



SÀNG LỌC HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA CỦA MỘT SỐ LOÀI RONG NÂU *SARGASSUM* Ở KHÁNH HÒA, VIỆT NAM

Đặng Xuân Cường¹, Vũ Ngọc Bội², Trần Thị Thanh Vân¹ và Ngô Đăng Nghĩa³

¹ Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang

² Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang

³ Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nha Trang

Thông tin chung:

Ngày nhận: 08/08/2012

Ngày chấp nhận: 22/03/2013

Title:

Screening of antioxidant activities of some brown algae species *Sargassum* collected in Khanh Hoa, Viet Nam

Từ khóa:

Kháng oxy hóa, rong nâu, DPP, phlorotannin, *Sargassum*

Keywords:

Antioxidant, brown algae, DPPH, phlorotannin, *Sargassum*

ABSTRACT

This paper presents the screening result of antioxidant activities of 5 brown algae species *S. angustifolium*, *S. aemulum*, *S. assimile*, *S. feldmanii* and *S. ilicifolium* in Khanh Hoa province. Antioxidant activities were researched on total antioxidant, reducing power and DPPH activities. Simultaneously, phlorotannin/ polyphenol content in these algae species was showed. These species were collected during their reproductive maturity. The result showed phlorotannin/ polyphenol in *S. angustifolium* is highest. In the researched species, reducing power activity is stronger than other activities and reducing power activity of *S. angustifolium* is highest. DPPH radical scavenging activity oscillate from 50% - 96%.

TÓM TẮT

Bài báo này thể hiện kết quả sàng lọc hoạt tính chống oxy hóa của 5 loài rong nâu *S. angustifolium*, *S. aemulum*, *S. assimile*, *S. feldmanii* và *S. ilicifolium* ở tỉnh Khánh Hòa. Hoạt tính chống oxy hóa được đánh giá dựa trên các hoạt tính chống oxy hóa tổng, khử Fe và DPPH. Đồng thời cũng chỉ ra hàm lượng phlorotannin/ polyphenol tương ứng ở trong các loài rong này. Những loài này được thu mẫu vào thời gian thành thực sinh sản của chúng. Kết quả cho thấy hàm lượng phlorotannin/ polyphenol ở rong *S. angustifolium* là cao nhất. Ở 5 loài nghiên cứu, hoạt tính khử Fe thể hiện mạnh hơn các hoạt tính khác, hoạt tính khử Fe của *S. angustifolium* là cao nhất. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH dao động trong khoảng 50% - 96%.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Rong nâu là nguồn tài nguyên giàu hoạt chất sinh học với các hoạt tính sinh học phong phú và đa dạng, như chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm, chống đông tụ và chống bức xạ UV-B, khả năng làm lành vết thương và tái tạo cấu trúc tế bào (Kang và *ctv.*, 2003). Một trong những hoạt tính sinh học của hoạt chất từ rong nâu được tập trung nghiên cứu nhiều trên thế

giới là hoạt tính chống oxy hóa và hoạt tính này đã được nghiên cứu bởi (Ahn *et al.*, (2007); Kang *et al.*, (2003); LIM (2002); Kuda, (2007) và Shibata, (2008)), trong đó *et al.* đã chỉ ra khả năng bắt gốc tự do DPPH, LIM (2002) tập trung nghiên cứu về khả năng giảm thiểu oxy hóa lipid của rong *Sargassum siliquastrum*. Điều thú vị là hầu hết các nghiên cứu về hoạt tính chống oxy hóa đều chỉ ra mối liên hệ chặt chẽ về hàm lượng, cấu trúc và cơ chế chống

oxy hóa của polyphenol/ phlorotannin trong rong nâu.

Những nghiên cứu trước đây đã chỉ ra, phlorotannins là hỗn hợp phenolic với bản chất polymer của phloroglucinol, được xác định trong nhiều họ của ngành rong nâu như: Alariaceae, Fucaceae và Sargassaceae. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, hỗn hợp phenolic trong rong nâu chính là phlorotannin (Jormalainen *et al.*, (2004); Koivikko *et al.*, (2007); Swanson *et al.*, (2002)). Hoạt tính chống oxy hóa mạnh của phlorotannin tinh chế từ một số loài rong nâu có mối liên hệ mật thiết với phân tử skeleton (Ahn *et al.*, 2007). Đồng thời, polyphenols chống oxy hóa cao liên quan mật thiết tới vòng phenol và thông qua bẫy điện tử trên vòng phenol để bắt gốc OH[•], ROO[•], O₂⁻. Phlorotannins trong rong nâu có 8 vòng phenol liên kết với nhau. Vì vậy, chúng có khả năng bắt gốc tự do hơn polyphenol từ thực vật trên cạn như catechins trong trà xanh với 4 vòng phenol (Hemat, 2007). Phổ kích thước phân tử phlorotannin rất rộng, từ (400 tới 400.000 Da) và trong từng loài rong nâu hàm lượng phlorotannin cũng khác nhau (0,5 - 20% chất khô) (Keejung *et al.*, 2003).

Hơn nữa gốc tự do là phân tử thiếu đi một điện tử, điện tích của chúng luôn không cân bằng, có xu thế lấy điện tử từ phân tử khác và tạo ra gốc tự do mới gây ra sự rối loạn chức năng của tế bào (Afzal và Armstrong, 2002). Barry Halliwell (2001) đã chỉ ra gốc tự do ảnh hưởng lên sức khỏe con người phổ biến theo 3 con đường như: thích nghi với hệ thống chống oxy hóa, gây tổn thương tế bào sống và làm chết tế bào sống trong cơ thể người. Trong đó cơ chế làm chết tế bào sống có thể là làm hoại tử hoặc làm chết tế bào sống một cách hệ thống. Những gốc như: superoxide, hydroxyl, peroxy, alkoxy, hydroperoxy, nitric oxide và nitrogen dioxide được coi là gốc tự do (Barry Halliwell, 2001).

Ở Việt Nam mới bước đầu tập trung nghiên cứu về các hoạt tính kháng nấm, kháng u, kháng khuẩn của một số hoạt chất

(carbohydrate, phenolic) từ rong nâu (Nguyễn Duy Nhứt, (2008); Bùi Minh Lý, (2009); Trần Thị Thanh Vân, (2009)). Hiện nay có một số công bố về hoạt tính chống oxy hóa của phlorotannin chiết từ rong nâu cũng là của Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang. Tuy nhiên, những công bố này vẫn tập trung về nghiên cứu chiết tách, tối ưu hóa điều kiện chiết, tích lũy và phân bố phlorotannin theo thời gian sinh trưởng.

Do vậy, bài báo này nghiên cứu sàng lọc hoạt tính chống oxy hóa của 5 loài rong nâu vịnh Nha Trang với sự định lượng hàm lượng phlorotannin và định tính một số thành phần trong dịch chiết để xác định mối tương quan giữa các hoạt chất và hoạt tính của chúng và định hướng cho tinh sạch phlorotannin chống oxy hóa.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên liệu

Năm loài rong nâu *S. angustifolium*, *S. aemulum*, *S. assimile*, *S. binderi*, *S. brevifolium* chiếm ưu thế ở vùng biển Khánh Hòa.

2.2 Thu mẫu và bảo quản mẫu

S. angustifolium, *S. aemulum* được thu vào 7/2010 tại rạn ngầm Bãi Cỏ. *S. assimile* được thu tại đầm Nha Phu vào tháng 6/2010. *S. binderi* được thu tại Hòn Chông và *S. brevifolium* được thu ở Cam Ranh vào tháng 6/2010. Phân loại và định danh theo Phạm Hoàng Hộ (1969). Sau khi thu mẫu, rong được rửa sạch bằng nước ngọt, phơi khô đến độ ẩm 19% và bảo quản ở nhiệt độ phòng trong bao tải xác rắn phục vụ công tác nghiên cứu.

2.3 Phương pháp nghiên cứu

Độ phân cực của hỗn hợp phlorotannin trong rong nâu từ không phân cực đến phân cực mạnh, vì vậy muốn chiết toàn bộ phlorotannin trong rong nâu phải tiến hành chiết bằng cồn 96⁰ (Nguyễn Văn Đàn *et al.*, 1985). Chiết ở nhiệt độ phòng, thời gian 24h với tỷ lệ dung môi: nguyên liệu 25:1. Mỗi thí nghiệm dùng 100g rong khô (19% độ ẩm).

2.3.1 Phương pháp định tính

Nhỏ dịch chiết lên giấy và để khô, nếu tồn tại vết mờ thì có chất béo theo TCVN 4331-86.

Tinh dầu định tính bằng cách cho bốc hơi dịch chiết tới khi thu được cặn có mùi thơm (Trần Danh Thế và *ctv.*, 2010).

Dùng thuốc thử Liebermann-Burchard cho vào dịch chiết, màu dịch từ đỏ nâu – tím chuyển sang màu xanh lục, là dịch có terpenoid (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

Xác định Flavonoid bằng phản ứng đặc trưng với Mg/HCl đậm đặc: Dung dịch có màu hồng (đỏ). (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

Xác định Alkaloid bằng phản ứng đặc trưng với thuốc thử Mayer cho kết tủa trắng (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

2.3.2 Phương pháp định lượng

Định lượng phlorotannin tổng (TPC) theo phương pháp Folin-Ciocalteu như mô tả bởi Swanson và *ctv.* (2002) với phloroglucinol là chất chuẩn. Lấy 300 μ l dịch mẫu bổ sung 01 ml Folin-Ciocalteu 10%, giữ 5 phút. Tiếp theo thêm vào 2 ml Na_2CO_3 10%, trộn đều, giữ 90 phút trong bóng tối, sau đó đo độ hấp thụ ở bước sóng 750 nm, đo trên máy UV-Vis Spectrophotometer JenWay 6400/ 6405.

Định lượng carbohydrate theo AOAC (1990).

2.3.3 Phương pháp xác định hoạt tính

– Chống oxy hóa tổng theo mô tả bởi Prieto *et al.* (1999), lấy 100 μ l mẫu bổ sung 900 μ l nước cất và thêm 3 ml dung dịch A (H_2SO_4 0,6 M, sodium phosphate 28 mM and ammonium Molybdate 4 mM). Hỗn hợp được giữ 90 phút ở 95 $^\circ\text{C}$. Sau đó đo ở bước sóng 695 nm với chất chuẩn là acid ascorbic.

– Khử Fe được xác định theo phương pháp lấy 500 μ l dịch mẫu bổ sung 0,5 ml đệm phosphate pH = 7,2 và 0,2 ml $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1%. Giữ hỗn hợp 20 phút ở 50 $^\circ\text{C}$. Sau đó thêm vào 500 μ l CCl_3COOH 10% với sự bổ sung 300 μ l nước cất và 80 μ l FeCl_3 0,1%. Tiếp theo đo ở

bước sóng 655 nm với chất chuẩn là FeSO_4 (Zhu *et al.*, 2002).

– Bắt gốc tự do DPPH tiến hành theo Blois *et al.* (1958), lấy lần lượt 200 μ l, 400 μ l, 600 μ l, 800 μ l và 1000 μ l dịch chiết vào 5 ống nghiệm, rồi bổ sung 3 ml DPPH (25 mg/l) vào từng ống nghiệm làm dung dịch mẫu (mẫu). Ở dung dịch trắng (mẫu trắng) làm tương tự mẫu nhưng thay DPPH bằng 3 ml cồn tuyệt đối vào từng ống. Mẫu kiểm soát chuẩn bị bằng cách làm giống như mẫu trắng nhưng thay dịch chiết bằng DPPH. Giữ các hỗn hợp trong tối ở nhiệt độ phòng. Sau 30 phút tiến hành đo ở bước sóng 550nm. Công thức tính phần trăm bắt gốc như sau:

$$A\% = \left[1 - \left(\frac{A_{\text{mẫu}} - A_{\text{mẫu trắng}}}{A_{\text{kiểm soát}}} \right) \right] \times 100\%$$

Máy UV-Vis Spectrophotometer JenWay 6400/ 6405 được sử dụng để đo các mẫu

2.4 Phân tích dữ liệu

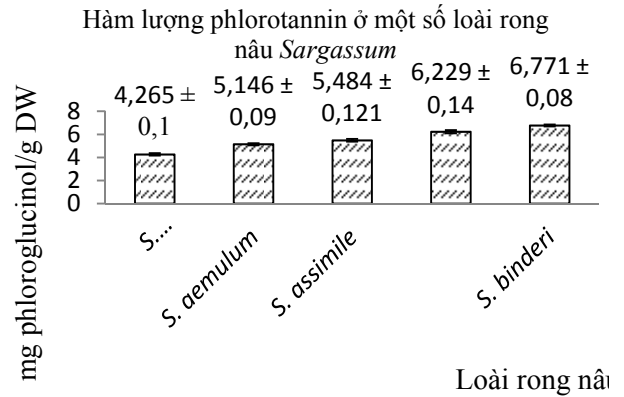
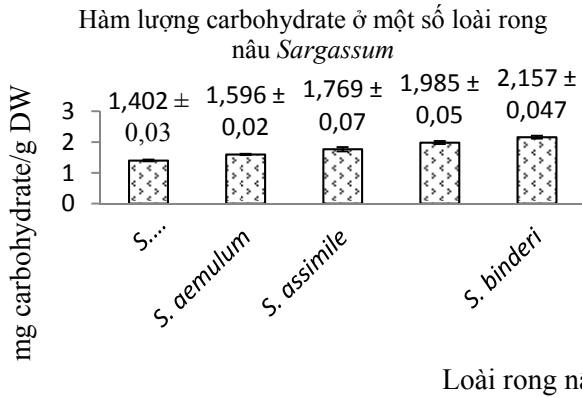
Thực nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần (n=3), phân tích ANOVA, hồi quy trên cơ sở sử dụng phần mềm Excel và SPSS 16.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Thực nghiệm cho thấy hoạt tính chống oxy hóa ở loài *S. binderi* cao nhất với khả năng bắt gốc tự do lên đến 96,1%, *S. angustifolium* là loài có hoạt tính chống oxy hóa thấp nhất. Hoạt tính khử Fe của 5 loài rong nâu này dao động từ 13,41 – 19,72 mg FeSO_4 / g rong khô nguyên liệu (DW). Hoạt tính chống oxy hóa tổng dao động trong khoảng 4,1 – 6,1 mg acid ascorbic/ g DW. Điều này cho thấy hoạt tính khử Fe của dịch chiết chứa phlorotannin/ polyphenol từ 5 loài rong nghiên cứu là mạnh mẽ hơn so với hoạt tính chống oxy hóa tổng của chúng. Hàm lượng phlorotannin/ polyphenol chống oxy hóa trong 5 loài rong nghiên cứu được sắp xếp theo thứ tự giảm dần sau: *S. binderi*, *S. brevifolium*, *S. assimile*, *S. aemulum* và *S. angustifolium* tương ứng 6,77; 6,23; 5,48; 5,15 và 4,27 mg phlorotannin/ g DW. Hàm lượng carbohydrate, hoạt tính chống oxy hóa được sắp xếp theo thứ tự tăng dần như sau: *S. angustifolium*,

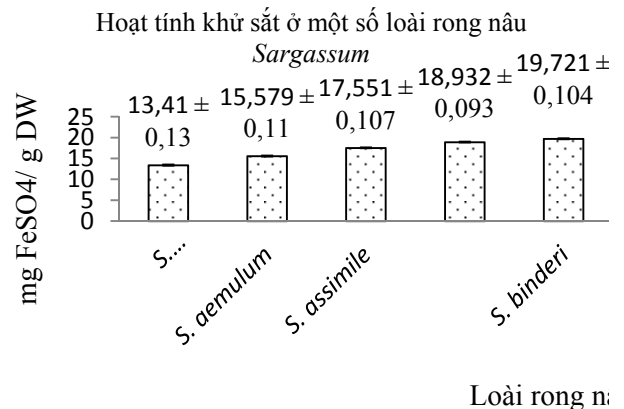
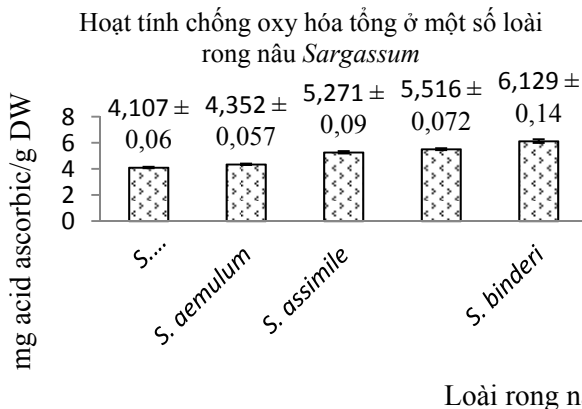
S. aemulum, *S. assimile*, *S. brevifolium* và *S. binderi*. Hoạt tính chống oxy hóa và bắt gốc tự do của phlorotannin có lẽ do đặc điểm cấu trúc với 8 vòng phenol tạo thành bẫy điện tử trên

mạch phlorotannin để bắt các gốc oxy hóa OH[•], ROO[•], O₂⁻ và khử Fe. Những luận giải trên được thể hiện chi tiết ở các đồ thị 1, 2, 3 và 4 sau:



Đồ thị 1: Biểu diễn hàm lượng carbohydrate ở một số loài rong nâu *Sargassum*

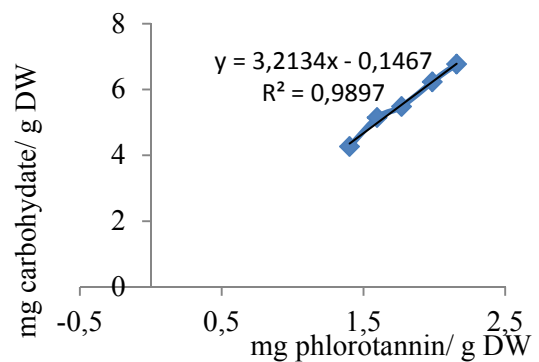
Đồ thị 2: Biểu diễn hàm lượng phlorotannin ở một số loài rong nâu *Sargassum*



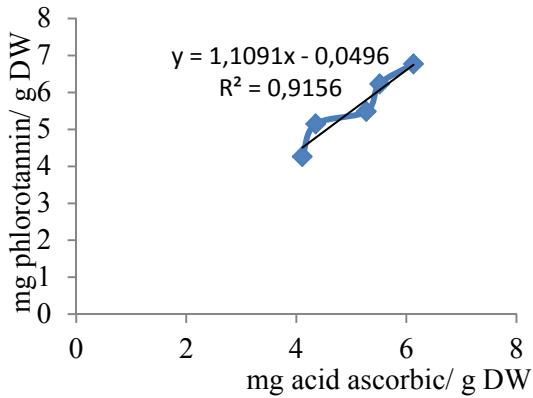
Đồ thị 3: Biểu diễn hoạt tính chống oxy hóa tổng của một số loài rong nâu *Sargassum*

Đồ thị 4: Biểu diễn hoạt tính khử sắt của một số loài rong nâu *Sargassum*

Phân tích mối tương quan giữa hoạt tính chống oxy hóa với hàm lượng phlorotannin/polyphenol và phlorotannin với carbohydrate, thấy có sự tương quan dương rất lớn giữa các hàm nghiên cứu, ở mức ý nghĩa $\alpha < 0,05$ có R^2 dao động trong khoảng 0,91 – 0,98. Điều này cho thấy hoạt tính chống oxy hóa có hiệu lực là do sự tương tác cộng hưởng giữa các hoạt chất như phlorotannin, carbohydrate (mannitol tan trong môi trường cồn 96) và chlorophyll,... tạo nên. Minh họa cụ thể hơn ở các đồ thị 5, 6, 7, 8 sau:

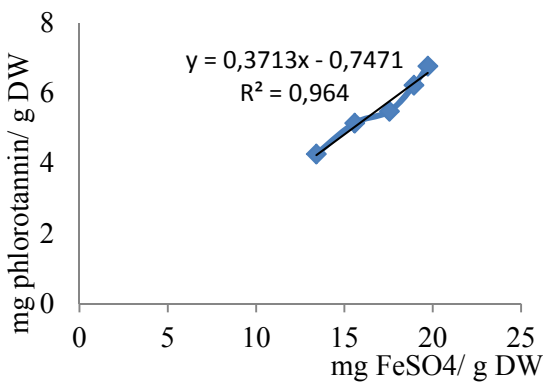


Đồ thị 5: Mối tương quan giữa hàm lượng phlorotannin và carbohydrate trong một số loài rong nâu

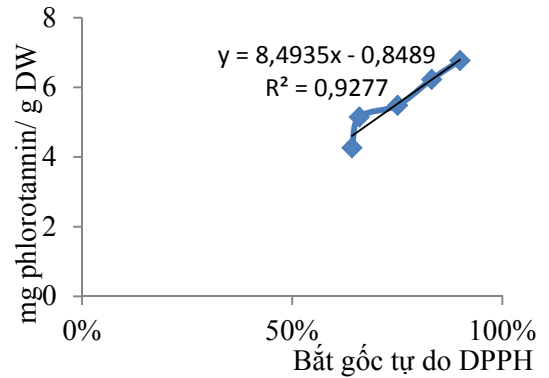


Đồ thị 6: Mối tương quan giữa hàm lượng phlorotannin và hoạt tính chống oxy hóa tổng của một số loài rong nâu

Phân tích dữ liệu và đồ thị 5, 6, 7, 8 cũng cho thấy, hàm lượng phlorotannin tương quan dương với hoạt tính chống oxy hóa đã xác định và hàm lượng phlorotannin cũng tương quan dương với hàm lượng carbohydrate, nên sự tương quan dương giữa hàm lượng carbohydrate (mannitol,... những carbohydrate hòa tan trong cồn) với các hoạt tính chống oxy hóa như chống oxy hóa tổng, khử sắt và bắt gốc tự do DPPH là được xác định. Tuy nhiên, khi tham khảo với các kết quả nghiên cứu trước đây trên thế giới và thực nghiệm của nhóm tác giả, thấy rằng phlorotannin có dấu hiệu chống oxy hóa mạnh mẽ hơn carbohydrate. Carbohydrate có dấu hiệu mạnh mẽ hơn trong kháng u, kháng ung thư.



Đồ thị 7: Mối quan hệ giữa hàm lượng phlorotannin và hoạt tính khử sắt của một số loài rong nâu *Sargassum*



Đồ thị 8: Mối quan hệ giữa hàm lượng phlorotannin và khả năng bắt gốc tự do DPPH của một số loài rong nâu *Sargassum*

Theo nhiều tài liệu tham khảo cho thấy, gốc tự do được sinh ra do các tác nhân phổ biến như: Stress, chế độ dinh dưỡng, thiếu oxy mô, bỏng, nhiễm xạ, hoá chất độc hại, nhiễm trùng, bệnh mãn tính, lao động quá sức,... (Sarma *et al.*, 2010). Hiện nay gốc tự do được biết là nguyên nhân gây hơn 60 bệnh lý như: các bệnh do stress, ung thư, tim mạch, thần kinh, đục thủy tinh thể, thoái hoá võng mạc, viêm, bệnh do phóng xạ, não suy,... (Shailaja, 2012) khi mắc các bệnh này thì các gốc tự do tăng cao, các chất chống oxy hoá giảm rất nhiều trong máu. Kết quả sàng lọc khả năng bắt gốc tự do của 5 loài rong cho kết quả khả quan, ở điều kiện chiết nhất định với lượng mẫu thử thấp nhất là 200 ml, khả năng bắt gốc tự do thấp nhất cũng đạt $50,5\% \pm 1,5\%$ ở 200 ml dịch chiết và hoạt tính bắt gốc tự do đạt cao nhất là $96,1\% \pm 5,4\%$ ở 1.000 ml dịch chiết. Khả năng bắt gốc tự do thấp nhất ở loài *S. angustifolium* cũng được trung bình $64,2\% \pm 16,7\%$ và cao nhất ở loài *S. binderi* đạt được trung bình $83,2\% \pm 3,9\%$. Như vậy có thể nghiên cứu sử dụng những loài rong này để giảm thiểu các gốc tự do trong cơ thể con người. Bảng 1 thể hiện chi tiết khả năng bắt gốc DPPH ở 5 loài rong nâu kể trên.

Bảng 1: Phần trăm bắt gốc tự do (DPPH) ở các thể tích dịch chiết khác nhau

Loài rong	Phần trăm (%) bắt gốc tự do ở				
	200µl dịch chiết	400µl dịch chiết	600µl dịch chiết	800µl dịch chiết	1000µl dịch chiết
<i>S. angustifolium</i>	50,5% ± 1,5%	57,3% ± 2%	61,9% ± 3%	58,3% ± 6,1%	93,2% ± 2,5%
<i>S. aemulum</i>	57,1% ± 1,2%	68,2% ± 1,9%	62,8% ± 2,7%	70,7% ± 2,8%	71,1% ± 4,4%
<i>S. assimile</i>	69,3% ± 0,8%	73,9% ± 2,3%	71,8% ± 3,1%	74,9% ± 1,9%	85,5% ± 2,2%
<i>S. brevifolium</i>	78,2% ± 0,6%	83,3% ± 1,7%	80,7% ± 4,2%	85,3% ± 3,1%	88,4% ± 1,8%
<i>S. binderi</i>	81,5% ± 1,1%	90,5% ± 1,4%	89,7% ± 5,7%	91,8% ± 4,6%	96,1% ± 5,4%

Rong nâu là nguồn dược liệu giàu hoạt chất sinh học như alginate, fucoidan, laminaran, mannitol, polyphenol/ phlorotannin, chlorophyll với đặc tính chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm, ngừa ung thư,... Như ở trên đã trình bày về hoạt tính chống oxy hóa với sự định tính phlorotannin và carbohydrate. Tuy

hiên, để phục vụ cho quá trình tinh chế phlorotannin chống oxy hóa sau này, một số thành phần hóa học như chất béo, carbohydrate, phlorotannin/ polyphenol, tinh dầu, terpenoid, alkanoid, flavonoid đã thể hiện sự tồn tại trong dịch chiết sau khi được định tính và trình bày chi tiết ở Bảng 2 sau:

Bảng 2: Phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật của dịch chiết 5 loài rong nâu

Nhóm hợp chất	Thuốc thử Cách thực hiện	Phản ứng dương tính	Kết quả định tính	Kết quả định tính chung
Chất béo	Nhỏ dd lên giấy	Vết trong mờ	++	Có
Tinh dầu	Bốc hơi tới cạn	Có mùi thơm	+	Có
Terpenoid	Liebermann-Burchard	Đỏ nâu-tím, lớp trên có màu xanh lục	+++	Có
Alkaloid	T/thử chung alkaloid	Kết tủa	+	Có
Flavonoid	Mg/HCl dd	Dung dịch có màu hồng tới đỏ	+	Có

(-) Không có (±) Nghi ngờ (+) Có ít (++) Có (+++) Có nhiều (+++++) Có rất nhiều

4 KẾT LUẬN

S. binderi có hoạt tính chống oxy hóa, khử Fe và bắt gốc tự do DPPH và hàm lượng phlorotannin, cao nhất trong 5 loài nghiên cứu, ứng với 6,21 ± mg acid ascorbic, 19,72 ± mg FeSO₄/g DW, phần trăm bắt gốc trung bình là 89,9% ± 5% và phlorotannin là 6,77 ± 0,06 mg/g DW. *S. angustifolium* có hoạt tính chống oxy hóa thấp nhất với hàm lượng phlorotannin ít nhất trong 5 loài nghiên cứu, ứng với 4,107 ± 0,02 mg acid ascorbic, 13,41 ± 0,04 mg FeSO₄, phần trăm bắt gốc trung bình là 64,2% ± 16,7% với 4,265 ± 0,03 mg phlorotannin/g DW.

Khả năng bắt gốc tự do DPPH của 5 loài đã nghiên cứu này dao động từ 50,5% đến 96,1%.

Dịch chiết của 5 loài rong nâu đã nghiên cứu đều có một số thành phần hóa học giống nhau như: chất béo, carbohydrate, phlorotannin/ polyphenol, tinh dầu, terpenoid, alkanoid, flavonoid.

LỜI CẢM ƠN

Chân thành cảm ơn Bộ Khoa học Công nghệ đã đầu tư kinh phí thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abheri Das Sarma, Anisur Rahaman Mallick and A. K. Ghosh. 2010. Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions: An Overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 1(3): 185-192.
2. Ahn, G. N., Kim, K. N., et al. 2007. Antioxidant activities of phlorotannins purified from *Ecklonia cava* on free radical scavenging using ESR and H₂O₂-mediated DNA damage. *European Food Research and Technology*, 226: 71-79.
3. Afzal, M., Armstrong, D. 2002. "Fractionation of herbal medicine for identifying antioxidant activity. *Methods in Molecular Biology, Oxidative Stress Biomarkers and Antioxidant Protocols*", Humana Press Inc., 186: 293-299

4. Barry Halliwell. 2001. Free Radicals and other reactive species in Disease. Nature Publishing Group. *Encyclopedia Of Life Sciences*, p. 1-7
5. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 26: 1199–1200.
6. Bùi Minh Lý, Trần Thị Thanh Vân, Đặng Xuân Cường. 2009. “Sàng lọc hoạt tính kháng khuẩn của một số loài rong biển Khánh Hòa, Tuyển tập Hội nghị KH Toàn quốc về Sinh học biển và phát triển bền vững”, ISBN 978-604-913-007-6, Hải Phòng 11/2009, 671-677.
7. Bùi Minh Lý, Đặng Xuân Cường, Lê Như Hậu, Nguyễn Duy Nhứt. 2009. Bước đầu nghiên cứu tính kháng khuẩn của một số loài rong biển Khánh Hòa, *Báo cáo khoa học hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc*, tr825.
8. Gin-Nae Ahn et al. 2007. Antioxidant activities of phlorotannins purified from *Ecklonia cava* on free radical scavenging using ESR and H2O2-mediated DNA damage. *Eur Food Res Technol*, 226: 71–79.
9. Hemat, R. A. S. 2007. Fat and muscle dysfunction. In R. A. S. Hemat (Ed.), *Andropathy*, 83–85.
10. Jormalainen, V., & Honkanen, T. 2004. Variation in natural selection for growth and phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*. *Journal of Evolutionary Biology*, 17: 807–820.
11. Keejung Kang, Yongju Park et al. 2003. Antioxidative Properties of Brown Algae Polyphenolics and Their Perspectives as Chemopreventive Agents Against Vascular Risk Factors. *Arch Pharm Res*, 26: 286-293.
12. N.R.Shailaja, C.Chellaram, M.Chandrika, C.Gladis Rajamalar And T. Prem Anand. 2012. Antioxidant properties of seer fish meat. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 3(3): 173 – 178.
13. Nguyễn Duy Nhứt. (2008). *Nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của polysacarit trong một số loài rong nâu ở tỉnh Khánh Hòa*, tr. 1 – 42, Luận văn Tiến sỹ hoá học, Viện Hoá học - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
14. Nguyễn Đức Thịnh. 2008. *Tách chiết và phân tích thành phần các polysacarit tan trong nước từ một số loài rong nâu Việt Nam*, tr. 1 – 19, Luận văn Thạc sỹ hoá học, Viện Hoá học - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
15. Nguyễn Kim Phi Phụng. 2007. Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ, NXB. ĐH Quốc Gia TP. HCM.
16. Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Việt Tựu. 1985. *Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc*. NXB Tp.HCM.
17. Koivikko, R., Loponen, J., et al. 2007. High-performance liquid chromatographic analysis of phlorotannins from the brown alga *Fucus vesiculosus*. *Phytochemical Analysis*, 18: 326–332.
18. Phạm Hoàng Hộ. 1969. *Rong biển Việt Nam - phân phía Nam Việt Nam*, tr. 197-281, NXB Trung tâm Học liệu Sài Gòn.
19. Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*: 269, 337–341.
20. S. N. LIM. 2002. Evaluation of Antioxidative Activity of Extracts from a Brown Seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *J. Agric. Food Chem*, 50: 3862-3866.
21. Swanson, A. K. and Druehl, L. D. 2002. Induction, exudation and the UV protective role of kelp phlorotannins. *Aquatic Botany*, 73: 241-253.
22. Takashi Kuda. 2007. Varieties of antioxidant and antibacterial properties of *Ecklonia stolonifera* and *Ecklonia kurome* products harvested and processed in the Noto peninsula, Japan. *Food Chemistry*, 103: 900–905.
23. Trần Danh Thế, Vũ Văn Độ, Ngô Kế Sương. 2010. Bước đầu trồng thử nghiệm và tách chiết hoạt chất miraculin trong trái cây thần kỳ (*Synsepalum dulcificum daniell*). *Science & Technology Development*, 13: 54-61.
24. Trần Thị Thanh Vân, Đặng Xuân Cường, Cao Thị Thúy Hằng, Võ Mai Như Hiếu và Bùi Minh Lý. 2009. *Thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn của dung dịch chiết ethanol giàu iốt tự nhiên từ rong Nâu*, Hội thảo về nghiên cứu phát triển và ứng dụng công nghệ vật liệu KC02/06-10, Hà Nội, 27/11/2009.
25. Toshiyuki Shibata. 2008. Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese Laminariaceae. *J Appl Phycol*, 20: 705–711.
26. Zhu, Q. T., et al. 2002. Antioxidative activities of oolong tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6929–6934.