

THÀNH PHẦN HÓA HỌC, HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA CỦA HỖN HỢP POLYSACCHARIDE LY TRÍCH TỪ RONG MƠ *SARGASSUM MICROCYSTUM*

Huỳnh Trường Giang¹, Dương Thị Hoàng Oanh¹, Vũ Ngọc Út¹ và Trương Quốc Phú¹

¹ Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 22/10/2012

Ngày chấp nhận: 22/03/2013

Title:

Chemical composition, antioxidant activities of polysaccharide extracts from brown seaweed *Sargassum microcystum*

Từ khóa:

Hoạt tính chống oxy hóa, polysaccharide, *Sargassum microcystum*

Keywords:

Antioxidant activity, polysaccharide, *Sargassum microcystum*

ABSTRACT

The aim of this study is to evaluate the chemical composition and antioxidant activities of polysaccharides extracted from brown seaweed *Sargassum microcystum*. Polysaccharides were extracted by three different extraction solvents: hot-water (100 °C), 0.1N HCl, and 90% aqueous ethanol. The results showed that among three extraction solvents, polysaccharide was extracted by 0.1N HCl exhibited higher yield of $40.2 \pm 1.8\%$ followed by hot-water ($25.0 \pm 1.3\%$) and 90% aqueous ethanol solvent ($10.9 \pm 0.4\%$). Crude protein obtained 9.3, 7.7, and 5.6% for treatments of hot-water, 0.1N HCl, and 90% aqueous ethanol, respectively. Total phlorotannins accounted for about 2.7, 6.5, and 2.1 mg/g of the hot-water, 0.1N HCl, and 90% aqueous ethanol treatments, respectively. The DPPH[•] free radicals scavenging activity, ferrous ion chelating activity, and Fe⁺³ reducing power of extracts from *S. microcystum* were increasing with increase of concentration. Judging from these results, it is therefore concluded that the polysaccharide extracts of brown seaweed *S. microcystum* possessed the good antioxidant activities and could be use in aquaculture.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hóa của hỗn hợp polysaccharide ly trích từ rong mơ *S. microcystum*. Polysaccharides được trích xuất bởi ba dung môi khai thác khác nhau: nước 100 °C, HCl 0,1N và Ethanol 90%. Kết quả cho thấy khi ly trích bằng dung môi HCl 0,1N thu được hàm lượng polysaccharide cao nhất ($40,2 \pm 1,8\%$) kế đến là dung môi nước 100 °C ($25,0 \pm 1,3\%$) và Ethanol 90% ($10,9 \pm 0,4\%$). Hàm lượng protein ở các nghiệm thức tương đối thấp, đạt giá trị 9,3; 7,7 và 5,6% đối với nghiệm thức nước 100 °C, HCl 0,1 và Ethanol 90% tương ứng. Hàm lượng phlorotannin cao nhất ở nghiệm thức HCl 0,1N (6,5 mg/g) kế đến là nghiệm thức nước 100 °C và Ethanol 90%. Hoạt tính khử gốc oxy hóa DPPH[•], hoạt tính tạo phức với Fe⁺² và hoạt tính khử Fe⁺³ gia tăng tỉ lệ thuận với sự gia tăng hàm lượng của polysaccharide. Điều này cho thấy polysaccharide ly trích từ rong mơ *S. microcystum* có thể sử dụng như một hợp chất giàu hoạt tính chống oxy hóa và có thể nghiên cứu ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản để tăng cường miễn dịch của tôm cá nuôi.

1 GIỚI THIỆU

Rong mơ *Sargassum* (Lớp Phaeophyceae) - nguồn tài nguyên sẵn có và dồi dào trong đại dương với hơn 400 loài đã được mô tả (Tseng và Lu, 2004). Ở Việt Nam, trong gần 1.000 loài rong biển thì ngành rong nâu (Phaeophyta) chiếm 143 loài trong đó giống *Sargassum* được phát hiện là 22 loài ở miền Bắc và 13 loài ở miền Nam (Phạm Hoàng Hộ, 1969; Nguyễn Hữu Dinh và *ctv.*, 1993).

Hỗn hợp polysaccharide ly trích từ rong mơ *Sargassum* chứa các nguồn dược liệu quý như các sulfate fucan, các hợp chất phenol như phlorotannin, các hợp chất flavonoid thể hiện hoạt tính chống oxy hóa và tăng cường miễn dịch (Blondin *et al.*, 1994; Franz *et al.*, 2000). Hiện nay, các hỗn hợp polysaccharide chiết tách từ một số loài rong mơ *S. polycystum*, *S. fusiforme* và *S. duplicatum* đã được sử dụng như là những hợp chất chống oxy hóa, tăng cường miễn dịch, sức đề kháng trên tôm sú (*Penaeus monodon*), (Chotigeat *et al.*, 2004), tôm he Ấn Độ (*Fenneropenaeus chinensis*) (Huang *et al.*, 2006), tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) (Yeh *et al.*, 2006; Giang *et al.*, 2011). Do đó việc nghiên cứu về hoạt tính sinh học của các hợp chất polysaccharide có nguồn gốc tự nhiên để ứng dụng vào nuôi trồng thủy sản đang là một xu hướng trong giai đoạn hiện nay. *S. microcystum* (Phaeophyta) là loài rong mơ phân bố rộng và có thể khai thác trong các vùng ven biển miền Nam Việt Nam. Đây là loài được cho là có tiềm năng về hoạt tính chống oxy hóa. Tuy nhiên,

thông tin về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học trên rong mơ *Sargassum* hiện nay rất hạn chế. Do đó nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu tìm hiểu về thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hóa trong rong mơ *S. microcystum* phân bố ở đồng bằng sông Cửu Long, từ đó có những đề xuất nghiên cứu ứng dụng những hợp chất này vào nuôi trồng thủy sản.

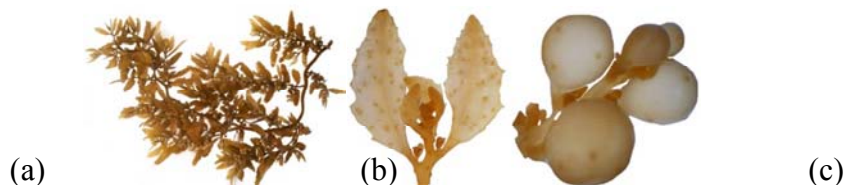
2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thời gian và địa điểm thu mẫu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 01/2012-10/2012. Mẫu *S. microcystum* được thu thập tại các huyện Kiên Lương, Hà Tiên, Phú Quốc tỉnh Kiên Giang. Quá trình ly trích, phân tích hóa học và hoạt tính chống oxy hóa được thực hiện tại Phòng thí nghiệm phân tích chất lượng nước, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2 Phương pháp định danh loài *S. microcystum*

Mẫu rong sau khi thu được rửa sạch, cho vào túi nylon, bảo quản lạnh 4 °C và vận chuyển về phòng thí nghiệm. Sau đó rong được rửa lại bằng nước cất 3 lần và tiến hành định danh tại Phòng thí nghiệm Sinh học biển, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ. Rong *S. microcystum* được phân loại dựa trên khóa phân loại của Dawson (1954), Phạm Hoàng Hộ (1969), Nguyễn Hữu Dinh và *ctv.* (1993), Nguyễn Hữu Đại (1997), và alagebase.org.



Hình 1: *S. microcystum* tươi (a); lá (b); và phao (c)

Ảnh: Tác giả (2012)

2.3 Phương pháp chuẩn bị mẫu *S. microcystum*

Mẫu *Sargassum* được xử lý theo phương pháp của Giang và Chen (2010). Rửa sạch 2 kg mẫu *S. microcystum* tươi bằng nước cất, tiến

hành sấy ở 37 °C cho đến khi trọng lượng giữa 2 lần cân trọng lượng không thay đổi quá 5% (APHA *et al.*, 1999). Sau đó, mẫu sẽ được nghiền thành bột bằng máy nghiền tốc độ cao (Grinder- RT, Đài Loan), và được sàng qua mắt

lưới 125 μm (đường kính của mẫu < 125 μm). Bột rong biển sẽ được bảo quản 4 °C cho đến khi tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

2.4 Phương pháp bố trí thí nghiệm và phân tích mẫu

2.4.1 Phương pháp bố trí thí nghiệm

Nghiên cứu gồm 2 thí nghiệm:

Thí nghiệm 1: Đánh giá hàm lượng hỗn hợp polysaccharide từ rong mơ *S. microcystum* khi ly trích bằng các dung môi khác nhau. Thí nghiệm gồm 3 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 5 lần.

– Nghiệm thức 1: dung môi nước 100 °C, thời gian ngâm rong mơ trong dung môi là 3 giờ.

– Nghiệm thức 2: dung môi HCl 0,1N, 100 °C, thời gian ngâm rong mơ trong dung môi là 3 giờ.

– Nghiệm thức 3: dung môi Ethanol 90%, nhiệt độ phòng, 12 giờ. Do nghiệm thức được thực hiện ở nhiệt độ thấp hơn nghiệm thức 1 và 2 nên cần thời gian ngâm lâu hơn để có thể chiết tách được hàm lượng polysaccharide cao.

10 g bột *Sargassum* được ly trích trong 300 mL dung môi khác nhau theo nghiệm thức. Sau thời gian nhất định, mẫu được lọc qua lưới lọc có mắt lưới 27 μm bằng hệ thống lọc chân không. Phần dung dịch được ly tâm với tốc độ 4.000 vòng/phút. Sau khi làm khô lạnh, tiến hành cân và xác định hàm lượng hỗn hợp polysaccharide thu hoạch (%).

Thí nghiệm 2: Xác định thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hóa của hỗn hợp polysaccharide ly trích từ *S. microcystum*.

Các hỗn hợp polysaccharide thu được từ thí nghiệm 1 được tiến hành phân tích thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hóa. Trong mỗi nghiệm thức, 3 mẫu được ly trích lặp lại trong thí nghiệm 1 được lấy ngẫu nhiên để phân tích.

2.4.2 Phương pháp phân tích mẫu

Thành phần hóa học:

Hàm lượng protein tổng theo phương pháp của APHA *et al.* (1999); Hàm lượng photpho theo phương pháp của APHA *et al.* (1999); Hàm lượng đường L-fucose được xác định bằng phương pháp Phenol-sulfuric acid (Dubois *et al.*, 1956); SO_4^{2-} được phân tích theo mô tả của Terho và Hartiala (1971); Phlorotannin được phân tích bằng phương pháp Folin-Ciocalteu Phenol (Koivikko *et al.*, 2005).

Hoạt tính chống oxy hóa:

Xác định hoạt tính khử gốc tự do DPPH[•] (2,2-diphenylpicrylhydrazyl ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6^+$):

Hoạt tính loại bỏ gốc DPPH[•] tự do được xác định dựa theo phương pháp của Shimada *and et al.* (1992). Dung dịch DPPH[•] được chuẩn bị ở nồng độ 0,1 mM trong Ethanol 100%. Lấy 1 mL của mẫu polysaccharide (được chuẩn bị ở các nồng độ khác nhau thay đổi từ 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mg/mL) cho vào 1 mL dung dịch DPPH[•]. Hỗn hợp được ủ tối ở 25 °C trong 30 phút. Độ hấp thụ sẽ được đo ở bước sóng $\lambda=517$ nm bằng máy so màu UV-Vis UNICAM (Anh), cuvet 1 cm. Tính toán Phần trăm gốc DPPH[•] tự do được loại bỏ như sau:

Hoạt tính loại bỏ gốc tự do = $[1-(A_1-A_2)/A_0] \times 100\%$

Trong đó: A_0 là độ hấp thụ mẫu không chứa dung dịch polysaccharide

A_1 là độ hấp thụ mẫu có chứa dung dịch polysaccharide

A_2 là độ hấp thụ mẫu không chứa dung dịch DPPH[•]

Hoạt tính tạo phức với Fe^{+2} :

Hoạt tính này được xác định bằng phương pháp mô tả bởi Dinis *and et al.* (1994). Chuẩn bị 1 mL dung dịch polysaccharide ở các nồng độ khác nhau thay đổi từ 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mg/mL, sau đó hoà tan với 3,8 mL nước cất và 0,1 mL dung dịch FeCl_2 2 mM. Sau 30 giây, 0,2 mL dung dịch Ferrozine 5 mM ($\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{Na}_2\text{O}_6\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) được thêm vào và cho phản ứng trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. So màu ở bước sóng $\lambda=562$ nm bằng máy so màu UV-Vis UNICAM (Anh), cuvet 1 cm. Hoạt tính tạo phức được tính toán như sau:

Hoạt tính tạo chelat = $(A_0 - A_1) / A_0 \times 100\%$

Trong đó: A_0 là độ hấp thụ mẫu blank (không chứa polysaccharide)

A_1 là độ hấp thụ của mẫu chứa polysaccharide

Xác định hoạt tính khử Fe^{+3} :

Hoạt tính khử Fe^{+3} của các hỗn hợp polysaccharide được xác định theo phương pháp mô tả bởi Oyaizu (1988). 1 mL dung dịch polysaccharide có nồng độ thay đổi từ 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mg/mL lần lượt được trộn lẫn với 1 mL dung dịch đệm phosphate 0,2 M (pH 6,6) và 1 mL $K_3Fe(CN)_6$ 1% ở nhiệt độ 50 °C (sử dụng waterbath) trong 20 phút. Phản ứng được kết thúc khi thêm 1 mL CCl_3COOH 10%, sau đó ly tâm 5.500 vòng/phút trong 10 phút. Phần dung dịch (1,5 mL) được pha loãng với 1,5 mL nước cất và 0,1 mL dung dịch $FeCl_3$ 0,1% trong 10 phút. So màu ở bước sóng $\lambda = 700$ nm bằng máy so màu UV-Vis UNICAM (Anh), cuvet 1 cm. Nếu độ hấp thụ tăng theo nồng độ polysaccharide, chứng tỏ rằng hoạt tính khử Fe^{+3} tăng.

2.5 Xử lý số liệu

Hàm lượng polysaccharide được tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn ở các nghiệm thức. Nồng độ polysaccharide và hoạt tính chống oxy hóa (%) được xử lý để đánh giá độ tương quan (linear dose-relationship). IC_{50} (median inhibit concentration) là giá trị nồng độ polysaccharide mà hoạt tính đạt được là 50% được ước lượng thông qua phương trình tương quan $Y=aX+b$ giữa nồng độ polysaccharide và hoạt tính (%).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Hàm lượng polysaccharide ly trích từ *S. microcystum* thu hoạch

Hàm lượng polysaccharide thu được tương đối cao và thay đổi tùy theo các dung môi khác nhau. Nghiệm thức dung môi HCl 0,1N cho hàm lượng cao nhất ($40,2 \pm 1,8\%$), kể đến là nghiệm thức nước 100 °C ($25,0 \pm 1,3\%$) và thấp nhất là nghiệm thức Ethanol 90% ($10,9 \pm 0,4\%$).

Lim *et al.* (2002) đã nghiên cứu ly trích rong mơ *S. siliquastrum* bằng methanol, và nước 100

°C, kết quả cho thấy hàm lượng polysaccharide thu được là 6,42 và 2,41% tương ứng. Kết quả nghiên cứu rất đồng nhất với kết quả của Ruperez *et al.* (2002) khi nghiên cứu ly trích rong nâu *Fucus vesiculosus* bằng HCl 0,1N đã thu được hàm lượng polysaccharide đến 42,1%. Bên cạnh đó, Eluvakkal *et al.* (2010) đã ly trích *S.wightii* bằng Ethanol cho thấy hàm lượng polysaccharide đạt 7,15%. Trong khi đó các loài *S. microcystum*, *S. ilicifolium*, *S. marginatum* hàm lượng thu được đều lớn hơn 20% khi ly trích bằng HCl 0,1N. Gần đây nhất, Giang *et al.* (2011) đã báo cáo hàm lượng polysaccharide *S. hemiphyllum* var. *chinense* thu hoạch được là 31% khi sử dụng dung môi nước 100 °C trong 3 giờ. Những kết quả trên cho thấy hàm lượng polysaccharide thay đổi tùy theo dung môi, nhiệt độ và loài rong biển. Bên cạnh đó, Jormalainen và Honkanen (2004) còn nhận định hàm lượng ly trích cũng thay đổi theo loài, theo mùa vụ thu mẫu rong cũng như là điều kiện dinh dưỡng mà rong phát triển. Qua nghiên cứu này có thể thấy rằng, dung môi HCl 0,1N được đánh giá là hiệu quả nhất trong việc ly trích polysaccharide vì đạt được hàm lượng cao (40,2%).

3.2 Thành phần hóa học của các hỗn hợp polysaccharide ly trích từ *S. microcystum*

3.2.1 Hàm lượng protein và photpho

Hàm lượng protein trong rong mơ *S. microcystum* rất thấp, chỉ dao động từ 5,6 - 9,3% trong thành phần của hỗn hợp polysaccharide, cao nhất ở nghiệm thức HCl 0,1N và thấp nhất ở nghiệm thức Ethanol 90%. Hàm lượng photpho cũng cho kết quả tương tự, chỉ dao động ở mức 0,1 - 0,4% (Hình 2).

Hầu hết các loài thuộc ngành rong nâu (Phaeophyta) có hàm lượng protein không cao. Theo Nguyễn Hữu Đại (1997) hàm lượng protein trong *S. tenerrimum* cao nhất 22,14%, *S. congkinhii* từ 13,8 - 15,95% và *S. mcclurei* ở mức thấp hơn (11,35%). Cũng theo tác giả, khi phân bố ở các vùng sinh thái khác nhau thì hàm lượng protein cũng thay đổi. *F. vesiculosus* hàm lượng protein trong hỗn hợp polysaccharide cũng rất thấp từ 1,0 - 6,0% (Ruperez *et al.*, 2002). Tuy nhiên, một số loài cũng có hàm

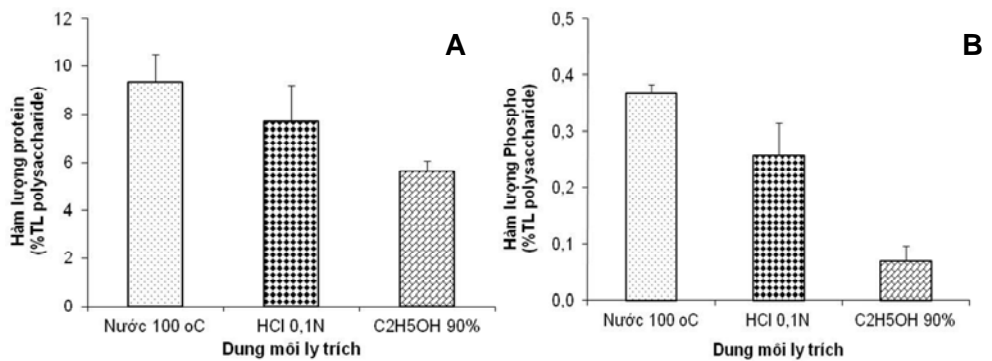
lượng protein khá cao như là *S. longicruris* (27,7±1,5%) (Rioux *et al.*, 2007). Giang và Chen (2010) thì cho rằng hỗn hợp polysaccharide ly trích từ *S. hemiphyllum* var. *chinense* bằng phương pháp nước 100 °C chỉ ở mức 9,1%. Một nghiên cứu gần đây nhất của Badrinathan *et al.* (2011) cho thấy hỗn hợp ly trích từ *S. microcystum* có hàm lượng protein chỉ đạt 3,6%.

3.2.2 Đường L-fucose và SO₄²⁻

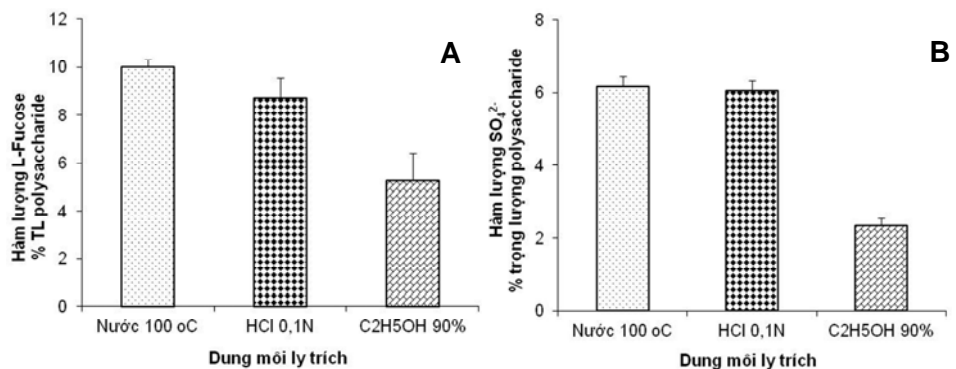
Hỗn hợp polysaccharide ly trích bằng dung môi nước 100 °C có hàm lượng L-fucose cao nhất (10,0±0,3%), kế đến là dung môi HCl 0,1N (8,7±0,8%) (Hình 3A). Tuy nhiên, hàm lượng SO₄²⁻ không có sự chênh lệch lớn giữa hai nghiệm thức dung môi nước 100 °C và HCl 0,1N và đạt giá trị 6,2% và 6,1% tương ứng (Hình 3B).

L-fucose là một dạng đường trung tính rất quan trọng và thường chứa nhiều trong ngành rong nâu (Phaeophyta) và đường sulfate fucan là dạng đường chủ yếu được tìm thấy trong rong nâu. Trong polysaccharide ly trích từ rong nâu *Undaria pinnatifida* bằng HCl 0,1 N có hàm lượng đường L-fucose rất cao (72%), trong khi đó đường xylose chỉ chiếm 1,5% (Kim *et al.*, 2007). Thông thường, các đường trung tính dao động dưới 50% trong tổng carbohydrate và SO₄²⁻ ít khi vượt quá 20%. Hàm lượng SO₄²⁻ trong *Cladosiphon okamuranus* chiếm khoảng 9,8% (Hitoshi *et al.*, 2006). Eluvakkal *et al.* (2010) báo cáo ở rong *S. wightii* có hàm lượng L-fucose (23,3%), SO₄²⁻ (9,9% trọng lượng polysaccharide). Giang *et al.* (2011) công bố hàm lượng L-fucose và SO₄²⁻ trong hỗn hợp polysaccharide từ rong mơ *S. hemiphyllum* var. *chinense* là 31,8 và 3,6% tương ứng.

Hình 2: Hàm lượng protein (A) và photpho (B) trong các hỗn hợp polysaccharide



Hình 3: Hàm lượng L-Fucose (A) và SO₄²⁻ (B) trong các hỗn hợp polysaccharide



3.2.3 Phlorotannin

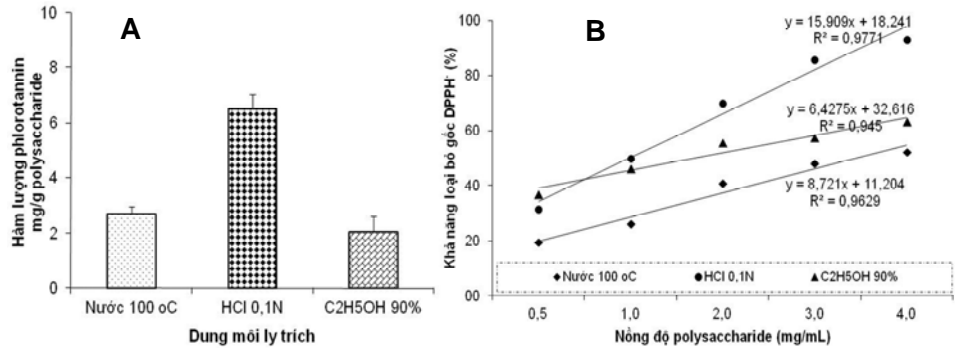
Polysaccharide ly trích từ rong mơ *S. microcystum* có hàm lượng phlorotannin dao động từ 2,1 - 6,5%. Cao nhất ở nghiệm thức HCl 0,1N (6,5 ± 0,5%) và thấp nhất ở nghiệm thức Ethanol 90% (Hình 4A). Tannin trong tự

nhiên bao gồm Hydrolysable-tannin thường tìm thấy trong các cây hạt kín (Waterman và Mole, 1994); Flavonoid-tannin là dạng tìm thấy trong rượu vang, trà, hạt ca cao (Santos-Buelga và Scalbert, 2000) và phlorotannin (bao gồm các phloroglucinol) chỉ tìm thấy duy nhất trong rong nâu Phaeophyta (Ragan và Glombitza,

1986). Đây là đặc tính quan trọng đánh giá hoạt tính chống oxy hóa một loài rong nâu. Kết quả của Chowdhury *et al.* (2011) cho thấy hàm lượng phlorotannin trong *Ecklonia cava* đạt 0,182% (1,82 mg/g) và ở rong nâu trưởng thành cao hơn rong còn nhỏ. Do đó hàm lượng phlorotannin biến động tùy theo từng loài theo

giai đoạn phát triển, các bộ phận khác nhau trên thân và phương pháp chiết tách. Ngoài ra một số yếu tố như là độ mặn, ánh sáng, tia tử ngoại, mật độ của rong nâu cũng ảnh hưởng đến hàm lượng phlorotannin trong rong mơ *Sargassum* (Jormalainen và Honkanen, 2008).

Hình 4: Phlorotannin (mg/g) (A) và hoạt tính loại bỏ gốc oxy hóa DPPH[•] của các hỗn hợp polysaccharide



3.3 Hoạt tính chống oxy hóa các hỗn hợp polysaccharide ly trích từ *S. microcystum*

3.3.1 Hoạt tính loại bỏ gốc oxy hóa DPPH[•]

Hoạt tính loại bỏ gốc DPPH[•] gia tăng tỉ lệ thuận với nồng độ của hỗn hợp polysaccharide với hệ số tương quan tương đối cao. Hỗn hợp polysaccharide ly trích bằng HCl 0,1N có hoạt tính loại bỏ gốc DPPH[•] cao nhất ($Y = 15,909X + 18,241$; $r^2 = 0,9771$), kế đến là dung môi Ethanol 90% ($Y = 6,4275X + 32,616$; $r^2 = 0,945$) (Hình 4B). Giá trị IC₅₀ lần lượt là 2,00; 2,70 và 4,45 đối với nghiệm thức HCl 0,1N, Ethanol 90% và nước 100 °C.

Hoạt tính loại bỏ gốc oxy hóa DPPH[•] đạt 19,1% khi xử lý với hỗn hợp polysaccharide ly trích từ rong nâu *S. pallidum* ở nồng độ 3,8 mg/mL (Ye *et al.*, 2008). Trong khi đó theo nghiên cứu của Patra *et al.* (2008) thì hỗn hợp polysaccharide ly trích từ *Sargassum sp.* có hoạt tính chống oxy hóa rất cao ở hàm lượng 0,8 mg/mL. Ngoài ra, Lim *et al.* (2002) cho rằng *S. siliquastrum* được ly trích bằng dung môi dichloromethal có hoạt tính chống oxy hóa cao nhất ở nồng độ 0,1 mg/mL. Theo Hwang *et al.* (2010) hỗn hợp ly trích từ *S. hemiphyllum* bằng nước 100 °C, giá trị IC₅₀ là 1,58 mg/mL. Từ những nhận định trên cho thấy hỗn hợp polysaccharide ly trích bằng HCl 0,1N hoạt tính

loại bỏ gốc oxy hóa tự do DPPH[•] trong nghiên cứu hiện tại khá cao.

3.3.2 Hoạt tính tạo phức với Fe⁺²

Hỗn hợp polysaccharide ly trích bằng HCl 0,1N có hoạt tính tạo phức với Fe⁺² cao nhất so với nghiệm thức nước 100 °C và Ethanol 90%. Polysaccharide ở nồng độ 4,0 mg/L có hoạt tính lên đến 76,7%. Các giá trị IC₅₀ ở các nghiệm thức HCl 0,1N, nước 100 °C và Ethanol 90% tương ứng là 3,32; 5,01; và 6,38 mg/L. Sự tương quan giữa nồng độ và hoạt tính tạo phức với Fe⁺² khá cao (Hình 5A).

Fe là một kim loại chuyển tiếp, có khả năng thúc đẩy hoặc kích thích quá trình oxy hóa lipid trong cơ thể từ đó sinh ra các gốc oxy hóa (Hwang *et al.*, 2010). Trong khi đó sự oxy hóa Fe⁺² có thể bị ngăn chặn khi cho tác dụng với dung dịch polysaccharide ly trích từ rong biển mà điều này thể hiện rõ trong mối quan hệ chặt chẽ giữa nồng độ và hoạt tính tạo phức với Fe⁺² trong nghiên cứu này (Hình 5A). Khi kiểm tra hoạt tính tạo phức của hỗn hợp polysaccharide ly trích từ rong mơ *S. hemiphyllum*, Hwang *et al.* (2010) cho thấy giá trị IC₅₀ là 2,07 mg/L. Như vậy, polysaccharide ly trích từ rong mơ *S. microcystum* trong nghiên cứu hiện tại có hoạt tính thấp hơn.

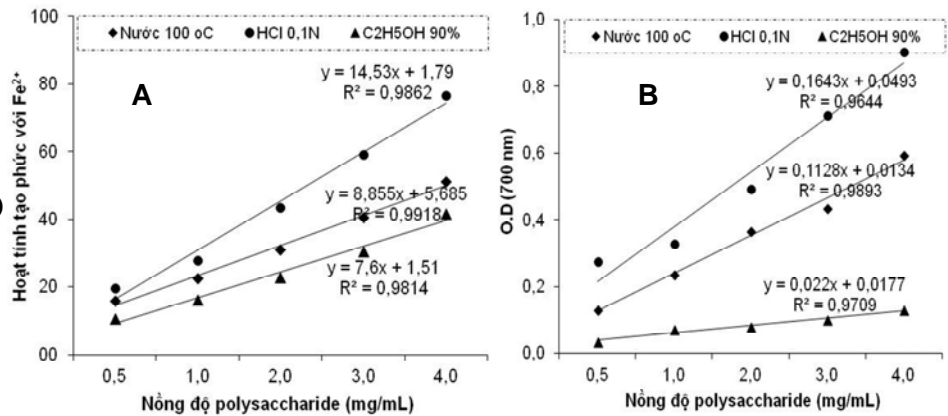
3.3.3 Hoạt tính khử Fe^{+3}

Các hỗn hợp polysaccharide ly trích từ *S. microcystum* thể hiện hoạt tính khử Fe^{+3} . Điều này thể hiện rõ khi độ hấp thụ quang (O.D) gia tăng cùng với nồng độ của các hỗn hợp ly trích. Tuy nhiên, polysaccharide ly trích bằng Ethanol 90% thể hiện hoạt tính thấp nhất ($Y = 0,022X + 0,0177$; $r^2 = 0,9709$) (Hình 5B). Điều này cho thấy hoạt tính khử Fe^{+3} có liên quan đến hàm lượng phlorotannin trong hỗn hợp mà kết quả

phân tích cho thấy hàm lượng phlorotannin của hỗn hợp này là thấp nhất (Hình 4A).

Hoạt tính khử Fe^{+3} của hỗn hợp polysaccharide ly trích từ *S. hemiphyllum* ở nồng độ 1,0 mg/mL cho giá trị O.D lên đến hơn 1,2 (Hwang *et al.*, 2010). Tuy nhiên nghiên cứu hiện tại lại cho kết quả thấp hơn nhiều. Đối với polysaccharide ly trích rong Kelp *Laminaria japonica* bằng các dung môi khác nhau thì khi nồng độ thay đổi từ 0,5-2,5, độ hấp thụ quang thay đổi từ 0,33 - 0,44 (Wang *et al.*, 2009).

Hình 5: Hoạt tính tạo phức với Fe^{+2} (A) và hoạt tính khử Fe^{+3} (B) của các hỗn hợp polysaccharide



4 KẾT LUẬN

Dung môi HCl 0,1N cho hàm lượng polysaccharide cao nhất và chứa hàm lượng đường L-fucose, SO_4^{2-} , phlorotannin và hoạt tính chống oxy hóa cao so với dung môi nước 100 °C và Ethanol 90%. Các polysaccharide thu được có hàm lượng protein thấp, chỉ dao động từ 5,6-9,3%. Nghiệm thức dung môi Ethanol 90% có hàm lượng đường L-Fucose, SO_4^{2-} và hoạt tính chống oxy hóa thấp nhất. Kết quả đạt được đã chứng minh polysaccharide ly trích từ rong mơ *S. microcystum* bằng dung môi HCl 0,1N có thể sử dụng như là nguồn hợp chất chống oxy hóa từ rong nâu. Nghiên cứu tiếp theo cần tập trung vào việc sử dụng hợp chất này vào sự tăng cường miễn dịch, tỉ lệ sống của tôm cá. Ngoài ra, cần tiếp tục nghiên cứu ly trích polysaccharide từ *S. microcystum* bằng nhiều dung môi khác để đạt được những hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa cao nhất phục vụ cho nghề nuôi thủy sản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. APHA, AWWA, WEF, 1999. Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th edition. American Public Health Association 1015 Fifteenth Street, NWWashington, DC20005.
2. Badrinathan, S., S.C. Suneeva, T.M. Shiju, C.P.Girish-Kumar and V. Pragasam, 2011. Exploration of a novel hydroxyl radical scavenger from *Sargassum myriocystum*. Journal of Medicinal Plants Research. 5: 1997-2005.
3. Blondin, C., E. Fischer, C. Boisson-Vidal, M.D.Kazatchkine and J. Jozefonvicz, 1994. Inhibition of complement activation by natural sulfated polysaccharides (fucoidans) from brown seaweed. Molecular Immunology. 31: 247-253.
4. Chowdhury, T.T.H. , I. Bangoura, J.Y. Kang, N.G. Park, D.H.Ahn, and Y.K. Hong, 2011. Distribution of Phlorotannins in the brown alga *Ecklonia cava* and comparison of pretreatments for extraction. Fisheries and Aquatic Sciences. 14: 198-204.

5. Dawson, E.Y., 1954. Marine plants vicinity Institute Oceanography Nha Trang Vietnam. Pacific Science Journal. 8: 373-481.
6. Dinis, T.C.P., V.M.C. Madeira and L.M. Almeida, 1994. Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and peroxy radicals scavengers” Archives of Biochemistry and Biophysics. 315: 161-169.
7. Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith, 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry. 28: 350-356.
8. Eluvakkal, T., Sivakumar, S.R., Arunkumar, K., 2010. Fucoidan in some Indian brown seaweeds found along the Coast Gulf of Mannar. International Journal of Botany. 6: 176-181.
9. Franz, G., D. Paper and S. Alban, 2000. Pharmacological activities of sulphated carbohydrate polymers. In: Paulsen BS (ed.) Bioactive Carbohydrate Polymers, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp. 47-58.
10. Giang, H.T, S.T. Yeh, Y.C.Lin, J.F. Shyu, L.L.Chen, J.C.Chen, 2011. White shrimp *Litopenaeus vannamei* immersed in seawater containing *Sargassum hemiphylum* var. *chinense* powder and its extract showed increased immunity and resistance against *Vibrio alginolyticus* and white spot syndrome virus. Fish and Shellfish Immunology. 31: 286-293.
11. Giang, H.T. and J.C. Chen, 2010. Enhancement of immunity and resistance of *Vibrio alginolyticus* in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* that had received the *Sargassum hemiphylum* var. *chinense*. Master Thesis. National Taiwan Ocean University. 148 pp.
12. Hitoshi, K., M. Yasunari, K. Takayuki, T. Katsunori, N. Tsuyoshi, K. Makoto and M. Hideyuki, 2006. Effects of Fucoidan from Mozuku on human stomach cell lines. Food Science and Technology Research. 12: 218-222.
13. Huang, X., H. Zhou and H. Zhang, 2006. The effect of *Sargassum fusiforme* polysaccharide extracts on vibriosis resistance and immune activity of the shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. Fish Shellfish Immunology 20: 750-757.
14. Hwang, P.A., C.H. Wu, S.Y. Gau, S.Y. Chien and D.F. Hwang, 2010. Antioxidant and immune-stimulating activities of hot-water extract from seaweed *Sargassum hemiphylum*. Journal of Marine Science and Technology. 18: 41-46.
15. Jormalainen, V., T. Honkanen, 2004. Variation in natural selection for growth and phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*. Journal of Evolution Biology. 17: 807-820.
16. Jormalainen, V. and T. Honkanen, 2008. Macroalgal chemical defenses and their roles in structuring temperate marine communities. In: Algal Chemical Ecology, Amsler, C.D. (Ed). Springer: Berlin. pp. 57-89.
17. Kim, W.J., S.M. Kim, H.G. Kim, H.R. Oh, K.B. Lee, Y.K. Lee, Y.I. Park, 2007. Purification and anticoagulant activity of a fucoidan from Korean *Undaria pinnatifida* Sporophyll. Algae. 22: 247-252.
18. Koivikko, R., J. Lopenen, T. Honkanen and V. Jormalainen, 2005. Contents of soluble, cellwall bound and exuded phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*, with implications on their ecological functions. Journal of Chemistry Ecology. 31: 195-212.
19. Lim, S.N., P.C.K. Cheung, V.E. Ooi, P.O. Ang, 2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. Journal of Agricultural Food Chemistry. 50: 3862-3866.
20. Tseng, C.K. and B. Lu, 2004. Some new species of the holozygocarpic *Sargassum* from the South China Sea. In: Taxonomy of Economic Seaweeds with reference to the Pacific and other locations. Abbott, I.A. & McDermid, K.J. Eds. 9: 81-92.
21. Nguyễn Hữu Đại, 1997. Rong Mơ (Sargassaceae) Việt Nam. Nguồn lợi và ứng dụng. Nhà xuất bản Nông nghiệp. 200 trang.
22. Nguyễn Hữu Dinh, Huỳnh Quang Năng, Trần Ngọc Bút và Nguyễn Văn Tiến, 1993. Rong biển Việt Nam – Phần phía Bắc. Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật. 364 trang.
23. Oyaizu, M., 1988. Antioxidative activity of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi. 46: 571-575.
24. Patra, J.K., S.K. Rath, K. Jena, V.K. Rathod and H. Thatoi, 2008. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of seaweed (*Sargassum*

- sp.) Extract: A study on inhibition of Glutathione-S-Transferase activity. Turkish Journal of Biology. 32: 119-125.
25. Phạm Hoàng Hộ, 1969. Rong biển Việt Nam (Marine algae from South Vietnam). Trung tâm Học liệu Sài Gòn. 558 trang.
26. Ragan, M.A. and K.W. Glombitza, 1986. Phlorotannins, brown algal polyphenols. In Progress in Phycological Research, Round, F.E., Chapman, D.J. (Eds). Biopress Ltd: Bristol, pp. 129-241.
27. Rioux, L.E., S.L. Turgeon, M. Beaulieu, 2007. Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. Carbohydrate Polymers. 69: 530-537.
28. Ruperez, P., O. Ahrazem and J.A. Leal, 2002. Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. Journal of Agricultural Food Chemistry. 50: 840-845.
29. Santos-Buelga, C. and A. Scalbert, 2000. Proanthocyanidins and tannin-like compounds nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. Journal of Science Food Agriculture. 80: 1094-1117.
30. Shimada, K., K. Fujikawa, K. Yahara and T. Nakamura, 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 40: 945-948.
31. Terho, T.T. and K. Hartiala, 1971. Method for determination of the sulfate content of Glycosaminoglycan. Analytical Biochemistry. 41: 471-476.
32. Wang, J., L. Liu, Q.B. Zhang, Z.S. Zhang, H.M. Qi and P.C. Li, 2009. Synthesized oversulfated, acetylated and benzoylated derivatives of fucoidan extracted from *Laminaria japonica* and their potential antioxidant activity in vitro. Food Chemistry. 114: 1285-1290.
33. Waterman, P.G. and S. Mole, 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Publications: Oxford, Great Britain.
34. Ye, H., K. Wang, C. Zhou, J. Liu and X. Zeng, 2008. Purification, antitumor and antioxidant activities *in vitro* of polysaccharides from the brown seaweed *Sargassum pallidum*. Food Chemistry. 111: 428-432.
35. Yeh, S.T., C.S. Lee, J.C.Chen, 2006. Administration of hot-water extract of brown seaweed *Sargassum duplicatum* via immersion and injection enhances the immune resistance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Fish Shellfish Immunology. 20: 332-345.