



ẢNH HƯỞNG CỦA DUNG MÔI CHIẾT TÁCH ĐẾN HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA CỦA CAO CHIẾT TỪ BỘT TẢO SPIRULINA (*Anthrospira platensis*)

Nguyễn Lê Anh Đào*, Nguyễn Thị Cẩm Tiên và Trần Minh Phú

Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Lê Anh Đào (email: nladao@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 17/05/2018

Ngày nhận bài sửa: 12/06/2018

Ngày duyệt đăng: 30/07/2018

Title:

Effect of extraction solvents on the antioxidant activity of *Spirulina (Anthrospira platensis)* powder extracts

Từ khóa:

Anthrospira platensis, chống oxy hóa, tảo *Spirulina*

Keywords:

Antioxidant, *Anthrospira platensis*, *Spirulina*

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the antioxidant property of *Spirulina (Anthrospira platensis)* powder extracts which could be applied in aquatic product preservation. The extracts of *Spirulina* powder were prepared by two solvents such as hot water at 100°C in 3 hours and 90% ethanol extraction in 12 hours. This study included two experiments: (i) to investigate the antioxidant activity of *Spirulina* extracts through evaluating the capacity of elimination free radicals DPPH and the total phenolic compounds presented in the extract, (ii) to assess the antioxidative efficiency of *Spirulina* extract supplemented in soybean oil, marine fish oil and catfish oil at 60°C. Results showed that the extract obtained from ethanol had higher DPPH free radical scavenging at 67.1% (IC₅₀ = 0,66 mg/mL) compared to hot water extracted sample, which possessed higher total phenolic compounds at 7,47 mgGAE/g of dry matter. These indicated the potential application of *Spirulina* extract from ethanol in preservation of soybean oil and marine fish oil.

TÓM TẮT

Đề tài được thực hiện nhằm mục đích khảo sát khả năng chống oxy hóa của cao chiết từ bột tảo *Spirulina (Anthrospira platensis)*, từ đó làm tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng cao chiết tảo trong việc bảo quản các sản phẩm thủy sản. Cao chiết được chuẩn bị từ dung môi chiết là nước nóng ở 100°C trong 3 giờ và ethanol 90% trong 12 giờ. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết được đánh giá thông qua khả năng khử gốc tự do 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) và tổng hàm lượng phenolic có trong cao chiết. Cao chiết từ bột tảo được bổ sung vào dầu đậu nành, dầu cá biển và dầu cá tra nhằm đánh giá khả năng chống oxy hóa ở nhiệt độ 60°C được thực hiện thông qua việc xác định chỉ số peroxide (PV) và Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS). Kết quả cho thấy, cao chiết thu được từ dung môi ethanol 90% có hoạt tính khử gốc tự do DPPH (67,1%), với giá trị nồng độ chất chống oxy hóa mà hoạt tính đạt được 50% (IC₅₀) là 0,66 mg/mL, cao hơn so với mẫu cao chiết từ nước nóng 100°C. Tuy nhiên, tổng hàm lượng hợp chất phenolic của cao chiết từ nước nóng lại cao hơn, đạt giá trị 8,11 mg acid gallic trong đương (GAE)/g cao chiết. Sự khác biệt về chỉ số peroxide trong suốt 6 ngày bảo quản các mẫu dầu đậu nành và dầu cá biển ở 60°C cho thấy tiềm năng của việc ứng dụng cao chiết bột tảo *Spirulina* từ ethanol trong quá trình bảo quản các loại dầu khác nhau.

Trích dẫn: Nguyễn Lê Anh Đào, Nguyễn Thị Cẩm Tiên và Trần Minh Phú, 2018. Ảnh hưởng của dung môi chiết tách đến hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết từ bột tảo *Spirulina (Anthrospira platensis)*. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(Số chuyên đề: Thủy sản)(2): 218-226.

1 GIỚI THIỆU

Tảo *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) là một trong những loài sinh vật lâu đời nhất trên trái đất. Nó sinh trưởng tự nhiên ở vùng nhiệt đới trong các hồ nước mặn của Châu Phi, Trung và Nam Mỹ từ 3,6 tỷ năm trước. *Spirulina* là tên gọi do nhà tảo học người Đức –Deurben đặt vào năm 1827 dựa trên hình thái đặc trưng nhất là dạng sợi xoắn ốc với khoảng 5-7 vòng đều nhau không phân nhánh. Tảo *Spirulina* có giá trị dinh dưỡng cao, chứa protein thực vật phong phú chiếm 60-70% tính theo khối lượng khô, là nguồn cung cấp các vitamin như tiền vitamin A (β -carotene), vitamin B12 và chất khoáng (đặc biệt là sắt) (Koru, 2012). Bên cạnh đó, *Spirulina* có chứa nhiều acid béo thiết yếu như acid linoleic, acid linolenic (Ötles and Pire, 2001) và là nguồn giàu các hợp chất chống oxy hóa như: phycocyanin, allophycocyanin (Boussiba and Richmond, 1979; Brejc *et al.*, 1995), amino acid (Cohen, 1997). Một số nghiên cứu cũng chỉ ra rằng chiết xuất từ tảo *Spirulina* có khả năng ngăn ngừa ung thư, giảm cholesterol trong máu, chống lại tác hại của các tia bức xạ và tăng cường hệ miễn dịch (Belay *et al.*, 1994). Trong những năm gần đây, ngày càng có nhiều nghiên cứu về hiệu quả của các hợp chất tự nhiên có hoạt tính chống oxy hóa (Duh *et al.*, 1992; Yen *et al.*, 1996; Miyake and Shibamoto, 1997), đồng thời việc sử dụng các chất chống oxy hóa tổng hợp đã bị hạn chế do các nguy cơ gây ngộ độc và ung thư (Gazzani *et al.*, 1998; Yen *et al.*, 1998). Theo Ravi *et al.* (2010), *Spirulina* và các thành phần của nó đã được chứng minh có những lợi ích tích cực về việc cải thiện sức khỏe con người từ suy dinh dưỡng đến các đặc tính chống oxy hóa. Manoj *et al.* (1992) đã báo cáo rằng cao chiết *Spirulina* từ côn có khả năng ức chế quá trình peroxide hóa lipid đáng kể (65%) so với các chất chống oxy hóa hóa học như α -tocopherol (35%), hydroxyanisol butylated (45%) và β -carotene (48%). Cao chiết từ nước của tảo *Spirulina* cũng có tác dụng chống oxy hóa cao hơn (76%) so với acid gallic (54%) và acid chlorogenic (56%). Trong nghiên cứu có liên quan đến hoạt tính chống oxy hóa và chống ung thư của cao chiết tảo *Spirulina*, Abuzaid *et al.* (2015) đã công bố cao chiết từ nước của tảo *Spirulina* có tổng hàm lượng phenolic và khả năng chống oxy hóa cao, là sản phẩm tự nhiên triển vọng trong chống ung thư với đặc tính chống tăng sinh trong tế bào ung thư đại tràng và ung thư biểu mô tế bào gan ở người. Tuy nhiên, số lượng các nghiên cứu khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết từ tảo *Spirulina* trong các điều kiện chiết tách khác nhau vẫn còn hạn chế. Xuất phát từ thực tế trên,

đề tài “Ảnh hưởng của dung môi chiết tách đến hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết từ bột tảo *Spirulina* (*Arthrospira platensis*)” đã được thực hiện nhằm xác định điều kiện chiết phù hợp để thu được cao chiết giàu chất chống oxy hóa từ tảo *Spirulina*, từ đó làm cơ sở để ứng dụng cao chiết này trong việc bảo quản các sản phẩm thủy sản.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Tảo *Spirulina* thương phẩm (dạng bột) được mua từ Công ty Cổ phần Dược Hậu Giang. Mẫu dầu sử dụng trong thí nghiệm bảo quản gồm dầu đậu nành Simply của Công ty Cổ phần Dầu thực vật Tường An, dầu cá tra và dầu cá biển được điều chế từ Phòng thí nghiệm Dinh Dưỡng và Chế biến Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

Các hóa chất sử dụng trong phân tích gồm: Ethanol 90%, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), Folin - Ciocalteu, Na_2CO_3 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, HCl, acid 2-thiobarbituric, acid Trichloroacetic và một số hóa chất chuyên dụng trong phòng thí nghiệm cùng các thiết bị cần thiết cho quá trình phân tích.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Chuẩn bị cao chiết từ bột tảo *Spirulina*

Đối với dung môi chiết là nước nóng, cân 10 g bột tảo đem xử lý trong 300 mL nước nóng với thời gian chiết là 3 giờ (Huỳnh Trường Giang và *ctv.*, 2012). Đối với dung môi chiết là ethanol 90%, cân 10 g bột tảo xử lý trong 300 mL dung dịch ethanol 90% trong 12 giờ ở nhiệt độ phòng (Huỳnh Trường Giang và *ctv.*, 2012). Tất cả các mẫu được lọc qua giấy lọc Whatman. Phần dung dịch được ly tâm với tốc độ 4.000 vòng/phút ở 25°C trong 5 phút và thu lấy phần lắng, sau đó tiếp tục làm khô ở 60°C để thu được mẫu cao, tiến hành cân và xác định hàm lượng khối lượng cao chiết thu được.

Hiệu suất thu hồi được tính theo công thức sau:

$$\% \text{ Hiệu suất thu hồi} = \frac{W_e}{W_p} \times 100\%$$

Trong đó:

W_e là tổng khối lượng cao chiết thu được (g).

W_p là khối lượng bột tảo sử dụng để chiết tách (g).

Các mẫu cao chiết được bảo quản trong tủ mát ở nhiệt độ $4 \pm 2^\circ\text{C}$ cho đến khi sử dụng.

2.2.2 Đánh giá khả năng khử gốc tự do DPPH của cao chiết bột tảo bằng nước nóng ở 100°C và ethanol 90%

Cao chiết được đánh giá hoạt tính chống oxy hóa thông qua xác định khả năng khử gốc tự do DPPH theo phương pháp của Thiangthum *et al.* (2012). Dung dịch DPPH ở nồng độ 50 µg/mL được chuẩn bị trong dung môi methanol. Dung dịch cao chiết từ bột tảo được chuẩn bị ở nồng độ 2 mg/mL trong methanol. Sử dụng đĩa 96 giếng, hút 100 µL dung dịch cao chiết vào các giếng và thực hiện pha loãng 2 lần liên tiếp sao cho nồng độ cuối cùng ở mỗi giếng trong cùng một cột giảm từ 125 đến 1 µg/mL. Tiếp theo, 100 µL dung dịch DPPH (50 µg/mL) được lấy và thêm vào tất cả các giếng (bao gồm mẫu trắng). Mẫu chỉ chứa methanol (mẫu trắng) là mẫu đối chứng. Đĩa được đem ủ tối trong 30 phút ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ được đo ở bước sóng λ=490 nm bằng máy Multiskan Ex Microplate reader.

phần trăm gốc DPPH bị ức chế (% hoạt tính oxy hóa) được tính toán như sau:

$$\%DPPH \text{ bị ức chế} = \frac{A \text{ blank} - A \text{ mẫu}}{A \text{ blank}} \times 100\%$$

Trong đó:

A mẫu là độ hấp thụ mẫu có chứa dung dịch chất chống oxy hóa.

A blank là độ hấp thụ mẫu trắng.

Hàm lượng chất chống oxy hóa được tính toán giá trị trung bình và độ lệch chuẩn ở các nghiệm thức. Nồng độ chất chống oxy hóa và hoạt tính chống oxy hóa (%) được xử lý để đánh giá độ tương quan. Giá trị IC₅₀ được xác định là giá trị nồng độ chất chống oxy hóa mà hoạt tính đạt được là 50%, được ước lượng thông qua phương trình tương quan Y=aX+b giữa nồng độ chất chống oxy hóa và hoạt tính (%).

2.2.3 Xác định tổng hàm lượng hợp chất phenolic

Cao chiết bột tảo Spirulina thu được từ hai loại dung môi nước nóng và ethanol 90%, được xác định hàm lượng hợp chất phenolic theo phương pháp của Singleton and Rossi (1965). Cao chiết bằng nước nóng và bằng ethanol được chuẩn bị với nồng độ ban đầu lần lượt là 10 mg/mL và 4 mg/mL. Các mẫu cao được pha loãng để đạt được nồng độ 50 µg/mL hoặc cao hơn, phụ thuộc vào các loại cao chiết và mức độ chống oxy hóa của cao chiết nhưng thể tích cuối cùng là 0,2 mL. Sau đó 0,1 mL được thêm vào thuốc thử Folin – Ciocalteu và 0,5 mL Na₂CO₃ 20%. Lắc đều ống nghiệm và tiếp tục thêm vào 0,2 mL Na₂CO₃ 20%. Các ống nghiệm được ly tâm 14.000

vòng/phút trong 3 phút, sau đó để yên trong bóng tối 20 phút ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 740 nm.

Xây dựng đường chuẩn bằng dung dịch gallic acid ở các nồng độ 0, 1, 2, 4, 5, 10 µg/mL. Hàm lượng phenolic tổng được tính tương đương với acid gallic (GAE) mg/kg nguyên liệu khô. Phản ứng thực hiện tương tự các bước như đối với mẫu cao chiết bên trên. Thí nghiệm gồm 2 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

2.2.4 Khảo sát khả năng chống oxy hóa của cao chiết tảo khi bổ sung vào dầu đậu nành, dầu cá biển và dầu cá tra

Thí nghiệm được bố trí với các mẫu dầu được bổ sung cao chiết tảo từ dung môi chiết là nước nóng ở 100°C và ethanol 90% vào 3 loại dầu (dầu đậu nành, dầu cá biển và dầu cá tra). Nghiệm thức đối chứng là mẫu dầu không có bổ sung cao chiết. Thí nghiệm gồm 9 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Tổng số mẫu là 27. Chuẩn bị mẫu thí nghiệm: hòa tan cao chiết trong ethanol với thể tích ethanol không vượt quá 4% so với khối lượng mẫu bảo quản cuối cùng. Sau đó 20 g dầu được thêm vào tương ứng với từng nghiệm thức là dầu đậu nành, dầu cá tra và dầu cá biển để đạt được nồng độ IC₅₀ tương ứng cho mỗi cao chiết. Mẫu được trộn đều bằng đĩa thủy tinh trong 10 phút, thổi khí nitơ 3 phút để loại ethanol (Douny *et al.*, 2016). Sau đó mẫu được trữ trong ống falcon 50 mL và đem bảo quản trong tủ sấy 60°C, lấy mẫu ở các mốc thời gian 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 ngày. Mẫu được đem đi đánh giá sự oxy hóa chất béo qua các ngày bảo quản bằng chỉ tiêu PV (International IDF Standards, 1991), TBARS (Ke and Woyewoda, 1979).

2.3 Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả được tính toán trung bình, độ lệch chuẩn bằng phần mềm Microsoft Excel 2013. Việc so sánh sự khác biệt thống kê giữa trung bình các nghiệm thức được thực hiện bằng phương pháp phân tích phương sai một nhân tố (Oneway Anova) và phép thử Duncan ở mức ý nghĩa 95%, sử dụng phần mềm SPSS 16.0.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết tảo bằng nước nóng và ethanol 90%

3.1.1 Hoạt tính khử gốc tự do DPPH

Hoạt tính khử gốc tự do DPPH là một trong những phương pháp được sử dụng rộng rãi để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết từ các loài thực vật. Kết quả khảo sát khả năng khử gốc tự do DPPH của cao chiết thu được từ hai loại dung môi chiết khác nhau được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1: Hoạt tính khử gốc tự do DPPH của cao chiết tảo bằng nước 100°C và ethanol 90%

Dung môi	%DPPH ức chế	IC ₅₀ (mg/mL)	Phương trình	R ²
Nước 100°C	37,2	67,1	y = 0,015x + 1,2905	0,9668
Ethanol 90%	67,1	0,66	y = 0,0515x + 16,243	0,9906

Bảng 1 cho thấy, cao chiết thu được khi ly trích bằng ethanol 90% cho hoạt tính khử gốc tự do DPPH cao nhất. Ở nồng độ 4,0 mg/mL, hoạt tính loại bỏ gốc tự do DPPH là 67,1%, giá trị IC₅₀ = 0,66 mg/mL, trong khi đó cao chiết được ly trích bằng nước nóng ở 100°C thì hoạt tính loại bỏ gốc tự do DPPH rất thấp. Ở nồng độ 10,0 mg/mL, hoạt tính này chỉ đạt 37,2% với giá trị IC₅₀ là 3,25 mg/mL. Theo nghiên cứu của Abuzaid *et al.* (2015), sử dụng phương pháp chiết với dung môi nước lạnh là phương pháp lắ cho hoạt tính loại bỏ gốc tự do DPPH 77,5% ở nồng độ 10,0 mg/mL cao chiết tảo Spirulina, trong khi kết quả của nghiên cứu này chỉ là 37,2% ở cùng nồng độ. Ngoài ra, nghiên cứu của Herrero *et al.* (2003) ly trích *Spirulina platensis* bằng ethanol với phương pháp chiết được sử dụng là hệ thống chiết dung môi tăng tốc ASE 200 có giá trị IC₅₀ = 0,10 mg/mL. Trong khi đó, kết quả của

nghiên cứu này IC₅₀ = 0,66 mg/mL có sự khác biệt này do điều kiện ly trích khác nhau. Theo Giang và *ctv.* (2012) việc ly trích hỗn hợp polysaccharide từ *Sargassum mcclurei* bằng dung môi nước nóng ở 100°C và ethanol 90% cho kết quả hoạt tính khử gốc tự do DPPH của hỗn hợp polysaccharide từ *Sargassum mcclurei* có giá trị IC₅₀ = 3,08 mg/mL và 3,04 mg/mL, tương ứng với dung môi chiết là nước nóng ở 100°C và ethanol 90%. Kết quả nghiên cứu trên tảo Spirulina trong nghiên cứu này cho thấy giá trị IC₅₀ của mẫu cao chiết bằng ethanol thấp hơn (0,66 mg/mL), chứng tỏ hoạt tính khử gốc tự do DPPH của tảo Spirulina khi chiết tách bằng dung môi ethanol cao hơn rong mơ *Sargassum mcclurei*.

3.1.2 Tổng hàm lượng hợp chất phenolic có trong cao chiết

Tổng hàm lượng phenolic có trong cao chiết và hiệu suất thu hồi cao chiết được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2: Tổng hàm lượng phenolic và hiệu suất thu hồi các mẫu cao chiết

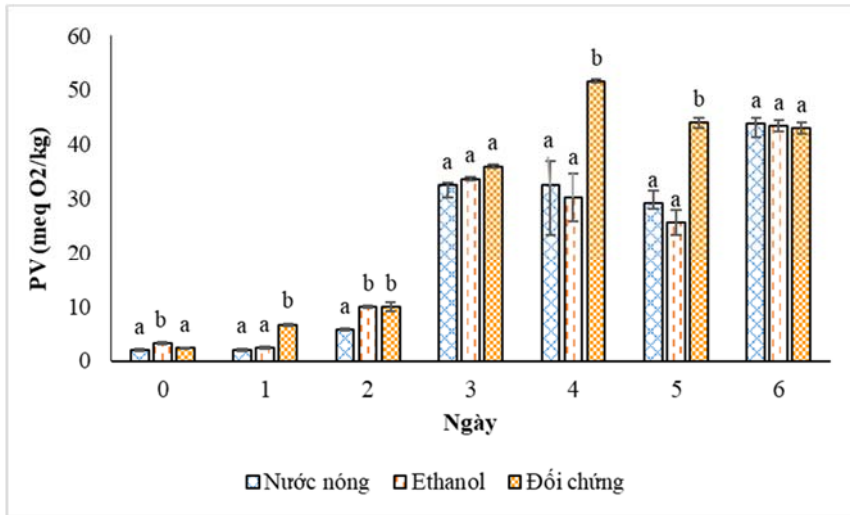
Dung môi	Nồng độ acid gallic tương đương (GAE) (mg/g nguyên liệu chất khô)	Hiệu suất thu hồi cao chiết (%)
Nước 100°C	8,11 ± 0,02	17,5
Ethanol 90%	7,47 ± 0,04	8,10

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy, tổng hàm lượng hợp chất phenolic có trong cao chiết bằng dung môi nước 100°C và ethanol 90%, tương ứng là 8,11 và 7,47 mgGAE/g nguyên liệu khô. Nghiên cứu của Wu *et al.* (2005) đã chỉ ra rằng, hợp chất phenolic có trong *S. platensis* khi ly trích bằng nước lạnh sử dụng phương pháp khuấy cho kết quả là 6,86 mgGAE/g nguyên liệu khô. Nghiên cứu hoạt tính chống oxy hóa của tảo *Spirulina maxima* với dung môi chiết là methanol của Miranda *et al.* (1998) cũng cho kết quả hợp chất phenolic trong cao chiết là 15,4 mgGAE/g nguyên liệu khô. Kết quả trong nghiên cứu này thấp hơn so với các nghiên cứu được

nêu ở trên do sự khác biệt về độ hòa tan hợp chất phenolic trong các dung môi khác nhau và sự khác biệt về thành phần loài của các loài tảo khác nhau (Wu *et al.*, 2005). Điều này cho thấy được hàm lượng hợp chất phenolic trong tảo *Spirulina (Arthrospira platensis)* thấp hơn so với tảo *Spirulina maxima (Arthrospira maxima)*.

3.2 Khả năng chống oxy hóa của cao chiết tảo khi bổ sung vào dầu đậu nành, dầu cá biển và dầu cá tra

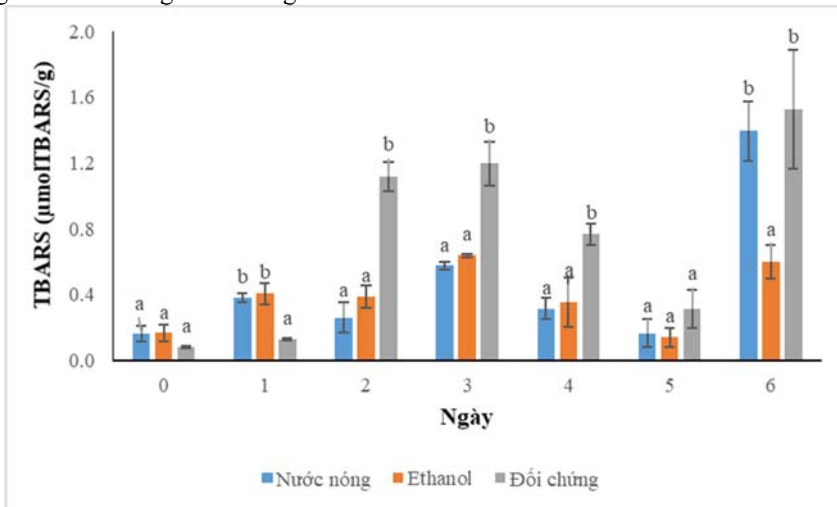
Kết quả đánh giá sự oxy hóa lipid sơ cấp và thứ cấp bằng chỉ tiêu PV và TBARS khi bổ sung cao chiết vào dầu đậu nành được thể hiện ở Hình 1 và 2.



Hình 1: Sự thay đổi giá trị PV của dầu đậu nành trong quá trình bảo quản

Trong 6 ngày bảo quản, giá trị PV tăng dần và có sự biến đổi giữa các mẫu trong cùng một thời điểm bảo quản. Từ ngày bảo quản thứ nhất đến ngày thứ năm, các mẫu dầu có bổ sung cao chiết từ nước nóng và ethanol đều có giá trị PV thấp hơn đáng kể so với mẫu đối chứng. Trong đó, tại thời điểm thu mẫu ở ngày 1, 4 và 5, các mẫu có bổ sung cao chiết đều khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mẫu đối chứng ($p < 0,05$). Chỉ số peroxide tăng dần từ ngày 0 đến ngày 4, giảm ở ngày 5 và tăng lại ở ngày 6 vì trong giai đoạn quá trình oxy hóa diễn ra mạnh, sự hình thành các hợp chất hydroperoxide không giống nhau giữa các mẫu và qua các ngày lấy mẫu (Frankel, 2005), dẫn đến sự biến động giữa hai ngày thu mẫu 5 và 6. Ở ngày thứ 4, chỉ số peroxide của mẫu đối chứng là 51,6 meq O₂/kg dầu, vượt ngưỡng cho phép là 40 meq O₂/kg dầu chứng tỏ dầu đã bị oxy hóa (TCVN 6121:2007). Trong khi đó, ở mẫu dầu có bổ sung cao chiết bằng nước nóng ở 100°C

và ethanol 90% thì chỉ số PV vẫn nằm trong ngưỡng cho phép tương ứng là 32,6 và 30,3 meq O₂/kg dầu. Theo phương pháp AOCS Cg 5-97 của Michotte *et al.* (2011) sử dụng để mô phỏng sự lão hóa của dầu theo thời gian, tiến hành thí nghiệm với các loại dầu ở 60°C trong bóng tối. Một số tác giả đã chỉ ra mối liên hệ giữa các chỉ số oxy hóa thu được từ sự lão hóa dầu ở 60°C và nhiệt độ thường của môi trường xung quanh (Abou-Gharbia *et al.*, 1996; Evans *et al.*, 1973). Nghiên cứu của Douny *et al.* (2016) khi sử dụng butylated hydroxytoluene (BHT) và myricetin để bảo quản dầu hạt lanh ở nhiệt độ 20 và 60°C đã đưa ra giả thuyết về sự lão hóa dầu 1 ngày ở nhiệt độ 60°C, tương đương với sự lão hóa 1 tháng bảo quản ở nhiệt độ 20°C thông qua đánh giá các chỉ số PV và TBARS. Điều này có thể lập luận tương tự cho việc sử dụng cao chiết để bảo quản dầu đậu nành trong 4 ngày ở 60°C tương ứng với 4 tháng ở nhiệt độ 20°C.

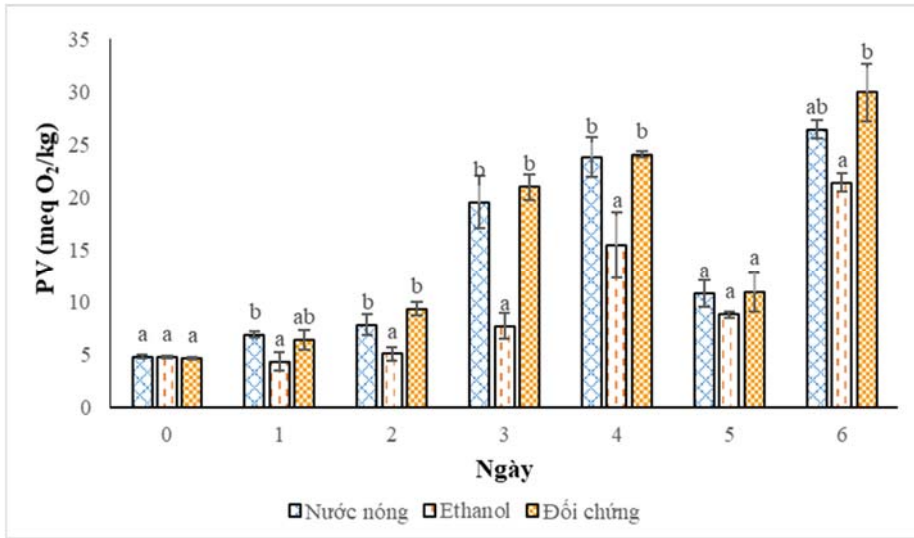


Hình 2: Sự thay đổi giá trị TBARS của dầu đậu nành trong quá trình bảo quản

Giá trị TBARS ($\mu\text{molTBARS/g}$) của mẫu dầu đối chứng cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với mẫu dầu có bổ sung cao chiết giữa các ngày bảo quản. Tại ngày bảo quản thứ 3, mẫu dầu không bổ sung cao chiết có chỉ số TBARS 1,20 $\mu\text{molTBARS/g}$ cao hơn so với mẫu dầu có bổ sung cao chiết 0,58 và 0,64 $\mu\text{molTBARS/g}$. Dưới tác

dụng của nhiệt độ cao, các hợp chất peroxide tiếp tục bị oxy hóa và tạo ra các sản phẩm cấp thấp như aldehyde, ceton, skaton (Zacheo *et al.*, 1998).

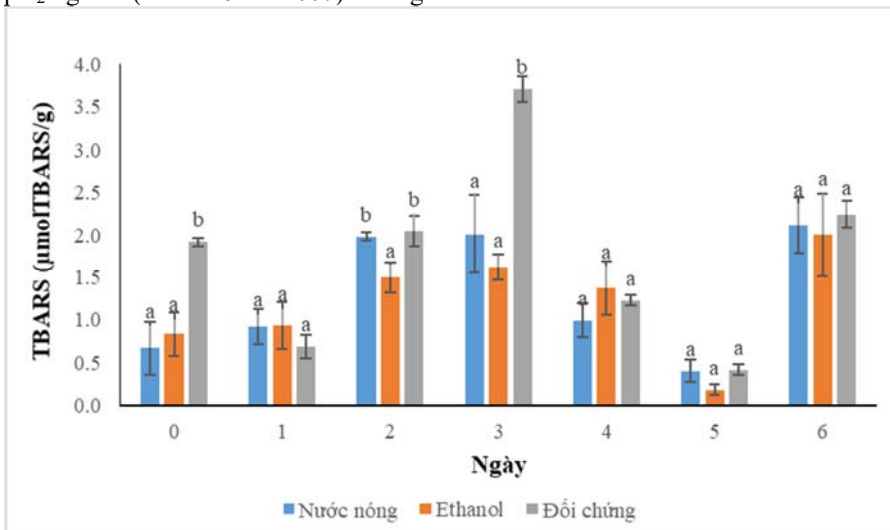
Kết quả đánh giá sự oxy hóa lipid khi bổ sung cao chiết vào dầu cá biển được thể hiện ở Hình 3 và 4.



Hình 3: Sự thay đổi giá trị PV của dầu cá biển trong quá trình bảo quản

Chi số peroxide của mẫu dầu cá biển được bổ sung cao chiết từ ethanol khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với mẫu dầu có cao chiết từ nước và mẫu đối chứng ở các ngày bảo quản 1, 2, 3, 4, 6. Kết quả này cho thấy khả năng chống oxy hóa lipid trong mẫu dầu của cao chiết từ dung môi ethanol. Giá trị PV của các mẫu tăng dần thời gian bảo quản, đặc biệt ở ngày thứ 3 và thứ 4 nhưng vẫn ở ngưỡng cho phép 40 meq O₂/kg dầu (TCVN 6121:2007). Trong

quá trình bảo quản, O₂ phản ứng với các gốc tự do của acid béo, dưới tác dụng của các hợp chất được bổ sung là những chất có khả năng chống oxy hóa đã ngăn chặn được sự hình thành các gốc tự do mới bằng cách nhường đi một nguyên tử hydro. Lúc này bản thân của các chất oxy hóa cũng đã là một gốc tự do nhưng với hoạt tính kém hơn, kết hợp với các gốc tự do của lipid tạo thành các hợp chất bền và giúp hạn chế được sự oxy hóa lipid (Ho and Paul, 2009).



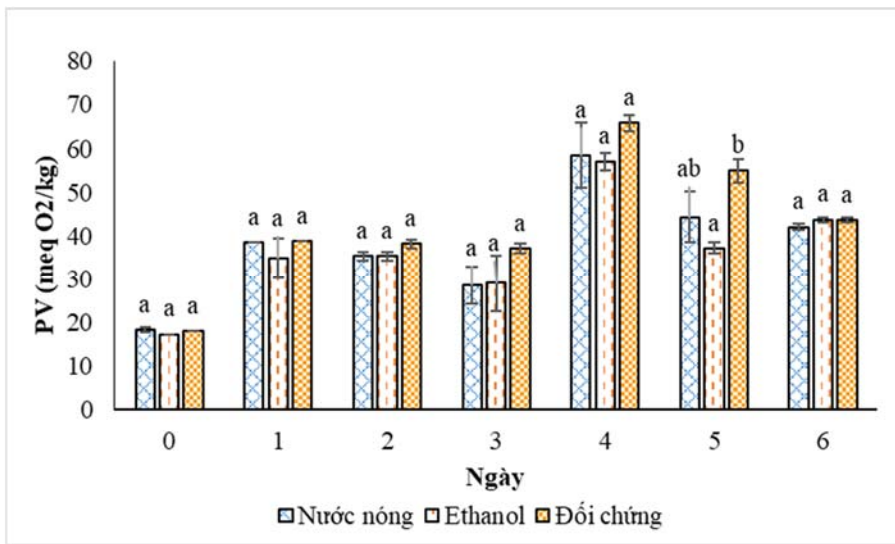
Hình 4: Sự thay đổi giá trị TBARS của dầu cá biển trong quá trình bảo quản

Chỉ số TBARS của mẫu dầu có bổ sung cao chiết từ ethanol thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với mẫu đối chứng ở các ngày bảo quản 0, 2, 3. Chỉ số TBARS giữa các mẫu biến động trong suốt 6 ngày bảo quản do các hydroperoxide không được phân hủy hoàn toàn thành các sản phẩm thứ cấp mà tồn tại ở dạng không tan tồn tại trong mẫu làm cản trở phản ứng xảy ra (Semb, 2012). Trong nghiên cứu này, kết quả chỉ số TBARS tại ngày 3 với giá trị lần lượt là 3,71 $\mu\text{molTBARS/g}$ (mẫu đối chứng), 2,01 $\mu\text{molTBARS/g}$ (mẫu bổ sung cao chiết bằng nước nóng) và 1,62 $\mu\text{molTBARS/g}$ (mẫu có bổ sung cao chiết từ ethanol 90%), tương đồng với kết quả nghiên cứu của Semb (2012) khi sử dụng cao chiết chanh bảo quản dầu ly trích từ gan cá tuyết với chỉ số TBARS là 3,47 $\mu\text{molTBARS/g}$ và 2,54

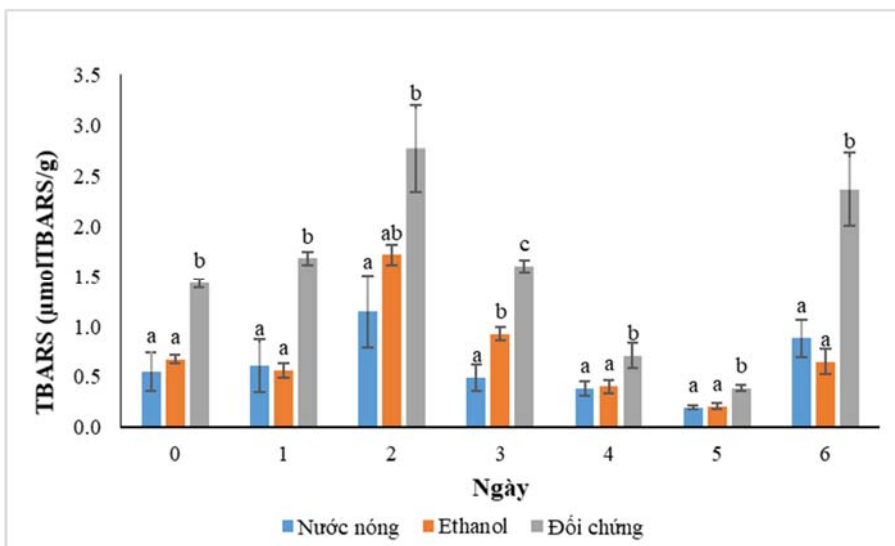
$\mu\text{molTBARS/g}$, tương ứng với mẫu đối chứng và mẫu có bổ sung cao chiết chanh.

Khả năng chống oxy hóa của cao chiết bổ sung vào mẫu dầu cá tra được thể hiện thông qua chỉ số PV và TBARS ở Hình 5 và 6.

Chỉ số peroxide giữa mẫu dầu đối chứng và mẫu dầu có bổ sung cao chiết khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) ở các ngày bảo quản, ngoại trừ ngày 5. Trong ngày bảo quản thứ 4, chỉ số PV của mẫu đối chứng và các mẫu dầu có bổ sung cao chiết đều vượt ngưỡng cho phép 40 meq O_2/kg dầu (TCVN 6121:2007), cho thấy các mẫu dầu đều đã bị oxy hóa. Kết quả thí nghiệm này cho thấy, việc sử dụng cao chiết từ các loại dung môi khác nhau không thể hiện rõ khả năng chống oxy hóa chất béo sơ cấp trong mẫu dầu cá tra.



Hình 5: Sự thay đổi giá trị PV của dầu cá tra trong quá trình bảo quản



Hình 6: Sự thay đổi giá trị TBARS của dầu cá tra trong quá trình bảo quản

Trong suốt thời gian bảo quản, chỉ số TBARS của các mẫu dầu cá bổ sung cao chiết đều khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với mẫu dầu cá tra đối chứng. Sự biến động của chỉ số TBARS ở các mẫu dầu cá tra xảy ra tương tự như các mẫu dầu đậu nành và dầu cá biển được giải thích trên cơ sở các peroxide vẫn tồn tại ở dạng không tan do không bị phân hủy hoàn toàn thành các sản phẩm thứ cấp, làm cản trở phản ứng xảy ra dẫn đến những biến động giữa các ngày thu mẫu (Semb, 2012).

4 KẾT LUẬN

Trong hai dung môi chiết (nước nóng 100°C và ethanol 90%), ethanol 90% thể hiện hiệu quả tốt hơn trong việc chiết tách các hợp chất chống oxy hóa từ bột tảo *Spirulina* (*Arthrospira platensis*). Cao chiết thu được bằng dung môi ethanol 90% cho hoạt tính khử gốc tự do DPPH là 67,1% ($IC_{50} = 0,66$ mg/mL) và tổng lượng hợp chất phenolic 7,47 (mgGAE/ g nguyên liệu khô). Hoạt tính chống oxy hóa lipid của cao chiết khi bổ sung vào dầu đậu nành và dầu cá biển cho hiệu quả tối ưu trong thời gian bảo quản từ 3-4 ngày ở 60°C, điều này cho thấy triển vọng của việc ứng dụng cao chiết từ bột tảo *Spirulina* trong quá trình bảo quản các sản phẩm dầu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abou-Gharbia, H. A., Shehata, A. A. Y., Youssef, M. and Shahidi, F., 1996. Oxidative stability of sesame paste (tehina). *Journal of Food Lipids*, 3(2), 129-137.

Abuzaid, A.A., Hammad, D.M. and Sharaf, E.M., 2015. Antioxidant and anticancer activity of *Spirulina platensis* water extracts. *International Journal of Pharmacology*. 11(7): 846-851.

Belay A., Ota Y., Miyakawa K. and Shimamatsu H., 1994. Production of high quality *Spirulina* at Earthrise Farms. In: Phang et al., eds. *Algal Biotechnology in the Asia-Pacific Region*. University of Malaya. 92-102.

Boussiba, S., and Richmond, A. E., 1979. Isolation and characterization of phycocyanins from the blue-green alga *Spirulina platensis*. *Archives of Microbiology*, 120(2), 155-159.

Brejč, K., Ficner, R., Huber, R. and Steinbacher, S., 1995. Isolation, crystallization, crystal structure analysis and refinement of allophycocyanin from the cyanobacterium *Spirulina platensis* at 2.3 Å resolution. *Journal of molecular biology*, 249(2), 424-440.

Cohen, Z., 1997. *Physiology, Cell-Biology and Biotechnology*, Taylor and Francis, London, pp. 175-204.

Douny, C., Razanakolona, R., Ribonnet, L., Baeten, J.V., Rogez, H., Marle-Louise, S. and Larondelle, Y., 2016. Linseed oil presents different patterns of oxidation in realtime and

accelerated aging assays. *Food chemistry*. 208: 111-115.

Duh, P. D., Yen, D. B. and Yen, G. C., 1992. Extraction and identification of an antioxidative component from edible oils. *Food Chemistry*, 14, 45-51.

Evans, C. D., List, G. R., Moser, H. A., and Cowan, J. C., 1973. Long term storage of soybean and cottonseed salad oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 50(6), 218-222.

Frankel, E. N., 2005. *Lipid oxidation*, Bridgwater, England, The Oily Press. Ke, P., Woyewoda, A., 1979. Microdetermination of thiobarbituric acid value in marine lipids by a direct spectrophotometric method with a monophasic reaction system. *Analytica Chimica Acta*. 106; 279-284.

Gazzani, G., Papetti, A., Massolini, G. and Daglia, M., 1998. Antioxidative and pro-oxidant activity of water soluble components of some common diet vegetables and the effect of thermal treatment. *Journal of Food Chemistry*, 6, 4118-4122.

Herrero, M., Ibáñez, E., Señoráns, F. J. and Cifuentes, A., 2003. Accelerated solvent extracts from *Spirulina platensis* microalgae: determination of their antioxidant activity and analysis by Micellar Electrokinetic Chromatography. *Journal of Chromatography*, 1047, 195-203.

Ho, P.A. and Paul, D.R., 2009. Fatty acid profile of Tra catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) compared to Atlantic Salmon (*Salmo solar*) and Asian Seabass (*Lates calarifer*). *International Food Research Journal*, 16: 501-506.

Hornero-Méndez, D., Pérez-Galvez, A., Mínguez-Mosquera, M.I., 2001. A rapid spectrophotometric method for the determination of peroxide value in food lipids with high carotenoid content. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 78(11): 1151-1155.

Huỳnh Trường Giang, Dương Thị Hoàng Oanh, Vũ Ngọc Út và Trương Quốc Phú, 2012. Thành phần hóa học, hoạt tính chống oxy hóa của hỗn hợp polysaccharid ly trích từ rong mơ *Sargassum microcystum*. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 25: 183-191.

International IDF Standards, 1991. Section 74A, International Dairy Federation, IDF-Square Vergote 41, Brussels.

Ke, P.J. and Woyewoda, A.D., 1979. Microdetermination of thiobarbituric acid values in marine lipids by a direct spectrophotometric method with a monophasic reaction system. *Analytica Chimica Acta*. 106(2): 279-284.

Koru, E. (2012). Earth food *Spirulina* (*Arthrospira*): production and quality standards. In *Food additive*. InTech.

- Li, D. M. and Qi, Y. Z., 1997. Spirulina industry in China: Present status and future prospects. *Journal of applied Phycology*, 9(1): 25-28.
- Manoj, G.; Venkataraman, L.V. and Srinivas, L., 1992. In ETTA National Symposium on Spirulina, (Sheshadri, C.V.; Jeejibai, N.; Eds.), MCRC Publishers, pp. 148-154.
- Michotte, D., Rogez, H., Chirinos, R., Mignolet, E., Campos, D. and Larondelle, Y., 2011. Linseed oil stabilisation with pure natural phenolic compounds. *Food chemistry*, 129(3), 1228-1231.
- Miranda, M.S., Cintra, R.G., Barros, S.B.M. and Mancini-Filho, J., 1998. Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 31: 1075-1079.
- Miyake, T. and Shibamoto, T., 1997. Antioxidative activities of natural compounds found in plants. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 45, 1819-1822.
- Ötleş, S., and Pire, R., 2001. Fatty acid composition of *Chlorella* and *Spirulina* microalgae species. *Journal of AOAC international*, 84(6), 1708-1714.
- Ravi, M., De, S. L., Azharuddin, S. and Paul, S. F., 2010. The beneficial effects of *Spirulina* focusing on its immunomodulatory and antioxidant properties. *Nutr Diet Suppl*, 2, 73-83.
- Semb, T.N., 2012. Analytical methods for determination of the oxidative status in oil. Master thesis. Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal and Viticulture*, 16: 144-158.
- Thiangthum, S., Dejaegher, B., Goodarzi, M., Tistaert, C., Gordien, A.Y., Hoai, N.N, Van, M.C., Quetin-Leclercq, J., Suntornsuk, L. and Vander Heyden, Y., 2012. Potentially antioxidant compounds indicated from *Mallotus* and *Phyllanthus* species finger prints. *Journal of Chromatography B*, 910: 114-121.
- Tiêu chuẩn Việt Nam về dầu mỡ động vật và thực vật năm 2007. (TCVN 6121:2007).
- Wu, L.C., Ho, J.A., Shieh, M.C. and Lu, I.W., 2005. Antioxidant and antiproliferative activities of *Spirulina* and *Chlorella* water extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 4207-4212.
- Zacheo, G., Cappello, A.R., Perrone, L.M. and Gnani, G.V., 1998. Analysis of factor influencing lipid oxidation of almond seeds during accelerated ageing. *LWT-Food Science and Technology*, 31: 6-9.
- Yen, G.C., Chen, H.W. and Duh, P.D., 1998. Extraction and identification of an antioxidative component from *Jue Ming Zi* (*Cassia tora* L.). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 46, 820-824.
- Yen, G.C., Wu, S.C. and Duh, P.D., 1996. Extraction and identification of antioxidant components from the leaves of mulberry. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 44, 1687-1690.