

ANTIOXIDANT POTENTIAL OF ETHANOL EXTRACTS OF TWO BROWN ALGAE SPECIES *Turbinaria decurrens* and *Turbinaria conoides* DISTRIBUTED IN DAM DUOC ISLAND, KIEN GIANG PROVINCE

Le Thi Hien, Huynh Hong Phien, Tran Thanh Men*

Can Tho University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 18/7/2024	This study aimed to investigate the antioxidant potential of extracts of two brown algae species of the genus <i>Turbinaria</i> collected at Dam Duoc island, Kien Giang province. To evaluate the <i>in vitro</i> antioxidant activity, four methods 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis 3ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS), reducing power (RP), total antioxidant capacity (TAC) were used to investigate, and <i>Drosophila melanogaster</i> model was used to analyze the resistance to oxidative stress of two brown algae species of the genus <i>Turbinaria</i> caused by H ₂ O ₂ . The results showed that the extract from the brown alga <i>Turbinaria conoides</i> showed <i>in vitro</i> antioxidant activity through the EC ₅₀ values of the four methods DPPH, ABTS, RP, and TAC, which were 1777.54 ± 59.39 µg/mL, 331.93 ± 6.72 µg/mL, 133.10 ± 1.82 µg/mL and 105.98 ± 6.33 µg/mL, respectively. In conditions of oxidative stress caused by H ₂ O ₂ , fruit flies living in an environment supplemented with <i>T. conoides</i> extract (1 mg/mL) had better resistance than the extract from <i>Turbinaria decurrens</i> . These results contribute to proving that the extract from the brown algae <i>T. conoides</i> collected at Dam Duoc island, Kien Giang province has antioxidant potential <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> .
Revised: 17/10/2024	
Published: 18/10/2024	
KEYWORDS	
Antioxidant	
Bioactive compounds	
<i>Drosophila melanogaster</i>	
<i>Turbinaria decurrens</i>	
<i>Turbinaria conoides</i>	

TIỀM NĂNG CHỐNG OXY HOÁ CỦA CHIẾT XUẤT ETHANOL HAI LOÀI TẢO NÂU *Turbinaria decurrens* VÀ *Turbinaria conoides* PHÂN BỐ TẠI HÒN ĐÀM ĐƯỚC, TỈNH KIÊN GIANG

Lê Thị Hiền, Huỳnh Hồng Phiến, Trần Thanh Mến*

Trường Đại học Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 18/7/2024	Mục đích của nghiên cứu là khảo sát tiềm năng chống oxy hoá của chiết xuất hai loài tảo nâu thuộc chi <i>Turbinaria</i> thu thập tại hòn Đầm Đước, tỉnh Kiên Giang. Để đánh giá hiệu quả chống oxy hoá <i>in vitro</i> , bốn phương pháp 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis 3ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS), reducing power (RP), total antioxidant capacity (TAC) đã được sử dụng để khảo sát, đồng thời mô hình ruồi giấm đã được ứng dụng để khảo sát khả năng chống chịu stress oxy hoá của hai loài tảo nâu thuộc chi <i>Turbinaria</i> do H ₂ O ₂ gây ra. Kết quả cho thấy, chiết xuất từ loài tảo nâu <i>T. conoides</i> thể hiện hoạt tính chống oxy hóa <i>in vitro</i> hiệu quả thông qua giá trị EC ₅₀ lần lượt của bốn phương pháp DPPH, ABTS, RP và TAC là 1777,54 ± 59,39 µg/mL, 331,93 ± 6,72 µg/mL, 133,10 ± 1,82 µg/mL và 105,98 ± 6,33 µg/mL. Trong điều kiện bị stress oxy hoá do H ₂ O ₂ gây ra, ruồi giấm sống trong môi trường có bổ sung cao chiết <i>T. conoides</i> (1 mg/mL) có khả năng chống chịu tốt hơn so với chiết xuất từ <i>T. decurrens</i> . Từ những kết quả này đã góp phần chứng minh chiết xuất từ tảo nâu <i>T. conoides</i> thu thập tại hòn Đầm Đước, tỉnh Kiên Giang có tiềm năng chống oxy hóa <i>in vitro</i> và <i>in vivo</i> .
Ngày hoàn thiện: 17/10/2024	
Ngày đăng: 18/10/2024	
TỪ KHÓA	
Chống oxy hoá	
Hợp chất sinh học	
<i>Drosophila melanogaster</i>	
<i>Turbinaria decurrens</i>	
<i>Turbinaria conoides</i>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.10783>

* Corresponding author. Email: tmen@ctu.edu.vn

1. Giới thiệu

Stress oxy hóa là kết quả của sự mất cân bằng nội môi chất chống oxy hóa/tiền oxy hóa dẫn đến việc tạo ra các loại oxy phản ứng độc hại (ROS) quá mức, chẳng hạn như hydrogen peroxide, organic hydro peroxides, nitric oxide, superoxide và các gốc hydroxyl... [1], [2]. Trong các tế bào của con người luôn tồn tại các cơ chế để sửa chữa các phân tử sinh học bị hư hỏng do oxy hóa, tuy nhiên vẫn còn tồn tại một số ảnh hưởng đáng kể. Khi ROS được tạo ra vượt quá cơ chế bảo vệ của hệ thống chống oxy hóa, stress oxy hóa sẽ xảy ra, dẫn đến tổn thương oxy hóa DNA, lipid, protein và là nguyên nhân xuất hiện của nhiều bệnh khác nhau như ung thư, tiểu đường, xơ vữa động mạch, lão hoá, viêm và các bệnh thoái hoá khác [3], [4].

Tảo biển được xem là nguồn nguyên liệu tiềm năng, do chúng có chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học như polyphenol, polysaccharide, protein, sterol và sắc tố, giúp bảo vệ sức khỏe, làm giảm nguy cơ mắc nhiều bệnh mãn tính và giúp kéo dài tuổi thọ cho con người [2]. Hai loài tảo nâu *T. decurrens* và *T. conoides* thuộc chi *Turbinaria*. Các loài thuộc chi *Turbinaria* có nhiều màu sắc, từ nâu ô liu đến nâu sẫm do sự hiện diện của các sắc tố như diệp lục và fucoxanthin, có hình dạng đặc trưng giống quạt hoặc giống tua bin [5]. Chi tảo nâu *Turbinaria* đã được nhiều nhà nghiên cứu quan tâm và trở nên nổi tiếng vì có các đặc điểm hình thái riêng biệt và thành phần sinh hóa đa dạng. Nhiều báo cáo trước đây chỉ ra rằng chiết xuất từ các loài tảo biển thuộc họ *Turbinaria* spp. có hoạt tính chống oxy hóa và chống viêm [6]-[8]. Ngoài ra, các loài này được ghi nhận chứa các thành phần dinh dưỡng thiết yếu như muối khoáng (K, Ca và Fe), chất xơ hòa tan, protein và acid béo không bão hòa, ... [9]. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu khảo sát khả năng chống oxy hóa *in vitro* và *in vivo* của hai loài tảo nâu *T. decurrens* và *T. conoides* được thu thập tại hòn Đầm Đước, xã Sơn Hải, huyện Kiên Lương, tỉnh Kiên Giang.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Hoá chất

Hoá chất sử dụng trong thí nghiệm: DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, $C_{18}H_{12}N_5O_6$; Merck, Đức), ABTS ((2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$; Merck, Đức), acid gallic ($C_7H_6O_5$; Merck, Đức), quercetin ($C_{15}H_{10}O_7$; Merck, Đức), Folin-Ciocalteu (Merck, Đức), kali ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$; Xiong, Trung Quốc), Potassium persulfate ($K_2S_2O_8$; Xiong, Trung Quốc), trichloroacetic acid (Cl_3CCOOH ; Xiong, Trung Quốc), ammonium molybdate ($H_8MoN_2O_4$; SRL, Ấn Độ), aluminum chloride ($AlCl_3$; Xiong, Trung Quốc), sodium nitrite ($NaNO_2$; Xiong, Trung Quốc), sodium hydroxide ($NaOH$; Xiong, Trung Quốc) và hydrogen peroxide (H_2O_2 ; Merck, Đức) và một số hóa chất khác.

2.2. Thu mẫu tảo

Hai loài *T. decurrens* và *T. conoides* (2 kg) được thu thập tại hòn Đầm Đước thuộc xã Sơn Hải, huyện Kiên Lương, tỉnh Kiên Giang vào tháng 02 năm 2024, với toạ độ thu mẫu là *T. conoides*: 10°08'30.9"N 104°29'36.1"E (10.141913, 104.493355) và *T. decurrens*: 10°08'31.0"N 104°29'36.1"E (10.141952, 104.493347) (Hình 1). Các mẫu tảo biển được rửa kỹ bằng nước biển, phơi khô trong bóng râm và nghiền thành bột.



Hình 1. Vị trí địa lý khu vực thu mẫu và hai loài tảo nâu (A) *T. Conoides*; (B) *T. decurrens*

2.3. Điều chế cao chiết

Mẫu bột tảo được ngâm trong ethanol 96% trong 24 giờ, dịch chiết được lọc và giữ, sau đó ethanol mới được thêm vào để ngâm đậm trong 24 giờ tiếp theo, dịch chiết tiếp tục được lọc và giữ, quá trình được tiến hành lặp lại 5 lần. Dịch trích được tập hợp lại, sau đó đem cô quay đuổi dung môi thu cao chiết ethanol tổng. Cao chiết được lưu giữ ở 4°C để thực hiện cho các thử nghiệm đánh giá hoạt tính chống oxy hoá.

2.4. Định lượng các hợp chất có hoạt tính chống oxy hoá

2.4.1. Định lượng hàm lượng phenolic

Hàm lượng phenolic có trong cao chiết hai loài tảo nâu được định lượng bằng thuốc thử Folin-Ciocalteu theo phương pháp của Nguimbou và cộng sự (2014) [10]. Hỗn hợp phản ứng được tạo ra bằng cách cho 250 µL cao chiết, 250 µL nước và 250 µL thuốc thử Folin-Ciocalteu (tỉ lệ Folin-Ciocalteu: nước là 1:4) vào ống eppendorf, lắc đều. Sau đó cho thêm vào hỗn hợp 250 µL Na₂CO₃ 10%, hỗn hợp được ủ trong máy ổn nhiệt 30 phút ở 40°C. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được ghi nhận ở bước sóng 765 nm. Kết quả hàm lượng phenolic trong cao chiết được biểu diễn bằng đương lượng mg acid gallic trên g cao chiết dựa vào phương trình đường chuẩn của chất chuẩn acid gallic.

2.4.2. Định lượng hàm lượng flavonoid

Hàm lượng flavonoid tổng số có trong cao chiết được xác định theo phương pháp của Zhishen và cộng sự (1999) [11]. Phương pháp này dựa trên nguyên tắc so màu để xác định hàm lượng flavonoid dựa trên phản ứng của flavonoid với hệ thống sinh màu NaNO₂Al(III)-NaOH. Hỗn hợp phản ứng được tạo ra bằng cách cho 200 µL cao chiết nồng độ 500 µg/mL, 200 µL nước cất và 40 µL NaNO₂ 5% vào ống eppendorf rồi lắc đều, để yên 5 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó thêm vào hỗn hợp phản ứng AlCl₃ 10% (40 µL) rồi lắc đều, để yên trong 6 phút. Sau 6 phút, tiếp tục thêm vào 400 µL NaOH 1 M và nước cất vào hỗn hợp cho đủ 1 mL. Hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 510 nm. Kết quả hàm lượng flavonoid trong cao chiết được biểu diễn bằng đương lượng mg quercetin trên g cao chiết dựa vào phương trình đường chuẩn của chất chuẩn quercetin.

2.5. Đánh giá hoạt tính chống oxy hoá in vitro của cao chiết

2.5.1. Phương pháp DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate)

Khả năng chống oxy hóa của cao chiết đã được đánh giá bằng cách sử dụng thuốc thử DPPH, theo phương pháp của Sharma và cộng sự (2009) [12]. Cao chiết được pha loãng trong methanol theo dãy nồng độ khảo sát. Các mẫu cao chiết (100 µL) được thêm vào từng giếng của đĩa 96 giếng. Thuốc thử DPPH (100 µL) sau đó được chuyển đến từng giếng có chứa mẫu. Các đĩa ủ trong tối trong 60 phút ở 37°C. Mẫu đối chứng (methanol) được chuẩn bị bằng cách thay thế cùng một lượng dịch chiết đã pha loãng. Độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 515 nm. Phần trăm hoạt tính chống oxy hóa của gốc tự do DPPH[•] được tính như sau (1):

$$E (\%) = [(A_1 - A_0)/A_0] \times 100 \quad (1)$$

Trong đó:

E: Hiệu quả chống oxy hóa (khả năng trung hòa gốc tự do DPPH) (%)

A₀: Giá trị Abs của mẫu đối chứng

A₁: Giá trị Abs của mẫu cao chiết

2.5.2. Phương pháp ABTS (2,2'-Azinobis-(3-Ethylbenzthiazolin-6-Sulfonic Acid))

Khả năng chống oxy hóa của cao chiết đã được đánh giá bằng cách sử dụng thuốc thử ABTS, theo phương pháp của Shah và Modi 2015 [13]. Dung dịch gốc ABTS^{•+} được chuẩn bị bằng cách

cho dung dịch ABTS (7 mM) phản ứng với dung dịch kali persulfat 2,45 mM với thể tích bằng nhau, hỗn hợp được để yên trong tối ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ trước khi sử dụng. Quá trình pha loãng được thực hiện bằng cách trộn dung dịch ABTS gốc với methanol đến khi độ hấp thụ của dung dịch đo được là $0,736 \pm 0,01$ ở bước sóng 734 nm. Phản ứng được thực hiện bằng cách cho cao chiết ở các nồng độ khác nhau bằng cách pha loãng với methanol (1,0 mL), sau đó cho phản ứng với dung dịch ABTS (1,0 mL). Hỗn hợp được ủ tối trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 734 nm. Phần trăm hoạt động khử gốc tự do ABTS của chiết xuất tảo nâu được tính dựa trên công thức sau (2):

$$E (\%) = [(A_1 - A_0)/A_0] \times 100 \quad (2)$$

Trong đó:

E: Hiệu quả chống oxy hóa (khả năng trung hòa gốc tự do ABTS) (%)

A₀: Giá trị Abs của mẫu đối chứng (methanol)

A₁: Giá trị Abs của mẫu cao chiết

2.5.3. Phương pháp khử kim loại (RP)

Khả năng khử sắt của chiết xuất ethanol tảo nâu được thực hiện theo mô tả bởi Chaves và cộng sự (2020) [14]. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách cho 500 μ L cao chiết ở các nồng độ khảo sát khác nhau (được pha loãng bằng ethanol), 500 μ L đệm phosphate (0,2 mM, pH = 6,6) và 500 μ L potassium ferrocyanide 1% vào ống eppendorf, hỗn hợp phản ứng được ủ trong bể điều nhiệt ở 50°C trong 20 phút. Sau đó 500 μ L trichloroacetic acid 10% cho thêm vào phản ứng và tiến hành ly tâm 3000 vòng trong 10 phút. Lấy 500 μ L dịch lớp trên cho vào Eppendorf mới và bổ sung 400 μ L nước cất và 100 μ L FeCl₃ 0,1%. Độ hấp thụ của mẫu cao chiết hoặc đối chứng được ghi nhận ở bước sóng 700 nm.

2.5.4. Phương pháp chống oxy hoá tổng (TAC)

Thử nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Nazir và cộng sự (2020) [15] nhằm đánh giá khả năng chống oxy hóa tổng của cao chiết tảo nâu. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách cho 100 μ L mẫu dịch chiết ở các nồng độ khác nhau (pha loãng bằng ethanol), 900 μ L thuốc thử TAC (acid sunfuric 0,6 M, sodium photphate 28 mM và amonium molybdate 4 mM) vào các ống Eppendorf. Hỗn hợp được phản ứng bằng cách ủ mẫu trong bể ủ nhiệt ở 90°C trong 90 phút, sau đó làm mát ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ của mẫu cao chiết hoặc đối chứng (ethanol) được ghi nhận ở bước sóng 630 nm.

2.6. Đánh giá hiệu quả chống oxy hoá trên mô hình ruồi giấm

Hydrogen peroxide (H₂O₂) là một chất oxy hóa mạnh và sản phẩm của quá trình oxy hóa tế bào. Trong tế bào, gốc hydroxyl (OH[•]) được hình thành do phản ứng của O₂ với H₂O₂ với sự có mặt của Fe²⁺ hoặc Cu² (chất xúc tác) [16]. Nó là thành phần chính trong các phản ứng oxy hóa khử, được tạo ra từ quá trình biến dưỡng sinh học bên trong cơ thể sinh vật. Do đó, sử dụng H₂O₂ làm tác nhân gây stress oxy hoá cho ruồi giấm để đánh giá hiệu quả chống oxy hoá trong điều kiện *in vivo* của hai cao chiết tảo nâu.

Thử nghiệm được tiến hành bằng cách chọn 60 con ruồi đực mới nở trong 24 giờ, nuôi trong ba loại môi trường: môi trường có bổ sung cao chiết (1 mg/mL thức ăn), môi trường bổ sung chất chống oxy hóa (acid gallic 0,05 mg/mL thức ăn) và môi trường tiêu chuẩn (ethanol), thức ăn được thay mới sau mỗi 2 ngày. Ruồi giấm được nuôi 10 ngày trong ba loại môi trường được gây mê bằng CO₂, sau đó cho ra lọ rỗng và giữ ruồi ở tình trạng bị đói trong 2 giờ. Sau đó ruồi được cho vào lọ thủy tinh có giấy thấm H₂O₂ 10% được pha trong dung dịch đường saccharose 6% để đánh giá khả năng chống chịu stress oxy hoá. Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần cho mỗi nghiệm thức (mỗi nghiệm thức gồm 20 con ruồi).

2.7. Xử lý số liệu thống kê

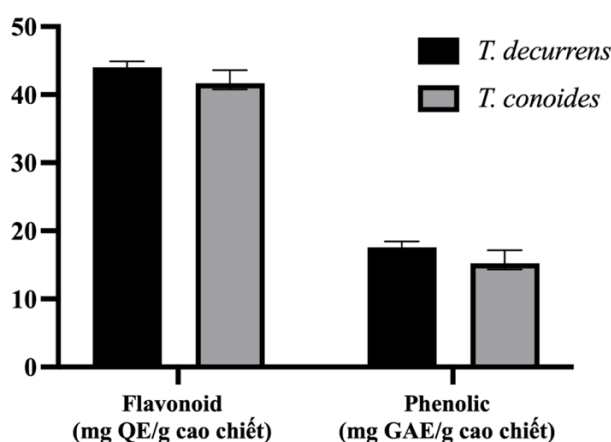
Phương pháp xử lý số liệu: Microsoft Excel được dùng để lưu và xử lý số liệu.

Phương pháp thống kê số liệu: Phân tích thống kê các số liệu bằng phần mềm Minitab (phiên bản 16). Biểu đồ được vẽ và biểu diễn bằng phần mềm GraphPad Prism 9 và Excel.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Hàm lượng hai nhóm hợp chất flavonoid và phenolic

Phương trình hồi quy tuyến tính của chất chuẩn acid gallic được xây dựng trong dãy nồng độ từ 2 đến 30 $\mu\text{g/mL}$ là $y = 0,0814x + 0,0029$ ($R^2 = 0,9947$). Tương tự, phương trình hồi quy tuyến tính của chất chuẩn quercetin cũng được xây dựng trong dãy nồng độ từ 20 đến 120 $\mu\text{g/mL}$ là $y = 0,0046x + 0,0218$ ($R^2 = 0,9832$). Trên cơ sở hai đường chuẩn này, hàm lượng phenolic tổng (dựa trên phương trình của chất chuẩn acid gallic) và flavonoid (dựa trên phương trình của chất chuẩn quercetin) toàn phần có trong 02 cao chiết thảo nân được xác định và kết quả biểu diễn trong Hình 2.

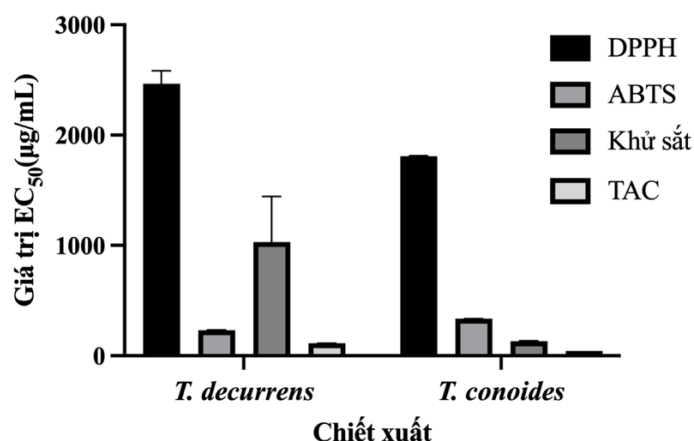


Hình 2. Hàm lượng hai nhóm hợp chất flavonoid và phenolic có chứa trong hai mẫu cao chiết thảo nân *T. decurrens* và *T. conoides*

Kết quả định lượng cho thấy trong cao chiết ethanol từ 02 loài thảo nân có sự hiện diện của hai hợp chất flavonoid và phenolic lần lượt là: *T. decurrens* (43,19 ± 2,24 mg QE/g cao chiết; 16,73 ± 2,24 mg GAE/g cao chiết) và *T. conoides* (42,02 ± 1,46 mg QE/g cao chiết; 15,57 ± 1,45 mg GAE/g cao chiết). Hàm lượng hai chất chống oxy hoá phenolic và flavonoid của hai loài thảo nân trong nghiên cứu gần bằng nhau. Khi so sánh với nghiên cứu của El-Shenody và cộng sự (2019) [17] về thành phần hóa học và hoạt động chống oxy hoá của thảo nân *T. decurrens* được thu thập tại Ai Cập cho thấy hàm lượng phenolic là 16,9 ± 3,2 mg GAE/g cao chiết tương đương với hàm lượng của *T. decurrens* trong nghiên cứu và hàm lượng flavonoid là 2,1 ± 0,8 mg QE/g cao chiết thấp hơn so với nghiên cứu này. Trong một nghiên cứu khác về thành phần hóa học, hoạt tính chống oxy hóa và kháng ung thư của chiết xuất methanol *T. decurrens* [18], kết quả cho thấy hàm lượng flavonoid là 11,63 ± 0,17 mg QE/g chiết xuất, cao hơn so với nghiên cứu của El-Shenody và cộng sự (2019) [17], nhưng lại thấp hơn so với nghiên cứu hiện tại. Phân đoạn ethyl acetate của *T. conoides* trong nghiên cứu của Chakraborty và cộng sự (2013) [9] ghi nhận hàm lượng phenolic cao hơn đáng kể (105,97 mg GAE/g).

3.2. Hiệu quả chống oxy hoá của hai chiết xuất thảo nân trong điều kiện in vitro

Trong những năm gần đây, để thay thế cho các chất hóa học tổng hợp, các chất có nguồn gốc tự nhiên từ thực vật, đặc biệt chú trọng đến chất chống oxy hóa tự nhiên đang được nhiều nhà nghiên cứu quan tâm. Để xác định khả năng chống oxy hóa của chiết xuất thảo, các phương pháp khảo nghiệm chống oxy hóa như DPPH, ABTS, RP, TAC đã được thực hiện, kết quả được trình bày qua Hình 3.



Hình 3. Hoạt tính chống oxy hoá ở bốn phương pháp khảo sát của hai chiết xuất từ hai loài tảo nâu

3.2.1. Hiệu quả khử gốc tự do DPPH

Theo kết quả nghiên cứu ở thử nghiệm khử gốc tự do DPPH, cao chiết *T. conoides* cho hiệu quả khử gốc tự do DPPH hiệu quả hơn so với chiết xuất *T. decurrens*, với giá trị EC_{50} lần lượt là 1777,54 µg/mL và 2444,97 µg/mL. Ở cùng nồng độ 2500 mg/mL, chiết xuất *T. conoides* cho hiệu quả khử gốc tự do DPPH là 68,46%, trong khi cao chiết *T. decurrens* chỉ cho hiệu quả 46,27%. Giá trị EC_{50} là 40,66 mg/mL đối với chiết xuất acetone của *T. decurrens* được thu thập tại bãi biển Hurghada, Ai Cập, kém hiệu quả hơn so với hai chiết xuất trong nghiên cứu *T. decurrens* và *T. conoides* [19]. Trong một nghiên cứu khác của Sanger và cộng sự (2021) [20] về hoạt tính chống oxy hoá của các loài tảo biển thu thập dọc theo bờ biển Bắc Sulawesi, Indonesia, kết quả cho thấy rằng chiết xuất từ tảo biển *T. decurrens* cho hiệu quả chống oxy hoá khử gốc tự do DPPH với EC_{50} là 0,25 mg/mL.

3.2.2. Hiệu quả khử gốc tự do ABTS

Ngược lại so với phương pháp DPPH, kết quả nghiên cứu ở phương pháp khử gốc tự do ABTS cho thấy, cao chiết *T. decurrens* có hoạt tính chống oxy hóa khử gốc tự do ABTS tốt hơn so với cao chiết từ tảo *T. conoides* với giá trị EC_{50} của hai cao chiết lần lượt là $228,85 \pm 6,90$ µg/mL và $331,93 \pm 6,72$ µg/mL. Tuy nhiên, khi so sánh với các nghiên cứu trước đó về hiệu quả khử gốc tự do ABTS cho thấy, chiết xuất tảo *T. conoides* cho hiệu quả tốt hơn so với nghiên cứu của Delma và cộng sự (2015) [21] về hoạt tính chống oxy hoá của loài tảo *T. conoides* được thu ở bờ biển Đông nam Ấn Độ (EC_{50} là 323,8 µg/mL) và hiệu quả hơn so với chiết xuất tảo *T. conoides* thu thập tại vịnh Thái Lan trong nghiên cứu của Boonchum và cộng sự (2011) [22] với giá trị EC_{50} là 5,29 mg/mL. Hiệu quả khử gốc tự do của cao chiết *T. decurrens* kém hiệu quả hơn so với nghiên cứu của Hasan và cộng sự (2022) [18] về hiệu quả của chiết xuất methanol 70% của *T. decurrens* thu thập tại Ai Cập với hiệu quả khử 68,48% tại nồng độ 100 µg/mL.

3.2.3. Hiệu quả khử kim loại (RP)

Hiệu quả khử kim loại sắt có trong hai cao chiết được xác định dựa trên giá trị EC_{50} với phương trình tuyến tính lần lượt là $y = 0,0004x + 0,076$; $R^2 = 0,9165$ và $y = 0,002x + 0,2337$; $R^2 = 0,973$ tương ứng với chiết xuất *T. decurrens* và *T. conoides*. Cao chiết *T. conoides* cho hiệu quả khử kim loại với giá trị EC_{50} là $133,10 \pm 1,82$ µg/mL tốt hơn so với chiết xuất *T. decurrens* ($EC_{50} = 1029,33 \pm 19,63$ µg/mL). Khi so sánh với loài tảo nâu khác là *Laminaria japonica* tại nồng độ 1,84 mg/mL có khả năng khử 12%, cho hiệu quả kém hơn so với hai chiết xuất *T. decurrens* và *T. conoides* [23].

3.2.4. Hiệu quả chống oxy hoá tổng (TAC)

Khả năng chống oxy hóa tổng (TAC) được biểu diễn thông qua giá trị EC_{50} (Hình 3), giá trị EC_{50} càng nhỏ thì khả năng chống oxy hóa càng tốt. Tương tự như ở phương pháp DPPH, ở phương

pháp này cao chiết từ tảo *T. conoides* cho hiệu quả chống oxy hoá tốt hơn so với *T. decurrens* với giá trị EC_{50} lần lượt là $43,59 \pm 1,01 \mu\text{g/mL}$ và $105,98 \pm 6,33 \mu\text{g/mL}$. Hoạt tính chống oxy hoá tổng của chiết xuất tảo nâu *Padina tetrastomatica* cho hiệu quả kém hơn so với hai chiết xuất sử dụng trong nghiên cứu, với giá trị EC_{50} lên đến $4434,33 \pm 35,28 \mu\text{g/g}$ [24].

3.3. Hiệu quả chống chịu stress oxy hoá của hai cao chiết tảo trên mô hình ruồi giấm

Hiệu quả chống chịu stress oxy hoá do tác nhân H_2O_2 10% gây ra của ruồi giấm được nuôi trong môi trường có bổ sung acid gallic (0,05 mg/mL) và cao chiết tảo nâu (1 mg/mL) đã được xác định trong nghiên cứu. Hiệu quả chống chịu stress oxy hoá của hai loại cao chiết tảo được thể hiện qua kết quả của ba chỉ tiêu đánh giá bao gồm thời gian sống sót trung bình (%), thời gian còn 50% sống sót và thời gian còn 10% sống sót (Bảng 1).

Bảng 1. Hiệu quả chống oxy hoá *in vivo* của cao chiết trong điều kiện stress oxy hoá H_2O_2

Nghiệm thức	Thời gian sống sót trung bình (%)	Thời gian còn 50% sống sót (%)	Thời gian còn 10% sống sót (%)
Đối chứng	$38,33 \pm 0,35^c$	$34,33 \pm 2,08^c$	$47,67 \pm 1,15^b$
Acid gallic	$52,67 \pm 1,72^a$	$52,00 \pm 1,32^a$	$63,67 \pm 1,61^a$
<i>T. decurrens</i>	$39,80 \pm 3,12^c$	$38,67 \pm 2,08^c$	$48,33 \pm 1,15^b$
<i>T. conoides</i>	$45,73 \pm 2,40^b$	$45,67 \pm 1,15^b$	$57,67 \pm 7,57^{a,b}$

Ghi chú: Các chữ cái trên cùng một cột biểu diễn sự khác biệt không ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey.

Kết quả từ Bảng 1 cho thấy thời gian sống sót của ruồi giấm trong điều kiện H_2O_2 10% khi có bổ sung acid gallic (0,05 mg/mL) và cao chiết tảo (1 mg/mL) vào thức ăn được kéo dài hơn so với môi trường tiêu chuẩn (đối chứng). Thời gian sống sót trung bình của cao chiết *T. decurrens* và *T. conoides* kéo dài hơn so với đối chứng lần lượt là 3,84% và 19,31%. Thời gian còn 50% sống sót và 10% sống sót của cao chiết hai loài tảo nâu đều kéo dài hơn so với đối chứng. Cụ thể, thời gian còn 50% sống sót và 10% sống sót của cao chiết tảo *T. decurrens* kéo dài hơn 3,44 giờ và 0,66 giờ. Cao chiết *T. conoides* cho hiệu quả chống chịu trong điều kiện H_2O_2 tốt hơn với thời gian còn 50% sống sót và 10% sống sót lần lượt dài hơn đối chứng 11,34 giờ và 10 giờ. Trong nghiên cứu của Li và cộng sự (2020) đã chứng minh chiết xuất nước tảo nâu *Saccorhiza polyschides* có tác dụng chống chịu stress oxy hoá tốt, kéo dài tuổi thọ khoảng 10% [25]. Fucoxanthin một carotenoid và là sắc tố quang hợp chính được chiết xuất từ tảo nâu, đã được chứng minh có tác dụng chống oxy hoá, kéo dài tuổi thọ trên ruồi giấm *D. melanogaster* [26].

Những kết quả trên đã góp phần chứng minh cao chiết loài tảo nâu *T. conoides* có tác dụng chống oxy hóa tốt thông qua thí nghiệm trong điều kiện *in vitro* và *in vivo*.

4. Kết luận

Qua những kết quả từ các khảo sát đánh giá hoạt tính chống oxy hoá của cao chiết hai loài tảo nâu thuộc chi *Turbinaria* trong điều kiện *in vitro* (DPPH, ABTS, RP, TAC) và *in vivo* (mô hình ruồi giấm) cho thấy cao chiết từ loài *T. conoides* có tác dụng chống oxy hóa tốt thông qua các thử nghiệm trong điều kiện *in vitro* và *in vivo*.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được hỗ trợ bởi nguồn kinh phí từ Bộ Giáo dục và Đào tạo Việt Nam. Đề tài nghiên cứu mã số: B2024-TCT-08.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] S. J. S. Flora, "Arsenic-induced oxidative stress and its reversibility," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 51, no. 2, pp. 257-281, 2011, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.04.008.
- [2] V. Gnanavel, S. M. Roopan, and S. Rajeshkumar, "Aquaculture: An overview of chemical ecology of seaweeds (food species) in natural products," *Aquaculture*, vol. 507, pp. 1-6, 2019, doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.04.004.

- [3] T. Rahman, I. Hosen, M. M. T. Islam, and H. U. Shekhar, "Oxidative stress and human health," *Advances in Bioscience and Biotechnology*, vol. 03, no. 07, 2012, doi: 10.4236/abb.2012.327123.
- [4] C. Hano and D. Tungmunthum, "Plant Polyphenols, More than Just Simple Natural Antioxidants: Oxidative Stress, Aging and Age-Related Diseases," *Medicines*, vol. 7, no. 5, 2020, doi: 10.3390/medicines7050026.
- [5] S. Rattaya, S. Benjakul, and T. Prodpran, "Extraction, antioxidative, and antimicrobial activities of brown seaweed extracts, *Turbinaria ornata* and *Sargassum polycystum*, grown in Thailand," *Int Aquat Res*, vol. 7, no. 1, 2015, doi: 10.1007/s40071-014-0085-3.
- [6] A. Ponnann, K. Ramu, M. Marudhamuthu, R. Marimuthu, K. Siva, and M. Kadarkarai, "Antibacterial, antioxidant and anticancer properties of *Turbinaria conoides* (J. Agardh) Kuetz," *Clinical Phytoscience*, vol. 3, no. 1, 2017, doi: 10.1186/s40816-017-0042-y.
- [7] F. J. Sami, N. H. Soekamto, Firdaus, and J. Latip, "Total phenolic, antioxidant activity and toxicity effect of *Turbinaria decurrens* extracts from South Sulawesi," *Journal of Physics: Conference Series*, vol. 1341, no. 3, p. 032008, 2019, doi: 10.1088/1742-6596/1341/3/032008.
- [8] S. Ananthi, H. R. B. Raghavendran, A. G. Sunil, V. Gayathri, G. Ramakrishnan, and H. R. Vasanthi, "In vitro antioxidant and in vivo anti-inflammatory potential of crude polysaccharide from *Turbinaria ornata* (Marine Brown Alga)," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 48, no. 1, 2010, doi: 10.1016/j.fct.2009.09.036.
- [9] K. Chakraborty, N. K. Praveen, K. K. Vijayan, and G. S. Rao, "Evaluation of phenolic contents and antioxidant activities of brown seaweeds belonging to *Turbinaria* spp. (Phaeophyta, Sargassaceae) collected from Gulf of Mannar," *Asian Pac J Trop Biomed*, vol. 3, no. 1, 2013, doi: 10.1016/S2221-1691(13)60016-7.
- [10] R. M. Nguimbou, T. Boudjeko, N. Y. Njintang, M. Himeda, J. Scher, and C. M. F. Mbofung, "Mucilage chemical profile and antioxidant properties of giant swamp taro tubers," *Journal of food science and technology*, vol. 51, pp. 3559-3567, 2014, doi: 10.1007/s13197-012-0906-6.
- [11] J. Zhishen, T. Mengcheng, and W. Jianming, "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals," *Food Chem*, vol. 64, no. 4, 1999, doi: 10.1016/S0308-8146(98)00102-2.
- [12] O. P. Sharma and T. K. Bhat, "DPPH antioxidant assay revisited," *Food Chem*, vol. 113, no. 4, 2009, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.08.008.
- [13] P. Shah and H. A. Modi, "Comparative Study of DPPH, ABTS and FRAP Assays for Determination of Antioxidant Activity," *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology (IJRASET)*, vol. 3, no. 6, pp. 636-641, 2015.
- [14] N. Chaves, A. Santiago, and J. C. Alias, "Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used," *Antioxidants*, vol. 9, no. 1, 2020, doi: 10.3390/antiox9010076.
- [15] S. Nazir *et al.*, "Callus culture of Thai basil is an effective biological system for the production of antioxidants," *Molecules*, vol. 25, no. 20, 2020, doi: 10.3390/molecules25204859.
- [16] M. Genestra, "Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants," *Cell Signal*, vol. 19, no. 9, pp. 1807-1819, Sep. 2007, doi: 10.1016/J.CELLSIG.2007.04.009.
- [17] R. A. El-Shenody, M. Ashour, and M. M. E. Ghobara, "Evaluating the chemical composition and antioxidant activity of three Egyptian seaweeds: *Dictyota dichotoma*, *Turbinaria decurrens*, and *Laurencia obtusa*," *Brazilian Journal of Food Technology*, vol. 22, 2019, doi: 10.1590/1981-6723.20318.
- [18] E. A. Hasan, M. A. El-Hashash, M. K. Zahran, and H. M. El-Rafie, "Comparative study of chemical composition, antioxidant and anticancer activities of both *Turbinaria decurrens* Bory methanol extract and its biosynthesized gold nanoparticles," *J Drug Deliv Sci Technol*, vol. 67, 2022, doi: 10.1016/j.jddst.2021.103005.
- [19] G. A. Ismail, S. F. Gheda, A. M. Abo-Shady, and O. H. Abdel-Karim, "In vitro potential activity of some seaweeds as antioxidants and inhibitors of diabetic enzymes," *Food Science and Technology (Brazil)*, vol. 40, no. 3, 2020, doi: 10.1590/fst.15619.
- [20] G. Sanger, L. K. Rarung, D. Wonggo, V. Dotulong, L. J. Damongilala, and T. E. Tallei, "Cytotoxic activity of seaweeds from North Sulawesi marine waters against cervical cancer," *J Appl Pharm Sci*, vol. 11, no. 9, 2021, doi: 10.7324/JAPS.2021.110908.

-
- [21] C. R. Delma, S. T. Somasundaram, G. P. Srinivasan, M. Khursheed, M. D. Bashyam, and N. Aravindan, "Fucoidan from turbinaria conoides: A multifaceted 'deliverable' to combat pancreatic cancer progression," *Int J Biol Macromol*, vol. 74, 2015, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.12.031.
- [22] W. Boonchum *et al.*, "Antioxidant activity of some seaweed from the Gulf of Thailand," *Int J Agric Biol*, vol. 13, no. 1, pp. 95-99, 2011.
- [23] Z. Zhang, F. Wang, X. Wang, X. Liu, Y. Hou, and Q. Zhang, "Extraction of the polysaccharides from five algae and their potential antioxidant activity in vitro," *Carbohydr Polym*, vol. 82, no. 1, 2010, doi: 10.1016/j.carbpol.2010.04.031.
- [24] O. Honey, S. A. I. Nihad, M. A. Rahman, M. M. Rahman, M. Islam, and M. Z. R. Chowdhury, "Exploring the antioxidant and antimicrobial potential of three common seaweeds of Saint Martin's Island of Bangladesh," *Heliyon*, vol. 10, no. 4, 2024, doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e26096.
- [25] Y. Li *et al.*, "Furbellow (Brown algae) extract increases lifespan in *Drosophila* by interfering with TOR-signaling," *Nutrients*, vol. 12, no. 4, 2020, doi: 10.3390/nu12041172.
- [26] E. Lashmanova *et al.*, "Fucoxanthin increases lifespan of *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*," *Pharmacol Res*, vol. 100, 2015, doi: 10.1016/j.phrs.2015.08.009.