



## SÀNG LỌC THỰC VẬT CÓ HOẠT TÍNH CHỐNG OXI HÓA VÀ ỨNG DỤNG TRONG CHẾ BIẾN THỦY SẢN

Nguyễn Xuân Duy<sup>1</sup> và Nguyễn Anh Tuấn

<sup>1</sup> Khoa Công nghệ Thực phẩm, Đại học Nha Trang

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 23/07/2013

Ngày chấp nhận: 30/10/2013

### Title:

Screening of plants with antioxidant activity and application in fishery processing

### Từ khóa:

Biến đen, hoạt tính chống oxy hóa, lá ổi, oxy hóa chất béo, thực vật

### Keywords:

Melanosis formation, antioxidant activity, guava leaf, lipid oxidation, plants

### ABSTRACT

Antioxidant activity of extracts from fifteen plant species and a straw mushroom species in Vietnam were investigated to choose the plant with high antioxidant activity. Based on the screening, the antioxidant activity and the polyphenoloxidase inhibitory activity of the selective extract in oil-in-water model were evaluated. Afterward, the extracts were applied for melanosis formation prevention in shrimp and lipid oxidation in fish muscle. Research results indicated that all of selected plants had antioxidant activity. Guava leaf extract (GLE) exhibited the highest antioxidant activity based on DPPH free radical scavenging ability with an  $IC_{50}$  of 22  $\mu$ l. The GLE also showed retardation of hydroperoxides in oil-in-water model and polyphenoloxidase inhibition. Results revealed that the GLE delayed effectively melanosis formation and lipid oxidation in shrimp and lipid oxidation in mackerel fish muscle during refrigerated storage ( $p < 0.05$ ). Findings in this study showed potential of using antioxidant-containing and antimelanosis-containing plant extracts in fishery processing yield.

### TÓM TẮT

Hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết từ 15 loại thực vật và một loại nấm rơm ở Việt Nam được xác định nhằm chọn được loại thực vật có hoạt tính chống oxy hóa cao. Sau khi lựa chọn được loại thực vật thích hợp, hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết trên mô hình dầu - nước và khả năng ức chế polyphenoloxidase của dịch chiết được đánh giá. Sau cùng, dịch chiết được áp dụng để ngăn chặn sự biến đen ở tôm và oxy hóa chất béo trong cơ thịt cá. Kết quả nghiên cứu cho thấy tất cả các loại thực vật được tuyển chọn đều có hoạt tính chống oxy hóa. Dịch chiết từ lá ổi (GLE) có hoạt tính chống oxy hóa cao nhất dựa vào khả năng khử gốc tự do DPPH với giá trị  $IC_{50}$  là 22  $\mu$ l. GLE cũng thể hiện khả năng ức chế sự hình thành hydroperoxides trên mô hình dầu - nước và khả năng ức chế polyphenoloxidase. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra rằng GLE có khả năng hạn chế hiệu quả sự hình thành đốm đen và oxy hóa chất béo trong tôm và oxy hóa chất béo trên cơ thịt cá Thu bảo quản lạnh ( $p < 0,05$ ). Nghiên cứu này chỉ ra tiềm năng sử dụng dịch chiết thực vật chứa các chất chống oxy hóa và chất chống biến đen trong lĩnh vực chế biến thủy sản.

## 1 GIỚI THIỆU

Việt Nam nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới có hệ thực vật rất phong phú và đa dạng. Thực vật là nguồn cung cấp nhiều hợp chất quý giá có giá trị trong dược học và thực phẩm (Suganya *et al.*, 2007; Hui-Yin *et al.*, 2007; Mustafa *et al.*, 2010). Đặc biệt, thực vật là nguồn cung cấp dồi dào các hợp chất có hoạt tính chống oxi hóa như các hợp chất polyphenol, flavonoid, caroten, ascorbic acid,...

Trong nhiều năm qua, tôm và các sản phẩm từ tôm luôn chiếm một tỷ trọng lớn nhất trong cơ cấu các mặt hàng thủy sản xuất khẩu của Việt Nam. Trong năm 2010, xuất khẩu tôm của Việt Nam đem về hơn 2,1 tỉ USD, năm 2011 là 2,4 tỉ USD và năm 2012 là 2,25 tỉ USD. Dự báo trong những năm tiếp theo, tôm vẫn chiếm giữ vị trí dẫn đầu trong cơ cấu các mặt hàng xuất khẩu thủy sản của đất nước (VASEP, 2013). Theo sau tôm, cá là mặt hàng chủ lực xếp thứ hai trong cơ cấu xuất khẩu thủy sản của nước nhà trong nhiều năm. Biến đen ở tôm và oxi hóa chất béo là hai trong những vấn đề nghiêm trọng làm giảm giá trị cảm quan, dinh dưỡng và giá trị kinh tế của nguyên liệu sau thu hoạch. Nhiều nỗ lực đã được các nhà chế biến, các nhà nghiên cứu thực hiện nhằm hạn chế các tác hại tiêu cực của hai vấn đề trên. Đối với vấn đề biến đen, các nỗ lực chủ yếu được thực hiện bằng việc sử dụng hóa chất metabisulfite để hạn chế sự biến đen ở tôm (Hardisson *et al.*, 2002). Tuy nhiên, hóa chất này ngày càng bị giới hạn sử dụng trong bảo quản thủy sản theo các luật định (Botterweck *et al.*, 2000). Trong khi đó, các giải pháp nhằm hạn chế sự oxi hóa chất béo đối với thịt cá vẫn còn nhiều hạn chế. Biến đen ở tôm là một trong những nguyên nhân làm giảm thời hạn sử dụng cũng như giá trị thương mại của tôm (Martinez-Alvarez *et al.*, 2005). Tương tự như vậy, oxi hóa chất béo cũng gây ra những vấn đề nghiêm trọng làm giảm giá trị cảm quan và dinh dưỡng đối với sản phẩm thủy sản (Ladikos và Lougovois, 1990).

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng dịch chiết từ lá trà xanh có tác dụng hạn chế sự hình thành biến đen ở tôm (Nirmal và Benjakul, 2009a, b; 2010a, b; 2011) và sự oxi hóa chất béo của thịt cá (Tang *et al.* 2001). Nalan và Pinar (2008) cũng đã báo cáo sử dụng dịch chiết từ hạt nho có thể hạn chế sự biến đen ở tôm. Angel *et al.* (2011) đã thành công trong việc sử dụng dịch chiết từ nấm ăn để hạn chế sự hình thành đốm đen trong tôm Kuruma.

Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là: (1) sàng lọc một số loại thực vật có hoạt tính chống oxi

hóa để chọn được loại thực vật có hoạt tính chống oxi hóa cao; (2) thử nghiệm áp dụng dịch chiết thu được trong việc hạn chế biến đen và oxi hóa chất béo trong tôm và oxi hóa chất béo thịt cá trong quá trình bảo quản lạnh.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Nguyên vật liệu

15 loại lá thực vật khác nhau được tuyển chọn để tiến hành chiết và xác định hoạt tính chống oxi hóa dựa vào khả năng khử gốc tự do DPPH của chúng bao gồm: Lá Ôi (*Psidium guajava*), lá Dâm bụt (*Hibiscus rosa-sinensis*), lá Lót (*Piper lolot*), lá Nhân lồng (*Passiflora foetida*), lá Khoai lang (*Lpomoea batatas*). Tất cả nguyên liệu này được thu mẫu tại Đồi La Sang, trường Đại học Nha Trang trong tháng 6/2011. Ngò ri (*Coriandrum satinum*), rau Bò ngót (*Sauropus androgynus*), rau Răm (*Persicaria odorata*), Nha đam (*Aloe vera*), lá Tía tô (*Perilla frutescens*), lá Sả (*Cymbopogon*), lá Mã đề (*Plantago*), lá Diếp cá (*Houttuynia cordata*), lá rau má (*Centella asiatica*), lá trầu không (*Piper betle*). Ngoài ra, Nấm rom tươi (*Volvariella volvacea*) cũng được nghiên cứu. Tất cả nguyên liệu được phơi khô để đạt độ ẩm khoảng 10%, được nghiền thành bột bằng máy nghiền (Super Blender, MX - T2GN, Matsushita Electric Industrial Co., Ltd, Japan), bao gói trong các túi PA hút chân không và bảo quản ở - 66°C.

Tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) loại cỡ tôm 116-120 con/kg. Cá thu ngàng (*Acanthocybium solandri*), loại có chất lượng tốt nhất, cỡ 4-4,5 kg/con. Tất cả nguyên liệu trên được mua tại chợ Vĩnh Hải, TP. Nha Trang, Khánh Hòa.

### 2.2 Hóa chất

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA), cumene hydroperoxides mua từ Sigma Aldrich (USA). A xít trichloroacetic (TCA), Thiobarbituric (TBA), 1,1,3,3-tetraethoxipropane (TEP), BHA, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaOH, BaCl<sub>2</sub>, FeSO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>SCN, Tween 40, Chloroform, methanol, Ethanol đạt hạng phân tích của Merck (Đức), enzyme Tyrosinase của hãng Worthington, Biochemical Corporation (NJ, USA) chứa 836 U/mg DW tương đương với 100.000 đơn vị hoạt độ.

### 2.3 Phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1 Chuẩn bị dịch chiết lá Ôi

Với mục đích sử dụng dịch chiết trong chế biến thực phẩm, đảm bảo an toàn và chi phí thấp nên nước được sử dụng làm dung môi chiết với tỉ lệ

nguyên liệu/dung môi là 1/15 (w/v), nhiệt độ và thời gian chiết lần lượt là 90°C và 30 phút (Dương Thị Kim Nguyên và *ctv.*, 2012). Quá trình chiết được thực hiện trong bể ổn nhiệt (Elma, S 300H, Elmasonic, Germany). Dịch lọc trong thu được sau quá trình ly tâm ở 4°C, tốc độ 5000 rpm trong 15 phút (Centrifuge, Labentech, Mega 17R, Germany), được sử dụng để tiến hành các phân tích.

### 2.3.2 Xử lý ngâm tôm và thịt cá bằng dịch chiết lá Ôi

Tôm được giết chết đồng loạt bằng cách xóc nhiệt trong nước đá lạnh với tỷ lệ đá:nước:tôm là 1:1:1, cho đến khi tôm chết hoàn toàn. Tiếp theo, tôm được xử lý ngâm trong dung dịch chiết lá ôi (GTE) với tỷ lệ tôm so với dịch chiết là 1:2 (w/v) trong 15 phút. Sau đó, tôm được vớt ra, để ráo trong 2 phút trước khi cho vào các đĩa xốp, dùng màng co PE bao bọc bên ngoài và tiến hành bảo quản ở 2°C trong tủ lạnh. Mẫu đối chứng không xử lý ngâm trong GTE mà thay bằng nước cất cũng được chuẩn bị trong cùng điều kiện như trên.

Cá thu nguyên con được cắt thành từng khúc với độ dày khoảng 3 cm (khối lượng 151± 29,5 g/miếng). Sau đó, các miếng cá được cắt làm bốn phần bằng nhau, da, gân và cơ thịt đỏ được loại bỏ. Mỗi miếng cá có khối lượng trung bình khoảng 20 g/miếng. Các miếng cá được ngâm trong GTE với tỷ lệ là 1:2 (w/v), trong 15 phút, để ráo trong 2 phút trước khi cho vào các đĩa xốp, dùng màng co PE bao bọc bên ngoài và tiến hành bảo quản ở 2°C trong tủ lạnh. Mẫu đối chứng cũng được chuẩn bị trong điều kiện tương tự như trên, ngoại trừ dịch chiết được thay bằng nước cất.

### 2.3.3 Xác định hoạt tính chống oxy hóa dựa vào khả năng khử gốc tự do DPPH

Khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết được xác định theo phương pháp của Fu *et al.* (2002) với một vài hiệu chỉnh nhỏ. Tóm tắt: Dịch chiết được pha loãng đến những nồng độ thích hợp và được trộn với nước cất để đạt thể tích tổng cộng 3 ml. Sau đó thêm 1 ml dung dịch DPPH 0,1 mM (pha trong ethanol 99,5%), lắc đều và để yên trong bóng tối 30 phút. Độ hấp thụ quang học được đo ở bước sóng 517 nm (Spectrophotometer, Carry 50, Varian, Australia). Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định theo công thức sau: DPPH (%) =  $100 \times (A_{CT} - A_{SP}) / A_{CT}$ . Trong đó:  $A_{CT}$ : Độ hấp thụ quang học của mẫu trắng không chứa dịch chiết;  $A_{SP}$ : Độ hấp thụ quang học của mẫu có chứa dịch chiết. Kết quả báo cáo bởi giá trị  $IC_{50}$  là thể tích

của dịch chiết khử được 50% gốc tự do DPPH ở điều kiện xác định. Giá trị  $IC_{50}$  càng thấp thì hoạt tính khử gốc tự do DPPH càng cao. Vì vậy, hoạt tính chống oxy hóa càng mạnh.

### 2.3.4 Khả năng ngăn chặn sự hình thành hydroperoxides (HPO) trên mô hình dầu-nước của dịch chiết lá Ôi

Hệ nhũ tương dầu - nước được chuẩn bị gồm: 10% dầu Olive, 85% nước và 0,5% Tween 40. Hỗn hợp được đồng hóa ở tốc độ 10.000 rpm trong 5 phút (IKA, T18B, Ultra – Turax, Germany). Chính xác 2 ml dịch chiết được trộn đều với 10 ml hệ nhũ tương dầu-nước chứa trong ống nhựa 50 ml có nắp đậy, đặt trong tủ ổn nhiệt ở 50°C, quá trình oxy hóa chất béo được quan sát hàng ngày. Hàm lượng HPO được xác định theo phương pháp của Mark và Herbert (2002). Hàm lượng HPO được xác định trên dịch chiết chất béo theo phương pháp của Bligh và Dyer (1959). Kết quả tính toán hàm lượng HPO từ đường chuẩn Cumene hydroperoxide (HPO) nồng độ từ 0-120 nmol/ml.

### 2.3.5 Xác định hoạt tính ức chế enzyme polyphenoloxidase bởi dịch chiết lá Ôi

Hoạt tính ức chế enzyme polyphenoloxidase của dịch chiết lá ôi được thực hiện theo phương pháp của Fu *et al.* (2005) với một vài hiệu chỉnh nhỏ. Tóm tắt: Nhiều thể tích dịch chiết khác nhau được trộn với dung dịch đệm phosphate pH 6,6 để đạt thể tích cuối cùng 2,8 ml. Sau đó, 0,05 ml enzyme polyphenoloxidase (1 mg/ml pha trong đệm pH 6,6) được thêm vào, giữ hỗn hợp 2 phút ở nhiệt độ phòng trước khi thêm 0,2 ml L-DOPA (0,4 mg/ml pha trong đệm pH 6,6). Độ hấp thụ quang học được xác định sau mỗi 0,5 phút ở bước sóng 475 nm. Mẫu đối chứng cũng được chuẩn bị theo cách tương tự như trên ngoại trừ dịch chiết được thay bằng nước cất. Mỗi quan hệ giữa độ hấp thụ quang học đo ở bước sóng 475 nm theo thời gian thể hiện động học phản ứng ức chế polyphenoloxidase của dịch chiết.

### 2.3.6 Đánh giá cảm quan biến đen của tôm

Sự biến đen của tôm được đánh giá trực tiếp bằng cảm quan theo Montero *et al.* (2001). Các kiểm nghiệm viên (n = 5) đánh giá mức độ biến đen của tôm theo các mức sau: 0 điểm = không có đốm đen được phát hiện; 2 điểm = nhẹ (chiếm tới 20% diện tích bề mặt tôm bị ảnh hưởng); 4 điểm = trung bình (chiếm từ 20-40% diện tích bề mặt tôm bị ảnh hưởng); 6 điểm = đáng kể (chiếm 40-60% diện tích bề mặt tôm bị ảnh hưởng); 8 điểm = rất xấu (chiếm 60-80% diện tích bề mặt tôm bị ảnh

hường); 10 điểm = cực kỳ nặng (chiếm 80 – 100% diện tích bề mặt tôm bị ảnh hưởng).

2.3.7 *Xác định các chất phản ứng với a xít Thiobarbituric (TBARS)*

Các chất phản ứng với TBA được xác định theo phương pháp của Lemon (1975) với một sự hiệu chỉnh nhỏ. Tóm tắt: Khoảng 5 g thịt tôm hoặc cá đã được xay nhuyễn trộn với 10 ml dung dịch chiết TCA 7,5% và tiến hành chiết trong thời gian 15 phút, sau đó lọc qua giấy lọc số 1. Phần dịch lọc thu được trộn với dung dịch TBA 0,02 M theo tỷ lệ thể tích bằng nhau để đạt thể tích tổng cộng là 6 ml trong một ống nghiệm 10 ml và giữ ở nhiệt độ sôi trong 40 phút. Sau đó làm nguội dưới vòi nước chảy đến nhiệt độ phòng trước khi đi xác định độ hấp thụ quang học ở bước sóng 532 nm (Spectrophotometer, Carry 100, Varian, Australia). Hàm lượng Malonaldehyde (MAD) được tính toán từ đường cong chuẩn được xây dựng với nồng độ MAD từ 0,01 đến 0,05  $\mu\text{M}$ . Kết quả được báo cáo là mg MAD/kg thịt tôm hoặc cá. Mỗi phân tích được thực hiện lặp lại ba lần. Kết quả báo cáo là giá trị trung bình.

2.3.8 *Xử lý số liệu*

Giá trị  $\text{IC}_{50}$  của các dịch chiết, điểm cảm quan biến đen, hàm lượng HPO, chỉ số TBARS được xử lý trên phần mềm Statistica 8.0 (Stasoft, Tulsa, Ok, USA). Kiểm định Tukey’s HSD được thực hiện sau phân tích ANOVA để đánh giá sự khác nhau với mức ý nghĩa  $p < 0,05$ .

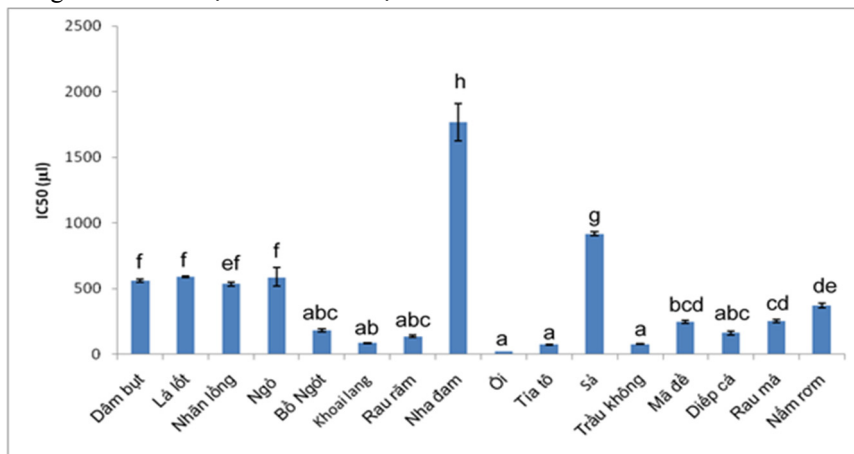
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 *Hoạt tính chống oxi hóa của dịch chiết từ 15 loại thực vật và nấm rơm*

Hoạt tính chống oxi hóa của dịch chiết thu được

từ 15 loại thực vật và một loại nấm rơm trồng ở Việt Nam được trình bày trong Hình 1. Nhìn chung, tất cả dịch chiết thu được đều có hoạt tính chống oxi hóa và hoạt tính này khác nhau phụ thuộc vào loài. Dịch chiết từ lá ôi, lá tía tô và lá trầu không thể hiện hoạt tính chống oxi hóa cao nhất, cao hơn đáng kể so với dịch chiết các mẫu còn lại ( $p < 0,05$ ). Giá trị  $\text{IC}_{50}$  của chúng lần lượt là 22, 74 và 77,5  $\mu\text{l}$ . Tiếp theo là nhóm các dịch chiết từ lá khoai lang, rau răm, diếp cá, bồ ngót, rau má, mã đề và nấm rơm với giá trị  $\text{IC}_{50}$  của chúng từ 86,5 đến 373  $\mu\text{l}$ . Nhóm lá dâm bụt, lá lốt, lá nhãn lồng và ngò ri có giá trị  $\text{IC}_{50}$  dao động trong khoảng từ 535 đến 588  $\mu\text{l}$ . Dịch chiết từ lá sả và nha đam có hoạt tính chống oxi hóa thấp nhất, giá trị  $\text{IC}_{50}$  của chúng lần lượt là 919 và 1.769  $\mu\text{l}$ .

Kết quả xác định hoạt tính chống oxi hóa của dịch chiết một số loại cây thực vật trồng ở Việt Nam có thể được xem như những công bố đầu tiên về lĩnh vực này trong nước, đặc biệt là đối với các loại thực vật được chọn trong nghiên cứu. Nghiên cứu về hoạt tính chống oxi hóa của một số loại thực vật cũng được một số tác giả khác công bố (Wei và Shiow, 2001; Hui-Yin và Gow-Chin, 2007; Witayapan *et al.*, 2010). Theo kết quả nghiên cứu của Hui-Yin và Gow-Chin (2007) thì dịch chiết từ lá ôi có hoạt tính chống oxi hóa và khả năng khử gốc tự do DPPH. Kết quả cho thấy dịch chiết từ lá ôi ở nồng độ 100  $\mu\text{g/ml}$  ức chế 94,4-96,2% sự oxi hóa chất béo trong mô hình a xít linoleic. Witayapan *et al.* (2010) cũng đã báo cáo rằng dịch chiết bằng nước nóng từ lá ôi thể hiện hoạt tính chống oxi hóa tương đương với Trolox là 20,41 mM/mg. Giá trị này cao hơn 8,7 lần so với BHT (Butylated hydroxy toluene) và 1,2 lần so với vitamin E.



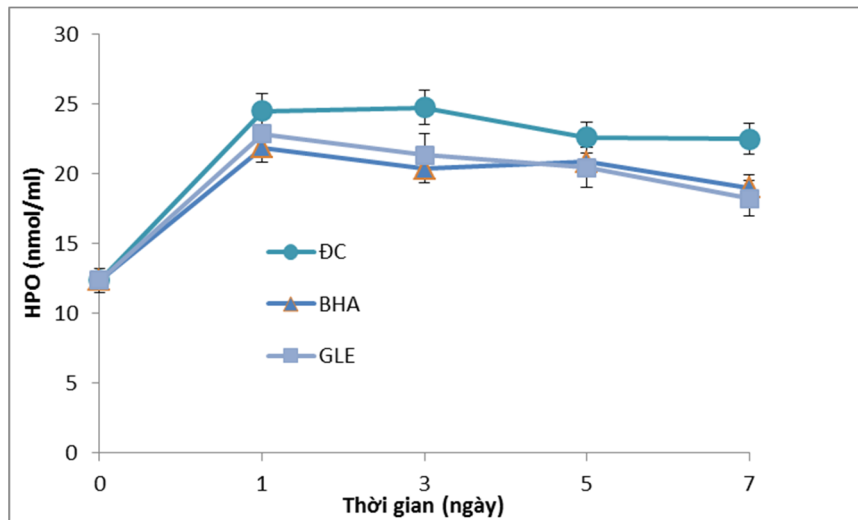
Hình 1: Giá trị  $\text{IC}_{50}$  của dịch chiết từ 15 loại thực vật khác nhau và nấm rơm. Các chữ cái trên cột khác nhau chỉ ra sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

Từ những kết quả đạt được ở trên, có thể kết luận rằng dịch chiết từ lá ôi có hoạt tính chống oxy hóa mạnh so với các dịch chiết từ các thực vật khác. Vì vậy, chúng tôi chọn dịch chiết này để tiếp tục các nghiên cứu tiếp theo trên mô hình cũng như áp dụng trực tiếp trên thực phẩm là tôm và thịt cá.

### 3.2 Khả năng ngăn chặn sự hình thành hydroperoxides trên mô hình dầu-nước của dịch chiết lá Ôi

Khả năng ngăn chặn sự hình thành hydroperoxide (HPO) trên mô hình dầu - nước của dịch chiết lá ôi (GLE) được thể hiện trên Hình 2. Kết quả cho thấy dịch chiết lá ôi có khả năng hạn

chế đáng kể sự hình thành HPO so với mẫu đối chứng (ĐC) và có thể so sánh tương đương với mẫu sử dụng BHA (100 µg/ml). Hàm lượng HPO của mẫu dịch chiết lá ôi sau 7 ngày bảo quản là 18,2 nmol/ml, trong khi đó của mẫu ĐC và BHA lần lượt là 22,5 nmol/ml và 19,0 nmol/ml. Kết quả nghiên cứu này cho thấy GLE ức chế hiệu quả sự hình thành HPO trên mô hình dầu-nước. Dịch chiết trong nước của lá Ôi có thể ức chế 94,4-96,2% sự hình thành hydroprooxide trong mô hình axit linoleic ở nồng độ 100 µg/ml (Hui-Yin và Gow-Chin, 2007). Kết quả này là cơ sở để tiến tới áp dụng GLE trên thực phẩm.



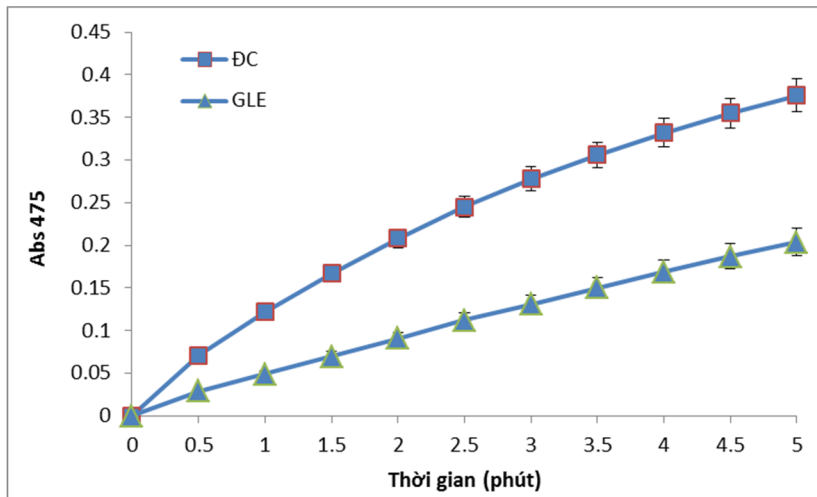
Hình 2: Khả năng hạn chế sự hình thành hydroperoxide của dịch chiết lá Ôi

### 3.3 Hoạt tính ức chế enzyme polyphenoloxidase của dịch chiết lá Ôi

Enzyme polyphenoloxidase (PPO) là một loại enzyme gây hiện tượng biến đen cho một số loại rau, quả và giáp xác (tôm, ghẹ), góp phần gây nên những tổn thất chất lượng không mong muốn cho nguyên liệu và sản phẩm thực phẩm. Chính vì vậy, nghiên cứu các chất ức chế enzyme này đã nhận được sự quan tâm đặc biệt từ các nhà nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu hoạt tính ức chế PPO của dịch chiết lá Ôi được trình bày trong Hình 3. Kết quả cho thấy dịch chiết lá Ôi có khả năng ức chế PPO đáng kể ( $p < 0,05$ ) so với mẫu đối chứng (ĐC). Dịch chiết từ GLE thể hiện khả năng ức chế hoạt tính PPO đến 45,7% so với mẫu đối chứng trong

điều kiện thí nghiệm. Khả năng ức chế hoạt tính PPO của GLE có thể được lý giải là do trong dịch chiết chứa các polyphenol, đặc biệt là các flavonoid, những chất này có khả năng tạo phức hợp với đồng trong trung tâm hoạt động của PPO. Vì vậy, chúng có khả năng ức chế PPO (Donghyun *et al.*, 2006).

Những phát hiện của chúng tôi về khả năng ức chế enzyme PPO của dịch chiết lá Ôi có thể là những công bố đầu tiên ở Việt Nam. Kết quả này cũng mở ra tiềm năng sử dụng dịch chiết từ một số loại thực vật trong việc hạn chế sự biến đen của một số loại rau quả, trái cây và trong một số loại giáp xác.

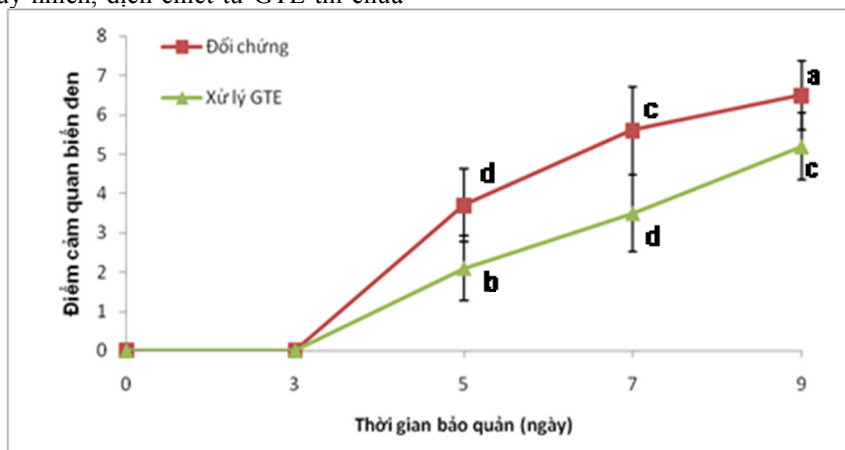


Hình 3: Khả năng ức chế polyphenoloxidase của dịch chiết lá Ôi

### 3.4 Sự thay đổi chất lượng cảm quan của tôm trong quá trình bảo quản lạnh ở 2°C

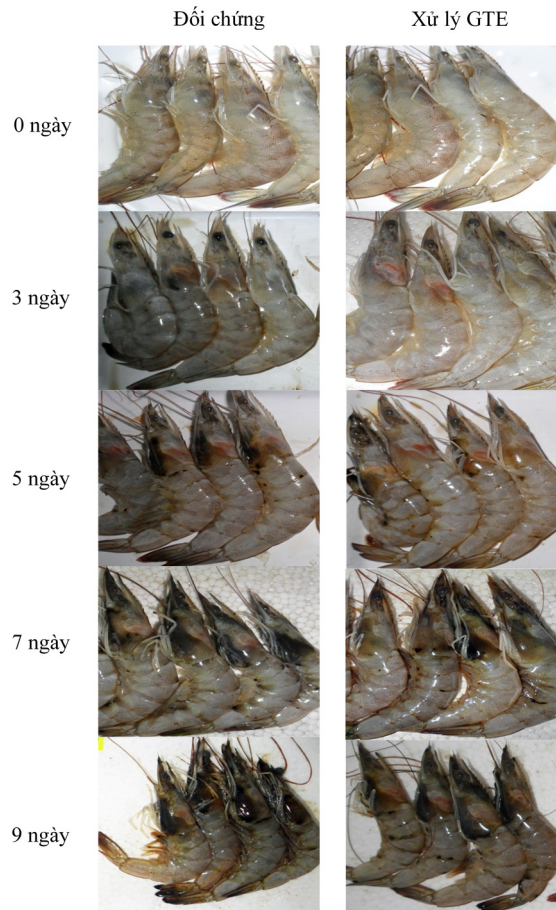
Xử lý tôm bằng dịch chiết lá Ôi (GTE) có tác dụng hạn chế sự hình thành đốm đen trong thời gian bảo quản lạnh ở 2°C. Điểm cảm quan biến đen của mẫu tôm được xử lý bằng GTE thấp hơn đáng kể ( $p < 0,05$ ) so với mẫu đối chứng (Hình 4 và 5). Điểm cảm quan biến đen của mẫu đối chứng sau 5, 7 và 9 ngày bảo quản lần lượt là 3,7; 5,6 và 6,5. Trong khi đó, giá trị này của mẫu tôm xử lý bằng GTE là 2,1; 3,5 và 5,2. Nhìn chung, đốm đen xuất hiện rõ sau 5 ngày bảo quản. Nirmal và Benjakul (2009b, 2010, 2011) đã báo rằng cáo dịch chiết từ lá trà xanh có tác dụng hạn chế sự hình thành đốm đen ở tôm. Tuy nhiên, dịch chiết từ GTE thì chưa

tìm thấy sự công bố nào. Vì vậy, kết quả phát hiện của chúng tôi có thể được xem là những phát hiện ban đầu về tác dụng hạn chế biến đen trên tôm bằng dịch chiết từ lá Ôi. Sở dĩ dịch chiết GTE có tác dụng hạn chế biến đen ở tôm có thể là vì trong dịch chiết GTE có chứa các chất ức chế enzyme tyrosinase, đây là enzyme đóng vai trò quan trọng trong sự hình thành biến đen ở tôm sau khi chết. Một số chất ức chế enzyme tyrosinase thuộc nhóm carotenoid và polyphenol đã được nhận diện trong dịch chiết GTE như: Tanin, flavonoid, catechin, vitamin C, đặc biệt quercetin là một chất chống oxi hóa cực mạnh. Sự tồn tại của các chất này được tin là nguyên nhân làm cho dịch chiết GTE có khả năng chống oxi hóa và ức chế biến đen ở tôm.



Hình 4: Sự thay đổi chất lượng cảm quan của tôm trong quá trình bảo quản lạnh ở 2°C

Các chữ cái khác nhau chỉ ra sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )



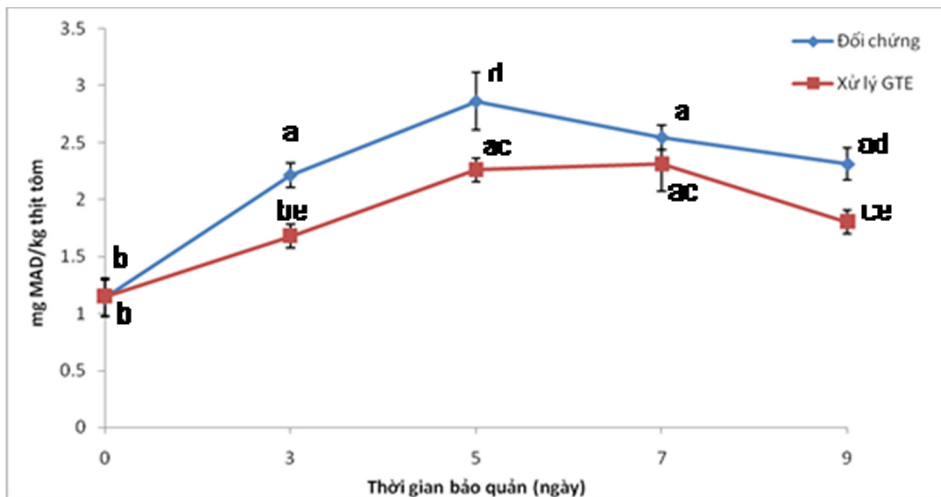
**Hình 5: Sự thay đổi mức độ biến đen của tôm trong quá trình bảo quản lạnh ở 2°C**

**3.5 Oxi hóa chất béo của thịt tôm trong quá trình bảo quản lạnh ở 2°C**

Sự thay đổi giá trị TBARS trong quá trình bảo quản tôm ở 2°C được trình bày trong Hình 6. Nhìn chung, giá trị TBARS tăng đáng kể ( $p < 0,05$ ) trong 5 ngày bảo quản đầu tiên đối với mẫu đối chứng. Trong khi đó đối với mẫu xử lý bằng GTE thì sự tăng của TBARS chậm hơn và đạt cao nhất ở 7 ngày bảo quản. Mẫu xử lý bằng GTE luôn có giá trị TBARS thấp hơn đáng kể ( $p < 0,05$ ) so với mẫu đối chứng trong suốt quá trình bảo quản. Cụ thể, trong 5 ngày bảo quản đầu tiên giá trị TBARS của mẫu đối chứng tăng từ 1,13 đến 2,86 mg MAD/kg thịt tôm, trong khi đó đối với mẫu xử lý bằng GTE là 1,15 đến 2,26 mg MAD/kg thịt tôm. Tại thời điểm 9 ngày bảo quản, giá trị TBARS của mẫu đối

chứng là 2,31, trong khi đó mẫu GTE chỉ là 1,80 mg MAD/kg thịt tôm.

Giá trị TBARS tăng là do quá trình oxi hóa chất béo diễn ra mạnh mẽ trong giai đoạn đầu, các sản phẩm của quá trình oxi hóa chất béo như hydroperoxide được hình thành và nhanh chóng bị oxi hóa thành các sản phẩm bậc hại như aldehyde (Benjakul *et al.*, 2005). Các sản phẩm oxi hóa bậc hai tiếp tục bị biến đổi thành các sản phẩm khác dưới tác động của enzyme và vi sinh vật, dẫn đến làm giảm hàm lượng của TBARS (Nirmal và Benjakul, 2009a). Mẫu tôm được xử lý bằng GTE có giá trị TBARS thấp hơn so với mẫu đối chứng có thể là do trong dịch chiết GTE có chứa các chất chống oxi hóa như đã được thảo luận ở trên.



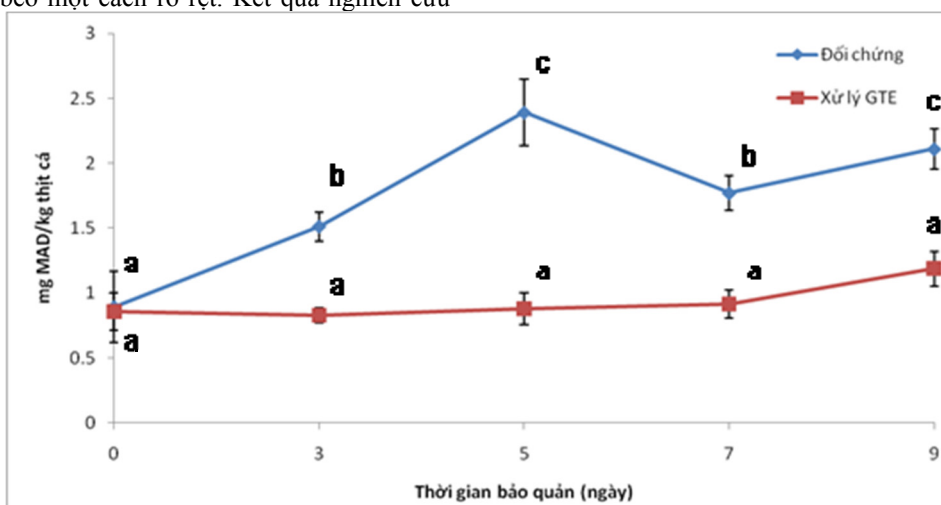
Hình 6: Sự thay đổi giá trị TBARS của thịt tôm trong quá trình bảo quản lạnh ở 2°C

Các chữ cái khác nhau chỉ ra sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

### 3.6 Oxi hóa chất béo của thịt cá Thu trong quá trình bảo quản lạnh ở 2°C

Thịt cá Thu được xử lý bằng dịch chiết lá ổi có tác dụng hạn chế sự oxi hóa chất béo đáng kể ( $p < 0,05$ ) so với mẫu đối chứng (Hình 7). Trong 5 ngày bảo quản đầu tiên, giá trị TBARS của mẫu đối chứng tăng từ 0,89 đến 2,39 mg MAD/kg thịt cá, trong khi đó đối với mẫu được xử lý bởi GTE thì giữ ổn định trong khoảng từ 0,86 đến 0,88 mg MAD/kg thịt cá. Tại thời điểm 9 ngày bảo quản, trong khi giá trị TBARS của mẫu đối chứng là 2,11 mg MAD/kg thì mẫu xử lý GTE chỉ là 1,19 mg MAD/kg thịt cá. Kết quả nghiên cứu này cho thấy sử dụng dịch chiết GTE có tác dụng hạn chế sự oxi hóa chất béo một cách rõ rệt. Kết quả nghiên cứu

này cũng phù hợp với công bố của Tang *et al.* (2001) khi thêm dịch chiết trà xanh có tác dụng hạn chế sự oxi hóa chất béo cho sản phẩm cá Thu viên trong thời gian bảo quản lạnh ở 4°C. Dịch chiết lá trà xanh có tác dụng chống oxi hóa đã được báo cáo bởi nhiều tác giả (Nirmal và Benjakul, 2010a,b, 2011; Tang *et al.*, 2001). Tuy nhiên, dịch chiết từ lá ổi thì chưa thấy sự công bố nào. Kết quả nghiên cứu này có thể được xem như những công bố đầu tiên về khả năng hạn chế sự oxi hóa chất béo trên thịt cá của dịch chiết từ lá ổi. Vì vậy, việc sử dụng dịch chiết này có thể được xem như một cách an toàn và hiệu quả trong việc hạn chế sự oxi hóa chất béo của cơ thịt cá trong quá trình bảo quản lạnh.



Hình 7: Sự thay đổi giá trị TBARS của thịt cá Thu trong quá trình bảo quản lạnh ở 2°C

Các chữ cái khác nhau chỉ ra sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )



#### 4 KẾT LUẬN

Tất cả dịch chiết từ 15 loại lá thực vật và một loại nấm rom trồng ở Việt Nam đều thể hiện hoạt tính chống oxi hóa (dựa vào khả năng khử gốc tự do DPPH). Khả năng chống oxi hóa của dịch chiết khác nhau theo loài. Nhóm dịch chiết có hoạt tính chống oxi hóa cao nhất thuộc về lá Ôi, lá Trầu không và lá Tía tô ( $IC_{50}$ : 22-77,5  $\mu$ l); tiếp theo là nhóm gồm lá Khoai lang, rau Răm, Diếp cá, Bò ngót, rau Mả và Nấm rom ( $IC_{50}$ : 86,5-373  $\mu$ l); tiếp theo đó là nhóm gồm lá Dâm bụt, lá Lốt, lá Nhân lồng và lá Ngò ( $IC_{50}$ : 535-588  $\mu$ l); dịch chiết từ Nha đam và lá Sả có hoạt tính chống oxi hóa thấp nhất với giá trị  $IC_{50}$  là 1.769 và 919  $\mu$ l. Dịch chiết từ lá Ôi thể hiện khả năng hạn chế sự hình thành đốm đen trên tôm và oxi hóa chất béo của thịt cá trong quá trình bảo quản lạnh. Kết quả nghiên cứu này có thể được xem như những công bố đầu tiên về tác dụng của dịch chiết lá ôi trong việc hạn chế biến đen trên tôm và oxi hóa chất béo cơ thịt cá trong quá trình bảo quản lạnh, mở ra tiềm năng có thể sử dụng dịch chiết từ lá ôi trong bảo quản nguyên liệu thủy sản sau thu hoạch. Những nghiên cứu tiếp theo nên được thực hiện nhằm tìm ra điều kiện tối ưu để thu dịch chiết với hoạt tính chống oxi hóa cao nhất cũng như điều kiện thích hợp để xử lý ngâm nguyên liệu.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Angel, B. E., Fernand, F., Ikuo, H., Hideki, U., and Toshiaki, O., 2011. Effects of Ergothioneine from Mushrooms (*Flammulina utipes*) on Melanosis and Lipid Oxidation of Kuruma Shrimp (*Marsupenaeus japonicus*). *J. Agric. Food Chem.* 58, 2577-2585. DOI:10.1021/jf903944y.
2. Benjakul, S., Visessanguan, W., Phongkanpai, V., and Tanaka, M., 2005. Antioxidative activity of caramelisation products and their preventive effect on lipid oxidation in fish mince. *Food Chemistry.* 90, 231-239.
3. Bligh, E. G. and Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911-917.
4. Botterweck, A. A. M., Verhagen, H., Goldbohm, R. A., Kleinjans, J., Brandt, P. A. V., 2000. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands cohort study. *Food Chem. Toxicol.* 38, 599-605.
5. Dương Thị Kim Nguyễn, Nguyễn Xuân Duy và Nguyễn Anh Tuấn, 2012. Ảnh hưởng của điều kiện chiết lá Trà xanh và sử dụng dịch chiết để hạn chế biến đen ở tôm và oxi hóa chất béo ở cá. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.* 8, 67-74.
6. Donghyun Kim, Jiyeoun Park, Jinhee Kim, Cheolkyu Han, Jeonghyeoky Yoon, Namdo Kim, Jinho Seo and Choonghwan Lee, 2006. Flavonoids as Mushroom Tyrosinase Inhibitors: A Fluorescence Quenching Study. *J. Agric. Food Chem.* 54, 935-941.
7. Fu, H. Y. and Shieh, D. E., 2002. Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. *Journal of Food Lipid.* 9, 35-46.
8. Fu, B., Li, H., Wang, X., Lee, F. S. C., and Cui, S., 2005. Isolation and identification of flavonoids in licorice and a study of their inhibitory effects on tyrosinase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 53, 7408-7414.
9. Hardisson, A., Rubio, C., Fririas, I., Rodríguez, I., Reguera, J. I., 2002. Content of sulphite in frozen prawns and shrimps. *Journal of Food Control.* 13, 275-279.
10. Hui-Yin Chen, Yuh-Charn Lin and Chiu-Lan Hsieh, 2007. Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs. *Journal of Food Chemistry.* 104, 1418-1424.
11. Hui-Yin Chen and Gow-Chin Yen, 2007. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava L.*) leaves. *Journal of Food Chemistry,* 101, 686-694.
12. Ladikos, D. and Lougovois, V., 1990. Lipid oxidation in muscle foods: A review. *Journal of Food Chemistry.* 35, 295-314.
13. Lemon, D. W., 1975. An improved TBA test for rancidity. *New Series Circular,* 51, 52-55.
14. Montero, P., Lopez-Caballero, M. E., Perez-Mateos, M., 2001. The effect of inhibitors and high pressure treatment to prevent melanosis and microbial growth on chilled prawns (*Penaeus japonicus*). *Journal of Food Science.* 66, 1201-1206.

15. Martinez-Alvarez, O., Montero, P., Gomez-Guillen, M. C., 2005. Controlled atmosphere as coadjuvant to chilled storage for prevention of melanosis in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). European Food Research Technology. 220, 125-130.
16. Mark, P. Richards and Herbert, O. Hultin, 2002. Contributions of blood and blood components to lipid oxidation in fish muscle. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50, 555-564.
17. Mustafa, R. A., Abdul Hamid, A., Mohamed, S. and Abu Bakar, E., 2010. Total phenolic compounds, flavonoids, and radical scavenging activity of 21 selected tropical plants. Journal of Food Science. 75 (1), C28-35.
18. Nalan Gokoglu and Pinar Yerlikaya, 2008. Inhibition effects of grape seed extracts on melanosis formation in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). International Journal of Food Science and Technology. 43, 1004-1008.
19. Nirmal, N. P., Benjakul, S., 2009a. Effect of ferulic acid on inhibition of polyphenoloxidase and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced storage. Food Chemistry. 116, 323-331.
20. Nirmal, N. P., Benjakul, S., 2009b. Melanosis and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) treated with catechin during iced storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 57, 3578-3586.
21. Nirmal, N. P., Benjakul, S., 2010a. Effect of catechin and ferulic acid on melanosis and quality of Pacific white shrimp subjected to freeze-thawing prior refrigerated storage. Journal of Food Control. 21, 1263-1271.
22. Nirmal, N. P., Benjakul, S., 2010b. Effect of green tea extract in combination with ascorbic acid on the retardation of melanosis and quality changes of Pacific white shrimp during iced storage. Food and Bioprocess Technology. Doi:10.1007/s11947-010-0483-5.
23. Nirmal, N. P., Benjakul, S., 2011. Use of tea extracts for inhibition of polyphenoloxidase and retardation of quality loss of Pacific white shrimp during iced storage. LWT-Food Science and Technology. 44, 924-932.
24. Suganya Tachakittirungrod, Siriporn Okonogi and Sombat Chowwanapoonpohn, 2007. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. Journal of Food Chemistry. 103, 381-388.
25. Tang, S., Kerry, J. P., Sheehan, D., Buckley, D. J., and Morrissey, P. A., 2001. Antioxidative effect of added tea catechins on susceptibility of cooked red meat, poultry and fish patties to lipid oxidation. Journal of Food Research International. 34, 651-657.
26. Witayapan Nantitanon, Songwut Yotsawimonwat and Siriporn Okonogi, 2010. Factors influencing antioxidant activities and total phenolic content of guava leaf extract. LWT-Food Science and Technology. 43, 1095-1103.
27. Wei Zheng and Shioh, Y. Wang, 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49, 5165-5170.
28. www.vasep.com.vn (accessed on 7/7/2013).