

CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG QUÁ TRÌNH LY TRÍCH CAROTENOID VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA CỦA CAROTENOID TỪ QUẢ LÊ KI MA (*POUTERIA CAMPECHIANA*)

● LÊ QUỐC DUY

TÓM TẮT:

Nghiên cứu nhằm tìm ra quy trình tách chiết carotenoid từ quả lê ki ma và đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của chúng. Hiệu suất thu hồi cao chiết từ bột thịt quả lê ki ma (*Pouteria campechiana*) đạt cao nhất khi chiết với dung môi acetone. Thời gian chiết và tỷ lệ rắn lỏng tối ưu nhất lần lượt là 120 phút và 1/10. Cao chiết từ thịt quả lê ki ma được xác định có sự hiện diện của carotenoid qua thử nghiệm định tính. Bên cạnh đó, cao chiết thu nhận thể hiện hoạt tính thu gom gốc tự do mạnh thông qua thử nghiệm với DPPH.

Từ khóa: cao chiết, carotenoid, lê ki ma, kháng oxy hóa, *Pouteria campechiana*.

1. Đặt vấn đề

Chất màu tự nhiên được ứng dụng rộng rãi trong nhiều ngành công nghiệp, nhất là công nghiệp thực phẩm. Trong số đó, carotenoid là hợp chất màu tự nhiên thường được sử dụng trong ngành công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm [11]. Carotenoid là những hợp chất tetraterpenoid (C40) được tổng hợp từ các isoprene (5C). Cho đến nay, hơn 700 carotenoid được xác định và được tìm thấy trong thực vật, động vật và vi sinh vật [1]. Cây lê ki ma (*Pouteria campechiana*) là một loại cây ăn quả có nguồn gốc từ vùng núi Andes ở Nam Mỹ thuộc họ hồng

xiêm (*Sapotaceae*) [7]. Theo Lazo (1990), trong 100 g bột quả lê ki ma tươi có chứa khoảng 2,3 mg Carotenoid [8]. Hàm lượng carotenoid trong quả lê ki ma tương đối cao và nó là một chất hữu ích, có nhiều ứng dụng trong đời sống hằng ngày. Vì vậy, để tăng hiệu suất ly trích và giá trị sử dụng của các hợp chất carotenoid từ quả lê ki ma, nghiên cứu này thực hiện khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly carotenoid và khảo sát khả năng kháng oxy hóa của dịch trích từ quả lê ki ma.

2. Lược khảo tài liệu

Carotenoid là tiền chất vitamin A, là vi dưỡng

chất quan trọng nhất có tác động nhiều đến sức khỏe con người [9]. Chế độ ăn uống giàu carotenoid có thể chống lại một số bệnh ung thư, bệnh tim mạch, đục thủy tinh thể và tia cực tím có tác hại cho da [4]. Carotenoid là những hợp chất hấp dẫn có thể được chuyển đổi thành nhiều hợp chất khác, bao gồm cả retinoid cũng đóng vai trò quan trọng trong nhiều quá trình [10]. Bên cạnh các hợp chất carotenoid được tìm thấy trong thịt quả của lê ki ma, theo nghiên cứu của Irene (2011), dịch trích đã loại nước của quả lê ki ma còn chứa hàm lượng cao các hợp chất phenolic ($51,1 \pm 14,1$ mg GAE/100g) và flavonoid ($153,2 \pm 3,5$ mg CE/100g) [6]. Các hợp chất carotenoid, phenolic và flavonoid là các hoạt tính sinh học cao như kháng oxy hóa [2, 14] và có khả năng ức chế ức chế enzyme α -glucosidase [12].

Để nâng cao giá trị kinh tế của quả lê ki ma ở địa phương, nghiên cứu được thực hiện nhằm mục đích xây dựng quy trình ly trích, khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly carotenoid và thử hoạt tính kháng oxy hóa của carotenoid trong thịt quả lê ki ma.

3. Phương pháp nghiên cứu

3.1. Vật liệu

Mẫu trái lê ki ma được thu mua tại huyện Bình Phú, tỉnh Trà Vinh. Mẫu lê ki ma thu thập được loại bỏ phần vỏ, hạt và tách thu lấy phần thịt quả. Phần thịt quả được tiến hành sấy khô chân không ở 50°C trong 48 giờ. Sau đó, mẫu được nghiền nhuyễn và lọc qua rây với kích thước lỗ lọc 0,5 mm, thu nhận phần bột thịt quả lê ki ma. Phần bột thịt quả tiếp tục được sấy chân không ở 50°C trong 48 giờ. Thành phẩm bột lê ki ma được bảo quản trong túi zip.

3.2. Phương pháp

3.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của dung môi đến hiệu suất thu hồi cao chiết thịt quả lê ki ma [3]

Cân 200 mg mẫu bột lê ki ma được cân vào các ống COD, sau đó thêm từ từ 2 mL các dung môi khảo sát (acetone, chloroform, dichloromethane, ethyl acetate và n-hexane) vào các ống. Mẫu được ly trích bằng phương pháp khuấy từ kết hợp tán

sóng siêu âm (90 phút/30 phút). Mẫu sau trích ly được lọc qua một lớp bông thấm nước để loại đi phần cặn mẫu. Phần dung môi chứa chất trích ly được tiến hành loại dung môi bằng cách sấy. Sau khi dung môi được loại đi hoàn toàn, tiến hành cân trọng lượng cao khô thu được. Dung môi cho hàm lượng cao khô thu nhận cao nhất được sử dụng cho thí nghiệm tiếp theo. Hiệu suất trích ly được tính toán theo công thức:

$$H(\%) = (\text{Trọng lượng cao chiết} / \text{Trọng lượng mẫu}) * 100$$

Định tính carotenoid trong mẫu cao chiết thu được. Hòa tan 5 mg cao chiết với 3 mL acetonitrile bằng cách tán sóng siêu âm trong thời gian 3 phút. Thêm từ từ H_2SO_4 vào mẫu, nếu xuất hiện màu xanh lá, chứng tỏ có sự hiện diện của carotenoid trong mẫu.

3.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian ly trích đến hiệu suất thu hồi cao chiết thịt quả lê ki ma [13]

Thí nghiệm được thực hiện tương tự như mô tả ở mục 3.2.1, với dung môi tối ưu được chọn và 5 thời gian trích ly mẫu khảo sát (15, 30, 60, 120 và 240 phút).

3.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ rắn lỏng đến hiệu suất thu hồi cao chiết thịt quả lê ki ma [13]

Cân 200 mg mẫu bột lê ki ma được cân vào các ống COD, sau đó thêm từ từ dung môi tối ưu vào các ống với thể tích gồm 0,5 mL, 1 mL, 2 mL, 4 mL và 8 mL. Tỷ lệ mẫu/dung môi khảo sát tương ứng là 1/2.5, 1/5, 1/10, 1/20 và 1/40. Mẫu được trích ly bằng phương pháp khuấy từ kết hợp tán sóng siêu âm (90 phút/30 phút). Mẫu sau trích ly được lọc qua một lớp bông thấm nước để loại đi phần cặn mẫu. Phần dung môi chứa chất trích ly được tiến hành loại dung môi bằng cách sấy. Sau khi dung môi được loại đi hoàn toàn, tiến hành cân trọng lượng cao khô thu được.

3.2.4. Khảo sát kháng gốc tự do DPPH của cao chiết thịt quả lê ki ma thu được

Khả năng thu gom DPPH của cao chiết bột thịt quả lê ki ma được thực hiện với cao thô thu nhận từ thí nghiệm tốt nhất của các thí nghiệm trên. Mẫu cao chiết thu nhận được pha thành dãy nồng độ 0,

20, 40, 60, 80 và 100 ppm với methanol. Các mẫu cao chiết pha loãng (9.9 mL) được trộn đều với 0.1 mL DPPH 8 mM. Các ống mẫu khảo sát được đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 515 nm. Ống gồm methanol và DPPH (ống nồng độ 0 ppm) được sử dụng làm mẫu blank. Ascobic acid trong methanol được sử dụng làm đối chứng cho thí nghiệm này với các nồng độ 0, 1, 2, 3, 4 và 5 ppm.

4. Kết quả và thảo luận

4.1. Ảnh hưởng của dung môi ly trích đến hiệu suất thu hồi cao chiết thịt quả lê ki ma

Kết quả khảo sát cho thấy, 5 loại dung môi khảo sát đều có khả năng chiết xuất carotenoid từ bột thịt quả lê ki ma. Trong đó, dung môi acetone cho hiệu suất thu hồi cao chiết cao nhất (6,45%) và dung môi n-hexane cho kết quả hiệu suất ly trích thấp nhất (2,72%), khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với các dung môi còn lại. Với 2 dung môi chloroform và dichloromethane có hiệu suất trích cao khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nhau. Kết quả chi tiết được thể hiện ở Hình 1.

4.2. Ảnh hưởng của thời gian ly trích đến hiệu suất thu hồi cao chiết thịt quả lê ki ma

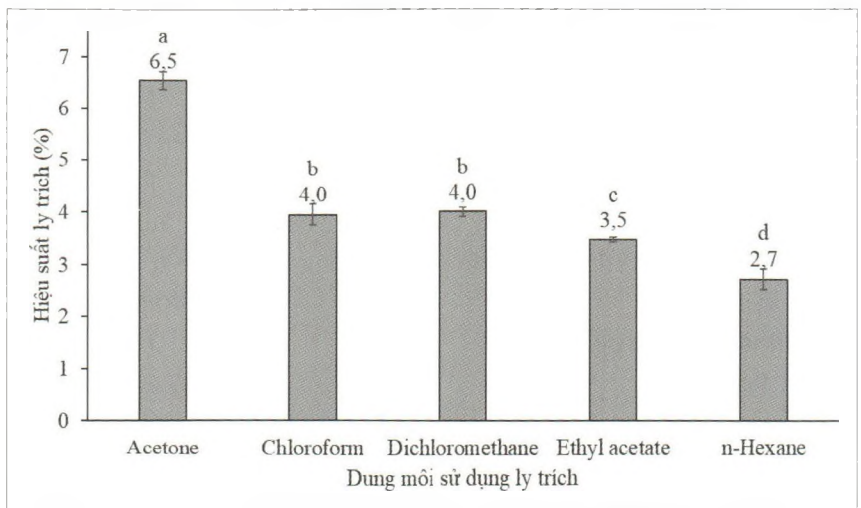
Từ kết quả trên, dung môi acetone được sử dụng cho thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất thu hồi cao chiết thịt quả lê ki ma. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hiệu suất ly trích cao từ bột thịt quả lêki ma tỷ lệ thuận với thời gian ly trích. Hiệu suất ly trích dao động từ 2,72 - 6,54%. Trong đó, nghiệm thức ly trích mẫu ở thời gian 120 phút có

hiệu suất cao nhất với khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với tất cả nghiệm thức còn lại (Hình 2). Tuy nhiên, lượng cao thu nhận ở nghiệm thức 240 phút thấp hơn so với nghiệm thức ly trích với thời gian 120 phút, khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê. Điều này cho thấy, thời gian ly trích quá dài có thể tác động làm phân hủy carotenoid trong mẫu.

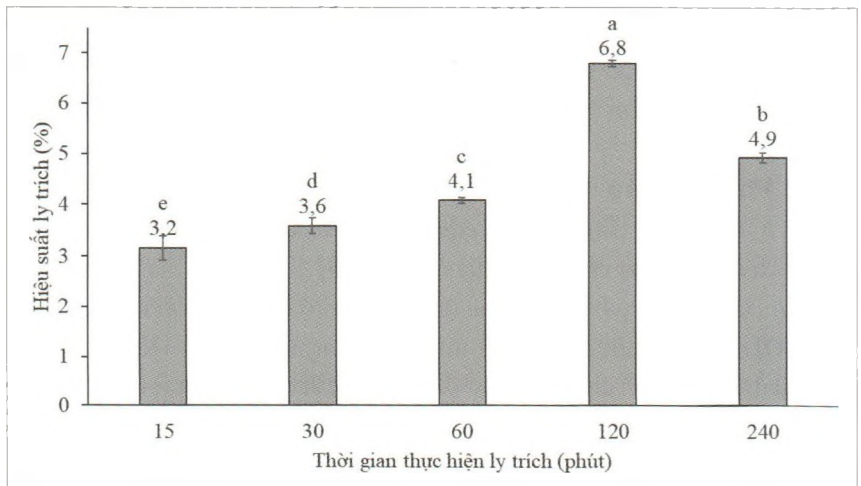
4.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ rắn lỏng đến hiệu suất thu hồi cao chiết thịt quả lê ki ma

Dung môi acetone được sử dụng để ly trích cao chiết thịt quả lê ki ma trong 120 phút cho thí nghiệm này. Kết quả thử nghiệm cho thấy, hiệu

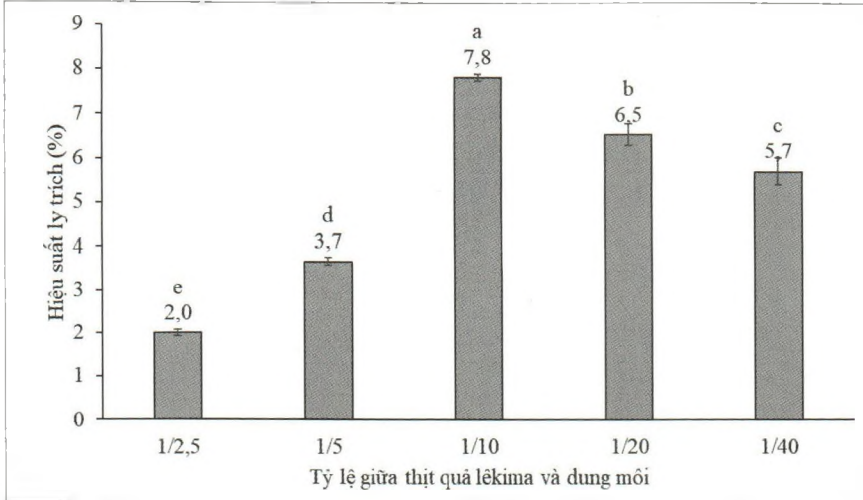
Hình 1: Ảnh hưởng của dung môi đến hiệu suất thu hồi cao chiết thịt quả lêki ma



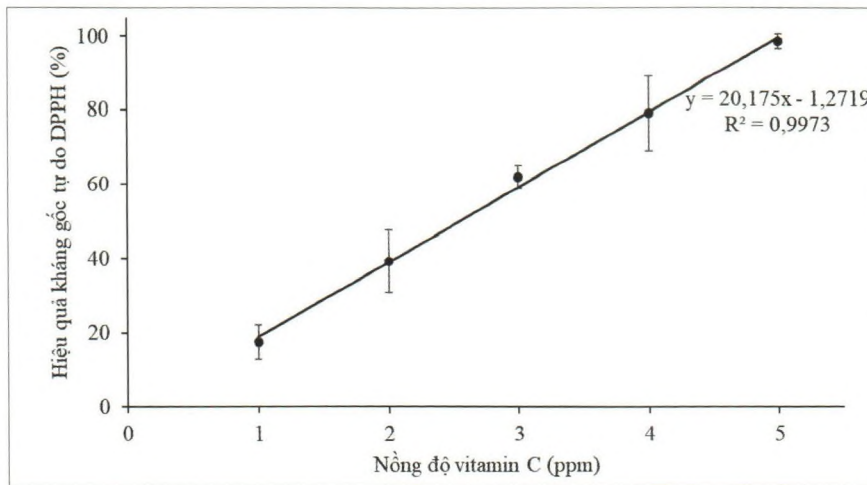
Hình 2: Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu suất thu hồi cao chiết thịt quả lê ki ma



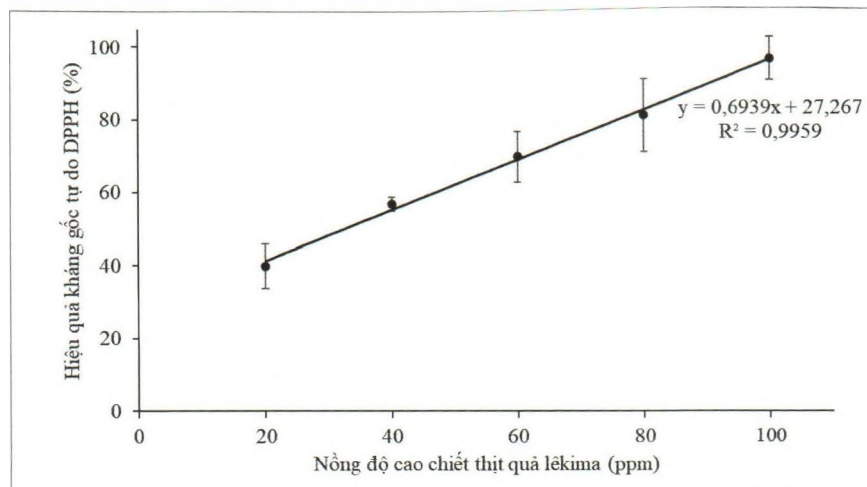
Hình 3: Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi và nguyên liệu đến hiệu suất thu hồi cao chiết thịt quả lê ki ma



Hình 4: Đường chuẩn khả năng kháng gốc tự do DPPH của Vitamin C



Hình 5: Khả năng kháng gốc tự do của cao chiết thịt quả lê ki ma



suất thu hồi cao chiết tăng theo lượng dung môi trích ly ở các nghiệm thức với tỷ lệ rắn lỏng từ 1/2.5-1/10. Nghiệm thức ly trích với tỷ lệ rắn lỏng 1/10 cho hiệu suất thu hồi cao nhất (7,81%), khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Mặt khác, lượng cao khô thu được giảm đi ở nghiệm thức ly trích với tỷ lệ rắn lỏng 1/20 và 1/40. Lượng dung môi sử dụng với tỷ lệ cao sẽ kéo dài thời gian loại dung môi, dẫn đến lượng cao chiết thu nhận có thể bị phân hủy. (Hình 3)

4.4. Khả năng thu kháng gốc tự do của cao chiết thịt quả lê ki ma

Cao acetone chiết xuất từ thịt quả lê ki ma thể hiện hoạt tính thu gom gốc tự do mạnh qua thử nghiệm DPPH. Giá trị IC_{50} của cao chiết thu nhận từ thịt quả lê ki ma ($IC_{50} = 32.76$ ppm) thấp hơn 12,9 lần so với ascorbic acid ($IC_{50} = 2.54$ ppm) (Hình 4 & 5). Thử nghiệm định tính cho thấy sự hiện diện của carotenoid trong cao chiết thu được.

Gómez-Maqueo et al. (2020) đã báo cáo về sự đa dạng của carotenoid trong thịt quả lê ki ma *Pouteria lucuma* nòi Molina và Beltran [5]. Bột thịt quả lê ki ma chứa 33 hợp chất, trong đó gồm có 9 xanthophyll tự do, 9 hydrocarbon carotene và 15

ester xanthophyll. (13Z)-violaxanthin, (all-E)-violaxanthin và (all-E)-antheraxanthin là các dạng carotenoid phổ biến trong thịt quả lê ki ma và các ester xanthophyll xuất hiện tự nhiên gồm: (all-E)-antheraxanthin 3-O-palmitate, (all-E)-violaxanthin laurate và (all-E)-violaxanthin palmitate. (Hình 4, Hình 5)

5. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc sử dụng dung môi acetone để thực hiện ly trích cao chiết thịt quả lê ki ma trong trong 2 giờ với tỷ lệ thịt quả và dung môi 1/10 cho hiệu suất thu hồi cao nhất. Cao chiết thịt quả cho khả năng kháng gốc tự do DPPH với IC_{50} là 32,76 ppm ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Britton, G., S. Liaaen Jensen and H. Pfander. (2004). *Carotenoids handbook*. Sweden: Birkhäuser Basel.
2. Cai, Y.Z., Q. Luo, M. Sun, H. Corke. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci.* 74(17), 2157-2184.
3. Dubois, M., Gilles, K, A, Hamilton, J K, Rebers, P, A & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal Chem*, 26, 350-356.
4. Giovannucci, E. (1999). Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: Review of the epidemiologic literature. *Journal of the National Cancer Institute*, 91, 317-331.
5. Gómez-Maqueo, A., Bandino, E., Hormaza, J.I., and Cano, M.P. (2020). Characterization and the impact of in vitro simulated digestion on the stability and bioaccessibility of carotenoids and their esters in two *Pouteria lucuma* varieties. *Food Chem.*, 316, 126369.
6. Irene D. (2011). Flavonoid glycosidase from *Pouteria obovata* (R. Br.) fruit flour. *Food chemistry*, 124, 884-888.
7. Izquierdo, J. and R. William. (1998). Under-Utilized Andean Food Crops: Status and Prospects of plant Biotechnology for The Conservation and Sustainable Agricultural Use of Genetic Resources. *Acta Hort.*, 457, 157-172.
8. Lazo. W.. (1990). Antimicrobial action of some plants of medicinal use in Chile, *Boletín Micológico*, 5(1-2), 25-28.
9. Mactier, H., and L. T. Weaver. (2005). Vitamin A and preterm infants: What we know, what we dont know and what we need to know. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*, 90, 103-108.
10. Meléndez-Martínez, A.J. (2019). An Overview of Carotenoids, Apocarotenoids, and Vitamin A in Agro-Food, Nutrition, Health, and Disease. *Mol Nutr Food Res.*, 63(15), e1801045.
11. Nguyễn Thị Thanh Thủy và Nguyễn Thị Hiên. (2016). Chiết tách và khảo sát độ bền của chất màu crocin từ quả dành dành. *Tạp chí Khoa học - Học viện Nông nghiệp Việt Nam*, 14(12), 1978-1985.
12. Ranilla, L.G, Y.I. Kwon, E. Apostolidis, K. Shetty. (2010). Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresour. Technol.*, 101(12), 4676- 4689.
13. Rodriguez-Amaza, D, B. (2001). *A Guide To Carotenoid Analysis In Food*. International Life Sciences.Institute. One Thomas Circle, N.W, Washington, D. C.
14. Suhaj. M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity. *J. Food Comp. Anal.*, 19, 531-537.

Ngày nhận bài: 8/5/2022

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 23/5/2022

Ngày chấp nhận đăng bài: 11/6/2022

Thông tin tác giả:

LÊ QUỐC DUY

Trường Đại học Trà Vinh

**FACTORS IMPACTING THE EXTRACTION
PROCESS OF CAROTENOIDS FROM LUCUMA
(*POUTERIA CAMPECHIANA*)
AND ITS ANTIOXIDANT ACTIVITY**

● **LE QUOC DUY**

Tra Vinh University

ABSTRACT:

This study is to find out the extraction process of carotenoids from lucuma (*Pouteria campechiana*) and evaluate its antioxidant activity. The study's results show that the yield of extracts from lucuma pulps is the highest when using acetone solvent. The optimal extraction time and the sample-solvent ratio are 120 minutes and 1/10, respectively. The qualitative test shows that the extract from lucuma pulps has the presence of carotenoids. In addition, the DPPH test show that the obtained extract exhibits a strong free radical scavenging activity

Keywords: extraction, carotenoids, lucuma, antioxidant, *Pouteria campechiana*.