



KHẢO SÁT HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA CỦA CAO CHIẾT LÁ VÀ CÀNH CÂY CHÙM NGÂY (*MORINGA OLEIFERA* LAM.)

Lê Hà Mỹ Phương^{1,a}, Lê Thị Ái Ly^{1,b}, Đoàn Văn Viên^{2,c}, Ngô Văn Cường^{1,d*}

¹Bộ môn Dược liệu, Khoa Dược, Trường Đại học Lạc Hồng

²Bộ môn Dược lý – Dược lâm sàng, Khoa Dược, Trường Đại học Lạc Hồng

^amyphuong260198@gmail.com, ^blethiaily2010@gmail.com, ^cvanviendoan@gmail.com, ^dvancuong283@gmail.com

TÓM TẮT. Chùm ngây (*Moringa oleifera* Lam.) là một cây đa dụng và hữu ích, được trồng và ứng dụng rộng rãi ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Đề tài được tiến hành nhằm làm rõ hơn khả năng chống oxy hóa của lá và cành cây Chùm ngây thu hái tại Đồng Nai. Dược liệu được chiết với nước và cồn 50% thu được các cao lá nước (LN), lá cồn (LC), cành nước (CN), cành cồn (CC). Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp loại bỏ gốc tự do DPPH cho thấy cao LC có hoạt tính mạnh nhất. Giá trị IC₅₀ của các cao LC, LN, CC, CN lần lượt là 77,69 µg/ml, 96,67 µg/ml, 524,25 µg/ml, 1775,91 µg/ml. Theo phương pháp xác định năng lực khử, tại nồng độ 1000 µg/ml cao LN hoạt tính mạnh nhất với ΔOD = 0,27675; tiếp theo lần lượt là LC (ΔOD = 0,21685), CN (ΔOD = 0,137), CC (ΔOD = 0,087). Hoạt tính chống oxy hóa của lá mạnh hơn cành.

ABSTRACT. Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) is a versatile and useful plant, widely cultivated and applied in tropical and subtropical regions. The study was conducted to clarify the antioxidant capacity of Moringa leaves and branches collected in Dong Nai. Medicinal materials were extracted with water and 50% alcohol to obtain extracts including water-leaves (LN), alcohol-leaves (LC), water-branches (CN), alcohol-branches (CC). Investigation of antioxidant activity by DPPH free radical scavenging method showed that LC extract had the strongest activity. IC₅₀ value of LC, LN, CC, CN respectively 77,69 µg/ml, 96,67 µg/ml, 524,25 µg/ml, 1775,91 µg/ml. According to the method of determining the reducing power, at a high concentration of 1000 µg/ml LN was most active with ΔOD = 0,27675; followed by LC (ΔOD = 0,21685), CN (ΔOD = 0,137), CC (ΔOD = 0,087). The antioxidant activity of leaves was stronger than the antioxidant activity of branches.

TỪ KHOÁ: Chùm ngây, *Moringa oleifera*, chống oxy hóa, DPPH, năng lực khử.

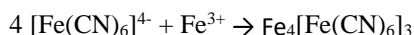
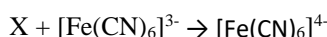
KEYWORDS: *Moringa oleifera*, Antioxidant, DPPH, reducing power.

1. GIỚI THIỆU

Các gốc tự do gây ra hiện tượng oxy hóa là nguyên nhân của lão hóa và một loạt tình trạng bệnh khác như tiểu đường, xơ vữa động mạch, ung thư... Việc loại bỏ các gốc tự do trong cơ thể là một nhu cầu thiết yếu. Nhiều loại dược liệu và hợp chất tự nhiên đã được nghiên cứu về hoạt tính chống oxy hóa. Trong các nghiên cứu đó, 2 mô hình thường được sử dụng là mô hình bắt gốc tự do DPPH và mô hình xác định năng lực khử sắt.

DPPH là một gốc tự do bền, trong dung dịch có màu tím, cho hấp thụ cực đại tại bước sóng 517nm. Các chất có khả năng chống oxy hóa sẽ trung hòa gốc tự do DPPH, làm giảm độ hấp thụ tại bước sóng cực đại và màu của dung dịch phản ứng sẽ nhạt dần, chuyển từ tím sang màu vàng nhạt [1].

Trong phương pháp xác định năng lực khử, mẫu thử sẽ khử ion Fe³⁺ trong phân tử kali ferricyanid (K₃[Fe(CN)₆]) thành ion Fe²⁺ trong phân tử kali ferrocyanid (K₄[Fe(CN)₆]). Khi bổ sung FeCl₃, Fe³⁺ sẽ phản ứng với ion ferrocyanid tạo thành phức hợp ferric ferrocyanid (Fe₄[Fe(CN)₆]₃) có màu xanh. Phức hợp này có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng λ = 700nm [2].



Cây Chùm ngây có tên khoa học *Moringa oleifera* Lam., họ Moringaceae, có nguồn gốc từ Tây Bắc Ấn Độ. Ngoài dùng làm thức ăn, thực phẩm dinh dưỡng thì cây Chùm ngây còn được người dân sử dụng để điều trị các bệnh khác nhau như chống tăng đường huyết, trị xơ vữa động mạch, tăng cường miễn dịch và trị ung bướu... [3].

Hiện nay đã có một số nghiên cứu trong nước về hoạt tính chống oxy hóa của Chùm ngây, tuy nhiên hầu hết các nghiên

cứu chỉ tập trung vào tác dụng chống oxy hóa của bộ phận lá. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm so sánh tác dụng chống oxy hoá giữa lá và cành với các dung môi khác nhau, qua đó giúp sử dụng một cách hiệu quả nhất dược liệu trên trong phòng ngừa bệnh và hỗ trợ sức khỏe.

2. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.1 Dược liệu

Lá và cành Chùm ngây được thu hái tại vườn dược liệu Trường Đại học Lạc Hồng, thành phố Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai. Dược liệu được định danh bởi PGS. TS Trương Thị Đẹp. Mẫu được lưu tại Bộ môn dược liệu Trường Đại học Lạc Hồng với mã số CN01.

Dược liệu được phơi, sấy, xay nhỏ và rây qua rây. Lấy phần dược liệu qua rây 2mm và trên rây 0,5 mm để tiến hành thực nghiệm: chiết xuất, xác định độ ẩm (Phụ lục 9.6 ĐDVN V).

Received: July 2nd, 2021

Accepted: December 24th, 2020

*Corresponding Author

Email: vancuong283@gmail.com

2.2 Dung môi–Thuốc thử

Bảng 1. Dung môi – Thuốc thử

Tên	Công thức	Lô/NSX	Độ tinh khiết
Ethanol	C ₂ H ₅ OH	Công ty TNHH Thiên Kỳ, Việt Nam	96%
Vitamin C (acid ascorbic)	C ₆ H ₈ O ₆	SLBS0713V, Sigma-aldrich, Đức	≥ 99%
DPPH 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆	STBH0044, Sigma-Aldrich, Đức	----
Acid tricloacetic	C ₂ HCl ₃ O ₂	20180529, Guangdong Guanghua Sci-Tech, Trung Quốc,	≥ 99%
Dinatri hydrophotphat dihydrat	Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	1511011, Xilong, Trung Quốc	≥ 99%
Natri dihydrophotphat	NaH ₂ PO ₄	20170505, Guangdong Guanghua Sci-Tech, Trung Quốc	≥ 99%
Kali ferricyanid	K ₃ [Fe(CN) ₆]	2008222, Xilong, Trung Quốc	≥ 99%
Sắt (III) chlorid	FeCl ₃	140907, Xilong, Trung Quốc	
Methanol	CH ₃ OH	1910311, Xilong, Trung Quốc	≥ 99,5%

3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1 Phân tích sơ bộ thành phần hoá học

Phân tích sơ bộ thành phần hóa học thực vật được xác định theo quy trình cải tiến của Ciulei. Dùng phản ứng hóa học đặc trưng để xác định các nhóm hợp chất trong từng loại dịch chiết [4].

3.2 Chiết xuất

Cao còn: 40g dược liệu được ngâm với 800 ml cồn 50% trong 24 giờ. Lọc qua bông, thu dịch lọc. Phần bã dược liệu được chiết tiếp với 200 ml cồn 50% trong 2 giờ. Gôm dịch chiết hai lần, cô cách thủy ở nhiệt độ 95 °C thu được cao còn. Cao nước: 40g dược liệu được ngâm với 800 ml nước cất ở 95 °C trong 2 giờ. Lọc qua bông, thu dịch lọc. Phần bã dược liệu được chiết tiếp với 200ml nước cất trong 1 giờ. Gôm dịch chiết hai lần, cô cách thủy ở nhiệt độ 95 °C thu được cao nước.

Hiệu suất chiết được tính theo công thức sau:

H: hiệu suất

m_c: khối lượng cao w_c: độ ẩm cao

m_{dl}: khối lượng dược liệu w_{dl}: độ ẩm dược liệu

3.3 Xác định độ ẩm, độ tro

$$H(\%) = \frac{m_c(1-w_c)}{m_{dl}(1-w_{dl})}$$

Theo Phụ lục 9.6 và 9.8 ĐCVN V. Thực hiện 3 lần, lấy kết quả trung bình.

3.4 Thử nghiệm đánh giá khả năng loại gốc tự do DPPH

Tiến hành: Các mẫu cao được pha loãng theo nồng độ giảm dần trong methanol. Nếu mẫu khó tan, trợ tan bằng DMSO với tỷ lệ xác định.

Thêm 2 ml methanol vào lọ màu nâu chứa 1 ml mẫu thử đã pha loãng. Bổ sung 1 ml dung dịch DPPH (0,5 mM, pha trong methanol). Hỗn hợp sau khi pha được ủ 30 phút trong điều kiện tránh ánh sáng. Sau đó, tiến hành đo mật độ quang ở bước sóng λ = 517nm. Mẫu đối chiếu được tiến hành tương tự với acid ascorbic (50 µg/ml), chứng âm là methanol [1]. Tỷ lệ phần trăm hoạt tính chống oxy hóa của mẫu thử được xác định theo công thức sau:

$$HTCO (\%) = [(OD_{chứng} - OD_{thử})/OD_{chứng}] \times 100$$

Xây dựng phương trình tương quan tuyến tính biểu diễn sự phụ thuộc của HTCO (%) theo nồng độ chất khảo sát bằng phần mềm Microsoft Excel 2010. Từ phương trình hồi quy tuyến tính y = ax + b xác định được giá trị IC₅₀ (là nồng độ mà tại đó bắt 50% gốc tự do DPPH).

3.5 Phương pháp xác định năng lực khử (RP)

Tiến hành: Dùng 1 ml mẫu thử ở hai nồng độ 800 µg/ml và 1000 µg/ml. Thêm 2,5 ml đệm phosphat 0,2 M pH 6,6, lắc đều. Thêm tiếp 2,5 ml dung dịch kali ferricyanid 1% (K₃[Fe(CN)₆]). Ủ hỗn hợp phản ứng 20 phút ở 50°C. Dùng phản ứng bằng 2,5 ml acid tricloacetic 5%, lọc qua giấy lọc. Sau đó lấy 1 ml dịch lọc, bổ sung 2 ml nước cất và 0,5 ml dung dịch FeCl₃ 1%, lắc đều. Sau 5 phút, đo mật độ quang OD ở bước sóng 700 nm. Mẫu đối chiếu là acid ascorbic, chứng âm là methanol.

Hiệu quả kháng oxy hóa được xác định bằng ΔOD. ΔOD càng cao chứng tỏ năng lực khử của mẫu càng cao [2].

$$\Delta OD = OD_{thử} - OD_{chứng}$$

4. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

4.1 Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hoá học

Kết quả định tính xác định các chất trong lá và cành cây Chùm ngây thể hiện ở **Bảng 2**.

- Trong lá Chùm ngây có: tinh dầu, alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, axit hữu cơ, chất khử, hợp chất polyuronic.
- Trong cành Chùm ngây có: tinh dầu, triterpenoid tự do, flavonoid, saponin, axit hữu cơ, chất khử.

4.2 Chiết xuất

Các cao có thể chất quánh, màu đen, mùi thơm. Độ ẩm và hiệu suất chiết thể hiện trong **Bảng 3**.

Bảng 3. Độ ẩm, độ tro, hiệu suất chiết của cao

Cao	Độ ẩm (%)	Độ tro (%)	Hiệu suất (%)
LN	19,42	19,23	26,26
LC	16,87	10,91	31,27
CN	16,69	18,53	11,41
CC	12,32	20,31	9,76

Bảng 2. Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học thực vật

Nhóm hợp chất	Kết quả dịch chiết cành			Kết quả dịch chiết lá			Kết luận	
	Ether	Cồn	Nước	Ether	Cồn	Nước	Cành	Lá
Chất béo	-			-			Không	Không
Carotenoid	-			-			Không	Không
Tinh dầu	+			+			Có	Có
Triterpenoid tự do	+			-			Có	Không
Alkaloid	-	-	-	-	++	-	Không	Có
Coumarin	-	-		-	-		Không	Không
Antraglycosid	-	-	-	-			Không	Không
Flavonoid	-	+	-	-	-	+	Có	Có
Anthocyanosid		-	-		-	-	Không	Không
Proanthocyanidin		-	-		-	-	Không	Không
Tannin		-	-		+	+	Không	Có
Saponin		+	+		++	++	Có	Có
Acid hữu cơ		+	-		+	-	Có	Có
Chất khử		+	+		++	+	Có	Có
Hợp chất polyuronic			-			+	Không	Có

(-) không có; (+) có; (++) có nhiều.

Không thực hiện

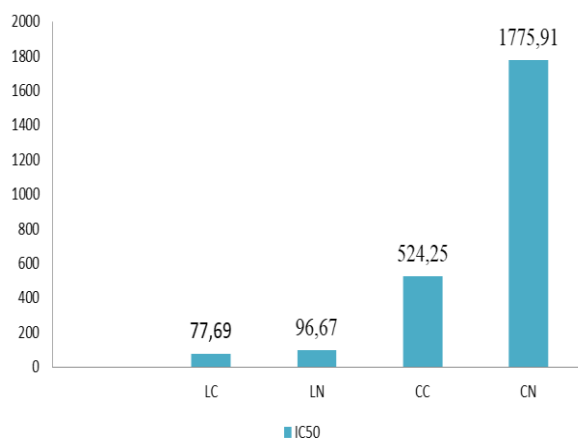
4.3 Kết quả đánh giá khả năng loại gốc tự do DPPH

Kết quả thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH được thể hiện ở **Bảng 4.** và **Hình 1.**

Bảng 4. Kết quả thử nghiệm IC₅₀ bằng phương pháp DPPH trên các mẫu

Mẫu thử	Đường tuyến tính	R ²	IC ₅₀ (µg/ml)
LC	y = 541,41x + 7,9365	0,9955	77,69
LN	y = 501,11x + 1,5531	0,9971	96,67
CC	y = 69,886x + 13,362	0,9844	524,25
CN	y = 23,642x + 8,014	0,9770	1775,91
Vitamin C	y = 8,8698x + 2,9915	0,9938	5,30

Hình 1. Giá trị IC₅₀ theo phương pháp DPPH



Kết quả khảo sát cho thấy khả năng chống oxy hóa của lá cao hơn cành. Cao LC có hoạt tính mạnh nhất (IC₅₀ = 77,69), thấp hơn 14,7 lần so với vitamin C. Tiếp theo là LN (IC₅₀ = 96,67), CC (IC₅₀ = 24,25) và CN (IC₅₀ = 1775,91). Một số nghiên cứu cho thấy các hợp chất saponin, polyphenol

(flavonoid, tannin, coumarin, anthranoid) có tác dụng chống oxy hóa. Điều này phù hợp với khảo sát sơ bộ thành phần hóa học cho thấy bộ phận lá có chứa hợp chất nhiều saponin, flavonoid, tannin nhiều hơn cành [3], [5], [6].

Ở cả 2 dược liệu, cao chiết bằng dung môi cồn cho hoạt tính mạnh hơn cao chiết nước. Cao LC hoạt tính mạnh hơn 1,24 lần so với cao LN, và cao CC có hoạt tính mạnh hơn cao CN 3,39 lần.

4.4 Kết quả xác định năng lực khử (RP)

Bảng 5. Năng lực khử của các mẫu thử

Mẫu thử	Năng lực khử (ΔOD)	
	800 µg/ml	1000 µg/ml
LC	0,15415	0,21685
LN	0,25415	0,27675
CC	0,137	0,137
CN	0,082	0,087
Vitamin C	5,531	7,236

Ở cả hai nồng độ 800 µg/ml và 1000µg/ml, cao LN có năng lực khử cao nhất, tiếp theo là LC, CC, CN. Các cao chiết ở bộ phận lá có năng lực khử cao hơn các cao chiết ở bộ phận cành. Khi tăng nồng độ, cao CC và cao CN có giá trị năng lực khử không thay đổi cho thấy hoạt tính oxy hóa không thay đổi khi tăng nồng độ. Tuy nhiên cao LC và cao LN vẫn có năng lực khử tăng cho thấy hoạt tính chống oxy hóa tăng.

Trong cả 2 phương pháp, cao lá Chùm ngây có hoạt tính chống oxy hóa mạnh hơn cao cành. Ở dược liệu cành, chiết xuất bằng dung môi cồn 50% cho hoạt tính mạnh hơn chiết với nước. Cao CC có hoạt tính mạnh hơn cao CN. Đối với lá, cao LN có hoạt tính mạnh hơn theo phương pháp xác định năng lực khử nhưng lại thấp hơn theo phương pháp quét gốc tự do DPPH so với cao LC.

Các báo cáo trong và ngoài nước hầu hết chỉ tập trung nghiên cứu về hoạt tính chống oxy hóa của Chùm ngây khi chiết bằng ethanol hay một số số dung môi hữu cơ khác, chưa

thấy có công bố về hiệu quả chống oxy hóa khi chiết xuất bằng nước và cồn 50% (2 dung môi rất hay được sử dụng trong chế biến các thuốc y học cổ truyền). Kết quả nghiên cứu có sự tương đồng với các nghiên cứu của Yong-Bing Xu và cộng sự (2019) về tác dụng chống oxy hóa của lá, rễ, hạt Chùm ngây chiết xuất trong ethanol bằng phương pháp DPPH, ABTS, FRAT [7] hay Phan Thị Bích Trâm và cộng sự (2016) về khả năng chống oxy hóa giữa lá và thân cây Chùm ngây tại Cần Thơ bằng phương pháp DPPH, qua đó bộ phận lá thể hiện khả năng chống oxy hóa mạnh hơn thân và cành cây [3].

5. KẾT LUẬN

Lá Chùm ngây có hoạt tính chống oxy hóa mạnh hơn cành. Đối với cành, chiết xuất bằng dung môi cồn 50% cho hiệu quả tốt hơn chiết với dung môi nước. Đối với lá, cả dung môi cồn 50% và nước đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa. Theo phương pháp DDPH, cao cồn cho hoạt tính mạnh hơn, nhưng theo phương pháp xác định năng lực khử, cao nước cho hoạt tính mạnh hơn. Kết quả của đề tài giúp chọn lựa được bộ phận dùng và dung môi chiết xuất thích hợp để sử dụng trong phòng và trị bệnh.

6. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Linh Nhân; Nguyễn; T. T. H. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa và kháng viêm của cao chiết từ hạt Chùm ngây (*Moringa oleifera Lam.*). *Y học TP. Hồ Chí Minh*. 2015, 19 (5), tr. 177.
- [2] Trần Công Luận; Trần, T. T. Q.; Salihah. Phân lập các hợp chất chính có tác dụng chống oxy hóa trong lá Chùm ngây (*Moringa oleifera Lam.*). *Y học TP. Hồ Chí Minh*. 2013, 18, 175-179.
- [3] Phan Thị Bích Trâm; Nguyễn, T. D. M. Khảo sát hoạt tính các hợp chất kháng oxy hóa trong lá và thân cây Chùm ngây (*Moringa oleifera*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 2016, 3, 179-184.
- [4] Bộ môn Dược liệu, Khoa Dược – Đại học Y dược TP. Hồ Chí Minh, Phương pháp nghiên cứu dược liệu, 2013, tr. 25-49.
- [5] Verma, A. R.; Vijayakumar; M., Mathela; C. S., & Rao; C. V. In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food and Chemical Toxicology*, 2009, 47 (9), 2196–2201.
- [6] Rodrigues ; H. G. ; et al. Antioxidant effect of saponin: potential action of a soybean flavonoid on glucose tolerance and risk factors for atherosclerosis. *International journal of food sciences and nutrition*. 2005. 56 (2) 79-85.
- [7] Xu, Yong-Bing; Chen, G. L.; Guo, M. Q. Antioxidant and anti-inflammatory activities of the crude extracts of *Moringa oleifera* from Kenya and their correlations with flavonoids. *Antioxidants*. 2019, 8 (8), 296.