



Original Article

Evaluation of Antioxidant Activity, Total Phenolic Content, and Total Flavonoid Content of the Aerial Part of *Canna edulis* Ker Gawl.

Nguyen Thi Van Anh^{1,*}, Bui Thanh Tung², Le Hong Luyen¹

¹University of Science and Technology of Ha Noi, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

²VNU University of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

Received 12 September 2023

Revised 16 October 2023; Accepted 22 November 2023

Abstract: *Canna edulis* Ker Gawl. (CE) is an important agricultural plant in Vietnam. The whole plant is traditionally used to treat many different diseases. However, scientific evidence on the pharmacological effects and chemical composition of this plant is limited and focuses mainly on the roots. This study aimed to evaluate the antioxidant activity and quantify the total phenolic and flavonoid content of extracts from the aerial part of CE. The *in vitro* antioxidant effect was evaluated by DPPH and ABTS free radical scavenging methods. Total phenolic content was evaluated with the Folin-Ciocalteu reagent, and total flavonoid content was evaluated by the aluminum chloride colorimetric method. The results showed that the ethyl acetate fraction had the most antioxidant activity with the IC₅₀ values for DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS of 103.73 ± 9.80 and 76.52 ± 3.57 $\mu\text{g/mL}$, respectively. In addition, the ethyl acetate fraction contained the highest total phenolic and total flavonoid content with values of 70.93 ± 7.18 mg GAE/g extract and 64.93 ± 5.75 mg QE/g extract, respectively. Therefore, the aerial part of CE, especially the ethyl acetate fraction, is a potential plant source for the investigation of antioxidant compounds.

Keywords: *Canna edulis*, antioxidant, flavonoids, phenolic, DPPH, ABTS.

* Corresponding author.

E-mail address: nguyen-thi-van.anh@usth.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4553>

Đánh giá tác dụng chống oxy hoá, hàm lượng phenolic toàn phần, hàm lượng flavonoid toàn phần của phần trên mặt đất cây dong riềng *Canna edulis* Ker Gawl

Nguyễn Thị Vân Anh^{1,*}, Bùi Thanh Tùng², Lê Hồng Luyện¹

¹Trường 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

²Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 12 tháng 9 năm 2023

Chỉnh sửa ngày 16 tháng 10 năm 2023; Chấp nhận đăng ngày 22 tháng 11 năm 2023

Tóm tắt: *Canna edulis* Ker Gawl. (CE) là loài cây nông nghiệp quan trọng ở nước ta. Toàn cây được dân gian sử dụng để điều trị nhiều bệnh khác nhau. Tuy nhiên, nghiên cứu đánh giá tác dụng dược lý và thành phần hoá học về loài cây này còn hạn chế và tập trung chủ yếu ở phần rễ. Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hoạt tính chống oxy hóa, định lượng hàm lượng phenolic và flavonoid toàn phần của các cao chiết từ phần trên mặt đất CE. Tác dụng chống oxy hóa *in vitro* được đánh giá bằng phương pháp trung hoà gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) và ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-acid sulfonic)). 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 $AlCl_3$. Kết quả cho thấy cao phân đoạn ethyl acetat có hoạt tính chống oxy hoá mạnh nhất với giá trị IC_{50} đối với phương pháp DPPH và ABTS lần lượt là $103,73 \pm 9,80$ và $76,52 \pm 3,57$ $\mu g/mL$. Đồng thời, cao phân đoạn ethyl acetat chứa hàm lượng phenolic toàn phần và flavonoid toàn phần cao nhất với giá trị lần lượt là $70,93 \pm 7,18$ mg GAE/g cao chiết và $64,93 \pm 5,75$ mg QE/g cao chiết. Như vậy, phần trên mặt đất của cây CE, đặc biệt là cao chiết ethyl acetat là một nguồn thực vật tiềm năng để nghiên cứu, tìm kiếm các hoạt chất chống oxy hóa.

Từ khóa: *Canna edulis*, chống oxy hóa, flavonoid, phenolic, DPPH, ABTS.

1. Mở đầu

Canna edulis Ker Gawl. (CE) là loài dong riềng có thân rễ, ăn được, dễ trồng, có năng suất cao, được trồng chủ yếu ở Nam Mỹ, Đài Loan, Việt Nam, Thái Lan và Trung Quốc. Đây là loài cây nông nghiệp quan trọng ở nước ta, có thân rễ khô rất giàu tinh bột [1]. Cây này thuộc chi dong riềng *Canna*, là chi duy nhất trong họ Cannaceae. Tuy nhiên, các nhà khoa học chưa chú ý nhiều

đến việc nghiên cứu các loài thuộc chi này. Các nghiên cứu chủ yếu đánh giá các đặc điểm nông học và cải tạo giống để phát triển nông nghiệp [2].

Trong cơ thể con người, rất nhiều quá trình sinh học tự nhiên như tiêu hóa thức ăn, chuyển hóa các hợp chất ngoại sinh, biến chất béo thành năng lượng tạo ra các hợp chất có hại gọi là gốc tự do. Các gốc tự do thường bị hệ thống chống oxy hóa tự nhiên của cơ thể phá hủy. Tuy nhiên, nếu hệ thống này không hoạt động hiệu quả, các

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: nguyen-thi-van.anh@usth.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4553>

gốc tự do sẽ gây độc cho các mô và tế bào trong cơ thể, làm tổn thương các ADN, dẫn đến quá trình oxy hoá lipid và protein trong tế bào. Đây là một trong những nguyên nhân của nhiều bệnh mạn tính, nguy hiểm như ung thư, tiểu đường, xơ vữa động mạch, thoái hoá thần kinh và lão hoá. Việc bổ sung chất chống oxy hóa ngoại sinh với vai trò là chất khử, chống lại các gốc tự do, loại bỏ các oxy đơn sẽ giúp cải thiện thiệt hại do stress oxy hóa gây ra [3].

Các chất chống oxy hóa ngoại sinh chủ yếu có nguồn gốc từ thực vật, bao gồm các flavonoid, polyphenol, carotenoid và vitamin. Ngoài ra, các chất chống oxy hoá tự nhiên này còn có nhiều tác dụng sinh học quý như chống viêm, kháng khuẩn, kháng vi-rút, chống lão hóa và chống ung thư [3]. Hiện nay, nhiều chất chống oxy hóa tổng hợp như butyl hydroxyanisol (BHA), butyl hydroxytoluen (BHT) được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp, nhưng lại tiềm ẩn những nguy cơ về tác dụng phụ và độc tính [4]. Vì những lợi ích mang lại cho sức khoẻ, việc tìm kiếm các nguồn thực vật và hợp chất tự nhiên có khả năng chống oxy hóa cao, không gây tác dụng phụ ngày càng được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu.

Trong y học cổ truyền, cả phần trên mặt đất và phần rễ của CE được sử dụng để điều trị nhiều bệnh khác nhau như tiêu chảy, kiết lỵ, đau, viêm gan, các bệnh tim mạch, làm thuốc lợi tiểu, giảm viêm, và sốt [5]. Nhóm nghiên cứu của Mishra và cộng sự đã chứng minh hoạt tính chống oxy hoá của dịch chiết từ rễ CE [6]. Zhang và cộng sự đã đánh giá hàm lượng hợp chất phenolic và phân lập được hoạt chất có hoạt tính chống oxy hoá từ rễ CE [7]. Ngoài ra, một số hoạt chất có hoạt tính sinh học cũng được phân lập từ rễ CE như lignin với khả năng năng ức chế α -D-glucosidase [8], arabinoxylan có tác dụng ức chế hoạt động của enzym pepsin và lipase [9]. Gần đây, chúng tôi đã đánh giá hoạt tính chống oxy hoá, chống ngưng tập tiểu cầu và chống đông máu của rễ CE và lần đầu tiên phân được 7 hoạt chất có các hoạt tính sinh học này [10]. Có thể thấy rằng, nghiên cứu đánh giá tác dụng dược lý và thành phần hoá học của CE còn hạn chế và tập trung chủ yếu ở phần rễ. Tuy nhiên, chưa có

nghiên cứu nào về tác dụng sinh học nói chung và hoạt tính chống oxy hóa nói riêng cũng như thành phần hoá học của phần trên mặt đất của CE. Vì vậy, nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hoạt tính chống oxy hóa, định lượng hàm lượng phenolic toàn phần và hàm lượng flavonoid toàn phần của các dịch chiết từ phần trên mặt đất cây dong riềng CE.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Phần trên mặt đất của cây dong riềng được thu hái vào tháng 10 năm 2022 tại tỉnh Sơn La, Việt Nam và được giám định tên khoa học là CE. Mẫu cây được lưu giữ tại Khoa Khoa học Sự sống, Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội (số hiệu tiêu bản: CE.A.TN01).

2.2. Dung môi và hoá chất

Dung môi dùng để chiết xuất gồm methanol (MeOH), *n*-hexan, ethyl acetat (EtOAc) và nước cất. DPPH, ABTS, dimethyl sulfoxide (DMSO), trolox, acid ascorbic (Sigma-Aldrich) dùng cho thí nghiệm đánh giá hoạt tính chống oxy hoá. Thuốc thử Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich), acid gallic (Sigma-Aldrich), Na_2CO_3 , NaOH (Trung Quốc), và quercetin (Sigma-Aldrich) dùng cho thí nghiệm định lượng hàm lượng phenolic và flavonoid toàn phần trong mẫu thử.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp chiết xuất

Phần trên mặt đất của CE được rửa sạch, thái nhỏ, phơi khô ở nhiệt độ phòng và xay thành bột mịn. Sau đó, bột phần trên mặt đất CE (1.0 kg) được ngâm chiết bằng MeOH, lặp lại 3 lần ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Dịch chiết MeOH thu được sau khi ngâm chiết được gom chung và cất loại dung môi thu được cao chiết MeOH. Cao chiết này được hòa trong 500 mL nước cất và chiết phân bố lần lượt bằng các dung môi có độ phân cực tăng dần là *n*-hexan và ethyl acetat (EtOAc). Mỗi dung môi được chiết lặp lại 3 lần.

Các dịch chiết được gộp, lọc và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm để loại hoàn toàn dung môi thu được cao chiết *n*-hexan, EtOAc và nước.

2.3.2. Phương pháp đánh giá khả năng trung hoà gốc tự do DPPH

Về nguyên tắc, phương pháp phân tích này dựa trên sự thay đổi màu của dung dịch DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). DPPH là gốc tự do bền màu tím. Khi có mặt chất chống oxy hoá, electron tự do trong DPPH bắt cặp với gốc hydro từ chất chống oxy hóa 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. Do đó, khả năng khử gốc tự do DPPH của mẫu được xác định thông qua mức độ làm giảm màu của dung dịch DPPH và được xác định bằng cách đo độ hấp thụ quang ở bước sóng $\lambda_{max} = 517 \text{ nm}$ [11]. Acid ascorbic được sử dụng làm mẫu chứng dương. Các mẫu thử gồm chứng dương, các cao chiết tổng và phân đoạn của phần trên mặt đất CE được hoà tan và pha loãng với dung môi MeOH thành dãy các nồng độ khác nhau. DPPH được pha trong MeOH tạo thành dung dịch có nồng độ 0, 1 mM. Sau đó, 190 μL dung dịch DPPH nồng độ 0,1 mM lần lượt được trộn đều với 10 μL mẫu thử ở các nồng độ khác nhau trong mỗi giếng của đĩa 96 giếng và ủ ở nhiệt độ 37 °C trong vòng 30 phút. Mẫu chứng âm gồm 190 μL dung dịch DPPH nồng độ 0,1 mM và 10 μL MeOH. Độ hấp thụ quang của các hỗn hợp sau phản ứng được đo tại bước sóng 517 nm. Giá trị phần trăm ức chế gốc tự do (I %) của mẫu thử thể hiện khả năng bắt gốc tự do DPPH được tính theo công thức sau:

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

Trong đó:

I (%): Phần trăm ức chế gốc tự do của mẫu thử;

OD_S: Mật độ quang của mẫu thử;

OD_C: Mật độ quang của mẫu đối chứng.

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. IC₅₀ là nồng độ của mẫu có thể trung hoà được 50% gốc tự do DPPH. Giá trị IC₅₀ của mẫu thử và mẫu chứng được tính dựa vào mối tương quan tuyến tính giữa nồng độ mẫu (C) và phần trăm ức chế (I%).

Phương trình hồi quy tuyến tính: $y = ax + b$ được xây dựng để xác định giá trị IC₅₀ của mẫu thử và mẫu chứng. Giá trị IC₅₀ của mẫu càng thấp thể hiện khả năng chống oxy hóa của mẫu đó càng cao.

2.3.3. Phương pháp đánh giá khả năng trung hoà gốc tự do ABTS

Khả năng bắt gốc tự do ABTS được xác định theo phương pháp của Re và cộng sự [12]. Cation ABTS⁺ (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate acid) là một chất phát quang màu xanh, được đặc trưng ở độ hấp thụ 734 nm. Cation này được tạo ra bởi quá trình oxy hóa ABTS với kali persulfate (K₂S₂O₈). Khi bổ sung một chất có khả năng chống oxy hóa vào dung dịch chứa ABTS⁺, các chất chống oxy hóa sẽ khử ion này thành ABTS và làm giảm độ hấp thụ quang của dung dịch tại bước sóng 734 nm. Hoạt tính bắt gốc tự do ABTS của mẫu được xác định thông qua việc đo độ giảm độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 734 nm so với mẫu đối chứng và được biểu diễn thông qua giá trị phần trăm ức chế (I %) được tính theo công thức:

$$I \% = \left[\frac{A_o - A_s}{A_o}\right] \times 100 \%$$

Trong đó:

A_o: giá trị mật độ quang của mẫu đối chứng;

A_s: giá trị mật độ quang của mẫu thử.

Đầu tiên, chuẩn bị dung dịch ABTS có nồng độ 7 mM trong MeOH và dung dịch K₂S₂O₈ có nồng độ 2,45 mM trong nước cất. Sau đó, trộn đều hai dung dịch này theo tỉ lệ thể tích bằng nhau, rồi ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong khoảng thời gian từ 12 đến 16 giờ, thu được dung dịch gốc tự do ABTS⁺. Pha loãng dung dịch ABTS⁺ này trong EtOH tuyệt đối đến khi thu được dung dịch đạt độ hấp thụ trong khoảng 0,7 ± 0,02 ở bước sóng 734 nm. Cao chiết tổng và phân đoạn được hoà tan và pha loãng trong MeOH thành các nồng độ khác nhau. Trolox được sử dụng làm chứng dương và được hoà tan và pha loãng trong EtOH thành một dãy các nồng độ khác nhau. Sau đó, chuẩn bị hỗn hợp phản ứng gồm 10 μL mẫu thử lần lượt là các dung dịch cao chiết hoặc chứng dương tại các nồng độ khác nhau và 190 μL dung dịch ABTS⁺ đã pha loãng ở trên, rồi ủ các hỗn hợp này trong bóng tối ở

nhệt độ phòng trong 10 phút. Sau khi kết thúc phản ứng, tiến hành đo độ hấp thụ quang của hỗn hợp tại bước sóng 734 nm. Mẫu trắng là hỗn hợp gồm 190 μL dung dịch ABTS⁺ đã pha loãng và 10 μL MeOH (đối với mẫu cao chiết) hoặc EtOH (đối với mẫu chứng dương) được tiến hành ủ và đo mật độ quang trong cùng điều kiện tương tự như trên. thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Giá trị IC₅₀ của mẫu được tính dựa vào mối quan hệ tuyến tính giữa nồng độ và phần trăm ức chế theo phương pháp được trình bày trong mục 2.3.2. Giá trị IC₅₀ của mẫu càng thấp thể hiện khả năng chống oxy hóa của mẫu đó càng cao.

2.3.4. 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 dong riềng CE được xác định bằng phương pháp đo quang phổ của Singleton và cộng sự [13], trong đó Folin-Ciocalteu được sử dụng làm thuốc thử và acid gallic được sử dụng làm chất chuẩn. Về nguyên tắc, hợp chất polyphenol ở trạng thái kiềm sẽ khử phức hợp phosphovanfram-phosphomolypdat trong thuốc thử Folin-Ciocalteu. Kết quả phản ứng tạo thành sản phẩm có màu xanh lam và có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 765 nm [14]. Acid gallic và các mẫu cao chiết được hòa tan và pha loãng trong MeOH thành dãy các nồng độ khác nhau. Thuốc thử Folin-Ciocalteu được pha loãng 10 lần bằng nước cất. Na₂CO₃ được pha trong nước cất tạo thành dung dịch Na₂CO₃ 6%. Hỗn hợp phản ứng được chuẩn bị bằng cách trộn 40 μL mẫu cao chiết hoặc chứng dương tại các nồng độ khác nhau với 480 μL thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% trong 1 phút. Sau đó, bổ sung thêm 480 μL dung dịch Na₂CO₃ 6% vào hỗn hợp phản ứng, rồi đem ủ trong bóng tối ở nhiệt độ 40 °C trong vòng 15 phút. Mẫu trắng là mẫu chỉ chứa MeOH, thuốc thử Folin-Ciocalteu và Na₂CO₃ được chuẩn bị trong điều kiện tương tự với mẫu thử. Cuối cùng, tiến hành đo độ hấp thụ cực đại của hỗn hợp sau phản ứng bằng máy quang phổ Microplate (xMark, Bio-Rad) ở bước sóng 765 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Từ kết quả độ hấp thụ tại các nồng độ khác nhau của acid gallic, đường chuẩn và phương trình hồi quy

tuyến tính giữa nồng độ và độ hấp thụ của acid gallic được xây dựng để ước tính hàm lượng phenolic toàn phần trong các cao chiết tính theo nồng độ của acid gallic C ($\mu\text{g GAE/mL}$). Từ đó, hàm lượng phenolic toàn phần trong các mẫu cao chiết được xác định bằng công thức:

$$\text{TPC} = \frac{C_{\text{GAE}}}{C_0}$$

Trong đó:

TPC: hàm lượng phenolic toàn phần trong mẫu thử (mg GAE/g cao chiết);

C_{GAE}: nồng độ tương đương acid gallic tính từ đường chuẩn của acid gallic (mg GAE/mL);

C₀: nồng độ của mẫu cao chiết (g/mL).

2.3.5. 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 dong riềng được xác định bằng phương pháp đo quang phổ của Pekal và cộng sự [15]. Về nguyên tắc, phương pháp này dựa vào phản ứng giữa các flavonoid có trong mẫu với hợp chất AlCl₃ tạo thành sản phẩm phức có màu vàng cam và có độ hấp thụ cực đại tại bước sóng 510 nm. Quercetin được sử dụng làm chất chuẩn. Các mẫu cao chiết và chất chuẩn được hòa tan và pha loãng bằng MeOH thành dãy các nồng độ khác nhau. Các dung dịch AlCl₃ 10%, NaNO₂ 5% và NaOH 1M được pha loãng bằng nước cất. Hỗn hợp phản ứng được chuẩn bị bằng cách trộn 240 μL mẫu cao chiết hoặc chất chuẩn tại các nồng độ khác nhau với 40 μL NaNO₂ 5% và ủ ở nhiệt độ phòng trong vòng 6 phút. Sau đó, thêm vào hỗn hợp phản ứng lần lượt các dung dịch là 40 μL AlCl₃ 10%, 400 μL NaOH 1M và 280 μL EtOH 30%. Hỗn hợp cuối cùng được ủ ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. Đối với mẫu trắng, dung dịch cao chiết hay chất chuẩn được thay bằng dung dịch MeOH và tiến hành tương tự như trên. Sau khi kết thúc phản ứng, tiến hành đo độ hấp thụ quang của hỗn hợp thu được tại bước sóng 510 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả độ hấp thụ quang của quercetin được sử dụng để xây dựng đường chuẩn và phương trình hồi quy tuyến tính giữa mối tương quan giữa độ hấp thụ quang (A) và nồng độ chất chuẩn (C). Từ phương trình đường chuẩn thu được và giá trị mật độ quang

của mẫu cao chiết ở cùng điều kiện, xác định hàm lượng flavonoid trong dung dịch mẫu thử tính theo nồng độ của chất chuẩn quercetin. Hàm lượng flavonoid toàn phần trong các mẫu cao chiết được xác định bằng công thức:

$$TFC = \frac{C_Q}{C_0}$$

Trong đó:

TFC: hàm lượng flavonoid toàn phần trong mẫu cao chiết (mg QE/g cao chiết);

C_Q: nồng độ tương đương quercetin tính từ đường chuẩn của quercetin (mg QE/mL);

C₀: nồng độ của mẫu (g/mL).

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu được trong các thí nghiệm được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (mean ± SD). Sự khác biệt thống kê giữa các mẫu được phân tích sử dụng phương pháp thống kê ANOVA, sử dụng phần mềm SPSS 23.0. Giá trị p < 0,05 được xem là khác biệt có ý nghĩa thống kê. Các phép tính toán và vẽ đồ thị được thực hiện bằng phần mềm Microsoft Excel 2019.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Tác dụng chống oxy hóa

3.1.1. Phương pháp DPPH

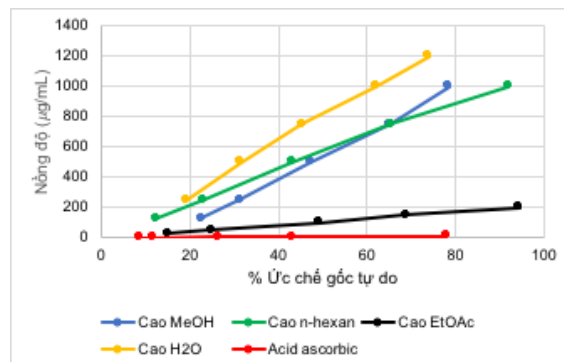
Bảng 1. Khả năng trung hoà gốc tự do DPPH của các cao chiết từ phần trên mặt đất *C. edulis*

Mẫu cao chiết	Giá trị IC ₅₀ (µg/mL)
Cao MeOH	540,55 ± 36,23 ^{c,d,e}
Cao n-hexan	556,75 ± 35,29 ^{c,d,e}
Cao EtOAc	103,73 ± 9,80 ^{a,b,d,e}
Cao H ₂ O	802,33 ± 55,10 ^{a,b,c,e}
Acid ascorbic	6,11 ± 0,2 ^{a,b,c,d}

Ghi chú: ^ap < 0,05 khi so sánh với cao MeOH; ^bp < 0,05 khi so sánh với cao n-hexan; ^cp < 0,05 khi so sánh với cao EtOAc; ^dp < 0,05 khi so sánh với cao H₂O, ^ep < 0,05 khi so sánh với acid ascorbic.

Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết tổng và phân đoạn từ phần trên mặt đất của cây dong riềng CE thông qua khả năng trung

hoà gốc tự do DPPH *in vitro* được trình bày trong Bảng 1 và Hình 1.



Hình 1. Đồ thị biểu diễn khả năng trung hoà gốc tự do DPPH của các cao chiết từ phần trên mặt đất cây CE và chúng đương acid ascorbic.

Khả năng trung hoà gốc tự do DPPH của các cao chiết tỉ lệ thuận với nồng độ thử, khi nồng độ thử tăng thì phần trăm ức chế gốc tự do của các mẫu thử cũng tăng theo (Hình 1). Trong các mẫu thử cao chiết và cao phân đoạn của *C. edulis*, cao chiết phân đoạn ethyl acetat thể hiện tác dụng chống oxy hoá tốt nhất với giá trị IC₅₀ là 103,73 ± 9,80 µg/mL. Cao chiết phân đoạn n-hexan và cao chiết tổng methanol có khả năng chống oxy hoá tương đương nhau với giá trị IC₅₀ lần lượt là 556,75 ± 35,29 µg/mL và 540,55 ± 36,23 µg/mL (p > 0,05). Cao chiết nước có khả năng chống oxy hoá yếu nhất với giá trị IC₅₀ là 802,33 ± 55,10 µg/mL. Chúng đương acid ascorbic thể hiện hoạt tính chống oxy hoá mạnh nhất trong các mẫu thử với giá trị IC₅₀ là 6,11 ± 0,21 µg/mL (p < 0,05 khi so sánh với các tất cả các cao chiết) (Bảng 1).

3.1.2. Phương pháp ABTS

Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết tổng và phân đoạn từ phần trên mặt đất của cây dong riềng CE thông qua khả năng trung hoà gốc tự do ABTS *in vitro* được trình bày trong Bảng 2 và Hình 2.

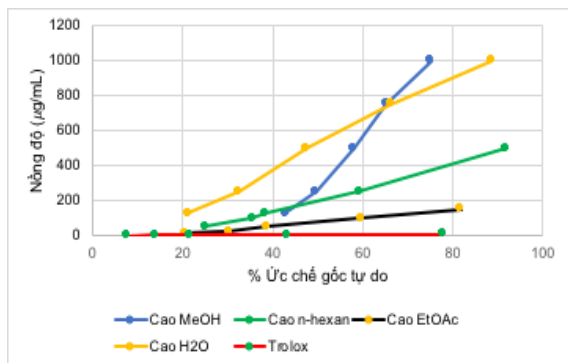
Từ Hình 2, có thể thấy khả năng trung hoà gốc tự do ABTS của cả cao chiết tổng và cao chiết phân đoạn đều tăng dần theo nồng độ khảo sát. Trong các mẫu cao chiết, cao chiết phân đoạn ethyl acetat thể hiện hoạt tính trung hoà gốc

tự do ABTS mạnh nhất với giá trị IC_{50} là $76,52 \pm 3,57 \mu\text{g/mL}$. Cao chiết tổng methanol và cao chiết phân đoạn *n*-hexan thể hiện hoạt tính chống oxy hoá tương tự nhau với giá trị IC_{50} lần lượt là $254,03 \pm 24,53$ và $257,88 \pm 26,17 \mu\text{g/mL}$. Cao chiết nước có tác dụng chống oxy hóa thấp nhất với giá trị IC_{50} thu được là $508,60 \pm 43,57 \mu\text{g/mL}$. Chứng dương trolox có hoạt tính chống oxy hoá mạnh nhất trong các mẫu thử với giá trị IC_{50} là $6,27 \pm 0,16 \mu\text{g/mL}$ ($p < 0,05$) (Bảng 2).

Bảng 2. Khả năng trung hoà gốc tự do ABTS của các cao chiết từ phân trên mặt đất CE

Mẫu cao chiết	Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Cao MeOH	$254,03 \pm 24,53^{c,d,e}$
Cao <i>n</i> -hexan	$257,88 \pm 26,17^{c,d,e}$
Cao EtOAc	$76,52 \pm 3,57^{a,b,d,e}$
Cao H ₂ O	$508,60 \pm 43,57^{a,b,c,e}$
Trolox	$6,27 \pm 0,16^{a,b,c,d}$

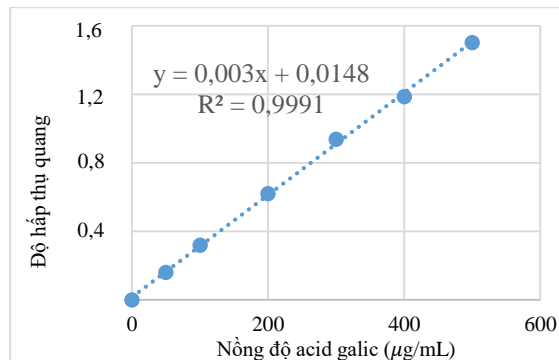
Ghi chú: ^a $p < 0,05$ khi so sánh với cao MeOH; ^b $p < 0,05$ khi so sánh với cao *n*-hexan; ^c $p < 0,05$ khi so sánh với cao EtOAc; ^d $p < 0,05$ khi so sánh với cao H₂O, ^e $p < 0,05$ khi so sánh với trolox.



Hình 2. Đồ thị biểu diễn khả năng trung hoà gốc tự do ABTS của các cao chiết từ phân trên mặt đất cây CE và chứng dương trolox.

3.2. Xác định hàm lượng phenolic toàn phần

Trong phương pháp xác định hàm lượng phenolic toàn phần của các cao chiết, acid gallic là một acid hữu cơ thuộc nhóm polyphenol được sử dụng làm chất chuẩn. Acid gallic được pha thành dãy dung dịch chuẩn có nồng độ từ 0-500 $\mu\text{g/mL}$.



Hình 3. Đường chuẩn của acid gallic.

Kết quả đo độ hấp thụ quang của dung dịch chuẩn tại các nồng độ cho thấy độ hấp thụ quang của dung dịch chuẩn tỷ lệ thuận với nồng độ acid gallic theo phương trình $y = 0,003x + 0,0148$ với hệ số $R^2 = 0,9991$ (Hình 3). Từ phương trình của đường chuẩn thu được, hàm lượng phenolic toàn phần của các mẫu cao chiết được tính theo mg GAE/g cao chiết và được trình bày trong Bảng 3.

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy trong các mẫu cao chiết, cao chiết phân đoạn ethyl acetat có hàm lượng phenolic toàn phần cao nhất với giá trị là $70,93 \pm 7,18 \text{ mg GAE/g cao chiết}$ ($p < 0,05$ khi so sánh với các cao chiết còn lại). Cao chiết tổng methanol và cao chiết phân đoạn *n*-hexan chứa hàm lượng phenolic toàn phần thấp hơn với giá trị lần lượt là $26,92 \pm 1,71$ và $20,34 \pm 1,10 \text{ mg GAE/g cao chiết}$. Trong khi đó, hàm lượng phenolic toàn phần trong mẫu cao chiết nước thấp nhất với giá trị là $5,31 \pm 0,24 \text{ mg GAE/g cao chiết}$ ($p < 0,05$).

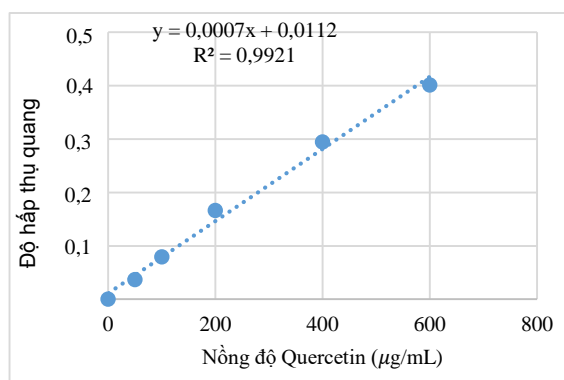
Bảng 3. Hàm lượng phenolic toàn phần của các mẫu cao chiết CE

Mẫu cao chiết	Hàm lượng phenol toàn phần (mg GAE/g cao chiết)
Cao MeOH	$26,92 \pm 1,71^{b,c,d}$
Cao <i>n</i> -hexan	$20,34 \pm 1,10^{a,c,d}$
Cao EtOAc	$70,93 \pm 7,18^{a,b,d}$
Cao H ₂ O	$5,31 \pm 0,24^{a,b,c}$

Ghi chú: ^a $p < 0,05$ khi so sánh với cao MeOH; ^b $p < 0,05$ khi so sánh với cao *n*-hexan; ^c $p < 0,05$ khi so sánh với cao EtOAc; ^d $p < 0,05$ khi so sánh với cao H₂O.

3.4. Xác định hàm lượng flavonoid toàn phần

Trong thí nghiệm xác định hàm lượng flavonoid toàn phần của các mẫu cao chiết, quercetin là một hợp chất thuộc nhóm flavonoid được sử dụng làm chất chuẩn. Quercetin được tiến pha thành dãy dung dịch chuẩn có nồng độ từ 0 – 600 µg/mL. Kết quả đo độ hấp thụ quang của dung dịch chuẩn tại các nồng độ cho thấy độ hấp thụ quang của dung dịch chuẩn tỷ lệ thuận với nồng độ quercetin theo phương trình $y = 0,0007x + 0,0112$ với hệ số $R^2 = 0,9921$ (Hình 4).



Hình 4. Đường chuẩn của quercetin.

Bảng 4. Hàm lượng flavonoid toàn phần của các mẫu cao chiết CE

Mẫu cao chiết	Hàm lượng flavonoid toàn phần (mg QE/g cao chiết)
Cao MeOH	17,21 ± 1,34 ^{b,c,d}
Cao n-hexan	13,54 ± 2,85 ^{a,c,d}
Cao EtOAc	64,93 ± 5,75 ^{a,b,d}
Cao nước	1,25 ± 0,37 ^{a,b,c}

Ghi chú: ^ap < 0,05 khi so sánh với cao MeOH; ^bp < 0,05 khi so sánh với cao n-hexan; ^cp < 0,05 khi so sánh với cao EtOAc; ^dp < 0,05 khi so sánh với cao H₂O.

Từ phương trình thu được của đường chuẩn quercetin, hàm lượng flavonoid toàn phần của các mẫu cao chiết được tính theo mg QE/g cao chiết và được trình bày trong Bảng 4. Kết quả cho thấy hàm lượng flavonoid trong cao chiết

phân đoạn ethyl acetat có giá trị cao nhất là 64,93 ± 5,75 mg QE/g cao chiết (p < 0,05 khi so sánh với các cao chiết còn lại). Cao chiết tổng MeOH và cao chiết phân đoạn n-hexan có hàm lượng flavonoid toàn phần thấp hơn đáng kể với giá trị lần lượt là 17,21 ± 1,34 và 13,54 ± 2,85 mg QE/g cao chiết. Cao chiết nước có hàm lượng flavonoid toàn phần thấp nhất với giá trị là 1,25 ± 0,37 mg QE/g cao chiết (p < 0,05).

4. Bàn luận

Các gốc tự do là các phân tử có các electron chưa ghép cặp làm cho chúng không ổn định, tồn tại trong thời gian ngắn và có khả năng phản ứng mạnh. Khi các gốc tự do tấn công các phân tử khác, chúng sẽ tạo thành một chuỗi phản ứng gây hại cho các tế bào sống. Do sự xuất hiện của những tác dụng phụ nghiêm trọng của các chất chống oxy hoá sẵn có trên thị trường hiện nay, nghiên cứu tìm kiếm chất chống oxy hóa thực vật an toàn hơn đang ngày càng được các nhà khoa học quan tâm. Hoạt chất chống oxy hoá đóng vai trò quan trọng trong việc ngăn chặn và trung hoà các gốc tự do, bảo vệ cơ thể tránh khỏi những tổn thương do stress oxy hoá gây ra bởi gốc tự do [3].

Nghiên cứu này đã chứng minh được tác dụng chống oxy hoá của phần trên mặt đất cây dong riềng CE thông qua phương pháp trung hoà gốc tự do DPPH và ABTS. Hai phương pháp này có ưu điểm là dễ thực hiện, chi phí thấp, thời gian thực hiện nhanh, kết quả thu được chính xác. Ngoài ra, phương pháp ABTS còn có ưu điểm là có khả năng hoà tan trong môi trường đệm và hữu cơ, nên có thể ứng dụng để xác định hoạt tính chống oxy hóa của cả các hợp chất thân dầu và thân nước. Cả hai phương pháp đều cho thấy trong các mẫu thử cao chiết tổng và các cao chiết phân đoạn, cao chiết phân đoạn ethyl acetat có hoạt tính chống oxy hoá mạnh nhất với giá trị IC₅₀ đối với phương pháp DPPH và ABTS lần lượt là 103,73 ± 9,80 và 76,52 ± 3,57 µg/mL. Nghiên cứu của Mishra và cộng sự (2011) đã chứng minh hoạt tính chống oxy hoá của phần rễ cây dong riềng CE bằng phương pháp DPPH [6]. Nhóm nghiên cứu của chúng tôi cũng chỉ ra rằng, cao chiết phân đoạn ethyl acetat của phần rễ CE

thể hiện hoạt tính chống oxy hoá tốt nhất trong cả hai phương pháp DPPH và ABTS. Bên cạnh đó, phân đoạn ethyl acetat của rễ cũng thể hiện hoạt tính chống ngưng tập tiểu cầu tốt. Từ đó, chúng tôi đã tiến hành phân lập được những hợp chất có hoạt tính oxy hoá, chống ngưng tập tiểu cầu từ phân đoạn ethyl acetat của rễ củ CE [10]. Như vậy, kết quả nghiên cứu này gợi ý rằng, phân đoạn ethyl acetat cũng là đối tượng nghiên cứu tiềm năng để phân lập các hợp chất có hoạt tính chống oxy hoá từ phần trên mặt đất CE.

Hoạt tính trung hoà gốc tự do của các cao chiết từ phần trên mặt đất CE có thể là do sự có mặt của các polyphenol, flavonoid và các hợp chất phenolic. Đây là những chất chuyển hoá thứ cấp phổ biến trong thực vật và hầu hết hoạt tính chống oxy hoá của thực vật là do nhóm phenol. Những hợp chất này đã được các nhà khoa học chứng minh là có nhiều tác dụng sinh học quý như chống ung thư, kháng khuẩn, chống viêm, bảo vệ tim mạch, bảo vệ thần kinh. Các tác dụng sinh học này thường liên quan đến khả năng quét gốc tự do của chúng [16].

Nghiên cứu này cho thấy phần trên mặt đất CE chứa hàm lượng phenolic và flavonoid toàn phần khá cao. Trong các mẫu cao chiết, cao phân đoạn ethyl acetat có hàm lượng phenolic và flavonoid toàn phần cao nhất lần lượt là $70,93 \pm 7,18$ mg GAE/g cao chiết và $64,93 \pm 5,75$ mg QE/g cao chiết. Việc xác định hàm lượng phenolic và flavonoid toàn phần được ứng dụng rất phổ biến để đánh giá hoạt tính chống oxy hoá của các mẫu thử [17]. Kết quả này góp phần giải thích cho kết quả hoạt tính chống oxy hoá mạnh nhất của cao chiết phân đoạn ethyl acetat. Nghiên cứu của Mishra và cộng sự cũng báo cáo dịch chiết nước của phần rễ của CE chứa nhiều hàm lượng phenolic toàn phần và flavonoid toàn phần lần lượt là $42,71$ mg GAE/g cao chiết và $21,92$ mg QE/g cao chiết [6]. Nhóm nghiên cứu của Zhang và cộng sự đã phân lập được các hợp chất flavonoid và phenolic từ phần rễ của CE và chứng minh được hoạt tính chống oxy hoá của chúng [7]. Phản ứng với thuốc thử Folin-Ciocalteu của các hợp chất phenolic khác nhau phụ thuộc và số lượng nhóm phenol có trong hợp chất. Các hợp chất phenolic có độ hoà tan khác

n nhau trong các dung môi khác nhau. Khả năng hoà tan của hợp chất vào dung môi ảnh hưởng trực tiếp đến việc chiết xuất các hợp chất phenolic. Nghiên cứu này cho thấy ethyl acetat là dung môi tốt để phân lập các hợp chất phenolic và flavonoid từ phần trên mặt đất của CE.

5. Kết luận

Nghiên cứu đã chứng minh được tác dụng chống oxy hoá và đánh giá được hàm lượng phenolic toàn phần, flavonoid toàn phần của các cao chiết tổng và phân đoạn từ phần trên mặt đất cây dong riềng CE. Trong các mẫu cao chiết, cao chiết phân đoạn ethyl acetat có hoạt tính oxy hoá mạnh nhất với giá trị IC_{50} đối với phương pháp DPPH và ABTS lần lượt là $103,73 \pm 9,80$ và $76,52 \pm 3,57$ $\mu\text{g/mL}$. Đồng thời, cao chiết phân đoạn ethyl acetat cũng chứa hàm lượng phenolic toàn phần và flavonoid toàn phần cao nhất với giá trị TPC, TFC lần lượt là $70,93 \pm 7,18$ mg GAE/g cao chiết và $64,93 \pm 5,75$ mg QE/g cao chiết. Đây là kết quả nghiên cứu có ý nghĩa khoa học rằng phần trên mặt đất của cây CE, đặc biệt là cao chiết ethyl acetat là một nguồn thực vật tiềm năng để nghiên cứu, tìm kiếm các hoạt chất chống oxy hóa.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đề tài nghiên cứu khoa học cấp Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam, thuộc Chương trình thu hút các nhà khoa học trẻ trình độ cao (Mã số đề tài: THTEXS.04/22-24).

Tài liệu tham khảo

- [1] T. H. Vu, Q. U. Le, Edible *Canna* (*Canna edulis* Ker), A Potential Crop for Vietnam Food Industry, International Journal of Botany Studies, Vol. 4, No. 4, 2019, pp. 58-59.
- [2] N. Tanakar, The Utilization of Edible *Canna* Plants in Southeastern Asia and Southern China, Economic Botany, Vol. 58, No. 1, 2004, pp. 112-114.

- [https://doi.org/10.1663/00130001\(2004\)058\[0112:NOEP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/00130001(2004)058[0112:NOEP]2.0.CO;2).
- [3] V. Lobo, A. Patil, A. Phatak, N. Chandra, Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health, *Pharmacognost Review*, Vol. 4, No. 8, 2010, pp. 118-126, <http://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>.
- [4] 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>.
- [5] A. S. A. Snafi, Bioactive Components and Pharmacological Effects of *Canna indica* - An Overview, *International Journal of Pharmacology*, Vol. 5, No. 2, Toxicol, 2015, pp. 71-75.
- [6] T. Mishra, A. K. Goyal, S. K. M. Middha, A. Sen, Antioxidative Properties of *Canna edulis* Ker-gawl, *Indian Journal of Natural Product Research*, Vol. 2, No. 3, 2011, pp. 315-321.
- [7] X. J. Zhang, Z. W. Wang, Q. Mi, Phenolic Compounds from *Canna edulis* Ker Residue and Their Antioxidant Activity, *LWT - Food Science Technology*, Vol. 44, No. 10, 2011, pp. 2091-2096, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.05.021>.
- [8] F. Xie, S. Gong, W. Zhang, J. Wu, Z. Wang, Potential of Lignin from *Canna edulis* Ker Residue in The Inhibition of α -d-glucosidase: Kinetics and Interaction Mechanism Merging with Docking Simulation, *International Journal of Biology and Macromolecules*, Vol. 95, 2017, pp. 592-602, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.100>.
- [9] J. Zhang, Z. W. Wang, Soluble Dietary Fiber from *Canna Edulis* Ker By-product and Its Physicochemical Properties, *Carbohydrates Polymers*, Vol. 92, No. 1, 2013, pp. 289-296, <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.09.067>.
- [10] T. M. H. Nguyen, H. L. Le, T. T. Ha, B. H. Bui, N. T. Le, V. H. Nguyen, T. V. A. Nguyen, Inhibitory Effect on Human Platelet Aggregation and Coagulation and Antioxidant Activity of *Canna edulis* Ker Gawl Rhizomes and Its Secondary Metabolites, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 263, 2020, pp. 113-136, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113136>.
- [11] 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>.
- [12] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay, *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 26, No. 9, 1999, pp. 1231-1237, [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).
- [13] 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).
- [14] 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>.
- [15] 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>.
- [16] 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>.
- [17] 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>.