

## EFFECT OF TEA SIZE ON THE ANTIBACTERIAL, ANTIOXIDANT, AND CANCER CELL TOXIC ACTIVITIES OF GREEN TEA

Vi Thi Xuan Thuy<sup>1\*</sup>, Dang Xuan Hoang<sup>1</sup>, Vu Duc Toan<sup>1</sup>, Nguyen Anh Nam<sup>2</sup>, Doan Nguyen Phu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tay Bac University, <sup>2</sup>Department of Education and Training of Son La province

| ARTICLE INFO         | ABSTRACT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Received: 07/12/2023 | Tea is the second most commonly consumed beverage in the world. Green tea is the best for cancer prevention; it is an antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial. This study aims to analyse the effect of size on the biological activity of green tea to find a healthy way to drink green tea. Using quality analysis methods and testing for antibacterial, antioxidant and toxic to cancer cell lines, show that green tea samples measuring 2-3 mm dipped in hot water (100°C) for 5 minutes ensure sensory quality. The antibacterial ability (200 mg/mL) of small ground sample (2-3 mm) in <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) was 1.6 times higher than that of unground green tea samples, <i>Staphylococcus aureus</i> 2.5 times, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1.64 times. At a 128 µg/mL concentration, a 2-3mm green tea sample reduced DPPH free radicals at 68%, and an unground green tea sample at 63%. At a residual concentration of 256 µg/mL, the 2-3 mm green tea sample inhibited the growth of cancer cell lines higher than the unground sample, HepG2 (liver cancer) 3.45 times, KB (carcinoma) 3.21 times, A549 cell line (lung cancer) 2.98 times, MCF-7 (breast cancer) 2.43 times. |
| Revised: 05/3/2024   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Published: 11/3/2024 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| KEYWORDS             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Antioxidant          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Antibacterial        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Cancer cell toxin    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Finely ground        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Green tea            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

## ẢNH HƯỞNG CỦA KÍCH THƯỚC TRÀ ĐẾN HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN, CHỐNG OXY HÓA, GÂY ĐỘC TẾ BÀO UNG THƯ CỦA NƯỚC TRÀ XANH

Vi Thị Xuân Thủy<sup>1\*</sup>, Đặng Xuân Hoàng<sup>1</sup>, Vũ Đức Toàn<sup>1</sup>, Nguyễn Nam Anh<sup>2</sup>, Đoàn Nguyễn Phú<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Tây Bắc, <sup>2</sup>Sở Giáo dục và Đào tạo tỉnh Sơn La

| THÔNG TIN BÀI BÁO          | TÓM TẮT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ngày nhận bài: 07/12/2023  | Trà là đồ uống được tiêu thụ phổ biến đứng thứ hai trên thế giới. Trà xanh là loại trà được cho là tốt nhất về tác dụng ngăn ngừa ung thư, chống oxy hóa, chống viêm, kháng khuẩn... Nghiên cứu này có mục tiêu phân tích ảnh hưởng của kích thước đến hoạt tính sinh học của trà xanh, để có cách uống trà xanh tốt cho sức khỏe. Đánh giá chất lượng cảm quan, thành phần hoá học và thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn, kháng oxy hoá và gây độc dòng tế bào ung thư của nước trà xanh, kết quả cho thấy, mẫu trà xanh có kích thước 2-3 mm được nhúng trong nước nóng (100°C) 5 phút đảm bảo về chất lượng cảm quan và khả năng kháng khuẩn (ở nồng độ cặn cò 200 mg/mL) cao hơn mẫu trà xanh không xay với <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) 1,6 lần, <i>Staphylococcus aureus</i> 2,5 lần, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1,64 lần. Ở nồng độ 128 µg/mL mẫu trà xanh 2-3 mm khử gốc tự do DPPH đạt 68%, còn mẫu trà xanh không xay đạt 63%. Ở nồng độ cặn cò 256 µg/mL mẫu trà xanh 2-3 mm ức chế sự phát triển dòng tế bào ung thư cao hơn mẫu không xay nhỏ, với dòng tế bào HepG2 (ung thư gan) 3,45 lần, dòng tế bào KB (ung thư biểu mô) 3,21 lần, dòng tế bào A549 (ung thư phổi) 2,98 lần, dòng tế bào MCF-7 (ung thư vú) 2,43 lần. |
| Ngày hoàn thiện: 05/3/2024 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Ngày đăng: 11/3/2024       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| TỪ KHÓA                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Chống oxy hóa              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Kháng khuẩn                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Độc tố tế bào ung thư      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Xay nhỏ                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Trà xanh                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9363>

\* Corresponding author. Email: xuanthuy@utb.edu.vn

## 1. Đặt vấn đề

Cây chè (*Camellia Sinensis*) là một loài cây thường xanh có nguồn gốc từ Bắc Ấn Độ và Nam Trung Quốc. Vùng có diện tích trồng chè lớn bao gồm phía tây nam Trung Quốc, bắc Lào, bắc Việt Nam, Myanma, Campuchia và vùng phía bắc Ấn độ [1]. Ở nhiều nước đang phát triển, ngành sản xuất chè đóng góp quan trọng vào phát triển nông thôn, giảm nghèo và an ninh lương thực. Bởi các hộ sản xuất chè nhỏ đóng góp đến 60% sản lượng chè trên thế giới. Sản lượng chè toàn cầu hằng năm đạt hơn 17 tỷ USD, trong khi thương mại chè thế giới trị giá khoảng 9,5 tỷ USD, chiếm một nguồn thu nhập xuất khẩu quan trọng [2]. Từ lá, búp cây chè sản xuất ra nhiều loại trà thương phẩm khác nhau như: trà trắng, trà xanh, trà vàng, trà đen, trà oolong... Trà trắng được chế biến từ những nụ đầu tiên, do đó là hiếm và giá thành rất cao. Trà xanh được sản xuất từ lá, búp chè chưa lên men bằng cách làm khô nhanh và do đó đã hạn chế lượng tanin [3]. Trà oolong là một loại trà truyền thống của Trung Quốc được sản xuất thông qua một quy trình độc đáo bao gồm làm héo dưới ánh mặt trời mạnh và quá trình oxy hóa trước uốn và xoắn, mức độ lên men khoảng 8% [3], [4]. Trà đen là loại trà bị oxy hóa hoàn toàn, chứa khoảng 10-20% thearubigens, theaflavin (1%-2%). Quá trình oxy hóa hoàn toàn tạo ra bisflavanol, là kết quả của quá trình flavanol trải qua trùng hợp oxy hóa polyphenol và oligome [5]. Trà đen là loại trà có tính oxy hóa, hương vị mạnh hơn trà oolong, trà xanh và trà trắng [6].

Trà là đồ uống được tiêu thụ phổ biến đứng thứ hai trên thế giới, chỉ đứng sau nước. Có nhiều loại trà khác nhau được chế biến từ cây chè, mỗi loại trà đều có hương vị và chất lượng hoạt tính sinh học khác có lợi cho sức khỏe con người [7], [8]. Trong số các loại trà khác nhau, trà xanh được cho là tốt nhất về tác dụng ngăn ngừa ung thư và hóa trị liệu [9]. Trà xanh chứa nhiều loại polyphenol có lợi, đặc biệt là flavonol và flavanol, những chất mang lại tác dụng tích cực của trà đối với sức khỏe. Chúng có đặc tính chống oxy hóa, chống viêm và tim mạch. Catechins là loại polyphenol chủ yếu được tìm thấy trong trà xanh, chúng có khả năng chelate các ion kim loại trong các phản ứng oxy hóa khử cũng như trung hòa các gốc tự do của oxy [10], [11].

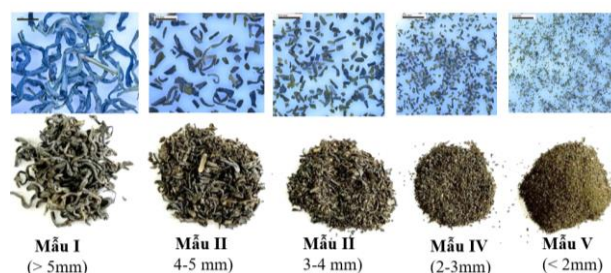
Ung thư là một rối loạn đa yếu tố thường phát sinh do ảnh hưởng của các yếu tố di truyền và môi trường [12]. Ung thư đã cướp đi gần 10 triệu sinh mạng vào năm 2020 [13]. Hơn nữa, dự đoán rằng số ca mắc bệnh ung thư toàn cầu vào năm 2025 sẽ lên tới khoảng 20 triệu người [14], [15]. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng, các polyphenol có trong lá trà xanh ức chế sự phân chia tế bào khối u cũng như tạo ra các enzyme chống oxy hóa giai đoạn II như superoxide effutase, glutathione-S-transferase, glutathione peroxidase và glutathione reductase [8], [16]. Các polyphenol trong trà xanh ức chế sự phát triển của tế bào ung thư vú, tuyến giáp, đại trực tràng, dạ dày, thực quản và tuyến tiền liệt [17], [18]. Hoạt tính ngăn ngừa ung thư của trà xanh được thực hiện thông qua catechin (flavan-3-ols) và hoạt chất sinh học chính thành phần của chiết xuất trà xanh là EC, EGC, ECG, EGCG, trong đó EGCG có nhiều nhất [19], [20].

Với những tác dụng tốt cho sức khỏe, trà là loại nước uống quen thuộc, trở thành văn hóa của người Việt Nam. Ở nước ta, thường uống trà tươi (đun lá tươi) và trà khô. Uống trà tươi thường phụ thuộc vào mùa vụ, không có sẵn, cách sử dụng không được thuận tiện... do đó uống trà khô được sử dụng phổ biến hơn. Trà khô phổ biến nhất là trà xanh, tiếp đến là trà oolong, còn trà trắng, trà đen thì rất ít. Cách thức uống trà xanh là pha trong nước nóng, sau 3-5 phút thì thường thức. Câu hỏi đặt ra là cách thức pha trà xanh như vậy có chiết rút được các chất có hoạt tính sinh học có lợi cho sức khỏe hay không? Xay nhỏ trà xanh để pha uống có tốt hơn không? Do đó nghiên cứu ảnh hưởng của kích thước trà đến hoạt tính sinh học của nước trà xanh để có cách thức uống trà tốt cho sức khỏe là cần thiết.

## 2. Vật liệu, phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Trà xanh Trọng Nguyên của Hợp tác xã Sản xuất kinh doanh và Tổng hợp Bình Thuận ở xã Phông Lái huyện Thuận Châu, tỉnh Sơn La không xay nhỏ (mẫu I) được làm đối chứng và các mẫu được xay nhỏ với các kích thước khác nhau (II, III, IV, V) để làm vật liệu nghiên cứu (Hình 1).



**Hình 1.** Hình ảnh, kích thước các mẫu trà xanh làm vật liệu nghiên cứu

Các loài vi khuẩn kiểm định *Escherichia coli* (ATCC 25922) (Gram (-), gây viêm đường tiêu hóa như: viêm ruột, viêm dạ dày, viêm đại tràng...); *Staphylococcus aureus* (Gram (+), gây ra viêm da, viêm phổi, viêm nội tâm mạc, viêm tủy xương...); *Pseudomonas aeruginosa* (Gram (-), gây viêm phổi, viêm vết thương hở, viêm đường ruột, tiết niệu,...) do Trung tâm Thực hành – Thí nghiệm, Trường Đại học Tây Bắc cung cấp.

Các dòng tế bào ung thư gồm: KB (ung thư biểu mô), HepG2 (ung thư gan), A549 (ung thư phổi), MCF-7 (ung thư vú) được sử dụng để xác định hoạt tính gây độc tế bào do Phòng Hóa sinh ứng dụng, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Đánh giá chất lượng cảm quan

Cân 1,0 g mỗi mẫu trà xanh cho vào túi lọc và nhúng vào 50 mL nước sôi (100°C), quan sát màu sắc, độ trong, hương thơm của trà theo thời gian. Thí nghiệm lặp lại 3 lần.

### 2.2.2. Định tính các hợp chất có trong nước trà xanh

**Định tính polyphenol:** Phản ứng với muối sắt (III): đong 5 mL nước trà mỗi mẫu vào ống nghiệm, sau đó bổ sung 0,5 mL muối sắt (III), quan sát hiện tượng. Phản ứng với dung dịch  $H_2SO_4$  đặc: đong 2 mL nước trà mỗi mẫu vào ống nghiệm, sau đó nhỏ 1-2 giọt  $H_2SO_4$  đặc và quan sát hiện tượng.

**Định tính các coumarin:** Đong 2 mL nước trà mỗi mẫu vào 2 ống nghiệm ký hiệu lần lượt là I và II. Cho vào ống II 0,5 mL dung dịch NaOH 10%. Đun cả 2 ống trên bếp cách thủy đến sôi, lấy ra để nguội, sau đó cho thêm 4 mL nước cất vào cả 2 ống I và II. Quan sát thấy chất lỏng ở ống II (có kiềm) trở nên trong suốt hoặc trong hơn ống I (không kiềm) có thể cho là có coumarin. Nếu đem acid hóa ống nghiệm có kiềm bằng một vài giọt HCl đặc mà làm cho dịch mất màu vàng đục hoặc xuất hiện kết tủa bông (cũng có khi xuất hiện kết tủa) thì có thể kết luận là có coumarin [21].

**Định tính tannin:** Đong 2 mL nước trà mỗi mẫu vào ống nghiệm rồi bổ sung thuốc thử vanilin/ $H_2SO_4$  lắc đều và quan sát. Nếu dịch chiết chuyển sang màu đỏ đậm là chứng tỏ có tannin.

### 2.2.3. Thử hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hóa, độc tế bào ung thư của nước trà xanh

- **Cô cạn mẫu để thử nghiệm:** Cân 50 g trà xanh mẫu số I (>5 mm) và mẫu IV (2-3 mm) cho vào túi lọc rồi nhúng trong 100 mL nước sôi (100°C) trong 5 phút. Sau đó nước trà xanh tiến hành quay chân không để thu cạn cô, cạn cô được sử dụng cho các nghiên cứu thử hoạt tính tiếp theo.

- **Phương pháp thử hoạt tính kháng khuẩn:** Được xác định bằng phương pháp đục lỗ thạch của B. Mahesh và S. Satish (2008) [22].

- **Phương pháp xác định khả năng chống oxy hóa DPPH:** Được tiến hành theo phương pháp của Abramović và cộng sự (2018) [23] sử dụng khả năng trung hòa gốc tự do DPPH.

- **Phương pháp xác định tính gây độc tế bào ung thư nuôi cấy dạng đơn lớp:** Phương pháp thử độc tính tế bào ung thư được thực hiện theo phương pháp của Skekan và cộng sự (1990) [24].

## 3. Kết quả và thảo luận

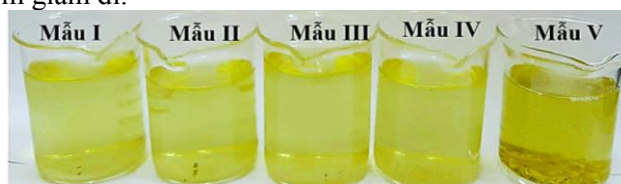
### 3.1. Ảnh hưởng của kích thước, thời gian pha đến chất lượng cảm quan trà xanh

Người dân Việt Nam uống trà ngoài vì những lợi ích mà trà mang lại còn là một thói quen, văn hóa. Nước trà có màu xanh, hương thơm đặc trưng là yêu cầu chất lượng cảm quan cơ bản của người dân Việt Nam khi uống trà, do đó ảnh hưởng của kích thước, thời gian pha đến chất lượng cảm quan trà xanh được nghiên cứu, kết quả được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của kích thước, thời gian pha đến chất lượng cảm quan các mẫu trà xanh nghiên cứu

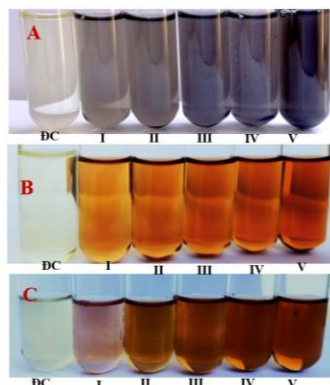
| Mẫu             | Thời gian nhúng (pha) trà xanh |                     |                 |                 |                        |
|-----------------|--------------------------------|---------------------|-----------------|-----------------|------------------------|
|                 | 1 phút                         | 3 phút              | 5 phút          | 7 phút          | 9 phút                 |
| Mẫu I (>5mm)    | Trong                          | Trong               | Xanh, thơm      | Xanh, thơm      | Vàng nhạt, thơm        |
| Mẫu II (4-5mm)  | Trong                          | Trong               | Xanh, thơm      | Xanh, thơm      | Vàng nhạt, thơm        |
| Mẫu III (3-4mm) | Trong                          | Xanh nhạt, thơm     | Xanh, thơm      | Vàng nhạt, thơm | Vàng, hơi thơm         |
| Mẫu IV (2-3 mm) | Xanh nhạt                      | Xanh nhạt, hơi thơm | Xanh, thơm      | Vàng, thơm      | Đỏ vàng, hơi thơm      |
| Mẫu V (<2mm)    | Vẫn đục                        | Xanh, đục, hơi thơm | Xanh, đục, thơm | Vàng, đục, thơm | Đỏ vàng, đục, hơi thơm |

Kết quả tại bảng 1 cho thấy, kích thước, thời gian pha trà có ảnh hưởng đến chất lượng cảm quan của nước trà xanh. Các mẫu trà xanh I, II, III, IV nước trà không bị đục, trong khi mẫu trà xanh xay nhỏ với kích thước < 2 mm (mẫu V) nước trà có hiện tượng vẫn đục có thể do kích thước trà nhỏ nên lọt qua túi lọc làm ảnh hưởng đến chất lượng cảm quan của trà. Thời gian pha trà xanh của các mẫu (I, II, III, IV) ở 5 phút là chất lượng cảm quan là tốt nhất, nước trà màu xanh và có mùi thơm đặc trưng (hình 2). Thời gian tăng lên thì nước trà chuyển sang màu vàng, đỏ vàng và hương thơm giảm đi.



**Hình 2.** Hình ảnh các mẫu trà xanh pha ở thời gian 5 phút

### 3.2. Kết quả định tính các hợp chất có trong nước trà xanh



**Hình 3.** Kết quả định tính polyphenol (A), coumarin (B) tannin (C) trong các mẫu nước trà xanh

(A) Phản ứng với muối sắt III; (B) Phản ứng với NaOH; (C) Phản ứng với dung dịch valin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>;

(B) DC: Nước trà xanh mẫu I ban đầu; I-V: Nước trà xanh các mẫu I-V sau phản ứng.

Nước mẫu trà xanh được định tính bằng thuốc thử với muối sắt (III), kết quả hình 3A cho thấy dung dịch các mẫu trà xanh từ I đến V đều chuyển sang màu xanh lục và khác so với màu của nước trà xanh mẫu I ban đầu (ĐC). Màu của mẫu I nhạt nhất và tăng dần, đến mẫu IV, V thì độ đậm gần như nhau. Khi định tính bằng H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đặc, dung dịch trong ống nghiệm I-V chuyển sang màu nâu đậm hơn màu của ống nghiệm đối chứng. Như vậy, trong nước trà xanh các mẫu nghiên cứu đều chứa nhóm chất polyphenol. Tương tự như vậy, khi định tính các coumarin, các tannin trong nước trà xanh các mẫu nghiên cứu cho kết quả các mẫu đều chứa coumarin (hình 3B), các

tannin (Hình 3C), mẫu I màu nhạt nhất và tăng dần đến mẫu III, IV; mẫu IV và mẫu V gần như màu sắc như nhau. Kết quả định tính cho thấy, kích thước trà xanh càng nhỏ khả năng chiết rút các hợp chất càng cao, ở mẫu IV, V sự sai khác nhau không đáng kể về định tính.

Dựa vào kết quả khảo sát chất lượng cảm quan và định tính thành phần các chất có trong các mẫu trà xanh nghiên cứu, tiến hành cô cạn nước trà xanh mẫu I và mẫu IV trong 5 phút để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

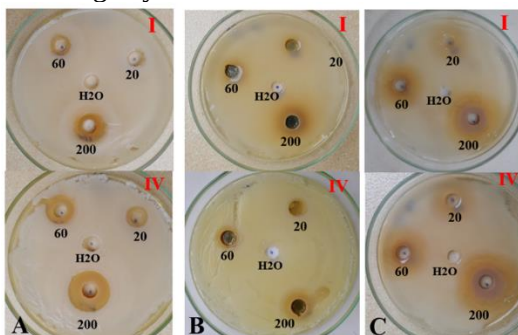
### 3.3. Hoạt tính kháng khuẩn của nước trà xanh

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh các chất trong trà xanh có hoạt tính kháng khuẩn. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của kích thước đến hoạt tính kháng khuẩn của trà xanh được trình bày ở bảng 2 và hình 4.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của kích thước đến hoạt tính kháng khuẩn của trà xanh

| Mẫu trà xanh | Nồng độ thử (mg/mL) | Đường kính kháng khuẩn (mm)          |                              |                               |
|--------------|---------------------|--------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|              |                     | <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| I (> 5 mm)   | 200                 | 12,5±0,3                             | 3,0±0,4                      | 7,0 ±0,7                      |
|              | 60                  | 5,5 ±0,6                             | 0                            | 3,5 ±0,3                      |
|              | 20                  | 2,5±0,3                              | 0                            | 0                             |
| IV (2-3 mm)  | 200                 | 20,5 ±0,1                            | 7,5 ±0,1                     | 11,5 ±0,6                     |
|              | 60                  | 11,0 ±0,3                            | 1,6 ±0,3                     | 5,3 ±0,3                      |
|              | 20                  | 5,5 ±0,1                             | 0                            | 1,3 ±0,1                      |

Kết quả bảng 2 và hình 4 cho thấy, kích thước có ảnh hưởng rõ rệt đến hoạt tính kháng khuẩn của trà xanh. Ở nồng độ cạn cô 20 mg/mL, mẫu trà xanh không xay (mẫu I) không có khả năng kháng chủng *S.aureus* và chủng *P.aeruginosa*, kháng chủng *E. coli* với 2,5 mm, còn ở mẫu xay nhỏ (mẫu IV) thì không có khả năng kháng chủng *S.aureus* và kháng *E. coli* *P.aeruginosa* lần lượt 5,5 và 1,3 mm. Tăng nồng độ lên 60 mg/mL ở mẫu I không có biểu hiện kháng chủng *S. aureus*, kháng chủng *E. coli* và chủng *P. aeruginosa* lần lượt 5,5 và 3,5 mm, còn ở mẫu IV đều biểu hiện kháng cả 3 chủng *E. coli*, chủng *S. aureus*, chủng *P. aeruginosa* lần lượt là 11,0 mm, 1,6 mm và 5,3 mm. Ở nồng độ cạn cô 200 mg/mL, cả hai mẫu trà xanh đều biểu hiện kháng cả 3 chủng. Chủng *E. coli* mẫu I kháng 12,5 mm, còn mẫu IV đạt 20,5 mm (cao hơn mẫu I 1,6 lần), mẫu I kháng chủng *S. aureus* đạt 3,0 mm, còn mẫu IV kháng cao hơn mẫu I là 2,5 lần (đạt 7,5 mm). Chủng *P.aeruginosa* mẫu I kháng 7,0 mm, còn mẫu IV đạt 11,5 mm, kháng cao hơn mẫu I 1,64 lần. Như vậy, dễ dàng nhận thấy, mẫu trà xanh được xay nhỏ (2-3 mm) khả năng kháng khuẩn cao hơn mẫu trà xanh không xay nhỏ.



**Hình 4.** Hoạt tính kháng vi khuẩn *Escherichia coli* (ATCC 25922) (A), vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (B) và vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* (C) của cặn cô nước trà xanh (I, IV: Cặn cô của trà xanh mẫu I và mẫu IV; H<sub>2</sub>O: là đối chứng; 20, 60, 200: cặn cô lần lượt ở các nồng độ 20, 60 và 200 mg/mL)

### 3.4. Ảnh hưởng của kích thước đến hoạt tính chống oxy hóa của trà xanh

Cặn cô nước trà xanh pha trong 5 phút của mẫu I (không xay) và mẫu IV (2-3mm) được chúng tôi thử nghiệm hoạt tính khử gốc tự do DPPH với mục tiêu khảo sát ảnh hưởng của kích thước đến chiết rút các chất có hoạt tính chống oxy (Bảng 3).

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của kích thước đến hoạt tính chống oxy hóa của trà xanh

| Mẫu trà xanh | Nồng độ thử (µg/mL) | Khả năng khử gốc tự do DPPH (%) | Giá trị EC <sub>50</sub> (µg/mL) |
|--------------|---------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| I (> 5mm)    | 128                 | 63                              | 80,00±1,25                       |
|              | 32                  | 37                              |                                  |
|              | 8                   | 0                               |                                  |
|              | 2                   | 0                               |                                  |
| IV (2-3mm)   | 128                 | 68                              | 68,41±1,03                       |
|              | 32                  | 39                              |                                  |
|              | 8                   | 3                               |                                  |
|              | 2                   | 0                               |                                  |
| Curcumin     | 32                  | 95                              | 7,64±0,51                        |
|              | 8                   | 52                              |                                  |
|              | 2                   | 19                              |                                  |
|              | 0,5                 | 7                               |                                  |

Kết quả ở bảng 3 cho thấy chất tham chiếu Curcumin hoạt động ổn định trong thí nghiệm. Hiệu quả khử gốc tự do DPPH của mẫu trà xanh I và IV tỷ lệ thuận với nồng độ cặn chiết, khi nồng độ cặn chiết tăng từ 2 đến 128 µg/mL thì hiệu quả khử gốc tự do cũng tăng dần. Ở mẫu I nồng độ 2 µg/mL cả 2 mẫu I và IV đều không có khả năng khử gốc tự do DPPH, tăng lên nồng độ 8 µg/mL ở mẫu IV khả năng khử gốc tự do DPPH là 3%, trong khi mẫu I là chưa biểu hiện. Đến nồng độ 128 µg/mL ở mẫu I khả năng khử gốc tự do DPPH đạt 63%, còn mẫu IV cao hơn đạt 68%. Mẫu IV cho thấy có hoạt tính khử gốc tự do DPPH cao hơn với giá trị EC<sub>50</sub> là 68,41 µg/mL, còn mẫu I có giá trị EC<sub>50</sub> là 80,00 µg/mL. Kết quả cho thấy, trà xanh được xay nhỏ hoạt tính chống oxy hóa của nước trà tăng lên.

### 3.5. Ảnh hưởng của kích thước đến hoạt tính kháng tế bào ung thư của nước trà xanh

Kết quả hoạt tính kháng 4 dòng tế bào ung thư KB (ung thư biểu mô), HepG2 (ung thư gan) A549 (ung thư phổi), MCF-7 (ung thư vú) của trà xanh mẫu I và mẫu IV được trình bày ở bảng 4.

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của kích thước đến hoạt tính kháng tế bào ung thư của nước trà xanh

| Mẫu trà xanh | Nồng độ (µg/mL)  | Khả năng gây độc (%) |                     |                     |                    |
|--------------|------------------|----------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
|              |                  | KB (ung thư biểu mô) | HepG2 (ung thư gan) | A549 (ung thư phổi) | MCF-7 (ung thư vú) |
| I (> 5mm)    | 256              | 26                   | 24,5                | 22,5                | 23                 |
|              | 64               | 14                   | 13                  | 11                  | 12                 |
|              | 16               | 9                    | 2                   | 6                   | 3                  |
|              | 4                | 7                    | 0                   | 0                   | 0                  |
|              | IC <sub>50</sub> | >256                 | >256                | >256                | >256               |
| IV (2-3mm)   | 256              | 83,5                 | 84                  | 67                  | 56                 |
|              | 64               | 25,5                 | 19                  | 23,5                | 18                 |
|              | 16               | 14                   | 10                  | 8                   | 5                  |
|              | 4                | 9                    | 6                   | 5                   | 0                  |
|              | IC <sub>50</sub> | 145,15±4,32          | 155,57±4,18         | 181,0±5,02          | 225,68±7,14        |
| Ellipticine  | IC <sub>50</sub> | 0,41±0,02            | 0,42±0,02           | 0,43±0,02           | 0,42±0,03          |

Kết quả tại bảng 4 cho thấy, mẫu I (pha theo cách thông thường của người dân Việt Nam hay sử dụng) ở nồng độ cặn cô 4 µg/mL cho thấy cặn cô ở nồng độ có khả năng ức chế phát triển của dòng tế bào KB là 7%, không ức chế sự phát triển của dòng tế bào ung thư khác. Khi nồng độ cặn cô tăng lên thì khả năng ức chế phát triển các dòng tế bào ung thư tăng lên. Ở nồng độ 256 µg/mL khả năng ức chế dòng tế bào KB, HepG2, A549, MCF-7 lần lượt là 26%, 24,5%, 22,5%



và 23%. Giá trị IC50 của mẫu I với 4 dòng tế bào đều >256 µg/mL. Chất đối chứng dương Ellipticine hoạt động ổn định trong thí nghiệm.

Kết quả bảng 4 cũng cho thấy, khi trà xanh được xay nhỏ (2-3 mm) mẫu IV thì khả năng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư tăng lên rõ rệt. Ở nồng độ căn cô 4 µg/mL ức chế 3 dòng tế bào KB, HepG2, A549 và không ức chế dòng tế bào MCF-7. Khả năng ức chế sự phát triển tế bào ung thư tỷ lệ thuận theo nồng độ căn cô. Ở nồng độ 256 µg/mL ức chế sự phát triển dòng tế bào HepG2 cao nhất đạt 84% (hơn 3,45 lần so với mẫu I), tiếp đến ức chế dòng tế bào KB đạt 83,5% (hơn 3,21 lần mẫu I), dòng tế bào A549 bị ức chế 67% (hơn 2,98 lần mẫu I) và thấp nhất ức chế dòng tế bào MCF-7 đạt 56% (cao hơn 2,43 lần mẫu I). Giá trị IC50 của mẫu IV với 4 dòng tế bào KB (ung thư biểu mô), HepG2 (ung thư gan), A549, MCF-7 lần lượt là 145,15 µg/mL, 155,57 µg/mL, 181,0 µg/mL và 225,68 µg/mL. Kết quả nghiên cứu ức chế sự phát triển tế bào ung thư của căn cô trà xanh của chúng tôi thấp hơn so với các kết quả nghiên cứu trước đây. Các nghiên cứu trước đây sẽ tập trung vào tách chiết, tinh khiết các chất chống ung thư để thử nghiệm, do đó sẽ có hoạt tính cao hơn [24], [25]. Còn trong nghiên cứu này căn cô được sử dụng là nước trà xanh có kích thước khác nhau, được nhúng trong nước nóng (100°C) theo cách dùng trà xanh phổ biến của người dân Việt Nam, do đó căn cô không tinh khiết và khả năng chiết rút các chất cũng bị hạn chế nên hoạt tính sẽ thấp hơn. Như vậy có thể thấy, khi xay nhỏ trà xanh hoạt tính ức chế tế bào ung thư trong điều kiện *in vitro* tăng lên rõ rệt so với trà không xay nhỏ pha uống theo phương pháp truyền thống.

#### 4. Kết luận

Trà xanh xay nhỏ 2-3 mm được pha trong nước nóng trong 5 phút đảm bảo chất lượng cảm quan, chứa các nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học: polyphenol, tannin và coumarin. Trà xanh xay nhỏ 2-3 mm có khả năng kháng khuẩn, chống oxy hóa, độc tế bào ung thư cao hơn mẫu trà xanh không xay. Khả năng kháng khuẩn của mẫu trà xanh 2-3 mm (200 mg/mL) cao hơn mẫu trà xanh không xay với *Escherichia coli* (ATCC 25922) 1,6 lần, *Staphylococcus aureus* 2,5 lần, *Pseudomonas aeruginosa* 1,64 lần. Mẫu trà xanh 2-3 mm (128 µg/mL) khử gốc tự do DPPH đạt 68%, còn mẫu trà xanh không xay đạt 63%. Ở nồng độ căn cô 256 µg/mL mẫu trà xanh 2-3 mm ức chế sự phát triển dòng tế bào ung thư cao hơn mẫu không xay nhỏ với dòng tế bào HepG2 (ung thư gan) 3,45 lần, dòng tế bào KB (ung thư biểu mô) 3,21 lần, dòng tế bào A549 (ung thư phổi) 2,98 lần, dòng tế bào MCF-7 (ung thư vú) 2,43 lần. Kết quả nghiên cứu này là cơ sở cho phương pháp chế biến trà để có cách uống trà xanh tốt cho sức khỏe.

#### Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ từ nguồn kinh phí Khoa học và Công nghệ của Trường Đại học Tây Bắc cho đề tài mã số: TTB2023-36.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] Z. Chen and Z. Lin, "Tea and human health: biomedical functions of tea active components and current issues," *Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine & Biotechnology)*, vol. 16, no. 2, pp. 87-102, 2015.
- [2] International tea market, *Market situation, prospects and emerging issues*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2022.
- [3] G. B. Sonara, D. P. Shah, T. N. Gheewala, and S. P. Roy, "Biological Effects of Tea Polyphenols on Human Health: A Review," *International Research Journal of Plant Science*, vol. 14, no. 1, pp. 01-10, 2023.
- [4] M. Aviram, L. Dornfeld, and M. Rosenblat, "Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: Studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice," *Am J Clin Nutr.*, vol. 71, pp. 1062-1076, 2000.

- [5] P. V. Babu, K. E. Sabitha, and C. S. Shyamaladevi, "Therapeutic effect of green tea extract on oxidative stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats," *Chem Biol Interact.*, vol. 162, pp. 114-120, 2006.
- [6] J. Bruneton, *Pharmacognosy. phytochemistry*. Plantes Medicinales Paris: Technique Documentation-Lavoisier, 2001.
- [7] J. Bernatoniene, "Kopustinskiene, D.M. The Role of Catechins in Cellular Responses," *Molecular*, vol. 23, 2018, Art. no. 965.
- [8] M. Farhan, "Green Tea Catechins: Nature's Way of Preventing and Treating Cancer," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, 2022, Art. no. 10713.
- [9] Y. Han, Z. Cheng, Y. Zhang, N. Zhang, X. Zhu, X. Chen, Y. Shao, Y. Cheng, C. Wang, Y. Luo *et al.*, "Effect of Metal Ions and PH on the Emulsifying Properties of Polysaccharide Conjugates Prepared from Low-Grade Green Tea," *Food Hydrocoll.*, vol. 102, 2020, Art. no. 105624.
- [10] M. Farhan, A. Zafar, S. Chibber, H. Y. Khan, H. Arif, and S. M. Hadi, "Mobilization of copper ions in human peripheral lymphocytes by catechins leading to oxidative DNA breakage: A structure activity study. Arch," *Biochem. Biophys.*, vol. 580, pp. 31-40, 2015.
- [11] M. Farhan, H. Y. Khan, M. Oves, A. Al-Harrasi, N. Rehmani, H. Arif, S. M. Hadi, and A. Ahmad, "Cancer therapy by catechins involves redox cycling of copper ions and generation of reactive oxygen species," *Toxins*, vol. 8, 2016, Art. no. 37.
- [12] S. Wu, W. Zhu, P. Thompson, and Y. A. Hannun, "Evaluating Intrinsic and Non-Intrinsic Cancer Risk Factors," *Nat. Commun.*, vol. 9, 2018, Art. no. 3490.
- [13] WHO, "Cancer Key Facts". [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. [Accessed Jan. 03, 2023].
- [14] J. Ferlay, M. Colombet, I. Soerjomataram, C. Mathers, D. M. Parkin, M. Piñeros, A. Znaor, and F. Bray, "Estimating the Global Cancer Incidence and Mortality in 2018: GLOBOCAN Sources and Methods," *Int. J. Cancer*, vol. 144, pp. 1941-1953, 2019.
- [15] J. -W. Oh, M. Muthu, S. S. C. Pushparaj, and J. Gopal, "Anticancer Therapeutic Effects of Green Tea Catechins (GTCs) When Integrated with Antioxidant Natural Components," *Molecules*, vol. 28, 2023, Art. no. 2151.
- [16] M. Graille, P. Wild, J. J. Sauvain, M. Hemmendinger, I. Guseva Canu, and N. B. Hopf, "Urinary 8-OHdG as a Biomarker for Oxidative Stress: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 21, 2020, Art. no. 3743.
- [17] M. N. Najafi, M. Salehi, M. Ghazanfarpour, Z. S. Hoseini, and M. Khadem-Rezaian, "The Association between Green Tea Consumption and Breast Cancer Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis," *Phytother. Res.*, vol. 32, pp. 1855-1864, 2018.
- [18] L. Zhang, C. -T. Ho, J. Zhou, J. S. Santos, L. Armstrong, and D. Granato, "Chemistry and Biological Activities of Processed Camellia sinensis Teas: A Comprehensive Review. Compr," *Rev. Food Sci. Food Saf.*, vol. 18, pp. 474-1495, 2019.
- [19] X. Chen, Y. Du, L. Wu, J. Xie, X. Chen, B. Hu, Z. Wu, Q. Yao, and Q. Li, "Effects of Tea-Polysaccharide Conjugates and Metal Ions on Precipitate Formation by Epigallocatechin Gallate and Caffeine, the Key Components of Green Tea Infusion," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 67, pp. 3744-3751, 2019.
- [20] Y. Shirakami and M. Shimizu, "Possible Mechanisms of Green Tea and Its Constituents against Cancer," *Molecules*, vol. 23, 2018, Art. no. 2284.
- [21] T. A. Nguyen and T. H. Bui, "Study on Flavonoid and Coumarin components of drugs in dispersion method," *Journal of Pharmacy*, vol. 368, pp. 37-40, 2008.
- [22] B. Mahesh and S. Satish, "Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens," *World J. Agric. Sci.*, vol. 4, no. S, pp. 839-843, 2008.
- [23] H. Abramović, B. Grobin, N. P. Ulrih, and B. Cigić, "Relevance and Standardization of In Vitro Antioxidant Assays: ABTS, DPPH, and Folin-Ciocalteu," *Journal of Chemistry*, vol. 2018, pp. 1-9, 2018.
- [24] P. Skehan, R. Storeng, D. Scudiero, A. Monks, J. McMahon, D. Vistica, J. T. Warren, H. Bokesch, S. Kenney, and M. R. Boyd, "New colorimetric cytotoxic assay for anticancer-drug screening," *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 82, no. 13, pp. 1107-1112, 1990.
- [25] S. Wang, R. Chen, Z. Zhong, Z. Shi, M. Chen, and Y. Wang, "Epigallocatechin-3-Gallate Potentiates the Effect of Curcumin in Inducing Growth Inhibition and Apoptosis of Resistant Breast Cancer Cells," *Am. J. Chin. Med.*, vol. 42, pp. 1279-1300, 2014.