

Xác định thành phần hóa thực vật và hoạt tính kháng oxy hóa của hoa Khế (*Averrhoa carambola* L.)

Nguyễn Gia Bảo^{1*}, Mạch Ngọc Anh¹, Lâm Quốc Tuấn², Võ Thị Phương Loan¹,
Bùi Thế Vinh¹, Phan Nguyễn Thu Xuân¹

¹Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

²Công ty Cổ phần Y tế Chấn Văn

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Hoa khế (*Averrhoa carambola* L.) là một bộ phận ít được nghiên cứu của cây khế, mặc dù thường được sử dụng trong y học cổ truyền để điều trị các bệnh như viêm họng, ho và tiêu đờm. **Mục tiêu nghiên cứu:** Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát thành phần hóa thực vật và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của hoa khế. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa thông qua các thử nghiệm định tính hóa học, sắc ký lớp mỏng (TLC), xác định hàm lượng polyphenol tổng bằng phương pháp UV-Vis và hai thử nghiệm chống oxy hóa bao gồm phản ứng khử kali pemanganat và khả năng quét gốc tự do DPPH. **Kết quả:** Hoa khế chứa nhiều nhóm chất sinh học như flavonoid, saponin, proanthocyanidin, tannin, ... Hàm lượng polyphenol tổng cao còn 0.54 ± 0.96 mg GAE/g dược liệu và cao nước 1.78 ± 0.41 mg GAE/g dược liệu. Mẫu thử cho thấy hoạt tính chống oxy hóa với IC_{50} trong thử nghiệm khử $KMnO_4$ lần lượt là 52,497.22 μ g/mL (cao cồn) và 19,353.20 μ g/mL (cao nước); trong thử nghiệm DPPH là 1,504.54 μ g/mL (cao cồn) và 1,039.42 μ g/mL (cao nước). **Kết luận:** Các kết quả cho thấy hoa khế có khả năng chống oxy, là nguồn nguyên liệu tiềm năng có thể ứng dụng trong ngành dược phẩm.

Từ khóa: hoa Khế, *Averrhoa carambola* L., thành phần hóa thực vật, hoạt tính chống oxy hóa

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay các nghiên cứu về dược liệu có nguồn gốc thực vật ngày càng được quan tâm do nhu cầu sử dụng nguyên liệu tự nhiên trong phòng và điều trị bệnh tăng cao. Trong số đó, cây Khế (*Averrhoa carambola* L.), thuộc họ Oxalidaceae, được biết đến rộng rãi trong dân gian với nhiều công dụng y học truyền thống, đặc biệt là các bộ phận như lá, quả và rễ. Theo y học cổ truyền, quả Khế được sử dụng để điều trị ho, sốt, tiêu chảy và các rối loạn tiêu hóa, hạ cholesterol và hỗ trợ điều trị đái tháo đường [1, 2]. Lá Khế có tác dụng kháng viêm, hạ huyết áp các hội chứng chuyển hóa liên quan [3, 4]. Tuy nhiên, hoa Khế lại chưa có nhiều nghiên cứu. Hoa Khế có màu sắc sặc sỡ (hồng, đỏ hoặc tím), là nguồn nguyên liệu dễ thu hái và phổ biến ở nhiều địa phương. Trong dân gian, hoa Khế thường được sử dụng để làm thuốc trị ho, viêm họng, tiêu đờm [5]. Việc nghiên cứu hoa Khế về thành phần hóa thực vật (bằng các phản ứng hóa học và sắc ký lớp mỏng) cũng như đánh giá hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* (qua thử nghiệm khử $KMnO_4$ và quét gốc tự do DPPH) là bước đầu tiên nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho việc khai thác bộ phận này trong ứng dụng sau này.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và nguyên liệu nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là hoa Khế (*Averrhoa carambola* L.) được thu hái tại tỉnh Bến Tre trong giai đoạn từ tháng 01 đến tháng 3 năm 2025, vào thời kỳ hoa còn là búp chưa nở. Mẫu được định danh thực vật bởi Cao Ngọc Giang (Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh) và được lưu trữ tại Bộ môn Hóa phân tích - Kiểm nghiệm, Khoa Dược, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng. Mẫu hoa được xử lý sơ bộ bằng cách rửa sạch, sấy khô đến khi đạt độ ẩm 8 - 15%, sau đó được nghiền mịn và bảo quản trong lọ kín.

2.2. Thiết bị và hóa chất

Thiết bị: Cân phân tích, bể siêu âm, máy quang phổ UV-Vis (Shimadzu UV1800), buồng soi UV, bảng mỏng silica gel F₂₅₄.

Hóa chất chính: Diethyl ether, ethanol 96%, nước cất, NaOH 10%, KOH 5%, HCl 10%, thuốc thử đặc hiệu định tính ($FeCl_3$, gelatin, Stiasny, Liebermann-Burchard), thuốc thử Folin-Ciocalteu, DPPH, $KMnO_4$, tannic acid, gallic acid, methanol.

Tác giả liên hệ: Nguyễn Gia Bảo

Email: baong2003015@student.hiu.vn

2.3. Phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật

2.3.1. Chiết phân đoạn dịch chiết

Mẫu dược liệu khô có độ ẩm $10 \pm 2\%$, chiết tuần tự bằng các dung môi có độ phân cực tăng dần: Ether, ethanol và nước, theo phương pháp cải tiến từ Ciulei [6]. Mỗi phân đoạn chiết được thu hồi và cô đặc riêng, sau đó dùng cho các phản ứng định tính nhóm chất.

2.3.2. Định tính bằng phản ứng hóa học

Các nhóm chất hóa thực vật được định tính bằng phản ứng màu đặc hiệu hoặc tạo tủa: Alkaloid, flavonoid, proanthocyanidin, tannin, coumarin, glycosid tim, saponin, acid hữu cơ, carotenoid và các chất khử [7].

2.3.3. Định tính bằng sắc ký lớp mỏng (TLC)

Pha tĩnh: Silica gel F₂₅₄ (Merck), cắt bảng 5×10 cm.

Mẫu thử: Các phân đoạn ether, ethanol và nước của hoa Khế được cô đặc, hòa tan lại trong lượng nhỏ dung môi tương ứng để chấm bảng.

Cách chấm mẫu: Mỗi bảng được chấm 2 μ L mỗi mẫu, cách mép đáy 1 cm.

Hệ dung môi triển khai:

- Toluene: acid formic: ethyl acetat: aceton (5:2:2:0.5)
- EtOAc: methanol: nước (9:1:1)
- Benzen: EtOAc (1:1)
- EtOAc: methanol: nước (7:3:1)

Hiện màu và quan sát:

Sau khi triển khai, bản mỏng được làm khô và hiện màu bằng nhiều thuốc thử đặc hiệu:

- FeCl₃ 5%: Hiện màu đặc hiệu của polyphenol (tím, xanh đậm).
- Dung dịch H₂SO₄/EtOH 10%.
- Quan sát dưới đèn UV 254 và 365 nm: Phát hiện các hợp chất phát huỳnh quang như coumarin, flavonoid.

2.4. Điều chế cao lỏng hoa Khế

Mẫu dược liệu khô (5 g) có độ ẩm $10 \pm 2\%$ được chiết ba lần với thể tích dung môi giảm dần (50 mL, 40 mL, 30 mL), dùng ethanol hoặc nước tùy theo mẫu. Dịch chiết được lọc, cô đặc bằng phương pháp cách thủy đến còn $\frac{1}{2}$ thể tích ban đầu, để yên 24 giờ, sau đó tiếp tục cô đến 5 mL. Các cao lỏng này được dùng để xác định polyphenol và thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa.

2.5. Xác định hàm lượng polyphenol tổng bằng phương pháp UV-Vis

Hàm lượng polyphenol tổng được xác định theo

phương pháp Folin-Ciocalteu, sử dụng gallic acid làm chuẩn. Quy trình gồm các bước sau [7, 8]:

- Pha dung dịch chuẩn gallic acid ở các nồng độ (10 - 200 μ g/mL).
- Phản ứng với thuốc thử Folin-Ciocalteu và Na₂CO₃ 7.5%, ủ trong bóng tối 30 phút.
- Đo hấp thụ tại bước sóng 765 nm.
- Hàm lượng polyphenol toàn phần (μ g GAE/g dược liệu khô) được đo lường bằng hàm lượng gallic acid đương lượng (GAE) và được tính bằng công thức:

$$P = \frac{a \times F}{m}$$

Trong đó:

P: Hàm lượng polyphenol (μ g GAE/g dược liệu khô)

a: Giá trị x từ đường chuẩn gallic acid (μ g/mL).

m: Khối lượng dược liệu khô có trong thể tích mẫu gốc (g).

F: Độ pha loãng.

2.6. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa *in vitro*

2.6.1. Thử nghiệm hoạt tính khử KMnO₄

Dựa trên khả năng mất màu của KMnO₄ khi bị khử bởi chất chống oxy hóa. Mẫu thử và dung dịch KMnO₄ được trộn và ủ trong 120 phút, đo hấp thụ tại 525 nm. Chứng dương được sử dụng là tannic acid và mẫu trắng là nước cất.

Mẫu được xử lý theo mục 2.4 và hiệu suất chống oxy hóa được tính theo công thức [9 - 11].

$$\% \text{ ức chế} = \frac{(OD_c - OD_t)}{OD_c} \times 100$$

Trong đó:

OD_c: Mật độ quang của dung dịch KMnO₄ và nước.

OD_t: Mật độ quang của KMnO₄ và mẫu thử.

% ức chế = Hiệu suất tổng chất chống oxy hóa (%).

Tính IC₅₀: Lấy hai nồng độ và % ức chế gần khoảng 50% thế vào phương trình $y = ax + b$ để xác định hệ số a và b của mẫu chuẩn, mẫu thử theo công thức:

$$a = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1} \quad b = y_1 - a \cdot x_1$$

Trong đó:

y: Phần trăm ức chế (%).

x: Nồng độ (μ g/mL).

a, b: Hệ số tuyến tính.

+ Chọn 2 nồng độ có % ức chế xoay quanh gần khoảng 50% để tính IC₅₀ theo công thức:

$$x = \frac{(50 - b)}{a}$$

Dựa vào phần mềm Excel thu được phương trình

giữa nồng độ mẫu thử và % ức chế có dạng $y = ax + b$, thế $y = 50$ để tìm được IC_{50} của mẫu thử.

2.6.2. Thử nghiệm hoạt tính quét gốc tự do DPPH

DPPH là gốc tự do ổn định có màu tím, bị mất màu khi phản ứng với chất chống oxy hóa. Dung dịch DPPH (0.6 mM trong methanol) được phản ứng với mẫu và ủ trong 30 phút, đo tại 517 nm [12, 13]. Chứng dương được sử dụng là ascorbic acid và mẫu trắng là methanol. Mẫu được xử lý và hoạt tính chống oxy hóa % ức chế được tính theo công thức:

$$\% \text{ ức chế} = \frac{(OD_c - OD_t)}{OD_c} \times 100$$

Trong đó:

OD_c : Mật độ quang của dung dịch $KMnO_4$ và nước.

OD_t : Mật độ quang của $KMnO_4$ và mẫu thử.

% ức chế = Hiệu suất tổng chất chống oxy hóa (%).

Tính IC_{50} : Lấy hai nồng độ và % ức chế gần khoảng 50% thế vào phương trình $y = ax + b$ để xác định hệ số a và b của mẫu chuẩn, mẫu thử theo công thức:

$$a = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1} \quad b = y_1 - a \cdot x_1$$

Trong đó:

y : Phần trăm ức chế (%).

x : Nồng độ ($\mu g/mL$).

a, b : Hệ số tuyến tính.

+ Chọn 2 nồng độ có % ức chế xoay quanh gần khoảng 50% để tính IC_{50} theo công thức:

$$x = \frac{(50 - b)}{a}$$

Dựa vào phần mềm excel thu được phương trình giữa nồng độ mẫu thử và % ức chế có dạng $y = ax + b$, thế $y = 50$ để tìm được IC_{50} của mẫu thử.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật

3.1.1. Kết quả chiết phân đoạn

Mẫu dược liệu khô (hoa Khế) sau khi được nghiền mịn đã được tiến hành chiết tuần tự bằng ba loại dung môi có độ phân cực tăng dần: Diethyl ether (không phân cực), ethanol 96% (phân cực trung bình), và nước (phân cực mạnh). Quy trình chiết được thực hiện theo phương pháp cải tiến của Ciulei, với mỗi dung môi chiết ba lần liên tiếp, thời gian mỗi lần chiết 20 phút trong bể siêu âm, sau đó gộp và cô đặc dịch chiết bằng bếp cách thủy đến thể tích 5 mL. Hiệu suất chiết cao nhất được ghi nhận ở phân đoạn chiết bằng nước, tiếp theo là ethanol và thấp nhất là ether.

3.1.2. Định tính bằng phản ứng hóa học

Phân tích định tính thành phần hóa thực vật của hoa Khế được tiến hành bằng cách sử dụng các thuốc thử đặc hiệu nhằm phát hiện các nhóm hợp chất chính thường gặp trong dược liệu như: Flavonoid, proanthocyanidin, tannin, alkaloid, coumarin, glycosid tim, saponin, carotenoid, acid hữu cơ và các chất khử. Các phản ứng hóa học được thực hiện trên các phân đoạn chiết tương ứng với ba dung môi: Diethyl ether, ethanol và nước, theo phương pháp mô tả bởi Ciulei.

Bảng 1. Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật hoa Khế trên cao chiết cồn, nước

Nhóm chất	Mẫu cao chiết	Phản ứng hóa học đặc trưng	Kết quả trên mẫu hoa Khế
Tannin	Cồn, nước	$FeCl_3$ 5%, gelatin, Stiasny	Tạo màu xanh đen ($FeCl_3$); tủa (gelatin) $\rightarrow$ (+), mạnh ở phân đoạn nước
Flavonoid	Cồn, nước	Phản ứng Cyanidin	Phản ứng Cyanidin: Dung dịch chuyển sang đỏ $\rightarrow$ (+)
Proanthocyanidin	Cồn, nước	$NaOH$ 10%/t ⁰ , HCl 10%/t ⁰	Dịch chiết có màu $\rightarrow$ chuyển sang đỏ hoặc xanh khi đổi pH $\rightarrow$ (+)
Saponin	Cồn, nước	Tạo bọt bền với nước khi lắc mạnh trong 2 phút	Lớp bọt cao > 1 cm $\rightarrow$ (+)
Chất khử	Cồn, nước	Phản ứng Fehling A + Fehling B, đun nóng	Kết tủa đỏ gạch $\rightarrow$ (+)

Nhận xét:

- Tannin: Cho kết quả dương tính rõ rệt với cả ba thuốc thử - $FeCl_3$, gelatin và Stiasny, đặc biệt mạnh ở phân đoạn nước và ethanol. Điều này phù hợp với tính chất của tannin - dễ tan trong

nước, có hoạt tính làm kết tủa protein và sắt hóa trị ba.

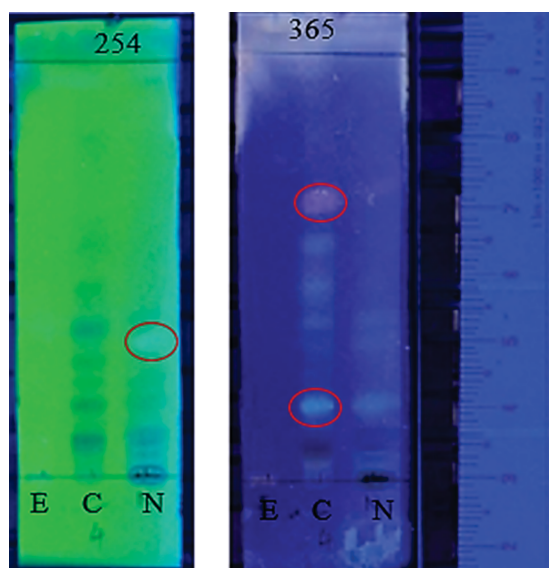
- Flavonoid và proanthocyanidin: Điều cho màu đặc trưng và biến đổi rõ rệt khi thay đổi môi trường pH, khẳng định sự hiện diện của hai nhóm chất

polyphenol này trong hoa Khế. Phân đoạn ethanol thể hiện phản ứng rõ nhất, phù hợp với độ tan của flavonoid trong dung môi hữu cơ phân cực trung bình.

- Saponin: Điều xuất hiện mạnh ở dung môi nước và ethanol - đặc trưng của các glycosid tự nhiên và hợp chất chứa vòng lacton.

Bảng 2. Kết quả sắc ký lớp mỏng

Hệ dung môi	Phân đoạn	Số vết	R _f (khoảng)	Màu dưới UV/ sau hiện màu
EtOAc:MeOH:H ₂ O (9:1:1)	Cồn, nước	4 - 6 vết	0.19 - 0.89	Tím, hồng, xanh da trời, xanh rêu (FeCl ₃)
Toluene: Acid formic: EtOAc: Aceton (5:2:2:0.5)	Ether, cồn	2 - 4 vết	0.25 - 0.73	Huỳnh quang xanh, vàng dưới UV
Benzen:EtOAc (1:1)	Ether	2 vết	0.40 - 0.60	Vết mờ, khó nhận diện
EtOAc:MeOH:H ₂ O (7:3:1)	Cồn, nước	2 vết	0.04 - 0.07	Xanh rêu (FeCl ₃)



Hình 1. TLC trên hệ EtOAc - Methanol - Nước (9 : 1 : 1) - TT H₂SO₄/ Cồn

Nhận xét:

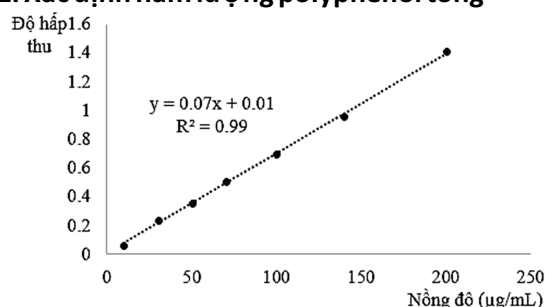
- Hệ dung môi EtOAc - MeOH - H₂O (9:1:1) cho khả năng tách hoạt chất rõ ràng nhất đối với phân đoạn ethanol và nước. Xuất hiện nhiều vết rõ rệt ở R_f đa dạng, cho thấy mẫu chứa nhiều hợp chất có độ phân cực trung bình đến cao. Vết màu tím (H₂SO₄/Cồn) và xanh rêu khi hiện với FeCl₃ khẳng định sự hiện diện của polyphenol - đặc biệt là flavonoid và tannin.
- Các vết phát huỳnh quang xanh nhạt dưới UV ở phân đoạn ether là dấu hiệu có thể liên quan đến coumarin, một chất có khả năng phát quang đặc trưng.
- Một số vết xuất hiện ở vùng R_f thấp (0.19 - 0.30)

3.1.3. Định tính bằng sắc ký lớp mỏng (TLC)

Sau khi định tính bằng các phản ứng hóa học, các phân đoạn chiết của hoa Khế tiếp tục được phân tích bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC) nhằm hỗ trợ nhận diện sơ bộ các nhóm hợp chất đặc trưng có trong dịch chiết và đánh giá tính phân cực tương đối của chúng.

thể hiện các hợp chất có phân cực cao - phù hợp với đặc điểm của các flavonoid, và acid hữu cơ.

3.2. Xác định hàm lượng polyphenol tổng



Hình 2. Độ hấp thụ của dãy chuẩn gallic acid

Bảng 3. Độ hấp thụ của mẫu cao cồn và cao nước (n = 3)

Tên mẫu	Độ hấp thụ		
	Lần 1	Lần 2	Lần 3
Mẫu cao cồn	0.317	0.323	0.325
	0.324	0.319	0.322
Mẫu cao nước	1.027	1.033	1.033
	1.035	1.040	1.036

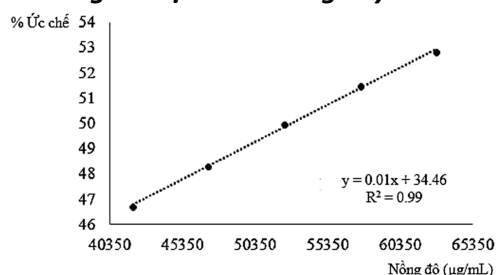
Bảng 4. Kết quả hàm lượng polyphenol tổng có trong mẫu hoa Khế

Mẫu thử	Độ hấp thụ trung bình (OD)	Polyphenol tổng (mg GAE/g dược liệu khô)
Cao cồn	0.322	0.54
Cao nước	1.034	1.78

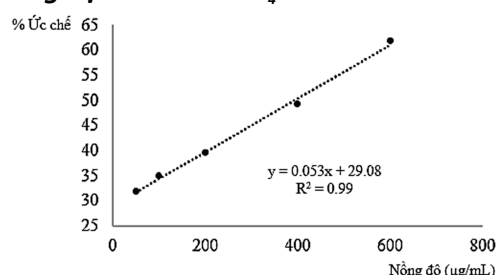
Kết quả hàm lượng polyphenol trong mẫu cao cồn: 0.54 mg GAE/g dược liệu khô (n = 3, SD = 0.0031, %RSD = 0.96), trong mẫu cao nước 1.78 mg GAE/g dược liệu khô (n = 3, SD = 0.0043, %RSD = 0.41).

3.3. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa *in vitro*

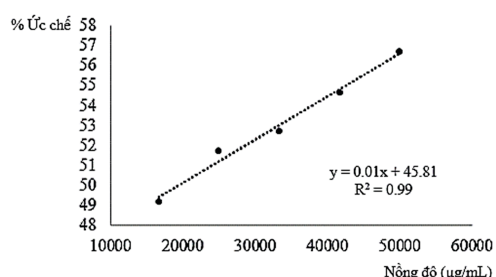
3.3.1. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* trong thử nghiệm khử KMnO_4



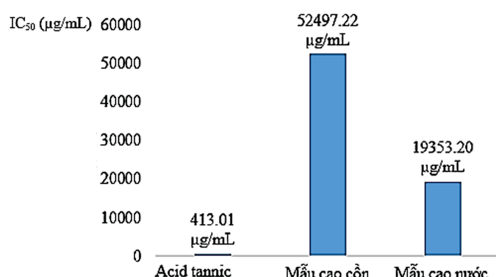
Hình 3. Đường biểu diễn hoạt tính chống oxy hóa và nồng độ của tannic acid



Hình 4. Đường biểu diễn hoạt tính chống oxy hóa và nồng độ của mẫu cao cồn



Hình 5. Đường biểu diễn hoạt tính chống oxy hóa và nồng độ của mẫu cao nước



Hình 6. IC₅₀ của mẫu chứng dương và mẫu thử

Xác định IC₅₀: IC₅₀ là nồng độ mẫu cần thiết để đạt hiệu suất chống oxy hóa 50%. Từ đồ thị tuyến tính hoặc

phần mềm xử lý số liệu, kết quả IC₅₀ như sau: Cao cồn là 52,497.22 μg/mL và cao nước: 19,353.20 μg/mL.

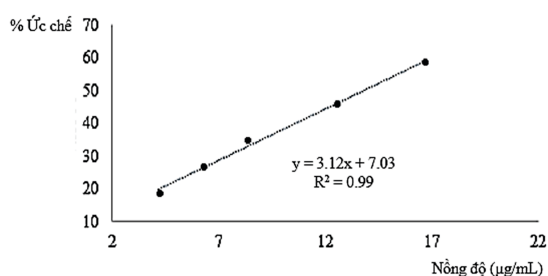
Bảng 5. Kết quả % ức chế trong thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa bằng thực nghiệm khử KMnO_4 của mẫu thử

Nồng độ (μg/mL)	% ức chế - Chứng dương (%)	Nồng độ (μg/mL)	% ức chế - Cao cồn (%)	Nồng độ (μg/mL)	% ức chế - Cao nước (%)
600	61.7	62836	52.8	49963	56.7
400	49.2	57600	51.5	41636	54.6
200	39.5	52363	49.9	33309	52.7
100	34.9	47127	48.3	24981	51.7
50	31.9	41890	46.7	16654	49.2

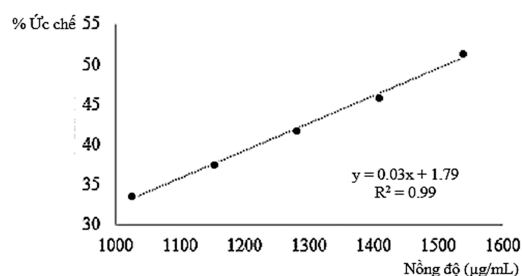
3.3.2. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* trong thử nghiệm quét gốc tự do DPPH

Bảng 6. Kết quả % ức chế trong thực nghiệm hoạt tính chống oxy hóa bằng quét gốc tự do DPPH của mẫu thử

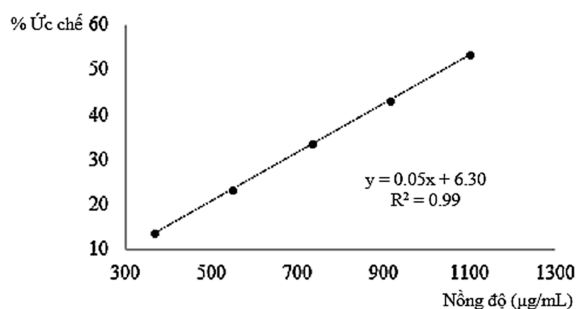
Nồng độ (μg/mL)	% ức chế - Chứng dương (%)	Nồng độ (μg/mL)	% ức chế - Cao cồn (%)	Nồng độ (μg/mL)	% ức chế - Cao nước (%)
16.7	58.3	1536	51.4	1099	53.3
12.5	46.2	1408	45.8	916	43.2
8.3	34.6	1280	41.7	732	33.7
6.3	26.8	1152	37.5	549	23.4
4.2	18.7	1024	33.6	366	13.6



Hình 7. Đường biểu diễn hoạt tính chống oxy hóa và nồng độ của ascorbic acid



Hình 8. Đường biểu diễn hoạt tính chống oxy hóa và nồng độ của mẫu cao cồn



Hình 9: Đường biểu diễn hoạt tính chống oxy hóa và nồng độ của mẫu cao nước

Xác định IC_{50} : IC_{50} là nồng độ mẫu cần thiết để đạt hiệu suất chống oxy hóa 50%. Từ đồ thị tuyến tính hoặc phần mềm xử lý số liệu, kết quả IC_{50} như sau: Cao cồn: 1504.54 µg/mL và cao nước: 1039.42 µg/mL.

4. THẢO LUẬN

4.1. Phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật

4.1.1. Kết quả chiết phân đoạn

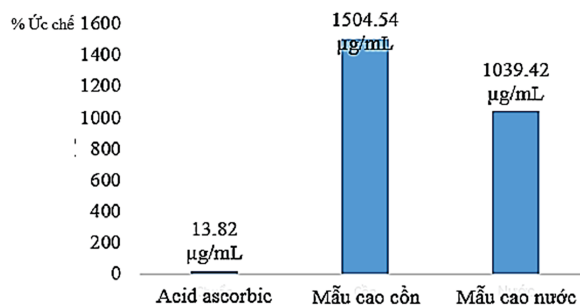
Hiệu suất chiết theo thứ tự nước > ethanol > ether phản ánh sự phân bố của hoạt chất trong hoa Khế nghiêng về các hợp chất phân cực và trung bình phân cực - đặc điểm thường gặp trong các loài thực vật có hoạt tính chống oxy hóa cao. Đây cũng là cơ sở lý thuyết vững chắc để lựa chọn nước làm dung môi chính cho các phân tích sinh học tiếp theo, thay vì dùng ethanol hoặc ether. Sự khác biệt về hiệu suất giữa hai dung môi phân cực (ethanol và nước) cho thấy cồn ít tạp hơn nước, có thể chiết tốt hơn các hợp chất flavonoid có trọng lượng phân tử trung bình và ái lực với dung môi phân cực, điều này sẽ được khẳng định thêm qua kết quả định lượng polyphenol và IC_{50} trong các phép thử khử.

4.1.2. Định tính bằng phản ứng hóa học

Kết quả định tính hóa thực vật cho thấy hoa Khế là nguồn chứa đa dạng các hợp chất có hoạt tính sinh học cao, trong đó nổi bật nhất là flavonoid, proanthocyanidin, tannin và saponin. Đây là các nhóm chất thường liên quan đến hoạt tính chống oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn và điều hòa miễn dịch [12, 14]. Đặc biệt, sự có mặt của flavonoid (proanthocyanidin) và tannin ở mức độ rõ rệt gợi ý rằng hoa Khế có thể là nguồn nguyên liệu thiên nhiên giàu polyphenol. Những phát hiện này sẽ được kiểm chứng thêm bằng TLC và các phép thử định lượng - sinh học ở các phần tiếp theo.

4.1.3. Định tính bằng sắc ký lớp mỏng (TLC)

Kết quả từ TLC hoàn toàn đồng nhất với kết quả định tính hóa học đã thực hiện ở mục 3.1.3. Phân đoạn ethanol và nước nổi bật với mật độ vết nhiều, màu rõ - đây là phân đoạn tập trung các chất có khả năng chống oxy hóa cao. Kết quả này cũng củng cố cơ sở cho việc lựa chọn phân đoạn ethanol và nước để tiến hành định lượng polyphenol và thử nghiệm



Hình 10: IC_{50} của mẫu chứng dương và mẫu thử

sinh học chuyên sâu.

4.2. Xác định hàm lượng polyphenol tổng

Cả hai mẫu chiết từ hoa Khế đều chứa hàm lượng polyphenol tổng đáng kể, tuy nhiên mẫu chiết bằng nước cho kết quả cao hơn gần 3 lần so với mẫu chiết cồn. Điều này phản ánh hiệu quả trích ly của nước đối với các hợp chất phenolic - vốn tan tốt trong dung môi hữu cơ phân cực cao. So sánh với một số dược liệu phổ biến có chứa polyphenol như lá ổi, lá trà xanh hay vỏ lựu (dao động từ 0.20 - 0.50 mg GAE/g) [15], thì hàm lượng polyphenol trong hoa Khế chiết nước được xếp vào nhóm cao, cho thấy tiềm năng ứng dụng của dược liệu này trong ngành thực phẩm chức năng, mỹ phẩm hoặc chống oxy hóa tự nhiên. Ngoài yếu tố dung môi, màu sắc đặc trưng (nâu đỏ - nâu tím) của cao nước cũng củng cố cho nhận định rằng mẫu chiết nước giàu flavonoid - những hợp chất góp phần lớn vào tổng lượng polyphenol và khả năng chống oxy hóa của mẫu. Khi so sánh với các bộ phận khác của cây Khế đã được nghiên cứu, có thể thấy sự khác biệt đáng chú ý về hàm lượng polyphenol và khả năng quét gốc tự do DPPH. Cụ thể, nghiên cứu của Luan và cộng sự (2021) cho thấy tổng phenolic trong lá Khế dao động từ 3.50 - 5.20 mg GAE/g dược liệu khô, trong khi quả Khế có hàm lượng thấp hơn [1], khoảng 1.20 - 1.80 mg GAE/g. Hoạt tính ức chế gốc tự do DPPH của lá đạt IC_{50} ở mức 750 - 900 µg/mL, còn quả ở mức khoảng 1.50 - 2.00 µg/mL. So với kết quả của chúng tôi, hoa Khế có hàm lượng polyphenol tổng 2.32 mg GAE/g, nằm giữa quả và lá; hoạt tính DPPH với IC_{50} là 1.04 µg/mL (cao nước) và 1.50 µg/mL (cao cồn) cũng ở mức trung gian, cao hơn quả nhưng thấp hơn lá. Điều này cho thấy hoa Khế có tiềm năng chống oxy hóa nhất định, định vị như một nguồn polyphenol và chất chống oxy hóa thiên nhiên trung gian so với lá và quả, đồng thời bổ sung thêm lựa chọn về bộ phận sử dụng của cây Khế trong ứng dụng dược liệu.

4.3. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa in vitro

4.3.1. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa in vitro trong thử nghiệm khử $KMnO_4$

Mẫu cao chiết cồn cho có hoạt tính, mức độ hạn chế hơn mẫu nước, phù hợp với kết quả hàm lượng

polyphenol mẫu nước cao hơn mẫu cồn (1.78 so với 0.54 mg GAE/g dược liệu).

Cơ chế phản ứng là sự cho electron từ nhóm OH phenolic trong flavonoid, tannin, proanthocyanidin → khử Mn^{7+} thành Mn^{2+} . Do đó, mẫu càng giàu polyphenol thì khả năng khử càng mạnh.

4.3.2. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa in vitro trong thử nghiệm quét gốc tự do DPPH

Cả cao cồn và cao nước từ hoa Khế đều có hoạt tính chống oxy hóa. Mẫu cao nước hiệu quả hơn, khẳng định vai trò của ethanol trong trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học như flavonoid, proanthocyanidin. Kết quả quét gốc tự do DPPH tương quan tốt với kết quả của phương pháp khử $KMnO_4$ và định lượng polyphenol tổng (mục 3.2 - 3.3.1), củng cố giả thuyết rằng nhóm polyphenol - đặc biệt là flavonoid - là tác nhân chính gây ra hiệu ứng chống oxy hóa trong mẫu. Trong khuôn khổ nghiên cứu này, nhóm tác giả chưa tiến hành phân tích thống kê ANOVA và post-hoc để so sánh sự khác biệt giữa cao nước và cao ethanol. Tuy nhiên, quan sát kết quả IC_{50} và % ức chế cho thấy cao nước có xu hướng cho hoạt tính chống oxy hóa cao hơn. Kiến nghị các nghiên cứu tiếp theo cần bổ sung kiểm định thống kê (ANOVA, t-test, post-hoc) nhằm khẳng định chắc chắn mức độ khác biệt giữa các mẫu.

5. KẾT LUẬN - KIẾN NGHỊ

5.1. Kết luận

Nghiên cứu này đã khảo sát toàn diện thành phần hóa thực vật và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa in vitro của hoa Khế (*Averrhoa carambola* L.) thông qua các bước định tính hóa học, sắc ký lớp mỏng (TLC), xác định hàm lượng polyphenol tổng và hai phép thử chống oxy hóa phổ biến ($KMnO_4$ và DPPH). Các kết quả chính đạt được gồm: Thành phần hóa thực vật đa dạng: Hoa Khế chứa nhiều nhóm chất có hoạt tính sinh học như flavonoid, proanthocyanidin, tannin, saponin, chất khử, acid hữu cơ... Các phản ứng đặc hiệu và sắc ký lớp mỏng đều khẳng định sự hiện diện của polyphenol, đặc biệt là trong phân đoạn chiết ethanol và nước. Hiệu suất chiết cao: Phân đoạn chiết bằng nước có hiệu suất cao nhất (18.32%), tiếp theo là ethanol (11.52%). Tuy nhiên, phân đoạn nước cho thấy chất lượng cao hơn với hàm lượng polyphenol cao và màu sắc đậm, phù hợp với mục tiêu nghiên cứu hoạt tính sinh học. Hàm lượng polyphenol tổng được xác định trong

mẫu cao cồn đạt 0.54 ± 0.96 mg GAE/g dược liệu khô và 1.78 ± 0.41 mg GAE/g dược liệu đối với mẫu cao nước. Hoạt tính chống oxy hóa: Phép thử $KMnO_4$: IC_{50} cao cồn = 52,497.22 μ g/mL; cao nước = 19,353.20 μ g/mL. Phép thử DPPH: IC_{50} cao cồn = 1,504.54 μ g/mL; cao nước = 1,039.42 μ g/mL.

Tổng hợp các kết quả cho thấy hoa Khế là một bộ phận thực vật có giá trị sinh học cao, chứa các hợp chất thiên nhiên có khả năng chống oxy hóa. Đây là nguồn nguyên liệu tiềm năng để phát triển các sản phẩm dược liệu, thực phẩm chức năng và mỹ phẩm có nguồn gốc tự nhiên, đồng thời là hướng khai thác hợp lý hơn toàn cây Khế - một loài cây quen thuộc tại Việt Nam.

5.2. Kiến nghị

Về nghiên cứu tiếp theo: Cần tiến hành phân lập và định danh cấu trúc các hợp chất polyphenol chính, đặc biệt là các flavonoid và proanthocyanidin, nhằm làm rõ tác nhân chính gây ra hoạt tính sinh học. Tiến hành so sánh trực tiếp với các bộ phận khác của cây Khế (lá, quả, rễ), để xây dựng hồ sơ toàn diện cho việc phát triển dược liệu tổng thể. Trong nghiên cứu này, nhóm chưa tiến hành các phép thử bổ sung như ABTS hay FRAP, cũng như chưa sử dụng chuẩn Trolox/VitC để so sánh đồng nhất. Đây là một hạn chế cần được khắc phục và chúng tôi kiến nghị các nghiên cứu tiếp theo nên mở rộng thêm các phép thử này, đồng thời áp dụng kiểm định thống kê (ANOVA, t-test) để tăng độ tin cậy cho kết quả.

Về ứng dụng thực tiễn: Có thể xem xét khai thác hoa Khế như một nguồn nguyên liệu bản địa giá rẻ, phục vụ cho sản xuất thực phẩm bảo vệ sức khỏe, mỹ phẩm thiên nhiên hoặc chất bảo quản sinh học. Khuyến nghị thử nghiệm ứng dụng chiết xuất hoa Khế trong các mô hình sản phẩm thực tế, như nước giải khát chống oxy hóa, kem bôi da, viên nang chức năng, với sự kết hợp của công nghệ trích ly tinh sạch.

Cảnh báo an toàn - độc tính: Mặc dù hoa Khế thể hiện tiềm năng chống oxy hóa, cần lưu ý rằng một số báo cáo đã ghi nhận độc tính của *Averrhoa carambola* ở bệnh nhân suy thận, liên quan đến sự hiện diện của oxalat và caramboxin. Do đó, việc ứng dụng chiết xuất hoa Khế trong thực phẩm hoặc dược phẩm nên đi kèm với đánh giá an toàn, đặc biệt ở nhóm đối tượng có bệnh nền.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng cấp kinh phí để thực hiện dưới mã số SVTC18.43.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] F. Luan, et al., "A comprehensive review of *Averrhoa carambola* L.: Botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicity," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 268, p. 113567, 2021.

[2] K. Lakmal, et al., "Health benefits and adverse effects of star fruit (*Averrhoa carambola*): A comprehensive review," *Food Frontiers*, vol. 2, no. 3, pp. 432-444, 2021.

- [3] N. S. Ramadan, et al., "Anti-obesity and anti-diabetic potential of Averrhoa carambola methanol leaf extract: In vivo and in vitro studies," *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 147, p. 112620, 2022.
- [4] M. S. Abduh, et al., "Antioxidant and hypolipidemic effects of Averrhoa carambola L. leaves in high-fat diet rats," *J. Adv. Pharm. Technol. Res.*, vol. 14, no. 1, pp. 1-7, 2023.
- [5] D. A. Cabrini, et al., "Anti-inflammatory effects of some plants used in Brazilian traditional medicine," *Fitoterapia*, vol. 82, no. 5, pp. 556-563, 2011.
- [6] I. C. F. R. Ferreira, et al., "Antioxidants in wild mushrooms," *Curr. Med. Chem.*, vol. 16, no. 12, pp. 1543-1560, 2009.
- [6]. I. Ciulei, "Practical manuals on the industrial utilization of chemical and aromatic plants: methodology for analysis of Vegetable drugs", *Ministry of Chemical Industry*, Bucharest (1st edition), Vol. 1, 1-67, 1982.
- [7] S. Singleton and J. Rossi, "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents," *Am. J. Enol. Vitic.*, vol. 16, no. 3, pp. 144-158, 1965.
- [8] V. L. Singleton, R. Orthofer, và R. M. Lamuela-Raventós, "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent," *Methods in Enzymology*, vol. 299, pp. 152-178, 1999.
- [9] D. Huang, B. Ou, and R. L. Prior, "The chemistry behind antioxidant capacity assays," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, no. 6, pp. 1841-1856, 2005.
- [10] I. K. Amponsah, E. Orman, A. Y. Mensah, F. M. Sarpong, F. A. Armah, L. M. Sarpong, "Development and validation of a radical scavenging antioxidant assay using potassium permanganate," *Journal of Scientific and Innovative Research*, vol. 5, no. 2, pp. 36-42, Apr. 2016.
- [11] Shabir A. Mir, "A photometric permanganate reduction assay for evaluating antioxidants," *International Journal of PharmTech Research*, vol. 9, no. 1, pp. 50-59, 2016.
- [12] P. M. Dewick, *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 3rd ed., Wiley, 2009.
- [13] M. S. Blois, "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical," *Nature*, vol. 181, no. 4617, pp. 1199-1200, 1958. doi: 10.1038/1811199a0.
- [14] J. B. Harborne, "Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis," *Springer*, 1998.
- [15] I. C. F. R. Ferreira, et al., "Antioxidants in wild mushrooms," *Curr. Med. Chem.*, vol. 16, no. 12, pp. 1543-1560, 2009.

Phytochemical constituents and antioxidant activity of Starfruit flower (*Averrhoa carambola* L.)

Nguyen Gia Bao, Mach Ngoc Anh, Lam Quoc Tuan, Vo Thi Phuong Loan, Bui The Vinh, Phan Nguyen Thu Xuan

ABSTRACT

Background: The flower of Starfruit (*Averrhoa carambola* L.) is a less-studied part of the plant, despite its frequent use in traditional medicine to treat ailments such as sore throat, cough, and phlegm reduction. **Objectives:** This study was conducted to investigate the phytochemical constituents and evaluate the in vitro antioxidant activity of starfruit flowers. **Materials and method:** Chemical composition and evaluation of antioxidant activity through qualitative chemical tests, thin layer chromatography (TLC), determination of total polyphenol content by UV-Vis method and two antioxidant tests including potassium permanganate reduction and DPPH. **Results:** The results revealed that the flower extracts contained various bioactive compound groups, including flavonoids, saponins, proanthocyanidins, tannins, and reducing substances. The total polyphenol content was 0.54 ± 0.96 mg GAE/g of medicinal herb for the ethanol extract and 1.78 ± 0.41 mg GAE/g of medicinal herb for the water extract. Antioxidant assays showed significant activity, with IC_{50} values of 19,353.20 μ g/mL (aqueous extract) and 52,497.22 μ g/mL (ethanol extract) in the $KMnO_4$ method; and 1,039.42 μ g/mL (aqueous) and 1,504.54 μ g/mL (ethanol) in the DPPH assay. **Conclusion:** The results show that antioxidant-resistant flowers are a source of raw materials that can be applied in specialized pharmaceutical products.

Keywords: Starfruit flower, *Averrhoa carambola* L., phytochemical constituents, antioxidant activity

Received: 26/7/2025

Revised: 7/10/2025

Accepted for publication: 15/10/2025