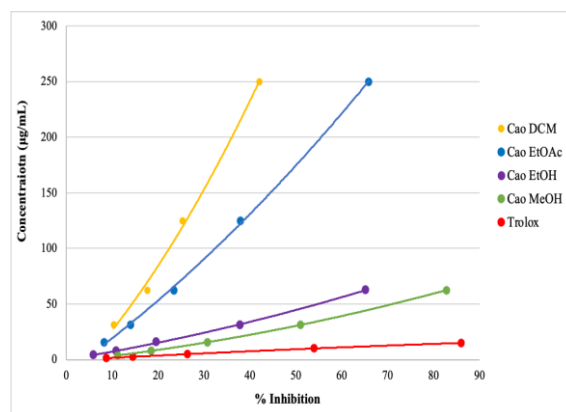
Mẫu cao chiết	Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
MeOH	$243,89 \pm 5,98^{\beta,b,c,d}$
EtOH	$320,90 \pm 13,24^{\beta,a,c,d}$
EtOAc	$436,73 \pm 10,46^{\beta,a,b,d}$
DCM	$661,42 \pm 44,86^{\beta,a,b,c}$
Acid ascorbic	$7,88 \pm 0,25$

Ghi chú: $^{\beta}p < 0,05$ khi so sánh với acid ascorbic; $^{\alpha}p < 0,05$ khi so sánh với cao MeOH; $^b p < 0,05$ khi so sánh với cao EtOH; $^c p < 0,05$ khi so sánh với cao EtOAc; $^d p < 0,05$ khi so sánh với cao DCM.

3.3.2. Phương pháp ABTS

Tác dụng chống oxy hóa *in vitro* của các mẫu cao chiết được đánh giá dựa trên mô hình quét gốc tự do ABTS. Kết quả thực nghiệm được trình bày trong Hình 4 và Bảng 4. Từ Hình 4 và Bảng 4, có thể thấy hoạt tính quét gốc tự do ABTS của các mẫu thử tăng dần theo nồng độ khảo sát. Trong các loại cao chiết, cao chiết methanol và cao chiết ethanol có khả năng quét gốc tự do ABTS mạnh nhất với giá trị IC_{50} lần lượt là $33,58 \pm 3,14 \mu\text{g/mL}$ và $46,14 \pm 4,55 \mu\text{g/mL}$ so với

chứng dương trolox là $9,74 \pm 0,36 \mu\text{g/mL}$. Cao chiết dichloromethan có tác dụng chống oxy hóa thấp nhất với giá trị IC_{50} thu được là $309,58 \pm 30,46 \mu\text{g/mL}$.



Hình 4. Đồ thị biểu diễn khả năng quét gốc tự do ABTS của các cao chiết từ phần trên mặt đất cây gừng orlow và trolox.

Bảng 4. Khả năng quét gốc tự do ABTS của các cao chiết từ phần trên mặt đất cây gừng orlow

Mẫu cao chiết	Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
MeOH	$33,58 \pm 3,14^{\beta,b,c,d}$
EtOH	$46,14 \pm 4,55^{\beta,a,c,d}$
EtOAc	$180,10 \pm 4,73^{\beta,a,b,d}$
DCM	$309,58 \pm 30,46^{\beta,a,b,c}$
Trolox	$9,74 \pm 0,36$

Ghi chú: $^{\beta}p < 0,05$ khi so sánh với trolox; $^{\alpha}p < 0,05$ khi so sánh với cao MeOH; $^b p < 0,05$ khi so sánh với cao EtOH; $^c p < 0,05$ khi so sánh với cao EtOAc; $^d p < 0,05$ khi so sánh với cao DCM.

4. Bàn luận

Các hợp chất phenolic bao gồm các acid phenolic, polyphenol và flavonoid là những chất chuyển hóa thứ cấp phổ biến trong thực vật. Các nghiên cứu khoa học đã chứng minh các hợp chất này thể hiện nhiều hoạt tính sinh học quý như chống viêm, chống ung thư, bảo vệ gen, bảo vệ thần kinh, hỗ trợ điều trị các bệnh tim mạch, Alzheimer. Tất cả những tác dụng này về cơ bản là do tính chất chống oxy hóa của chúng [14]. Từ thực nghiệm đã xác định được trong các loại

dung môi khảo sát, ethanol là dung môi chiết xuất tốt nhất với hàm lượng phenolic toàn phần và flavonoid toàn phần trong mẫu cao chiết thu được cao nhất. Hàm lượng phenolic toàn phần và flavonoid toàn phần là hai chỉ số chính được sử dụng rộng rãi để thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tổng thể trong các mẫu thử nghiệm [15]. Do vậy, kết quả này cho thấy cao chiết ethanol có thể là đối tượng nghiên cứu tiềm năng cho việc tách chiết, phân lập các hợp chất có khả năng chống oxy hóa cao từ phần trên mặt đất cây gừng orlow. Tùy thuộc vào số lượng nhóm phenol mà các hợp chất phenolic có khả năng phản ứng khác nhau với thuốc thử Folin- Ciocalteu. Việc chiết xuất các hợp chất phenolic từ một mẫu thực vật có liên quan trực tiếp đến khả năng hòa tan của các hợp chất này với hệ dung môi chiết. Trên thực tế, các hợp chất phenolic trong thực vật thể hiện khả năng hòa tan khác nhau trong các hệ dung môi có độ phân cực khác nhau. Do đó, không có một hệ dung môi nào có khả năng chiết xuất được toàn bộ các hợp chất phenolic từ một mẫu thực vật cụ thể [16].

Trong nghiên cứu này, tác dụng chống oxy hóa *in vitro* của các loại cao chiết từ phần trên mặt đất cây gừng orlow được khảo sát thông qua mô hình quét gốc tự do DPPH và ABTS. Đây là hai phương pháp được sử dụng phổ biến trong phòng thí nghiệm do dễ thực hiện, chi phí thấp, cho kết quả nhanh, chính xác. Ngoài ra, ABTS⁺ có khả năng hòa tan trong môi trường đệm và hữu cơ, giúp thuận lợi cho việc xác định hoạt tính chống oxy hóa của cả các hợp chất ưa nước và ưa lipid. Tuy nhiên, các thử nghiệm này chỉ mang ý nghĩa xác định khả năng loại bỏ gốc tự do của mẫu thử do DPPH và ABTS là các hợp chất tổng hợp, không tồn tại trong các hệ thống sinh học [17]. Nhìn chung, hoạt tính của các mẫu khảo sát phụ thuộc vào nồng độ. Bên cạnh đó, khả năng quét gốc tự do tỷ lệ thuận với hàm lượng phenol toàn phần và flavonoid toàn phần, nghĩa là cao chiết chứa hàm lượng phenol toàn phần và flavonoid toàn phần càng cao thì thể hiện tác dụng loại bỏ các gốc tự do càng tốt. Ở cả hai phương pháp thử nghiệm, cao chiết methanol đều thể hiện tác dụng quét gốc tự do cao nhất với giá trị IC₅₀ là 243,89 ± 5,98 µg/mL

đối với phương pháp DPPH và 33,58 ± 3,14 µg/mL đối với phương pháp ABTS. Mặc dù có hàm lượng phenolic toàn phần và flavonoid thấp hơn cao chiết ethanol, cao chiết methanol lại cho thấy khả năng chống oxy hóa cao hơn. Điều này chứng tỏ các hợp chất không phải là phenolic trong cao chiết methanol, ví dụ như terpen, cũng có thể đóng góp vào tác dụng chống oxy hóa tổng thể của mẫu thử [18].

5. Kết luận

Nghiên cứu đã đánh giá được hàm lượng phenol toàn phần, flavonoid toàn phần và tác dụng chống oxy hóa của các cao chiết từ phần trên mặt đất cây gừng orlow. Trong bốn mẫu cao chiết khảo sát, cao chiết ethanol chứa hàm lượng phenolic toàn phần và flavonoid toàn phần cao nhất với giá trị TPC, TFC lần lượt là 12,81 ± 0,05% và 19,52 ± 0,23%. Về hoạt tính chống oxy hóa, cao chiết methanol thể hiện tác dụng mạnh nhất với giá trị IC₅₀ là 243,89 ± 5,98 µg/mL đối với phương pháp DPPH và 33,58 ± 3,14 µg/mL đối với phương pháp ABTS. Đây là nghiên cứu đầu tiên khảo sát về thành phần hóa học và tác dụng chống oxy hóa của các cao chiết từ phần trên mặt đất cây gừng orlow. Kết quả này có ý nghĩa trong việc mở ra các định hướng nghiên cứu tiếp theo nhằm tìm ra các chất chống oxy hóa có trong cao chiết từ phần trên mặt đất cây gừng orlow, đặc biệt là cao chiết methanol và ethanol.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đề tài nghiên cứu khoa học cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, thuộc Chương trình thu hút các nhà khoa học trẻ tiềm năng (Mã số đề tài: THTETN.09/21-23).

Tài liệu tham khảo

- [1] L. K. Jagadish, V. V. Krishnan, R. Shenbhagaraman, V. Kaviyaran, Comparative Study on the Antioxidant, Anticancer and Antimicrobial Property of *Agaricus Bisporus* (J. E. Lange) Imbach before and

- after Boiling, African Journal of Biotechnology, Vol. 8, No. 4, 2009, pp. 654-661, <https://doi.org/10.5897/AJB2009.000-9111>.
- [2] M. Carochi, I. C. F. R. Ferreira, A Review on Antioxidants, Prooxidants and Related Controversy: Natural and Synthetic Compounds, Screening and Analysis Methodologies and Future Perspectives, Food and Chemical Toxicology, Vol. 51, 2013, pp. 15-25, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>.
- [3] K. S. Rao, P. K. Chaudhury, A. Pradhan, Evaluation of Antioxidant Activities and Total Phenolic Content of *Chromolaena Odorata*, Food and Chemical Toxicology, Vol. 48, 2010, pp. 729-732, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.12.005>.
- [4] L. T. Huong, T. T. Huong, D. B. Thin, D. T. M. Chau, D. T. Thoan, Diversity of Zingiberaceae Family in Pu Mat National Park, Nghe An province, VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology, Vol. 34, No. 1, 2018, pp. 84-89, <https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4722>.
- [5] L. T. Huong, D. T. M. Chau, N. V. Hung, D. N. Dai, I. A. Ogunwande, Volatile Constituents of *Distichochlamys Citrea* M. F. Newman and *Distichochlamys Orlowii* K. Larsen & M.F. Newman (Zingiberaceae) from Vietnam, Journal of Medicinal Plants Research, Vol. 11, No. 9, 2017, pp. 188-193, <https://doi.org/10.5897/JMPR2016.6337>.
- [6] M. J. Goncalves, M. T. Cruz, A. C. Tavares, C. Cavaleiro, M. C. Lopes, J. Canhoto, L. Salgueiro, Composition and Biological Activity of the Essential Oil from *Thapsia Minor*, A New Source of Geranyl Acetate, Industrial Crops and Products, Vol. 35, No. 1, 2012, pp. 166-171, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.06.030>.
- [7] N. Jaradat, L. Adwan, S. K'aibni, N. Shraim, A. N. Zaid, Chemical Composition, Anthelmintic, Antibacterial and Antioxidant Effects of *Thymus Bovei* Essential Oil, BMC Complementary Medicine and Therapies, Vol. 16, No. 418, 2016, <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1408-2>.
- [8] T. Zhu, Y. Xu, B. Dong, J. Zhang, Z. Wei, Y. Xu, Y. Yao, β -elemene Inhibits Proliferation of Human Glioblastoma Cells Through the Activation of Glia Maturation Factor β and Induces Sensitization to Cisplatin, Oncology Reports, Vol. 26, No. 2, 2011, pp. 405-413, <https://doi.org/10.3892/or.2011.1276>.
- [9] V. L. Singleton, R. Orthofer, R. M. Lamuela-Raventós, Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants By Means of Folin-ciocalteu Reagent, Methods in Enzymology, Vol. 299, 1999, pp. 152-178, [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
- [10] B. T. Thuong, P. X. Sinh, N. T. Hai, N. T. T. Binh, N. X. Tung, Effect of Traditional Preparation Processing on the Total Phenol Content and Antioxidant Activity of *Fallopia multiflora* Thunb., VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences, Vol. 36, No. 4, 2020, pp. 23-30, <https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4264>.
- [11] A. Pekal, K. Pyrzynska, Evaluation of Aluminum Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay, Food Analytical Methods, Vol. 7, 2014, pp. 1776-1782, <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>.
- [12] S. Singh, R. P. Singh, *In Vitro* Methods of Assay of Antioxidants: An Overview, Food Review International, Vol. 24, No. 4, 2008, pp. 392-415, <https://doi.org/10.1080/87559120802304269>.
- [13] M. N. Alam, N. J. Bristi, M. Rafiquzzaman, Review on *In Vivo* and *In Vitro* Methods Evaluation of Antioxidant Activity, Saudi Pharmaceutical Journal, Vol. 21, No. 2, 2013, pp. 143-152, <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>.
- [14] F. Ullah, M. Ayaz, A. Sadiq, A. Hussain, S. Ahmad, M. Imran, A. Zeb, Phenolic, Flavonoid Contents, Anticholinesterase and Antioxidant Evaluation of *Iris Germanica*, *Florentina*, Natural Product Research, Vol. 30, No. 12, 2016, pp. 1440-1444, <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1057585>.
- [15] B. Tohidi, M. Rahimmalek, A. Arzani, Essential oil Composition, Total Phenolic, Flavonoid Contents, and Antioxidant Activity of *Thymus* Species Collected from Different Regions of Iran, Food Chemistry, Vol. 220, 2017, pp. 153-161, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.203>.
- [16] A. Othman, N. J. Mukhtar, N. S. Ismail, S. K. Chang, Phenolic, Flavonoids Content and Antioxidant Activities of 4 Malaysian Herbal Plants, International Food Research Journal, Vol. 21, No. 2, 2014, pp. 759-766.
- [17] I. G. Munteanu, C. Apetrei, Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review, International Journal of Molecular Sciences, Vol. 22, No. 7, 2021, 3380, <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>.
- [18] N. Babbar, H. S. Oberoi, D. S. Uppal, R. T. Patil, Total Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Extracts Obtained from Six Important Fruit Residues, Food Research International, Vol. 44, 2011, pp. 391-396, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.001>.