

Khả năng chống oxy hóa và ức chế enzyme tyrosinase của yến sào

Lê Hữu Hoàng¹, Lương Công Bình¹, Nguyễn Xuân Duy², Nguyễn Thế Hàn²

¹Công ty TNHH Nhà nước MTV Yến sào Khánh Hòa

²Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang

Nghiên cứu được thực hiện trên 4 mẫu yến sào dạng khô được khai thác từ các khu vực khác nhau ở Việt Nam nhằm đánh giá khả năng chống oxy hóa và ức chế enzyme liên quan đến sự hình thành hắc tố của yến sào. Kết quả nghiên cứu cho thấy, cả 4 mẫu yến sào được sử dụng trong nghiên cứu đều có khả năng chống oxy hóa và ức chế mạnh enzyme liên quan đến quá trình hình thành sắc tố. Khả năng chống oxy hóa và ức chế enzyme ảnh hưởng bởi mẫu yến sào sử dụng và điều kiện chiết (nhiệt độ, thời gian). Kết quả này là bằng chứng khoa học quan trọng khẳng định tính năng sinh học và y dược của yến sào ở nước ta.

Mở đầu

Yến sào từ lâu đã trở thành một nguồn thực phẩm tuyệt vời mà thiên nhiên ban tặng cho con người. Bên cạnh giá trị dinh dưỡng cao, yến sào còn có nhiều chức năng sinh học quý giá mà không phải loại thực phẩm nào cũng có được, như bồi bổ cơ thể, phục hồi sức khỏe, cải thiện độ chắc của xương, tăng cường sức đề kháng, chống sự lây nhiễm của virus cúm A, giúp làm đẹp da, chống lão hóa... [1].

Ngày nay cùng với sự phát triển mạnh mẽ của khoa học hiện đại, nhiều chức năng sinh học mới của tổ yến sào đã và đang được khám phá [2, 3]. Mặc dù vậy, vẫn còn nhiều đặc tính sinh học quý của yến sào chưa được phát hiện. Cuộc sống hiện đại làm cho con người dễ bị căng thẳng (stress) do áp lực của công việc và cuộc sống. Điều đó đã dẫn đến nguy cơ phát sinh nhiều bệnh tật liên quan đến sự mất cân bằng oxy hóa (bắt nguồn từ những quá trình oxy hóa diễn ra trong cơ thể con người). Để cân bằng các phản ứng diễn ra trong cơ thể, hiện nay con người thường sử dụng các chất chống oxy hóa tổng hợp như vitamin C, vitamin E và các viên nén giàu chất chống oxy hóa. Tuy nhiên, những chất chống oxy hóa

này được chứng minh có nhiều tác dụng phụ bất lợi cho người sử dụng. Vì vậy, sử dụng thực phẩm như một chất oxy hóa, giúp cân bằng quá trình oxy hóa và chống lão hóa nhận được sự quan tâm rất lớn từ người sử dụng và có ý nghĩa thiết thực. Tyrosinase là một enzyme quan trọng tham gia vào quá trình hình thành các sắc tố melanin. Ức chế enzym tyrosinase có thể làm hạn chế việc sản sinh quá nhiều các sắc tố melanin, từ đó giúp điều trị các rối loạn liên quan đến tăng sắc tố da.

Thực tế cho thấy việc sử dụng yến sào có tác dụng giúp tăng cường sức đề kháng, chống lão hóa. Tuy nhiên cho đến nay, chưa có công trình nào công bố về khả năng chống oxy hóa và ngăn chặn sự hình thành hắc tố của yến sào ở Việt Nam. Xuất phát từ những vấn đề trên, nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá khả năng chống oxy hóa và ức chế enzyme liên quan đến sự hình thành hắc tố của yến sào.

Nội dung và kết quả nghiên cứu

Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên 4 mẫu yến sào dạng khô (M1, M2, M3, M4) khai thác từ các khu vực khác nhau

được cung cấp bởi Công ty TNHH Nhà nước MTV Yến sào Khánh Hòa. Các hóa chất phục vụ nghiên cứu được cung cấp bởi Công ty Sigma Aldrich (Hoa Kỳ).

Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ chiết được thực hiện trong khoảng 60-100°C; ảnh hưởng của thời gian chiết được thực hiện trong khoảng 30-150 phút. Dịch chiết thu được sau khi chiết được ly tâm với tốc độ 8.000 vòng/phút trong 15 phút, ở nhiệt độ 4°C. Dịch chiết thu được sau ly tâm được sử dụng để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa và ức chế enzyme tyrosinase. Cụ thể, xác định khả năng khử gốc tự do DPPH theo phương pháp của Fu và cộng sự (2002) [4]; tổng năng lực khử theo phương pháp của Oyaizu (1986) [5] với một vài hiệu chỉnh nhỏ; khả năng ức chế enzyme tyrosinase theo phương pháp của Fu và cộng sự (2005) [6] với một vài hiệu chỉnh nhỏ.

Kết quả

Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiết đến khả năng khử gốc tự do DPPH: Gốc tự do được tạo ra từ quá trình chuyển hóa bình thường của các tế bào trong cơ thể hoặc từ tác động của các yếu tố bên ngoài như ô nhiễm môi trường, khói thuốc lá, phóng xạ

và thuốc tây. Khi một lượng dư thừa gốc tự do không được phá hủy, chúng sẽ tích tụ trong cơ thể và gây ra hiện tượng stress oxy hóa. Hiện tượng này là nguyên nhân chính gây ra các bệnh mạn tính nguy hiểm như ung thư, lão hóa, rối loạn miễn dịch, bệnh đục nhân mắt, các bệnh về tim mạch, bệnh thoái hóa thần kinh... Để chống lại hiện tượng stress oxy hóa, cơ thể người đã tạo ra các chất oxy hóa nội tại lấy từ các nguồn thực phẩm giàu chất chống oxy hóa. Có 90% những nghiên cứu về khả năng chống oxy hóa sử dụng phép thử khử gốc tự do DPPH.

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiết đến khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết yến sào cho thấy: Khi tăng nhiệt độ chiết từ 60 lên 100°C thì khả năng khử gốc tự do của tất cả các mẫu yến sào đều tăng lên. Cụ thể, giá trị IC_{50} của các mẫu M1, M2, M3 và M4 ở 60°C lần lượt là 136,9; 113,2; 160,7 và 201,6 mg/ml, trong khi đó giá trị này tại 90°C lần lượt là 53,0; 73,9; 81,3 và 99,5 mg/ml. Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ chiết từ 90 lên 100°C thì hiệu quả chiết gần như không thay đổi. Tương tự, thời gian chiết cũng ảnh hưởng đến khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết từ yến sào. Theo đó, khả năng khử gốc tự do tăng nhanh từ khoảng thời gian chiết 30 đến 60 phút, sau đó sự thay đổi là không đáng kể.

Kết quả của nghiên cứu này cho thấy, dịch chiết nước nóng của yến sào (một dạng sản phẩm phổ biến của yến sào Khánh Hòa) có khả năng chống oxy hóa. So sánh với một số loại dịch chiết từ các nguồn nguyên liệu khác cho thấy dịch chiết từ yến sào có khả năng chống oxy hóa tương đối mạnh. Tại nhiệt độ chiết là 90°C, thời gian chiết là 60 phút, giá trị IC_{50} của dịch chiết yến sào M1 là 53,0 mg/ml. Cheung và cộng sự (2003) [7] nghiên cứu khả năng chống oxy hóa của dịch chiết từ 4 loài nấm ăn thu tại Đài Loan cho thấy giá trị IC_{50} khoảng trên dưới 10.000 mg/ml. Như vậy, dịch

chiết yến sào có khả năng khử gốc tự do mạnh hơn dịch chiết một số loài nấm ăn ở Đài Loan khoảng 200 lần. Hải sâm được sử dụng phổ biến như một loại thực phẩm chức năng ở nhiều nước châu Á vì có nhiều tác dụng dược học. Nghiên cứu khả năng chống oxy hóa của 2 loài hải sâm (*Holothuria edulis* lesson và *Stichopus horrens* Selenka) ở Malaysia của Althunibat và cộng sự (2013) [8] cho thấy giá trị IC_{50} của dịch chiết hải sâm khoảng 2.000 mg/ml. Kết quả này cho thấy dịch chiết hải sâm có khả năng chống oxy hóa yếu hơn dịch chiết yến sào khoảng 40 lần.

Kết quả nghiên cứu này chứng minh rằng yến sào có khả năng chống oxy hóa mạnh mẽ. Điều này góp phần khẳng định những tính năng y dược quan trọng đã biết của yến sào như khả năng chống lão hóa, làm đẹp da...

Amb ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiết đến tổng năng lực khử: Bên cạnh khả năng khử gốc tự do DPPH thì tổng năng lực khử ion Fe^{3+} cũng là một phương pháp phổ biến để đánh giá khả năng chống oxy hóa. Nguyên lý của phương pháp này là, chất chống oxy hóa sẽ nhường một điện tử để khử ion Fe^{3+} thành ion Fe^{2+} . Hàm lượng ion Fe^{2+} tạo thành sẽ được đánh giá bằng cách đo màu xanh Perl's Prussian ở bước sóng 700 nm. Độ hấp thụ ở bước sóng này càng cao, chứng tỏ năng lực khử càng mạnh. Tổng năng lực khử của một chất là một chỉ tiêu quan trọng để đánh giá khả năng chống oxy hóa của chất đó.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, thời gian và nhiệt độ chiết có ảnh hưởng rõ ràng đến năng lực khử của dịch chiết yến sào. Nhìn chung, tổng năng lực khử tăng lên cùng với thời gian và nhiệt độ chiết. Năng lực khử của mẫu yến sào M1 khi chiết ở nhiệt độ 100°C, trong thời gian 60 phút thể hiện qua giá trị IC_{50} là 20,4 mg/ml. Giá trị này thể hiện năng lực khử của dịch chiết yến sào rất mạnh. Tổng năng lực khử của các mẫu dịch chiết yến sào mạnh hơn Butylated

hydroxytoluene (BHT), có giá trị $IC_{50} > 250$ mg/ml [9]. BHT là một chất chống oxy hóa, được sử dụng nhiều trong ngành công nghiệp dược phẩm và thực phẩm. Wong và Chye (2009) [10] khi nghiên cứu khả năng chống oxy hóa của dịch chiết từ 6 loài nấm ăn được trồng tại Malaysia (*Pleurotus porrigens*, *Hygrocybe conica*, *Xerula furfuracea*, *Schizophyllum commune*, *Polyporus tenuiculus* và *Pleurotus florida*) cho thấy, tổng năng lực khử của dịch chiết từ những loài nấm này có giá trị IC_{50} lớn hơn 20.000 mg/ml. Như vậy, dịch chiết của yến sào có tổng năng lực khử mạnh hơn dịch chiết của nấm ăn trồng tại Malaysia rất nhiều (trên 1.000 lần).

Từ kết quả nghiên cứu về khả năng khử gốc tự do và tổng năng lực khử có kết luận rằng, dịch chiết yến sào có khả năng chống oxy hóa rất mạnh; nhiệt độ và thời gian là yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới hiệu suất chiết các hợp chất chống oxy hóa từ yến sào. Đây là cơ sở để phát triển các dòng sản phẩm mới từ dịch chiết yến sào như dịch chiết cô đặc giàu chất chống oxy hóa, viên bao nang dịch chiết yến sào.

Amb ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến khả năng ức chế enzyme tyrosinase: Tyrosinase là một enzyme cần thiết cho quá trình sinh tổng hợp melanin trên da người và động vật. Enzyme tyrosinase chuyển hóa acid amin tyrosine tạo thành một hợp chất hóa học có tên là L-3,4-dihydroxyphenylalanine (thường được gọi là DOPA). Sau đó dưới sự xúc tác của enzyme tyrosinase, DOPA tiếp tục được chuyển hóa thành dopaquinone và cuối cùng dopaquinone chuyển hóa thành một trong hai dạng melanin (Pheo-melanin và Eu-melanin). Tất cả những phản ứng này diễn ra ở trong các tế bào melanosomes. Melanosomes là những tế bào sinh tổng hợp melanin và vận chuyển chúng đến vùng da tiếp xúc với ánh nắng mặt trời. Ức chế hoạt động của enzyme tyrosinase là

một trong những nguyên tắc để hạn chế sự chuyển hóa tyrosine thành melanin, một chất tạo hắc tố trên da. Dựa trên nguyên tắc này, các chất ức chế enzyme tyrosinase được sử dụng phổ biến trong ngành công nghiệp mỹ phẩm, chăm sóc sắc đẹp, đặc biệt những sản phẩm làm đẹp. Các nhà khoa học đã chỉ ra rằng việc hạn chế sự tạo thành hắc tố trên da có thể được thực hiện bằng cách ăn uống các sản phẩm chứa chất ức chế enzyme tyrosinase hoặc bôi trực tiếp lên da.

Kết quả nghiên cứu khả năng ức chế enzyme hình thành sắc tố tyrosinase từ dịch chiết yến sào cho thấy, cả 4 mẫu M1, M2, M3 và M4 đều có khả năng ức chế enzyme này. Với một lượng rất nhỏ (100 µl) dịch chiết của mẫu M1 chiết ở 100°C, trong thời gian 60 phút đã ức chế hơn 60% hoạt động của enzyme tyrosinase. Khả năng ức chế phụ thuộc vào cả vào thời gian và nhiệt độ chiết. Theo đó, sự ức chế enzyme tyrosinase tăng lên cùng với sự tăng của nhiệt độ và thời gian chiết. Kết quả này cho thấy, yến sào được chiết ở điều kiện đun sôi trong thời gian 2 giờ cho hiệu quả ức chế enzyme tyrosinase tốt nhất.

Kết quả đạt được trong nghiên cứu là bằng chứng khoa học góp phần giải thích vì sao sử dụng tổ yến có tác dụng làm đẹp da. Theo hiểu biết của chúng tôi, đây là công bố đầu tiên về khả năng ức chế enzyme hình thành sắc tố trên da của yến sào Khánh Hòa.

Ảnh hưởng của pH thấp và nhiệt độ cao đến độ bền hoạt tính của dịch

yến sào: Các chất có hoạt tính sinh học khi thử trên ống nghiệm có thể không có tác dụng khi hấp thụ vào trong cơ thể vì một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng pH rất thấp (pH = 2) ở dạ dày có thể phá hủy và làm mất hoạt tính của nhiều chất có hoạt tính sinh học. Xuất phát từ điều này, sự bền hoạt tính sinh học đánh giá bằng khả năng chống oxy hóa (khử gốc tự do DPPH) của dịch chiết yến sào đã được nghiên cứu. Theo đó, dịch chiết yến sào được giữ ở pH = 2 trong thời gian 20, 40 và 60 phút. Mẫu ở pH thường được sử dụng là một mẫu đối chứng. Kết quả nghiên cứu cho thấy, dịch chiết rất bền ở pH = 2 (trên 90% hoạt tính khử gốc tự do DPPH được giữ lại sau 60 phút). Kết quả này cho phép kết luận rằng dịch chiết yến sào sẽ bền hoạt tính khi hấp thụ và chuyển hóa trong cơ thể.

Ngoài ra, dịch chiết yến sào có thể được sử dụng để chế biến các sản phẩm khác nhau. Trong quá trình chế biến này, điều kiện nhiệt độ cao và thời gian dài có thể được sử dụng. Do đó, ảnh hưởng của nhiệt độ cao, trong các khoảng thời gian khác nhau đến hoạt tính của dịch chiết yến sào đã được nghiên cứu. Dịch chiết yến sào được giữ ở nhiệt độ 120°C, trong các khoảng thời gian 30, 60, 90 và 120 phút (bảng 1). Kết quả cho thấy, khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết yến sào gần như không thay đổi sau thời gian 120 phút. Như vậy, dịch chiết yến sào sẽ ổn định hoạt tính trong các điều kiện chế biến sử dụng nhiệt độ cao.

Bảng 1. Độ bền hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết yến sào ở điều kiện nhiệt độ cao trong các khoảng thời gian khác nhau.

Thời gian giữ ở 120°C (phút)	Độ bền hoạt tính chống oxy hóa (% khử gốc tự do DPPH so với mẫu ở nhiệt độ thường)
30	98,2±2,3
60	98,8±5,6
90	97,3±1,7
120	97,1±3,2

Kết luận

Như vậy, tất cả các mẫu yến sào Khánh Hòa sử dụng trong nghiên cứu này đều có khả năng chống oxy hóa và ức chế mạnh enzyme liên quan đến quá trình hình thành sắc tố. Khả năng chống oxy hóa và ức chế enzyme ảnh hưởng bởi mẫu yến sào sử dụng và điều kiện chiết (nhiệt độ, thời gian). Kết quả nghiên cứu là bằng chứng khoa học quan trọng cho những tính năng sinh học và y dược của yến sào. Những nghiên cứu tiếp theo cần thực hiện để thu nhận những thành phần có giá trị sinh học này từ yến sào.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] W. Saengkrajang, N. Matan (2013), "Nutritional composition of the farmed edible bird's nest (*Collocalia fuciphaga*) in Thailand", *Journal of food composition and analysis*, **31**(1), pp.41-45.
- [2] C.K. Lim, Earl of Cranbrook (2002), *Swiftlets of Borneo: Builders of edible nests*, Natural History Publications (Borneo).
- [3] M.F. Marcone (2005), "Characterization of the edible bird's nest the caviar of the East", *Food Research International*, **38**(10), pp.1125-1134.
- [4] H.Y. Fu, D.E. Shieh, C.T. Ho (2002), "Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms", *Journal of food lipids*, **9**(1), pp.35-43.
- [5] M. Oyaizu (1986), "Antioxidative activities of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography", *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **35**(11), pp.771-775.
- [6] B. Fu, H. Li, X. Wang, F.S. Lee, S. Cui (2005), "Isolation and identification of flavonoids in licorice and a study of their inhibitory effects on tyrosinase", *Journal of agricultural and food chemistry*, **53**(19), pp.7408-7414.
- [7] L.M. Cheung, P.C. Cheung, V.E. Ooi (2003), "Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts", *Food chemistry*, **81**(2), pp.249-255.
- [8] O. Althunibat, et al. (2013), "Antioxidant and cytotoxic properties of two sea cucumbers, *Holothuria edulis* lesson and *Stichopus horrens* Selenka", *Acta Biologica Hungarica*, **64**(1), pp.10-20.
- [9] K. Ganesan, K.S. Kumar, P.S. Rao (2011), "Comparative assessment of antioxidant activity in three edible species of green seaweed, *Enteromorpha* from Okha, Northwest coast of India", *Innovative food Science & Emerging Technologies*, **12**(1), pp.73-78.
- [10] J.Y. Wong, F.Y. Chye (2009), "Antioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms", *Journal of Food Composition and Analysis*, **22**(4), pp.269-277.