

Khả năng chống oxy hóa của phân đoạn dịch chiết từ gạo mầm và gạo lứt

Đỗ Tấn Khang^{1*}, Trần Nhân Dũng¹, Trần Đăng Xuân²

¹Bộ môn Công nghệ sinh học phân tử, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

²Phòng thí nghiệm sinh lý sinh hóa, Khoa Phát triển và Hợp tác quốc tế, Trường Đại học Hiroshima, Nhật Bản

Ngày nhận bài 2/1/2018; ngày chuyển phản biện 8/1/2018; ngày nhận phản biện 9/2/2018; ngày chấp nhận đăng 26/2/2018

Tóm tắt:

Gạo mầm đã và đang được xem như “thần dược”, chứa được nhiều căn bệnh ở nước ta, do đó các sản phẩm gạo mầm đang được bán với giá khá cao. Để khám phá tác dụng thật sự của gạo mầm đối với sức khỏe con người so với gạo chưa nảy mầm, đề tài “So sánh hoạt tính sinh học của phân đoạn dịch chiết từ gạo mầm và gạo lứt” đã được thực hiện. Trong bài báo này, khả năng chống oxy hóa của các dịch chiết phân đoạn đã được so sánh. Kết quả cho thấy, hàm lượng polyphenol tổng trong phân đoạn H₂O của gạo lứt cao hơn 4 lần so với gạo mầm. Trong khi hàm lượng polyphenol tổng trong các phân đoạn hexane và chloroform giữa hai mẫu gạo khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Kết quả ghi nhận phân đoạn ethyl acetate của gạo mầm có hoạt tính ức chế DPPH cao nhất trong các phân đoạn, kể đến là phân đoạn ethyl acetate và chloroform của gạo lứt, với khả năng ức chế trên 50%. Đối với phương pháp ABTS, khả năng ức chế của phân đoạn chloroform trong gạo lứt là cao nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 95%, cao hơn các phân đoạn của gạo mầm. Tương tự, đối với khả năng khử, phân đoạn này cũng cho kết quả cao nhất. Như vậy, xét về hàm lượng polyphenol tổng số và hoạt tính chống oxy hóa, các phân đoạn dịch chiết trong gạo mầm không cao hơn gạo chưa nảy mầm.

Từ khóa: Chống oxy hóa, flavonoid, gạo lứt, gạo mầm, polyphenol.

Chỉ số phân loại: 2.10

Đặt vấn đề

Gạo mầm, một trong những thực phẩm chế biến từ gạo, đã và đang được tiêu thụ nhiều trong hai thập niên gần đây. Thật ra, từ những năm 1970, người Nhật đã bắt đầu chế biến và sử dụng gạo mầm như một nguồn thực phẩm giàu chất xơ, nhưng mãi đến năm 1995 gạo mầm mới thật sự là sản phẩm thương mại. Mặc dù quy trình sản xuất gạo mầm khá đơn giản (chỉ cần ngâm thóc lứt khoảng 8 đến 10 giờ, sau đó ủ ở nhiệt độ 30-35°C trong 24 đến 72 giờ tùy theo giống thóc, khi đó mầm thóc sẽ nhú ra khoảng 1 mm và gạo nảy mầm được sấy khô, bảo quản nơi thoáng mát), nhưng những giá trị dinh dưỡng thay đổi đáng kể, bao gồm hàm lượng chất béo, protein, khoáng chất, Gamma aminobutylic acid (GABA)...[1, 2].

Chính vì sự thay đổi giá trị dinh dưỡng đó đã làm tăng giá trị của gạo mầm trên thị trường. Giá thành của gạo mầm cao gấp 5-6 lần so với gạo trắng thông thường. Gạo mầm vibigaba có giá 70.000 đồng/kg, trong khi gạo trắng Thơm Lài chỉ 14.000 đồng/kg [3]. Thậm chí nhiều sản phẩm gạo mầm được cho là có khả năng ngăn ngừa tiểu đường, ổn định đường huyết, có chứa hàm lượng cao chất chống oxy hóa, giảm cholesterol, cải thiện chức năng não, điều trị chứng mất ngủ... Tuy nhiên, những giá trị được tính của gạo mầm vẫn còn là vấn đề đang được nghiên cứu.

Để so sánh hàm lượng chất và khả năng chống oxy hóa của gạo mầm và gạo lứt, nghiên cứu về hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số, khả năng chống gốc tự do của các phân đoạn dịch chiết gạo mầm và gạo lứt đã được thực hiện.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng

Giống gạo được sử dụng để chế biến gạo mầm là gạo lứt Nhật (Koshihikari).

Chuẩn bị gạo mầm

Khoảng 2 kg gạo lứt được ngâm với nước 35°C trong 8 giờ, gạo sau khi ngâm được trải đều lên khay có lót sẵn vải ẩm, lớp gạo được dày bằng 1 lớp vải mỏng phía trên. Khay gạo được ủ ở 35°C trong 48 giờ. Gạo mầm được sấy ở nhiệt độ 40°C trong 6 giờ bằng tủ sấy (Binder FD 56, Đức).

Lý trích và tách phân đoạn hợp chất

Gạo trước và sau nảy mầm (1 kg mỗi loại) được xay mịn, cho vào bình thủy tinh ngâm dầm với 2 l methanol trong 1 tuần. Dịch trích được lọc qua giấy lọc và được cô quay đuôi dung môi bằng máy cô quay chân không. Dịch trích thô được pha với 200 ml nước cất, sau đó tách phân đoạn lần lượt với các dung môi theo thứ tự gồm hexane, chloroform và ethyl acetate. Các phân đoạn được cô đặc và pha loãng trong methanol đạt nồng

*Tác giả liên hệ: dtkhang@ctu.edu.vn

Antioxidant activity of fractions obtained from germinated brown rice and brown rice

Tan Khang Do^{1*}, Nhan Dung Tran¹, Dang Xuan Tran²

¹Department of Molecular Biotechnology, Biotechnology Research and Development Institute, Can Tho University

²Laboratory of Physiology and Biochemistry, Graduate School of International Development and Cooperation, Hiroshima University, Japan

Received 2 January 2018; accepted 26 February 2018

Abstract:

Germinated brown rice (GBR) has been considered a “magic medicine” in Vietnam which can cure or treat a lot of diseases. Therefore, it has been sold at very high prices. To examine the practical value of GBR on human health compared with brown rice (BR), the study related to comparing biological activities of GBR fractions and BR fractions has been conducted. In this paper, the results of their antioxidant activity were shown and discussed. The results revealed that total polyphenolic content in H₂O fraction of BR was four times higher than that of GBR, and in hexane and chloroform fractions, the differences between BR and GBR were not considerable at $p < 0.05$. Moreover, ethyl acetate fraction of GBR has highest DPPH scavenging activity, followed by ethyl acetate and chloroform fractions of BR (over 50%). In ABTS and reducing power assays, the inhibitory activity of chloroform fraction of BR was the highest, significantly different from the others ($p < 0.05$). Briefly, the total polyphenols and antioxidant activity of some fractions of BR were higher than those of GBR.

Keywords: Antioxidant activity, brown rice, flavonoids, germinated brown rice, polyphenol.

Classification number: 2.10

độ 10 mg/ml cho các phương pháp tiếp theo.

Xác định hàm lượng polyphenol tổng số

Hàm lượng polyphenol tổng số được đo dựa theo phương pháp Folin-Ciocalteu được mô tả bởi Khang và ctv [4] với một vài thay đổi nhỏ. Hỗn hợp phản ứng gồm 20 µl dịch chiết, 100 µl Foline-Ciocalteu 10% và 80 µl dung dịch Na₂CO₃ được ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng trước khi đo độ hấp thụ ở bước sóng 765 nm bằng máy đọc quang phổ khay 96 giếng (Thermol Scientific, Mỹ). Hàm lượng polyphenol trong mẫu được tính dựa theo đường chuẩn gallic acid với nồng độ từ 0 đến 100 µg/ml.

Xác định hàm lượng flavonoid tổng số

Hàm lượng flavonoid tổng số của dịch chiết được ước lượng dựa theo phương pháp được mô tả bởi Tuyen và ctv [5]. Phản ứng được thực hiện với 100 µl dung dịch AlCl₃ 2% và 100 µl dịch chiết. Hỗn hợp được trộn và ủ ở nhiệt độ phòng trong 15 phút, sau đó độ hấp thụ quang ở bước sóng 430 nm được đo bằng máy đọc quang phổ khay 96 giếng (Thermol Scientific, Mỹ). Rutin với nồng độ từ 0 đến 100 µg/ml được sử dụng để tính hàm lượng flavonoid tổng số trong mẫu.

Đánh giá khả năng khử gốc tự do DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical)

Phương pháp đo khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết được dựa theo Minh và ctv [6], mô tả như sau: Hỗn hợp phản ứng gồm 0,5 ml dung dịch mẫu, 0,25 ml DPPH (0,5 M) và 0,5 ml dung dịch đệm acetate (pH 5,5) được ủ trong tối khoảng 30 phút. Độ hấp thụ của dung dịch được đo ở bước sóng 517 nm bằng máy đo quang phổ (DR 4000U, HACH, Mỹ). Khả năng ức chế DPPH được tính dựa theo công thức sau:

$$\% \text{ Ức chế DPPH} = \frac{\text{Abs đối chứng} - \text{Abs mẫu}}{\text{Abs đối chứng}} \times 100$$

Trong đó, Abs đối chứng là độ hấp thụ của phản ứng không có dịch chiết, Abs mẫu là độ hấp thụ của phản ứng có dịch chiết.

Đánh giá khả năng ức chế ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)

Khả năng ức chế ABTS được đo theo phương pháp được mô tả bởi Tuyen và ctv [5]. Dung dịch gốc tự do ABTS được pha theo công thức gồm 7 mM ABTS và 2,45 mM potassium persulfate trong nước, ủ trong 16 giờ. Sau đó hỗn hợp dung dịch được pha loãng với methanol để đạt độ hấp thụ dao động xung quanh 0,7 ở bước sóng 734 nm. Sau đó, phản ứng được thực hiện với 30 µl dung dịch mẫu và 1 ml hỗn hợp ABTS và ủ trong 30 phút ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ của phản ứng được đo ở bước sóng 734 nm. Cách tính tương tự như công thức tính phần trăm ức chế DPPH.

Khả năng khử

Khả năng khử của mẫu được thực hiện dựa theo phương pháp của Tuyen và ctv [5], như sau: Hỗn hợp phản ứng gồm có 100 µl dịch chiết, 0,5 ml dung dịch đệm phosphate 0,2 M (pH 6,6) và 0,5 ml potassium ferricyanide [K₃Fe(CN)₆] (10 g/l) được ủ ở 50°C trong 30 phút, sau đó cho vào hỗn hợp 0,5 ml dung dịch trichloroacetic acid (100 g/l). Hỗn hợp phản ứng được ly tâm với tốc độ 4000 vòng/phút trong 10 phút. Cuối cùng, 0,5 ml phần trên dung dịch sau ly tâm được pha với 0,5 ml nước cất và 0,1 ml dung dịch FeCl₃ 0,1%. Hỗn hợp được đo ở bước sóng 700 nm bằng máy đo quang phổ. Kết quả được thể hiện bằng mật độ quang (OD) đo được. Mật độ quang càng cao thì khả năng khử càng cao.

Phân tích số liệu

Số liệu được phân tích ANOVA, sau đó kiểm định trung bình bằng phương pháp Tukey của phần mềm Minitab 16.0.

Kết quả và bàn luận

Hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số

Hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số của các phân đoạn dịch chiết từ gạo lức và gạo mầm được trình bày trong bảng 1. Đối với polyphenol tổng số, kết quả cho thấy phân đoạn ethyl acetate có hàm lượng polyphenol cao nhất trong cả hai dịch chiết từ gạo lức và gạo mầm, khác biệt không ý nghĩa thống kê ở mức 95%. Hàm lượng polyphenol trong phân đoạn nước của gạo lức cao hơn 4 lần so với gạo mầm. Trong khi hàm lượng polyphenol trong các phân đoạn hexane và chloroform giữa hai mẫu gạo khác biệt không ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 1. Hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số trong các phân đoạn của dịch chiết từ gạo lức và gạo mầm.

Phân đoạn dịch chiết		Polyphenol tổng số ($\mu\text{g/g}$)	Flavonoid tổng số ($\mu\text{g/g}$)
Gạo lức	H	20,33 $\pm$ 2,36 cd	8,97 $\pm$ 0,31 c
	C	2,2 $\pm$ 0,15 cd	0,32 $\pm$ 0,01 e
	E	163,14 $\pm$ 11,48 a	33,71 $\pm$ 1,49 a
	N	90,1 $\pm$ 10,13 b	26,32 $\pm$ 3,00 b
Gạo mầm	H	0,57 $\pm$ 0,02 d	0,23 $\pm$ 0,03 e
	C	2,64 $\pm$ 0,08 cd	0,55 $\pm$ 0,02 e
	E	148,6 $\pm$ 13,1 a	25,29 $\pm$ 0,20 b
	N	22,46 $\pm$ 1,29 c	5,01 $\pm$ 0,29 d

Các chữ cái theo sau trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 95%; H: Hexane; C: Chloroform; E: Ethyl acetate; N: Nước.

Flavonoid tổng số trong gạo lức cao hơn trong gạo mầm ở hầu hết các phân đoạn. Cụ thể, hàm lượng flavonoid trong phân đoạn hexane, ethyl acetate và nước trong gạo lức lần lượt cao hơn trong các phân đoạn tương ứng của gạo mầm, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 95%.

Từ bảng 1 rút ra kết luận rằng, polyphenol và flavonoid tổng số trong gạo lức và gạo mầm là không có sự khác biệt.

Khả năng chống oxy hóa

Khả năng chống oxy hóa của phân đoạn dịch chiết được trình bày trong bảng 2. Kết quả ghi nhận phân đoạn ethyl acetate của gạo mầm có hoạt tính ức chế DPPH cao nhất trong các phân đoạn, kế đến là phân đoạn ethyl acetate và chloroform của gạo lức, với khả năng ức chế trên 50%. Đối với phương pháp ABTS, khả năng ức chế của phân đoạn chloroform trong gạo lức là cao nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 95%, cao hơn các phân đoạn của gạo mầm. Tương tự, đối với khả năng khử, phân đoạn này cũng cho kết quả cao nhất. Thông thường, các chất thuộc nhóm acid béo và terpenoid được tìm thấy trong phân đoạn chloroform. Trong khi các hợp chất polyphenol và flavonoid phân cực thường tìm thấy trong phân đoạn ethyl acetate và nước.

Từ bảng 2 có thể kết luận rằng, khả năng chống oxy hóa của phân đoạn dịch chiết gạo lức và gạo mầm cũng không có

Bảng 2. Khả năng chống oxy hóa in vitro trong các phân đoạn của dịch chiết (nồng độ 0,5 mg/ml) từ gạo lức và gạo mầm.

Phân đoạn dịch chiết		Khả năng ức chế DPPH (%)	Khả năng ức chế ABTS (%)	Khả năng khử (OD)
Gạo lức	H	18,80 $\pm$ 0,76 f	9,57 $\pm$ 0,45 g	0,161 $\pm$ 0,004 g
	C	68,53 $\pm$ 0,73 b	73,45 $\pm$ 1,98 a	0,357 $\pm$ 0,006 a
	E	69,91 $\pm$ 2,16 b	47,64 $\pm$ 2,47 c	0,279 $\pm$ 0,004 d
	N	44,35 $\pm$ 1,43 e	20,80 $\pm$ 1,71 f	0,233 $\pm$ 0,002 e
Gạo mầm	H	8,84 $\pm$ 2,23 g	14,07 $\pm$ 1,88 g	0,176 $\pm$ 0,004 f
	C	51,28 $\pm$ 0,46 d	39,77 $\pm$ 2,85 d	0,291 $\pm$ 0,003 c
	E	76,43 $\pm$ 0,38 a	61,54 $\pm$ 2,26 b	0,303 $\pm$ 0,005 b
	N	64,83 $\pm$ 0,67 c	32,14 $\pm$ 2,39 e	0,296 $\pm$ 0,001 bc

Các chữ cái theo sau trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 95%; H: Hexane; C: Chloroform; E: Ethyl acetate; N: Nước.

sự khác biệt.

Kết quả nghiên cứu khả năng chống oxy hóa của dịch chiết nước từ gạo mầm và gạo lức của Esa và ctv [7] cũng cho thấy sự khác biệt giữa 2 loại gạo này không có ý nghĩa ở cả ba phương pháp là DPPH, TBA (Thiobarbituric acid) và FTC (Ferric thiocyanate).

Kết luận

Quá trình nảy mầm xảy ra làm tăng đáng kể hàm lượng GABA trong gạo như những báo cáo trước đây. Tuy nhiên, hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số trong các phân đoạn dịch chiết của gạo mầm không tăng nhiều so với gạo chưa nảy mầm. Đồng thời, hoạt tính chống oxy hóa của gạo chưa nảy mầm trong một số phân đoạn cao hơn trong gạo mầm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S.B. Patil & M.K. Khan (2011), "Germinated brown rice as a value added rice product: A review", *Journal of Food Science and Technology*, **48**(6), pp.661-667.
- [2] Cung Thị Tô Quỳnh, Nguyễn Hoàng Dũng và Lại Quốc Đạt (2013), "Nghiên cứu xây dựng quy trình sản xuất gạo mầm (gạo GABA) từ gạo lức Việt Nam", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, **51**(1), pp.63-71.
- [3] Bảng giá gạo Phương Nam (2014), <http://www.gaophuongnam.vn/bang-gia>, ngày 20/7/2017.
- [4] D.T. Khang, T.N. Dung, A.A. Elzaawely, T.D. Xuan (2016), "Phenolic profiles and antioxidant activity of germinated legumes", *Foods*, **5**(2), doi:10.3390/foods5020027.
- [5] P.T. Tuyen, D.T. Khang, P.T.T. Ha, T.N. Hai, A.A. Elzaawely, T.D. Xuan (2016), "Antioxidant capacity and phenolic contents of three quercus species", *International Letters of Natural Sciences*, **54**, pp.85-99.
- [6] T.N. Minh, D.T. Khang, P.T. Tuyen, L.T. Minh, L.H. Anh, N.V. Quan, P.T.T. Ha, N.T. Quan, N.P. Toan, A.A. Elzaawely, T.D. Xuan (2016), "Phenolic compounds and antioxidant activity of Phalaenopsis orchid hybrids", *Antioxidants*, **5**(3).
- [7] N.M. Esa, K.A. Kadir, Z. Amon, A. Azlan (2013), "Antioxidant activity of white rice, brown rice and germinated brown rice and the effects on lipid peroxidation and liver enzymes in hyperlipidaemic rabbits", *Food Chemistry*, **141**, pp.1306-1312.