

BỘ Y TẾ
VIỆN DINH DƯỠNG
----o0o----

Báo cáo nghiệm thu đề tài nghiên cứu cấp Viện

**ÁP DỤNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG CAO ÁP XÁC ĐỊNH
MỘT SỐ CAROTENOIDS QUAN TRỌNG TRONG THỰC PHẨM**

Cấp quản lý: Cấp cơ sở

Chủ nhiệm đề tài: Ths. Lê Hồng Dũng

Nơi thực hiện: Khoa Hóa - ATVSTP

Thời gian thực hiện: 9/2003 đến 9/2004

Hà Nội, tháng 12 - 2004

ÁP DỤNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG CAO ÁP XÁC ĐỊNH MỘT SỐ CAROTENOIDS QUAN TRỌNG TRONG THỰC PHẨM

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Carotenoid là một nhóm các sắc tố được tổng hợp trong thực vật và một số loại vi sinh vật. Các carotenoid được chia thành hai nhóm chính: các carotenoid nhóm hydrocarbon (carotene) và các carotenoid chứa oxy (còn gọi là oxocarotenoid hay xanthophyll). Các xanthophyll có nhóm hydroxyl (-OH) có thể kết hợp với acid béo thành carotenol ester [1]. Tới nay đã có hơn 700 loại carotenoid được biết đến trong tự nhiên, trong đó khoảng 40 loại thường có mặt trong chế độ ăn và khoảng 20 loại là có một lượng đáng kể trong huyết thanh và mô của cơ thể người. Trong số đó, 6 loại carotenoid chính có mặt trong huyết tương và mô là α -carotene, β -carotene, lycopene (các carotenoid nhóm hydrocarbon), β -cryptoxanthin, lutein và zeaxanthin (các carotenoid nhóm xanthophyll) [2]. Trong cơ thể người, các carotenoid đóng nhiều vai trò quan trọng. Ngoài hoạt tính tiền vitamin A, nhiều nghiên cứu đã cho thấy các carotenoid có khả năng tăng cường hệ thống miễn dịch và làm giảm nguy cơ mắc các bệnh hiểm nghèo như ung thư, bệnh tim mạch, thoái hóa võng mạc do tuổi tác và bệnh cườm [3,4,5,...12]. Những tác dụng sinh học này của carotenoid độc lập với hoạt tính tiền vitamin A và là do đặc tính chống oxy hóa của các carotenoid, thông qua tác dụng làm mất hoạt tính các gốc tự do và dọn dẹp oxy nguyên tử [13, 14, 15]. Vai trò tích cực của các carotenoid trong chế độ ăn đối với sức khỏe con người đã và đang là mối quan tâm của nhiều nhà khoa học, vì vậy đòi hỏi phải có số liệu thành phần của từng loại carotenoid.

Hiện nay, các phương pháp phân tích carotenoid trong thực phẩm đang được phát triển, bao gồm sắc ký lớp mỏng và sắc ký lỏng cao áp, để thay thế hoặc bổ sung cho phương pháp phân tích cổ điển (sắc ký cột mở - OCC) [16]. Để định tính và đánh giá cấu trúc carotenoid, các phương pháp phổ biến là quang phổ UV-VIS, phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) và khối phổ [17,18,19]. Ngoài ra, phương pháp xác định bằng điện hóa (ECD) cũng là một công cụ rất hữu ích, thay thế cho phương pháp HPLC (UV-VIS) thông thường, trong những trường hợp đòi hỏi độ nhạy cao (cỡ 10^{-15}) đối với cỡ mẫu nhỏ hoặc phân tích lượng vết. Phương pháp đo quang phổ tử ngoại-khả kiến (UV-VIS) thường được dùng để ước lượng tổng số carotenoids, tuy nhiên, phương pháp sắc ký lỏng cao áp (pha thường và pha ngược, C18 và C30) được dùng phổ biến nhất để xác định từng carotenoid riêng biệt.

Tuy hiện nay chưa có một phương pháp chuẩn để xác định tất cả các carotenoid trong thực phẩm nhưng phương pháp của Hart và Scott [22], trên thiết bị sắc ký lỏng cao áp được sử dụng rộng rãi trong nhiều nghiên cứu thành phần các carotenoid cũng như trong một số thử nghiệm liên phòng [28].

2. MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

- 2.1. Áp dụng phương pháp sắc ký lỏng cao áp và khảo sát các điều kiện phân tích các carotenoid.
- 2.2. Xác định hàm lượng α -carotene, β -carotene, lycopene, lutein, zeaxanthin trong một số rau quả giàu carotenoid.

3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Hóa chất, thuốc thử

Tất cả các loại hóa chất sử dụng đều thuộc loại hóa chất tinh khiết phân tích. Methanol, ethanol, acetonitrile, petroleum ether, kali hydroxyt, natri sulfate khan của hãng Merck (Đức), n-hexane của hãng Prolabo (Pháp), dichlormethane từ hãng BHD (Anh). Các chất chuẩn β -carotene, α -carotene, lutein, zeaxanthin, lycopene được mua từ hãng Sigma (Mỹ).

3.2. Hệ thống sắc ký lỏng

Hai hệ thống sắc ký lỏng được sử dụng trong nghiên cứu này là hệ thống sắc ký ion với các detector UV-VIS 2487, huỳnh quang 2475, bơm mẫu bằng tay và hệ thống sắc ký axit amin với các detector PDA 2996, huỳnh quang 2475 và bộ bơm mẫu tự động của hãng Water (Mỹ). Cột sắc ký sử dụng là Symmetry C18 (150mm x 4.6mm x 5 μ m) và Symmetry Shield RP18 (150mm x 4.6mm x 5 μ m) của hãng Water. Thành phần pha động gồm acetonitrile : methanol (chứa 50mM ammonium acetate) : dichlormethane với tỷ lệ tương ứng là 75:15:10 (v/v/v). Tốc độ dòng là 1 ml/phút và nhiệt độ cột là 40°C. Các carotenoid được định lượng ở bước sóng 450nm đối với lutein, zeaxanthin, α -carotene, β -carotene và ở 476nm đối với lycopene.

3.3. Chuẩn bị dung dịch chuẩn

Lutein, α -carotene, β -carotene được hòa tan trong chloroform và thêm hexane (tỷ lệ 1:9) đến vạch định mức. Zeaxanthin và lycopene được hòa tan trong chloroform. Trừ lycopene, tất cả các dung dịch chuẩn được bảo quản trong lọ kín sẫm màu ở -20°C. Để tránh sự phân hủy, lycopene được chia vào các lọ nhỏ mỗi lọ 1ml, thổi khô bằng nitơ và đóng kín, bảo quản ở -20°C. Khi dùng, hòa tan lại bằng chloroform. Trước khi đo lại độ hấp thụ, các lọ chuẩn được để ở nhiệt độ phòng và một lượng dung dịch của mỗi chất được thổi khô bằng nitơ và hòa tan lại bằng dung môi thích hợp rồi đo trên máy quang phổ hấp thụ Specord 40 có bộ phận quét bước sóng. Nồng độ của các dung dịch chuẩn được tính toán lại dựa vào các hệ số hấp thụ riêng, thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Hệ số hấp thụ riêng của các carotenoid

	Dung môi	λ (nm)	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$	$E_{1\text{cm}}^{\text{mM}}$	Phân tử lượng
Lutein	Ethanol	445	2550	145.1	569
Zeaxanthin	Hexane	451	2480	141.1	569
Lycopene	Hexane	472	3450	185.3	537
α -carotene	Hexane	444	2800	150.3	537
β -carotene	Hexane	450	2560	137.4	537

Các dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ từ 0.01 μ g/ml được pha từ dung dịch gốc bằng cách thổi khô bằng nitơ và pha loãng bằng pha động. Hỗn hợp chuẩn các carotenoid được chuẩn bị trong pha động từ các chuẩn đơn carotenoid.

3.4. Chuẩn bị mẫu rau, quả

Các mẫu rau gồm rau muống, rau ngót, cà chua, cà rốt, ớt vàng và các mẫu quả là cam, quýt, mận, đu đủ và dưa hấu được rửa sạch, lấy phần ăn được và xay đều bằng máy xay mẫu ướt. Mẫu đồng nhất được bảo quản trong các lọ polyethylene ở -20⁰C đến khi phân tích.

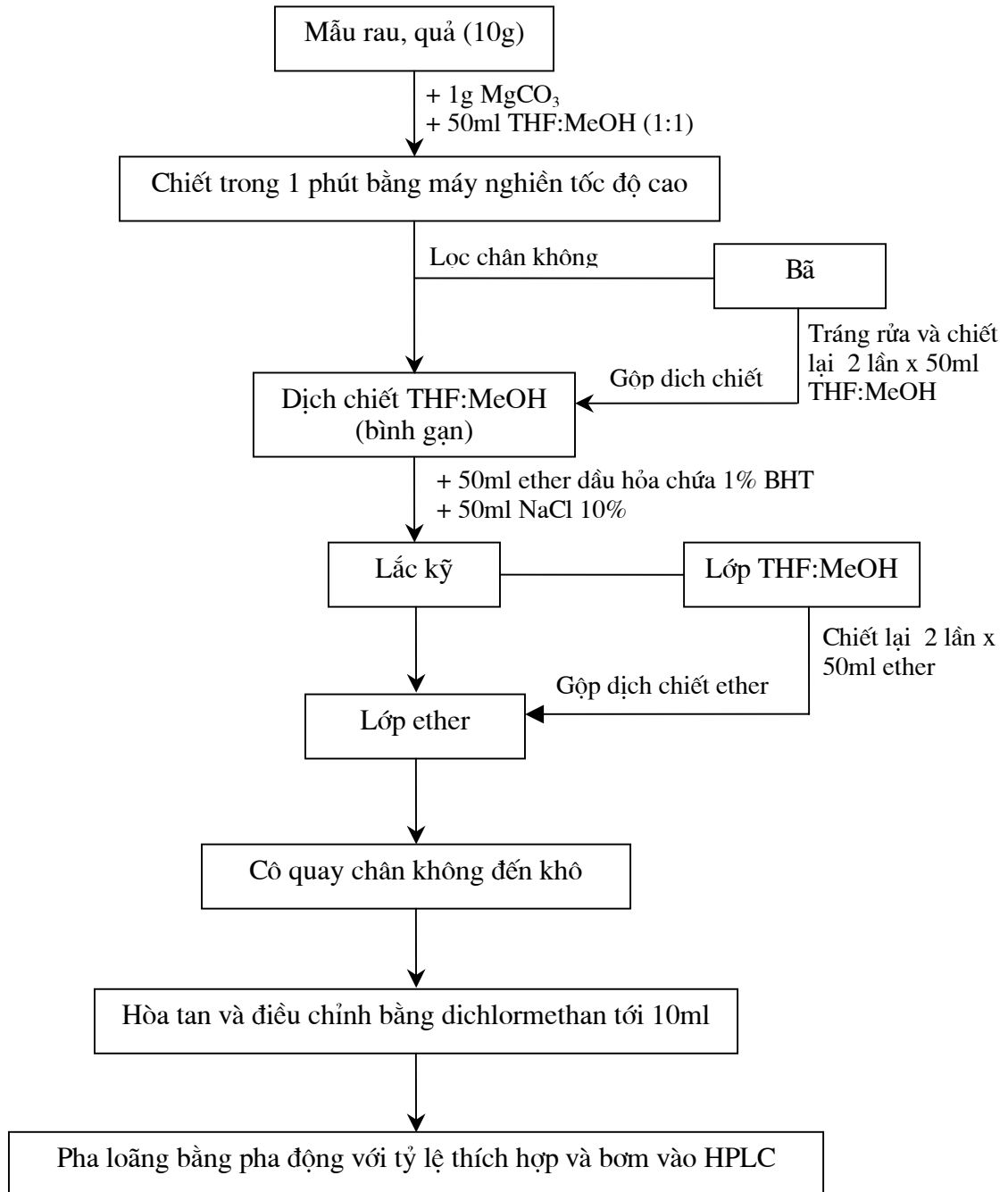
3.5. Phương pháp chiết xuất carotenoid

Hai phương pháp chiết xuất carotenoid đã được áp dụng là phương pháp của Hart và Scott (22) và phương pháp tiêu chuẩn theo AOAC (24). Phương pháp chiết xuất và định lượng các carotenoid theo Hart và Scott được tóm tắt như hình 1. Phương pháp chiết xuất và phân tích theo phương pháp tiêu chuẩn của AOAC được tóm tắt như hình 2. Nhiều nghiên cứu trước đây (29) đã khuyến cáo không nên dùng phương pháp thủy phân khi phân tích carotenoid để tránh sự phân hủy hoặc thay đổi cấu trúc các carotenoid. Trong đề tài này, để so sánh sự khác nhau trước và sau giai đoạn thủy phân, các mẫu quả và mẫu ớt được thủy phân theo phương pháp của Hart và Scott để xác định các carotenoid nhóm xanthophyll, như hình 3.

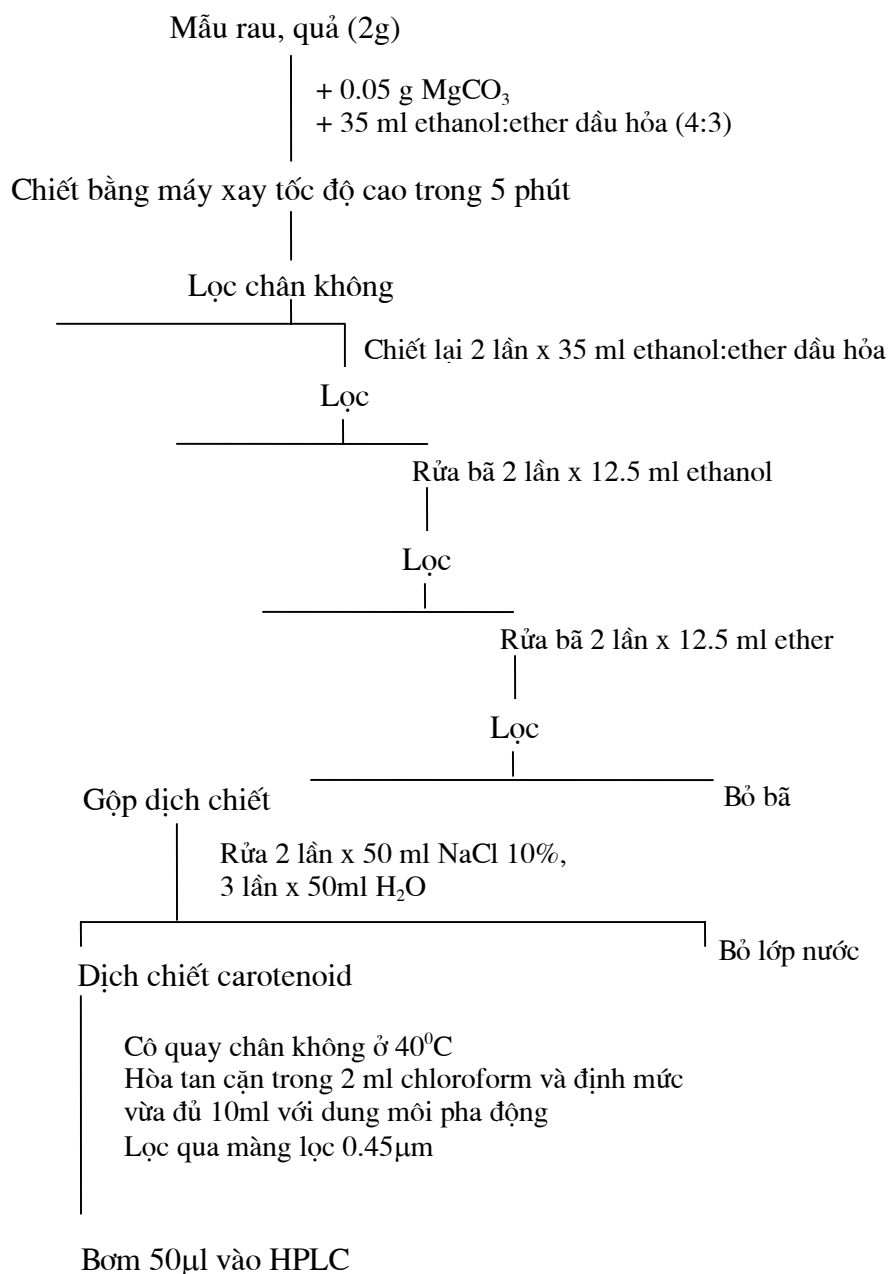
3.6. Phương pháp định tính và định lượng các carotenoid

Sau khi chiết xuất, các mẫu dịch chiết được phân tích trên các hệ thống sắc ký lỏng với detector PDA và UV-VIS. Các carotenoid được xác định bằng cách so sánh thời gian lưu với các chất chuẩn tương ứng, đồng thời dựa vào các phổ tử ngoại 3 chiều của các chất trên detector PDA. Hàm lượng từng loại carotenoid được tính toán dựa vào diện tích peak và đường chuẩn tương ứng.

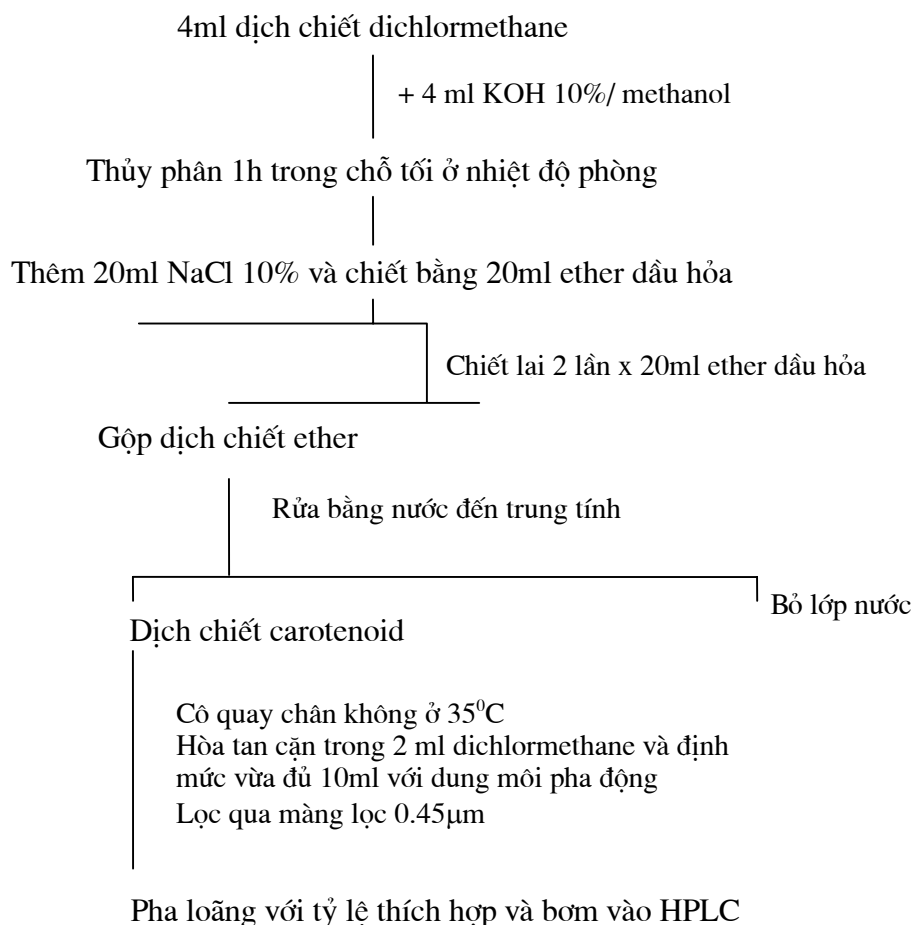
Hình 1: Quy trình chiết xuất carotenoids theo phương pháp của Hart và Scott



Hình 2: Quy trình chiết xuất carotenoid theo AOAC



Hình 3. Giai đoạn thủy phân dịch chiết (đối với các mẫu quả và ớt)



3.7. Tính toán kết quả

Hàm lượng các carotenoids trong rau, quả được tính toán theo công thức sau:

$$X (\mu\text{g}/100\text{g}) = \frac{A_{\text{mẫu}} \times C_{\text{std}} \times D}{A_{\text{std}} \times m} \times 100$$

trong đó: $A_{\text{mẫu}}$ là diện tích peak của từng carotenoid trên sắc đồ phân tích
 A_{std} là diện tích peak của chuẩn carotenoid trên sắc đồ mẫu chuẩn
 C_{std} là nồng độ chuẩn carotenoid
 D là hệ số pha loãng
 m là lượng mẫu cân khi chiết xuất

4. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

4.1. Khảo sát các điều kiện phân tích

4.1.1. Các điều kiện chiết xuất carotenoid

Hai phương pháp chiết xuất carotenoid đã được áp dụng đối với các mẫu rau, quả. Cả phương pháp của Hart và Scott (hình 1) và phương pháp theo AOAC (hình 2) đều có khả năng chiết hoàn toàn các carotenoid sau 3 lần chiết xuất bằng các hỗn hợp dung môi tương ứng. Việc thêm MgCO_3 giúp cho dung môi chiết xuất thấm sâu vào mẫu và hòa tan carotenoid. Tuy nhiên, do độc tính cao của dung môi tetrahydrofuran nên phương pháp chiết xuất theo AOAC, sử dụng

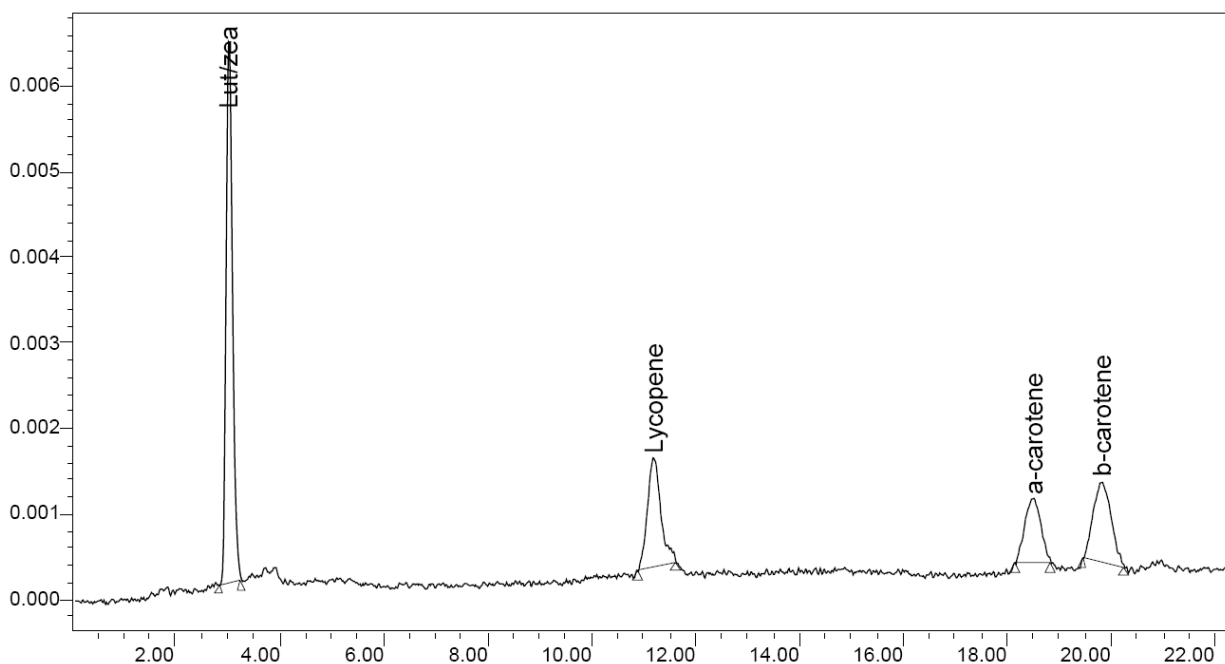
hỗn hợp ethanol:ether dầu hỏa được chọn áp dụng để phân tích đối với các mẫu rau và quả.

4.1.2. Khảo sát các điều kiện phân tích trên sắc ký lỏng

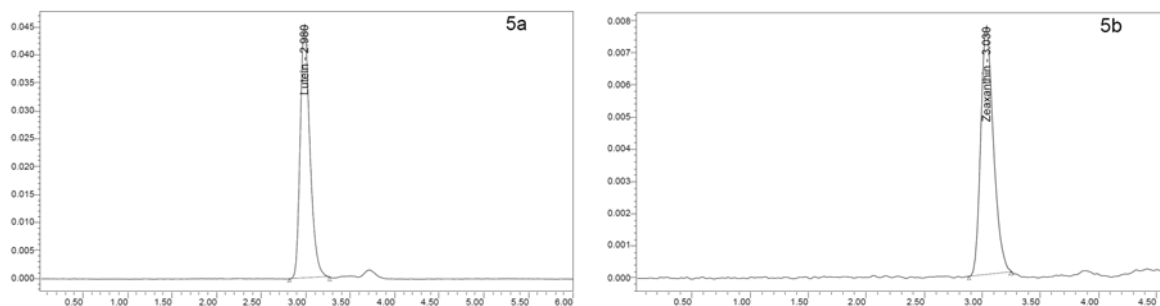
Nhiều loại pha động đã được sử dụng để khảo sát khả năng tách các carotenoid như methanol:THF (50:50); methanol:THF (95:5); acetonitrile:methanol (chứa 50mM ammonium acetate):dichlormethane:H₂O (70:15:10:5); nhưng kết quả khảo sát đã cho thấy pha động acetonitrile:methanol (chứa 50mM ammonium acetate):dichlormethane (75:20:5) (theo Hart và Scott) có khả năng tách tốt nhất đối với các carotenoid trên các cột sắc ký hiện có, nhất là khả năng tách tốt α -carotene, β -carotene và đồng phân 9-cis β -carotene.

Hai loại cột là Symmetry C18 và Symmetry Shield RP-18 đã được dùng để khảo sát khả năng tách các carotenoid. Kết quả cho thấy cột Symmetry C18 có khả năng tách tốt hơn và cho các peak ít bị doãng hơn. Tuy nhiên, các loại cột này đều không tách được lutein ra khỏi zeaxanthin (hình 4 và 5). Đây là hai carotenoid nhóm xanthophyll có cấu trúc khá giống nhau. Điều này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây trên các cột monome C18 và sử dụng một pha động tương tự là acetonitrile:methanol:dichlormethane (70:20:10) [1]. Để tách tốt các carotenoid có cấu trúc giống nhau như trên cũng như các đồng phân, hiện nay trên thế giới thường sử dụng loại cột polyme C18 (chẳng hạn cột Vydac 201TP54 [22]) hoặc loại cột tốt nhất hiện nay là cột polyme C30 [1].

Hình 4. Sắc đồ hỗn hợp chuẩn carotenoids: Lutein/zeaxanthin (3.008), lycopene (11.171), α -carotene (18.488) và β -carotene (19.801). Pha động: acetonitrile:methanol (chứa 50mM ammonium acetate):dichlormethane (75:20:5). Tốc độ dòng 1ml/phút, UV 450nm.



Hình 5. Sắc đồ chuẩn lutein (5a), $t_R=2.980$ và zeaxanthin (5b), $t_R=3.009$. Pha động: acetonitrile:methanol (chứa 50mM ammonium acetate):dichlormethane (75:20:5). Tốc độ dòng 1ml/phút, UV 450nm.



Ảnh hưởng của nhiệt độ đối với quá trình phân tích cũng được khảo sát. Ở nhiệt độ 25-30⁰C, sự phân giải các peak được cải thiện một phần, tuy nhiên không đáng kể trên loại cột sắc ký hiện có. Mặt khác, theo các nghiên cứu trước đây [1], đối với cột C18 thông thường phải hạ nhiệt độ buồng cột xuống dưới nhiệt độ phòng (chẳng hạn 13⁰C) mới có khả năng tách lutein và zeaxanthin khỏi nhau. Tuy nhiên điều này là khó áp dụng đối với các hệ thống sắc ký hiện có. Tại 40⁰C, độ phân giải giữa α -carotene và β -carotene là tương đương so với tại 25⁰C. Do đó nhiệt độ buồng cột trong phân tích các carotenoid được chọn là 40⁰C nhằm rút ngắn thời gian phân tích.

4.2. Đánh giá phương pháp phân tích

4.2.1. Khoảng tuyến tính

Khoảng tuyến tính của phương pháp phân tích là khoảng nồng độ của từng carotenoid cho phép tính toán kết quả dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính $y = ax + b$ (trong đó y là diện tích hoặc chiều cao pic, x là nồng độ carotenoid). Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của từng carotenoid được thể hiện ở bảng 2.

4.2.2. Độ thu hồi và độ lặp lại của phương pháp

Các chuẩn carotenoid được nạp vào mẫu cà rốt và độ thu hồi trung bình được tính toán thể hiện ở bảng 2. Do lutein và zeaxanthin chưa tách được khỏi nhau trong phương pháp sắc ký lỏng đã khảo sát nên nghiên cứu này chưa đánh giá được độ thu hồi của 2 carotenoid này. Các chuẩn lycopene, α -carotene và β -carotene được nạp vào mẫu cà rốt với nồng độ tương ứng là 0.235 $\mu\text{g/ml}$, 0.317 $\mu\text{g/ml}$ và 0.634 $\mu\text{g/ml}$. Kết quả độ thu hồi là giá trị trung bình của 3 phép phân tích song song ($n=3$).

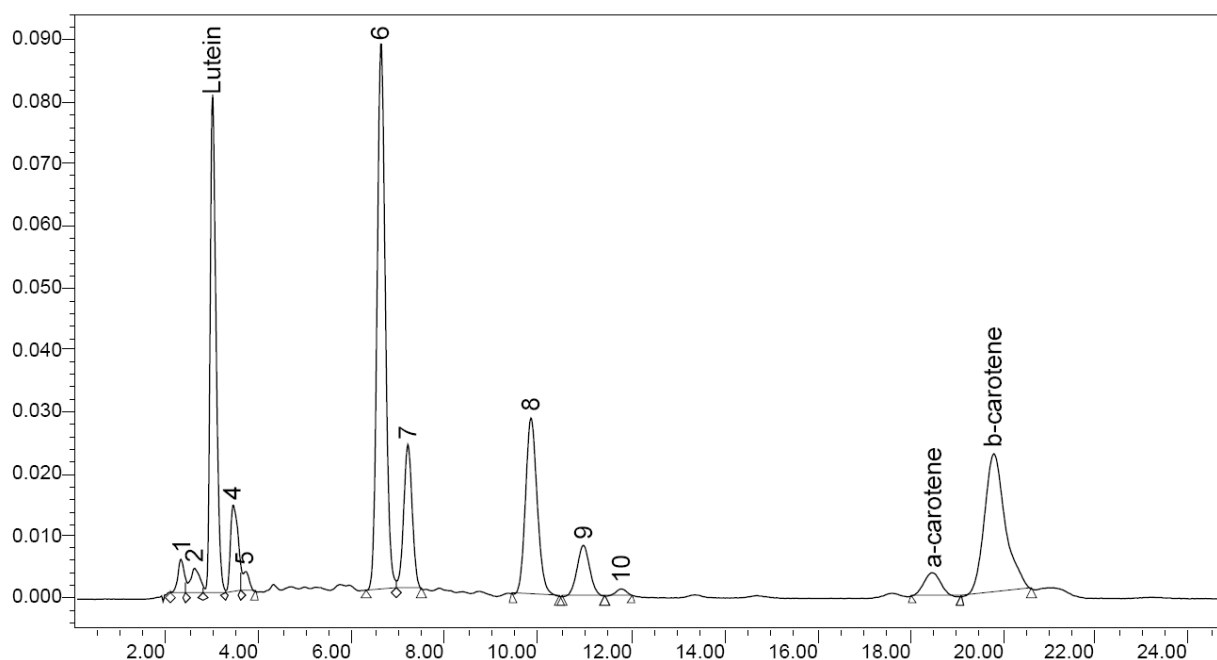
Bảng 2. Kết quả khảo sát giới hạn phát hiện, khoảng tuyến tính, độ lặp lại và độ thu hồi đối với các carotenoid.

	Lutein	Zeaxanthin	Lycopene	α -carotene	β -carotene
Giới hạn phát hiện ($\mu\text{g/ml}$)	0.005	0.005	0.016	0.007	0.01
Khoảng tuyến tính ($\mu\text{g/ml}$), $r=0.995-0.999$	0.02-3.0	0.02-3.0	0.03-2.0	0.02-3.5	0.02-4.0
Độ thu hồi (%), $n=3$			81.2 (0.235 $\mu\text{g/ml}$)	89.5 (0.317 $\mu\text{g/ml}$)	91.3 (0.634 $\mu\text{g/ml}$)
Độ lặp lại (%CV), $n=5$			7.8	6.8	5.7

4.3. Kết quả phân tích trên các mẫu rau, quả

Bảng 3 thể hiện hàm lượng trung bình các carotenoid trong mẫu trước giai đoạn thủy phân ($n=6$). Trong 10 loại rau, quả đã phân tích, hàm lượng lutein cao nhất ở rau ngót, lycopene có nhiều nhất ở cà chua và dưa hấu, α -carotene có nhiều nhất trong cà rốt và ớt vàng, và β -carotene có hàm lượng cao nhất trong rau ngót và cà rốt.

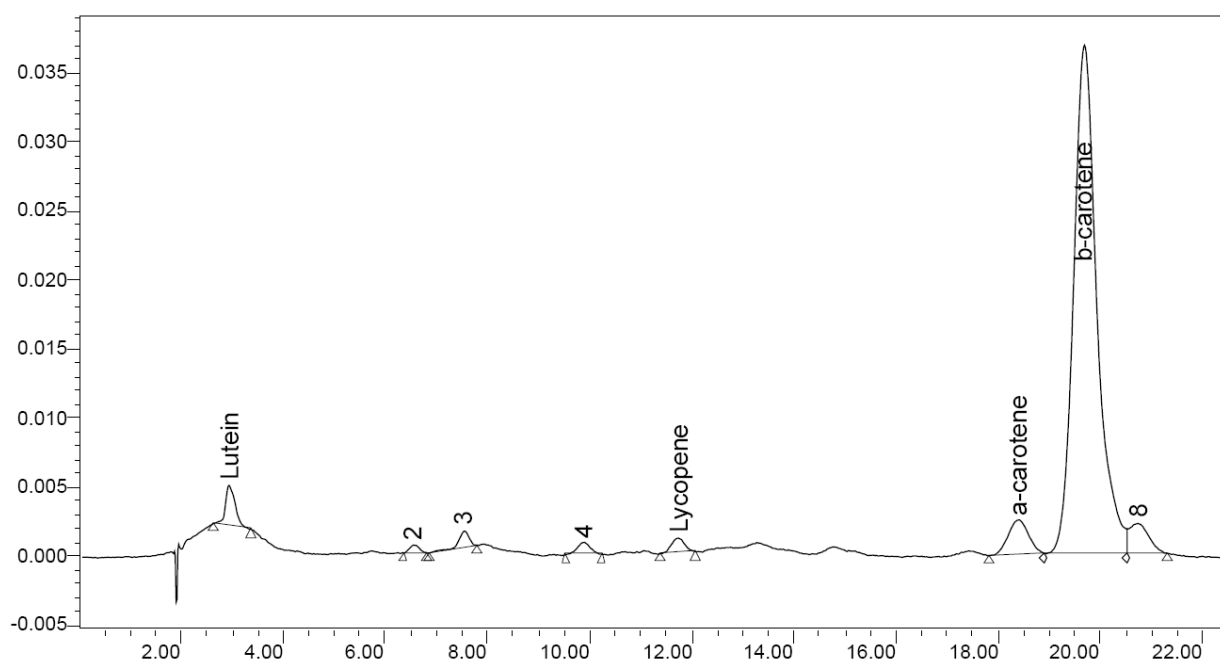
Hình 6. Sắc đồ các carotenoid trong mẫu rau ngót. Pha động: acetonitrile:methanol (chứa 50mM ammonium acetate):dichlormethane (75:20:5). Tốc độ dòng 1ml/phút, UV 450nm.



Bảng 3. Hàm lượng trung bình (n=6) các carotenoid trong rau và quả trước khi thủy phân ($\mu\text{g}/100\text{g}$ mẫu tươi)

	Lutein	Lycopene	α -carotene	β -carotene
Rau muống	867.9			1531.0
Rau ngót	5419.3		572.9	6810.1
Cà chua	27.4	2750.0		647.8
Cà rốt	93.8		3036.0	6597.1
Ớt vàng	120.5		3270.6	3606.7
Đu đủ	4.0	9.5	48.1	265.2
Dưa hấu	13.0	2000.5		402.7
Cam			12.0	29.1
Quýt			21.4	43.0
Mận	39.2		62.8	1633.1

Hình 7. Sắc đồ các carotenoid trong mẫu mận. Pha động: acetonitrile:methanol (chứa 50mM ammonium acetate):dichlormethane (75:20:5). Tốc độ dòng 1ml/phút, UV 450nm.



Trong các loại quả, các xanthophyll như lutein và zeaxanthin ở dạng ester với acid béo (carotenol ester). Thủy phân là một cách hiệu quả để loại bỏ các chlorophyll và các chất béo không mong muốn do các chất này có thể ảnh hưởng đến quá trình phân tích và làm giảm tuổi thọ cột sắc ký lỏng [1]. Việc thủy phân các carotenol ester sẽ đơn giản hóa quá trình phân tách, định tính và định lượng các carotenoid do các ester khó tách khỏi nhau hơn và khó tách khỏi các chất béo trong mẫu. Trong nghiên cứu này, quá trình thủy phân cũng được rút ngắn (trong 1 giờ) để hạn chế sự phân hủy các carotenoid. Hàm lượng các carotenoid trong ớt vàng và 5 loại quả được thể hiện trong bảng 4. So sánh hàm lượng các carotenoid trong các mẫu này khi thủy phân và không thủy phân (bảng 5) thấy

rằng hàm lượng lutein tăng lên như ở dưa hấu và mận. So sánh diện tích peak lutein/zeaxanthin ở các mẫu ớt vàng, đu đủ, cam và quýt cũng thấy đáp ứng cao hơn hẳn so với các mẫu không được thủy phân tương ứng (hình 7,8). Điều đó cho thấy để định lượng một số xanthophyll như lutein và zeaxanthin cần thiết phải thực hiện giai đoạn thủy phân, đồng thời các điều kiện thủy phân cần được khảo sát thêm nhằm đạt được độ thu hồi cao nhất. Tuy nhiên do lutein và zeaxanthin bị lẫn vào nhau nên việc định lượng không thực hiện được ở các loại quả có chứa cả hai loại carotenoid này. Trong khi đó hàm lượng các carotenoid nhóm hydrocarbon như lycopene, α -carotene, và β -carotene lại giảm đi. Mặc dù số lượng mẫu thủy phân được khảo sát chưa nhiều nhưng có thể thấy quá trình thủy phân đồng thời có thể làm phân hủy các carotenoid nhóm này do chúng rất dễ bị oxy hóa dưới tác động của môi trường kiềm, ánh sáng và không khí. Đặc biệt hàm lượng lycopene giảm tới gần 60% ở mẫu dưa hấu sau khi thủy phân. So sánh với một số nghiên cứu trước đây như của Hart và Scott thấy rằng hàm lượng hầu hết các carotenoid đều tăng lên sau giai đoạn thủy phân. Điều đó cho thấy quá trình phân tích cũng như giai đoạn thủy phân cần được tiến hành trong điều kiện nghiêm ngặt như sục khí nitơ vào mẫu, thêm các chất chống oxy hóa để hạn chế sự phân hủy các carotenoid.

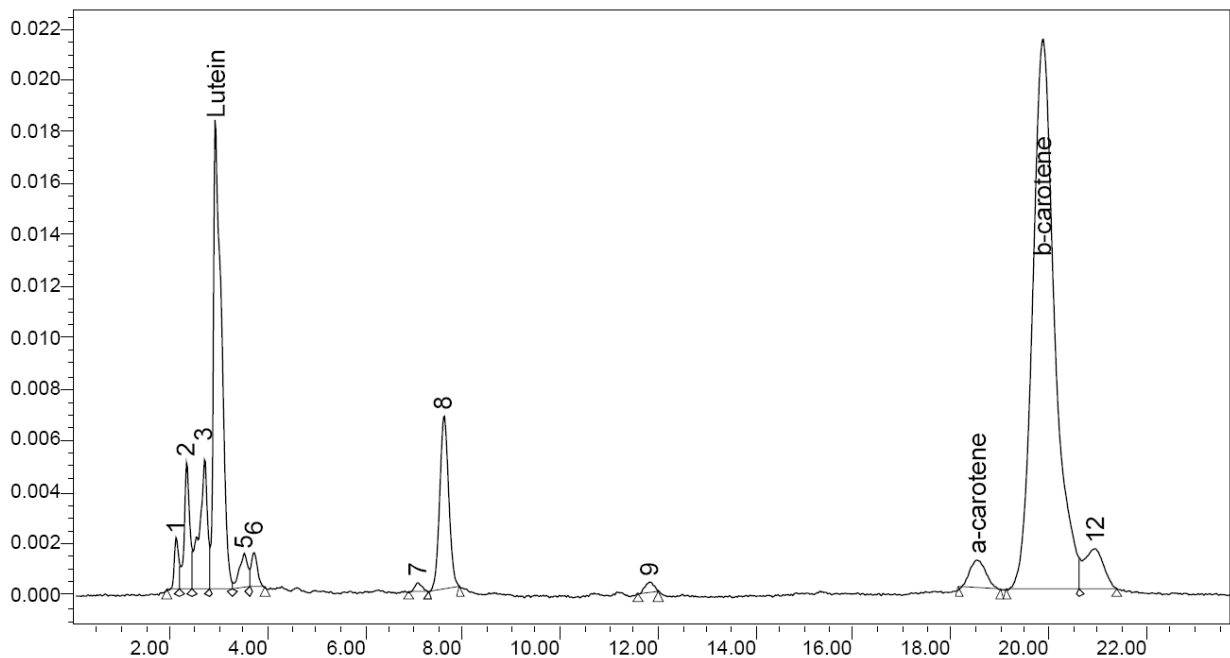
Bảng 4. Hàm lượng trung bình (n=6) các carotenoid trong rau và quả sau khi thủy phân ($\mu\text{g}/100\text{g}$ mẫu tươi)

	Lutein	Lycopene	α -carotene	β -carotene
Ớt vàng			2804.6	3219.8
Đu đủ		6.9		209.2
Dưa hấu	27.6	463.0		322.7
Cam			15.5	30.4
Quýt			12.9	30.3
Mận	327.1		35.3	1403.9

Bảng 5. So sánh hàm lượng carotenoid trong ớt và các loại quả trước và sau khi thủy phân ($\mu\text{g}/100\text{g}$ mẫu tươi)

	Lutein		Lycopene		α -carotene		β -carotene	
	Trước TP	Sau TP	Trước TP	Sau TP	Trước TP	Sau TP	Trước TP	Sau TP
Ớt vàng					3270.6	2804.6	3606.7	3219.8
Đu đủ					48.1	0	265.2	209.2
Dưa hấu	13.0	27.6	2000.5	687.5			402.7	322.7
Cam					12.0	15.5	29.1	30.4
Quýt					21.4	12.9	43.0	30.3
Mận	39.2	327.1			62.8	35.3	1633.1	1403.9

Hình 8. Sắc đồ các carotenoid trong mẫu mận sau khi thủy phân. Pha động: acetonitrile:methanol (chứa 50mM ammonium acetate):dichlormethane (75:20:5). Tốc độ dòng 1ml/phút, UV 450nm.



5. KẾT LUẬN

5.1. Kết quả nghiên cứu đã lựa chọn được các điều kiện phân tích phù hợp để định lượng các carotenoid trong rau, quả như sau:

- Quy trình chiết carotenoid sử dụng hỗn hợp ethanol/petroleum ether theo AOAC 43.014 (1984).
- Cột sắc ký: Symmetry C18 hoặc Symmetry Shield RP18 150mm x 4,6mm.
- Pha động: Acetonitrile:Methanol (chứa 50mM ammonium acetate): Dichlormethane (75:20:5)
- Tốc độ dòng: 1ml/ phút; nhiệt độ buồng cột là 40°C
- Detector: UV tại 476nm đối với lycopene, và tại 450nm đối với các carotenoid còn lại, hoặc detector PDA tại 450nm.
- o Để định lượng các carotenoid nhóm hydrocarbon (lycopene, α -carotene, β -carotene) có thể dùng các cột sắc ký pha ngược (C18) thông thường và không áp dụng giai đoạn thủy phân.
- o Để tách định lượng các xanthophyll như lutein, zeaxanthin cần sử dụng các loại cột tách đặc hiệu hơn như các loại cột polyme C18 và C30 và cần thiết phải thủy phân mẫu để chuyển carotenol ester thành dạng tự do.

5.2. Hàm lượng các carotenoid trong rau, quả

Hàm lượng các carotenoid chính trong một số rau, quả đã được xác định như sau:

- Lutein có nhiều trong các loại rau như rau ngót (5419,3 $\mu\text{g}\%$), rau muống (867,9 $\mu\text{g}\%$), có ít hơn trong một số loại quả như mận (327,1 $\mu\text{g}\%$) và dưa hấu (27,6 $\mu\text{g}\%$).
- Lycopene có nhiều nhất trong cà chua (2750,0 $\mu\text{g}\%$) và dưa hấu (2000,5 $\mu\text{g}\%$).
- α -carotene có hàm lượng cao nhất trong ớt vàng (3270,6 $\mu\text{g}\%$), cà rốt (3036,0 $\mu\text{g}\%$) và rau ngót (572,9 $\mu\text{g}\%$).
- β -carotene có nhiều trong rau như cà rốt (6597,1 $\mu\text{g}\%$), rau ngót (6810,1 $\mu\text{g}\%$), ớt vàng (3606,7 $\mu\text{g}\%$), rau muống (1531,0 $\mu\text{g}\%$) và cà chua (647,8 $\mu\text{g}\%$), có ít hơn trong quả như mận (1633,1 $\mu\text{g}\%$) và dưa hấu (402,7 $\mu\text{g}\%$).

Các kết quả phân tích sẽ được tập hợp và theo dõi đánh giá trong các nghiên cứu tiếp theo nhằm xây dựng thành cơ sở dữ liệu để cập nhật vào bảng thành phần thực phẩm Việt Nam.

6. KHUYẾN NGHỊ

Để xây dựng một cơ sở dữ liệu các carotenoid trong thực phẩm Việt Nam, cần thiết phải mở rộng nghiên cứu này trên nhiều đối tượng rau, quả và các thực phẩm thông dụng. Bên cạnh cập nhật số liệu và phát triển Bảng thành phần dinh dưỡng thực phẩm, cơ sở dữ liệu này sẽ đáp ứng nhu cầu sử dụng của người tiêu dùng và các nhà khoa học dinh dưỡng.

Hà Nội, ngày tháng năm 2004

CƠ QUAN CHỦ QUẢN
(Ký tên và đóng dấu)

ĐƠN VỊ CHỦ TRÌ

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Della B. Rodriguez-Amaya (2001). A guide to carotenoid analysis in foods. ILSI Press. International Life Sciences Institute. One Thomas Circle, N.W. Washington, D.C. ISBN 1-57881-072-8.
2. Dale A. Cooper, PhD., Alison L. Eldridge, PhD., R.D., and John C. Peter, PhD. (1999). Dietary carotenoids and lung cancer: A review of recent research. *Nutrition Review*, Vol. 57, No. 5 (1): 133-145.
3. Mathews-Roth, M.M. (1995). Carotenoid and cancer prevention – experiment and epidemiological studies. *Pure Appl. Chem.* 57:717-722.
4. Mathews-Roth, M.M. (1991). Recent progress in the medical applications of carotenoids. *Pure Appl. Chem.* 63:147-156.
5. Bendich, A. and J.A. Olson (1989). Biological actions of carotenoids. *FASEB J.* 3:1927-1932.
6. Bendich, A. (1990). “Carotenoids and immune system”. In *Carotenoids: Chemistry and Biology*. Eds. N.I. Krinsky, M.M. Mathew-Roth and R.F. Taylor. New York: Plenum Press, 323-335.
7. Bendich, A. (1994). Recent advances in clinical research involving carotenoids. *Pure Appl. Chem.* 66:1017-1024.
8. Krinsky, N.I. (1990). “Carotenoids in medicine”. In *Carotenoids: Chemistry and Biology*. Eds. N.I. Krinsky, M.M. Mathew-Roth and R.F. Taylor. New York: Plenum Press, 279-291.
9. Krinsky, N.I. (1994). The biological properties of carotenoids. *Pure Appl. Chem.* 66:1003-1010.
10. Ziegler, R.G. (1991). Vegetables, fruits, and carotenoids and the risk of cancer. *Am. J. Clin. Nutr.* 53: 251S-259S
11. Gerster, H. (1991). Potential role of beta-carotene in the prevention of cardiovascular disease. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* 61:277-291.
12. Byer, T. and G. Perry (1992). Dietary carotene, vitamin C, and vitamin E as protectives antioxidants in human cancers. *Ann. Rev. Nutr.* 12:139-159.
13. Burton, G.W. (1989). Antioxidants action of carotenoids. *J. Nutr.* 119:109-111.
14. Krinsky, N.I. (1989). Antioxidant function of carotenoids. *Free Radical Biol. Med.* 7:617-635.
15. Palozza, P. and N.I. Krinsky (1992). Antioxidant effects of carotenoids *in vivo* and *in vitro*: An overview. *Methods Enzymol.* 213:403-420.
16. Teodor Hodisan, Carmen Socaciu, Ioana Ropan, Gavril Neamtu (1997). Carotenoid composition of *Rosa canina* fruits determined by thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography. *J. Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 16: 521-528.
17. G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander (Eds.) (1995). *Carotenoids*, Vol. 1A-1B, Birkhauser Verlag, Basel.
18. G. Britton (1983). *The Biochemistry of Natural Pigments*. Cambridge University Press, Cambridge.
19. H. Pfander (1987). *Key to carotenoids*, 2nd ed., Birkhauser Verlag, Basel.
20. A.M. Pupin, M.J. Dennis, M.C.F. Toledo (199). HPLC analysis of carotenoids in orange juice. *Food Chemistry* 64:269-275.
21. Abdulnabi A. Abushita, Emhemed A. Hebshi, Hussein G. Daood & Pöter A. Biacs (1997). Determination of antioxidant vitamins in tomatoes. *Food Chemistry* Vol. 60, No. 2:207-212.

22. David J. Hart & K. John Scott (1995). Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chemistry* 54:101-111.
23. Anocha Kajadphai Taungbodhitham, Gwyn P. Jones, Mark L. Wahlqvist & David R. Briggs (1998). Evaluation of extraction method for the analysis of carotenoids in fruits and vegetables. *Food Chemistry* Vol. 63, No. 4:577-584.
24. Association of Official Analytical Chemists (1984). Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists. Section 43.014-43.017: Carotenes in Fresh Plant Materials and Silages, Spectrophotometric Method, Final Action, 14th edn. The Association of Official Analytical Chemist, Inc., Arlington, VA.
25. Ami Ben-Amotz & Rachel Fishler (1998). Analysis of carotenoids with emphasis on 9-cis beta-carotene in vegetables and fruits commonly consumed in Israel. *Food Chemistry* Vol. 62, No. 4: 515-520.
26. Pongtorn Sungpuag, Sommai Tangchitpianvit, Uraiporn Chittchang, Emorn Wasantwisut (1999). Retinol and beta-carotene content of indigenous raw and home-prepared foods in Northeast Thailand. *Food Chemistry* 64:163-167.
27. Tee E-Siong, God Ah-Heng & Khor Swan-Choo (1995). Carotenoid composition and content of legumes, tubers and starchy roots by HPLC. *Mal. J. Nutr.* 1: 63-74.
28. K. John Scott, Paul M. Finglas, Rob Seale, David J. Hart & Isabelle de Froidmont-Gortz (1996). Interlaboratory studies of HPLC procedures for the analysis of carotenoids in foods. *Food Chemistry* Vol. 57, No. 1: 85-90.
29. U.S. Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service, 2001. *USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 14* Web version.