SO SÁNH HÀM LƯỢNG VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG OXI HÓA RIÊNG CỦA POLYPHENOL TRÍCH LY TỪ 4 LOẠI HẠT TRÁI CÂY

Lê Phan Thùy Hạnh[1,*], Trần Quyết Thắng[1], Lê Trung Thiên[2]

[1]*Trường Đại học Công Nghiệp Thực Phẩm Tp.Hồ Chí Minh*

[2]*Trường Đại học Nông Lâm Tp.Hồ Chí Minh*

[*]Email: *hanhlpt@cntp.edu.vn*

Ngày nhận bài:10/12/2016 ; Ngày chấp nhận đăng: 13/03/2017

TÓM TẮT

Nghiên cứu này tập trung khảo sát tổng hàm lượng và hoạt tính kháng oxi hóa của polyphenol tổng trong 4 loại hạt trái cây: chôm chôm (*Nephelium lappaceum L*), mít (*Artocarpus heterophyllus*), xoài Cát Chu (*Mangifera indica*) và nhãn (*Dimocarpus longan*) và bước đầu chọn ra loại hạt có tổng hàm lượng và hoạt tính kháng oxi hóa của polyphenol tổng cao nhất trong bốn loại trái cây trên. Nghiên cứu là cơ sở để tiến hành trích ly polyphenol từ hạt trái cây. Kết quả thu được như sau: Hàm lượng và hoạt tính kháng oxi hóa riêng của polyphenol trong hạt xoài là cao nhất, kế đến là nhãn. Chôm chôm có tổng hàm lượng polyphenol cao hơn so với mít nhưng lại có hoạt tính kháng oxi hóa riêng thấp.

Từ khóa: polyphenol, hạt trái cây, hạt chôm chôm, hạt mít, hạt nhãn, hạt xoài cát chu.

1. MỞ ĐẦU

Việt Nam là nước nhiệt đới, hoa quả có quanh năm. Việc chế biến các sản phẩm trái cây và xuất khẩu trái cây càng ngày càng tăng. Song song với quá trình đó là lượng phụ phẩm trái cây (vỏ, hạt…) được sản sinh ra ngày càng nhiều. Hiện nay, lượng phụ phẩm này chủ yếu được dùng để sản xuất thức ăn chăn nuôi, làm phân bón hoặc chỉ thải bỏ ra môi trường.

Nhiều kết quả nghiên cứu đã cho thấy các hợp chất chống oxi hóa tự nhiên trong trái cây kể cả các loại phụ phẩm của chúng có thể ngăn ngừa được một số bệnh như ung thư, tim mạch, suy giảm hệ thần kinh và lão hóa sớm – những căn bệnh có cùng nguyên nhân do stress oxi hóa (sự mất cân bằng giữa các gốc tự do và hoạt động của các chất chống oxi hóa trong cơ thể) gây ra. Trong số các chất chống oxi hóa tự nhiên trong trái cây và phụ phẩm của chúng, polyphenol là nhóm chất rất được quan tâm bởi polyphenol thể hiện những đặc tính sinh học quý đặc biệt là khả năng chống oxi hóa, chống viêm, chống dị ứng và khả năng kháng khuẩn (Manach, 2004).

Việc tận dụng các phụ phẩm trái cây (nguyên liệu rẻ tiền) để trích các hợp chất chống oxi hóa, mà cụ thể là polyphenol để làm dược liệu hay ứng dụng chế biến các sản phẩm thực phẩm chức năng có ý nghĩa thực tiễn lớn. Nghiên cứu là bước đầu để so sánh hàm lượng và hoạt tính kháng oxi hóa riêng của polyphenol – là tiền đề chọn loại hạt trích ly pholyphenol.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên vật liệu

2.1.1. Nguyên liệu

Các hạt trái cây được chọn để nghiên cứu là: hạt chôm chôm *Nephelium lappaceum L*, hạt mít *Artocarpus heterophyllus*, hạt xoài Cát Chu *Mangifera indica* và hạt nhãn *Dimocarpus longan*. Nguyên liệu ban đầu phải tươi, không dập nát, hạt không hư hỏng, sâu mọt, được thu mua ở Huyện Cái Bè, Tiền Giang.

Nguyên liệu được loại bỏ phần thịt còn sót lại trên hạt, rửa sạch, để ráo, sấy khô bằng phương pháp sấy thăng hoa ở nhiệt độ -50 ^{o}C trong thời gian 72 h. Lúc này, hàm lượng ẩm của nguyên liệu < 7 %. Nguyên liệu được nghiền nhỏ trong máy nghiền mẫu và được chia đều vào các túi PE nhỏ với khối lượng khoảng 5 ± 0.03g dùng cho mỗi lần thí nghiệm. Các túi PE chứa mẫu được hàn ghép mí và bảo quản trong tủ đông, t^{o} < -20 ^{o}C.

2.1.2. Hóa chất

Bảng 1.1. Các hóa chất chính sử dụng trong nghiên cứu.

Tên hóa chất	Xuất xứ	Độ tinh khiết (%)
Vitamin C	Pháp	-
Methanol	Trung Quốc	99,9
Acetone	Trung Quốc	99
Na_2CO_3	Trung Quốc	96
Ethanol	Trung Quốc	99
DPPH	Anh	99,5
Acid gallic	Nhật	98
Folin – Ciocalteu	Đức	-

2.2. Phương pháp phân tích

2.2.1. Xác định hàm lượng polyphenol tổng bằng phương pháp so màu (Phương pháp Folin – Ciocalteau)

Theo Singleton và cộng sự (1999), với một ít thay đổi, cụ thể như sau:

- Nguyên tắc: Dựa vào phản ứng oxy hóa các hợp chất polyphenol bằng thuốc thử Folin – Ciocalteau, dùng acid gallic làm chất chuẩn. Phản ứng này liên quan đến việc làm giảm hàm lượng polyphenol, các hợp chất này sẽ bị oxy hóa trong môi trường kiềm dẫn đến sự hình thành các ion superioxide, các ion này sẽ lần lượt phản ứng với molybdate để hình thành dạng molybdenum oxide (MoO^{4+}). Mylybdenum oxide là dạng phức chất có màu xanh lam, hấp thụ bước sóng 760 nm. Cường độ màu của hỗn hợp phản ứng tỉ lệ thuận với nồng độ polyphenol trong một phạm vi nhất định. Dựa vào cường độ màu đo được và đồ thị chuẩn của acid gallic với thuốc thử có thể xác định được hàm lượng polyphenol trong mẫu.

- Cách tiến hành:

+ Xây dựng phương trình đường chuẩn acid gallic:

Cân 5mg acid gallic hòa tan trong 100mL nước cất. Lấy acid gallic vào các bình định mức với lượng: 20; 30; 40; 50; 60; 70; 80 µg. Hút tiếp 0,5 mL thuốc thử Folin - Ciocaulteur vào từng bình định mức. Sau 3 phút thì cho tiếp 2,5 mL Sodium Cacbonat bão hòa. Thêm nước cất đến vạch định mức, để tối 30 phút. Đo cường độ hấp thu ở bước sóng 760 nm. Từ tương quan giữa số mg acid gallic và cường độ màu đo được, ta dựng được đồ thị chuẩn acid gallic theo phương pháp thống kê.

+ Xác định hàm lượng polyphenol:

Hút 1mL dịch chiết + 0,5 mL thuốc thử Folin - Ciocalteau để khoảng 3 phút. Sau đó thêm vào 2,5 mL dung dịch Na_2CO_3 bão hòa, lắc nhẹ cho đều, định mức bằng nước cất đến vạch, để trong bóng tối 30 phút tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng 760 nm.

Từ kết quả so màu, dựa trên phương trình chuẩn của acid gallic thì xác định được nồng độ của polyphenol.

2.2.2. Xác định hoạt tính oxi hóa theo phương pháp 2,2 – diphenyl – 1 - picryl hydrazyl radical (DPPH) (Molyneux, P., 2004)

- Nguyên tắc:

Dựa vào khả năng bắt giữ gốc tự do DPPH của chất có tác dụng chống oxy hóa. Khi dung dịch DPPH được trộn với dung dịch của chất có khả năng nhường nguyên tử hydro thì gốc tự do tại vị trí nguyên tử nitơ trong DPPH sẽ phản ứng với hợp chất có khả năng cho nguyên tử hydro làm mất màu tím ban đầu của dung dịch, chuyển dần sang màu vàng nhạt. Hàm lượng DPPH còn lại trong dung dịch sau phản ứng được xác định bằng phương pháp so màu ở bước sóng 517 nm.

- Hóa chất: Dung dịch DPPH 1 mM trong methanol.

- Cách tiến hành:

Cho dịch chiết với các lượng khác nhau vào bình định mức, sau đó thêm 1mL dung dịch DPPH 1mM, định mức đến vạch rồi để ở nhiệt độ 4 ^{0}C trong 30 phút.

Mẫu đối chứng là mẫu chứa DPPH

Sự thay đổi độ hấp thụ tại bước sóng 517 nm được đo bằng thiết bị đo quang UV-Vis và lượng DPPH còn lại sẽ được tính toán. Hoạt lực thu dọn các gốc tự do được thể hiện trên tỷ lệ phần trăm ức chế và được tính theo công thức:

$$\% = \frac{A_0 - A_1}{A_0} x\ 100$$

Trong đó, A_0 là độ hấp thụ của mẫu đối chứng.

A_1 là độ hấp thụ của mẫu có dịch chiết.

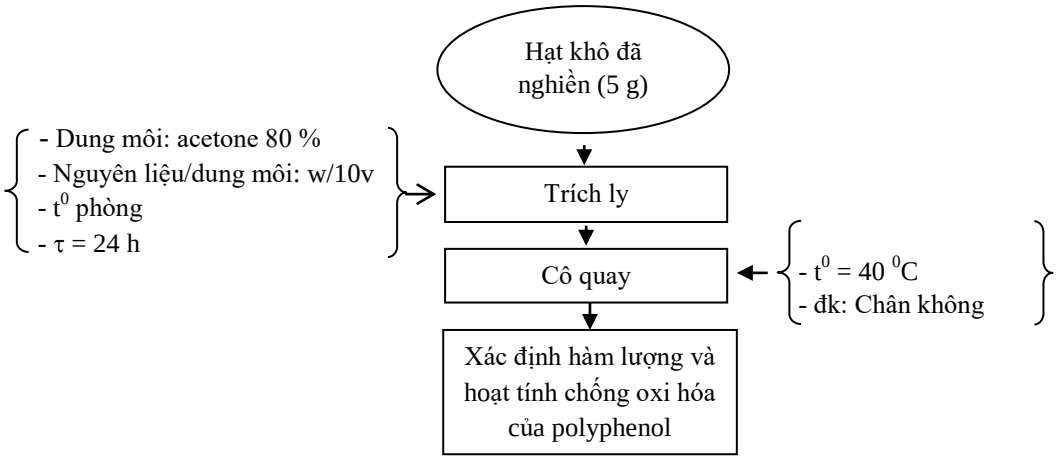
Hoạt tính chống oxy hóa sau đó được biểu thị quy đổi qua giá trị IC 50 biểu diễn hàm lượng hợp chất có khả năng ức chế hay thu dọn 50% hàm lượng gốc tự do có mặt. Như vậy, mẫu có khả năng ức chế 50% hàm lượng gốc tự do ở hàm lượng polyphenol nhỏ (hoặc dưới dạng nghịch đảo (1/hàm lượng) cao) sẽ có hoạt tính kháng oxi hóa cao. Tuy nhiên, hoạt tính kháng oxi hóa lại phụ thuộc vào hàm lượng polyphenol thu được, do đó, trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng oxi hóa của polyphenol được quy về hoạt tính kháng oxi hóa riêng (số đơn vị

hoạt tính kháng oxi hóa/một đơn vị khối lượng) và để thuận tiện cho việc xử lý số liệu, hoạt tính kháng oxi hóa sẽ được thể hiện dưới dạng nghịch đảo.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Nội dung này gồm các công việc cụ thể như sau:

Quy trình trích ly polyphenol từ hạt trái cây mà tác giả Atita Panyathep và cộng sự (2012) đã thực hiện sẽ được ứng dụng để trích ly polyphenol từ 4 loại hạt, cụ thể là hạt nhãn, hạt chôm chôm, hạt xoài, và hạt mít (quy trình trích ly dự kiến được trình bày trong Hình 1.1. Bên cạnh tổng khối lượng polyphenol thu được (xác định theo phương pháp so màu, trình bày trong Mục 2.2.1 thì hoạt tính kháng oxi hóa (xác định theo phương pháp DPPH trình bày trong Mục 2.2.2 của hỗn hợp trích từ mỗi loại hạt cũng được so sánh. Kết quả thu được sẽ giúp đánh giá được tiềm năng dùng các loại hạt này để trích ly thu nhận polyphenol.



Hình 1.1. Sơ đồ khảo sát hàm lượng và hoạt tính kháng oxi hóa riêng của polyphenol trích ly từ các loại hạt trái cây (Atita Panyathep và cộng sự, 2012).

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu thí nghiệm được trình bày dưới dạng giá trị trung bình (± SD). Phần mềm Modde 5.0 (Umetrics AB) được ứng dụng để qui hoạch thực nghiệm và tối ưu hóa quá trình trích ly. Phân tích xác suất thống kê (phân tích ANOVA) được ứng dụng để tìm sự khác biệt.

Đồ thị được vẽ bằng công cụ Excel.

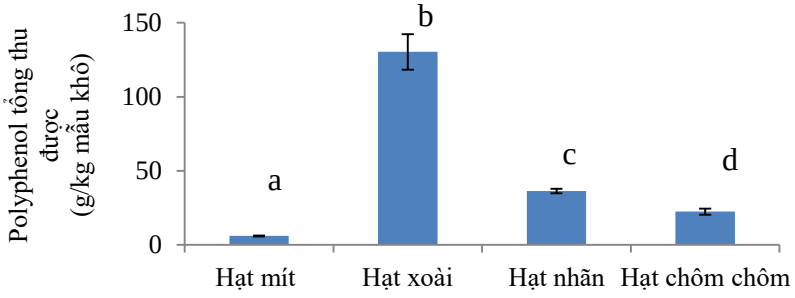
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát hàm lượng polyphenol tổng của 4 loại hạt trái cây

Kết quả khảo sát hàm lượng polyphenol tổng của 4 loại hạt trái cây khảo sát được thể hiện ở Hình 1.2.

Kết quả thu được ở mỗi thí nghiệm là giá trị trung bình của ba lần lặp. Số liệu được xử lý ANOVA để nhận xét sự khác biệt giữa các mẫu hạt. Giá trị P - value cho hàm lượng polyphenol

của dịch chiết từ các loại hạt khác nhau cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong khoảng tin cậy 95% giữa các mẫu hạt.



Hình 1.2. Đồ thị kết quả hàm lượng của polyphenol trích ly từ 4 loại hạt.
(Các số liệu có kí tự chung thì khác biệt không có ý nghĩa).

Đồng thời, khi tiến hành xử lý LSD cho thấy sự khác biệt về hàm lượng polyphenol trích ly được của mẫu xoài so với các mẫu mít, nhãn và chôm chôm là có ý nghĩa thống kê với khoảng tin cậy 95% và là cao nhất.

3.2. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng oxi hóa riêng của polyphenol từ 4 loại hạt trái cây

Kết quả khảo sát hoạt tính kháng oxi hóa riêng của polyphenol từ 4 loại hạt trái cây khảo sát được thể hiện ở Bảng 1.2.

Bảng 1.2. Kết quả hoạt tính kháng oxi hóa riêng của polyphenol trích ly từ 4 loại hạt.

Chỉ tiêu		Loại hạt			
		Mít	Xoài	Nhãn	Chôm chôm
HTR	TB	$0{,}541^{a}$	$17{,}342^{b}$	$10{,}652^{c}$	$0{,}180^{c}$
	SD	0,054	0,175	0,897	0,017

(Các số liệu có kí tự chung thì khác biệt không có ý nghĩa)

Kết quả thu được ở mỗi thí nghiệm là giá trị trung bình của ba lần lặp. Số liệu được xử lý ANOVA để nhận xét sự khác biệt giữa các mẫu hạt. Giá trị P - value cho hoạt tính chống oxy hóa riêng của dịch chiết từ các loại hạt khác nhau cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong khoảng tin cậy 95% giữa các mẫu hạt.

Đồng thời, khi tiến hành xử lý LSD cho thấy: Sự khác biệt về hoạt tính kháng oxi hóa riêng của mẫu xoài so với hoạt tính kháng oxi hóa riêng của mẫu nhãn, mít và chôm chôm là có ý nghĩa thống kê và là cao nhất, cao hơn cả hoạt tính kháng oxi hóa riêng của vitamin C.

4. KẾT LUẬN

Trong 4 loại hạt trái cây xoài, nhãn, mít và chôm chôm của các giống được chọn khảo sát, hàm lượng và hoạt tính kháng oxi hóa riêng của polyphenol trong hạt xoài là cao nhất, kế đến là nhãn. Chôm chôm có hàm lượng polyphenol cao hơn so với mít nhưng lại có hoạt tính kháng oxi hóa thấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Atita Panyathepa, Teera Chewonarina, Khanittha Taneyhillb, Usanee Vinitketkumnuen, 2012. "Antioxidant and anti-matrix metalloproteinases activities of dried longan (Euphoria longana) seed extract". ScienceAsia 39: 12–18.
2. Balasundaram N, Sundaram K and Samman, 2006. "Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence and potential uses". Food Chemistry 99: 191-203.
3. Bondet, V., Brand-Williams, W. and Berset, C, 1997. "Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DDPH free radical method". Leben-smittel-Wissenschaft und – Technologie/Food Science and Technology 30: 609-615.
4. Bradshaw, M.P.; Prenzler, P.D.; Scollary, G.R. J. Agric, 2001. "Ascorbic Acid-Induced Browning of (+)-Catechin In a Model Wine System". Food Chem 49: 934-939.
5. Claudine Manach, Augustin Scalbert, Christine Morand, Christian Rémésy, and Liliana Jime´nez, 2004. "Polyphenols: food sources and bioavailability1,2". American Society for Clinical Nutrition 79: 727–47.
6. Gongming Zheng, Liangxiong Xu, Ping Wu, Haihui Xie, Yueming Jiang, Feng Chen, Xiaoyi Wei, 2009. "Polyphenols from longan seeds and their radical-scavenging activity". Food Chemistry 433-436.
7. Huda-Faujan, N., Noriham, A., Norrakiah, A. S. And Babji, A. S., 2009. "Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds". African Journal of Biotechnology Vol. 8(3), pp. 484-489.
8. Jin Dai and Russell J. Mumper, 2010. Plant Phenolics: "Extraction, analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties". Molecules 15, 7313-7352, ISSN 1420-3049.
9. José Contreras-Calderón, Lilia Calderón-Jaimes, Eduardo Guerra-Hernández, Belén García-Villanova, 2011. "Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia". Food Research International 44: 2047–2053.
10. Kossah, R., Nsabimana, C., Zhang, H., Chen, W., 2010. "Optimization of extraction of polyphenols from Syrian sumac (Rhus coriaria L.) and Chinese sumac (Rhus typhina L.) fruits". Research Journal of Phytochemistry, ISSN 1819-3471.
11. Kriengsak Thaipong, Unaroj Boonprakob, Kevin Crosby, Luis Cisneros-Zevallos, David Hawkins Byrne, 2006. "Comparison of ABTS, DDPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts". Journal of food composition and analysis 19, 669-675.
12. Kun-Nan Chen và Ming-Ju Chen. (2008). "Statistical Optimization: Response Surface Methodology. Optimization in Food Engineering. Optimization in food engineering". CRC Press, 140 – 165.
13. Lapornik B., Prosek M., Golc Wondra A, (2005). "Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvent and extraction time, Journal of polymerization". J. Agric. Food Chem 47, 2719-2723.
14. M.A. Rostagno, M. Palma, C.G. Barroso, (2004). "Pressurized liquid extraction of isoflavones from soybeans". Analytica Chimica Acta 522: 169–177.
15. Molyneux, P., 2004. "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity". Songklanakarin J. Sci. Technol 26(2): 211-219.

16. N. Boussetta, E. Vorobiev, L.H. Le, A. Cordin-Falcimaigne, J.-L. Lanoisellé, 2012. "Application of electrical treatments in alcoholic solvent for polyphenols extraction from grape seeds". Food Science and Technology, 127-134.
17. Ratnam D, Ankola D, Bhardwaj V, Sahana D, Kumar M (2006). "Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective". J. Controlled Release 113: 189-207.
18. Patricia G.S. et al, 2010. "Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable sample". Molecules 15, 8815-8826.
19. Record, I.R., Dreosti, I.E., McInerney, J.K, 2001. "Changes in plasma antioxidant status following consumption of diets high or low in fruit and vegetables or following dietary supplementation with an antioxidant mixture". Br. J. Nutr. 85, 459-464.
20. Rong Tsao, 2010. "Chemistry and biochemistry of dietary polyphenol". Nutrients 2, 1231-1246.
21. Sakakibara, H., Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H., Kanazawa, K, 2003. "Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits and teas, J. Agric". Food Chemistry 51, 571-581.
22. Shi, J., Mazza, H & Maguer, M.L, 2002. Functional Foods: Vol 2: Biochemical and Processing Aspects. Boca Raton: CRC press.
23. Singleton, V. L & Rossi J A Jr, 1965. "Colorunetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents". Amer. J. Enol. Viticult 16:144 – 158.
24. Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. 1999. "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent". Methods Enzymol 299, 152-178.
25. Thomas Game, 2002. "Liquid-liquid extraction and solid – liquid extraction", Electronic, PDF-document.
26. Tsao R., Deng Z, 2004. "Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals". Journal of Chromatography B 812: 85-99.
27. Vitaly Roginsky, Eduardo A. Lissi, 2005. "Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food". Food Chemistry 92, 235-254.
28. Yean-Yean Soong, Philip J Barlow, 2004. "Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds". Food Chemistry 88: 411-417.

ABSTRACT

COMPARISON OF THE TOTAL PHENOLIC CONTENT AND OTHERS ANTIOXIDANT CAPACITY OF 4 FRUIT SEEDS

Le Phan Thuy Hanh[1,*], Tran Quyet Thang[1], Le Trung Thien[2]

[1]*Ho Chi Minh city University of Food Industry*

[2]*Nong Lam University*

[*]Email: *hanhlpt@cntp.edu.vn*

In this study, the total phenolic content and antioxidant capacity of 4 fruit seeds of rambutan (Nephelium lappaceum L), jackfruit (Artocarpus heterophyllus), mango (Mangifera indica) and longan (Dimocarpus longan) were investigated. The fisrt step, a fruit seed that had the highest total phenolic content and antioxidant capacity was selected from these fruit seeds. This study is basis of polyphenolic extracts of fruit seed. The results showed that: The total phenolic content and antioxidant capacity of mango seed is the highest, followed by longan. The total phenolic content of rambutan seed is higher than jackfruit seed's, but its antioxidant capacity is the lowest.

Keywords: Polyphenol, rambutan seed, jackfruit seed, mango seed, longan seed, Cat chu mango seed.