

Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết ethanol thân rễ Ngải tím (*Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker), Ngải trắng (*Curcuma aromatica* Salisb.), Gừng gió (*Zingiber zerumbet* Sm.)

Nguyễn Trọng Tuấn*, Phạm Thị Sánh

Khoa Khoa học tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

Ngày nhận bài 25/11/2019; ngày chuyển phản biện 28/11/2019; ngày nhận phản biện 26/12/2019; ngày chấp nhận đăng 31/12/2019

Tóm tắt:

Stress oxy hóa là một trong những nguyên nhân gây bệnh tật cho con người, chủ yếu là do tình trạng mất cân bằng của các chất oxy hóa với các chất kháng oxy hóa bảo vệ trong cơ thể. Do đó để nâng cao sức khỏe, hiện nay, các sản phẩm nguồn gốc tự nhiên chứa các chất kháng oxy hóa thường được sử dụng. Các cây thuộc họ Gừng đã được biết chứa nhiều hợp chất kháng oxy hóa tự nhiên. Vì vậy, nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết ethanol thân rễ Ngải tím (*Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker), Ngải trắng (*Curcuma aromatica* Salisb.) và Gừng gió (*Zingiber zerumbet* Sm.) bằng cách sử dụng các phương pháp thử nghiệm khác nhau như phương pháp DPPH, ABTS⁺ và năng lực khử (Reducing power). Ngoài ra, hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid tổng trong các dịch trích cũng được xác định. Kết quả cho thấy, các cao chiết đều chứa hàm lượng lớn các hợp chất polyphenol tổng và flavonoid tổng. Ngải trắng và Gừng gió thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa tốt hơn so với Ngải tím trong các phương pháp thử nghiệm. Nghiên cứu cho thấy tiềm năng lớn trong việc ứng dụng các loài thực vật tự nhiên này vào lĩnh vực thực phẩm và dược phẩm.

Từ khóa: Gừng gió, kháng oxy hóa, Ngải tím, Ngải trắng.

Chỉ số phân loại: 3.4

Đặt vấn đề

Ngải tím (*Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker), Ngải trắng (*Curcuma aromatica* Salisb.) và Gừng gió (*Zingiber zerumbet* Sm.) mọc hoang hoặc được trồng ở khắp cả nước, từ Bắc vào Nam, đặc biệt là các vùng đồi núi [1]. Ngải trắng và Gừng gió đã được mô tả trong danh lục các loài thực vật Việt Nam [2, 3], riêng Ngải tím mới được phát hiện ở các tỉnh Đắk Lắk, Gia Lai (K-Bang) và Thanh Hóa [4]. Đây là các cây thuộc họ Gừng, một họ có nhiều ứng dụng trong y học cổ truyền [1, 2]. Một số nghiên cứu trong và ngoài nước cho thấy đây là các loài thực vật có tiềm năng rất lớn trong lĩnh vực y dược. Ngải tím có chứa 5,7-dimethoxyflavone có khả năng ức chế mạnh enzyme PDE5 và PDE6 điều trị rối loạn cương dương trên chuột [5] cũng như là chất tăng cường sức khỏe tiềm năng cho người cao tuổi do làm giảm stress oxy hóa [6]. Cao chiết ethanol Ngải trắng thể hiện hoạt tính kháng viêm do có chứa lượng lớn acid arachidonic [7], dầu của Ngải trắng có hoạt tính bảo vệ gan khi ức chế sự phát triển khối u của gan đến 51-52% [8]. Gừng gió có khả năng giảm sự tăng trọng lượng cơ thể, lượng mỡ nội tạng và nồng độ lipid huyết tương [9]. Tuy nhiên hoạt tính kháng oxy hóa của các loài thực vật trên còn ít tài liệu

nghiên cứu. Chính vì thế, trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung nghiên cứu hoạt tính kháng oxy hóa của 3 loài thực vật được mô tả ở trên. Các loài thực vật này được thu hái trên địa bàn Núi Cẩm vùng Bảy Núi, thuộc huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang.

Đối tượng và phương pháp

Nguyên liệu

Mẫu nguyên liệu tươi (1 kg) mỗi loại được thu hái tại Núi Cẩm vùng Bảy Núi, huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang. Các mẫu được thu hái tại các tọa độ 10°29'43"N; 104°58'51,13"E ở độ cao 600 m (Ngải tím); 10°29'60"N; 104°58'40"E ở độ cao 400 m (Ngải trắng) và 10°30'24,98"N; 104°58'39,55"E ở độ cao 400 m (Gừng gió). Mẫu được xác nhận bởi Phùng Thị Hằng với số lưu mẫu Ngải tím P1102017-AG(NC)0013, Ngải trắng P1112017-AG(NC)0007 và Gừng gió P1072016-AG(NC, NT)0017. Các mẫu này được thu hái, định danh dựa trên đặc điểm hình thái và so sánh với tài liệu chuyên ngành. Mẫu được lưu trữ tại Phòng thí nghiệm Sinh học thực vật, Bộ môn Sư phạm sinh học, Khoa Sư phạm, Trường Đại học Cần Thơ. Nguyên liệu sau khi thu hái về được rửa sạch, loại bỏ tạp chất, cắt nhỏ, sấy ở 50°C và xay thành bột.

* Tác giả liên hệ: trongtuan@ctu.edu.vn

Antioxidant activity of ethanolic rhizomes extracts of *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker, *Curcuma aromatica* Salisb., and *Zingiber zerumbet* Sm.

Trong Tuan Nguyen*, Thi Sanh Pham

College of Natural Sciences, Can Tho University

Received 25 November 2019; accepted 31 December 2019

Abstract:

Oxidative stress is one of the causes of humans diseases, mainly due to an imbalance of oxidative compounds with protective antioxidants in the body. Therefore, for improving health, nowadays, natural products containing antioxidants are often used. Plants belonging to the Zingiberaceae family have been known to contain lots of natural antioxidants. Therefore, this research aims to evaluate the antioxidant activities of ethanolic rhizomes extracts of *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker, *Curcuma aromatic* Salisb., and *Zingiber zerumbet* Sm. by using some different bioassay methods such as DPPH, ABTS⁺, and reducing power. In addition, the content of total polyphenol and total flavonoid in the extracts were also investigated. The results showed that all of the extracts contained high amount of total polyphenol and total flavonoid components. *Curcuma aromatic* Salisb. and *Zingiber zerumbet* Sm. species provided the stronger antioxidant activity than *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker species in all the tested methods. In brief, this research reveals a great potential for application of these medicinal plants in food and pharmaceutical fields.

Keywords: antioxidant, *Curcuma aromatic* Salisb., *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker, *Zingiber zerumbet* Sm.

Classification number: 3.4

Xác định độ ẩm bột nguyên liệu

Độ ẩm bột nguyên liệu được xác định theo Dược điển Việt Nam V, theo phương pháp sấy [10].

Điều chế cao chiết

Bột khô thân rễ Ngải tím, Ngải trắng và Gừng gió được chiết với dung môi ethanol 96° bằng phương pháp ngâm trong 24 giờ (3 lần). Tất cả dịch chiết được gom lại và lọc để loại bỏ cặn, bụi. Dịch chiết sau khi lọc đem cô quay đuôi dung môi ở nhiệt độ 40-45°C thu được cao chiết ethanol thân rễ Ngải tím, Ngải trắng và Gừng gió. Cao chiết được đem cân và tính hiệu suất chiết cao, sau đó cao được bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 4°C cho đến khi thí nghiệm. Hiệu suất chiết cao được tính theo công thức:

$$\%H = \frac{\text{Khối lượng cao chiết}}{\text{Khối lượng bột khô}} \times 100\%$$

Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết

Khảo sát hiệu quả loại bỏ gốc tự do DPPH: khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH của các cao chiết được thực hiện theo Sharma [11]. Hỗn hợp phản ứng gồm 40 µl DPPH (1000 µg/ml) và 960 µl các cao chiết có nồng độ khác nhau. Cao chiết Ngải tím có nồng độ 80-560 µg/ml, cao chiết Ngải trắng có nồng độ 30-210 µg/ml và cao chiết Gừng gió có nồng độ 20-140 µg/ml. Hỗn hợp được ủ trong tối ở nhiệt độ 30°C trong thời gian 30 phút, đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 517 nm. Đối chứng dương sử dụng là vitamin C. Kết quả hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết được biểu diễn bằng giá trị EC₅₀ (Effective Concentration of 50%) được tính dựa trên phương trình hồi quy tuyến tính cũng như hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương vitamin C (µg/ml) của dịch chiết khảo sát. Hiệu suất làm sạch gốc tự do được tính theo công thức:

$$\% \text{ ức chế} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100\%$$

Trong đó: A_c là giá trị hấp thụ của DPPH; A_s là giá trị hấp thụ của mẫu thử.

Khảo sát hiệu quả loại bỏ gốc tự do ABTS⁺: hoạt động loại bỏ gốc tự do ABTS⁺ thực hiện theo Nenadis [12]. Chuẩn bị dung dịch ABTS⁺ bằng cách trộn 2 ml dung dịch ABTS 7 mM và 2 ml dung dịch K₂S₂O₈ 2,45 mM, ủ trong tối 16 giờ, sau đó pha loãng bằng ethanol (khoảng 30 lần), điều chỉnh độ hấp thụ ở bước sóng 734 nm đạt 0,7±0,05. Tiến hành cho 990 µl ABTS⁺ vào 10 µl các cao chiết ở các nồng độ khác nhau. Cao chiết Ngải tím có nồng độ 7,5-52,5 µg/ml, cao Ngải trắng có nồng độ 3-21 µg/ml và cao Gừng gió có nồng độ 5-35 µg/ml. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong 6 phút, sau đó đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm. Đối chứng dương được sử dụng là trolox. Kết quả hoạt tính

kháng oxy hóa của các cao chiết được biểu diễn bằng giá trị EC_{50} được tính dựa trên phương trình hồi quy tuyến tính và hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương trolox ($\mu\text{g/ml}$) của dịch chiết khảo sát. Hiệu suất làm sạch gốc tự do được tính theo công thức:

$$\% \text{ ức chế} = \frac{A_C - A_S}{A_C} \times 100\%$$

Trong đó: A_C là giá trị hấp thụ của ABTS^{•+}; A_S là giá trị hấp thụ của mẫu thử.

Khảo sát năng lực khử (Reducing Power - RP): RP được thực hiện theo phương pháp Ferreira [13]. Hỗn hợp phản ứng gồm 0,5 ml các cao ở nồng độ khác nhau từ 100-700 $\mu\text{g/ml}$, 0,5 ml đệm phosphate (0,2 M, pH=6,6) và 0,5 ml $K_3Fe(CN)_6$ 1%. Sau đó hỗn hợp phản ứng được ủ ở 50°C trong 20 phút, thêm 0,5 ml CCl_3COOH 10% rồi ly tâm 3000 vòng/phút trong 10 phút. Nhẹ nhàng rút 0,5 ml dịch phía trên cho vào 0,5 ml nước và 0,1 ml $FeCl_3$ 0,1%, lắc đều. Đo độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng ở bước sóng 700 nm. Chất đối chứng dương sử dụng là trolox. Hiệu quả kháng oxy hóa của các cao chiết ở các nồng độ khác nhau được so sánh với chất chuẩn bằng cách sử dụng nồng độ mà tại đó chất chuẩn hay cao chiết ($\mu\text{g/ml}$) có giá trị $OD=0,5$ ($OD_{0,5}$) cũng như hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương trolox ($\mu\text{g/ml}$) của các dịch chiết.

Định lượng polyphenol tổng và flavonoid tổng trong cao chiết

Hàm lượng polyphenol tổng trong các cao chiết được xác định bằng thuốc thử Folin-Ciocalteu theo mô tả của Rebaya [14]. Hàm lượng flavonoid tổng được xác định theo phương pháp so màu $AlCl_3$ của Bag [15].

Kết quả

Độ ẩm bột nguyên liệu và hiệu suất chiết cao

Độ ẩm của bột nguyên liệu Ngải tím, Ngải trắng và Gừng gió đã được xác định và có giá trị lần lượt là $4,736 \pm 0,180\%$, $4,749 \pm 0,132\%$ và $4,888 \pm 0,120\%$. Các giá trị này cho thấy phù hợp theo quy định của Dược điển Việt Nam V [10] (độ ẩm bột nguyên liệu <9%).

Hiệu suất chiết cao đạt từ 9,6 đến 10,21%, và các cao có tính chất được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Hiệu suất, trạng thái và màu sắc của các cao chiết.

Cao chiết	Hiệu suất chiết cao (%)	Trạng thái	Màu sắc
Ngải tím	10,06	Sánh đặc	Tím đen
Ngải trắng	10,21	Sánh đặc	Xanh đen
Gừng gió	9,6	Sánh đặc	Nâu đen

Hoạt tính kháng oxy hóa

Hiệu quả loại bỏ gốc tự do DPPH: hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương vitamin C ($\mu\text{g/ml}$) cũng như giá trị EC_{50} của các cao chiết được tính toán và trình bày ở bảng 2 và bảng 3.

Bảng 2. Phần trăm ức chế và hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương vitamin C ($\mu\text{g/ml}$) của các cao chiết.

Cao chiết	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	Hiệu suất làm sạch gốc tự do (%)	Hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương vitamin C ($\mu\text{g/ml}$)
Ngải tím	80	$12,106 \pm 0,146$	$0,973 \pm 0,010$
	160	$20,357 \pm 0,199$	$1,541 \pm 0,014$
	240	$26,091 \pm 0,241$	$1,935 \pm 0,017$
	320	$32,749 \pm 0,199$	$2,394 \pm 0,014$
	400	$40,076 \pm 0,253$	$2,898 \pm 0,017$
	480	$46,862 \pm 0,417$	$3,365 \pm 0,029$
	560	$53,743 \pm 0,096$	$3,839 \pm 0,007$
Ngải trắng	30	$19,720 \pm 0,096$	$1,497 \pm 0,007$
	60	$32,940 \pm 0,526$	$2,407 \pm 0,036$
	90	$43,135 \pm 0,581$	$3,109 \pm 0,040$
	120	$56,610 \pm 0,345$	$4,037 \pm 0,024$
	150	$66,868 \pm 0,146$	$4,743 \pm 0,010$
	180	$77,636 \pm 0,345$	$5,484 \pm 0,024$
	210	$89,965 \pm 0,287$	$6,333 \pm 0,020$
Gừng gió	20	$18,860 \pm 0,096$	$1,438 \pm 0,007$
	40	$29,086 \pm 0,191$	$2,142 \pm 0,013$
	60	$41,319 \pm 0,253$	$2,984 \pm 0,017$
	80	$50,175 \pm 0,146$	$3,593 \pm 0,010$
	100	$64,097 \pm 0,292$	$4,552 \pm 0,020$
	120	$74,004 \pm 0,191$	$5,234 \pm 0,013$
	140	$82,319 \pm 0,096$	$5,806 \pm 0,007$

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương vitamin C ($\mu\text{g/ml}$) của các cao chiết cũng tăng lên khi nồng độ cao chiết tăng lên. Cụ thể là ở cao chiết Ngải tím hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương vitamin C ($\mu\text{g/ml}$) tăng từ $0,973 \pm 0,010$ lên $3,839 \pm 0,007$ $\mu\text{g/ml}$ với hiệu quả làm sạch gốc tự do DPPH tăng từ $12,106 \pm 0,146\%$ lên $53,743 \pm 0,096\%$ ở nồng độ cao chiết từ 80-560 $\mu\text{g/ml}$. Cao chiết Ngải trắng tăng từ $1,497 \pm 0,007$ lên $6,333 \pm 0,020$ $\mu\text{g/ml}$ với hiệu suất tăng từ $19,720 \pm 0,096\%$ lên $89,965 \pm 0,287\%$ ở nồng độ từ 30-210 $\mu\text{g/ml}$ và cao chiết Gừng gió với hiệu quả làm sạch gốc tự do từ tăng từ $18,860 \pm 0,096\%$ lên $82,319 \pm 0,096\%$ cùng hàm lượng tương đương tăng từ $1,438 \pm 0,007$ lên $5,806 \pm 0,007$ $\mu\text{g/ml}$ khi nồng độ tăng từ 20-140 $\mu\text{g/ml}$.

Kết quả tính toán giá trị EC_{50} ở bảng 3 cho thấy, cao Ngải tím ($EC_{50}=503,722$ $\mu\text{g/ml}$), cao Ngải trắng ($EC_{50}=108,984$

$\mu\text{g/ml}$) và cao Gừng gió ($\text{EC}_{50}=78,729 \mu\text{g/ml}$) là khá tốt, đặc biệt là gừng gió ($\text{EC}_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$) đều cao hơn vitamin C ($\text{EC}_{50}=3,581 \mu\text{g/ml}$) lần lượt là 140,649; 30,430 và 21,983 lần. Như vậy, hiệu quả loại bỏ gốc tự do DPPH của các cao chiết được xếp theo thứ tự là cao Gừng gió > cao Ngải trắng > cao Ngải tím. Nhìn chung, trong 3 loài thực vật trên thì Gừng gió và Ngải trắng có hoạt động loại bỏ gốc tự do DPPH tốt vì giá trị EC_{50} thấp.

Bảng 3. Hiệu quả làm sạch gốc tự do DPPH của vitamin C và các cao chiết.

	Phương trình hồi quy tuyến tính	Giá trị EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Vitamin C	$y=14,5253x-2,0211$	3,581
Ngải tím	$y=0,0916x+3,3397$	503,722
Ngải trắng	$y=0,4106x+5,2511$	108,984
Gừng gió	$y=0,5749x+4,7388$	78,729

Khảo sát hiệu quả loại bỏ gốc tự do ABTS^{+} : hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương trolox ($\mu\text{g/ml}$) của các cao chiết được tính toán và trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Hiệu suất làm sạch và hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương trolox ($\mu\text{g/ml}$) của các cao chiết.

Cao chiết	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	Hiệu suất làm sạch gốc tự do (%)	Hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương trolox ($\mu\text{g/ml}$)
Ngải tím	7,5	$12,934 \pm 0,321$	$2,321 \pm 0,057$
	15,0	$22,822 \pm 0,185$	$4,086 \pm 0,033$
	22,5	$30,786 \pm 0,334$	$5,508 \pm 0,060$
	30,0	$42,117 \pm 0,160$	$7,531 \pm 0,029$
	37,5	$51,523 \pm 0,515$	$9,210 \pm 0,092$
	42,5	$57,402 \pm 0,334$	$10,260 \pm 0,060$
	45	$64,511 \pm 0,245$	$11,529 \pm 0,044$
Ngải trắng	3	$10,758 \pm 0,089$	$1,933 \pm 0,016$
	6	$19,826 \pm 0,089$	$3,552 \pm 0,016$
	9	$28,279 \pm 0,177$	$5,061 \pm 0,032$
	12	$35,861 \pm 0,320$	$6,414 \pm 0,057$
	15	$44,057 \pm 0,154$	$7,878 \pm 0,027$
	18	$50,666 \pm 0,154$	$9,057 \pm 0,027$
	21	$58,197 \pm 0,154$	$10,402 \pm 0,027$
Gừng gió	5	$12,632 \pm 0,236$	$2,446 \pm 0,042$
	10	$22,325 \pm 0,496$	$3,998 \pm 0,089$
	15	$29,887 \pm 0,445$	$5,348 \pm 0,080$
	20	$37,654 \pm 0,408$	$6,734 \pm 0,073$
	25	$44,805 \pm 0,178$	$8,011 \pm 0,032$
	30	$53,241 \pm 0,408$	$9,517 \pm 0,073$
	35	$63,477 \pm 0,496$	$11,345 \pm 0,089$

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương trolox ($\mu\text{g/ml}$) của các cao chiết cũng tăng lên khi nồng độ cao chiết tăng lên. Cụ thể là ở cao chiết Ngải tím, hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương trolox ($\mu\text{g/ml}$) tăng từ $2,321 \pm 0,057$ lên $11,529 \pm 0,044 \mu\text{g/ml}$ khi nồng độ cao chiết tăng từ 7,5-45 $\mu\text{g/ml}$, cao chiết Ngải trắng tăng từ $1,933 \pm 0,016$ lên $10,402 \pm 0,027 \mu\text{g/ml}$ khi tăng nồng độ từ 3-21 $\mu\text{g/ml}$ và cao chiết Gừng gió tăng từ $2,446 \pm 0,042$ lên $11,345 \pm 0,089 \mu\text{g/ml}$ khi nồng độ tăng từ 5-35 $\mu\text{g/ml}$.

Hiệu quả làm sạch gốc tự do ABTS^{+} của các cao chiết và chất chuẩn được trình bày thông qua giá trị EC_{50} suy ra từ phương trình hồi quy tuyến tính tương ứng, kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Hiệu quả làm sạch gốc tự do ABTS^{+} của trolox và các cao chiết.

	Phương trình hồi quy tuyến tính	Giá trị EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Trolox	$y=5,6014x-0,0687$	8,939
Ngải tím	$y=1,3599x+1,2638$	35,838
Ngải trắng	$y=2,727x+2,3224$	17,484
Gừng gió	$y=1,7086x+3,2279$	27,375

Kết quả giá trị EC_{50} ở bảng 5 cho thấy, cao Ngải tím ($\text{EC}_{50}=35,838 \mu\text{g/ml}$), cao Ngải trắng ($\text{EC}_{50}=17,484 \mu\text{g/ml}$) và cao Gừng gió ($\text{EC}_{50}=27,375 \mu\text{g/ml}$) đều thể hiện khả năng kháng oxy hóa rất tốt. Tuy nhiên, so với chất chuẩn trolox thì yếu hơn ($\text{EC}_{50}=8,939 \mu\text{g/ml}$) lần lượt là 4,009; 1,956 và 3,063 lần.

Từ kết quả trên cho thấy, hiệu quả loại bỏ gốc tự do ABTS^{+} của các cao chiết được xếp theo thứ tự là cao Ngải trắng > cao Gừng gió > cao Ngải tím. Nhìn chung, cả 3 loài thực vật trên có hoạt động loại bỏ gốc tự do ABTS^{+} rất tốt, giá trị EC_{50} thấp ($< 100 \mu\text{g/ml}$).

Năng lực khử: để đánh giá năng lực khử, giá trị $\text{OD}_{0,5}$ được dùng để so sánh vì khi độ hấp thụ càng cao, năng lực khử càng mạnh. Giá trị $\text{OD}_{0,5}$ cũng được suy ra từ phương trình hồi quy tuyến tính của trolox và các cao chiết tương ứng. Các kết quả nghiên cứu về năng lực khử của các cao chiết được thể hiện ở bảng 6 và 7.

Bảng 6. Năng lực khử của trolox và các cao chiết.

	Phương trình hồi quy tuyến tính	Giá trị $\text{OD}_{0,5}$
Trolox	$y=0,0124x+0,0812$	33,774
Ngải tím	$y=0,0009x+0,0933$	451,889
Ngải trắng	$y=0,0020x+0,1460$	177
Gừng gió	$y=0,0012x+0,0931$	339,083

Kết quả bảng 6 cho thấy năng lực khử của các cao chiết Ngải tím ($\text{OD}_{0,5}=451,889$), Ngải trắng ($\text{OD}_{0,5}=177$) và Gừng gió ($\text{OD}_{0,5}=339,083$) đều thấp hơn chất chuẩn trolox ($\text{OD}_{0,5}=33,774$) lần lượt 13,38, 5,241 và 10,04 lần.

Ngoài giá trị $OD_{0.5}$ thì hàm lượng tương đương chất chuẩn trolox $\mu\text{g/ml}$ (TEC) của các cao chiết cũng được tính toán và thể hiện ở bảng 7.

Bảng 7. Hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương trolox ($\mu\text{g/ml}$) của các cao chiết.

Nồng độ	Ngải tím	Ngải trắng	Gừng gió
100	9,823 $\pm$ 0,352	25,710 $\pm$ 0,213	12,968 $\pm$ 0,161
200	16,435 $\pm$ 0,081	39,769 $\pm$ 0,123	19,661 $\pm$ 0,213
300	23,613 $\pm$ 0,161	57,538 $\pm$ 0,186	26,435 $\pm$ 0,081
400	30,763 $\pm$ 0,246	69,097 $\pm$ 0,161	36,409 $\pm$ 0,246
500	37,349 $\pm$ 0,203	83,828 $\pm$ 0,123	44,634 $\pm$ 0,186
600	45,656 $\pm$ 0,168	101,194 $\pm$ 0,161	58,613 $\pm$ 0,161
700	50,253 $\pm$ 0,259	122,914 $\pm$ 0,186	67,591 $\pm$ 0,186

Kết quả về hàm lượng chất kháng oxy hóa ở bảng 7 cho thấy, hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương trolox ($\mu\text{g/ml}$) của các cao chiết cũng tăng lên khi nồng độ cao chiết tăng lên từ 100-700 $\mu\text{g/ml}$. Cụ thể là ở cao chiết Ngải tím, hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương trolox ($\mu\text{g/ml}$) tăng từ 9,823 $\pm$ 0,352 lên 50,253 $\pm$ 0,259, cao chiết Ngải trắng tăng từ 25,710 $\pm$ 0,213 lên 122,914 $\pm$ 0,186 và cao chiết Gừng gió tăng từ 12,968 $\pm$ 0,161 lên 67,591 $\pm$ 0,186. Từ kết quả trên cho thấy, năng lực khử của các cao chiết được xếp theo thứ tự là cao Ngải trắng > cao Gừng gió > cao Ngải tím, với cao Ngải trắng có giá trị $OD_{0.5}$ thấp hơn 200 $\mu\text{g/ml}$.

Định lượng polyphenol tổng và flavonoid tổng

Hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid tổng trong các cao chiết được xác định tương đương hàm lượng acid gallic và quercetin với phương trình đường chuẩn $y=0,0881x+0,0831$ ($R^2=0,9993$) và $y=0,0067x-0,0026$ ($R^2=0,9970$). Kết quả được trình bày ở bảng 8.

Bảng 8. Kết quả định lượng polyphenol tổng và flavonoid tổng của các cao chiết.

Cao chiết	Hàm lượng polyphenol tổng TPC (mg GAE/g cao chiết)	Hàm lượng flavonoid tổng TFC (mg QE/g cao chiết)
Ngải tím	61,585 $\pm$ 0,365	45,124 $\pm$ 0,570
Ngải trắng	133,246 $\pm$ 0,409	81,443 $\pm$ 0,570
Gừng gió	104,075 $\pm$ 0,857	74,229 $\pm$ 0,215

Kết quả ở bảng 8 cho thấy, hàm lượng polyphenol và flavonoid chứa trong Ngải trắng là cao nhất với giá trị lần lượt là 133,246 $\pm$ 0,409 mg GAE/g và 81,443 $\pm$ 0,570 mg QE/g, kế đến là Gừng gió với giá trị tương ứng 104,075 $\pm$ 0,857 mg GAE/g và 74,229 $\pm$ 0,215 mg GE/g, cuối cùng là Ngải tím với 61,585 $\pm$ 0,365 mg GAE/g và 45,124 $\pm$ 0,570 mg GE/g. Kết quả này cũng phù hợp với hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết Ngải trắng và Gừng gió luôn tốt hơn so với cao Ngải tím.

Bàn luận

So sánh kết quả ở bảng 2 đến bảng 8 khi nghiên cứu về Ngải tím của chúng tôi với các nghiên cứu khác cho thấy, hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng của cao chiết ethanol rễ Ngải tím đều cao hơn trong nghiên cứu này (100,15 $\pm$ 8,34 mg GAE/g và 104,36 $\pm$ 0,43 mg QE/g) [16]. Hoạt động làm sạch gốc tự do DPPH của Ngải tím trong nghiên cứu của chúng tôi cũng yếu hơn rất nhiều so với nghiên cứu của Wungsintaweekul, et al. ($EC_{50}=61,5$ $\mu\text{g/ml}$) [17]. Tương tự trong một nghiên cứu khác của Butkhup, et al. với nồng độ cao chiết là 500 $\mu\text{g/ml}$ thì hiệu suất ức chế lên đến 60,64% [18].

Đối với Ngải trắng, qua kết quả nghiên cứu cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết Ngải trắng cũng có sự khác biệt. Theo nghiên cứu của Lee, et al. trên cao chiết ethanol thân rễ Ngải trắng của Nhật Bản cho thấy, cao chiết chỉ làm sạch 27,2% gốc tự do DPPH khi ở nồng độ 100 $\mu\text{g/ml}$ và tăng lên 80,2% khi nồng độ cao chiết là 1 mg/ml và EC_{50} là 0,27 $\pm$ 0,01 mg/ml; ở năng lực khử, khi cao chiết ở nồng độ 1 mg/ml thì độ hấp thu chỉ đạt 0,4 và $OD_{0.5}$ lên đến 2,38 $\pm$ 0,04 mg/ml, trong khi đó nghiên cứu của chúng tôi giá trị EC_{50} ở phương pháp DPPH là 108,984 $\mu\text{g/ml}$ và ở năng lực khử với giá trị $OD_{0.5}$ là 177 $\mu\text{g/ml}$. Các kết quả này cho thấy rằng, hoạt tính kháng oxy hóa của Ngải trắng theo nghiên cứu của Lee yếu hơn nghiên cứu này rất nhiều [19]. Trong khi đó, hoạt động làm sạch gốc tự do DPPH của cao chiết methanol trong nghiên cứu của Al-Reza, et al. lại cho kết quả tốt hơn so với nghiên cứu của chúng tôi khi giá trị EC_{50} đạt 16,58 $\mu\text{g/ml}$ [20].

Đối với Gừng gió, hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid (104,075 $\pm$ 0,857 mg GAE/g và 74,229 $\pm$ 0,215 mg QE/g) trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn trong nghiên cứu của Nag, et al. (33,64 $\pm$ 3,22 mg GAE/g và 26,79 $\pm$ 0,68 mg QE/g) và hoạt tính kháng oxy hóa cũng mạnh hơn rất nhiều so với EC_{50} trong phương pháp DPPH của Nag đạt 417,14 $\mu\text{g/ml}$ [21]. Trong nghiên cứu của Bhavesh, et al., hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng lại cao hơn (331,93 $\pm$ 1,23 mg GEA/g và 198 $\pm$ 2,65 mg QE/g), tuy nhiên hoạt tính làm sạch gốc tự do DPPH và ABTS⁺ thì yếu hơn so với nghiên cứu của chúng tôi với giá trị EC_{50} lần lượt là 117,65 $\pm$ 1,45 $\mu\text{g/ml}$ và 78,72 $\pm$ 1,12 $\mu\text{g/ml}$ [22].

Tất cả sự khác nhau của nghiên cứu trên có thể là do sự khác biệt về vị trí địa lý, thổ nhưỡng và giống thực vật nghiên cứu. Ngoài ra, còn có thể là do khác nhau về dung môi chiết xuất, methanol là dung môi có thể chiết xuất nhiều thành phần có hoạt tính sinh học hơn dung môi ethanol, tuy nhiên methanol là dung môi có tính độc hơn ethanol.

Kết luận

Nghiên cứu khả năng kháng oxy hóa của cao chiết ethanol thân rễ Ngải tím, Ngải trắng và Gừng gió cho thấy được tiềm năng kháng oxy hóa của các loài thực vật này. Bằng cách sử dụng các phương pháp thử nghiệm hoạt tính sinh học khác nhau cho nghiên cứu như phương pháp DPPH, ABTS⁺ và năng lực khử (Reducing Power), kết quả cho thấy rằng Ngải trắng và Gừng gió thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa rất tốt khi các giá trị EC₅₀ thấp. Kết quả này cũng phù hợp với việc định lượng được hai thành phần chính quan trọng có tác dụng kháng oxy hóa mạnh thường xuất hiện trong nhiều loài thực vật là hợp chất polyphenol và flavonoid với kết quả hàm lượng khá cao là 133,246±0,409 mg GAE/g và 81,443±0,570 mg QE/g cho Ngải trắng; 104,075±0,857 mg GAE/g và 74,229±0,215 mg GE/g cho Gừng gió. Kết quả nghiên cứu thể hiện rõ hoạt tính kháng oxy hóa của các loài thực vật này và là một trong số các loài thực vật có tiềm năng ứng dụng vào việc phòng và trị bệnh trên người.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiền, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mẫn, Đoàn Thị Như, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2004), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- [2] Phạm Hoàng Hộ (1999), *Cây cỏ Việt Nam*, tập 1-3, Nhà xuất bản Trẻ.
- [3] Đỗ Tất Lợi (2004), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học.
- [4] Bùi Kim Anh, Đoàn Duy Tiên, Phạm Gia Điền, Hồ Đắc Hùng, Phạm Quang Dương, Bá Thị Dương, Nguyễn Thị Ngoan, Vũ Đình Hoàng (2018), “Một số hợp chất phân lập từ thân rễ Ngải đen (*Kaempferia parviflora* Wall. ex. Baker), họ Gừng (Zingiberaceae)”, *Tạp chí Dược học*, **58(1)**, tr.29-31.
- [5] P. Temkitthawon, T.R. Hinds, J.A. Beavo, J. Viyoch, K. Suwanborirux, W. Ponggamornkul, P. Sawasdee, K. Ingkaninan (2011), “*Kaempferia parviflora*, a plant used in traditional medicine to enhance sexual performance contains large amounts of low affinity PDE5 inhibitors”, *Journal of Ethnopharmacology*, **137**, pp.1437-1441.
- [6] J. Wattanathorn, S. Muchimapura, T. Tong-Un, N. Saenghong, W. Thukhum-Mee, B. Sripanidkulchai (2012), *Positive modulation effect of 8-week consumption of Kaempferia parviflora on health-related physical fitness and oxydative status in healthy elderly volunteers*, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.
- [7] A. Kumar, R. Chomwal, P. Kumar, R. Sawal (2009), “Anti inflammatory and wound healing activity of *Curcuma aromatica* Salisb. extract and its formulation”, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **1(1)**, pp.304-310.
- [8] W.Y. Wu, Q. Xu, L.C. Shi, W.B. Zhang (2000), “Inhibitory effects of *Curcuma aromatica* oil on proliferation of hepatoma in mice”, *World Journal of Gastroenterology*, **6(2)**, pp.216-219.
- [9] C.J. Chang, T.F. Tzeng, S.S. Liou, Y.S. Chang, I.M. Liu (2012), “Regulation of lipid disorders by ethanol extracts from *Zingiber zerumbet* in high-fat diet-induced rats”, *Food Chemistry*, **132(1)**, pp.460-467.
- [10] Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học.
- [11] O.P. Sharma, T.K. Bhat (2009), “DPPH antioxydant assay revisited”, *Food Chemistry*, **113(4)**, pp.1202-1205.
- [12] N. Nenadis, L.F. Wang, M. Tsimidou, H.Y. Zhang (2004), “Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS⁺ assay”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52(15)**, pp.4669-4674.
- [13] I.C.F.R. Ferreira, P. Baptista, M. Vilas-Boas, L. Barros (2007), “Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity”, *Food Chemistry*, **100(4)**, pp.1511-1516.
- [14] A. Rebaya, S.I. Belghith, B. Baghdikian, V.M. Leddet, F. Mabrouki, E. Olivier, J.K. Cherif, M.T. Ayadi (2015), “Total phenolic, total flavonoid, tannin content, and antioxydant capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae)”, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **5(1)**, pp.52-57.
- [15] G.C. Bag, P.G. Devi, T. Bhaigiyabati (2015), “Assessment of total flavonoid content and antioxydant activity of methanolic rhizome extract of three hedychium species of manipur Valley”, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, **30(1)**, pp.154-159.
- [16] W. Kusirisin, S. Srichairatanakool, P. Lerttrakarnnon, N. Lailerd, M. Suttajit, C. Jaikang, C. Chaiyasut (2009), “Antioxydative activity, polyphenolic content and anti-glycation effect of some Thai medicinal plants traditionally used in diabetic patients”, *Medicinal Chemistry*, **5(2)**, pp.139-147.
- [17] J. Wungsintaweekul, W. Sitthithaworn, W. Putalun, H.W. Pfeifhofer, A. Brantner (2010), “Antimicrobial, antioxydant activities and chemical composition of selected Thai spices”, *Sonklanakarin Journal of Science and Technology*, **32(6)**, pp.589-598.
- [18] L. Butkhup, S. Samappito (2011), “In vitro free radical scavenging and antimicrobial activity of some selected Thai medicinal plants”, *Research Journal of Medicinal Plant*, **5(3)**, pp.254-265.
- [19] Y.L. Lee, C.C. Weng, J.L. Mau (2007), “Antioxydant properties of ethanolic and hot water extracts from the rhizome of *Curcuma aromatica*”, *Journal of Food Biochemistry*, **31(6)**, pp.757-771.
- [20] S.M. Al-Reza, A. Rahman, M.A. Sattar, M.O. Rahman, H.M. Fida (2010), “Essential oil composition and antioxydant activities of *Curcuma aromatica* Salisb”, *Food and Chemical Toxicology*, **48(6)**, pp.1757-1760.
- [21] A. Nag, M. Bandyopadhyay, A. Mukherjee (2013), “Antioxydant activities and cytotoxicity of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith rhizome”, *J. Pharmacogn. Phytochem.*, **2(3)**, pp.102-108.
- [22] V.D. Bhavesh, Y. Nayak, B.S. Jayashree (2013), “In vitro antioxydant and antiglycation activity of *Zingiber zerumbet* (wild zinger) rhizome extract”, *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, **4(4)**, pp.482-489.