

## KHẢO SÁT HÀM LƯỢNG POLYPHENOL, FLAVONOID VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CAO CHIẾT CÚC VẠN THỌ HOA VÀNG (*Tagetes erecta* L.)

Huỳnh Ngọc Trung Dung\*, Ngô Huỳnh Như,  
Ngô Thị Quang Thanh và Dương Thị Bích  
Trường Đại học Tây Đô  
(\*Email:hntdung@tdu.edu.vn)

**Ngày nhận:** 07/12/2021

**Ngày phản biện:** 15/01/2022

**Ngày duyệt đăng:** 01/3/2022

### TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm đánh giá hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính sinh học của cao chiết nước từ Cúc vạn thọ hoa vàng (*Tagetes erecta* L.). Nhiệt độ chiết được thực hiện ở 60 °C và 100 °C. Hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu và phương pháp tạo màu Aluminium chlorid. Hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase và kháng oxy hóa được xác định qua khả năng bắt gốc tự do DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl hydrazyl) và năng lực khử  $Fe^{3+}$  (Ferric ion reducing antioxidant power). Kết quả nghiên cứu cho thấy, nhiệt độ chiết có ảnh hưởng đến hàm lượng chiết hoạt chất và hoạt tính sinh học của dược liệu. ở nhiệt độ 60 °C, cao chiết Cúc vạn thọ cho hàm lượng polyphenol ( $360,5 \pm 11,86$  mg GAE/g DLK) cao hơn, đồng thời thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa khử ion  $Fe^{3+}$  và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase tốt hơn so với cao chiết ở nhiệt độ 100 °C. Mẫu cao chiết Vạn thọ ở nhiệt độ 100 °C cho hàm lượng flavonoid ( $56,29 \pm 0,46$  mg QE/g DLK) và hoạt tính kháng oxy hóa bắt gốc tự do DPPH cao hơn so với cao chiết ở nhiệt độ 60 °C.

**Từ khóa:** Cúc vạn thọ hoa vàng, flavonoid, kháng oxy hóa, polyphenol,  $\alpha$ -glucosidase

Trích dẫn: Huỳnh Ngọc Trung Dung, Ngô Huỳnh Như, Ngô Thị Quang Thanh và Dương Thị Bích, 2022. Khảo sát hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính sinh học của cao chiết Cúc vạn thọ hoa vàng (*Tagetes erecta* L.). Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô. 14: 178-190.

\*Ths. Huỳnh Ngọc Trung Dung – Giảng viên Khoa Dược và Điều dưỡng, Trường Đại học Tây Đô

## 1. GIỚI THIỆU

Trong cơ thể luôn tồn tại sự cân bằng giữa các chất oxy hóa hoạt động và các chất kháng oxy hóa, gọi là trạng thái cân bằng nội môi (homeostasis). Do ảnh hưởng của nhiều yếu tố bên trong và bên ngoài cơ thể, sự cân bằng này có thể mất đi hoặc theo chiều hướng gia tăng các chất oxy hóa hoạt động. Đây là nguyên nhân của rất nhiều bệnh nguy hiểm trong đó có ung thư, các bệnh tim mạch, các bệnh suy giảm hệ thần kinh (Alzheimer, Parkinson) và lão hóa sớm (Lại Thị Ngọc Hà và Vũ Thị Thu, 2009). Polyphenol và flavonoid là một trong những hợp chất tự nhiên tiêu biểu có nhiều tác dụng như kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, chống dị ứng, chống lão hóa... Tuy nhiên, hàm lượng các hoạt chất này có thể thay đổi tùy theo điều kiện và môi trường chiết xuất, trong đó nhiệt độ là yếu tố quan trọng cần được khảo sát (Nguyễn Văn Hân, 2017).

Ngày nay các nhà khoa học không ngừng nghiên cứu, tìm kiếm các nguồn dược liệu giàu hoạt chất có khả năng kháng oxy hóa nhằm nâng cao và bảo vệ sức khỏe con người (Lại Thị Ngọc Hà và Vũ Thị Thu, 2009). Cúc vạn thọ (*Tagetes erecta* L.), thuộc họ Cúc Arteraceae có nguồn gốc từ Bắc Mỹ, thường được trồng để làm cảnh và trang trí ngày Tết. Cúc vạn thọ đã được xem là một vị thuốc cổ truyền có tính xô, lợi tiểu, kiện vị, giúp lọc máu và trị các loại ung nhọt (Phạm Hoàng Hộ, 2003). Các nghiên cứu về Cúc vạn thọ bao gồm khảo sát hợp chất polyphenol, flavonoid có trong cây (Nguyễn Trọng Tường và

*ctv.*, 2020; Gong *et al.*, 2012) và hoạt tính sinh học như kháng khuẩn (Rhama and Madhavan, 2011; Ruddock *et al.*, 2011); Kháng oxy hóa (Chivde *et al.*, 2011)... Nhằm làm rõ và đánh giá tiềm năng sinh học của Cúc vạn thọ đối với cơ thể con người, cũng như phát triển các sản phẩm ứng dụng từ Cúc vạn thọ, làm phong phú hơn nguồn dược liệu tiềm năng ở nước ta, đề tài được thực hiện với mục tiêu khảo sát hàm lượng polyphenol, flavonoid và tiến hành đánh giá hai hoạt tính sinh học khả năng kháng oxy hóa và ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase gây hạ đường huyết ở giai đoạn trưởng thành của Cúc vạn thọ.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Dược liệu toàn cây trên mặt đất (toàn cây có hoa, bỏ rễ) của Cúc vạn thọ được thu hái tại quận Cái Răng, thành phố Cần Thơ vào tháng 09/2020 ở giai đoạn cây ra hoa. Nguyên liệu được rửa sạch phơi khô, xay thành bột, xác định độ ẩm và tiến hành chiết xuất.

### 2.1. Xác định độ ẩm bột dược liệu từ Cúc vạn thọ

Áp dụng phương pháp mất khối lượng do làm khô, dùng cân phân tích độ ẩm MB27 Ohaus. Trái dược liệu xay mịn thành lớp mỏng trên đĩa cân (khoảng 2 g). Kết quả trung bình độ ẩm của dược liệu Cúc vạn thọ sau 3 lần thử đạt 9,3% (không quá 13,0% theo PL 9.6 ĐDVN V).

### 2.2. Điều chế cao chiết từ Cúc vạn thọ

Sử dụng 100 g bột dược liệu chia thành 2 phần bằng nhau, rót nước cất

vào mỗi bình cho đến khi xấp bề mặt được liệu, tiến hành đun trên bếp cách thủy ở hai nhiệt độ là 60 °C và 100 °C trong 30 phút, sau đó dung dịch chiết được lọc qua giấy lọc, rót dung môi mới vào bình chứa được liệu và tiếp tục quá trình chiết đến khi thử vết dịch chiết bốc hơi trên mặt kính đồng hồ không còn vết mờ. Cô đuổi dung môi ở hai nhiệt độ

tương ứng là 60 °C và 100 °C thu được 2 mẫu cao toàn phần là VT60 – chiết và cô nhiệt độ 60 °C; VT100 – chiết và cô nhiệt độ 100 °C (Vuong *et al.*, 2013; Dược điển Việt Nam V; Nguyễn Văn Hân, 2017; Hoàng Thị Phương Liên, 2018). Kết quả về độ ẩm và hiệu suất chiết cao được thể hiện trong Bảng 1.

**Bảng 1. Độ ẩm cao chiết và hiệu suất chiết cao**

Mẫu	Độ ẩm (%)	Hiệu suất (%)
VT60	13,19	32,6
VT100	13,23	38,6

*Chú thích: VT60: Vạn thọ chiết và cô nhiệt độ 60 °C; VT100: Vạn thọ chiết và cô nhiệt độ 100 °C.*

**2.3. Dung môi, hóa chất, thuốc thử và thiết bị, dụng cụ**

Dung môi, hóa chất: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma), acid ascorbic (Sigma), acarbose (Sigma);  $\alpha$ -glucosidase (Sigma); *p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (Sigma), methanol (Xilong), Folin-Ciocalteu (Merck), acid gallic (Sigma), quercetin (Sigma), dung dịch đệm phosphat 0,2 M (pH=6,6); K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>; acid trichloroacetic (Trung Quốc); FeCl<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub>, NaNO<sub>2</sub>, NaOH.

Thiết bị, dụng cụ: Cân xác định độ ẩm MB27 Ohaus, cân phân tích Ohaus PA 0,001 g, máy UV – 1800 SHIMADZU, máy ly tâm Hettich, máy ELISA reader (ChroMate® 4300) và một số dụng cụ thông dụng khác.

**2.4. Khảo sát hàm lượng polyphenol**

Polyphenol toàn phần được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu được mô tả bởi Feduraev *et al.* (2019) với một số hiệu chỉnh. Trong thành phần thuốc thử Folin-Ciocalteu có phức hợp phospho-wolfram-phosphomolybdat bị khử bởi các hợp chất polyphenol tạo thành sản phẩm phản ứng có màu xanh dương, hấp thụ cực đại ở bước sóng 765 nm. Hàm lượng polyphenol có trong mẫu tỉ lệ thuận với cường độ màu và được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn gallic acid.

**2.5. Khảo sát hàm lượng flavonoid**

Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định bằng phương pháp so màu aluminum chlorid (AlCl<sub>3</sub>) (Marinova *et al.*, 2005) tại bước sóng 510 nm với chất chuẩn quercetin. Hàm lượng flavonoid toàn phần trong các cao được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn quercetin.

**2.6. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa trên cao toàn phần**

***Phương pháp bắt gốc tự do DPPH***

Hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết Cúc vạn thọ được xác định theo phương pháp bắt gốc tự do DPPH (Chanda and Dave, 2009). Hỗn hợp phản ứng gồm 0,5 µL cao chiết (ở các nồng độ: 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600 µg/mL) hoặc chất đối chứng dương acid ascorbic (ở các nồng độ 5; 10; 20; 30; 40; 50 µg/mL), 3 mL MeOH và 0,5 µL DPPH (0,6 mM). Phản ứng được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ của DPPH ở bước sóng 517 nm.

***Khảo sát năng lực khử sắt (Ferric ion reducing antioxidant power - FRAP)***

Năng lực khử sắt của cao chiết được thực hiện theo phương pháp Vijayalakshmi and Ruckmani (2016). Lần lượt cho 1 mL dung dịch thử (hoặc acid ascorbic) các nồng độ vào ống nghiệm; 2,5 mL đệm phosphate (0,2 M, pH = 6,6) và 2,5 mL K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 1%. Sau khi hỗn hợp phản ứng được ủ ở 50 °C trong 20 phút, thêm 0,5 mL TCA 10% và ly tâm 3.000 vòng/ phút trong 10 phút. Rút 0,5 mL dịch sau khi ly tâm được cho vào 0,5 mL nước và 0,1 mL FeCl<sub>3</sub> 0,1%, lắc đều. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 700 nm.

Năng lực khử sắt (%) =  $((A_t - A_c)/A_t) \times 100$

Trong đó:

Ac: Giá trị hấp thụ quang phổ của mẫu đối chứng;

At: Giá trị hấp thụ quang phổ của mẫu thử.

**2.7. Khảo sát hoạt tính ức chế enzym α-glucosidase**

Hoạt tính ức chế enzym α-glucosidase được thực hiện theo phương pháp được mô tả bởi Kwon *et al.* (2008), Andrade-Cetto *et al.* (2008) và Dong *et al.* (2012).

Hỗn hợp phản ứng gồm 60 µL dung dịch chứa mẫu và 50 µL dung dịch đệm phosphat 0,1 M (pH 6,8) có chứa dung dịch α-glucosidase (0,2 U/mL) được ủ trong các giếng của đĩa 96 ở nhiệt độ 37 °C. Sau khi ủ được 10 phút, thêm 50 µL dung dịch p-NPG được pha trong đệm phosphat 0,1 M (pH 6,8) vào từng giếng và các giếng tiếp tục ủ trong 20 phút. Sau đó đo chỉ số quang phổ kế (A) được ghi lại ở bước sóng 405 nm bằng máy ELISA reader và so sánh với một mẫu chứng chứa 60 µL dung dịch đệm thay cho mẫu thử. Khả năng ức chế α-glucosidase được đánh giá trên phần trăm lượng α-glucosidase bị ức chế I%.

**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Kết quả khảo sát hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần**

Hàm lượng polyphenol được tính bằng cách quy về lượng tương đương với chất chuẩn acid gallic, kết quả được biểu diễn bằng mg GAE/g được liệu khô. Hàm lượng flavonoid được tính bằng cách quy về lượng tương đương với chất chuẩn quercetin, kết quả được biểu diễn bằng mg QE/g được liệu khô.

Kết quả khảo sát hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần của các mẫu thử nghiệm được thể hiện Bảng 2.

**Bảng 2. Hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần trong các mẫu cao chiết**

Mẫu	Hàm lượng polyphenol toàn phần (mg GAE/g DLK) <sup>(1)</sup>	Hàm lượng flavonoid toàn phần (mg QE/g DLK) <sup>(2)</sup>
<b>VT60</b>	360,50 ± 11,86 <sup>a</sup>	47,63 ± 1,03 <sup>b</sup>
<b>VT100</b>	349,88 ± 8,57 <sup>a</sup>	56,29 ± 0,46 <sup>a</sup>

*Chú thích: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Turkey. <sup>(1)</sup>Các giá trị được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của acid gallic ( $y = 0,0017x + 0,0197$ ;  $R^2 = 0,999$ ); <sup>(2)</sup>Các giá trị được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của quercetin ( $y = 0,0004x + 0,0216$ ;  $R^2 = 0,996$ ). **VT60**: Vụn thọt chiết và cô nhiệt độ 60 °C; **VT100**: Vụn thọt chiết và cô nhiệt độ 100 °C; **DLK**: Dược liệu khô.*

Kết quả từ Bảng 2 cho thấy, mẫu VT60 có hàm lượng polyphenol là 360,50 ± 11,86 mg GAE/g DLK cao hơn mẫu VT100 (349,88 ± 8,57 mg GAE/g DLK). Kết quả chỉ ra rằng, các hợp chất polyphenol từ Cúc vụn thọt đa phần là những hợp chất kém bền với nhiệt và điều này phù hợp với một số nghiên cứu trước đây về sự phân hủy của polyphenol do nhiệt như năm 2008, Wang *et al.*, đã tiến hành khảo sát hàm lượng polyphenol chiết được trong cám lúa mì ở dãy nhiệt độ từ 25 °C đến 75 °C và kết quả cho thấy, khi nhiệt độ tăng từ 25 °C đến 65 °C thì hàm lượng polyphenol cũng tăng theo và cao nhất ở nhiệt độ 65 °C, tuy nhiên khi nhiệt độ tăng đến 75 °C thì hàm lượng polyphenol bắt đầu giảm. Bên cạnh đó, vào năm 2012, Gong *et al.* cũng kết luận rằng hàm lượng polyphenol chiết được tăng đáng kể khi nhiệt độ chiết xuất tăng từ 30 °C đến 60 °C và giảm khi nhiệt độ tăng lên 70 °C. Tương tự nghiên cứu của Vuong *et al.*, (2013) về sự ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất (50, 60, 70, 80, 90 và 100 °C) đến hàm lượng polyphenol từ lá đu đủ *Carica*, kết quả

hàm lượng polyphenol chiết được tăng từ 50 °C đến 70 °C và giảm khi nhiệt độ chiết xuất tăng lên 100 °C. Sự gia tăng nhiệt độ có thể có lợi cho việc chiết xuất polyphenol bằng cách giảm độ nhớt, tăng hệ số khuếch tán và tăng cường khả năng hòa tan của polyphenol (Cacace and Mazza, 2003). Tuy nhiên, nhiệt độ cao có thể không phù hợp với tất cả các loại hợp chất phenolic vì sẽ làm ảnh hưởng đến tính ổn định của những hợp chất đó có trong dược liệu (Xu *et al.*, 2007).

Từ kết quả Bảng 2 thể hiện hàm lượng flavonoid ở mẫu VT100 là 56,29 ± 0,46 mg QE/g DLK cao hơn mẫu VT60 (47,63 ± 1,03 mg QE/g DLK) gấp 1,2 lần. Điều này chứng tỏ flavonoid chiết từ Cúc vụn thọt là những hợp chất bền với nhiệt. Nghiên cứu của Bassani *et al.*, (2014) cũng cho kết quả tương tự khi tiến hành khảo sát hàm lượng flavonoid ở nhiệt độ tăng từ 60 °C lên 90 °C thì hàm lượng flavonoid cũng tăng theo lần lượt là 280,93 mg CTE/L và 421,75 mg CTE/L (CTE: Catechin). Nghiên cứu của Alide (2020) cũng kết luận rằng hàm

lượng flavonoid trong tỏi tăng lên 1,25 lần khi nhiệt độ chiết xuất tăng lên từ 75 °C đến 100 °C.

Gần đây, Nguyễn Trọng Tường và *ctv.* (2020) đã tiến hành khảo sát hàm lượng polyphenol và flavonoid trên các cao chiết ethanol (70% và 96%) từ Cúc vạn thọ (*Tagetes erecta* L.). Từ kết quả khảo sát cho thấy, mẫu VT100 có hàm lượng polyphenol cao hơn mẫu cao chiết ethanol 70% ít nhất 4 lần và cao hơn ethanol 96% ít nhất 9 lần. Bên cạnh đó, hàm lượng flavonoid của mẫu VT60 cũng lần lượt cao hơn cao chiết ethanol

70% và ethanol 96% ít nhất là 1,4 lần và 2,3 lần. Điều này chứng tỏ rằng hàm lượng polyphenol và flavonoid ngoài bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ chiết còn bị ảnh hưởng bởi dung môi chiết xuất (Settharaksa *et al.*, 2012; Do *et al.*, 2014).

### 3.2. Hoạt tính kháng oxy hóa

#### 3.2.1. Khả năng bắt gốc tự do DPPH

Khả năng bắt gốc tự do DPPH thể hiện qua giá trị IC<sub>50</sub> của các mẫu cao chiết được thể hiện qua Bảng 3.

**Bảng 3. Kết quả phương trình tuyến tính và hoạt tính kháng oxy hóa (bắt gốc tự do DPPH)**

Mẫu	Phương trình tuyến tính	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
<b>VT60</b>	$y = 0,6813x + 21,674, R^2 = 0,9865$	$41,58 \pm 0,20^c$
<b>VT100</b>	$y = 1,0387x + 8,0386, R^2 = 0,9973$	$40,40 \pm 0,27^b$
<b>Acid ascorbic</b>	$y = 13,304x + 3,0003, R^2 = 0,9926$	$3,53 \pm 0,02^a$

*Chú thích:* Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Turkey. **VT60:** Vạn thọ chiết và cô nhiệt độ 60 °C; **VT100:** Vạn thọ chiết và cô nhiệt độ 100 °C; **DPPH:** 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; **IC<sub>50</sub>:** Nồng độ ức chế 50% DPPH.

Kết quả từ Bảng 3, trong phương pháp bắt gốc tự do DPPH thì mẫu VT100 cho khả năng kháng oxy hóa tốt hơn mẫu VT60 gấp 1,03 lần với giá trị IC<sub>50</sub> của VT60 là  $40,40 \pm 0,27$  µg/mL và VT100 là  $41,58 \pm 0,20$  µg/mL nhưng vẫn yếu hơn so với chất đối chứng dương acid ascorbic 11 lần (IC<sub>50</sub> =  $3,53 \pm 0,02$  µg/mL) với mức ý nghĩa thống kê là 0,05. Nghiên cứu của Bassani *et al.*, (2014) cũng cho kết quả tương tự, khi nhiệt độ chiết xuất *Ilex paraguariensis* tăng từ 60 °C đến 90 °C thì hoạt tính kháng oxy hóa bằng cách bắt gốc tự do

DPPH từ cũng tăng từ 52,56% đến 80,65%. Một nghiên cứu khác của Hemali and Sumitra (2014) đã sử dụng chiết xuất nước từ hoa của Cúc vạn thọ bằng phương pháp ngâm lạnh để thử hoạt tính bắt gốc tự do DPPH và kết quả cho giá trị IC<sub>50</sub> = 153 µg/mL.

Bên cạnh đó, cùng đối tượng nghiên cứu là Cúc vạn thọ (*Tagetes erecta* L.) Nguyễn Trọng Tường và *ctv.* (2020) cho kết quả nghiên cứu về khả năng bắt gốc tự do DPPH của 2 mẫu cao chiết ethanol 70% và 96% với giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là  $114,741 \pm 0,957$  µg/mL và  $138,299 \pm$

0,814 µg/mL, so với 2 mẫu cao chiết ethanol thì mẫu cao thử nghiệm VT60 có giá trị IC<sub>50</sub> cao hơn 2,7 lần và mẫu ethanol 96% cao hơn 3,3 lần, so với VT100 thì mẫu ethanol 70% và 96% có giá trị IC<sub>50</sub> cao hơn lần lượt là 3,5 lần và 3,4 lần. Chứng tỏ 2 mẫu cao thử nghiệm VT60 và VT100 thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa bắt gốc tự do DPPH vượt trội hơn so với 2 mẫu cao ethanol. Điều

này có thể giải thích là do hàm lượng polyphenol và flavonoid của 2 mẫu VT60 và VT100 có phần cao hơn so với 2 mẫu ethanol nên thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa tốt hơn.

### 3.2.2. Năng lực khử ion Fe<sup>3+</sup> (FRAP)

Năng lực khử ion Fe<sup>3+</sup> thể hiện qua giá trị IC<sub>50</sub> của các mẫu cao chiết được thể hiện qua Bảng 4.

**Bảng 4. Kết quả phương trình tuyến tính và hoạt tính kháng oxy hóa (khử ion Fe<sup>3+</sup>)**

Mẫu	Phương trình tuyến tính	IC <sub>50</sub> (µg/mL)*
<b>VT60</b>	y = 11,681x + 11,321, R <sup>2</sup> = 0,9722	3,31 ± 0,007 <sup>b</sup>
<b>VT100</b>	y = 0,1857x + 20,01, R <sup>2</sup> = 0,9817	3,66 ± 0,049 <sup>c</sup>
<b>Acid ascorbic</b>	y = 74,736x + 34,509, R <sup>2</sup> = 0,9703	0,21 ± 0,005 <sup>a</sup>

\*Chú thích: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Turkey. **VT60**: Vụn thò được chiết và cô nhiệt độ 60 °C; **VT100**: Vụn thò được chiết và cô nhiệt độ 100 °C; **IC<sub>50</sub>**: Nồng độ ức chế 50% ion Fe<sup>3+</sup>.

Kết quả cho thấy cả hai mẫu cao chiết đều có khả năng kháng oxy hóa tốt. Đối với phương pháp khử ion Fe<sup>3+</sup>, mẫu VT100 lại thể hiện hoạt tính khử ion Fe<sup>3+</sup> yếu hơn mẫu VT60 với giá trị IC<sub>50</sub> là 3,66 ± 0,049 (µg/mL) cao hơn so với VT60 (3,31 ± 0,007 µg/mL) 1,1 lần và cao hơn acid ascorbic (0,21 ± 0,005 µg/mL) 15 lần (với p < 0,05). Nghiên cứu của Chen *et al.* (2013) cũng cho kết quả tương tự, khi tiến hành khảo sát sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng khử ion Fe<sup>3+</sup> từ lá của cây Sung xanh (*Ficus virens*), kết quả thể hiện khả năng kháng oxy hóa cao nhất ở nhiệt

độ 60 °C và giảm khi nhiệt độ tăng lên 70 °C.

### 3.3. Hoạt tính ức chế enzym α-glucosidase

Khả năng ức chế α-glucosidase của các mẫu cao chiết và của đối chứng đường acarbose tỉ lệ thuận với nồng độ của mẫu. Nồng độ càng cao, hoạt tính ức chế α-glucosidase của mẫu càng mạnh. Kết quả phương trình đường cong phi tuyến, giá trị IC<sub>50</sub> của các mẫu cao chiết và acarbose được thể hiện qua Bảng 5, giá trị IC<sub>50</sub> càng thấp đồng nghĩa với hoạt tính ức chế enzym càng cao.

**Bảng 5. Kết quả phương trình đường cong phi tuyến và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase**

Mẫu	Phương trình đường cong phi tuyến	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )*
<b>VT60</b>	$y = 30,501\ln(x) - 26,855, R^2 = 0,994$	$12,43 \pm 0,58^a$
<b>VT100</b>	$y = 28,758\ln(x) - 29,054, R^2 = 0,9904$	$15,63 \pm 0,6^a$
<b>Acarbose</b>	$y = 14,972\ln(x) - 21,945, R^2 = 0,996$	$122,16 \pm 1,65^b$

Chú thích: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Turkey. **VT60**: Vụn thò chiết và cô nhiệt độ 60°C; **VT100**: Vụn thò chiết và cô nhiệt độ 100°C; **IC<sub>50</sub>**: Nồng độ ức chế 50% hoạt tính enzym.

Giá trị IC<sub>50</sub> của các mẫu trong Bảng 5 dao động từ 12,43 - 15,63  $\mu\text{g/mL}$ . Kết quả phân tích hồi quy tuyến tính không cho thấy sự khác biệt về hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase giữa các mẫu. Điều này cho thấy, khả năng ức chế  $\alpha$ -glucosidase của Cúc vụn thò không thay đổi theo nhiệt độ chiết xuất. Từ kết quả thể hiện, giá trị IC<sub>50</sub> của các mẫu thấp hơn đối chứng dương acarbose ( $122,15 \pm 1,65 \mu\text{g/mL}$ ) gần 10 lần. Bên cạnh đó, so với nghiên cứu của Kaisoon *et al.* (2012) trên bột đông khô của hoa Cúc vụn thò có hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase với

IC<sub>50</sub>= $60 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ , cao hơn IC<sub>50</sub> của 2 mẫu VT60 và VT100 khoảng 4,8 và 3,8 lần, đồng nghĩa với việc 2 mẫu VT60 và VT100 thể hiện khả năng ức chế  $\alpha$ -glucosidase tốt hơn.

### 3.4. Sự tương quan giữa các đại lượng

Kết quả phân tích tương quan giữa hàm lượng polyphenol, flavonoid, hoạt tính kháng oxy hóa và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của các mẫu cao chiết bằng phép so sánh Pearson, thể hiện ở Bảng 6.

**Bảng 6. Tương quan giữa hàm lượng polyphenol, flavonoid toàn phần và các giá trị IC<sub>50</sub>**

Hệ số tương quan Pearson (r)	Flavonoid	IC <sub>50</sub> , DPPH	IC <sub>50</sub> , FRAP	IC <sub>50</sub> , $\alpha$ -glucosidase
<b>Polyphenol</b>	- 0,364	0,550	- 0,567	- 0,211
<b>Flavonoid</b>	1	- 0,918**	0,969**	0,918**
<b>IC<sub>50</sub>, DPPH</b>		1	0,992**	- 0,910*
<b>IC<sub>50</sub>, FRAP</b>			1	0,888*

Chú thích: \*\*: Tương quan có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 0,01. \*: Tương quan có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 0,05.



Từ rất lâu, các hợp chất polyphenol và flavonoid đã được chứng minh có hoạt tính kháng oxy hóa giúp ngăn ngừa một số tình trạng bệnh lý mãn tính (Patel *et al.*, 2001). Qua kết quả phân tích mối tương quan giữa giá trị  $IC_{50}$ , DPPH với hàm lượng flavonoid, cho thấy có sự tương quan nghịch tại mức ý nghĩa 0,01 với  $r = -0,918$ , nghĩa là khi hàm lượng flavonoid càng cao thì  $IC_{50}$ , DPPH càng thấp, khả năng bắt gốc tự do DPPH càng mạnh, có thể trong nghiên cứu này, hàm lượng flavonoid trong mẫu cao chiết quyết định hoạt tính bắt gốc tự do DPPH. Năm 2018, Zhang *et al.*, (2018) cũng kết luận có sự tương quan thuận giữa hàm lượng flavonoid và hoạt tính kháng oxy hóa bắt gốc tự do DPPH trên chiết xuất từ mô quả quýt. Trước đó, Kumaran *et al.*, (2007) cho rằng flavonoid và các chất kháng oxy hóa khác như acid ascorbic, BHT, tocopherol và tannin có tác dụng làm giảm nồng độ và khử màu DPPH nhờ vào khả năng cho điện tử của chúng.

Ngoài ra, hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của hai mẫu cao chiết VT60 và VT100 có sự tương quan thuận với hoạt tính kháng oxy hóa FRAP ở mức ý nghĩa thống kê 0,01, hệ số tương quan là 0,888. Kết quả của đề tài tương tự với nhận định của Mai *et al.* (2007) khi khảo sát sự tương quan giữa hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase và hoạt tính kháng oxy hóa trên một số loài thực vật (ăn được) ở Việt Nam. Tuy nhiên, khả năng kháng oxy hóa DPPH lại thể hiện sự tương quan nghịch với hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase ở mức ý nghĩa thống kê 0,05 và hệ số tương quan là -0,910 và sự

quan giữa hàm lượng hàm lượng polyphenol của các cao chiết nước của Cúc vạn thọ trong nghiên cứu này với các giá trị  $IC_{50}$ , FRAP,  $IC_{50}$ ,  $\alpha$ -glucosidase không có ý nghĩa thống kê.

Nhìn chung, cả hai mẫu cao chiết VT60 và VT100 đều có các hoạt tính sinh học tương đối ngang nhau. Trong đó, nổi trội nhất là hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase ở 2 mẫu cao chiết khi so sánh với chất đối chứng dương acarbose.

#### 4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy các cao chiết nước từ bộ phận trên mặt đất của Cúc vạn thọ có hàm lượng flavonoid chiết được ở nhiệt độ cao, có tiềm năng trong kháng oxy hóa và ức chế  $\alpha$ -glucosidase góp phần ứng dụng trong điều chế trà hoặc các bài thuốc sắc có nguyên liệu từ Cúc vạn thọ để hỗ trợ điều trị bệnh. Nghiên cứu tiếp theo cần khảo sát về khả năng kháng khuẩn, kháng nấm, hoạt tính gây độc tế bào ung thư... nhằm nghiên cứu sản xuất sản phẩm thực phẩm chức năng và mỹ phẩm từ Cúc vạn thọ.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alide, T., Wangila, P., and Kiprop, A., 2020. Effect of cooking temperature and time on total phenolic content, total flavonoid content and total *in vitro* antioxidant activity of garlic. BMC Research Notes. Vol 13(1), pp. 1-7.
2. Andrade-Cetto, A., Becerra-Jiménez, J. and Cárdenas-Vázquez, R., 2008. Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in

the treatment of type 2 diabetes. *Journal of ethnopharmacology*. Vol 116(1), pp. 27 - 32.

3. Bassani, D. C., Nunes, D. S., and Granato, D., 2014. Optimization of phenolics and flavonoids extraction conditions and antioxidant activity of roasted yerba mate leaves using response surface methodology. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. Vol 86(2), pp. 923-934.

4. Cacace, J.E., Mazza, G., 2003. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from *Milled berries*. *J. Food Eng.* Vol 59, pp.379–389.

5. Chanda, S. and Dave, R., 2009. *In vitro* models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research*. Vol 3(13), pp. 981 – 996.

6. Chen, X. X., Wu, X. B., Chai, W. M., Feng, H. L., Shi, Y., Zhou, H. T., and Chen, Q. X., 2013. Optimization of extraction of phenolics from leaves of *Ficus virens*. *Journal of Zhejiang university SCIENCE B*. Vol 14(10), pp. 903-915.

7. Chivde, B.V., Biradar, K.V., Shiramane, R.S. and Manoj, K., 2011. *In vitro* antioxidant activity studies on the flowers of *Tagetes erecta* L. (Compositae). *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. Vol 2(3), pp. 223 – 229.

8. Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., and Ju, Y. H., 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*. Vol 22(3), pp. 296-302.

9. Dong, H. Q., Li, M., Zhu, F., Liu, F. L. and Huang, J. B., 2012. Inhibitory potential of trilobatin from *Lithocarpus polystachyus* Rehd against  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase linked to type 2 diabetes. *Food Chemistry*. Vol 130(2), pp. 261 - 266.

10. Feduraev, P., Chupakhina, G., Mashennikov, P., Tacenko N. and Skrypnik, L., 2019. Variation in phenolic compounds content and antioxidant activity of different plant organs from *Rumex crispus* L. and *Rumex obtusifolius* L. at different growth stages. *Antioxidants*. Vol 8(7), pp. 237 – 251.

11. Gong, Y., Hou, Z., Gao, Y., Xue, Y., Liu, X., and Liu, G., 2012. Optimization of extraction parameters of bioactive components from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue using response surface methodology. *Food and Bioproducts Processing*. Vol 90(1), pp. 9-16.

12. Gong, Y., Liu, X., He, W. H., Xu, H. G., Yuan, F. and Gao, Y. X., 2012. Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted

marigold (*Tagetes erecta* L.) residue. Fitoterapia. Vol 83, pp. 481 – 489.

13. Hemali, P., and Sumitra, C., 2014. Evaluation of antioxidant efficacy of different fractions of *Tagetes erecta* L. flowers. Journal of pharmacy and biological sciences. Vol 9(5), pp. 28-37.

14. Hoàng Thị Phương Liên, 2018. Khảo sát tác động chống oxy hóa *in vitro* của lá cây lá dong (*Phrynium parviflorum* Roxb, Marantaceae). Journal of Science and Technology. Vol 1(1), trang 38-40.

15. Hội Đồng Dược điển Việt Nam, 2017. Dược điển Việt Nam V. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội, trang PL-297.

16. Kaisoon, O., Konczak, I. and Siriamornpun, S., 2012. Potential health enhancing properties of edible flowers from Thailand. Food Research International. Vol 46(2), pp. 563 - 571.

17. Kumaran, A., and Karunakaran, R. J., 2007. *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. LWT-Food science and technology. Vol 40(2), pp. 344-352.

18. Kwon, Y. I., Apostolidis, E. and Shetty, K., 2008. Inhibitory potential of wine and tea against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes. Journal of Food Biochemistry. Vol 32(1), pp. 15 – 31.

19. Lại Thị Ngọc Hà, Vũ Thị Thu, 2009. Stress oxy hóa và các chất chống oxy hóa tự nhiên. Tạp chí khoa học và phát triển 2009. Trang 667 - 677.

20. Mai, T. T., Thu, N. N., Tien, P. G. and Van Chuyen, N., 2007. Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of Vietnamese edible plants and their relationships with polyphenol contents. Journal of nutritional science and vitaminology. Vol 53(3), pp. 267 – 276.

21. Marinova, D., Ribarova, F., Atanassova, M., 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy. Vol 40(3), pp. 255 – 260.

22. Nguyễn Trọng Tường, Huỳnh Duy Khang, Nguyễn Minh Quang Học, Trì Kim Ngọc và Huỳnh Ngọc Trung Dung, 2020. Xác định hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết từ Vạn thọ (*Tagetes erecta* L.) hoa vàng và hoa cam. Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô. 08: 188-198.

23. Nguyễn Văn Hân, 2017. Kỹ thuật chiết xuất dược liệu. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội, trang 19-20.

24. Patel, R. P., Boersma, B. J., Crawford, J. H., Hogg, N., Kirk, M., Kalyanaraman, B., and Darley-USmar, V., 2001. Antioxidant mechanisms of isoflavones in lipid systems: paradoxical effects of peroxy radical scavenging. Free Radical Biology and Medicine. Vol 31(12), pp. 1570-1581.

25. Phạm Hoàng Hộ, 2003. Cây cỏ Việt Nam, cuốn III, trang 281.

26. Rhama, S. and Madhavan, S., 2011. Antibacterial activity of the flavonoid, patulitrin isolated from the flowers of *Tagetes erecta* L. International Journal of PharmTech Research. Vol 3(3). pp. 1407 - 1409.

27. Ruddock, P. S., Charland, M., Ramirez, S., López, A., Towers, G. N., Arnason, J. T., Liao M. and Dillon, J. A. R., 2011. Antimicrobial activity of flavonoids from *Piper lanceaefolium* and other Colombian medicinal plants against antibiotic susceptible and resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae*. Sexually transmitted diseases. Vol 38(2), pp. 82 - 88.

28. Settharaksa, S., Jongjareonrak, A., Hmadhlu, P., Chansuwan, W., and Siripongvutikorn, S., 2012. Flavonoid, phenolic contents and antioxidant properties of Thai hot curry paste extract and its ingredients as affected of pH, solvent types and high temperature. International Food Research Journal. Vol 19(4).

29. Vijayalakshmi, M. and Ruckmani, K., 2016. Ferric reducing anti-oxidant power assay in plant extract. pp. 270 – 272.

30. Vuong, Q. V., Hirun, S., Roach, P. D., Bowyer, M. C., Phillips, P. A., and Scarlett, C. J., 2013. Effect of extraction conditions on total phenolic compounds and antioxidant activities of *Carica papaya* leaf aqueous extracts. Journal of herbal medicine. Vol 3(3), pp. 104-111.

31. Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Li, X., 2008. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. Food Chemistry, Vol 106(2), pp. 804–810.

32. Xu, G., Ye, X., Chen, J., and Liu, D., 2007. Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of *Citrus* peel extract. Journal of Agricultural and Food chemistry. Vol 55(2), pp. 330-335.

33. Zhang, H., YANG, Y. F., and ZHOU, Z. Q., 2018. Phenolic and flavonoid contents of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruit tissues and their antioxidant capacity as evaluated by DPPH and ABTS methods. Journal of Integrative Agriculture. Vol 17(1), pp. 256-263.

## DETERMINATION POLYPHENOLS, FLAVONOIDS AND BIOLOGICAL ACTIVITIES IN EXTRACTS FROM YELLOW MARIGOLD (*Tagetes erecta* L.)

Huynh Ngoc Trung Dung\*, Ngo Huynh Nhu,  
Ngo Thi Quang Thanh and Duong Thi Bich  
Tay Do University  
(\*Email:hntdung@tdu.edu.vn)

### ABSTRACT

*The aim of this study was to evaluate the contents of polyphenols, flavonoid and biological activities of water extracts from yellow marigold (*Tagetes erecta* L.). Extraction was executed at 60 °C and 100 °C. The total polyphenols and flavonoid content was determined by the Folin-Ciocalteu method and the Aluminum chloride colorimetric method. The  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effect and antioxidant activity were analyzed through DPPH free radical scavenging (2,2-Diphenyl-1-picryl hydrazyl) and  $Fe^{3+}$  reduction capacity (Ferric ion reducing antioxidant power). Results showed that extraction temperature can affect the extraction content of active ingredients and biological activities of medicinal herbs. At 60 °C, marigold extract had higher polyphenol content ( $360.5 \pm 11.86$  mg GAE/g DLK), and also had better antioxidant activity against  $Fe^{3+}$  ion and the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effect than the extract at 100 °C. The marigold extract at 100 °C had higher flavonoid content ( $56.29 \pm 0.46$  mg QE/g DLK) and exhibited better antioxidant DPPH free radical scavenging activity than the extract at 60 °C.*

**Keywords:** *Anti-oxidation,  $\alpha$ -glucosidase, flavonoid, polyphenol, yellow marigold*