

NGHIÊN CỨU SỰ BIẾN ĐỔI HÀM LƯỢNG VITAMIN C, POLYPHENOL VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG OXI HOÁ CỦA QUẢ ỔI TRONG QUÁ TRÌNH CHÍN

Nguyễn Thị Huyền Trang¹, Lê Thu Thủy^{1*}, Nguyễn Văn Lâm², Nguyễn Hương Thủy²

¹ *Lớp BQCBA K54, Khoa Công nghệ thực Phẩm, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội*

² *Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội*

Email*: thuycntp@hua.edu.vn

Ngày gửi bài: 29.05.2012

Ngày chấp nhận: 12.08.2012

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm theo dõi động thái biến đổi của hàm lượng vitamin C, hàm lượng polyphenol của quả ổi liên quan đến hoạt tính kháng oxi hóa tại các giai đoạn chín khác nhau của quả ổi được trồng tại xã Đông Dư, Gia Lâm, Hà Nội. Ổi được chia làm 4 độ chín: xanh già (độ chín 1), chuyển màu (độ chín 2), chín (độ chín 3) và chín mềm (độ chín 4). Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng vitamin C tăng dần qua các giai đoạn chín và đạt giá trị cao nhất ở độ chín 3, hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxi hóa giảm dần trong quá trình chín và thể hiện mối tương quan tuyến tính chặt chẽ.

Từ khoá: Độ chín, hoạt tính kháng oxi hoá, polyphenol, quả ổi.

Changes in Vitamin C, Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Guava Fruit During Ripening

ABSTRACT

Changes in chemical composition (vitamin C, polyphenol) and antioxidant activity of guava fruits collected in Dong Du, Gia Lam, Hano at different maturity stages were examined. The maturity stages were mature green, color turning, ripe and overripe. The results showed that vitamin C content sharply increased during ripening and reached the maximum value at ripe stage. Both polyphenol content and antioxidant activity decreased during ripening. Changes in polyphenol content was significantly correlated with changes in antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant activity, guava fruit, polyphenol, ripening stage

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khi xã hội ngày một phát triển, con người đang phải đối mặt với nguy cơ mắc những căn bệnh mãn tính nguy hiểm do tình trạng ô nhiễm môi trường, stress, tiếp xúc với hóa chất độc hại. Nhiều nghiên cứu dịch tễ học đã chỉ ra rằng việc sử dụng thường xuyên các chất kháng oxi hóa tự nhiên có khả năng ngăn ngừa các căn bệnh nguy hiểm như tim mạch hay ung thư (Renaud và cs., 1998; Temple, 2000). Con người ngày một nhận thức rõ được tầm quan trọng của thực phẩm tự nhiên trong việc phòng tránh bệnh tật. Vì vậy, những chất kháng oxi hóa tự nhiên có trong rau, quả ngày càng thu hút được sự quan tâm của người tiêu dùng cũng như các nhà khoa học.

Vitamin C còn gọi là ascorbic acid, là một chất dinh dưỡng kháng oxy hóa rất quan trọng có trong rau, quả. Nó tồn tại trong cơ thể dưới hai dạng D và L, tham gia vào các hoạt động khác nhau của cơ thể. Vitamin C đảm nhiệm nhiều chức năng như: chức năng miễn dịch, thúc đẩy sự hình thành collagen - một protein chính của cơ thể, tham gia vào quá trình chuyển hóa cholesterol và bài tiết chất độc khỏi cơ thể.... (Lê Thị Hợp và Nguyễn Thị Hoàng Lan, 2010).

Polyphenol là những hợp chất thơm có nhóm hydroxyl đính trực tiếp với nhân benzene (Lê Ngọc Tú, 2003). Chúng có nhiều trong thực vật như rau, quả, hoa. Polyphenol tạo màu sắc đặc trưng cho thực vật. Ngoài ra, polyphenol còn

bảo vệ thực vật khỏi vi sinh vật hại, sự oxi hóa và tác hại của tia cực tím. Về y học, polyphenol là một trong những hoạt chất tự nhiên có nhiều tác dụng như chống oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, chống dị ứng và chống lão hóa cho con người (Scalbert và cs., 2005).

Ổi là một loại cây phổ biến ở nước ta có tên khoa học là *Psidium guajava*, là một trong những loại cây có nguồn gốc nhiệt đới giàu chất kháng oxi hóa. Trái ổi không chỉ là loại trái cây được nhiều người ưa thích mà còn là loại trái cây tốt cho sức khỏe. Ổi có chứa hàm lượng cao ascorbic acid (vitamin C), lên tới 113mg/100g khối lượng tươi (Bulk và cs., 1996). Ngoài ra trong ổi còn chứa hàm lượng cao các hợp chất phenol và đây là những hợp chất kháng oxi hóa tự nhiên rất có lợi cho sức khỏe con người (Thaipong và cs., 2006). Tuy nhiên, những nghiên cứu về khả năng kháng oxi hóa của quả ổi trong quá trình chín còn hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu này tập trung vào việc xác định hàm lượng vitamin C, polyphenol và hoạt tính kháng oxi hoá của quả ổi trong quá trình chín, từ đó giúp hiểu rõ hơn về giá trị của quả ổi đối với sức khỏe con người.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Quả ổi được thu hái tại xã Đông Dư, Gia Lâm, Hà Nội, số lượng 7 kg (khoảng 100 quả) trên 20 cây. Quả ổi sau khi được thu hái được vận chuyển về phòng thí nghiệm Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội.

Tiến hành phân loại sơ bộ quả ổi thành 4 độ chín khác nhau dựa vào màu sắc vỏ quả (Jain và cs., 2003) (Bảng 1).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định các chỉ tiêu về độ chín

- Chỉ tiêu màu sắc vỏ quả: được đo bằng máy đo màu CR-400 (Nhật), từ đó xác định các chỉ số L, a và b. Màu của vỏ quả được đo ở 3 vị trí khác nhau trên quả và lấy giá trị trung bình.

- Chỉ tiêu đường kính quả: được đo bằng thước kẹp (đo 10 quả/1 độ chín và lấy giá trị trung bình).

- Chỉ tiêu tỷ trọng riêng: của quả là tỷ lệ giữa khối lượng quả trong không khí và sự chênh lệch giữa khối lượng quả trong không khí và khối lượng quả khi nhúng trong nước (Mercado-Silva và cs., 1998).

- Phương pháp bảo quản mẫu: Sau khi xác định các chỉ tiêu về độ chín, quả ổi được rửa sạch, để ráo và cắt thành các phần nhỏ. Sau đó, ổi được cho các túi nhựa đóng kín (đã chia theo độ chín) và bảo quản ở -53°C để dùng cho phân tích.

2.2.2. Xác định hàm lượng vitamin C (ascorbic acid)

- Phương pháp chiết vitamin C: Lấy 5 g mẫu ổi ở mỗi độ chín và nghiền nhỏ. Sau đó thêm vào 20 mL dung dịch đệm (HPO_3 2% và CH_3COOH 8%) và nghiền tiếp để đồng nhất mẫu. Lên thể tích 50 mL bằng dung dịch đệm. Tiến hành ly tâm mẫu và thu lấy phần dịch trong (dịch chiết vitamin C). Để phần dịch này trong bóng tối từ 10-15 phút trước khi phân tích. Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần.

- Hàm lượng vitamin C được xác định theo phương pháp chuẩn độ bằng KIO_3 (Science Outreach, University of Canterbury). Đường chuẩn vitamin C được xây dựng bằng cách chuẩn bị các điểm chuẩn vitamin C (0; 0,5; 1; 1,5; 2 mg/mL).

Bảng 1. Phân loại quả ổi theo độ chín

Mức độ chín	Đặc điểm	Ký hiệu
Xanh già	100% xanh	Độ chín 1
Chuyển màu	80% xanh, 20% vàng	Độ chín 2
Chín	50% xanh, 50% vàng	Độ chín 3
Chín mềm	100% vàng	Độ chín 4

Sau đó lấy 20 mL dịch chiết vitamin C, thêm vào 10 mL nước cất, 1 mL dung dịch KI 0,066M và 1 mL dung dịch HCl 1M và tiến hành chuẩn độ bằng dung dịch KIO_3 0,002M. Hàm lượng vitamin C được biểu thị bằng mg/100 g chất tươi. Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần.

2.2.3. Xác định hàm lượng polyphenol

- Phương pháp chiết polyphenol: Phương pháp chiết polyphenol (Alothman và cs., 2009) được điều chỉnh như sau: Lấy 5 g mẫu ở mỗi độ chín và tiến hành nghiền trong dung dịch acetone 90%. Sau đó, tăng lên thể tích 25 mL bằng dung dịch acetone. Tiến hành ly tâm dịch nghiền trong 20 phút với tốc độ 6,000 vòng/phút. Thu lấy phần dịch trong (dịch chiết ổi) và bảo quản ở -20°C để phân tích. Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần.

- Xác định hàm lượng polyphenol: Hàm lượng polyphenol được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu (Fu và cs., 2011). Đường chuẩn gallic acid được xây dựng bằng cách chuẩn bị các dung dịch chuẩn gallic acid (0, 20, 40, 60, 80, 100 $\mu\text{g/L}$). Hàm lượng polyphenol được xác định dựa trên đường chuẩn gallic acid và được biểu thị bằng mg gallic acid tương đương (GAE)/100 g chất tươi. Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần.

2.2.4. Xác định hoạt tính kháng oxi hóa

Phương pháp DPPH (Thaipong và cs., 2006) dùng để xác định hoạt tính kháng oxi hoá được điều chỉnh như sau: Xây dựng đường chuẩn Trolox bằng cách chuẩn bị các dung dịch chuẩn

Trolox (1000, 750, 500, 250, 100 và 25 μM). Dung dịch gốc DPPH được chuẩn bị bằng cách hoà tan 24 mg DPPH trong 100 mL methanol và bảo quản ở -20°C . Dung dịch DPPH thí nghiệm được chuẩn bị bằng cách lấy 10 mL dung dịch gốc cho vào 45 mL methanol (để có độ hấp thụ là $1,1 \pm 0,02$ đơn vị khi so màu ở bước sóng 515 nm). Sau đó lấy 150 μL dịch chiết ổi và cho vào 2850 μL dung dịch DPPH rồi để trong bóng tối 30 phút. Tiến hành so màu ở 515 nm (cùng ống đối chứng chỉ chứa methanol). Kết quả được biểu thị bằng % kìm hãm DPPH theo công thức:

$$AA = (\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{mẫu}}) / \text{OD}_{\text{control}}$$

Trong đó:

$\text{OD}_{\text{control}}$: Độ hấp thụ quang của mẫu control

$\text{OD}_{\text{mẫu}}$: Độ hấp thụ quang của mẫu cần xác định

AA : % kìm hãm DPPH

Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần.

2.2.5. Xử lý thống kê

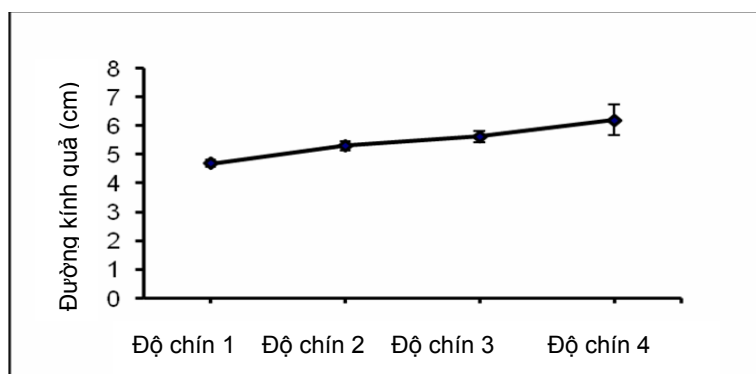
Giá trị trung bình của các kết quả được so sánh bằng phần mềm SPSS 16.0. Hệ số tương quan được phân tích bằng cách sử dụng hệ số Pearson (r).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định các chỉ tiêu về độ chín

3.1.1. Chỉ tiêu đường kính quả

Đường kính trung bình của quả ổi Đông Dư ở các độ chín khác nhau được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Sự biến đổi đường kính trung bình theo độ chín (cm)

Trong suốt quá trình chín của quả, đường kính quả tăng do có sự phân bào trong tế bào của quả. Điều này phù hợp với quy luật chung của quả: trong quá trình chín, quả tích lũy được nhiều chất dinh dưỡng từ cây, vì vậy quả tăng cả về kích thước và khối lượng, và do vậy thể tích cũng tăng. Tuy nhiên, ở quả ổi Đông Dư, sự tăng kích thước quả là không đáng kể giữa các độ chín (Hình 1). Sự khác biệt lớn nhất được thể hiện giữa độ chín 1 và độ chín 4, khi đó quả tăng kích thước tương ứng từ 4,70cm đến 6,21cm.

3.1.2. Chỉ tiêu tỉ trọng riêng của quả

Tỷ trọng riêng của quả ổi Đông Dư ở các độ chín khác nhau được thể hiện ở hình 2.

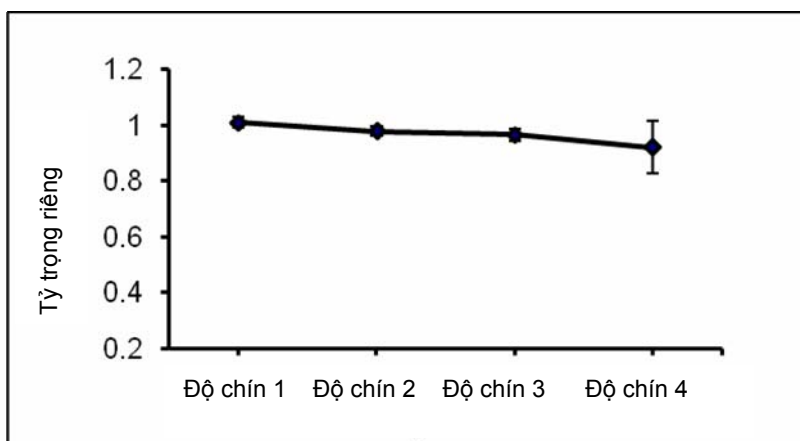
Từ hình 2 nhận thấy, tỷ trọng riêng của quả ổi Đông Dư giảm dần từ độ chín 1 (1,01) tới độ

chín 4 (0,92). Theo Yusof and Suhaila (1987), sự giảm tỷ trọng riêng của quả có thể được coi là căn cứ để phân loại quả theo độ chín. Tuy nhiên trong nghiên cứu này, sự khác biệt về tỷ trọng riêng của quả ổi Đông Dư ở các giai đoạn chín là không đáng kể. Vì vậy, cần kết hợp chỉ tiêu này với các chỉ tiêu về độ chín khác để có thể phân biệt rõ hơn các giai đoạn chín của quả ổi thu hái tại Đông Dư.

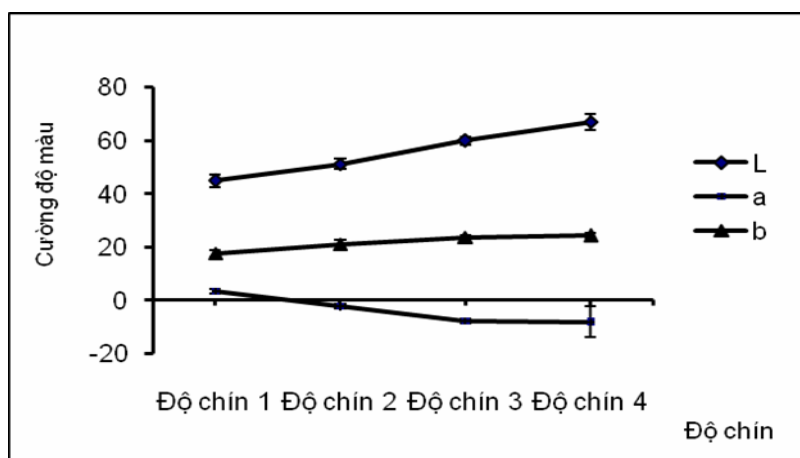
3.1.3. Chỉ tiêu cường độ màu quả

Độ màu của quả ổi Đông Dư ở các độ chín khác nhau được thể hiện ở hình 3.

Chỉ số L (Light) phản ánh độ sáng của vỏ quả có giá trị từ 0-100, chỉ số a là dải màu từ xanh lá cây tới đỏ có giá trị từ -60 đến +60, chỉ số b là dải màu từ xanh nước biển tới vàng có



Hình 2. Sự biến đổi của tỷ trọng riêng theo độ chín



Hình 3. Sự biến đổi của chỉ số L, a, b theo độ chín

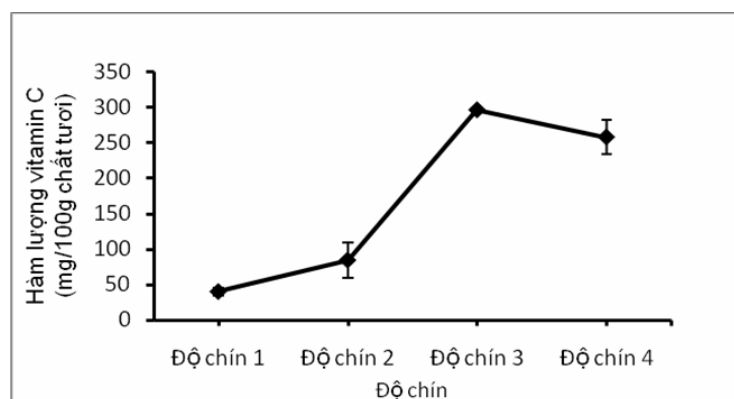
giá trị từ -60 đến +60. Kết quả nghiên cứu cho thấy trong quá trình chín của quả ổi Đông Dư, chỉ số L tăng dần và độ chín ảnh hưởng có ý nghĩa đến chỉ số L ($P < 0,05$), trong khi đó chỉ số b cũng tăng nhưng mức độ tăng chậm và không đáng kể, và chỉ số a giảm dần (Hình 3). Điều này đồng nghĩa với việc màu vỏ quả ngày càng sáng hơn, vàng hơn, màu xanh nhạt dần. Nghiên cứu của Jain và cs. (2003) đã chỉ ra rằng sự thay đổi về sắc tố là một trong những dấu hiệu để phân biệt quả ở các giai đoạn chín khác nhau. Trong đó, họ thấy rằng trong quá trình chín của quả ổi, hàm lượng chlorophyll giảm dần do hoạt động của các enzyme như chlorophyllase, chlorophyll oxidase và peroxidase, còn hàm lượng carotenoid tăng dần. Do vậy, càng chín, vỏ quả càng vàng, màu xanh giảm dần.

3.2. Sự biến đổi hàm lượng Vitamin C trong quá trình chín

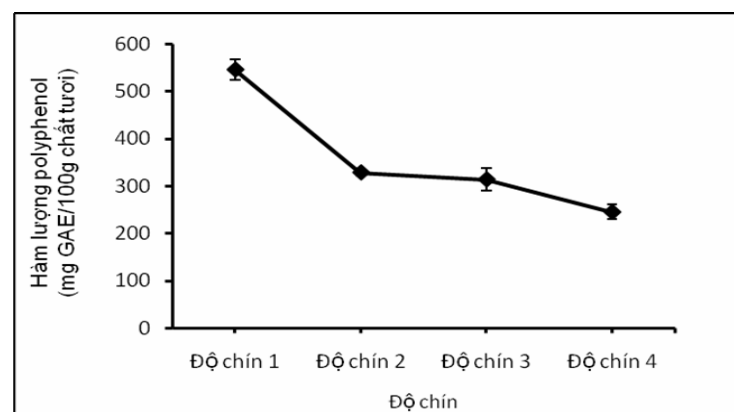
Hàm lượng vitamin C của quả ổi Đông Dư trong quá trình chín được thể hiện ở hình 4.

Từ đồ thị hình 4 có thể thấy hàm lượng vitamin C tăng dần từ độ chín 1 (39,92 mg/100g chất tươi (CT)) và đạt giá trị cao nhất ở độ chín 3 (296,79 mg/100g CT), sau đó giảm ở độ chín 4 (258,38 mg/100g CT). Hàm lượng vitamin C đạt giá trị cao nhất tại giai đoạn chín của quả (độ chín 3), giá trị này cũng tương tự như kết quả của những nghiên cứu trước đây. Mercado-Silva và cs. (1998) khi nghiên cứu xác định hàm lượng vitamin C ở giống ổi trồng tại Mexico cũng thấy rằng hàm lượng vitamin C đạt giá trị thấp nhất ở độ chín 1 và 2 và có sự tăng đột biến và đạt giá trị lớn nhất ở độ chín 3. Tương tự, Bulk và cs. (1996) cũng chỉ rằng hàm lượng vitamin C đạt giá trị lớn nhất ở giai đoạn chín (ripe) của quả ổi.

3.3. Sự biến đổi hàm lượng polyphenol trong quá trình chín



Hình 4. Sự biến đổi hàm lượng vitamin C theo độ chín (mg/100g chất tươi)



Hình 5. Sự biến đổi hàm lượng polyphenol theo độ chín (mg GAE/100g chất tươi)

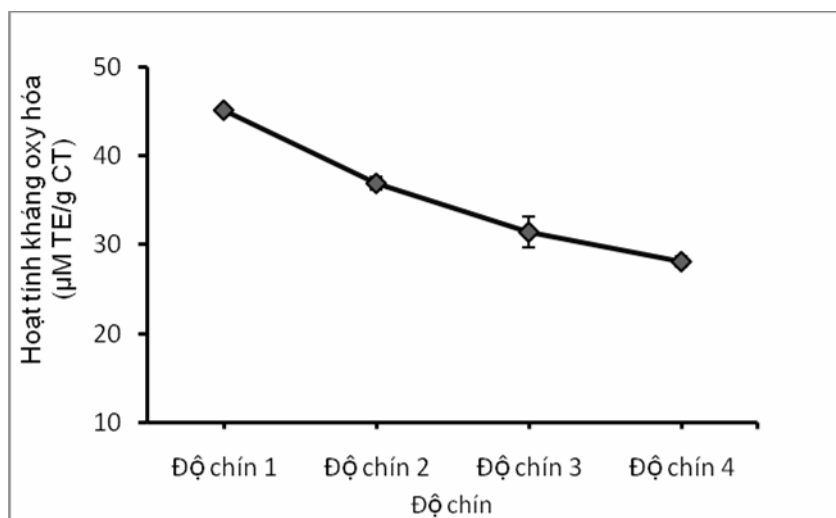
Hàm lượng polyphenol của quả ổi Đông Dư trong quá trình chín được thể hiện ở hình 5.

Theo kết quả nghiên cứu (Hình 5) cho thấy, hàm lượng polyphenol giảm trong suốt quá trình chín của ổi, ở độ chín 1, hàm lượng polyphenol là 545,61 mg GAE/100g CT, sau đó giảm mạnh tại độ chín 2 ($P < 0,05$). Từ độ chín 2 đến độ chín 3 thì sự biến đổi hàm lượng polyphenol là không đáng kể. Sau đó hàm lượng polyphenol tiếp tục giảm chậm cho tới độ chín 4 (254,46 mg GAE/100g CT). Điều này có thể giải thích là do polyphenol bị oxi hóa bởi enzyme như polyphenol oxidase (PPO) trong quá trình chín. Kết quả nghiên cứu này cũng tương tự như kết quả của một số nghiên cứu trước đây: theo Bulk và cs. (1996), hàm lượng polyphenol giảm trong suốt quá trình chín của 4 giống ổi trồng tại Sudan. Ngoài ra, theo Sancho và cs. (2010), ở đu đủ, trong quá trình chín, hàm lượng polyphenol trong vỏ quả và thịt quả giảm dần, lần lượt từ 471,97 mg GAE/100g CT đến 358,67 mg GAE/100g CT và từ 1,91 đến 0,88 mg GAE/100g CT.

3.4. Sự biến đổi hoạt tính kháng oxi hóa trong quá trình chín

Hoạt tính kháng oxi hoá của quả ổi Đông Dư trong quá trình chín được thể hiện ở hình 6.

Từ đồ thị hình 6 nhận thấy hoạt tính kháng oxi hóa giảm dần từ độ chín 1 đến độ chín 4, tương tự như xu hướng biến đổi hàm lượng polyphenol (Hình 5). Kết quả xử lý thống kê cho thấy các độ chín khác nhau ảnh hưởng có ý nghĩa đến hoạt tính kháng oxy hóa ($P < 0,05$). Mối tương quan giữa hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa của quả ổi thu hái tại Đông Dư được xác định thông qua hệ số tương quan Pearson. Kết quả cho thấy mối tương quan này là quan hệ tuyến tính chặt chẽ ($r = 0,936$). Nghiên cứu của Gruz và cs. (2011) trên quả sơn trà cũng cho thấy rằng hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxi hóa có mối liên quan đến nhau trong đó khả năng kháng oxi hóa của quả sơn trà phụ thuộc vào hàm lượng polyphenol.



Hình 6. Sự biến đổi hoạt tính kháng oxi hóa theo độ chín (µM TE/100g chất tươi)

4. KẾT LUẬN

Trong quá trình chín của quả ổi thu hái tại Đông Dư, hàm lượng vitamin C đạt giá trị cao nhất khi ổi ở giai đoạn chín (độ chín 3). Trong khi đó, hàm lượng polyphenol giảm dần từ độ chín 1 đến độ chín 4. Hoạt tính kháng oxi hóa

cũng thể hiện xu hướng biến đổi tương tự như hàm lượng polyphenol. Giữa hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxi hoá có mối tương quan tuyến tính chặt chẽ. Điều này cho thấy rằng các hợp chất phenol có thể đóng vai trò chính đối với hoạt tính kháng oxi hoá của quả ổi Đông Dư.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alothman M., Rajeev Bhat, A. A. Karim (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry* 115(3), pp. 785-788.
- Bulk R., E. Babiker & A. Tinay (1996). Changes in chemical composition of guava fruits during development and ripening. *Food Chemistry* 59(3), 395-399.
- Fu L., X.-R. Xu, R.-Y. Gan, Y. Zhang, E.-Q. Xia & H.-B. Li (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry* 129(2): 345-350.
- Gruz J., F.A. Ayaz, H.Torun M. Strnad (2011). Phenolic acid content and radical scavenging activity of extracts from medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit at different stages of ripening. *Food Chemistry* 124:271-277.
- Jain N., K. Dhawan, S. Malhotra & R. Singh (2003). Biochemistry of fruit ripening of guava (*Psidium guajava* L.): Compositional and enzymatic changes. *Plant Foods for Human Nutrition* 58: 309-315.
- Lê Thị Hợp và Nguyễn Thị Hoàng Lan (2010). *Giáo trình Dinh dưỡng*. NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ.
- Lê Ngọc Tú (2003). *Hóa học thực phẩm*. NXB Khoa học và kỹ thuật Hà Nội.
- Mercado-Silva E., P. Benito-Bautista, M. de los Angeles Garcia-Velasco (1998). Fruit development, harvest index and ripening changes of guavas produced in central Mexico. *Post harvest Biology and Technology* 13, 143-150.
- Renaud SC, R. Guenguen, J. Schenker, A. d'Houtand (1998). Alcohol and mortality in middle-aged men from Eastern France. *Epidemiology* 9:184-8.
- Sancho L., E. Yahia, G. González-Aguilar (2010). Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. *Food Research International*, 44 (5), 1284-1291.
- Scalbert A., C. Manach, C. Morand and C. Remesy (2005). Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45:287-306.
- Science Outreach, University of Canterbury, New Zealand. Determination of vitamin C concentration by a redox titration using iodate. http://www.outreach.canterbury.ac.nz/chemistry/documents/vitaminc_iodate.pdf, truy cập tháng 02/2012.
- Temple NJ. (2000). Antioxidants and disease: more questions than answers. *Nutr Res* 2:449-459.
- Thaipong K., U. Boonprakob, K. Crosby, L. Cisneros-Zevallo, DH. Byrne (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 669-675.
- Yusof S., M. Suhaila (1987). Physicochemical changes in guava during development and maturation. *J.Sci. Food Agric.* 38, 31-59.