

# KHẢ NĂNG HẠN CHẾ OXY HÓA LIPID CỦA PHÂN ĐOẠN DỊCH CHIẾT GIÀU POLYPHENOL TỪ RONG NÂU *SARGASSUM MCCLUREI* TRÊN CƠ THỊT CÁ BỚP

LIPID OXIDATION INHIBITION CAPACITY OF A POLYPHENOLIC-RICH FRACTION FROM BROWN SEAWEED *SARGASSUM MCCLUREI* IN MINCED COBIA MUSCLES

Nguyễn Thế Hàn<sup>1\*</sup>, Nguyễn Lê Thùy Linh<sup>1,2</sup>,  
Nguyễn Văn Minh<sup>1</sup>, Khổng Trung Thắng<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Oxy hóa lipid là một trong những nguyên nhân chính gây hư hỏng nguyên liệu và sản phẩm thủy sản trong quá trình chế biến và bảo quản. Mục đích của nghiên cứu này là thu nhận và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của phân đoạn dịch chiết giàu polyphenol từ rong nâu *Sargassum mcclurei*. Dịch chiết thô từ rong *S. mcclurei* được tách phân đoạn lần lượt qua các dung môi *n*-hexane, ethyl acetate, buthanol và nước. Phân đoạn ethyl acetate có hàm lượng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa cao nhất trong các phân đoạn dung môi chiết. Phân đoạn dịch chiết này có khả năng hạn chế sự oxy hóa lipid trên cơ thịt cá bớp trong quá trình bảo quản lạnh; giá trị FFA, PV và TBARS của mẫu bảo quản bằng dịch chiết đều giảm so với mẫu đối chứng. Phân đoạn dịch chiết bảo quản ở -20°C duy trì được hàm lượng polyphenol tốt hơn so với bảo quản ở 4°C. Kết quả nghiên cứu của cho thấy phân đoạn dịch chiết rong *S. mcclurei* có thể sử dụng để phát triển sản phẩm thực phẩm chức năng và chất bảo quản thực phẩm.

**Từ khóa:** *Sargassum mcclurei*, hoạt tính chống oxy hóa, oxy hóa lipid, bảo quản sau thu hoạch.

## ABSTRACT

Lipid oxidation is a major cause of quality deterioration in seafood during storage and processing period. The objective of this study is to investigate antioxidant properties of a polyphenol-rich fraction from brown seaweed *Sargassum mcclurei*. The crude extract *S. mcclurei* was suspended in water and fractionated with *n*-hexane, ethyl acetate and buthanol, successively. Among solvent fractions, the ethyl acetate fraction had highest total phenolic content and antioxidant activities. This fraction also retarded lipid oxidation in the muscle of Cobia (*Rachycentron canadum*) during refrigerated storage; the FFA, PV and TBARS values in the treated samples were significantly lower than control. Storage at -20°C preserved more phenolics and retained higher antioxidant activity in the seaweed fraction extract compared to storage at 4°C. Thus, the ethyl acetate fraction from *S. mcclurei* could be a potential candidate for functional food and food preservative.

**Keywords:** *Sargassum mcclurei*, antioxidant activity, lipid oxidation, post-harvest storage.

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

<sup>2</sup>Công ty Cổ phần nước giải khát Sanna Khánh Hòa, Công ty Yến sào Khánh Hòa

\*Email: hannt@ntu.edu.vn

Ngày nhận bài: 26/02/2020

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 10/4/2020

Ngày chấp nhận đăng: 24/4/2020

## 1. GIỚI THIỆU

Các acid béo không no cao phân tử lượng rất dễ bị oxy hóa, gây hư hỏng thực phẩm trong quá trình chế biến và bảo quản [1]. Để hạn chế sự hư hỏng của thực phẩm do quá trình oxy hóa lipid, các chất chống oxy hóa thường được sử dụng. Những chất chống oxy hóa đã được thương mại và sử dụng rộng rãi trong bảo quản thực phẩm bao gồm: acid ascorbic (vitamin C), tocopherol (vitamin E), các hợp chất phosphate, butylated hydroxyanisole (BHA) và butylated hydroxytoluene (BHT) [2]. Trong những năm gần đây, các nhà nghiên cứu trên thế giới quan tâm nhiều đến các hợp chất chống oxy hóa có nguồn gốc từ tự nhiên. Polyphenol là các hợp chất chuyển hóa thứ cấp trong thực vật, đã nhận được rất nhiều sự quan tâm bởi các tính chất sinh học quan trọng của chúng như hoạt tính chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng viêm và ức chế sự phát triển của tế bào ung thư. Những nghiên cứu dịch tễ học đã chỉ ra rằng chế độ ăn giàu polyphenol có khả năng ngăn ngừa nhiều loại bệnh của con người [3].

Theo Nguyễn Hữu Đại [4], có hơn 700 loài rong đã được phát hiện và phân loại ở vùng biển Việt Nam, thuộc ba ngành: rong nâu, rong đỏ và rong lục; trong đó rong nâu là ngành rong có trữ lượng lớn và phân bố đa dạng nhất. Trong ngành rong nâu, các loài rong thuộc chi *Sargassum* có trữ lượng lớn nhất với khoảng 68 loài và sản lượng ước tính trên 10.000 tấn khô/năm, phân bố dọc ven biển Việt Nam. Một số nghiên cứu ở Việt Nam đã đánh giá các hoạt tính kháng nấm, kháng u, kháng khuẩn, chống oxy hóa của một số hợp chất như carbohydrate và polyphenol từ rong nâu [5, 6]. Nghiên cứu trước đây đã cho thấy tiềm năng sử dụng dịch

chiết rong biển để bảo quản nguyên liệu thực phẩm sau thu hoạch [7]. Tuy nhiên, nghiên cứu về sử dụng dịch chiết rong thu mẫu tại vùng biển Việt Nam trong bảo quản nguyên liệu thực phẩm còn rất hạn chế. Hơn nữa, các nghiên cứu đã thực hiện trên đối tượng rong biển Việt Nam chủ yếu dừng lại ở thu nhận dịch chiết thô và đánh giá hoạt tính sinh học mà chưa có các bước làm giàu hoạt tính để nâng cao khả năng ứng dụng.

Mục đích của nghiên cứu này là thu nhận, đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của phân đoạn dịch chiết giàu polyphenol từ rong *S. macleuri* và thử nghiệm khả năng hạn chế sự oxy hóa lipid của phân đoạn dịch chiết này trên cơ thịt cá bớp.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Chuẩn bị mẫu rong nghiên cứu

Rong *S. macleuri* sử dụng trong nghiên cứu được thu hái ở giai đoạn trưởng thành (có chiều dài thân khoảng từ 0,7 - 1m) tại bãi rong Sông Lô (xã Phước Đồng, thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa) vào tháng 4 năm 2017. Mẫu rong sau khi thu hoạch được định danh bởi PGS.TS Nguyễn Hữu Đại (Viện Hải dương học Nha Trang) và ThS. Đỗ Anh Duy (Viện Nghiên cứu Hải sản) theo phương pháp phân loại truyền thống bằng hình thái học. Mẫu rong sau khi định danh được rửa sạch bằng nước biển, sau đó vận chuyển về phòng thí nghiệm. Rong được phơi trong bóng râm đến khi độ ẩm đạt khoảng 16%. Mẫu rong khô được bảo quản trong các túi PA (100g/túi) trong điều kiện hút chân không ở -10°C để sử dụng cho các nghiên cứu.

### 2.2. Hoá chất và thuốc thử

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), thuốc thử Folin-ciocalteu, thiobarbituric (TBA), malonaldehyde (MAD), acid gallic, epigallocatechin gallate (EGCG) và vitamin C được mua từ công ty Sigma Aldrich (Hoa Kỳ);  $K_3(Fe[CN]_6)$ ,  $AlCl_3$ , acid trichloroacetic (TCA),  $NaH_2PO_4$ ,  $Na_2HPO_4$ ,  $Na_2CO_3$  được mua từ công ty Wako Pure Chemical Industries (Nhật Bản). Các hóa chất và thuốc thử khác sử dụng trong nghiên cứu đều đạt yêu cầu sử dụng trong phân tích.

### 2.3. Nghiên cứu tách phân đoạn dung môi chiết

Nguyên liệu rong được chiết trong điều kiện đã được xác định như sau: dung môi chiết: 30% ethanol, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (w/v): 1/50, nhiệt độ chiết: 60°C, thời gian chiết: 30 phút. Điều kiện chiết này được kế thừa từ kết quả nghiên cứu trước của Phạm Thị Mỹ Hiền và cộng sự [8]. Tiếp theo, tiến hành loại dung môi của dịch chiết bằng thiết bị cô quay chân không. Dịch chiết sau khi loại hết dung môi được tách phân đoạn sử dụng các dung môi có độ phân cực tăng dần bao gồm: *n*-hexane, ethyl acetate, buthanol và nước. Dịch chiết sau khi đuổi dung môi được hòa vào 200ml nước cất. Hỗn hợp sau đó đổ vào bình tách lỏng-lỏng (separatory funnel). Tiếp theo, một lượng 200ml dung môi *n*-hexane được cho vào bình tách, lắc mạnh hỗn hợp dung môi trong thời gian 1 phút, và để đứng yên trên giá đỡ trong khoảng thời gian 30 phút. Sau đó, thu phân đoạn dịch chiết *n*-hexane bằng cách mở van đáy của thiết

bị tách lỏng - lỏng. Tiếp tục cho 200ml *n*-hexane vào bình tách lỏng-lỏng và lặp lại các thao tác như trên. Quá trình thu phân đoạn dung môi chiết *n*-hexane được tiến hành đến khi quan sát phân đoạn dung môi này không màu. Phân đoạn dịch chiết *n*-hexane thu được bằng cách trộn lại sau các lần tách phân đoạn. Quá trình tách phân đoạn đối với dung môi ethyl acetate và buthanol được tiến hành tương tự như trường hợp của *n*-hexane. Cuối cùng thu được các phân đoạn dung môi chiết: *n*-hexane, ethyl acetate, buthanol và nước. Các phân đoạn dịch chiết được loại hết dung môi bằng thiết bị cô quay chân không. Phân đoạn dịch chiết sau khi loại hết dung môi được sử dụng để xác định hàm lượng polyphenol tổng số và hoạt tính chống oxy hóa. Phân đoạn tiềm năng sẽ được sử dụng cho những nghiên cứu tiếp theo (hạn chế oxy hóa lipid trên cơ thịt cá bớp và ổn định hoạt tính trong quá trình bảo quản).

### 2.4. Nghiên cứu khả năng hạn chế quá trình oxy hoá lipid trên cá bớp

Cá bớp (*Rachycentron canadum*) sử dụng trong nghiên cứu nuôi tại Đảo Bằng Lớn (thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa). Cá có trọng lượng khoảng từ 3 - 5kg/con. Cá bớp sau khi thu hoạch được vận chuyển sống về phòng thí nghiệm để tiến hành các xử lý tiếp theo. Tại phòng thí nghiệm, cá được tiến hành phi lê để loại bỏ da, xương, nội tạng và phần cơ thịt đỏ. Thịt cá được cắt thành từng lát có độ dày 10 - 15mm/lát, khối lượng khoảng 50 g/lát, trộn lại một cách ngẫu nhiên và tiến hành các thí nghiệm tiếp theo. Các lát cá bớp được chia làm bốn nhóm: nhóm 1: ngâm với nước cất (mẫu đối chứng), nhóm 2: ngâm với phân đoạn dịch chiết rong ở nồng độ 7,4mg/ml, nhóm 3: ngâm với EGCG ở nồng độ 7,4mg/ml và nhóm 4: ngâm với vitamin C ở nồng độ 7,4mg/ml. Việc lựa chọn nồng độ chất bảo quản được thực hiện dựa trên các thí nghiệm thăm dò. Các lát cá được ngâm trong các dung dịch trong thời gian 15 phút. Sau đó, các mẫu cá được bao gói trong các khay nhựa và bảo quản lạnh ở nhiệt độ  $4 \pm 1^\circ C$ . Sau thời gian bảo quản 0, 3, 6, 9 và 12 ngày, các mẫu cá được lấy ra và xác định các chỉ tiêu TBARS, PV và FFA.

### 2.5. Nghiên cứu sự ổn định của phân đoạn dịch chiết theo thời gian bảo quản

Phân đoạn dịch chiết được bảo quản trong các ống Falcon (dung tích 15ml) trong điều kiện nhiệt độ lạnh ở 4°C và đông ở -20°C để theo dõi tính ổn định. Sau các mốc thời gian (0, 2, 4, 6 và 8 ngày), phân đoạn dịch chiết được lấy ra và xác định hàm lượng polyphenol tổng số và hoạt tính khử gốc tự do DPPH.

### 2.6. Phương pháp phân tích

#### 2.6.1. Xác định hàm lượng polyphenol tổng số

Hàm lượng polyphenol tổng số được xác định theo phương pháp đã báo cáo [9]. Lấy 0,1ml dịch chiết trộn với 0,9ml nước cất. Sau đó cho thêm 1ml thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% và 2,5ml  $Na_2CO_3$  7,5%. Tiếp theo, lắc đều hỗn hợp bằng máy Vortex. Hỗn hợp sau đó được giữ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong thời gian 30 phút trước

khi đo bước sóng ở 760nm trên máy quang phổ kế (Spectrophotometry, Carry 50, Varian, Australia).

### 2.6.2. Đánh giá hoạt tính chống oxy hoá

#### a) Xác định hoạt tính khử gốc tự do DPPH

Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định theo phương pháp của Fu và Shieh [10] với một vài hiệu chỉnh nhỏ. Dịch chiết được pha loãng ở các nồng độ khác nhau và được trộn với nước cất để đạt tổng thể tích 3ml. Sau đó thêm 1ml dung dịch DPPH 0,1mM (pha trong ethanol 99,5%), lắc đều và để yên trong bóng tối 30 phút ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ quang học được đo ở bước sóng 517nm. Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định theo công thức sau:

$$\text{Khả năng khử gốc tự do DPPH (\%)} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

$A_1$ : Độ hấp thụ quang của mẫu thí nghiệm (có chứa dịch chiết).

$A_0$ : Độ hấp thụ quang của mẫu trắng (không bổ sung dịch chiết).

Kết quả báo cáo bởi giá trị  $EC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ). Giá trị này là nồng độ dịch chiết khử được 50% gốc tự do DPPH.

#### b) Xác định tổng năng lực khử

Tổng năng lực khử được xác định theo phương pháp của Oyaizu [11]. Lấy 1ml dịch chiết trộn với 0,5ml đệm phosphate (pH = 6,6). Tiếp theo, thêm 0,5ml  $K_3(\text{Fe}[\text{CN}]_6)$  1% vào hỗn hợp. Hỗn hợp được ủ ở 50°C trong 20 phút, sau đó thêm 0,5ml TCA 10% và 2ml nước cất, cuối cùng cho thêm 0,4ml  $\text{AlCl}_3$  0,1%. Độ hấp thụ quang học được xác định ở bước sóng 700nm (Spectrophotometry, Carry 50, Varian, Australia). Độ hấp thụ quang học càng cao thì năng lực khử càng mạnh. Kết quả báo cáo bởi giá trị  $EC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ). Giá trị này là nồng độ dịch chiết cho độ hấp thụ quang học ở bước sóng 700nm là 0,5.

### 2.6.3. Đánh giá khả năng hạn chế oxy hoá lipid trên thịt cá bớp

#### a. Xác định chỉ số Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS)

Chỉ số TBARS được xác định theo phương pháp của Lemon [12] với một vài thay đổi nhỏ. Khoảng 5 g thịt 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. Phần dịch lọc thu được trộn với dung dịch TBA 0,02 M theo tỉ lệ thể tích bằng nhau để đạt tổng thể tích là 6 ml. Hỗn hợp được gia nhiệt và giữ ở 90 °C trong 40 phút. Sau đó làm nguội dưới vòi nước chảy đến nhiệt độ phòng trước khi tiến hành xác định độ hấp thụ quang ở bước sóng 532 nm (Spectrophotometer, Carry 50, Varian, Australia). Hàm lượng Malonaldehyde (MAD) được tính từ đường chuẩn MAD.

#### b) Xác định chỉ số peroxyde (PV)

Chỉ số peroxide được xác định theo phương pháp của Richard & Hultin [13] với một vài sự thay đổi nhỏ. Hút 100 $\mu\text{l}$  dầu chiết theo phương pháp của Bligh & Dyer [14], sau đó

thêm 1,900 $\mu\text{l}$  hỗn hợp chloroform và methanol (1:1, v/v). Tiếp theo, thêm 10 $\mu\text{l}$  hỗn hợp  $\text{NH}_4\text{SCN}$  30% và  $\text{FeCl}_2$ , tiếp tục giữ hỗn hợp thêm 10 phút trước khi đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 500nm (Spectrophotometer, Carry 50, Varian, Australia). Hàm lượng HPO được xác định từ đường chuẩn Cumene hydroperoxide.

#### c) Xác định hàm lượng acid béo tự do (FFA)

Hàm lượng acid béo tự do (FFA) được xác định theo phương pháp của Lowry & Tinsley [15]. Khoảng 0,3 - 0,5g dầu được chiết theo phương pháp của Bligh & Dyer (1959) trộn với 5 ml benzene, sau đó thêm 1ml dung dịch phản ứng Cu-acetate-pyridine, hỗn hợp được giữ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút trước khi được ly tâm ở tốc độ 5000rpm trong 5 phút. Phần dịch trong ở lớp trên được xác định độ hấp thụ quang ở bước sóng 715nm trên máy quang phổ kế (Spectrophotometer, Carry 50, Varian, Australia). Hàm lượng FFA được xác định từ đường chuẩn acid oleic.

## 2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Đồ thị được vẽ bằng phần mềm Excel 2007 và số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS phiên bản 16.0. Giá trị trung bình được phân tích ANOVA theo phép thử Duncan. Giá trị  $P < 0,05$  chỉ ra sự khác nhau có ý nghĩa thống kê.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Hàm lượng polyphenol và hoạt tính chống oxy hoá

Độ phân cực của dung môi, độ nhớt và sức căng bề mặt của dung môi là những yếu tố ảnh hưởng đến quá trình phân đoạn để chiết xuất polyphenol [16]. Trong nghiên cứu này, dịch chiết từ rong *S.mclurei* được tách phân đoạn qua bốn dung môi có độ phân cực tăng dần (*n*-hexane, ethyl acetate, buthanol và nước). Hàm lượng polyphenol tổng số và hoạt tính chống oxy hóa của các phân đoạn dịch chiết được thể hiện ở bảng 1.

Về hàm lượng polyphenol, kết quả nghiên cứu cho thấy phân đoạn dung môi chiết ethyl acetate có hàm lượng polyphenol cao nhất (185,11mg GAE/g dịch chiết), tiếp theo là *n*-hexane (150,52mg GAE/g dịch chiết), buthanol (43,57mg GAE/g dịch chiết) và nước (30,78mg GAE/g dịch chiết) (bảng 1). Kết quả nghiên cứu này phù hợp với hầu hết những nghiên cứu trước đây. Theo đó, ethyl acetate thường được sử dụng để phân tách sơ bộ các hợp chất polyphenol và sử dụng cho quá trình ứng dụng, tinh sạch sau đó. Theo kết quả nghiên cứu của Chakraborty và cộng sự [17], hàm lượng polyphenol cao nhất được tách trong phân đoạn dịch chiết ethyl acetate từ 3 loài rong đỏ thu mẫu ở vùng biển Tây Nam của Ấn Độ. Các hợp chất lipid, chlorophyll, sterol thường được phân tách trong dung môi *n*-hexane; nhóm hợp chất polyphenol bao gồm tanin và các hợp chất flavonoid thường được chiết trong dung môi ethyl acetate; các hợp chất tan trong nước như các protein hòa tan và các hợp chất polysaccharide thường được chiết trong dung môi buthanol và nước [18].

Hoạt tính khử gốc tự do DPPH và tổng năng lực khử của các phân đoạn dịch chiết từ rong *S. mclurei* được thể hiện ở bảng 1. Hoạt tính chống oxy hóa của phân đoạn

ethyl acetate cao nhất, tiếp theo là *n*-hexane, nước và buthanol. Giá trị EC<sub>50</sub> về khả năng khử gốc tự do DPPH của các phân đoạn ethyl acetate, *n*-hexane, nước và buthanol lần lượt là 0,69; 1,24; 6,21; và 13,79µg/ml. Đối với năng lực khử, giá trị EC<sub>50</sub> của các phân đoạn ethyl acetate, *n*-hexane, nước và buthanol lần lượt là 10,74; 16,18; 85,42; và 183,03µg/ml. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với hầu hết nghiên cứu trước đây trên đối tượng rong biển [19,20]. Giá trị EC<sub>50</sub> (0,69µg/ml) đối với hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của phân đoạn dịch chiết từ rong *S. mcclurei* là khá thấp so với loài rong đã nghiên cứu. Phân đoạn dung môi chiết ethyl acetate từ rong *S. fusiforme* có hoạt tính khử gốc tự do DPPH, với giá trị EC<sub>50</sub> là 14,61µg/ml [21]. Hoạt tính khử gốc tự do DPPH của phân đoạn dung môi chiết ethyl acetate từ 5 loài rong lục thu hoạch ở vùng biển Hàn Quốc, có giá trị EC<sub>50</sub> dao động từ 60 - 125µg/ml [19]. Như vậy, hoạt tính chống oxy hóa của rong *S. mcclurei* thu hoạch tại vùng biển Khánh Hòa khá mạnh so với các loài rong khác đã nghiên cứu.

Bảng 1. Hàm lượng polyphenol tổng số và hoạt tính chống oxy hóa của phân đoạn dịch chiết từ rong *Sargassum mcclurei*

Phân đoạn dịch chiết	Hàm lượng polyphenol tổng số (mg GAE/g dịch chiết)	Khả năng khử gốc tự do DPPH (EC <sub>50</sub> , µg/ml)	Tổng năng lực khử (EC <sub>50</sub> , µg/ml)
<i>n</i> -Hexane	150,52 ± 3,45 <sup>b</sup>	1,21 ± 0,27 <sup>c</sup>	16,19 ± 2,76 <sup>c</sup>
Ethyl acetate	185,21 ± 4,49 <sup>a</sup>	0,68 ± 0,06 <sup>d</sup>	10,74 ± 0,34 <sup>d</sup>
Buthanol	43,57 ± 0,93 <sup>c</sup>	13,78 ± 0,11 <sup>a</sup>	183,04 ± 0,34 <sup>a</sup>
Nước	30,78 ± 2,00 <sup>d</sup>	6,21 ± 0,26 <sup>b</sup>	85,42 ± 2,64 <sup>b</sup>

Các chữ cái trên cùng một cột chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P < 0,05)

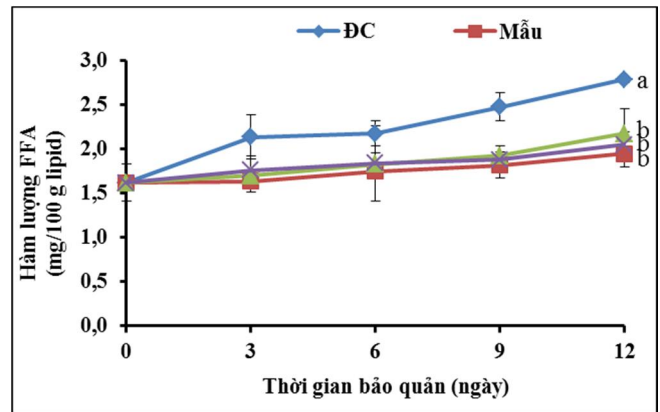
### 3.2. Khả năng hạn chế sự oxy hóa lipid trên cơ thịt cá bớp

Nghiên cứu này thử nghiệm khả năng hạn chế sự oxy hóa lipid trên cơ thịt cá bớp của phân đoạn dịch chiết ethyl acetate giàu polyphenol có hoạt tính chống oxy hóa từ rong *S. mcclurei*. Để đánh giá tổng thể sự oxy hóa lipid, nghiên cứu này đánh giá 3 chỉ tiêu bao gồm: hàm lượng acid béo tự do (FFA), chỉ số peroxide (PV) và chỉ số chỉ số TBARS.

#### 3.2.1. Sự thay đổi hàm lượng acid béo tự do (FFA)

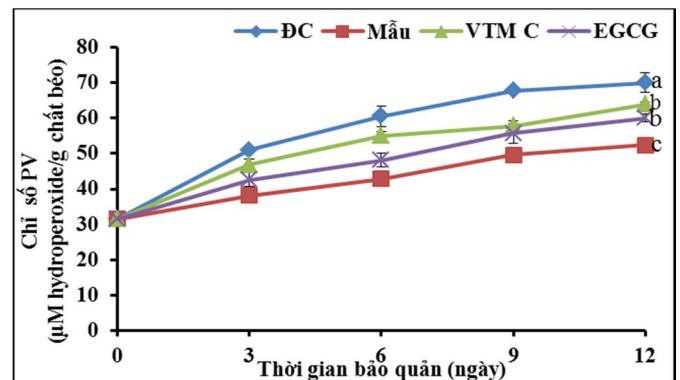
Lipid từ cá bớp chứa hàm lượng cao các acid béo không no có nhiều nối đôi như EPA và DHA. Sự thay đổi hàm lượng acid béo tự do (FFA) trong cơ thịt cá bớp bảo quản lạnh được thể hiện trong hình 1. Nhìn chung, hàm lượng FFA tăng lên theo thời gian bảo quản trong tất cả các mẫu nghiên cứu. Sự tăng lên của FFA đối với mẫu đối chứng (ĐC) cao hơn đáng kể so với các mẫu còn lại (P < 0,05) hay nói cách khác các mẫu có sử dụng chất chống oxy hóa đều có mức độ tăng FFA thấp hơn mẫu đối chứng. Giá trị FFA của mẫu đối chứng tăng lên từ 1,62 (0 ngày) lên 2,79mg/100g chất béo (sau 12 ngày bảo quản). Trong khi đó, đối với mẫu có xử lý bằng phân đoạn dịch chiết rong, giá trị này chỉ tăng từ 1,62 (0 ngày) đến 1,95mg/100g chất béo (sau 12 ngày bảo quản). Ở thời điểm cuối của quá trình bảo quản (sau 12 ngày), 2 mẫu đối chứng dương, bảo quản

bằng VTM C và EGCG có giá trị FFA lần lượt là 2,18 và 2,05mg/100 g chất béo; những giá trị này không khác biệt có ý nghĩa thống kê (P > 0,05) so với mẫu bảo quản bằng phân đoạn dịch chiết rong ở cùng nồng độ. Sự tăng lên của FFA được lý giải là do hoạt động của các enzyme trong nội tại cơ thịt mà chủ yếu là lipase và phospholipase [22].



Hình 1. Sự thay đổi hàm lượng acid béo tự do của thịt cá bớp theo thời gian bảo quản. ĐC: Mẫu đối chứng, Mẫu: Mẫu bảo quản bằng phân đoạn dịch chiết ethyl acetate, VTM C: Mẫu bảo quản bằng vitamin C, EGCG: Mẫu bảo quản bằng EGCG. Các chữ cái khác nhau chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu bảo quản (P < 0,05)

#### 3.2.2. Sự thay đổi chỉ số peroxide (PV)



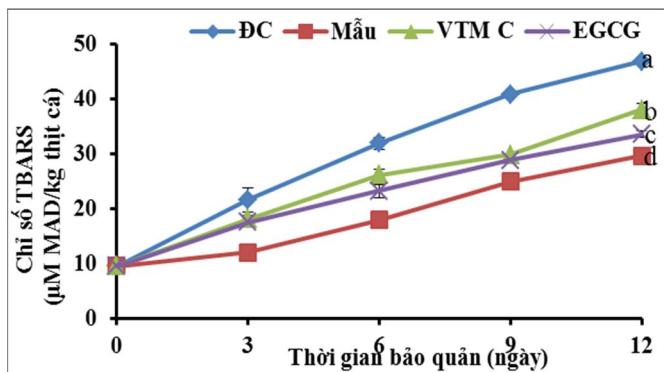
Hình 2. Sự thay đổi chỉ số PV của thịt cá bớp theo thời gian bảo quản. ĐC: Mẫu đối chứng, Mẫu: Mẫu bảo quản bằng phân đoạn dịch chiết ethyl acetate, VTM C: Mẫu bảo quản bằng vitamin C, EGCG: Mẫu bảo quản bằng EGCG. Các chữ cái khác nhau chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu bảo quản (P < 0,05)

Để đánh giá mức độ oxy hóa chất béo trong giai đoạn đầu, chỉ số peroxide (PV) thường được áp dụng. Hình 2 trình bày kết quả đánh giá sự thay đổi chỉ số peroxide của thịt cá bớp bảo quản lạnh. Xu hướng chung của sự thay đổi đó là chỉ số PV tăng theo thời gian bảo quản trong tất cả các mẫu. Mẫu đối chứng có chỉ số PV tăng nhanh hơn so với các mẫu còn lại (P < 0,05). Tại thời điểm kết thúc của quá trình bảo quản (12 ngày), chỉ số PV của mẫu ĐC là 70,02µM hydroperoxide/g chất béo. Trong khi đó, giá trị này của các mẫu dịch chiết rong, EGCG và VTM C lần lượt là 52,39; 60,02; và 63,95µM hydroperoxide/g chất béo; có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P < 0,05) giữa các mẫu sau 12 ngày bảo quản, mẫu bảo quản bằng phân đoạn dịch chiết ethyl acetate từ rong có chỉ số PV thấp nhất. Sự hạn chế

quá trình oxy hóa chất béo trong cơ thịt cá bớp bởi dịch chiết có thể được lý giải là bởi vì trong dịch chiết có chứa các chất chống oxy hóa, có khả năng khử gốc tự do và khóa các ion kim loại [23].

**3.2.3. Sự thay đổi của chỉ số TBARS**

Để đánh giá mức độ oxy hóa chất béo ở mức độ sâu hơn, người ta thường sử dụng chỉ số TBARS để xác định hàm lượng các sản phẩm của quá trình oxy hóa bậc hai của lipid. Đây là một chỉ số sử dụng khá phổ biến để nghiên cứu về sự oxy hóa của chất béo. Kết quả nghiên cứu chỉ ra trong Hình 3 cho thấy chỉ số TBARS cũng có xu hướng tăng theo thời gian bảo quản. Trong đó, mẫu đối chứng (ĐC) tăng cao nhất, xếp tiếp theo là các mẫu bảo quản bằng VTM C, EGCG và phân đoạn dịch chiết rong (P < 0,05). Giá trị TBARS của mẫu đối chứng tại thời điểm 12 ngày bảo quản là 46,88µM MAD/kg thịt cá. Trong khi đó, giá trị này của các mẫu bảo quản bằng VTM C, EGCG và phân đoạn dịch chiết rong lần lượt là 38,12; 33,62 và 29,64µM MAD/kg thịt cá. Kết quả này có thể được giải thích như sau, dịch chiết từ rong có chứa một hàm lượng đáng kể các hợp chất polyphenol có hoạt tính chống oxy hóa mạnh (các kết quả nghiên cứu trình bày ở trên). Theo Yamamoto [24], các chất chống oxy hóa này có khả năng khóa các ion kim loại như Fe<sup>2+</sup> và Cu<sup>2+</sup>, các ion kim loại này có khả năng xúc tác quá trình oxy hóa lipid. Các thí nghiệm ở trên đã cho thấy, phân đoạn dịch chiết ethyl acetate từ rong có hoạt tính khử sắt mạnh, điều này lý giải cho khả năng hạn chế sự tạo thành các sản phẩm oxy hóa lipid bậc hai trên cơ thịt cá bớp.

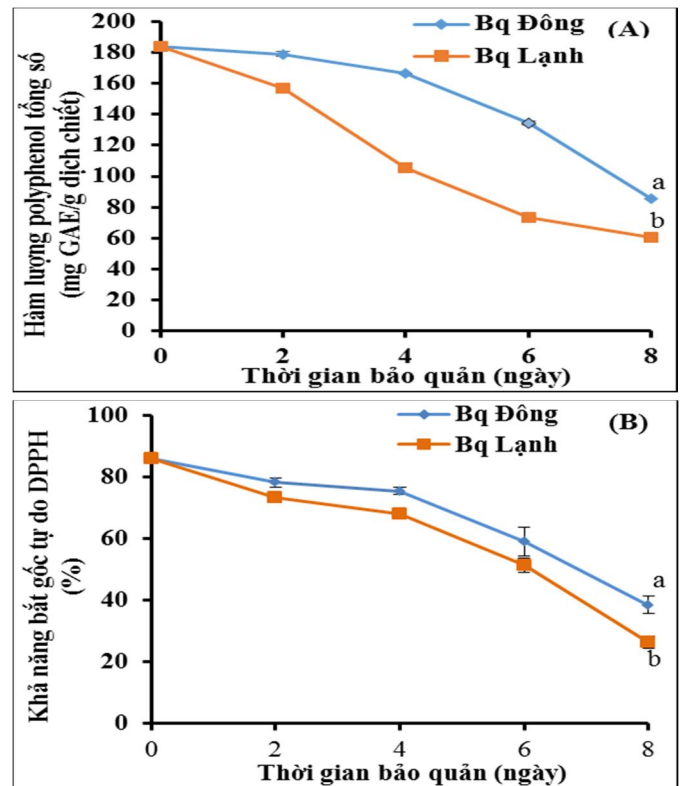


Hình 3. Sự thay đổi chỉ số TBARS của thịt cá bớp theo thời gian bảo quản. ĐC: Mẫu đối chứng, Mẫu: Mẫu bảo quản bằng phân đoạn dịch chiết ethyl acetate, VTM C: Mẫu bảo quản bằng vitamin C, EGCG: Mẫu bảo quản bằng EGCG. Các chữ cái khác nhau chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu bảo quản (P < 0,05)

**3.3. Sự ổn định hàm lượng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa theo thời gian bảo quản**

Để dịch chiết có thể ứng dụng được trong các điều kiện thực tế, việc nghiên cứu sự thay đổi các chất có hoạt tính sinh học trong dịch chiết rong biển trong quá trình bảo quản là cần thiết. Trong nghiên cứu này, sự thay đổi hàm lượng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của phân đoạn dịch chiết ethyl acetate trong quá trình bảo quản lạnh (ở nhiệt độ 4°C) và bảo quản đông (ở nhiệt độ -18°C) được đánh giá. Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng

polyphenol giảm dần theo thời gian bảo quản từ ngày 0 đến ngày thứ 8; dịch chiết bảo quản lạnh giảm nhanh hơn so với dịch chiết bảo quản đông (hình 4A). Hàm lượng polyphenol ở thời điểm bắt đầu bảo quản (ngày 0) là 183,62; giá trị này trong dịch chiết bảo quản lạnh ở các ngày 2, 4, 6 và 8 lần lượt là 156,73; 105,59; 73,73 và 63,34mg GAE/g dịch chiết. Trong khi đó, giá trị này trong dịch chiết bảo quản đông ở các ngày 2, 4, 6 và 8 lần lượt là 178,82; 166,21; 134,34 và 85,80mg GAE/g dịch chiết. Như vậy, sau 8 ngày bảo quản, hàm lượng polyphenol trong dịch chiết bảo quản lạnh và bảo quản đông giảm lần lượt là 65,51 và 53,27%. Sự giảm hàm lượng các chất polyphenol trong dịch chiết rong theo thời gian bảo quản, có thể được giải thích như sau: polyphenol có hoạt tính chống oxy hóa mạnh, do đó nhóm chất này có xu hướng xảy ra quá trình tự oxy hóa (autooxidation) trong quá trình bảo quản và thay đổi cấu trúc, dẫn đến giảm hàm lượng. Với đặc điểm có cấu trúc vòng thơm, polyphenol rất dễ bị oxy hóa. Các gốc tự do tạo thành từ quá trình tự oxy hóa sẽ phản ứng với các gốc tự do khác trong dịch chiết rong, tạo thành các chất nhị trùng (dimer). Các gốc tự do electron di chuyển trên phân tử, dẫn đến sự tạo thành nhiều nhóm hợp chất khác nhau [25].



Hình 4. Sự thay đổi hàm lượng polyphenol tổng số (A) và hoạt tính khử gốc tự do DPPH (B) của phân đoạn dịch chiết ethyl acetate theo thời gian bảo quản. Các chữ cái khác nhau chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu bảo quản (P < 0,05)

Hoạt tính khử gốc tự do DPPH của phân đoạn dịch chiết ethyl acetate theo thời gian bảo quản cũng giảm; mức độ giảm của dịch chiết khi bảo quản lạnh cao hơn so với bảo quản đông (hình 4B). Cụ thể, sau 8 ngày bảo quản đông, hoạt tính khử gốc tự do DPPH của dịch chiết giảm từ 85,92%

xuống 26,32% trong khi đó, giá trị này thay đổi từ 85,92% đến 38,57% đối với quá trình bảo quản đông. Cuong và cộng sự [6] nghiên cứu sự thay đổi hoạt tính chống oxy hóa và hàm lượng phlorotannin của 6 loài thuộc chi *Sargassum* trong nguyên liệu rong khô. Hoạt tính chống oxy hóa và hàm lượng phlorotannin của cả 6 loài đều giảm sau 24 tháng bảo quản. Đối với rong *S. mcclurei*, sau 18 tháng bảo quản hàm lượng phlorotannin trong rong nguyên liệu giảm 50,95%. Như vậy, sự biến đổi của hợp chất chống oxy hóa và hoạt tính chống oxy hóa trong rong khô nguyên liệu trong quá trình bảo quản, giảm chậm nhiều hơn so với dịch chiết.

#### 4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy phân đoạn dịch chiết ethyl acetate từ rong *S. mcclurei* có hàm lượng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa cao. Phân đoạn dịch chiết này có khả năng hạn chế sự oxy hóa lipid trên cơ thịt cá bớp bảo quản lạnh. Kết quả nghiên cứu bước đầu này cho thấy tiềm năng lớn trong việc sử dụng dịch chiết từ rong *S. mcclurei* để phát triển thực phẩm chức năng và làm chất bảo quản thủy sản sau thu hoạch. Những nghiên cứu tiếp theo cần đánh giá đầy đủ các chỉ tiêu chất lượng về cảm quan, hóa lý, vi sinh của nguyên liệu thủy sản bảo quản. Việc tinh sạch hoặc chỉ rõ các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa trong rong cũng cần được nghiên cứu.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài khoa học công nghệ tỉnh Khánh Hòa do TS. Nguyễn Thế Hàn làm chủ nhiệm (mã số: ĐT-2017-20902-ĐL).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Masniyom P., Benjakul S., Visessanguan, W., 2005. *Combination effect of phosphate and modified atmosphere on quality and shelf-life of refrigerated seabass slices*. LWT-Food Science and Technology, 38: 745-756.
- [2]. Shahidi F., Zhong Y., 2010. *Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion*. European Journal of Lipid Science and Technology, 112: 930-940.
- [3]. Cory H., Passarelli S., Szeto J., Tamez M., Mattei J. (2018). *The role of polyphenol in human health and food systems: A Mini-Review*. Frontiers in Nutrition, 5-11.
- [4]. Nguyễn Hữu Đại, 1997. *Rong mơ (Sargassum) Việt Nam: Nguồn lợi và sử dụng*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, 12-15.
- [5]. Nguyễn Duy Nhứt, 2008. *Nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của polysaccharit trong một số loài rong nâu ở tỉnh Khánh Hòa*. Luận văn Tiến sỹ hoá học, Viện Hoá học - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 41-42.
- [6]. Cuong D.X., Boi V.N., Van T.T.T., 2016. *Effect of storage time on phlorotannin content and antioxidant activity of six Sargassum species from Nhatrang Bay, Vietnam*. Journal of Applied Phycology, 28: 567-572.
- [7]. Miranda J.M., Ortiz, J., Barros-Velázquez J., Aubourg S.P., 2016. *Quality enhancement of chilled fish by including alga *Bifurcaria bifurcata* extract in the icing medium*. Food and Bioprocess Technology, 9: 387-395.
- [8]. Phạm Thị Mỹ Hiền, Nguyễn Thị Huyền, Nguyễn Thế Hàn, 2017. *Nghiên cứu khả năng chống oxy hóa của dịch chiết rong nâu *Sargassum mcclurei* và ứng dụng để hạn chế sự oxy hóa lipid trên thịt cá thu xay*. Tạp chí Khoa học và công nghệ, 43: 99-106.

- [9]. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M., 1999. *Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent*. Methods in Enzymology, 299: 152-78.
- [10]. Fu H.Y., Shieh D.E., 2002. *Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms*. Journal of Food Lipid, 9: 35-46.
- [11]. Oyaizu M., 1986. *Antioxidant activity of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography*. Nippon Shokukhin Kogyo Gakkaishi, 3: 771-775.
- [12]. Lemon D.W., 1975. *An improved TBA test for rancidity*. New Series Circular, 51: 52-55.
- [13]. Richards M.P., Hultin H.O., 2002. *Contributions of blood and blood components to lipid oxidation in fish muscle*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 555-564.
- [14]. Bligh E.G., Dyer, W.J., 1959. *A rapid method of total lipid extraction and purification*. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37: 911-917.
- [15]. Lowry R.R., Tinsley I.J., 1976. *Rapid colorimetric determination of free fatty acids*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 53: 470-472.
- [16]. Peschel W., Sánchez-Rabaneda F., Diekmann W., Plescher A., Gartzia I., Jiménez D., Codina C., 2006. *An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes*. Food Chemistry, 97: 137-150.
- [17]. Chakraborty K., Praveen N.K., Vijayan K.K., Rao G.S., 2013. *Evaluation of phenolic contents and antioxidant activities of brown seaweeds belonging to Turbinaria spp. (Phaeophyta, Sargassaceae) collected from Gulf of Mannar*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 3: 8-16.
- [18]. Suffness M., Newman DJ., Snader K., 1989. *Discovery and development of antineoplastic agents from natural sources*. Bioorganic Marine Chemistry, 3: 131-168.
- [19]. Cho M., Kang I.J., Won M.H., Lee H.S., You, S., 2010. *The antioxidant properties of ethanol extracts and their solvent-partitioned fractions from various green seaweeds*. Journal of Medicinal Food, 13: 1232-1239.
- [20]. Ebrahimzadeh M.A., Khalili M., Dehpour A.A., 2018. *Antioxidant activity of ethyl acetate and methanolic extracts of two marine algae, *Nannochloropsis oculata* and *Gracilaria gracilis*-in vitro assay*. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 54: 70-79.
- [21]. Li Y., Fu X., Duan D., Liu X., Xu J., Gao X., 2017. *Extraction and identification of phlorotannins from the brown alga, *Sargassum fusiforme* (Harvey) Setchell*. Marine Drugs, 15: 49.
- [22]. Vilma Č., Saulius G., Egidijus B., 2009. *Selection of fat-degrading microorganisms for the treatment of lipid-contaminated environment*. Biologija, 55: 84-92.
- [23]. Kondo K., Kurihara M., Miyata N., Suzuki T., Toyoda M., 1999. *Mechanistic studies of catechins as antioxidants against radical oxidation*. Archives of Biochemistry and Biophysics, 362: 79-86.
- [24]. Yamamoto S., 1992. *Mammalian lipoxygenases: molecular structures and functions*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism, 1128: 117-131.
- [25]. Vermerris W., Nicholson R., 2007. *Phenolic compound biochemistry*. Food Chemistry, 7: 44-54.

#### AUTHORS INFORMATION

**Nguyen The Han<sup>1</sup>, Nguyen Le Thuy Linh<sup>1,2</sup>, Nguyen Van Minh<sup>1</sup>, Khong Trung Thang<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Faculty of Food Technology, Nha Trang University

<sup>2</sup>Sanna Khanh Hoa Beverage JSC, Khanh Hoa Salangane Nest Company