

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA FUCOIDAN CHIẾT XUẤT TỪ TẢO NÂU (*SARGASSUM CRISTAEFOLIUM*) THU TẠI VÙNG BIỂN VŨNG TÀU, VIỆT NAM

STUDY ON BIOLOGICAL ACTIVITY OF FUCOIDAN EXTRACTED FROM BROWN MARINE ALGAE (*SARGASSUM CRISTAEFOLIUM*) COLLECTED IN THE SEA OF VUNG TAU, VIET NAM

Vũ Bá Nhật Nam¹, Vũ Minh Nguyên¹, Dương Quốc Việt², Mai Thị Diễm Trang², Nguyễn Thị Kim Huệ²,
Đặng Hữu Hoàng Anh¹, Trần Thanh Mến^{2*}

¹Trường THPT Trần Nguyễn Hãn, tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu, Việt Nam

²Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

*Tác giả liên hệ / Corresponding author: ttmen@ctu.edu.vn

(Nhận bài / Received: 07/9/2024; Sửa bài / Revised: 11/12/2024; Chấp nhận đăng / Accepted: 19/12/2024)

DOI: 10.31130/ud-jst.2025.394

Tóm tắt - Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân tích thành phần hóa học, đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa, ức chế enzyme α -amylase, kháng viêm, kháng khuẩn và chống tia UV-B của chiết xuất fucoidan từ tảo nâu (*Sargassum cristaeformis*). Chiết xuất fucoidan thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa tốt ở phương pháp ABTS với giá trị IC_{50} $332,26 \pm 13,89 \mu\text{g/mL}$, ức chế hoạt động của enzyme α -amylase với giá trị IC_{50} $975,45 \pm 43,9 \mu\text{g/mL}$. Khả năng làm giảm biến tính protein albumin huyết thanh bò của fucoidan có giá trị IC_{50} $12091,16 \pm 487,42 \mu\text{g/mL}$. Kết quả khảo sát cho thấy, fucoidan không ghi nhận được hoạt tính kháng trên 4 chủng vi khuẩn gây bệnh trên người. Ngoài ra, khả năng chống tia UVB được khảo sát ở nồng độ $1000 \mu\text{g/mL}$ cho thấy chiết xuất fucoidan của tảo nâu cho hiệu quả ức chế UV-B với giá trị SPF $21,81 \pm 0,13$. Từ các kết quả được khảo sát cho thấy, chiết xuất fucoidan từ *Sargassum cristaeformis* có tiềm năng ứng dụng trong ngành công nghiệp mỹ phẩm và dược phẩm.

Từ khóa - Chống tia UV-B; fucoidan; kháng viêm; *Sargassum cristaeformis*; ức chế α -amylase.

1. Giới thiệu

Fucoidan, hoặc fucan, là polysaccharide có hoạt tính sinh học chứa fucose và sulfate chủ yếu được xác định trong rong biển nâu. Các fucoidan đa dạng đã được phân lập từ *Sargassum* với trọng lượng phân tử từ 5 đến 627 kDa. Nghiên cứu được lý hiện đại đã chứng minh fucoidan có các hoạt động kháng virus, chống ung thư, chống oxy hóa, chống viêm, kháng khuẩn, chống đông máu, hạ lipid máu, antivasculo genic, và các hoạt động bảo vệ gan và thận [1]. Nhìn chung, hoạt tính sinh học của polysaccharide sulfate có liên quan đến kích thước phân tử, loại đường, hàm lượng sulfate và vị trí sulfate. Loại liên kết và hình học phân tử cũng được biết là có vai trò trong hoạt động của nó. Fucoidan từ *Sargassum* đã được tìm thấy có hoạt tính kháng virus chống lại Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV-1), Type 2 (HSV-2), Hepatitis A Virus (HAV), coxsackie virus (CVB 3), Human cytomegalovirus (HCMV) và Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1).

Abstract - This study investigated the chemical composition, antioxidant, α -amylase inhibitory, anti-inflammatory, antibacterial, and UV-B-protective activities of crude fucoidan extract from brown algae *Sargassum cristaeformis*. The results showed that fucoidan extract exhibited antioxidant activity in the ABTS method with an IC_{50} value of $332.92 \pm 13.89 \mu\text{g/mL}$, inhibiting the activity of the α -amylase enzyme with an IC_{50} of $975.73 \pm 43.9 \mu\text{g/mL}$. The ability to reduce the denaturation of bovine serum albumin protein of the extract was investigated for an IC_{50} value of $12091.16 \pm 487.42 \mu\text{g/mL}$. Survey results showed that fucoidan has not yet shown anti-bacterial activity against 4 strains of bacteria that cause human disease. In addition, the UV-B protection ability was investigated at a concentration of $1000 \mu\text{g/mL}$ with an SPF value of 21.81 ± 0.13 . The investigated results show that crude fucoidan extract from *Sargassum cristaeformis* has potential applications in the cosmetic industry and pharmaceuticals.

Key words - Anti-UV-B; fucoidan; anti-inflammatory; *Sargassum cristaeformis*; α -amylase inhibitor.

Fucoidan có thể ức chế các giai đoạn đầu của nhiễm virus, gắn kết và xâm nhập vào tế bào chủ [2], và các giai đoạn sao chép sau khi virus xâm nhập [3], tuy nhiên, cơ chế chính xác vẫn còn chưa xác định. Ngoài ra, Fucoidan phân lập từ *Sargassum* có được phát hiện là có độc tính tế bào thấp (41 g/mL) đối với virus chủ các dòng tế bào như Verocells bình thường (tế bào thận khỉ xanh Châu Phi) [2], cho thấy tiềm năng phát triển thuốc chống virus an toàn dựa trên các fucoidan. Từ những năm 1970, một số nghiên cứu trên động vật đã cho thấy, fucoidan từ *Sargassum* đã xem xét khả năng hoạt động chống ung thư *in vivo* và có thể giúp giảm khối u và kéo dài thời gian sống của động vật mang khối u [4], [5].

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích chiết xuất fucoidan từ tảo nâu (*Sargassum cristaeformis* J.Ag.1848) thu được tại vùng biển thuộc tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu để phân tích thành phần hóa học và khảo sát được các hoạt tính sinh học như kháng oxy hóa, kháng viêm, ức chế

¹ Tran Nguyen Han High School, Ba Ria - Vung Tau Province, Viet Nam (Vu Ba Nhat Nam, Vu Minh Nguyen, Dang Huu Hoang Anh)

² College of Natural Sciences, Can Tho University, Viet Nam (Duong Quoc Viet, Mai Thi Diem Trang, Nguyen Thi Kim Hue, Tran Thanh Men)

enzyme, kháng khuẩn và chống tia UVB. Từ các kết quả được khảo sát cho thấy, chiết xuất fucoidan từ *Sargassum cristaefolium* có tiềm năng ứng dụng trong ngành công nghiệp mỹ phẩm và dược phẩm.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Thu mẫu, xử lý và chiết xuất fucoidan

Mẫu tảo nâu (*Sargassum cristaefolium* J.Ag.1848) được thu tại bãi biển Long Cung phường 10 thành phố Vũng Tàu. Sau khi thu, mẫu được rửa sạch bằng nước biển nhiều lần để loại bỏ mảnh vụn bám vào mẫu, sau đó mẫu được rửa lại bằng nước ngọt để làm sạch muối. Sau đó, được phơi khô ở nhiệt độ phòng. Mẫu được cắt nhỏ và được bảo quản trong túi nhựa kín.

Chiết xuất fucoidan thô: Cân 5 g bột tảo + 150 mL dung dịch HCl 0,01M. Đun nóng mẫu ở 70 – 90°C bằng máy khuấy từ trong 1 giờ 30 phút. Sau đó, để nguội, đem lọc lấy dịch lần 1. Phần bã tiếp tục ly trích với HCl 0,01M trong 1 giờ 30 phút, lọc lấy dịch lọc lần 2. Sau đó, đem ly tâm dịch 1 và dịch 2 bằng máy ly tâm trong 15 phút, 6000 vòng để loại bỏ dịch chiết. Dịch rong sau ly tâm ngoài fucoidan còn có laminaran và alginate. Alginate loại bằng cách cho CaCl_2 khoảng 1% so với thể tích nhằm phân lập fucoidan và alginate. Alginate được tủa ở dạng muối Ca-alginat. Tiếp theo đem ly tâm lạnh ở 4°C trong 20 phút, 6000 vòng. Tủa alginate được loại bỏ. Tủa dịch chiết bằng cồn 96 độ. Lần 1: cho 30% cồn so với thể tích dịch, bảo quản ở 4°C để qua đêm. Đem ly tâm lạnh ở 4°C trong 20 phút, 6000 vòng thu được cặn là fucoidan thô. Bổ sung thêm 70% cồn để qua đêm ở 4°C. Sau đó, đem ly tâm tương tự như lần 1 thu được tủa fucoidan thô. Tủa thu được đem sấy khô và hút chân không đến khi khối lượng không đổi. Tất cả tủa được bảo quản ở 4°C [6].

2.2. Phân tích fucoidan bằng phương pháp quang phổ FT/IR

Phổ hồng ngoại hoạt động dựa trên sự hấp thụ bức xạ hồng ngoại của mẫu chất. Phương pháp này ghi nhận các dao động đặc trưng của các liên kết giữa các nguyên tử. Nghiền một lượng KBr vừa đủ thành bột mịn, ép khuôn và tiến hành đo nền. Sau đó, cho thêm một lượng chiết xuất fucoidan thô, hòa với KBr, ép khuôn và tiến hành đo. Kết quả nhận được sẽ là hình phổ của mẫu nghiên cứu.

2.3. Khảo sát hoạt tính sinh học

2.3.1. Hoạt tính trung hòa gốc tự do bằng phương pháp DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Các chất kháng oxy hóa sẽ trung hòa gốc tự do DPPH bằng cách cho hydrogen, làm giảm nồng độ hấp thụ tại bước sóng cực đại và màu của dung dịch phản ứng nhạt dần, chuyển từ màu tím sang vàng nhạt. Giá trị mật độ quang phổ (Abs) càng thấp chứng tỏ khả năng bắt gốc tự do DPPH càng cao [7]. Hỗn hợp phản ứng gồm 100 μL DPPH ($6 \times 10^{-4}\text{M}$) và 100 μL chiết xuất fucoidan. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong thời gian 30 phút; sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ của DPPH ở bước sóng 517 nm.

Tỷ lệ giảm độ hấp thụ quang phổ của DPPH ở bước sóng 517 nm khi có và không có chất kháng oxy hóa được xác định để tính hiệu suất phản ứng. Hiệu quả kháng oxy hóa 50% (EC_{50} : effective concentration of 50%) được tính

dựa vào đường chuẩn $y = ax + b$. Hoạt tính kháng oxy hóa của mẫu càng cao, thể hiện qua giá trị EC_{50} loại bỏ gốc tự do càng nhỏ [8].

Hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH được tính theo công thức sau:

$$E (\%) = (\text{Abs}_c - \text{Abs}_m) / \text{Abs}_c \times 100$$

Trong đó: E: Hiệu quả kháng oxy hóa (%);

Abs_c : Giá trị Abs của mẫu đối chứng âm;

Abs_m : Giá trị Abs của mẫu thử.

2.3.2. Hoạt tính trung hòa gốc tự do bằng phương pháp ABTS⁺

ABTS⁺ là một gốc tự do bền, màu xanh, có độ hấp thụ cao nhất tại 734 nm. Khi cho chất kháng oxy hóa vào dung dịch chứa ABTS⁺, các chất kháng oxy hóa sẽ khử ion ABTS⁺ thành ABTS làm cho dung dịch mất màu xanh. Hoạt động loại bỏ gốc tự do được xác định bằng phương pháp khử màu ABTS⁺ [9]. Dung dịch ABTS⁺ được chuẩn bị bằng cách cho 2 mL dung dịch ABTS 7mM và 2 mL dung dịch $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 2,45mM. Ủ dung dịch trong bóng tối 16 giờ, sau đó pha loãng bằng ethanol, điều chỉnh độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 734 nm có mật độ quang phổ là $0,7 \pm 0,05$. Tiến hành khảo sát hoạt động trung hòa gốc tự do ABTS⁺ bằng cách cho 900 μL ABTS⁺ vào 100 μL chiết xuất fucoidan. Hỗn hợp phản ứng được ủ tối trong thời gian 6 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm. Thử nghiệm lặp lại 3 lần.

Hiệu quả trung hòa gốc tự do ABTS⁺ được tính theo công thức:

$$E (\%) = (\text{Abs}_c - \text{Abs}_m) / \text{Abs}_c \times 100$$

Trong đó: E: Hiệu quả kháng oxy hóa (khả năng trung hòa gốc tự do ABTS⁺ (%)).

Abs_c : Giá trị Abs của mẫu đối chứng âm.

Abs_m : Giá trị Abs của mẫu thử.

2.3.3. Hoạt tính ức chế hoạt động enzyme α -amylase

Khả năng ức chế hoạt động của enzyme α -amylase được thực hiện theo phương pháp của Thilagam [9]. Hỗn hợp phản ứng gồm 100 μL dung dịch đệm phosphate (pH=7) với 100 μL chiết xuất fucoidan và 100 μL enzyme α -amylase (2U) được đem ủ ở nhiệt độ 37°C trong 5 phút. Sau đó, 200 μL tinh bột (2 mg/mL) cho vào hỗn hợp trên và tiếp tục ủ nhiệt độ 37°C trong 15 phút. Tiếp theo, cho 100 μL dung dịch HCl đậm đặc vào để ngừng phản ứng. Cuối cùng, 200 μL dung dịch thuốc thử Lugol được thêm vào để nhận biết lượng tinh bột còn dư dựa trên phản ứng màu xanh đặc trưng. Sau đó, thêm 200 μL dung dịch đệm. Hỗn hợp trên đo độ hấp thụ quang phổ của phức hợp tinh bột-iod ở bước sóng 660 nm.

$$\text{Ức chế (\%)} = (\text{Abs}_c - \text{Abs}_s / \text{Abs}_c) \times 100$$

Trong đó: Abs_c : Giá trị Abs của mẫu đối chứng;

Abs_s : Giá trị Abs của mẫu thử.

2.3.4. Hoạt tính kháng viêm

Khả năng kháng viêm của fucoidan thô được khảo sát thông qua hoạt động ức chế sự biến tính protein được thực hiện theo phương pháp của Shah [10] như sau: Hỗn hợp phản ứng gồm 500 μL dung dịch mẫu với 500 μL dung dịch

albumin huyết thanh bò (BSA) 5%. Sau đó, hỗn hợp được ủ ở 37°C trong 15 phút. Sự biến tính protein được gây ra bằng cách giữ hỗn hợp phản ứng ở 75°C trong 25 phút. Sau khi làm mát, tiến hành đo mật độ quang tại bước sóng 660 nm. Diclofenac được sử dụng như đối chứng dương.

Khả năng ức chế sự biến tính protein được xác định theo công thức sau:

Phần trăm ức chế (%) = 100 × (1 - Abs_t/Abs_c).

Trong đó:

Abs_t: mật độ quang của mẫu thử có chứa dung dịch mẫu.

Abs_c: mật độ quang của mẫu chứa đệm phosphate.

Giá trị IC₅₀ của fucoidan và diclofenac được xác định dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính.

2.3.5. Hoạt tính kháng khuẩn

Hoạt tính kháng khuẩn của chiết xuất fucoidan được khảo sát ở các nồng độ khác nhau từ 0-100 mg/mL bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch. Môi trường TSB (Tryptone Soya Broth) được sử dụng để thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn. Đối chứng âm là dung dịch đệm phosphate (pH = 7). Tetracycline được sử dụng làm chất đối chứng dương.

Chuẩn bị vi khuẩn thử nghiệm: Các chủng vi khuẩn được sử dụng trong nghiên cứu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 và *Listeria innocua* ATCC 33090. Vi khuẩn trước khi sử dụng cho thử nghiệm được nuôi tăng sinh trên môi trường LB lỏng trong 24 giờ ở 37°C, lắc 100 vòng/phút. Huyền phù vi khuẩn được pha loãng để đạt độ đục tương đương 0,5 MC Farland (mật độ vi khuẩn là 10⁶ CFU/mL) [11].

Xác định hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết được thực hiện như sau: Khoảng 20 mL môi trường được bổ sung vào đĩa petri (đường kính 90 mm). Sau khi môi trường đông lại, trải đều 0,2 mL dung dịch chứa vi khuẩn vào đĩa petri. Sau đó, tạo 6 giếng nhỏ có đường kính 8 mm bằng dụng cụ đục lỗ vô trùng. Thêm 50 µL mẫu thử ở nồng độ khác nhau pha trong dung dịch đệm phosphate vào các giếng. Theo dõi tiến trình thử nghiệm ở điều kiện phòng thí nghiệm và ghi nhận kết quả sau 24 giờ. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần và lấy đường kính trung bình. Đường kính vòng ức chế vi khuẩn được đo bằng thước đo đơn vị mm và trừ đường kính giếng thạch [12], [13].

Đường kính vòng vô khuẩn được tính theo công thức:

C = D – d

Trong đó: C: Đường kính vòng vô khuẩn (mm);

D: Đường kính vùng ức chế khuẩn bao gồm đường kính giếng (mm);

d: Đường kính của giếng thạch (d = 8 mm).

2.3.6. Hoạt tính chống tia UV

Bức xạ UV được chia thành ba loại chính dựa trên bước sóng: UVA (320–400 nm), UVB (280–320 nm) và UVC (100–280 nm). Khi tiếp xúc nhiều với bức xạ tia cực tím có thể gây phù nề, ban đỏ, tăng sắc tố, lão hóa và ung thư da dựa trên cường độ và phạm vi của bức xạ tia cực tím. Tiếp xúc liên tục với bức xạ tia cực tím có thể gây tăng sắc tố, tổn thương, cháy nắng, đốm đen, suy thoái các sợi collagen, nếp nhăn do quang hóa và ung thư [14]. Tia UVB được gọi

là tia đốt cháy và được coi là thành phần hoạt động mạnh nhất của bức xạ mặt trời.

Hoạt tính được đánh giá bằng phương pháp đo quang phổ ở bước sóng tia UVB từ 280 nm đến 320 nm. Kết quả đo được tính dựa trên chỉ số SPF (Sun protection factor) được tính bởi công thức theo Thiesen [15]:

SPF = ∑³⁰⁰₂₉₀ EE(λ)I(λ)A(λ)

Trong đó: EE (λ): hiệu ứng quang phổ lên sự phát ban đỏ ở λ;

I (λ): độ truyền qua tia sáng được đo tại bước sóng λ;

CF (λ): hệ số hiệu chỉnh (=10).

Giá trị EE (λ) x I (λ) là hằng số [17, 18] trình bày ở Bảng 1:

Bảng 1. Giá trị EE (λ) x I (λ) tiêu chuẩn trong tính toán chỉ số SPF

Bước sóng (nm)	EE x I (tiêu chuẩn)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180

2.3.7. Phân tích và thống kê số liệu

Phương pháp xử lý số liệu: Microsoft Excel 2019 được dùng để lưu và xử lý số liệu. Phương pháp thống kê số liệu: Phân tích thống kê các số liệu bằng phần mềm Minitab version 16.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Hiệu suất chiết fucoidan thô

Chiết xuất fucoidan thô có màu nâu, sau khi sấy đến khối lượng không đổi, từ đó tính được hiệu suất chiết trình bày như Bảng 2

% Fuc = W_{MOH}/ W_A × 100

Trong đó: W_{MOH} là trọng lượng khô thu được (g);

W_A là là trọng lượng tảo sử dụng (g) [16].

Bảng 2. Hiệu suất chiết fucoidan thô

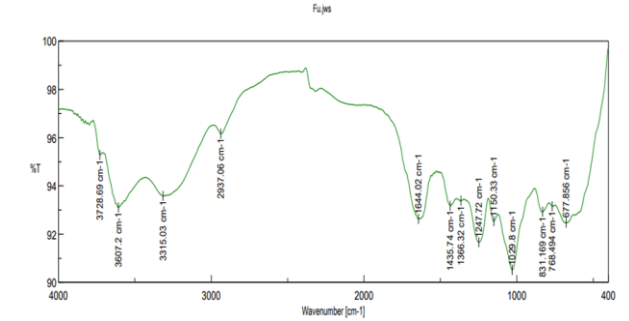
Lượng mẫu khô (g)	Lượng fucoidan thô (g)	Hiệu suất (%)
5,00	0,26 ± 0,02	5,3 ± 0,31

Hiệu suất chiết fucoidan của phương pháp trong nghiên cứu này có hiệu suất thấp hơn khi so sánh với phương pháp chiết trong nghiên cứu của Shanura et al. với hai mẫu là *Chnoospora minima* và *Sargassum polycystum* với hiệu suất chiết lần lượt là 8,48 % và 12,17 % bằng phương pháp chiết có sự hỗ trợ của enzyme [16]. Fucoidan có thể được chiết xuất bằng nhiều phương pháp khác nhau. Tuy nhiên, việc sử dụng HCl để chiết fucoidan phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm và cho hiệu xuất ổn định.

3.2. Kết quả phân tích bằng phương pháp quang phổ hồng ngoại (FT/IR)

Hình 1 cho thấy, các tín hiệu đặc trưng trong cấu trúc của fucoidan có trong chiết xuất fucoidan thô. Ở vùng từ trường từ 3650-3200 cm⁻¹ ở mẫu có tín hiệu có cường độ

manh và rộng đặc trưng cho tín hiệu của nhóm chức –OH, ở vị trí 3607 cm⁻¹ có thể là tín hiệu của nhóm -OH liên kết với nhóm sulfonyl và tín hiệu tại vị trí 3315 cm⁻¹ là tín hiệu đặc trưng cho liên kết –OH của alcohol, còn 1 tín hiệu tại vị trí 3726 cm⁻¹ là tín hiệu của nhóm hydroxyl tự do. Tiếp đó cho thấy, một tín hiệu ở vùng từ trường 3000-2800 cm⁻¹ cho ra tín hiệu đặc trưng của liên kết -C-H của C_{sp3} có thể nhận định đây là tín hiệu của mạch carbon no. Ở vùng từ trường gần 2000 cm⁻¹ trở xuống ghi nhận được tín hiệu đặc trưng của nhóm -C=O ở 1644 cm⁻¹. Bên cạnh đó, cũng ghi nhận được hai tín hiệu của của liên kết -C-O-C 1150 cm⁻¹. Hình 1 của phổ FTIR cho thấy, các dải hấp thụ đặc trưng đối với polysacarit sunfat cũng như sự hiện diện của các nhóm sunfat. Tín hiệu dao động đặc trưng của nhóm S=O ở vị trí 1247 cm⁻¹. Cùng cố thêm nhận định trong mẫu chiết xuất có chứa hợp chất fucoidan trong mẫu thử nghiệm nhờ vào tín hiệu ở xung quanh vùng 810 cm⁻¹ đặc trưng cho liên kết C-O-S, từ đó đảm bảo cho sự có mặt của 2 thành phần có chủ yếu là fucose và sulfate [17]. Tuy nhiên, mẫu chiết vẫn còn lẫn tạp chất chứa gốc –Cl. Từ các dữ liệu trên có thể kết luận chiết xuất từ mẫu *Sargassum cristaefolium* có hiện diện các tín hiệu của fucoidan.



Hình 1. Phổ IR của mẫu

3.3. Hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH

Khả năng khử gốc tự do DPPH[•] của chiết xuất fucoidan được đánh giá bằng sự cho hydrogen và sự hình thành dạng DPPH-H. Dẫn đến làm giảm lượng DPPH[•] có trong dung dịch thông qua việc làm giảm độ hấp thụ tại bước sóng cực đại và làm nhạt dần màu tím của gốc DPPH[•] có trong dung dịch phản ứng, sau đó chuyển sang màu vàng nhạt hoặc không màu. Chiết xuất fucoidan được pha trong dung dịch đệm để được dãy nồng độ (0-5000 µg/mL) để tiến hành khảo sát.

Hiệu suất trung hòa gốc tự do DPPH[•] của chiết xuất fucoidan được thể hiện ở Bảng 3.

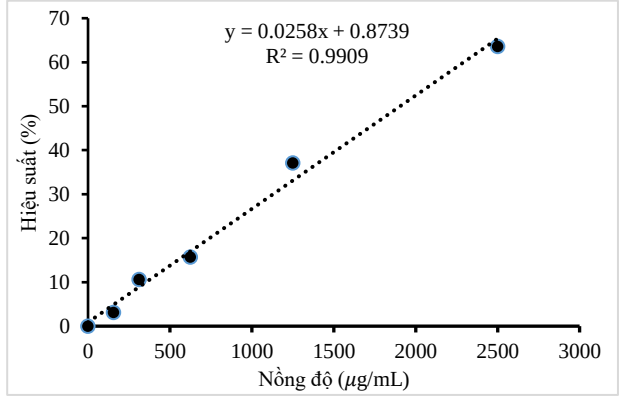
Bảng 3. Hiệu suất trung hòa gốc tự do DPPH của chiết xuất Fucoidan

Mẫu	Phương trình hồi quy	Giá trị IC ₅₀ (µg/mL)
Fucoidan	y=0,0258x + 0,8739 R ² = 0,9909	1904,11 ^a ± 191,06
Ascorbic acid	y=3,1684x – 2,627 R ² = 0,9924	16,61 ^b ± 0,25

Ghi chú: Các giá trị trung bình theo sau bởi chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey.

Từ Bảng 3 cho thấy, chiết xuất fucoidan có khả năng trung hòa gốc tự do với giá trị IC₅₀ là 1904,11 ± 191,06

µg/mL, so với đối chứng là ascorbic acid có giá trị IC₅₀ là 16,61 ± 0,25. Khi so sánh với nghiên cứu khác cho thấy, chiết suất fucoidan trong nghiên cứu này có hiệu quả cao hơn so với chiết xuất fucoidan thô từ cùng loài tảo thu hái tại Đà Loan trong nghiên cứu của có hoạt tính ức chế gốc tự do DPPH là 6833 µg/mL. Kết quả này có thể do điều kiện khí hậu, thời điểm thu hái và phương pháp có thể không giống nhau dẫn đến hoạt tính khác nhau. Mỗi loài thực vật có khả năng sinh trưởng, phát triển và tổng hợp các hợp chất thứ cấp khác nhau trong những điều kiện khí hậu khác nhau. Do đó, mẫu thu hái tại Đà Loan có khí hậu cận nhiệt đới trong khi mẫu của nghiên cứu này được thu hái ở vùng biển Vũng Tàu có khí hậu nhiệt đới gió mùa. Từ đó cho các kết quả về hoạt tính kháng oxy hóa là khác nhau. Kháng oxy hóa là một hoạt tính có lợi có thể hỗ trợ chống lại stress oxy hóa từ đó có thể ứng dụng vào mỹ phẩm, thực phẩm hoặc dược phẩm phục vụ cho sức khỏe con người.



Hình 2. Hoạt tính bắt gốc DPPH của chiết xuất fucoidan thô

3.4. Hiệu quả trung hòa gốc tự do ABTS^{•+}

Hiệu quả làm sạch gốc tự do ABTS^{•+} được xác định dựa trên tỷ lệ giảm độ hấp thụ quang phổ của ABTS^{•+} sau khi có sự hiện diện của chiết xuất (làm giảm màu xanh của dung dịch ABTS^{•+}). Chiết xuất fucoidan được pha trong dung dịch đệm phosphate để đạt được nồng độ 0-6000 µg/mL và tiến hành khảo sát.

Hiệu suất trung hòa gốc tự do ABTS^{•+} của chiết xuất fucoidan được thể hiện ở Bảng 4.

Giá trị IC₅₀ phản ánh hiệu quả kháng oxy hóa 50%. Từ kết quả được trình bày ở Bảng 4 trên cho thấy, khả năng khử gốc tự do ABTS^{•+} của chiết xuất fucoidan từ *Sargassum cristaefolium* trong nghiên cứu này có giá trị IC₅₀ là 332,26 ± 13,89 µg/mL, kết quả này cung cấp thêm minh chứng về khả năng chống oxy hóa của fucoidan được chiết xuất.

Bảng 4. Hiệu suất trung hòa gốc tự do ABTS^{•+} của chiết xuất fucoidan

Mẫu	Phương trình hồi quy	Giá trị IC ₅₀ (µg/mL)
Fucoidan	y=0,1528x – 0,7698 R ² = 0,9941	332,26 ^b ± 13,89
Ascorbic acid	y=16,328x + 0,1301 R ² = 0,9975	3,05 ^a ± 0,01

Ghi chú: Các giá trị trung bình theo sau bởi chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey.

3.5. Hiệu quả ức chế hoạt động enzyme α -amylase

Khả năng ức chế α -amylase của chiết xuất fucoidan được đánh giá bằng cách sử dụng tinh bột làm cơ chất và acarbose làm đối chứng dương. Acarbose và chiết xuất fucoidan biểu hiện sự ức chế enzyme phụ thuộc vào liều lượng, nồng độ chiết xuất fucoidan càng cao thì khả năng ức chế enzyme càng lớn. Tiến hành khảo sát với dãy nồng độ 0-10.00 $\mu\text{g/mL}$ của chiết xuất fucoidan được pha trong dung môi đệm.

Kết quả ức chế enzyme α -amylase được thể hiện trên Bảng 5.

Bảng 5. Hiệu quả ức chế enzyme α -amylase

Mẫu	Phương trình hồi quy	Giá trị IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
Fucoidan	$y = 10,171\ln(x) - 20,006$ $R^2 = 0,9621$	$975,45^b \pm 43,9$
Acarbose	$y = 27,791\ln(x) + 9,3647$ $R^2 = 0,9932$	$4,32^a \pm 0,02$

Ghi chú: Các giá trị trung bình theo sau bởi chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey.

Kết quả ức chế enzyme α -amylase của chiết xuất fucoidan có giá trị IC₅₀ là $975,45 \pm 43,9 \mu\text{g/mL}$, chất chuẩn acarbose với IC₅₀ là $4,32 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ [16]. Trong nghiên cứu của Fernando cho thấy, fucoidan có đặc tính ức chế collagenase và elastase, là hai enzyme chịu trách nhiệm phân hủy chất xơ các mô liên kết, duy trì cảm giác dễ chịu và mịn màng của làn da.

3.6. Kết quả kháng viêm

Viêm được định nghĩa là một tập hợp các cơ chế bảo vệ sinh lí diễn ra trong cơ thể được tạo ra để đáp ứng với các chấn thương cơ học, nhiễm trùng do vi khuẩn, bỏng và các kích thích có hại khác có thể đe dọa sức khỏe của vật chủ [10]. Viêm cũng được xem là biểu hiện ban đầu của các bệnh mãn tính lớn như tim mạch, tự miễn dịch, mắt, các bệnh liên quan đến tuổi tác, thoái hóa thần kinh và ung thư [18]. Chiết xuất được pha trong dung dịch đệm để đạt được dãy nồng độ 0 - 25.000 $\mu\text{g/mL}$.

Kết quả kháng viêm của chiết xuất fucoidan với IC₅₀ là $12091,16 \pm 487,42 \mu\text{g/mL}$, so với diclofenac là $204,55 \pm 2,33 \mu\text{g/mL}$. Kết quả cho thấy khả năng kháng viêm của chiết xuất fucoidan yếu hơn so với diclofenac. Từ kết quả định tính bằng phương pháp quang phổ FTIR cho thấy mẫu chiết vẫn còn lẫn tạp chất gốc Cl⁻, do đó có thể cho rằng, fucoidan chiết xuất từ phương pháp nghiên cứu này chưa hoàn toàn tinh sạch nên có khả năng ảnh hưởng đến khả năng kháng viêm của fucoidan. Khả năng kháng viêm cũng là một hoạt tính quan trọng cho các ứng dụng trên mỹ phẩm hay được mỹ phẩm giúp ngăn ngừa và cải thiện tình trạng viêm trên da hay tình trạng mụn do viêm [19].

Bảng 6. Hiệu quả kháng viêm của chiết xuất fucoidan

Mẫu	Phương trình hồi quy	Giá trị IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
Fucoidan	$y = 0,0043x - 1,992$ $R^2 = 0,9559$	$12091,16^b \pm 487,42$
Diclofenac	$y = 0,2625x - 1,65$ $R^2 = 0,9917$	$204,55^a \pm 2,33$

Ghi chú: Các giá trị trung bình theo sau bởi chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey.

3.7. Kết quả kháng khuẩn

Hoạt tính kháng khuẩn của chiết xuất fucoidan được đánh giá trên 04 chủng vi khuẩn là *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Listeria innocua*. Từ kết quả khảo sát cho thấy, chiết xuất fucoidan thu được từ nghiên cứu này không ghi nhận được khả năng kháng khuẩn. Fucoidan thu được chỉ là fucoidan thô nên có thể vẫn còn lẫn tạp chất làm ảnh hưởng đến khả năng kháng khuẩn của fucoidan.

Bảng 7. Kết quả đường kính vòng kháng khuẩn của chiết xuất fucoidan

Nồng độ (mg/mL)	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>L. imocua</i>
100	$2,33^b \pm 0,58$	$2,17^b \pm 0,29$	$1,83^b \pm 0,29$	$1,83^b \pm 0,29$
75	$1,17^c \pm 0,29$	$0,5^c \pm 0$	$0,68^c \pm 0,29$	$1,17^c \pm 0,29$
50	$0,68^{cd} \pm 0,29$	$0^d \pm 0,0$	$0^c \pm 0,0$	$0^d \pm 0,0$
25	$0^d \pm 0,0$	$0^d \pm 0,0$	$0^c \pm 0,0$	$0^d \pm 0,0$
0	$0^d \pm 0,0$	$0^d \pm 0,0$	$0^c \pm 0,0$	$0^d \pm 0,0$
Tetracycline (100 $\mu\text{g/mL}$)	$19,67^a \pm 0,58$	$14,17^a \pm 0,29$	$6,33^a \pm 0,58$	$13,33^a \pm 0,29$

Ghi chú: Các giá trị trung bình theo sau bởi chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey.

Từ Bảng 7 có thể thấy, chiết xuất fucoidan chỉ thể hiện đường kính vòng kháng khuẩn lớn hơn 2 mm xuất hiện ở chủng vi khuẩn *S. aureus* và *B. cereus* với nồng độ thử nghiệm cao nhất là 100 mg/mL .

3.8. Kết quả chống tia UV-B

Tia UV-B hay còn được gọi là tia đốt cháy, là thành phần hoạt động mạnh nhất của bức xạ mặt trời. Nó có thể gây ra tác dụng trực tiếp và gián tiếp lên DNA và protein, gây ức chế miễn dịch và ung thư da [20]. Hiệu quả chống lại tia UVB của chiết xuất fucoidan đã được khảo sát, kết quả được trình bày ở Bảng 8.

Chiết xuất với nồng độ (100; 1000 và 2000 $\mu\text{g/mL}$) với giá trị SPF đo được lần lượt là $3,57 \pm 0,17$; $10,50 \pm 0,30$ và $21,81 \pm 0,13$. Giá trị SPF của các chất chiết xuất thử nghiệm phụ thuộc vào nồng độ, sự gia tăng nồng độ dẫn đến sự gia tăng SPF. Theo quy định ở Brazil, RDC 30 từ ngày 1 tháng 6 năm 2012 [21], chỉ số SPF lớn hơn hoặc bằng 6 mới phù hợp để sử dụng trong các sản phẩm mỹ phẩm có hoạt tính bảo vệ khỏi ánh sáng. Từ đó cho thấy ở nồng độ 1000 $\mu\text{g/mL}$, chiết xuất fucoidan cho hiệu quả chống tia UV-B tiềm năng và đủ điều kiện để ứng dụng trong các sản phẩm mỹ phẩm chống nắng.

Bảng 8. Hiệu quả chống tia UV-B từ chiết xuất fucoidan

Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Bước sóng (nm)							SPF
	290	295	300	305	310	315	320	
100	1,046	0,695	0,398	0,3	0,259	0,233	0,213	$3,57 \pm 0,17$
1000	1,876	1,476	1,135	0,986	0,897	0,841	0,797	$10,50 \pm 0,30$
2000	3,05	2,68	2,36	2,11	1,95	1,81	1,73	$21,81 \pm 0,13$

Ghi chú: Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn ($n = 3$).

4. Kết luận

Kết quả khảo sát cho thấy chiết xuất fucoidan từ tảo nâu *Sargassum cristaefolium* có khả năng kháng oxy hóa dựa trên các phương pháp khảo sát DPPH và ABTS với các giá trị IC_{50} lần lượt là $1904,11 \pm 191,06 \mu\text{g/mL}$ và $332,26 \pm 13,89 \mu\text{g/mL}$. Hoạt tính ức chế hoạt động của enzyme α -amylase cho giá trị IC_{50} là $975,45 \pm 43,9 \mu\text{g/mL}$. Về hoạt tính kháng viêm, chiết xuất fucoidan cho giá trị IC_{50} là $12091,16 \pm 487,42 \mu\text{g/mL}$. Chiết xuất fucoidan cho hiệu quả chống tia UVB và có tiềm năng ứng dụng trong các mỹ phẩm chống nắng. Từ đó cho thấy chiết xuất fucoidan có nhiều tiềm năng cho ứng dụng trong lĩnh vực dược phẩm và mỹ phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Y. Wang, M. Xing, Q. Cao, A. Ji, H. Liang, and S. Song, "Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: A review of recent studies", *Mar. Drugs*, vol. 17, no. 3, p. 183, 2019.
- [2] S. Sinha, A. Astani, T. Ghosh, P. Schnitzler, and B. Ray, "Polysaccharides from *Sargassum tenerrimum*: Structural features, chemical modification and anti-viral activity", *Phytochemistry*, vol. 71, no. 2–3, pp. 235–242, 2010.
- [3] S. Preeprame, K. Hayashi, J.-B. Lee, U. Sankawa, and T. Hayashi, "A novel antivirally active fucan sulfate derived from an edible brown alga, *Sargassum horneri*", *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 49, no. 4, pp. 484–485, 2001.
- [4] H. Itoh, H. Noda, H. Amano, C. Zhuang, T. Mizuno, and H. Ito, "Antitumor activity and immunological properties of marine algal polysaccharides, especially fucoidan, prepared from *Sargassum thunbergii* of Phaeophyceae", *Anticancer Res.*, vol. 13, no. 6A, pp. 2045–2052, 1993.
- [5] M. T. Ale, H. Maruyama, H. Tamauchi, J. D. Mikkelsen, and A. S. Meyer, "Fucoidan from *Sargassum* sp. and *Fucus vesiculosus* reduces cell viability of lung carcinoma and melanoma cells in vitro and activates natural killer cells in mice in vivo", *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 49, no. 3, pp. 331–336, 2011.
- [6] L.-E. Rioux, S. L. Turgeon, and M. Beaulieu, "Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds", *Carbohydr. Polym.*, vol. 69, no. 3, pp. 530–537, 2007.
- [7] O. P. Sharma and T. K. Bhat, "DPPH antioxidant assay revisited", *Food Chem.*, vol. 113, no. 4, pp. 1202–1205, 2009.
- [8] G. Miliauskas, P. R. Venskutonis, and T. A. Van Beek, "Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts", *Food Chem.*, vol. 85, no. 2, pp. 231–237, 2004.
- [9] E. Thilagam, B. Parimaladevi, C. Kumarappan, and S. C. Mandal, " α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activity of *Senna surattensis*", *J. Acupunct. Meridian Stud.*, vol. 6, no. 1, pp. 24–30, 2013.
- [10] M. Shah, Z. Parveen, and M. R. Khan, "Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the stem bark of *Sapindus mukorossi*", *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 17, pp. 1–16, 2017.
- [11] A. R. Shahverdi, A. Fakhimi, H. R. Shahverdi, and S. Minaian, "Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*", *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 3, no. 2, pp. 168–171, 2007.
- [12] I. Wiegand, K. Hilpert, and R. E. W. Hancock, "Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances", *Nat. Protoc.*, vol. 3, no. 2, pp. 163–175, 2008.
- [13] M. G. Papich, "Antimicrobials, susceptibility testing, and minimum inhibitory concentrations (MIC) in veterinary infection treatment", *Vet. Clin. Small Anim. Pract.*, vol. 43, no. 5, pp. 1079–1089, 2013.
- [14] C.-H. Lee, S.-B. Wu, C.-H. Hong, H.-S. Yu, and Y.-H. Wei, "Molecular mechanisms of UV-induced apoptosis and its effects on skin residential cells: the implication in UV-based phototherapy", *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 14, no. 3, pp. 6414–6435, 2013.
- [15] L. C. Thiesen *et al.*, "Photochemoprotective effects against UVA and UVB irradiation and photosafety assessment of Litchi chinensis leaves extract", *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 167, pp. 200–207, 2017.
- [16] R. M. Rodriguez-Jasso, S. I. Mussatto, L. Pastrana, C. N. Aguilar, and J. A. Teixeira, "Microwave-assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from brown seaweed", *Carbohydr. Polym.*, vol. 86, no. 3, pp. 1137–1144, 2011.
- [17] C.-Y. Wang, T.-C. Wu, S.-L. Hsieh, Y.-H. Tsai, C.-W. Yeh, and C.-Y. Huang, "Antioxidant activity and growth inhibition of human colon cancer cells by crude and purified fucoidan preparations extracted from *Sargassum cristaefolium*", *J. food drug Anal.*, vol. 23, no. 4, pp. 766–777, 2015.
- [18] K.-S. Baek *et al.*, "In vitro and in vivo anti-inflammatory activities of Korean Red Ginseng-derived components", *J. Ginseng Res.*, vol. 40, no. 4, pp. 437–444, 2016.
- [19] I. P. S. Fernando *et al.*, "The potential of fucoidans from *Chnoospora minima* and *Sargassum polycystum* in cosmetics: Antioxidant, anti-inflammatory, skin-whitening, and antiwrinkle activities", *J. Appl. Phycol.*, vol. 30, pp. 3223–3232, 2018.
- [20] A. Singh, M. Čížková, K. Bišová, and M. Vitova, "Exploring mycosporine-like amino acids (MAAs) as safe and natural protective agents against UV-induced skin damage", *Antioxidants*, vol. 10, no. 5, p. 683, 2021.
- [21] S. C. C. Costa, C. B. Detoni, C. R. C. Branco, M. B. Botura, and A. Branco, "In vitro photoprotective effects of *Marcetia taxifolia* ethanolic extract and its potential for sunscreen formulations", *Rev. Bras. Farmacogn.*, vol. 25, no. 4, pp. 413–418, 2015.