

ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA VÀ KHÁNG VIÊM CỦA CHIẾT XUẤT ANTHOCYANIN TỪ GẠO NẾP THAN (*Oryza rufipogon* L.)

Lê Thị Hồng Ánh^{1,*}, Nguyễn Lê Trâm¹, Ngô Minh Trực¹, Hoàng Thị Ngọc Nhon¹

¹ Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

* Email: anhhth@huit.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá đồng thời hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm của chiết xuất giàu anthocyanin từ gạo nếp than (*Oryza rufipogon* L.). Anthocyanin được chiết bằng dung môi ethanol axit hóa, sau đó hoạt tính kháng oxy hóa được khảo sát thông qua các phương pháp DPPH, ABTS, FRAP, RP và thử nghiệm kháng viêm dựa trên sự ức chế biến tính protein BSA. Kết quả cho thấy chiết xuất anthocyanin với hàm lượng tổng 12,18 mg/g_{ck} thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa mạnh phụ thuộc nồng độ, với giá trị IC₅₀ lần lượt là 20,51 µg/mL (DPPH) và 9,14 µg/mL (ABTS). Kết quả FRAP và RP cho thấy, chiết xuất có khả năng khử Fe³⁺ thành Fe²⁺ và cho electron rõ rệt, tuy nhiên hiệu lực thấp hơn so với Trolox khi quy đổi về nồng độ tương đương, mặc dù thấp hơn so với diclofenac sodium. Các kết quả thu được khẳng định tiềm năng ứng dụng của anthocyanin từ gạo nếp than như một nguồn chất chống oxy hóa và kháng viêm tự nhiên trong lĩnh vực thực phẩm chức năng và dược phẩm.

Từ khóa: Anthocyanin, gạo nếp than, *Oryza rufipogon* L., kháng oxy hóa, kháng viêm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gạo nếp than (*Oryza rufipogon* L.) là một giống lúa bản địa có giá trị dinh dưỡng và sinh học cao, đặc biệt nổi bật nhờ hàm lượng anthocyanin phong phú tập trung chủ yếu ở lớp vỏ cám. Do vậy, gạo nếp than không chỉ là nguồn thực phẩm truyền thống mà còn là nguồn anthocyanin tự nhiên dồi dào với nhiều tiềm năng sinh học [1]. Anthocyanin là nhóm hợp chất polyphenol tan trong nước thuộc họ flavonoid, chịu trách nhiệm tạo nên màu tím đen đặc trưng của gạo. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, gạo nếp than chứa hàm lượng phenolic tổng và anthocyanin cao hơn đáng kể so với gạo trắng hoặc gạo lứt thông thường, trong đó các hợp chất chính bao gồm cyanidin-3-glucoside và peonidin-3-glucoside [2, 3]. Không chỉ đóng vai trò là chất tạo màu tự nhiên, anthocyanin trong gạo nếp than còn góp phần quan trọng vào các hoạt tính sinh học, đặc biệt là khả năng chống oxy hóa, từ đó làm tăng giá trị ứng dụng của loại nguyên liệu này trong lĩnh vực thực phẩm chức năng [4].

Về bản chất hóa học, anthocyanin là các glycoside của anthocyanidin, có cấu trúc giàu nhóm hydroxyl và liên kết π liên hợp, giúp chúng có khả năng cho - nhận electron hiệu quả, từ đó

trung hòa các gốc tự do [5]. Hoạt tính chống oxy hóa của anthocyanin được xem là một trong những yếu tố quan trọng nhất góp phần bảo vệ tế bào khỏi stress oxy hóa - nguyên nhân chính gây ra nhiều bệnh lý mạn tính như tim mạch, ung thư và đái tháo đường [6]. Các nghiên cứu dịch tễ học và lâm sàng cũng ghi nhận rằng, việc tiêu thụ thực phẩm giàu anthocyanin có liên quan đến giảm nguy cơ mắc các bệnh chuyển hóa và cải thiện sức khỏe tim mạch [7, 8]. Cơ chế hoạt động sinh học của anthocyanin được thể hiện thông qua nhiều con đường khác nhau, trong đó, khả năng chống oxy hóa bao gồm việc quét gốc tự do (DPPH, ABTS), chelat ion kim loại chuyển tiếp (Fe²⁺, Cu²⁺) và ức chế quá trình peroxid hóa lipid trong màng tế bào [5], [9]. Đối với gạo nếp than, các nghiên cứu thực nghiệm cho thấy, chiết xuất giàu anthocyanin có khả năng chống oxy hóa mạnh thông qua các phương pháp đánh giá phổ biến như DPPH, ABTS, FRAP và RP, đồng thời thể hiện khả năng ức chế phản ứng viêm đáng kể. Điều này cho thấy tiềm năng lớn của anthocyanin từ gạo nếp than trong việc phát triển các sản phẩm chức năng [10].

Các nghiên cứu gần đây cho thấy, gạo màu là nguồn giàu anthocyanin với nhiều hoạt tính sinh

học có lợi. Gạo đen và gạo đỏ có khả năng chống oxy hóa và kháng viêm đáng kể nhờ hàm lượng anthocyanin cao, đặc biệt là cyanidin-3-glucoside (C3G) và peonidin-3-glucoside (P3G). Sử dụng HPLC và LC-MS/MS, các nghiên cứu đã xác định C3G và P3G là những anthocyanin chủ yếu trong gạo đen, trong đó C3G thường là hợp chất chiếm ưu thế [11, 12]. Đáng chú ý, Umsumarng và cs (2025) ghi nhận phân đoạn giàu anthocyanin từ gạo nếp than chứa chủ yếu C3G và P3G theo phân tích HPLC, đồng thời thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh và làm giảm đáng kể sự biểu hiện của các cytokine tiền viêm như IL-6, IL-1 β và IL-18 thông qua cơ chế ức chế con đường NLRP3 inflammasome [13]. Những kết quả này cho thấy, anthocyanin không chỉ là hợp chất tạo màu đặc trưng mà còn là thành phần quan trọng góp phần tạo nên giá trị chức năng của gạo màu. Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu chứng minh các hoạt tính sinh học riêng lẻ của anthocyanin, đặc biệt là khả năng chống oxy hóa hoặc kháng viêm, nhưng các nghiên cứu đánh giá đồng thời hai hoạt tính này từ nguồn gạo nếp than trồng tại Việt Nam vẫn còn hạn chế và chưa có sự hệ thống hóa đầy đủ. Do đó, việc đánh giá toàn diện hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm của chiết xuất anthocyanin từ gạo nếp than là cần thiết nhằm làm rõ tiềm năng ứng dụng của hợp chất này trong lĩnh vực thực phẩm chức năng, dược phẩm và bảo vệ sức khỏe con người. Trên cơ sở đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá đồng thời hai hoạt tính sinh học quan trọng của anthocyanin từ gạo nếp than, góp phần bổ sung dữ liệu khoa học và định hướng khai thác hiệu quả nguồn nguyên liệu bản địa.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Gạo nếp than sử dụng trong nghiên cứu được canh tác trong điều kiện VietGAP, thu thập từ phường Mỹ Xuyên, thành phố Cần Thơ. Sau khi làm sạch và sấy ở 50°C trong 2 giờ, gạo được nghiền mịn để thu được bột gạo có độ ẩm < 10% và bảo quản ở nhiệt độ 4°C dùng cho toàn bộ nghiên cứu.

Ethanol (Sigma-Aldrich, 99,5%), methanol (Sigma-Aldrich, 99,7%), axit hydrochloric/HCl (Sigma-Aldrich, 36,5%), ethyl acetate (99,5%) được sử dụng làm dung môi và chất điều chỉnh

pH. Các thuốc thử phân tích hoạt tính gồm: DPPH (2,2-diphenyl-1,1-picrylhydrazyl) (Sigma-Aldrich, 90%), ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline -6-sulfonic acid)) (Sigma-Aldrich, 98%), kali persulfat (K₂S₂O₈) (Xilong, 99%) và Trolox (chuẩn đối chứng dương cho các phép thử chống oxy hóa), TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine), (Sigma-Aldrich, 99%), FeCl₃.6H₂O (Xilong, 99%), K₃Fe(CN)₆ (Sigma-Aldrich, 99%), đệm sodium acetate (pH 5,5). Diclofenac sodium được sử dụng làm đối chứng dương trong phép thử kháng viêm dựa trên mô hình biến tính protein. Các hóa chất đều đạt tiêu chuẩn phân tích.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết xuất anthocyanin

Quy trình chiết anthocyanin được thực hiện dựa trên tham khảo các thông số từ các nghiên cứu trước đây, cụ thể như sau: Bột gạo nếp than được chiết bằng ethanol 50% được điều chỉnh pH về 2 bằng axit hydrochloric 5%, với tỷ lệ nguyên liệu: Dung môi là 1: 20 (g/mL), ủ ở 55°C trong 50 phút [1], [14]. Sau khi thu nhận dịch chiết, tiến hành cô quay chân không để thu được dịch cô đặc và tiến hành sấy thăng hoa thu nhận bột để đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa và hoạt tính kháng viêm.

2.2.2. Xác định hoạt tính kháng oxy hóa

- *Xác định hoạt tính kháng theo phương pháp DPPH*

Dung dịch DPPH (0,1 mM) được chuẩn bị trong methanol. Mẫu dịch chiết anthocyanin từ gạo nếp than được pha ở các nồng độ khác nhau (0, 25, 50, 75, 100, 125 μ g/mL). Hỗn hợp gồm 2 mL mẫu và 4 mL dung dịch DPPH được ủ trong tối 30 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó đo độ hấp thụ ở 517 nm bằng máy UV-Vis [15]. Trolox (nồng độ 0, 2, 4, 6, 8, 10 μ g/mL) được sử dụng làm đối chứng dương. Phần trăm ức chế DPPH được tính theo công thức (Eq.1):

$$\% \text{ Ức chế} = \frac{(A_{\text{đối chứng}} - A_{\text{mẫu}})}{A_{\text{đối chứng}}} \times 100 \text{ (Eq.1)}$$

Trong đó: $A_{\text{đối chứng}}$ là độ hấp thụ quang phổ của đối chứng methanol; $A_{\text{mẫu}}$ là độ hấp thụ quang phổ của mẫu dịch chiết anthocyanin đã tinh sạch.

Giá trị nồng độ ức chế DPPH 50% (IC₅₀) được dùng để thực hiện khả năng ức chế DPPH

của mẫu thử nghiệm. IC₅₀ xác định từ phương trình đồ thị hồi quy.

Xác định hoạt tính kháng theo phương pháp phương pháp ABTS

Dung dịch ABTS^{•+} được tạo bằng phản ứng giữa ABTS (2 mM) và K₂S₂O₈ (2.45 mM), để trong bóng tối ở nhiệt độ phòng 12 - 16 giờ trước khi sử dụng. Dung dịch được pha loãng bằng methanol sao cho độ hấp thụ tại 734 nm khoảng 0,700 ± 0,020 [16]. Hỗn hợp gồm 1 mL mẫu và 4 mL dung dịch ABTS^{•+} được ủ trong 6 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó đo quang ở 734 nm. Các nồng độ mẫu sử dụng gồm 2, 4, 6, 8, 10 µg/mL. Trolox (nồng độ 0, 2, 4, 6, 8, 10 µg/mL) được dùng làm đối chứng dương. Đối chứng âm là ethanol không có mẫu chứa anthocyanin. Phần trăm ức chế ABTS được tính theo công thức (Eq.2):

$$\% \text{ Ức chế} = \frac{(A_{\text{đối chứng}} - A_{\text{mẫu}})}{A_{\text{đối chứng}}} \times 100 \text{ (Eq.2)}$$

Trong đó: $A_{\text{đối chứng}}$ là độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp dung dịch ABTS^{•+} và ethanol; $A_{\text{mẫu}}$ là độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp dung dịch ABTS^{•+} và mẫu dịch chiết anthocyanin đã tinh sạch.

Phương pháp FRAP

Hoạt tính khử sắt được xác định theo FRAP dựa trên khả năng khử Fe³⁺ thành Fe²⁺ trong môi trường axit, sau đó tạo phức màu với TPTZ và đo tại 593 nm. Thuốc thử FRAP được chuẩn bị bằng cách phối trộn dung dịch đệm acetate (300 mM, pH 3,6), dung dịch TPTZ trong HCl (40 mM) và FeCl₃·6H₂O (20 mM) theo tỷ lệ thể tích 10: 1: 1. Dịch chiết anthocyanin (50 - 250 µg/mL) được trộn với thuốc thử FRAP theo tỷ lệ 1 : 2 (v/v), ủ trong tối 30 phút và đo OD₅₉₃. Trolox (0 - 25 µg/mL) được dùng để xây dựng đường chuẩn và quy đổi kết quả sang Trolox tương đương theo mô tả của các nghiên cứu tổng hợp ứng dụng FRAP [17].

Phương pháp RP

Khả năng cho electron (RP- Reducing Power) được đánh giá theo phương pháp Oyaizu. Trong phản ứng này, các chất chống oxy hóa có trong mẫu sẽ chuyển ion sắt Fe³⁺ thành Fe²⁺. Sau đó, Fe²⁺ phản ứng với kali ferricyanide (20 mM) tạo thành hợp chất màu xanh, có thể đo được bằng

máy ở bước sóng 700 nm. Mẫu chiết xuất anthocyanin (0 - 250 µg/mL) được trộn với đệm phosphate 0,2 M (pH 6,6) và ủ ở 50°C trong 20 phút. Sau đó bổ sung trichloroacetic axit 10% để dừng phản ứng, lấy dịch phản ứng pha với nước cất và FeCl₃ 0,1%, rồi đo độ hấp thụ tại 700 nm [18]. Giá trị OD tăng phản ánh khả năng khử mạnh hơn. Trolox được sử dụng để quy đổi giá trị tương đương khi cần so sánh định lượng.

2.2.3. Xác định hoạt tính kháng viêm in vitro

Hoạt tính kháng viêm *in vitro* được đánh giá thông qua khả năng ức chế biến tính albumin huyết thanh bò (BSA) do nhiệt - một mô hình thường dùng để sàng lọc tác nhân có tiềm năng chống viêm liên quan đến ổn định cấu trúc protein. Thử nghiệm biến tính protein được thực hiện theo phương pháp của M. Rahman và cs (2010) và L. K. Ky và cs (2021) [19, 20] với một số điều chỉnh phù hợp, cụ thể: Hỗn hợp phản ứng (4 mL) gồm 1 mL mẫu anthocyanin gạo nếp than (50 - 250 µg/mL), 1 mL BSA 1% và 2 mL đệm acetate (0,025 M, pH 5.5). Hỗn hợp được ủ ở 37 ± 2°C trong 15 phút, sau đó gia nhiệt ở 70°C trong 5 phút để cảm ứng biến tính, làm nguội và đo độ hấp thụ tại 660 nm. Diclofenac sodium (0 - 100 µg/mL) được xử lý tương tự như đối chứng dương. Phần trăm ức chế biến tính được tính theo công thức (Eq.3):

$$\text{Phần trăm ức chế biến tính protein (\%)} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \text{ (Eq.3)}$$

Trong đó: A₀ là giá trị mật độ quang của mẫu đối chứng; A₁ là giá trị mật độ quang của mẫu thử.

2.2.4. Phương pháp xác định hàm lượng anthocyanin tổng

Hàm lượng anthocyanin tổng số được xác định theo phương pháp pH vi sai được mô tả bởi Pedro và cs (2016) [1]. Nguyên tắc của phương pháp dựa trên sự thay đổi cấu trúc phân tử của anthocyanin ở các môi trường pH khác nhau, dẫn đến sự thay đổi khả năng hấp thụ ánh sáng. Dịch chiết được pha loãng riêng biệt bằng dung dịch đệm KCl 0,025 M (pH 1,0) và dung dịch đệm natri acetat 0,4 M (pH 4,5). Sau khi ổn định trong điều kiện tối ở nhiệt độ phòng trong 15 - 30 phút, độ hấp thụ quang của các mẫu được đo tại bước sóng 520 nm và 700 nm bằng máy quang phổ UV-Vis. Giá trị độ hấp thụ được tính theo công thức:

$$\text{Anthocyanin (mg/g)} = \frac{A \times DF \times MW \times V}{\epsilon \times L \times m}$$

Trong đó: A là $(A_{\lambda_{\max}} - A_{\lambda 700})_{\text{pH} = 1} - (A_{\lambda_{\max}} - A_{\lambda 700})_{\text{pH} = 4,5}$; DF là hệ số pha loãng; L là chiều dài cuvet (1 cm); MW là khối lượng phân tử của cyanidin 3-glucoside, MW = 449,2 g/mol; V là thể tích dung dịch mẫu sau pha loãng (mL); ϵ là hệ số hấp thụ mol ($\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$), $\epsilon = 26900 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$; m là khối lượng mẫu (g).

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

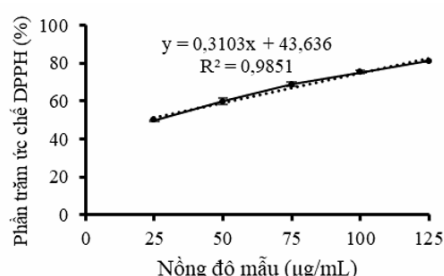
Các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần. Dữ liệu được xử lý bằng phần mềm Minitab và Microsoft Excel 2019 để phân tích thống kê số liệu thí nghiệm và đánh giá sự khác biệt giữa các

mẫu. Giá trị IC_{50} được xác định từ đường hồi quy tuyến tính biểu diễn mối quan hệ giữa nồng độ mẫu và phần trăm ức chế.

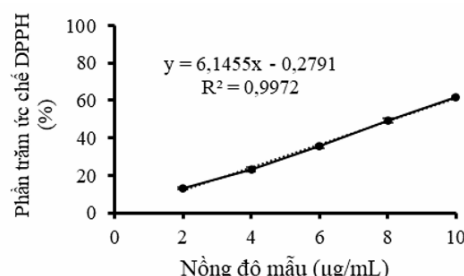
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hoạt tính kháng oxy hóa theo phương pháp DPPH, ABTS

Khả năng kháng oxy hóa của chiết xuất giàu anthocyanin từ gạo nếp than được đánh giá thông qua hai phương pháp phổ biến là bắt gốc tự do DPPH và ABTS. Đây là các phương pháp được sử dụng rộng rãi nhằm xác định năng lực cho electron hoặc hydrogen của hợp chất chống oxy hóa trong hệ *in vitro*. Kết quả được thể hiện qua hình 1 và 2.



(A)



(B)

Hình 1. Kết quả khả năng bắt gốc tự do DPPH của dịch chiết giàu anthocyanin (A) và đối chứng trolox (B)

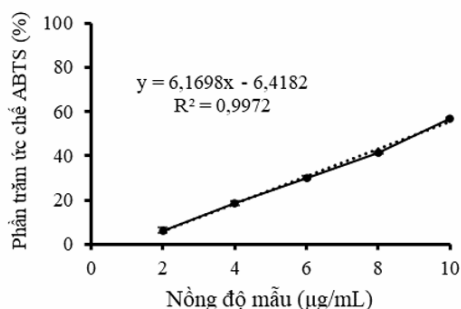
Hình 1 cho thấy, chiết xuất anthocyanin với hàm lượng tổng là 12,18 mg/g_{ck} từ gạo nếp than thể hiện hoạt tính bắt gốc tự do theo xu hướng phụ thuộc nồng độ. Cụ thể, phần trăm ức chế gốc DPPH tăng từ 49,81% ở nồng độ 25 µg/mL lên đến 80,94% ± 0,27 tại 125 µg/mL. Mối quan hệ tuyến tính giữa nồng độ và khả năng ức chế được thể hiện qua phương trình hồi quy $y = 0,3103x + 43,636$ với hệ số tương quan cao ($R^2 = 0,9851$), cho thấy độ tin cậy của mô hình và khả năng dự đoán hiệu quả chống oxy hóa của mẫu. Giá trị IC_{50} của dịch chiết được xác định là 20,51 µg/mL, phản ánh mức độ hiệu quả trung bình trong việc trung hòa gốc DPPH. So sánh với chất chuẩn Trolox ($\text{IC}_{50} = 8,18 \text{ µg/mL}$), hoạt tính của dịch chiết thấp hơn, điều này phù hợp với bản chất của Trolox là một dẫn xuất tan trong nước của vitamin E có khả năng chống oxy hóa mạnh và ổn định [21]. Tuy nhiên, giá trị IC_{50} thu được

vẫn nằm trong khoảng đáng kể đối với các hợp chất tự nhiên giàu polyphenol, đặc biệt là anthocyanin. Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng anthocyanin có khả năng kháng oxy hóa thông qua cơ chế cho proton, ổn định gốc tự do và tạo phức với các ion kim loại chuyển tiếp, từ đó làm giảm quá trình oxy hóa [22]. Do đó, kết quả này chứng minh dịch chiết anthocyanin từ gạo nếp than có tiềm năng ứng dụng như một nguồn chất chống oxy hóa tự nhiên.

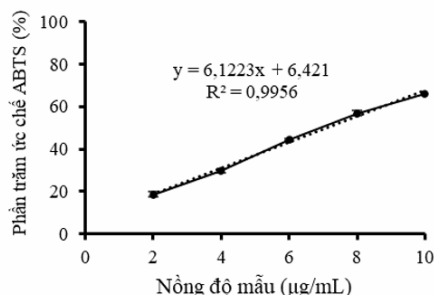
Đối với phương pháp ABTS, chiết xuất anthocyanin gạo nếp than thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa cao hơn rõ rệt so với DPPH. Phần trăm ức chế gốc $\text{ABTS}^{\bullet+}$ tăng tuyến tính theo nồng độ với phương trình hồi quy $y = 6,1698x - 6,4182$ và hệ số tương quan rất cao ($R^2 = 0,9972$). Giá trị IC_{50} của mẫu đạt 9,14 µg/mL, thấp hơn đáng kể so với giá trị IC_{50} trong phép thử DPPH, thể hiện khả năng phản ứng hiệu quả hơn với gốc

ABTS. Sự khác biệt này có thể được giải thích bởi đặc tính của gốc $ABTS^{\bullet+}$ có tính phân cực cao, cho phép tương tác tốt hơn với các hợp chất anthocyanin giàu nhóm hydroxyl phân cực [16]. Ngược lại, DPPH là gốc tự do có tính kỵ nước hơn, có thể hạn chế khả năng tiếp cận và phản ứng của các hợp chất phân cực như anthocyanin.

Khi so sánh với Trolox trong cùng điều kiện thí nghiệm, giá trị IC_{50} của Trolox trong phép thử ABTS là 7,12 $\mu\text{g/mL}$, chỉ thấp hơn khoảng 2 $\mu\text{g/mL}$ so với mẫu. Khoảng chênh lệch nhỏ này cho thấy dịch chiết anthocyanin có hoạt tính kháng oxy hóa gần tương đương với chất chuẩn trong hệ ABTS.



(A)



(B)

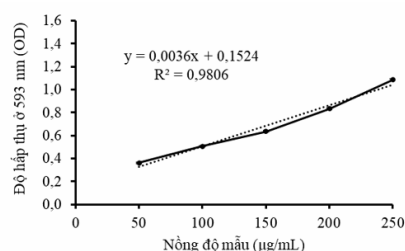
Hình 2. Kết quả khả năng bắt gốc tự do ABTS của dịch chiết giàu anthocyanin (A) và đối chứng trolox (B)

Nhìn chung, kết quả từ cả hai phương pháp đều thể hiện chiết xuất anthocyanin từ gạo nếp than có hoạt tính kháng oxy hóa đáng kể, đặc biệt hiệu quả trong hệ ABTS. Sự khác biệt giữa hai phương pháp cũng nhấn mạnh tầm quan trọng của việc sử dụng đa phương pháp trong đánh giá hoạt tính chống oxy hóa nhằm phản ánh toàn diện đặc tính của hợp chất. Những phát hiện này phù hợp với các nghiên cứu trước đây về anthocyanin trong gạo màu, chứng tỏ chiết xuất anthocyanin từ gạo nếp than là nguồn chất chống oxy hóa tự

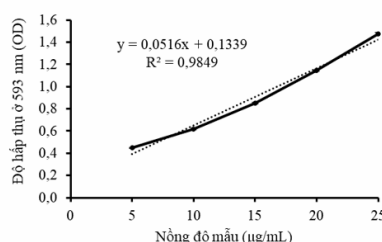
nhiên tiềm năng cho ứng dụng trong thực phẩm chức năng và dược phẩm [2].

3.2. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa theo phương pháp FRAP, RP

Hoạt tính kháng oxy hóa của chiết xuất anthocyanin từ gạo nếp than được tiếp tục đánh giá thông qua hai phương pháp dựa trên cơ chế cho electron và khả năng khử ion kim loại là FRAP và RP (Hình 3 và 4). Các phương pháp này phản ánh năng lực chống oxy hóa theo hướng khử (reducing capacity), bổ sung cho các phép thử bắt gốc tự do như DPPH và ABTS.



(A)



(B)

Hình 3. Kết quả khả năng kháng oxy hóa theo phương pháp FRAP của mẫu anthocyanin (A) và đối chứng trolox (B)

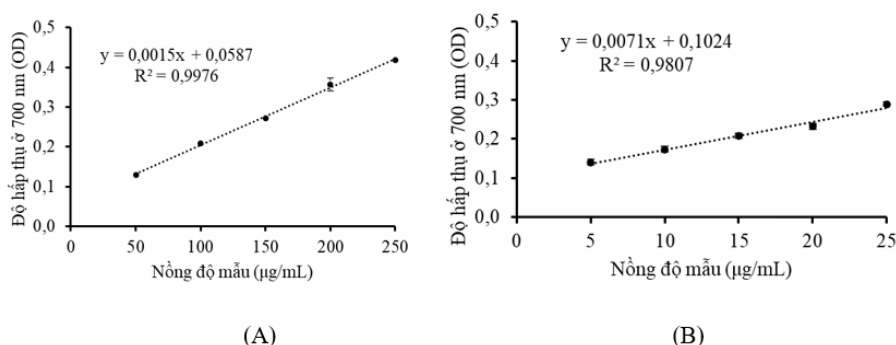
Trong phép thử FRAP (Hình 3A), giá trị độ hấp thụ tại 593 nm tăng tuyến tính theo nồng độ

mẫu trong khoảng 50 - 250 $\mu\text{g/mL}$, từ $0,361 \pm 0,006$ đến $1,086 \pm 0,010$, với hệ số tương quan R^2

= 0,9806, cho thấy mối quan hệ chặt chẽ giữa nồng độ và khả năng khử Fe^{3+} . Khi quy đổi sang Trolox tương đương, giá trị này tăng từ 4,40 - 18,45 $\mu\text{g/mL}$, chứng tỏ chiết xuất anthocyanin gạo nếp than thể hiện tính sinh học đáng kể. Tuy nhiên, khi so sánh tại cùng mức hấp thụ ($\text{OD} = 0,5$), chiết xuất anthocyanin cần nồng độ 96,56 $\mu\text{g/mL}$, cao hơn đáng kể so với Trolox (7,09 $\mu\text{g/mL}$), tương ứng thấp hơn khoảng 13,62 lần về năng lực khử. Sự khác biệt này có thể được giải thích bởi bản chất của anthocyanin là hỗn hợp polyphenol tự nhiên, trong đó hiệu quả cho electron phụ thuộc vào cấu trúc vòng flavonoid và số lượng nhóm hydroxyl. Các nghiên cứu trước đây cho thấy anthocyanin có khả năng khử Fe^{3+} nhờ các nhóm - OH ở vị trí ortho trên vòng B, tuy nhiên hiệu lực thường thấp hơn các chất

chuẩn tổng hợp như Trolox do khác biệt về cấu trúc và độ tinh khiết [5].

Đối với phép thử RP (Hình 4A), giá trị tại độ hấp thụ 700 nm của chiết xuất anthocyanin gạo nếp than cũng tăng tuyến tính theo nồng độ, từ $0,128 \pm 0,002$ (50 $\mu\text{g/mL}$) lên $0,418 \pm 0,005$ (250 $\mu\text{g/mL}$), phản ánh khả năng cho electron của mẫu trong hệ phản ứng ferricyanide. Khi quy đổi sang Trolox tương đương, giá trị tăng từ 3,66 - 45,09 $\mu\text{g/mL}$, cho thấy xu hướng gia tăng rõ rệt về hoạt tính khử theo nồng độ. Tuy nhiên, tại mức $\text{OD} = 0,5$, anthocyanin đạt 294,2 $\mu\text{g/mL}$, cao hơn khoảng 5,25 lần so với Trolox (56 $\mu\text{g/mL}$), cho thấy được rằng anthocyanin cần nồng độ lớn hơn để đạt cùng mức độ hấp thụ tương đương với trolox từ đó khẳng định hiệu lực khử của mẫu thấp hơn so với chất chuẩn.



Hình 4. Kết quả khả năng kháng oxy hóa theo phương pháp RP của mẫu anthocyanin (A) và đối chứng trolox (B)

So sánh giữa hai phương pháp, có thể nhận thấy chiết xuất anthocyanin thể hiện hoạt tính khử rõ rệt trong cả FRAP và RP, nhưng mức độ khác nhau tùy theo hệ phản ứng. FRAP phản ánh khả năng khử Fe^{3+} -TPTZ trong môi trường axit, trong khi RP đánh giá khả năng cho electron thông qua hệ ferricyanide, do đó sự khác biệt kết quả giữa hai phương pháp là phù hợp với đặc tính phản ứng của anthocyanin. Ngoài ra, khi so sánh với kết quả trong phương pháp DPPH và ABTS ở trên, có thể thấy anthocyanin từ gạo nếp than thể hiện hiệu quả cao hơn trong cơ chế bắt gốc tự do so với cơ chế khử ion kim loại. Xu hướng này đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu, cho thấy anthocyanin có hoạt tính nổi bật trong việc trung hòa gốc tự do nhờ khả năng cho hydrogen hoặc electron trực tiếp, trong khi khả năng khử kim loại thường ở mức trung bình [9].

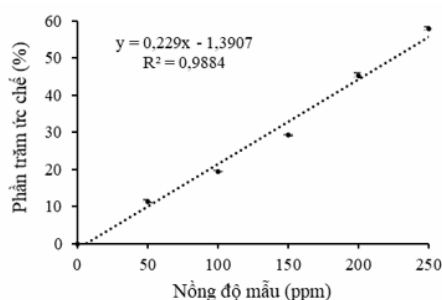
Như vậy, chiết xuất anthocyanin từ gạo nếp than có khả năng chống oxy hóa thông qua cơ chế cho electron và khử ion kim loại, mặc dù hiệu lực thấp hơn so với Trolox. Tuy nhiên, sự gia tăng tuyến tính theo nồng độ và giá trị Trolox tương đương tương đối cao cho thấy tiềm năng ứng dụng của nguồn hợp chất tự nhiên này như một tác nhân chống oxy hóa trong thực phẩm chức năng và dược phẩm.

3.3. Đánh giá hoạt tính kháng viêm của anthocyanin từ *O. rufipogon* L.

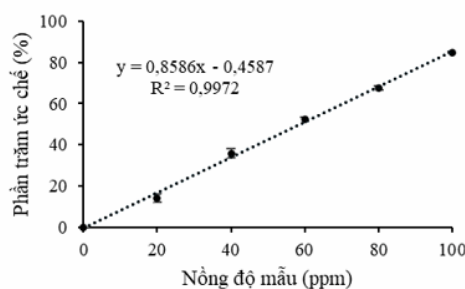
Khi đun nóng BSA bị biến tính và biểu hiện các kháng nguyên liên quan đến phản ứng quá mẫn loại III và có liên quan đến các bệnh như: Bệnh huyết thanh, viêm cầu thận, viêm khớp dạng thấp và bệnh lupus ban đỏ hệ thống. Vì vậy, xét nghiệm này được áp dụng cho các hợp chất phát hiện có thể ổn định protein khỏi quá trình

biến tính. Một số thuốc chống viêm không steroid như Indomethacin, Ibuprofen, Diclofenac natri, axit salicylic và axit flufenamic ngăn ngừa sự biến tính của BSA ở pH bệnh lý (6,2 - 6,5) [23]. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng viêm của anthocyanin và đối chứng chuẩn diclofenac được trình bày ở hình 5. Kết quả cho thấy, chiết xuất anthocyanin thể hiện hoạt tính ức chế biến tính protein phụ thuộc nồng độ trong khoảng

khảo sát từ 50 - 250 $\mu\text{g/mL}$. Cụ thể, phần trăm ức chế tăng từ $11,45\% \pm 0,42$ (50 $\mu\text{g/mL}$) lên $57,92\% \pm 0,53$ (250 $\mu\text{g/mL}$), với giá trị $\text{IC}_{50} = 224,414 \mu\text{g/mL}$. Điều này chứng tỏ, anthocyanin gạo nếp than có khả năng ổn định cấu trúc protein trong điều kiện gây biến tính bởi nhiệt, từ đó góp phần hạn chế các phản ứng viêm liên quan đến biến đổi cấu trúc protein.



(a)



(b)

Hình 5. Kết quả khả năng ức chế biến tính BSA của anthocyanin (a) và đối chứng chuẩn diclofenac (b)

So sánh với đối chứng dương diclofenac sodium, một thuốc kháng viêm không steroid (NSAID) điển hình, cho giá trị $\text{IC}_{50} = 58,77 \mu\text{g/mL}$, thấp hơn khoảng 3,8 lần so với mẫu anthocyanin. Sự khác biệt này là phù hợp do diclofenac là hợp chất tổng hợp có cơ chế tác động đặc hiệu thông qua ức chế enzyme cyclooxygenase (COX), trong khi anthocyanin là hỗn hợp polyphenol tự nhiên với cơ chế tác động đa đích và hiệu lực thường thấp hơn trong các mô hình *in vitro* [8]. Sự biến tính protein được xem là một trong những yếu tố góp phần kích hoạt phản ứng viêm thông qua việc hình thành các kháng nguyên mới, từ đó dẫn đến phản ứng quá mẫn và các bệnh lý như viêm khớp dạng thấp, lupus ban đỏ hệ thống và viêm cầu thận [24]. Khả năng ức chế biến tính BSA của anthocyanin có thể liên quan đến đặc tính hóa học của nhóm hợp chất này. Cụ thể, anthocyanin chứa nhiều nhóm hydroxyl (-OH) có khả năng tạo liên kết hydro và tương tác với protein, từ đó giúp ổn định cấu trúc bậc ba của protein và hạn chế sự biến tính do nhiệt hoặc stress oxy hóa [5]. Ngoài ra, các nghiên cứu trước đây cũng chỉ ra rằng anthocyanin có thể điều hòa các con đường tín hiệu viêm như ức chế hoạt hóa NF- κ B, giảm biểu

hiện các cytokine tiền viêm (TNF- α , IL-6) và enzyme COX-2, qua đó góp phần làm giảm phản ứng viêm ở mức tế bào [7]. Mặc dù hiệu lực kháng viêm của anthocyanin thấp hơn so với diclofenac sodium, kết quả thu được vẫn khẳng định rằng, chiết xuất anthocyanin từ gạo nếp than có tiềm năng kháng viêm đáng kể khi xét đến ưu điểm về nguồn gốc tự nhiên và độ an toàn sinh học. Hoạt tính này, kết hợp với khả năng chống oxy hóa mạnh đã được chứng minh, cho thấy anthocyanin từ gạo nếp than là ứng viên tiềm năng trong phát triển các sản phẩm thực phẩm chức năng và hỗ trợ điều trị các bệnh liên quan đến stress oxy hóa và viêm mạn tính.

4. KẾT LUẬN

Chiết xuất giàu anthocyanin từ gạo nếp than có hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm đáng kể trong điều kiện *in vitro*. Hoạt tính kháng oxy hóa được thể hiện rõ rệt thông qua nhiều cơ chế khác nhau, bao gồm khả năng bắt gốc tự do (DPPH, ABTS) và năng lực khử (FRAP, RP), trong đó hiệu quả nổi bật hơn ở cơ chế trung hòa gốc tự do. Đối với hoạt tính kháng viêm, chiết xuất cho thấy khả năng ức chế biến tính protein phụ thuộc nồng độ, phản ánh tiềm năng ổn định cấu trúc protein và hạn chế các phản ứng viêm

liên quan. Anthocyanin từ gạo nếp than là nguồn hợp chất sinh học tiềm năng, có thể ứng dụng trong lĩnh vực thực phẩm chức năng và dược phẩm. Tuy nhiên, các nghiên cứu tiếp theo cần tập trung vào đánh giá *in vivo*, cơ chế tác động phân tử cũng như tối ưu hóa quy trình chiết xuất nhằm nâng cao hiệu quả ứng dụng thực tiễn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. A. C. Pedro, D. Granato and N. D. Rosso (2016). Extraction of anthocyanins and polyphenols from black rice (*Oryza sativa* L.) by modeling and assessing their reversibility and stability. *Food Chem*, 191, 12 - 20. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.02.045.
- [2]. H. Zhang, Y. Shao, J. Bao and T. Beta (2015). Phenolic compounds and antioxidant properties of breeding lines between the white and black rice. *Food Chem*, 172, 630 - 639. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.09.118.
- [3]. A. Poonia and S. Pandey (2021). Bioactive compounds, nutritional benefits and food applications of black rice. *Nutrition & Food Science*, 52(3), 466 - 482, DOI: 10.1108/nfs-07-2021-0208.
- [4]. R. L. Jackman, R. Y. Yada, M. A. Tung and R. A. Speers (1987). Anthocyanins as food colorants. *Journal of Food Biochemistry*, 11(3), 201 - 247. DOI: 10.1111/j.1745-4514.1987.tb00123.x.
- [5]. I. Sadowska-Bartosz and G. Bartosz (2024). Antioxidant activity of anthocyanins and anthocyanidins. *Int J Mol Sci*, 25(22), 12001. DOI: 10.3390/ijms252212001.
- [6]. S. Chen, Y. Jia, Y. Wu, and F. Ren (2024). Anthocyanin and its bioavailability, health benefits, and applications: A comprehensive review. *Food Reviews International*, 40(10), 3666 - 3689. DOI: 10.1080/87559129.2024.2369696.
- [7]. H. Ayvaz *et al.* (2022). Anthocyanins: Metabolic digestion, bioavailability, therapeutic effects, current pharmaceutical/industrial use, and innovation potential. *Antioxidants (Basel)*, 12(1), 48. DOI: 10.3390/antiox12010048.
- [8]. A. C. Goncalves, A. R. Nunes, A. Falcao, G. Alves and L. R. Silva (2021). Dietary effects of anthocyanins in human health. *Pharmaceuticals (Basel)*, 14(7), 690. DOI: 10.3390/ph14070690.
- [9]. H. E. Khoo, A. Azlan, S. T. Tang, and S. M. Lim (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food Nutr Res*, 61(1), 1361779. DOI: 10.1080/16546628.2017.1361779.
- [10]. X. Fu, G. Oh, J. H. Im, J. S. Lim, M. H. Kim, and O. H. Lee (2024). Assessment of bioactive compounds and physiological activities of ethanolic and aqueous extracts from black rice, black rice bran, and milled black rice. *Applied Sciences*, 14(22), 10200. DOI: 10.3390/app142210200.
- [11]. M. Zhao *et al.* (2025). Composition and biological activity of colored rice. *Foods*, 14(8), 1394. Doi: <https://doi.org/10.3390/foods14081394>.
- [12]. M. Javed *et al.* (2025). Black rice as the emerging functional food: bioactive compounds, therapeutic potential and industrial applications. *Frontiers in Nutrition*, 12, 1705983. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1705983>.
- [13]. S. Umsumarng *et al.* (2025). Anthocyanin-rich fraction from Kum Akha black rice attenuates NLRP3 inflammasome - driven lung inflammation *in vitro* and *in vivo*. *Nutrients*, 17(7), 1186. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu17071186>.
- [14]. I. Y. Bae, J. S. An, I. K. Oh, and H. G. Lee (2017). Optimized preparation of anthocyanin-rich extract from black rice and its effects on *in vitro* digestibility. *Food Sci Biotechnol*, 26(5), 1415 - 1422. DOI: 10.1007/s10068-017-0188-x.
- [15]. İ. Gülçin, R. E. , A. G. , A. C and a. F. T. (2010). Antioxidant activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Stephania rotunda*: Cepharanthine and fangchinolone. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 25(1), 44 - 53.
- [16]. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9-10), 1231- 1237. DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3.
- [17]. I. Biskup, I. Golonka, A. Gamian, and Z. Sroka (2013). Antioxidant activity of selected phenols estimated by ABTS and FRAP methods.

Advances in Hygiene & Experimental Medicine/ Postępy Higieny i Medycyny Doswiadczałnej, 67, 958 - 963. DOI: 10.5604/17322693.1066062.

[18]. M. Oyaizu (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307 - 315.

[19]. M. Rahman, S. Ahmad, T. Mahmud, and M. Rahman (2010). Extraction of *Jatropha curcas* fruits for antifungal activity. *Trans. Malaysian Soc. Plant Physiol*, 19, 76 - 79

[20]. L. K. Ky, V. T. Le Thi Kim Cuong, X. Thuong, D. M. Hiep and N. Dai Hung (2021). Antioxidant and anti-inflammatory activities *in vitro* of *Cordyceps takamontana* DL0038A extracts isolated in Vietnam. *Thu Dau Mot University Journal of Science*, 2(51), 3 - 13.

[21]. R. L. Prior, X. Wu and K. Schaich (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem*, 53(10), 4290 - 4302. DOI: 10.1021/jf0502698.

[22]. J. He and M. M. Giusti (2010). Anthocyanins: Natural colorants with health-promoting properties. *Annu Rev Food Sci Technol*, 1(1), 163 - 187. DOI: 10.1146/annurev.food.080708.100754.

[23]. D. B. Menon and K. Latha (2011). Phytochemical screening and *in vitro* anti-inflammatory activity of the stem of *Coleus forskohlii*. *Pharmacognosy Journal*, 3(23), 75 - 79.

[24]. S. Chandra, P. Chatterjee, P. Dey, and S. Bhattacharya (2012). Evaluation of *in vitro* anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), S178 - S180. DOI: 10.1016/s2221-1691(12)60154-3.

EVALUATION OF ANTIOXIDANT AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF ANTHOCYANIN EXTRACT FROM BLACK GLUTINOUS RICE (*Oryza rufipogon* L.)

Le Thi Hong Anh¹, Nguyen Le Tram¹, Ngo Minh Truc¹, Hoang Thi Ngoc Nhon¹

¹ Industrial University of Ho Chi Minh City

Abstract

This study aimed to simultaneously evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activities of anthocyanin-rich extracts obtained from black glutinous rice (*Oryza rufipogon* L.). Anthocyanins were extracted using acidified ethanol, and their antioxidant activity was assessed using DPPH, ABTS, FRAP, and reducing power (RP) assays. Anti-inflammatory activity was evaluated based on the inhibition of bovine serum albumin (BSA) denaturation. The results demonstrated that the anthocyanin extract exhibited strong, concentration-dependent antioxidant activity, with IC₅₀ values of 20.51 µg/mL (DPPH) and 9.14 µg/mL (ABTS). The FRAP and RP assays indicated a significant ability of the extract to reduce Fe³⁺ to Fe²⁺ and donate electrons; however, its reducing capacity was lower than that of Trolox when expressed in equivalent concentrations. In addition, the anthocyanin extract showed notable anti-inflammatory activity by inhibiting protein denaturation, with an IC₅₀ value of 224.41 µg/mL, although this effect was weaker than that of diclofenac sodium. Overall, the findings highlight the potential of anthocyanins from black glutinous rice as natural antioxidant and anti-inflammatory agents for applications in functional foods and pharmaceutical products.

Keywords: Anthocyanin, black glutinous rice, *Oryza rufipogon* L., antioxidant, anti-inflammatory.

Ngày nhận bài: 10/3/2026

Ngày chuyển phản biện: 25/3/2026

Ngày thông qua phản biện: 14/4/2026

Ngày duyệt đăng: 22/5/2026