

Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa và ức chế tyrosinase của gừng xoài (*Curcuma amada* Roxb.)

Phạm Thị Bé Tư^{1*}, Nguyễn Lê Đức Huy¹, Phạm Ý Vy¹, Bùi Phước Tâm²

¹Trường Nông nghiệp - Trường Đại học Cần Thơ

²Viện nghiên cứu nông nghiệp Lộc Trời, tỉnh An Giang

A study on the antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of Mango ginger (*Curcuma amada* Roxb.)

Pham Thi Be Tu^{1*}, Nguyen Le Duc Huy¹, Pham Y Vy¹, Bui Phuoc Tam²

¹College of Agriculture - Can Tho University

²Loc Troi Agricultural Research Institute, An Giang province

*Corresponding author: ptbtu@ctu.edu.vn

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.14.6.2025.030-037>

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 03/06/2025

Ngày phản biện: 11/07/2025

Ngày quyết định đăng: 18/08/2025

Từ khóa:

Curcuma amada, ethyl acetate, kháng oxy hóa, ức chế enzyme tyrosinase.

Keywords:

Antioxidant, anti-tyrosinase, *Curcuma amada*, ethyl acetate.

TÓM TẮT

Chiết xuất từ thực vật từ lâu đã được xem là phương thuốc quan trọng giúp duy trì sức khỏe, tăng cường miễn dịch và phòng ngừa, điều trị bệnh mạn tính. Các hợp chất tự nhiên có trong thảo mộc, gia vị, trái cây và rau củ không chỉ tạo hương vị cho thực phẩm mà còn mang lại nhiều lợi ích sức khỏe. Các thành phần hoạt tính như polyphenol, terpenoid, alkaloid và flavonoid trong thực vật đã chứng minh cơ sở khoa học cho việc sử dụng rộng rãi của chúng trong y học và dinh dưỡng. Gừng xoài (*Curcuma amada* Roxb.) là một loại gia vị có giá trị được ứng dụng rộng rãi trong ẩm thực và y học cổ truyền. Nghiên cứu này tiến hành so sánh các loại chiết xuất từ rễ củ *C. amada* dạng tươi và khô bằng các dung môi khác nhau nhằm đánh giá khả năng chống oxy hóa và ức chế enzyme tyrosinase. Kết quả cho thấy chiết xuất ethyl acetate từ mẫu tươi thể hiện hoạt tính mạnh nhất, với giá trị IC_{50} đối với DPPH và ABTS lần lượt là $8,3 \pm 0,007 \mu\text{g/mL}$ và $4,9 \pm 0,87 \mu\text{g/mL}$. Đồng thời, chiết xuất này cũng cho thấy khả năng ức chế enzyme tyrosinase hiệu quả nhất ($IC_{50} = 42,64 \pm 0,41 \mu\text{g/mL}$), vượt trội so với các chiết xuất từ acetone, methanol, ethanol và nước. Ngoài ra, mẫu tươi nhìn chung cho hoạt tính sinh học cao hơn mẫu khô, cho thấy tiềm năng sử dụng nguyên liệu tươi trong các ứng dụng chống oxy hóa và ức chế tyrosinase.

ABSTRACT

Plant extracts have long been regarded as important remedies for maintaining health, enhancing immunity, and preventing and treating chronic diseases. Natural compounds found in herbs, spices, fruits, and vegetables not only add flavor to food but also offer numerous health benefits. Bioactive components such as polyphenols, terpenoids, alkaloids, and flavonoids in plants have provided scientific evidence supporting their widespread use in medicine and nutrition. Mango ginger (*Curcuma amada* Robx.) is a spice of high usage in culinary formulations and traditional/folk systems of medicine for therapeutic actions in Asian countries. In this study, we compared the different solvent extracts between fresh and dried powder from *C. amada* rhizomes on antioxidant and anti-tyrosinase activities. The results reveal that ethyl acetate extract from a fresh sample showed strong effectiveness on scavenging DPPH and ABTS radical ($IC_{50} = 8.3 \pm 0.007$ and $4.9 \pm 0.87 \mu\text{g/mL}$, respectively) than other solvent extractions. Tyrosinase inhibitory effects had the strongest ethyl acetate extract from the fresh sample ($IC_{50} = 42.64 \pm 0.41 \mu\text{g/mL}$) and

significantly stronger than that of acetone, methanol, ethanol and water extracts. Comparison of antioxidant and anti-tyrosinase activities between fresh and dried powder samples, the fresh sample possessed stronger inhibitory activities than the dried powder sample. This suggests the potential for using fresh materials in antioxidant and tyrosinase inhibitory applications.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các chiết xuất thô và hoạt chất sinh học từ thực vật tự nhiên đã được chứng minh có khả năng kháng oxy hóa hiệu quả, góp phần ngăn ngừa quá trình tổn thương tế bào do stress oxy hóa gây ra [1]. Gốc tự do là tác nhân gây nên nhiều rối loạn trong cơ thể, bao gồm viêm đường tiêu hóa, lão hóa, ung thư và rối loạn chuyển hóa như tăng đường huyết. Trong số các hợp chất tự nhiên, nhóm phenolic – một thành phần chính của chất chuyển hóa thứ cấp trong thực vật – có khả năng chống oxy hóa mạnh. Ở nồng độ thấp, các hợp chất phenolic hoạt động như những tác nhân loại bỏ gốc tự do, giúp bảo vệ cơ thể và thực phẩm khỏi quá trình oxy hóa [2, 3].

Bên cạnh đó, enzyme tyrosinase đóng vai trò chính trong quá trình sinh tổng hợp melanin thông qua việc xúc tác các phản ứng oxy hóa của L-tyrosine và L-DOPA. Tyrosinase không chỉ điều hòa quá trình hình thành sắc tố mà còn là nguyên nhân gây ra hiện tượng hóa nâu trong rau quả và thực phẩm [4]. Do đó, các chất ức chế tyrosinase ngày càng được quan tâm trong các lĩnh vực dược phẩm, thực phẩm và mỹ phẩm nhằm kiểm soát quá trình oxy hóa và sắc tố hóa.

Chi *Curcuma* (thuộc họ Gừng – Zingiberaceae) bao gồm hơn 80 loài thực vật thân rễ. Chúng có nguồn gốc từ khu vực Ấn Độ - Mã Lai và được phân bố rộng rãi ở vùng nhiệt đới từ châu Á đến châu Phi và châu Úc. Gừng xoài (*Curcuma amada* Roxb.) – một loài thân rễ thuộc chi *Curcuma* – được biết đến với nhiều ứng dụng khác nhau như một nguồn tạo hương vị xoài sống trong thực phẩm và nhiều hoạt tính sinh học phong phú, nhờ chứa đa dạng các hợp chất chuyển hóa thứ cấp. Nhiều nghiên

cứu trước đây đã ghi nhận các tác dụng như kháng khuẩn, kháng nấm, chống viêm, hạ sốt, giảm cholesterol, chống oxy hóa và tiềm năng ứng dụng trong ngành thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm [5-7]. Một số hoạt chất như difurocumenonol, amadannulen và labdane diterpene từ thân rễ từ cây gừng xoài đã thể hiện rõ hoạt tính kháng khuẩn, chống gốc tự do và độc tế bào [8].

Tuy nhiên, hiện nay các nghiên cứu liên quan đến khả năng kháng oxy hóa và ức chế tyrosinase của *C. amada*, cũng như sự so sánh giữa nguyên liệu tươi và khô, hay tác động của các loại dung môi chiết xuất khác nhau lên hoạt tính sinh học vẫn còn khá hạn chế. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá và so sánh hiệu quả kháng oxy hóa và ức chế enzyme tyrosinase của thân rễ cây gừng xoài ở hai dạng nguyên liệu (tươi và khô), sử dụng các dung môi chiết xuất khác nhau.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu củ tươi được thu thập tại nông trại của Trường Đại học Ryukyus, tỉnh Okinawa, Nhật Bản. Thân rễ được rửa sạch, cắt lát và sấy khô trong lò sấy khí nóng ở nhiệt độ 50°C trong vòng 72 giờ, sau đó được nghiền thành bột mịn với kích thước lọt qua rây 60 mesh bằng máy nghiền Apex Communiting Mill (Apex Construction Ltd, London). Mẫu được bảo quản ở nhiệt độ -20°C cho đến khi thực hiện thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chiết xuất mẫu: Mẫu tươi (50 gram) và mẫu bột khô (20 gram) được chiết xuất trong 400 mL dung môi nước (H₂O), ethanol (EtOH), methanol (MeOH), acetone và ethyl acetate

(EtOAc) và lắc trong 24 giờ. Các chiết xuất sau đó được lọc và làm bay hơi dưới áp suất giảm bằng thiết bị cô quay cho đến khi khô. Các mẫu được giữ ở 4°C cho các thí nghiệm kế tiếp.

Xác định hàm lượng polyphenol tổng số: Định lượng hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) bằng thuốc thử Folin-Ciocalteu theo quy trình được mô tả bởi Cáceres và cộng sự [9] có hiệu chỉnh. 500 µL Folin-Ciocalteu và 500 µL nước cất được thêm vào 200 µL mẫu cao chiết tươi và khô ở nồng độ 1000 µg/mL. Sau 5 phút, 800 µL dung dịch natri carbonate (7,5%) được thêm vào hỗn hợp và ủ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 760 nm bằng máy quang phổ Shimadzu UV-160A (Kyoto, Nhật Bản). Gallic acid được sử dụng như chất đối chứng dương để xây dựng phương trình đường chuẩn. Hàm lượng polyphenol được tính toán dựa trên đường chuẩn và được biểu thị bằng mg gallic acid tương đương (mg GA)/ 100 g khối lượng mẫu.

Xác định hàm lượng flavonoid tổng số: Hàm lượng flavonoid tổng số trong mỗi dịch chiết pha loãng được xác định bằng phương pháp so màu $AlCl_3$ được mô tả bởi Djeridane và cộng sự [10]. Tóm lại, 100 µL mẫu chiết xuất ở nồng độ 1000 µg/mL được cho vào đĩa 96 giếng và 100 µL 2% $AlCl_3$ được thêm vào, hỗn hợp phản ứng được ủ trong 15 phút ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 430 nm. Rutin được sử dụng như chất đối chứng dương xây dựng phương trình đường chuẩn. Hàm lượng flavonoid được tính toán dựa trên phương trình đường chuẩn và được biểu thị bằng mg rutin tương đương (RE)/100 g khối lượng mẫu.

Xác định khả năng kháng oxy hóa:

Xác định khả năng khử gốc tự do 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH): Thử nghiệm khả năng khử gốc tự do DPPH được tính theo quy trình của Boskou và cộng sự [11]. 40 µL DPPH và 80 µL dung dịch đệm natri acetat (0,1 M, pH = 5,5) được thêm vào 80 µL mẫu dung dịch chiết xuất ở các nồng độ 10, 100 và 250

µg/mL bằng đĩa 96 giếng. Dung dịch hỗn hợp được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 517 nm bằng máy quang phổ (Shimadzu UV-160A, Kyoto, Nhật Bản). 2,6-di-1butyl-4 methyl phenol (BHT) được sử dụng như chất đối chứng dương. Hoạt động khử gốc tự do được tính theo công thức sau:

$$DPPH (\%) = (A_{Đ/C} - A_{mẫu}) / A_{Đ/C} \times 100$$

Trong đó:

$A_{Đ/C}$ là giá trị độ hấp thụ của chất đối chứng;

$A_{mẫu}$ là giá trị độ hấp thụ của mẫu chiết xuất.

Thí nghiệm được thực hiện với ba lần lặp lại, (%) ức chế hoạt động của gốc tự do được biểu thị dạng biểu đồ dựa trên nồng độ chiết xuất tương ứng và từ đó tính được giá trị IC_{50} (giá trị này ức chế được 50% hoạt động của gốc tự do).

Xác định khả năng khử gốc tự do của ABTS: Thử nghiệm khả năng khử gốc tự do được thực hiện bằng máy đo quang phổ theo phương pháp như mô tả của Re và cộng sự [12]. Dung dịch phản ứng được chuẩn bị bằng cách trộn 7 mM ABTS và 2 mM $K_2S_2O_8$ với số lượng bằng nhau và để trong tối qua đêm (hơn 16 giờ) ở nhiệt độ phòng. Dung dịch được pha loãng bằng cách trộn với nước để thu được độ hấp thụ $0,70 \pm 0,03$ đơn vị ở bước sóng 734 nm. Sau đó, các mẫu chiết xuất có nồng độ khác nhau 10, 100 và 250 µg/mL được thêm vào và đo ở bước sóng 734 nm sau 6 phút ủ ở nhiệt độ phòng. 2,6-di-1butyl-4 methyl phenol (BHT) được sử dụng như chất đối chứng dương. Hoạt động khử gốc tự do được tính theo công thức sau:

$$ABTS (\%) = (A_{Đ/C} - A_{mẫu}) / A_{Đ/C} \times 100$$

Trong đó:

$A_{Đ/C}$ là giá trị độ hấp thụ của chất đối chứng;

$A_{mẫu}$ là giá trị độ hấp thụ của mẫu chiết xuất.

Thí nghiệm được thực hiện với ba lần lặp lại, (%) ức chế hoạt động của gốc tự do được biểu thị dạng biểu đồ dựa trên nồng độ chiết xuất tương ứng và từ đó tính được giá trị IC_{50}

(giá trị này ức chế được 50% hoạt động của gốc tự do).

Xác định khả năng hoạt động ức chế enzyme tyrosinase: Hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase được xác định bằng phương pháp như đã mô tả bởi Tadtong và cộng sự [13] bằng cách đo DOPA chrome được hình thành do tác động của enzyme tyrosinase trên cơ chất tyrosine. Các mẫu chiết xuất được hòa tan trong dung môi tương ứng để tạo ra các nồng độ khác nhau (10, 20 và 50 µg/mL). Đĩa 96 giếng được thiết lập theo thứ tự sau; 120 µL đệm phosphate (20 mM, pH 6,8), 20 µL mẫu và 20 µL tyrosinase (500 U/mL trong đệm phosphate 20 mM). Sau khi ủ ở 25°C trong 15 phút, phản ứng được bắt đầu bằng cách thêm 20 µL dung dịch L-tyrosine 0,85 mM vào mỗi giếng, sau đó ủ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Hoạt tính của enzyme được xác định bằng cách đo độ hấp thụ ở bước sóng 470 nm. Acid Kojic được sử dụng như một chất đối chứng dương. Phần trăm ức chế tyrosinase được tính như sau:

$$\text{Ức chế hoạt động tyrosinase (\%)} = [(A - B) - (C - D)] / (A - B) \times 100$$

Bảng 1. Hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số của các dung môi chiết khác nhau từ các mẫu bột tươi và khô gừng xoài

Dung môi chiết xuất	Hàm lượng polyphenol tổng số (mg GAE/g chiết xuất)		Hàm lượng flavonoid tổng số (mg Rutin/g chiết xuất)	
	Mẫu tươi	Mẫu khô	Mẫu tươi	Mẫu khô
Ethyl acetate	144,1 ± 2,59 ^a	81,3 ± 0,54 ^a	597,4 ± 0,89 ^a	45,7 ± 1,98 ^a
Acetone	64,9 ± 0,01 ^b	81,7 ± 13,2 ^a	426,5 ± 4,36 ^b	36,0 ± 2,35 ^b
Ethanol	38,3 ± 0,37 ^d	385,0 ± 4,06 ^b	102,7 ± 3,64 ^d	31,0 ± 0,75 ^b
Methanol	45,5 ± 1,66 ^c	204,0 ± 4,20 ^c	167,1 ± 1,75 ^c	15,4 ± 1,53 ^c
Nước	11,7 ± 3,12 ^e	14,4 ± 4,48 ^d	15,19 ± 0,09 ^e	45,9 ± 6,63 ^a

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột được theo sau bởi cùng một chữ cái không khác biệt có ý nghĩa ở $p \leq 0,05$.

Hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số của các mẫu chiết xuất bằng các loại dung môi khác nhau được trình bày trong Bảng 1. Trong số các dung môi khảo sát, ethyl acetate cho thấy hiệu quả chiết xuất cao nhất đối với hợp chất polyphenol và flavonoid tổng số. Cụ thể, hàm lượng polyphenol tổng số trong chiết xuất ethyl acetate từ mẫu tươi đạt 144,1 ±

Trong đó:

A là độ hấp thụ của đối chứng có enzyme, B là độ hấp thụ của đối chứng không có enzyme, C là độ hấp thụ của mẫu thử có enzyme và D là độ hấp thụ của mẫu thử không có enzyme.

Phân tích thống kê: Số liệu thống kê và biểu đồ được phân tích bằng phần mềm Microsoft Excel 2016.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ thu hồi chiết xuất gừng xoài

Mẫu tươi (50 gram) và mẫu bột khô (20 gram) được chiết lần lượt ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ bằng nước, ethanol, methanol, acetone và ethyl acetate. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm bằng cách sử dụng cô quay thu được methanol (3,06 ± 0,39 gram), acetone (2,098 ± 0,22 gram), nước (1,3 ± 0,11 gram), ethanol (0,85 ± 0,25 gram) và ethyl acetate (0,338 ± 0,12 gram), tương ứng. Trong khi chiết xuất dạng bột khô thu được lần lượt với nước (9,3 ± 0,37 gram), methanol (8,1 ± 0,23 gram), ethyl acetate (3,2 ± 0,13 gram), acetone (2,9 ± 0,08 gram) và ethanol (2,7 ± 0,09 gram).

3.2. Hàm lượng Polyphenol và Flavonoid tổng số

2,59 mg GAE/g chiết xuất, trong khi ở mẫu bột khô là 81,37 ± 0,54 mg GAE/g.

Chiết xuất bằng acetone cũng cho kết quả khá cao, với 81,7 ± 13,29 mg GAE/g từ mẫu bột khô và 64,95 ± 0,01 mg GAE/g từ mẫu tươi. Các dịch chiết ethanol từ cả hai dạng nguyên liệu có hàm lượng polyphenol tương đối đồng đều, lần lượt là 38,3 ± 0,37 mg

GAE/g (mẫu tươi) và $38,5 \pm 4,06$ mg GAE/g (mẫu khô).

Ngược lại, dung môi nước cho thấy hiệu quả chiết xuất thấp nhất trong việc thu nhận polyphenol tổng số. Mẫu tươi chiết bằng nước chỉ đạt $11,7 \pm 3,12$ mg GAE/g, trong khi mẫu bột khô là $14,4 \pm 4,48$ mg GAE/g. Nhìn chung, mẫu tươi có xu hướng chứa hàm lượng polyphenol cao hơn mẫu khô ở phần lớn các loại dung môi, cho thấy khả năng bảo tồn hợp chất hoạt tính sinh học cao hơn khi sử dụng nguyên liệu tươi.

Kết quả nghiên cứu cho thấy chiết xuất bằng ethyl acetate thu được hàm lượng flavonoid tổng số cao nhất so với các dung môi còn lại (Bảng 1), với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Cụ thể, trong mẫu tươi, chiết xuất ethyl acetate đạt $597,4 \pm 0,89$ mg rutin/g chiết xuất, vượt trội so với acetone ($426,5 \pm 4,36$ mg rutin/g) và methanol ($167,1 \pm 1,75$ mg rutin/g). Tương tự, ở mẫu bột khô, ethyl acetate tiếp tục là dung môi hiệu quả nhất với hàm lượng flavonoid tổng số đạt $45,7 \pm 1,98$ mg rutin/g, theo sau là acetone ($36,0 \pm 2,35$ mg/g) và ethanol ($31,0 \pm 0,75$ mg/g).

Khi so sánh giữa hai dạng nguyên liệu, mẫu tươi cho hàm lượng flavonoid tổng số cao hơn rõ rệt so với mẫu bột khô trong tất cả các loại dung môi, ngoại trừ dung môi nước. Điều này cho thấy rằng việc sử dụng nguyên liệu tươi có thể giữ lại nhiều hợp chất hoạt tính hơn, đặc biệt là các flavonoid dễ bị phân hủy trong quá trình sấy khô.

Các hợp chất phenolic, trong đó có flavonoid là những chất chuyển hóa thứ cấp phổ biến trong thực vật, đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bảo vệ tự nhiên chống lại tác nhân gây hại như vi khuẩn, nấm bệnh và stress môi trường [14]. Đồng thời, flavonoid cũng đã được chứng minh là có nhiều hoạt tính sinh học có lợi cho sức khỏe con người như kháng khuẩn, kháng virus, chống viêm, chống ung thư và chống dị ứng [15]. Các nghiên cứu trước đó [16] còn nhấn mạnh vai trò của flavonoid như những chất loại bỏ hiệu quả các gốc tự do, qua đó góp phần vào cơ

chế chống oxy hóa của thực vật. Theo kết quả nghiên cứu của Akter và cộng sự đã phân lập được 5 hợp chất tinh khiết có khả năng ức chế tyrosinase là zederone (1), furanodienone (2), 1,5-epoxy-3-hydroxy-1-(3,4-dihydroxy-5-methoxyphenyl)-7-(4-hydroxyphenyl) heptanes (3), 3,5-dihydroxy-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) heptanes (4) và 1,5-epoxy-3-hydroxy-1-(3,4-dihydroxy-5-methoxyphenyl)-7-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) heptanes (5). Giá trị IC_{50} đối với hoạt tính ức chế tyrosinase của các hợp chất 1, 2, 3, 4 và 5 lần lượt là 108,2; 89,2; 92,3; 21,7 và 41,3 μ M. Bên cạnh đó, các hợp chất này cũng ức chế hoạt động của tyrosinase nội bào, do đó làm giảm tổng hợp melanin trong các tế bào u hắc tố B16F10 [17]. Kết quả phân tích cũng chỉ ra rằng chiết xuất ethyl acetate không chỉ giàu flavonoid mà còn chứa hàm lượng polyphenol cao nhất trong số các dung môi khảo sát, ở cả hai dạng nguyên liệu. Hàm lượng phenolic cao trong các chiết xuất này có thể góp phần giải thích cho hoạt tính sinh học mạnh mẽ được quan sát trong các thử nghiệm kháng oxy hóa và ức chế enzyme, được thảo luận trong các phần sau của nghiên cứu.

3.3. Khả năng kháng oxy hóa của cây gừng xoài

Khả năng khử gốc tự do DPPH và ABTS: Khả năng khử gốc tự do DPPH, ABTS là những phép phân tích để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* thường sử dụng nhiều nhất trong nghiên cứu, có đến 90% các nghiên cứu về chất chống oxy hóa sử dụng phép phân tích này [18]. Khả năng khử gốc tự do DPPH và ABTS của mẫu tươi và khô chiết xuất trong nhiều loại dung môi khác nhau được thể hiện trong Bảng 2. Đối với nghiệm thức mẫu tươi, dung môi ethyl acetate thể hiện hiệu quả nhất với nồng độ nhỏ nhất cần thiết để ức chế 50% hoạt động của gốc DPPH (IC_{50}), ở $8,3 \pm 0,007$ μ g/mL, tiếp theo là acetone và chiết xuất ethanol với giá trị IC_{50} tương ứng là $169,0 \pm 0,12$ và $238,0 \pm 0,83$ μ g/mL. Phân tích thống kê cho thấy hoạt tính chống oxy hóa của dung môi ethyl acetate khác biệt có ý nghĩa ở

($P > 0,05$). IC_{50} của chất đối chứng BHT là $25,9 \pm 0,55 \mu\text{g/mL}$, là chất chống oxy hóa mạnh. Đối với nghiệm thức mẫu khô, hoạt tính ức chế mạnh được thể hiện trong dịch chiết acetone với IC_{50} là $400,0 \pm 2,32 \mu\text{g/mL}$, tiếp theo là ethyl acetate ($608,0 \pm 0,21 \mu\text{g/mL}$), và nước ($912,0 \pm 1,73 \mu\text{g/mL}$). Tương tự, hoạt tính

ABTS mạnh nhất trong dịch chiết ethyl acetate với IC_{50} là $4,9 \pm 0,87 \mu\text{g/mL}$ từ mẫu tươi và $452,0 \pm 0,95 \mu\text{g/mL}$ từ mẫu bột khô. Không có sự khác biệt đáng kể về tác dụng ức chế giữa các chất chiết xuất từ acetone, ethanol và methanol ($218,0 \pm 2,13$; $217,0 \pm 0,19$ và $245,0 \pm 3,09 \mu\text{g/mL}$) từ mẫu tươi.

Bảng 2. Hoạt tính chống oxy hóa của các dịch chiết dung môi khác nhau từ các mẫu bột tươi và khô

Dung môi chiết xuất	Hiệu quả ức chế (IC_{50} ; $\mu\text{g/mL}$)			
	DPPH		ABTS	
	Mẫu tươi	Mẫu khô	Mẫu tươi	Mẫu khô
Ethyl acetate	$8,3 \pm 0,01^a$	$608,0 \pm 0,21^b$	$4,9 \pm 0,87^a$	$452,0 \pm 0,95^a$
Acetone	$169,0 \pm 0,12^c$	$400,0 \pm 2,32^a$	$218,0 \pm 2,13^c$	$566,0 \pm 0,64^a$
Ethanol	$238,0 \pm 0,83^d$	$3248,0 \pm 2,34^d$	$217,0 \pm 0,19^c$	$836,0 \pm 0,87^b$
Methanol	$321,0 \pm 1,50^e$	NA	$245,0 \pm 3,09^c$	$4327,0 \pm 2,14^c$
Nước	$1883,0 \pm 0,18^f$	$912,0 \pm 1,73^c$	$4473,0 \pm 1,18^d$	$6189,0 \pm 2,63^d$
BHT (Đ/C)	$25,9 \pm 0,55^b$		$26,7 \pm 0,46^b$	

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột được theo sau bởi cùng một chữ cái không khác biệt có ý nghĩa ở $p \leq 0,05$.

Các gốc tự do được biết đến là yếu tố góp phần vào sự khởi phát và tiến triển của nhiều bệnh lý thông qua cơ chế phá hủy tế bào bằng cách làm mất cân bằng hệ thống phòng vệ chống oxy hóa hoặc thúc đẩy sự hình thành các loại oxy phản ứng (ROS) [19]. Trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng oxy hóa được đánh giá thông qua các phương pháp DPPH và ABTS cho thấy rằng chiết xuất ethyl acetate có tác dụng ức chế gốc tự do mạnh mẽ nhất, thể hiện qua giá trị IC_{50} thấp nhất trong số các loại dung môi khảo sát.

Kết quả cho thấy có mối tương quan chặt chẽ giữa hàm lượng polyphenol và flavonoid với mức độ hoạt tính chống oxy hóa. Chiết xuất ethyl acetate từ cả mẫu tươi và khô đều cho thấy hiệu quả cao trong các hệ thống thử nghiệm, đồng thời cũng chứa hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số cao nhất. Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đó, trong đó đã chứng minh rằng các hợp chất phenolic và flavonoid là những thành phần chính góp phần vào hoạt tính chống oxy hóa của thực vật [20]. Ngoài ra, các loại dung môi khác cũng cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa ở mức độ khác nhau, phản ánh sự khác biệt trong khả năng hòa tan và chiết xuất các hợp

chất hoạt tính. Tuy nhiên, ethyl acetate nổi bật là dung môi hiệu quả nhất trong việc chiết xuất các hợp chất có khả năng trung hòa gốc tự do. Nhìn chung, dữ liệu thu được từ nghiên cứu này khẳng định rằng hiệu quả chống oxy hóa mạnh mẽ của chiết xuất ethyl acetate từ củ cây gừng xoài có thể bắt nguồn từ hàm lượng cao các hợp chất phenolic và flavonoid, và đây có thể là yếu tố chính tạo nên tiềm năng ứng dụng sinh học và dược lý của loài thực vật này.

3.4. Xác định khả năng ức chế hoạt động của enzyme tyrosinase

Tác dụng ức chế của enzyme tyrosinase cho thấy mối tương quan với tổng hàm lượng phenolic và flavonoid (Bảng 3). Trong số các dịch chiết khác nhau, ethyl acetate có tác dụng ức chế mạnh nhất với IC_{50} là $42,6 \pm 0,41$ và $298,4 \pm 1,34 \mu\text{g/mL}$ từ các mẫu bột tươi và khô và khác biệt có ý nghĩa so với các dịch chiết bằng dung môi khác, kế tiếp là acetone với IC_{50} là $360,4 \pm 0,24$ và $821,6 \pm 2,34 \mu\text{g/mL}$. Giá trị IC_{50} của dịch chiết methanol là $507,5 \pm 0,40$ và $576,0 \pm 5,69 \mu\text{g/mL}$, dịch chiết ethanol ($1048,0 \pm 0,16$ và $521,0 \pm 4,00 \mu\text{g/mL}$), trong khi dịch chiết nước có tác dụng ức chế yếu nhất đến hoạt tính chống tyrosinase.

Bảng 3. Hoạt tính chống tyrosinase của các mẫu tươi và bột bằng cách sử dụng các chiết xuất dung môi khác nhau

Dung môi chiết xuất	Nồng độ ức chế (IC ₅₀ , µg/mL)	
	Mẫu tươi	Mẫu khô
Ethyl acetate	42,64 ± 0,41 ^a	298,45 ± 1,34 ^a
Acetone	360,4 ± 0,24 ^c	821,68 ± 2,34 ^d
Ethanol	1048,0 ± 0,16 ^e	521,52 ± 4,00 ^b
Methanol	507,5 ± 0,40 ^d	575,63 ± 5,69 ^{bc}
Nước	1552,8 ± 0,37 ^f	-
Kojic acid	87,71 ± 0,29 ^b	

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột được theo sau bởi cùng một chữ cái không khác biệt có ý nghĩa ở $p \leq 0,05$.

Enzyme tyrosinase đóng vai trò trung tâm trong quá trình tổng hợp melanin thông qua việc xúc tác hai phản ứng chính: hydroxyl hóa L-tyrosine thành L-DOPA (3,4-dihydroxyphenylalanine) và oxy hóa L-DOPA thành dopaquinone – tiền chất dẫn đến sự hình thành sắc tố nâu [21]. Hoạt tính của tyrosinase có thể bị ảnh hưởng bởi các hợp chất phenolic, nhờ vào khả năng của các nhóm hydroxyl tạo liên kết hydro với vùng hoạt động của enzyme, từ đó làm suy giảm chức năng xúc tác của nó. Kết quả nghiên cứu hiện tại cho thấy chiết xuất ethyl acetate từ mẫu tươi của cây gừng xoài có giá trị IC₅₀ thấp nhất, chứng tỏ hiệu quả ức chế tyrosinase mạnh nhất trong số các loại dung môi được khảo sát. Tiếp theo là các chiết xuất acetone và methanol, trong khi chiết xuất bằng nước cho thấy hiệu quả ức chế yếu nhất. Ở mẫu bột khô, xu hướng tương tự cũng được ghi nhận, với dịch chiết ethyl acetate tiếp tục thể hiện hoạt tính ức chế enzyme vượt trội, theo sau là ethanol và methanol.

Nhiều nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng các hợp chất polyphenol có khả năng ức chế tyrosinase đáng kể và được xem là nguồn nguyên liệu tiềm năng cho các sản phẩm làm trắng da trong mỹ phẩm hoặc chất chống oxy hóa trong bảo quản thực phẩm [21]. Kết quả từ nghiên cứu này củng cố nhận định đó khi cho thấy mối tương quan giữa hàm lượng cao của phenolic và flavonoid trong chiết xuất ethyl acetate với khả năng ức chế mạnh hoạt động của tyrosinase. Bên cạnh đó, khi so sánh

giữa hai dạng nguyên liệu, mẫu tươi có khả năng ức chế enzyme mạnh hơn so với mẫu bột khô. Điều này có thể được lý giải bởi sự bảo toàn tốt hơn của các hợp chất hoạt tính sinh học trong nguyên liệu tươi, vốn dễ bị suy giảm trong quá trình xử lý nhiệt hoặc sấy khô. Dữ liệu nghiên cứu cũng cho thấy sự tương đồng giữa hoạt tính chống oxy hóa và khả năng ức chế tyrosinase, qua đó khẳng định vai trò của các hợp chất phenolic và flavonoid là những yếu tố chính đóng góp vào hoạt tính sinh học của *Curcuma amada*.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy chiết xuất ethyl acetate từ thân rễ *Curcuma amada* có hoạt tính kháng oxy hóa và ức chế enzyme tyrosinase mạnh nhất, đặc biệt ở mẫu tươi. Hàm lượng polyphenol và flavonoid cũng cao nhất khi chiết bằng ethyl acetate và acetone. Mẫu tươi cho hiệu quả sinh học vượt trội so với mẫu khô. Từ những kết quả này, có thể đề xuất rằng thân rễ *Curcuma amada* tươi, đặc biệt khi được chiết xuất bằng ethyl acetate, là nguồn tiềm năng cho các ứng dụng trong lĩnh vực dược phẩm, thực phẩm chức năng và mỹ phẩm nhờ khả năng chống oxy hóa và ức chế enzyme tyrosinase mạnh mẽ.

Lời cảm ơn

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn tiến sĩ Jamnian Chompoo về những nhận xét và đề xuất hữu ích. Đồng thời, trân trọng ghi nhận sự hỗ trợ của các thành viên Phòng thí nghiệm Trường Đại học RyuKjus, Nhật Bản đã thu thập mẫu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Naima Saeed, Muhammad R Khan & Maria Shabbir (2012). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. BMC complementary and alternative medicine. 12(1): 221.
- [2]. Marian Naczek & Fereidoon Shahidi (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*. 1054(1-2): 95-111.
- [3]. Sibel Karakaya (2004). Bioavailability of phenolic compounds. *Critical reviews in food science and nutrition*. 44(6): 453-464.
- [4]. CELIA JIMENEZ-CERVANTES, Paloma Valverde, JOSÉ C GARCÍA-BORRÓN, Francisco Solano & Jose A Lozano (1993). Improved tyrosinase activity stains in polyacrylamide electrophoresis gels. *Pigment cell research*. 6(6): 394-399.
- [5]. Sailendra Singh, Jonnala Kotesw Kumar, Dharmendra Saikia, Karuna Shanker, Jay Prakash Thakur, Arvind Singh Negi & Suchitra Banerjee (2010). A bioactive labdane diterpenoid from *Curcuma amada* and its semisynthetic analogues as antitubercular agents. *European journal of medicinal chemistry*. 45(9): 4379-4382.
- [6]. Shakeel Ahmad Jatoti, Akira Kikuchi, Syed Abdullah Gilani & Kazuo N Watanabe (2007). Phytochemical, pharmacological and ethnobotanical studies in mango ginger (*Curcuma amada* Roxb.; Zingiberaceae). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 21(6): 507-516.
- [7]. RS Policegoudra, K Rehna, L Jaganmohan Rao & SM Aradhya (2010). Antimicrobial, antioxidant, cytotoxicity and platelet aggregation inhibitory activity of a novel molecule isolated and characterized from mango ginger (*Curcuma amada* Roxb.) rhizome. *Journal of biosciences*. 35(2): 231-240.
- [8]. RS Policegoudra, K Abiraj, D Channe Gowda & SM Aradhya (2007). Isolation and characterization of antioxidant and antibacterial compound from mango ginger (*Curcuma amada* Roxb.) rhizome. *Journal of Chromatography B*. 852(1-2): 40-48.
- [9]. Patricio J Cáceres, Cristina Martínez-Villaluenga, Lourdes Amigo & Juana Frias (2014). Maximising the phytochemical content and antioxidant activity of Ecuadorian brown rice sprouts through optimal germination conditions. *Food chemistry*. 152: 407-414.
- [10]. A Djeridane, M Yousfi, B Nadjemi, D Boutassouna, P Stocker & N Vidal (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*. 97(4): 654-660.
- [11]. George Boskou (2010). Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. *Olives and olive oil in health and disease prevention*. Elsevier. 925-934.
- [12]. Roberta Re, Nicoletta Pellegrini, Anna Proteggente, Ananth Pannala, Min Yang & Catherine Rice-Evans (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*. 26(9-10): 1231-1237.
- [13]. Sarin Tadtong, Amornrat Viriyaroj, Suwanna Vorarat, Sathaporn Nimkulrat & Sunit Suksamrarn (2009). Antityrosinase and antibacterial activities of mangosteen pericarp extract. *J Health Res*. 23(2): 99-102.
- [14]. Yolanda Aguilera, Isabel Estrella, Vanesa Benitez, Rosa M Esteban & María A Martín-Cabrejas (2011). Bioactive phenolic compounds and functional properties of dehydrated bean flours. *Food Research International*. 44(3): 774-780.
- [15]. Paola Montoro, Alessandra Braca, Cosimo Pizza & Nunziatina De Tommasi (2005). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food chemistry*. 92(2): 349-355.
- [16]. M Teresa Satué-Gracia, Marina Heinonen & Edwin N Frankel (1997). Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems. *Journal of agricultural and food chemistry*. 45(9): 3362-3367.
- [17]. Jesmin Akter, Md Zahurul Islam, Md Amzad Hossain & Kensaku Takara (2021). Anti-tyrosinase properties of different species of turmeric and isolation of active compounds from *Curcuma amada*. *Medicinal Chemistry Research*. 30(9): 1669-1676.
- [18]. Joon-Kwan Moon & Takayuki Shibamoto (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of agricultural and food chemistry*. 57(5): 1655-1666.
- [19]. M Umamaheswari & TK Chatterjee (2008). In vitro antioxidant activities of the fractions of *Coccinia grandis* L. leaf extract. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 5(1): 61-73.
- [20]. MR Saha, SMR Hasan, R Akter, MM Hossain, MS Alam, MA Alam & MEH Mazumder (2008). In vitro free radical scavenging activity of methanol extract of the leaves of *Mimusops elengi* Linn. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*. 6(2): 197-202.
- [21]. Te-Sheng Chang (2009). An updated review of tyrosinase inhibitors. *International journal of molecular sciences*. 10(6): 2440-2475.