

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN VÀ PHÂN TÍCH HÀM LƯỢNG CHẤT BÉO TỪ HẠT MĂNG CẦU XIÊM (*Annona muricata* L.) Ở VIỆT NAM

Đoàn Mạnh Dũng^{1*}, Đoàn Lan Phương², Trần Đình Thắng³,

Nguyễn Hữu Tùng⁴, Nguyễn Đình Luyện⁵

¹Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

²Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Viện Công nghệ Hóa sinh - Môi trường, Đại học Vinh

⁴Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Huế

⁵Khoa Y – Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

*Email: doanmanhdung151090@gmail.com

Ngày nhận bài: 3/8/2018; ngày hoàn thành phản biện: 9/10/2018; ngày duyệt đăng: 10/12/2018

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành khảo sát thành phần và phân tích hàm lượng axit béo trích ly từ hạt măng cầu xiêm (*Annona muricata* L.) bằng thiết bị sắc ký khí - khối phổ (GC-MS). Các hợp chất axit béo không no là thành phần chính, với hàm lượng lớn trong các dịch chiết sử dụng phương pháp chiết đầu béo bằng *n*-hexan và bằng chloroform/methanol (v/v = 1/2). Các axit béo đặc trưng nhất là axit linoleic, axit oleic và axit palmitic. Hàm lượng các axit béo này được xác định cụ thể bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ. Mẫu hạt măng cầu xiêm có hoạt tính chống oxy hóa cao với giá trị $SC_{50} = 6,4 \pm 0,4$ $\mu\text{g/ml}$ do có sự hiện diện của α -tocopherol ($5,3 \pm 0,4$ mg/kg), γ -tocopherol ($8,9 \pm 0,3$ mg/kg), các hợp chất phenolic và các axit béo không no.

Từ khóa: *Annona muricata*, Annonaceae, fatty acids, GC-MS, Seed oil.

1. MỞ ĐẦU

Chất béo và dầu được công nhận là chất dinh dưỡng thiết yếu trong chế độ ăn uống của con người và động vật [1]. Từ lâu, các loại hạt có dầu thông thường như hạt bông, mè và hướng dương đã được nghiên cứu sử dụng. Gần đây, các nhà nghiên cứu đã bắt đầu quan tâm đến việc tìm kiếm và phát hiện các nguồn nguyên liệu mới có chứa hàm lượng lớn các loại dầu béo từ động vật và thực vật trong tự nhiên [2]. *Annona* là một chi lớn thứ hai thuộc họ na (Annonaceae) với khoảng 166 loài. Nhiều

loài trong chi này được sử dụng trong các bài thuốc cổ truyền sử dụng trong điều trị một loạt các bệnh như chữa kiết lỵ, chữa sốt rét, chữa ho, làm thuốc trừ sâu [3, 4]. Cây măng cầu xiêm có tên khoa học là *Annona muricata* L.. Hạt của nó chiếm 30% trọng lượng quả. Hàm lượng dầu của các hạt này dao động từ 14 đến 49% có một lượng lớn các axit béo không no, với hàm lượng axit oleic cao hơn [1, 5, 12].

Trong bài báo này, chúng tôi tiến hành khảo sát thành phần và phân tích hàm lượng dầu béo có trong 10 mẫu hạt măng cầu xiêm ở một số vùng tại miền Trung và miền Nam, Việt Nam bằng hai phương pháp chiết dầu béo khác nhau với dung môi *n*-hexan và chloroform/methanol (v/v = 1/2). Sau đó, thành phần và hàm lượng của các axit béo trong các mẫu dầu nói trên được khảo sát dựa trên phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS).

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Các mẫu hạt măng cầu xiêm (*Annona muricata* L.) được thu hái vào tháng 9 năm 2016 tại một số vùng thuộc miền Trung (Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, Quảng Bình, Thừa Thiên Huế) và miền Nam (Vũng Tàu, Tây Ninh, Lâm Đồng, Tiền Giang, Cần Thơ) ở Việt Nam (bảng 1). Các mẫu này được TS. Đỗ Ngọc Đài – Trường Đại học Kinh tế kỹ thuật Nghệ An định danh tên khoa học và tiêu bản được lưu trữ tại Viện Hóa học Các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Các hạt sau khi thu hái được giữ nguyên lớp vỏ, sấy khô ở 40°C bằng tủ sấy Memmert IN110, xay nhỏ và bảo quản ở nhiệt độ -4°C bằng tủ lạnh sâu Panasonic MDF-U334-PE.

Bảng 1. Danh sách 10 mẫu hạt măng cầu xiêm nghiên cứu

TT	Địa điểm thu mẫu	Ký hiệu mẫu chiết bằng hexan	Ký hiệu mẫu chiết bằng cloroform/methanol
1	Cần Thơ	CTH	CTD
2	Tiền Giang	TGH	TGD
3	Vũng Tàu	VTH	VTD
4	Tây Ninh	TNH	TND
5	Đà Lạt	DLH	DLD
6	Thừa Thiên Huế	TTHH	TTHD
7	Quảng Bình	QBH	QBD
8	Hà Tĩnh	HTH	HTD
9	Nghệ An	NAH	NAD
10	Thanh Hóa	THH	THD

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chiết dầu béo

- *Phương pháp chiết dầu béo bằng n-hexan*

Mẫu hạt nghiên cứu được chiết tách và xác định hàm lượng dầu béo theo phương pháp ISO/DIS 659:1988 [6].

Lấy 10 gam mẫu hạt đã được sấy khô, đem nghiền nhỏ trong máy nghiền bi và sau đó chiết bằng 150 ml *n*-hexan (chiết 2 lần) trong bộ chiết Soxhlet 6 chỗ BEGER, FAT 6 ở nhiệt độ 40°C trong 6 giờ. Dịch chiết thu được đem cất loại dung môi trên máy cất quay chân không ở 40°C và áp suất 25 tor. Hàm lượng dầu béo của hạt sau khi cân trên cân phân tích Sartorius analytic (10^{-4}) và được tính toán theo phần trăm khối lượng so với mẫu hạt khô ban đầu. Dầu béo thu được được bảo quản trong dung môi *n*-hexan tinh khiết và lưu giữ ở nhiệt độ -10°C trong tủ lạnh sâu Panasonic MDF-U334-PE.

- *Phương pháp chiết dầu béo bằng cloroform/methanol.*

Dầu béo của mười mẫu hạt măng cầu xiêm được chiết theo phương pháp thứ hai đó là bằng dung môi cloroform/methanol theo phương pháp của Bligh Dyer [7].

Lấy 10 g mẫu hạt tươi được nghiền nhỏ, sau đó dầu béo được tách ra bởi quá trình chiết với hỗn hợp 300 mL dung môi cloroform/methanol ($v/v = 1/2$) siêu âm ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được lọc và được phân lớp bằng cách bổ sung vào 200 mL dung dịch chloroform/nước ($v/v = 1/1$). Khi quá trình phân pha diễn ra hoàn toàn, tiến hành thu hồi pha chloroform, pha nước còn lại được chiết lại lần hai với 100 mL chloroform. Toàn bộ phần dịch chiết dầu béo được làm khan bằng Na_2SO_4 và được loại bỏ dung môi bằng máy cất quay chân không Buchi R-300. Hàm lượng dầu béo được xác định dựa trên phần trăm khối lượng dầu béo thu được so với khối lượng mẫu khô ban đầu. Dầu béo được bảo quản trong dung môi cloroform tinh khiết và lưu giữ ở nhiệt độ -10°C bằng tủ lạnh sâu Panasonic MDF-U334-PE.

2.2.2. Phương pháp xác định thành phần và hàm lượng axit béo

Thành phần và hàm lượng axit béo trong các mẫu dầu nói trên được xác định theo phương pháp ISO/DIS 5509:1997 (International Organisation for Standardisation/Final draft) [8].

Lấy 100 mg dầu béo hoà tan trong 1 ml heptan sau đó chuyển hóa thành dạng methyl ester để phân tích trên máy sắc ký khí. Thành phần và hàm lượng axit béo được xác định dưới dạng metyleste: lấy 100 mg dầu béo mỗi loại, hoà tan trong 1ml heptan, bổ sung 50 μl $\text{NaOCH}_3/\text{CH}_3\text{OH}$, lắc kỹ trong 1 phút. Thêm 100 μl H_2O vào đem ly tâm chế độ 5000 V/phút, bổ sung 50 μl HCl . Phần dịch dưới được làm khan bởi Na_2SO_4 và đem phân tích trên máy sắc ký khí. Máy sắc ký khí hãng Hewlett Packard instrument Model 5890 Series II, CP-Sil 88 (cột mao quản chuyên dụng CP-Sil 88, 100

mm/0.25 mm/0.25 μ m với hệ chất chuẩn C16:0, C18:0). Chương trình nhiệt độ: nhiệt độ 155-220°C (1,5°C/min), tốc độ: 10°C/ phút, 260°C/5 phút; Split: 1:50; injector 250°C, detector 250°C, khí mang 36 cm/s hydrogen, detector gas: 30 mL/min hydrogen, 300 mL/min không khí và 30 mL/min nitrogen, bơm mẫu tự động với thể tích 0,9 μ L. Nhận dạng các axit béo bằng phần mềm chuyên dụng tính toán chuyển đổi qua giá trị thời gian lưu tương đương ELC (Equivalent Chain- lengths of methyl ester derivatives of fatty acids) cho cột mao quản chuyên dụng CP-Sil 88, có sử dụng hệ chất chuẩn C16:0, C18:0 trên máy C-R3A theo công thức sau:

$$ECL = 16 + \frac{2(\lg RT_x - \lg RT_{16:0})}{\lg RT_{18:0} - \lg RT_{16:0}}$$

2.2.3. Phương pháp phân tích thành phần và hàm lượng tocopherol

Thành phần và hàm lượng tocopherol xác định theo phương pháp ISO/9936:2006 [9].

Hoà tan 70 mg - 100 mg dầu béo trong 100 μ L heptan, lấy 20 μ L đem phân tích trên thiết bị HPLC (Merck-Hitachi F-1000 Fluorescence Spectrophotometer, 295/330 nm, D-2500). Mẫu được bơm tự động trong buồng bơm mẫu tự động Merck 655-A40, cột 4,6 mm x 25 cm, tốc độ dòng 1,3 mL/phút, hệ pha động sử dụng là heptan/*tert*-butyl methyl ete (v/v = 99/1...).

2.2.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính chống oxy hóa

Đánh giá khả năng chống oxy hoá của dịch chiết *n*-hexan từ hạt măng cầu xiêm bằng phép thử sinh học theo phương pháp của Shela G. (2003) [10] tại phòng Sinh học thực nghiệm - Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Dựa trên nguyên tắc 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) có khả năng tạo ra các gốc tự do bền trong dung dịch etanol 96%. Khi cho các chất thử nghiệm vào hỗn hợp này, nếu chất có khả năng làm trung hoà hoặc bao vây các gốc tự do sẽ làm giảm cường độ hấp thụ ánh sáng của các gốc tự do DPPH. Hoạt tính chống oxy hoá được đánh giá thông qua giá trị hấp thụ ánh sáng của dịch thí nghiệm so với đối chứng khi đọc trên máy Elisa ở bước sóng 515 nm. Giá trị trung bình của khả năng bắt các gốc tự do SC (%) ở các nồng độ mẫu được đưa vào chương trình xử lý số liệu Excel theo công thức:

$$\% SA = (OD_{\text{đối chứng}} - OD_{\text{mẫu thử}}) * 100 / OD_{\text{đối chứng}} (\%)$$

Trong đó: $OD_{\text{đối chứng}}$: Độ hấp thụ mẫu không chứa chất

$OD_{\text{mẫu thử}}$: Độ hấp thụ mẫu chứa chất

Giá trị SC_{50} (μ g/ml): nồng độ trung hòa được 50% gốc tự do của DPPH.

Mẫu được pha theo 5 thang nồng độ. Giá trị SC_{50} được xác định bằng chương trình table curve thông qua nồng độ chất thử và tỉ lệ % hoạt động của chất thử mà ở đó 50% các gốc tự do tạo bởi DPPH được trung hoà bởi chất thử nghiệm.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hàm lượng dầu béo

Hạt măng cầu xiêm thuộc nhóm hạt thực vật có hàm lượng dầu béo khá cao, kết quả thu được phần trăm hàm lượng dầu béo trung bình trong 10 mẫu ở hai phương pháp chiết là 20 đến 40%. So sánh với kết quả nghiên cứu trên các đối tượng hạt chứa dầu béo sử dụng trong thực phẩm, cho thấy hàm lượng dầu béo trong hạt măng cầu xiêm thấp hơn không đáng kể so với dầu béo của hạt oliu (40-70%), lạc (52,3%), hướng dương (55%) nhưng cao hơn dầu đậu nành (22,1%), tương đương dầu dừa (36,7%) và hạt lanh (32,5%) [1]. Các hàm lượng dầu của hạt măng cầu xiêm trong nghiên cứu này cao hơn so với báo cáo của một số các tác giả khác như trong công bố của tác giả Virendra Srana hàm lượng dầu béo được xác định trong hạt *Annona squamosa* L. là 22,2%, công bố của nhóm nghiên cứu Zaha A hàm lượng dầu béo được xác định trong hạt *Annona muricata* L. là 21,5%... [5, 11, 12].

Bảng 2. Hàm lượng lipit tổng (%) của các mẫu hạt măng cầu xiêm

Địa điểm lấy mẫu	Hàm lượng lipit tổng chiết bằng hexan (%)				Hàm lượng lipit tổng chiết bằng cloroform/metanol (%)			
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	TB $\pm$ SD	Lần 1	Lần 2	Lần 3	TB $\pm$ SD
Cần Thơ	44,3	43,8	44,5	44,2 $\pm$ 0,4	29,6	29,2	29,9	29,6 $\pm$ 0,4
Tiền Giang	37,8	37,5	38,2	37,8 $\pm$ 0,3	23,9	24,1	23,7	23,9 $\pm$ 0,2
Vũng Tàu	31,4	30,9	31,9	31,4 $\pm$ 0,5	29,5	28,9	30,2	29,5 $\pm$ 0,7
Tây Ninh	34,1	33,8	34,7	34,2 $\pm$ 0,5	29,4	28,8	29,7	29,3 $\pm$ 0,5
Đà Lạt	35,1	34,7	35,5	35,1 $\pm$ 0,1	24,4	24,1	24,9	24,5 $\pm$ 0,4
Thừa Thiên Huế	35,4	35,1	35,9	35,4 $\pm$ 0,4	20,8	20,5	21,1	20,8 $\pm$ 0,3
Quảng Bình	38,9	38,5	39,3	38,9 $\pm$ 0,4	26,1	25,8	26,4	26,1 $\pm$ 0,3
Hà Tĩnh	37,2	36,8	37,5	37,2 $\pm$ 0,4	28,2	27,8	28,5	28,2 $\pm$ 0,4
Nghệ An	32,7	33,1	32,5	32,7 $\pm$ 0,3	20,2	19,8	20,5	20,2 $\pm$ 0,4
Thanh Hóa	38,9	39,2	38,6	38,9 $\pm$ 0,3	29,8	30,1	29,6	29,8 $\pm$ 0,3

- So sánh hai phương pháp chiết

Qua bảng 2 cho ta thấy mười mẫu hạt măng cầu xiêm khi chiết bằng *n*-hexan cho hàm lượng dầu béo nằm trong khoảng từ 31,4%-44,2%, trong đó mẫu thu ở Cần Thơ có hàm lượng cao nhất là 44,2 $\pm$ 0,4% và mẫu thu ở Vũng Tàu thấp nhất 31,4%. Với

mười mẫu chiết bằng cloroform/metanol cho hàm lượng dầu béo thấp hơn khi chiết bằng *n*-hexan, hàm lượng dầu béo chỉ từ 20,2% - 29,8%. Phương pháp chiết xuất dầu béo bằng Soxhlet cho hàm lượng dầu béo cao hơn lý giải tính tan hoàn toàn của chất béo vào dung môi hữu cơ theo một chu trình: khi dung môi sôi, bay hơi gặp lạnh, ngưng tụ ở tháp trích ly, trong thời gian này dung môi sẽ trích ly chất béo, đến khi dung môi trong tháp trích ly vượt quá đầu ống xiphông sẽ tràn về bình cầu kéo theo chất béo, dung môi lại tiếp tục bay hơi, còn chất béo do có nhiệt độ sôi cao hơn không bay hơi ở lại bình cầu, quá trình lại diễn ra tiếp tục nhiều lần nên chiết kiệt hết dầu béo có trong mẫu. Còn ở phương pháp chiết bằng dung môi cloroform/methanol (*v/v* = 1/2) siêu âm ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ cho hàm lượng dầu béo thấp hơn được lý giải do chiết ở nhiệt độ thấp hơn và sử dụng dung môi phân cực hơn nên chất béo không tan hoàn toàn. Từ kết quả này cũng khẳng định *n*-hexan phù hợp dùng làm dung môi nghiên cứu chiết hạt thực vật vì vừa cho hiệu suất cao hơn, giá thành dung môi *n*-hexan rẻ hơn và mặt khác dung môi cloroform, methanol đều độc hại hơn. Mẫu thu ở Cần Thơ và Thanh Hóa có hàm lượng dầu béo cao hơn ở 8 vùng còn lại.

Thành phần và hàm lượng các axit béo

Nhìn chung trong dầu hạt măng cầu xiêm có mặt các dạng axit béo phổ dụng trong lipid hạt thực vật như các axit béo no: palmitic (C16:0), stearic (18:0); các axit béo không no: axit béo có một nối đôi oleic C18:1(n-9) và axit béo hai nối đôi linoleic C18:2(n-6).

Phân tích số liệu từ bảng 3 cho thấy các axit béo không no chiếm từ 79 – 89% tổng số axit béo trong lipid hạt măng cầu xiêm. Trong đó chủ yếu là hai axit béo không no: oleic và linoleic. Axit oleic được phân bố rộng rãi nhất trong tất cả axit béo và đại diện cho axit béo dạng một nối đôi. Nhắc đến axit này không thể không nói đến sự có mặt của nó trên 70% trong dầu hạt oliu, quả hạt phi, hồ đào, maca, hướng dương và dầu rum. Axit oleic thường được biết đến qua những ảnh hưởng tích cực đến hệ thống tuần hoàn, tim mạch, được coi như một chất béo cơ bản trong chế độ ăn uống của người Địa Trung Hải. Lợi ích và công hiệu của nó đã được nhiều nghiên cứu khoa học chứng minh, nhất là tác dụng trong việc làm giảm cholesterol trong máu [13]. Axit linoleic (ω -6) là axit béo không no chứa hai nối đôi, có tác dụng ngăn ngừa bệnh tim mạch và làm giảm huyết áp [14]. Hàm lượng axit linoleic trong lipid hạt măng cầu xiêm (13% đến 50%) tương đương hàm lượng axit này trong lipid dầu dừa (36,70%) [1]. Axit béo linoleic ngày càng được sử dụng phổ biến trong những sản phẩm làm đẹp vì những tác dụng của nó đối với da, có khả năng kháng viêm, giảm mụn và cân bằng độ ẩm cho da. Hàm lượng và thành phần các axit béo có mặt trong mười mẫu hạt măng cầu xiêm nghiên cứu không có sự sai khác nhiều so với các kết quả công bố trước đây [5,11,12].

Bảng 3. Thành phần và hàm lượng axit béo (%) trong các mẫu hạt măng cầu xiêm

Kí hiệu mẫu	Thành phần – hàm lượng các axit béo (%) (TB $\pm$ SD, n = 3)							
	16:0	16:1n-9	18:0	18:1n-9	18:2n-6	Σ SFA ^a	Σ MUFA ^b	Σ PUFA ^c
CTH	12,3 $\pm$ 0,3	-	5,8 $\pm$ 0,2	49,3 $\pm$ 1,1	32,6 $\pm$ 0,8	18,1	49,3	32,6
TGH	16,4 $\pm$ 0,4	-	3,3 $\pm$ 0,1	48,0 $\pm$ 1,1	32,3 $\pm$ 0,8	19,7	48	32,3
VTH	16,5 $\pm$ 0,4	0,20 $\pm$ 0,01	3,4 $\pm$ 0,1	42,8 $\pm$ 1,0	37,1 $\pm$ 0,9	19,9	43	37,1
TNH	16,0 $\pm$ 0,4	0,68 $\pm$ 0,03	2,2 $\pm$ 0,1	36,2 $\pm$ 0,8	45,0 $\pm$ 1,0	18,2	36,88	45
DLH	12,4 $\pm$ 0,3	-	4,4 $\pm$ 0,2	65,2 $\pm$ 1,2	17,7 $\pm$ 0,5	16,8	65,2	17,7
TTHH	15,7 $\pm$ 0,4	-	4,2 $\pm$ 0,1	49,6 $\pm$ 1,1	30,5 $\pm$ 0,7	19,9	49,6	30,5
QBH	11,1 $\pm$ 0,3	-	1,5 $\pm$ 0,1	43,3 $\pm$ 1,0	44,2 $\pm$ 1,0	12,6	43,3	44,2
HTH	14,8 $\pm$ 0,4	-	2,2 $\pm$ 0,1	40,6 $\pm$ 0,9	42,4 $\pm$ 1,0	17	40,6	42,4
NAH	16,3 $\pm$ 0,4	-	2,8 $\pm$ 0,1	51,6 $\pm$ 1,1	29,3 $\pm$ 0,7	19,1	51,6	29,3
THH	9,9 $\pm$ 0,3	-	2,6 $\pm$ 0,1	35,0 $\pm$ 0,8	52,5 $\pm$ 1,2	12,5	35	52,5
CTD	13,8 $\pm$ 0,4	-	5,8 $\pm$ 0,2	62,5 $\pm$ 1,3	17,9 $\pm$ 0,5	19,6	62,5	17,9
TGD	9,5 $\pm$ 0,3	-	1,5 $\pm$ 0,1	38,7 $\pm$ 0,9	50,3 $\pm$ 1,1	11	38,7	50,3
VTD	12,1 $\pm$ 0,3	-	1,0 $\pm$ 0,1	49,9 $\pm$ 1,1	37,1 $\pm$ 0,9	13,1	49,9	37,1
TND	12,8 $\pm$ 0,4	-	1,4 $\pm$ 0,1	50,8 $\pm$ 1,1	35,0 $\pm$ 0,8	14,2	50,8	35
DLD	16,6 $\pm$ 0,4	-	8,5 $\pm$ 0,3	61,7 $\pm$ 1,3	13,2 $\pm$ 0,4	25,1	61,7	13,2
TTHD	11,8 $\pm$ 0,3	-	0,5 $\pm$ 0,1	56,8 $\pm$ 1,2	30,8 $\pm$ 0,7	12,3	56,8	30,8
QBD	16,6 $\pm$ 0,4	-	3,8 $\pm$ 0,1	44,4 $\pm$ 1,0	35,2 $\pm$ 0,8	20,4	44,4	35,2
HTD	19,3 $\pm$ 0,5	-	1,6 $\pm$ 0,1	53,2 $\pm$ 1,2	25,9 $\pm$ 0,6	20,9	53,2	25,9
NAD	14,8 $\pm$ 0,4	-	1,4 $\pm$ 0,1	44,9 $\pm$ 1,0	38,9 $\pm$ 0,9	16,2	44,9	38,9
THD	14,0 $\pm$ 0,4	-	3,2 $\pm$ 0,1	40,2 $\pm$ 0,9	42,6 $\pm$ 1,0	17,2	40,2	42,6

^aAxit béo no, ^bAxit béo không no có 1 nối đôi, ^cAxit béo không no đa nối đôi

Phân tích số liệu các mẫu hạt măng cầu xiêm chiết bằng hexan cho thấy các axit béo không no chiếm 79% đến 88% tổng số axit béo trong lipid. Trong đó chủ yếu là hai axit béo không no là oleic và linoleic, ngoài ra còn có cả axit palmitoleic. Axit béo không no chứa một nối đôi oleic chiếm 35% đến 52%; axit béo không no chứa hai nối đôi linoleic chiếm 17% đến 45% và axit palmitoleic: 0,20% đến 0,68% chỉ có ở hai mẫu chiết bằng *n*-hexan ở Vũng Tàu và Tây Ninh. Mẫu Tây Ninh có hàm lượng axit linoleic cao nhất: 45,0%. Trong 10 mẫu nghiên cứu, các mẫu chiết bằng *n*-hexan ở Đà Lạt và Nghệ An nổi bật với hàm lượng axit oleic cao lần lượt là 65,2% và 51,6%. Đây là một axit có nhiều ích lợi đối với sức khỏe con người. Thành phần hàm lượng các axit béo no chỉ chiếm 12% đến 20%.

Ở số liệu các mẫu hạt măng cầu xiêm chiết bằng một hệ dung môi khác là cloroform/metanol cho thấy các axit béo không no chiếm 74% đến 89% tổng số axit béo

trong lipid. Kết quả cho thấy chỉ xuất hiện hai axit béo không no oleic hàm lượng là 38% đến 63% và linoleic có hàm lượng từ 13% đến 50%. Còn các axit béo no chiếm từ 11% đến 25% với sự có mặt của axit palmitic và stearic.

Qua các số liệu trên cho ta thấy kết quả hàm lượng thành phần giữa các mẫu hạt có sự khác nhau giữa hai phương pháp chiết. Các mẫu ở các vùng khác nhau có thành phần và hàm lượng các chất khác nhau.

Kết quả phân tích về thành phần và hàm lượng của axit béo trong dịch chiết hạt măng cầu xiêm gần tương tự các nghiên cứu trước đây [12].

Từ kết quả khảo sát phương pháp chiết lipid và xác định thành phần axit béo chúng tôi chọn mẫu thu hái ở Cần Thơ để xác định hàm lượng tocopherol và hoạt tính chống oxy hoá.

3.2. Thành phần và hàm lượng các tocopherol

Một thành phần quan trọng trong lipid hạt thực vật đó là các tocopherol (α -T, β -T, γ -T, δ -T) và tocotrienol (α -T3, β -T3, γ -T3, δ -T3). Chúng đều thuộc lớp chất tocols (vitamin E), thường có mặt trong lipid béo của các loại hạt thực vật. Thành phần và hàm lượng tocopherol của hạt măng cầu xiêm được chỉ ra trong bảng 4. Hàm lượng tổng vitamin E không cao $14,2 \pm 0,4$ mg/g và tồn tại dưới hai dạng α -T: $5,3 \pm 0,4$ mg/kg, γ -T: $8,9 \pm 0,3$ mg/kg và không thấy sự xuất hiện của các dạng còn lại.

Bảng 4. Thành phần và hàm lượng tocopherol

Kí hiệu mẫu	α -T				γ -T				Tổng (mg/100kg)
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	TB $\pm$ SD	Lần 1	Lần 2	Lần 3	TB $\pm$ SD	
CTH	5,3	4,9	5,7	$5,3 \pm 0,4$	8,9	9,1	8,5	$8,9 \pm 0,3$	$14,2 \pm 0,4$

3.3. Kết quả xác định hoạt tính chống oxy hóa bằng DPPH

Kết quả xác định hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết *n*-hexan hạt măng cầu xiêm được trình bày trong bảng 5 cho thấy trong mẫu nghiên cứu đã thể hiện hoạt tính chống oxy hóa thông qua việc trung hòa gốc tự do của DPPH với giá trị $SC_{50} = 6,4 \pm 0,4$ μ g/ml. Đối chứng tham khảo là axit Ascorbic hoạt động ổn định trong thí nghiệm. Các số liệu là chính xác với $R^2 \geq 0,99$. Hoạt tính chống oxy hoá có thể là do sự hiện diện của α -tocopherol ($5,3 \pm 0,4$ mg/kg), γ -tocopherol ($8,9 \pm 0,3$ mg/kg), các hợp chất phenolic và các axit béo chưa no.

Bảng 5. Kết quả xác định hoạt tính chống oxy hóa mẫu hạt thông qua phép thử DPPH

Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	Căn chiết hexan				Vit. C
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	TB $\pm$ SD	
100	85,2	85,5	84,9	85,2 $\pm$ 0,3	88,02
50	83,6	83,2	84,1	83,6 $\pm$ 0,5	83,35
25	81,5	80,9	81,8	81,4 $\pm$ 0,5	46,45
12,5	78,5	78,9	77,8	78,4 $\pm$ 0,5	22,98
SC ₅₀	6,4 $\pm$ 0,4				6,63 $\pm$ 0,57

4. KẾT LUẬN

- Thành phần axit béo của 10 mẫu hạt măng cầu xiêm thu hái tại 10 địa điểm khác nhau của miền Trung và miền Nam Việt Nam được chiết bằng hai hệ dung môi có độ phân cực khác nhau, kết quả nghiên cứu cho thấy khi sử dụng phương pháp chiết Shotlex bằng *n*-hexan sẽ cho hiệu suất thu được hàm lượng dầu béo cao hơn và hàm lượng dầu có sự sai khác ở sự phân bố vùng miền.

- Các axit béo không no chiếm từ 79 – 89% tổng số axit béo trong lipid hạt măng cầu xiêm. Trong đó chủ yếu là hai axit béo không no: oleic (35% đến 52%) và linoleic (17% đến 45%).

- Mẫu hạt măng cầu xiêm có hoạt tính chống oxy hóa cao với giá trị SC₅₀ = 6,4 $\pm$ 0,4 $\mu\text{g/ml}$ do có sự hiện diện của α -tocopherol (5,3 $\pm$ 0,4 mg/kg), γ -tocopherol (8,9 $\pm$ 0,3 mg/kg).

LỜI CẢM ƠN

Công trình được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí của Bộ khoa học và Công nghệ, đề tài nghị định thư Việt Nam – Đức “Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học dầu hạt thực vật Việt Nam và ứng dụng Công nghệ sinh học để tạo các sản phẩm có giá trị cao sử dụng trong y dược nông nghiệp và công nghệ thực phẩm” mã số: 44/2014/HĐ-NĐT.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Phạm Quốc Long, Châu Văn Minh (2005), *Lipid và các axit béo hoạt tính sinh học có nguồn gốc thiên nhiên*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- [2]. Strayer D., Belcher M., Dawson T., Delaney B., Fine J., Flickinger B., Friedman P. (2006), *Prepared by the technical committee of the institute of shortening and edible oils, Food fats and*

- oils, 9th edn, Inc. N. W., Washington, Website: <http://www.iseo.org/foodfats>, htm, Retrieved 25.08.2009.
- [3]. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2006), "*Cây thuốc và Động vật làm thuốc ở Việt Nam*", tập 1, 2, NXB, KH&KT, Hà Nội, tr. 209-210; tr. 229-232.
- [4]. Nguyễn Tiến Bản (2000), "*Thực vật chí Việt Nam - Họ Na (Annonaceae)*", NXB, KH&KT, Hà Nội, tr. 8, tr. 316-321.
- [5]. Bui Thi Minh Nguyet, Pham Thi Hang, Tran Dinh Thang, Do Ngoc Dai, Tran Minh Hoi (2011), The chemical composition of seed oil fatty acids of *Annona muricata* and *Annona glabra* from Viet Nam, *Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 4*, Hà Nội.
- [6]. ISO/DIS 659:1988, Oilseeds - Determination of hexane extract (or light petroleum extract), called "oil content".
- [7]. Bligh E. G., Dyer W. J. (1959), A rapid method of total lipid extraction and purification, *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911-917.
- [8]. ISO/DIS 5509:1997, Animal and vegetable fats and oils - Preparation of methyl esters of fatty acids.
- [9]. ISO/9936:2006, Animal and vegetable fats and oils - Determination of tocopherol and tocotrienol contents by high-performance liquid chromatography.
- [10]. Shela G., Olga M. B., Elena K., Antonin L., Nuria G. M., Ratiporn H., Yong-Seo P., Soon-Teck J., Simon T. (2003), Comparison of the contents of the main biochemical compounds and antioxidant activity of some spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 14(3), 154-159.
- [11]. Virendra Srana (2015), Fatty oil and fatty acid composition of *Annona squamosa* L. seed kernels, *International Journal of Fruit Science*, Volume 15.
- [12]. Zaha A. E., Rajashri R. N., Ashok K. S., Sanaa K. B., (2016), Fatty acids analysis, antioxidant and biological activity of fixed oil of *Annona muricata* L. seeds, *Journal of Chemistry*, Volume 2016.
- [13]. Sharmila V., Ganesh K. S., Gunasekaran M. (2007), Generation mean analysis for quantitative traits in sesame (*Sesamum indicum* L.) crosses, *Genetics and Molecular Biology*, 30(1), 80-84.
- [14]. Ibironke A. A., Rotimi A. O., David O. K., Joseph I. U., (2006), Oil content and fatty acid composition of some underutilized legumes from Nigeria, *J. Food Chemistry*, 99, 115-120,

STUDY THE COMPOSITION AND FATTY ACIDS ANALYSIS FROM SEEDS OF *Annona muricata* L., IN VIETNAM

Doan Manh Dung^{1*}, Doan Lan Phuong², Tran Dinh Thang³,

Nguyen Huu Tung⁴, Nguyen Dinh Luyen⁵

¹Faculty of Chemistry, University of Sciences – Hue University

²Institute of Natural Products Chemistry - VAST

³School of Biochemical Technology Environment, Vinh University

⁴Faculty of Chemistry, University of Education – Hue University

⁵School of Medicine and Pharmacy, Vietnam National University, Hanoi

*Email: doanmanhdung151090@gmail.com

ABSTRACT

Herein, we study the composition and fatty acids analysis from seeds of *Annona muricata* L. by gas chromatography mass spectroscopy (GC-MS). The fatty acids unsaturated is the major composition, with the lipid extract method using hexan and chloroform/methanol (v/v 1: 2). The major fatty acids were linoleic acid, oleic acid and palmitic acid. The concentration of these fatty acids is determined by gas chromatography - mass spectrometry (GC/MS). The samples showed the antioxidant activity ($SC_{50} = 6,4 \pm 0,4 \mu\text{g/mL}$). The antioxidant activity could be due to the presence of α -tocopherol ($5,3 \pm 0,4 \text{ mg/kg}$), γ -tocopherol ($8,9 \pm 0,3 \text{ mg/kg}$) and other phenolic compounds and unsaturated fatty acids.

Keywords: *Annona muricata*, Annonaceae, fatty acids, GC-MS, Seed oil.



Đoàn Mạnh Dũng sinh ngày 15/10/1990 tại Hà Tĩnh. Năm 2008, ông tốt nghiệp cử nhân ngành Sư phạm Hóa học tại trường Đại học Vinh. Năm 2014, ông tốt nghiệp thạc sĩ chuyên ngành Hóa Hữu cơ tại Trường Đại học Vinh. Từ năm 2015 đến nay, ông là nghiên cứu sinh tiến sĩ chuyên ngành Hóa phân tích tại trường Đại học khoa học, Đại học Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: hóa phân tích, hóa hữu cơ, hóa học các hợp chất thiên nhiên.



Đoàn Lan Phương sinh ngày 13/12/1975 tại Hà Nội. Năm 1997, bà tốt nghiệp cử nhân ngành Hóa học tại trường Đại học Khoa học tự nhiên. Năm 2003, bà tốt nghiệp thạc sĩ chuyên ngành Hóa học tại trường Đại học Khoa học tự nhiên. Năm 2010, bà tốt nghiệp tiến sĩ chuyên ngành Hóa học chất thiên nhiên - Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam. Từ năm 1997 đến nay, bà là cán bộ nghiên cứu thuộc Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên – Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam.

Lĩnh vực nghiên cứu: hóa hợp chất thiên nhiên.



Trần Đình Thắng sinh ngày 22/06/1965 tại Thái Nguyên. Năm 1997, ông tốt nghiệp cử nhân sư phạm Hóa học tại trường Đại học sư phạm Vinh. Năm 2001 ông tốt nghiệp thạc sĩ chuyên ngành Hóa Hữu cơ tại Đại học Vinh. Ông bảo vệ luận án Tiến sĩ năm 2008, được nhà nước công nhận Phó giáo sư năm 2012 và công nhận Giáo sư năm 2016.

Lĩnh vực nghiên cứu: thành phần hóa học các cây tinh dầu có giá trị ở Việt Nam, nghiên cứu hóa học các hợp chất thiên nhiên.



Nguyễn Hữu Tùng sinh năm 1982 tại Bắc Ninh. Ông tốt nghiệp Đại học Bách khoa Hà Nội năm 2005 và đạt học vị Tiến sĩ Dược học năm 2010 tại Đại học Quốc gia Chungnam, Hàn Quốc. Từ 2010 đến 2015, ông làm nghiên cứu sau tiến sĩ tại Đại học Quốc tế Nagasaki, Nhật Bản. Ông là giảng viên thuộc Bộ môn Hóa dược & Kiểm nghiệm thuốc, Khoa Y Dược - Đại học Quốc gia Hà Nội từ 2015.

Lĩnh vực nghiên cứu: phát triển dược liệu cây thuốc, xác định các hoạt chất từ đa dạng nguồn dược liệu.



Nguyễn Đình Luyện sinh ngày 22/01/1965 tại Quảng Bình. Năm 1986, ông tốt nghiệp cử nhân sư phạm Hóa học tại trường Đại học Sư phạm Huế và được Trường giữ lại làm CBGD từ đó đến nay. Ông bảo vệ luận án Tiến sĩ năm 1999 và được nhà nước công nhận Phó giáo sư năm 2009. Hiện tại là Phó Hiệu trưởng Trường Đại học Sư phạm, Đại học Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: hóa phân tích.