

NGHIÊN CỨU HOẠT CHẤT GLUCOSINOLATE (GLS) VÀ KHẢ NĂNG CHỐNG ÔXY HÓA TRONG RAU MẦM HỌ CẢI TRÊN MỘT SỐ LOẠI GIÁ THỂ

Nguyễn Văn Tuấn¹, Lê Văn Tri², Nguyễn Lan Hương³

Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát khả năng sinh tổng hợp hoạt chất Glucosinolate (GLS) và khả năng chống ôxy hóa (SC50) trong rau mầm củ cải đỏ trên các loại giá thể khác nhau, nhằm lựa chọn được loại giá thể cho hoạt chất GLS và khả năng chống ôxy hóa cao nhất. Đã xác định được giá thể làm từ than sinh học và mùn rơm, rạ thích hợp cho sự tổng hợp GLS có hoạt tính chống ôxy hóa cao trong rau mầm củ cải đỏ. Khi trồng rau mầm củ cải đỏ trên giá thể số 1, thu được hàm lượng GLS là 23,45 mg sinigrin/100 g trọng lượng tươi, khả năng chống ôxy hóa SC50 là 395,07 µg/ml và năng suất 1.021,51 g. Khi bổ sung thêm axit amin L-Tryptophan với liều lượng 50 mg, thời gian bổ sung vào ngày thứ 3 cho hàm lượng GLS và khả năng chống ôxy hóa cao nhất, với các giá trị lần lượt là 28,63 mg sinigrin/100 g trọng lượng tươi và 290,8 µg/ml.

Từ khóa: *Glucosinolate, khả năng chống ôxy hóa, rau mầm họ cải, giá thể.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, Glucosinolate và các sản phẩm thủy phân của nó đã được chứng minh có rất nhiều tác dụng đối với sức khỏe con người, đặc biệt có thể ngăn ngừa và điều trị một số bệnh như: bệnh ung thư tiền liệt tuyến [2], ngăn ngừa ung thư bàng quang [8], ung thư dạ dày, đại tràng [6, 7], ung thư ruột kết, ung thư ruột non [2], ung thư da, ung thư vú [1, 3], ngoài ra còn có tác dụng làm giảm bệnh tắc nghẽn phổi mãn tính, bảo vệ gan [4], đẩy lùi tác hại của bệnh tiểu đường, ngăn cản quá trình lão hóa gây bệnh Parkinson và sự chuyển hóa chất dithiocarbamate trong xây dựng phác đồ sử dụng thuốc ...

Glucosinolate (GLS) là một tập hợp các chất hữu cơ trong đó có chứa sulfur, nitrogen và 1 nhóm có nguồn gốc từ glucose. Chúng là những anion tan trong nước, thuộc nhóm glucoside và là các hợp chất thứ cấp của nhiều thực vật thuộc bộ

Brassicales (đặc biệt là trong họ Brassicaceae, ngoài ra còn có trong họ Caricaceae), và một số họ khác của cây 2 lá mầm... Có khoảng 120 glucosinolate khác nhau đã được tìm thấy trong tự nhiên... quan trọng hơn, glucosinolate là tiền chất của isothiocyanate (ITC)[6].

Ở Việt Nam, hiện nay rau mầm được trồng phổ biến trong các gia đình, tuy nhiên việc trồng rau mầm còn mang tính tự phát, không có tính chuyên canh cao, hàm lượng GLS trong rau mầm không ổn định. Một trong các nguyên nhân là nguồn giá thể không ổn định, chất lượng sản phẩm thấp. Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành “nghiên cứu hoạt chất Glucosinolate (GLS) và khả năng chống ôxy hóa trong rau mầm họ cải trên một số loại giá thể” nhằm xác định loại giá thể có chất lượng phù hợp cho rau mầm để thu được hàm lượng hoạt chất glucosinolate và khả năng chống ôxy hóa cao..

¹ThS - Công ty cổ phần Công nghệ Sinh học
Email: tuanbiotech.jsc@gmail.com

²TS - Công ty cổ phần Công nghệ Sinh học

³ PGS.TS - Đại học Bách Khoa Hà Nội

Ngày nhận bài: 1/12/2016

Ngày phản biện đánh giá: 1/2/2017

Ngày đăng bài: 30/3/2017

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Hạt giống rau mầm họ cải: Các giống rau được cung cấp bởi Công ty TNHH giống cây trồng Phú Nông gồm có: cải ngọt (*Brassica integrifolia*), củ cải trắng (*Raphanus sativus*) và củ cải đỏ (*Raphanus sativus*).

2.1.2. Giá thể trồng rau mầm: Than sinh học (Việt Nam), mùn rơm rạ (Việt Nam), phân trùn quế (Việt Nam), xơ dừa (Việt Nam) và rong biển (Việt Nam).

2.1.3. Hóa chất sử dụng:

- Chất chuẩn: Sinigrin (Merck, Đức);
- Axit amin: L-Methionine (Sigma, Đức); L-Tryptophan (Sigma, Đức)

2.1.4. Khay nhựa trồng rau mầm:

- Khay nhựa (Việt Nam), kích thước 30 x 60 x 3 cm (tương đương 6 khay/m²).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tách chiết hoạt chất *Glucosinolate* (GLS)

Phương pháp tách chiết hoạt chất GLS từ rau cải mầm được thực hiện trong bộ chiết Soxhlet với hệ dung môi methanol/water (70:30 v/v). Mẫu rau cải mầm trước khi chiết được sấy khô ở 45°C. Thời gian chiết 60 phút ở 100°C. Cặn chiết rau cải mầm được làm lạnh trong 2 giờ sau đó lọc nhanh qua hệ thống phễu, đem đi cô quay thu hồi dung môi và xác định khối lượng cặn chiết.

2.2.2. Xác định hàm lượng GLS trong rau mầm.

Hàm lượng GLS trong rau cải mầm được xác định dựa trên đường chuẩn mô tả với quan hệ giữa nồng độ chất chuẩn sinigrin và diện tích pic thu được trên phổ HPLC và được tính bằng mg sinigrin/100g trọng lượng tươi. Điều kiện chạy HPLC: Cột phân tích: Sunfire: C18 RP (4,6 x 150 mm), 5µm, Detector PDA: bước sóng 228 nm, Tốc độ: 1 ml/phút,

Pha động: Kênh A: H₂O + 0,1% axit fomic và Kênh B: MeOH [5].

2.2.3. Xác định khả năng chống oxy hóa trong rau mầm

Khả năng chống oxy hóa của rau cải mầm được xác định dựa trên khả năng bắt các gốc tự do tạo bởi DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Chất thử được hòa trong dimethyl sulfoxide (DMSO 100%) và DPPH được pha trong ethanol 96%. Sự hấp thụ của DPPH ở bước sóng $\lambda = 515$ nm được xác định bằng máy đọc ELISA sau khi nhỏ DPPH vào dung dịch mẫu thử. Khả năng chống oxy hóa của rau cải mầm được thể hiện qua chỉ số SC50 [8].

2.3. Nội dung nghiên cứu

2.3.1. Khảo sát hoạt chất GLS và khả năng chống oxy hóa trong một số loại rau mầm họ cải trên thị trường

Chúng tôi đã tiến hành thu thập được 15 mẫu của 3 loại rau mầm củ cải đỏ, củ cải trắng và cải ngọt từ các siêu thị, chợ và cửa hàng rửa sạch trên địa bàn thành phố Hà Nội.

2.3.2. Ảnh hưởng các loại giá thể tới hoạt chất GLS và hoạt tính chống oxy hóa trong rau mầm củ cải đỏ

Trong phần này, chúng tôi tiến hành xác định tỉ lệ phối trộn thích hợp cho từng công thức dựa trên năng suất rau mầm. Sau đó tiến hành khảo sát hàm lượng hoạt chất GLS và khả năng chống oxy hóa của rau mầm củ cải đỏ trên 4 loại giá thể: Giá thể số 1: Than sinh học + mùn rơm rạ; Giá thể số 2: Phân trùn quế + xơ dừa; Giá thể số 3: Xơ dừa và Giá thể số 4: Xơ dừa + phân trùn quế + rong biển.

2.3.3. Ảnh hưởng của một số loại axit amin tới hoạt chất GLS và hoạt tính chống oxy hóa trong rau mầm củ cải đỏ

- Xác định thời gian bổ sung axit amin vào giá thể trồng rau mầm đạt năng suất cao nhất.

- Lựa chọn liều lượng Met và Trp bổ sung vào giá thể trồng rau mầm thu được hoạt chất GLS và khả năng chống ôxy hóa cao, bao gồm 9 công thức sau: CT 1.1: Giá thể số 1 + 50 mg Met; CT 1.2: Giá thể số 1 + 60 mg Met; CT 1.3: Giá thể số 1 + 70 mg Met; CT 1.4: Giá thể số 1 + 50 mg Trp; CT 1.5: Giá thể số 1 + 60 mg Trp; CT 1.6: Giá thể số 1 + 70 mg Trp; CT 1.7: Giá thể số 1 + 50 mg Met + 50 mg Trp; CT 1.8: Giá thể số 1 + 60 mg

Met + 60 mg Trp và CT 1.9: Giá thể số 1 + 70 mg Met + 70 mg Trp.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Khảo sát hoạt chất GLS và khả năng chống ôxy hóa trong một số loại rau mầm họ cải trên thị trường

Hàm lượng hoạt chất GLS và khả năng chống ôxy hóa của 3 loại rau mầm cải phổ biến trên thị trường Hà Nội được thể hiện trong bảng 3.1 và 3.2.

Bảng 3.1. Hàm lượng GLS trong một số loại rau mầm họ cải

Rau mầm	Nguồn gốc	Hàm lượng GLS (mg sinigrin/100 g trọng lượng tươi)
Rau mầm cải trắng (CT)	Siêu thị A	23,20
	Siêu thị B	21,09
	Chợ C	21,34
	Cửa hàng rau sạch D	20,79
	Cửa hàng rau sạch E	21,62
	Trung bình	21,61±0,94
Rau mầm củ cải đỏ (CĐ)	Siêu thị A	24,57
	Siêu thị B	24,18
	Chợ C	21,62
	Cửa hàng rau sạch D	24,53
	Cửa hàng rau sạch E	21,92
	Trung bình	23,36±1,47
Rau mầm cải ngọt (CN)	Siêu thị A	nd
	Siêu thị B	nd
	Chợ C	nd
	Cửa hàng rau sạch D	nd
	Cửa hàng rau sạch E	nd

Bảng 3.2. Khả năng chống ôxy hóa của các loại rau mầm họ cải

Mẫu	SC50 (µg/ml)	
Vitamin C (VTM C)	20,8±1,08	
Rau mầm củ cải đỏ (CĐ)	Siêu thị A	579,0
	Siêu thị B	537,0
	Chợ C	612,0
	Cửa hàng rau sạch D	505,0
	Cửa hàng rau sạch E	641,0
	Trung bình	574,8±54,96

Trong 3 loại rau mầm trên thị trường chỉ có 2 loại rau mầm củ cải đỏ và củ cải trắng có hàm lượng GLS lần lượt là 23,36 và 21,61 mg sinigrin/100 g trọng lượng tươi, hàm lượng GLS trong cải ngọt không xác định được. Theo tác giả Trần Nam Trung [1], hàm lượng GLS trong rau mầm củ cải trắng đạt 0,78 $\mu\text{mol/g}$ trọng lượng tươi tương đương với 31,0 mg sinigrin/100 g trọng lượng tươi.

Và chỉ có rau mầm củ cải đỏ có hoạt tính chống oxy hóa trên hệ DPPH, nồng độ mẫu có khả năng trung hòa 50 % gốc tự do (SC_{50}) là 574,8 $\mu\text{g/ml}$.

Từ kết quả trên, chúng tôi sử dụng rau mầm củ cải đỏ trong các thí nghiệm nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng các loại giá thể tới hoạt chất GLS và khả năng chống oxy hóa trong rau mầm củ cải đỏ

3.2.1. Tỷ lệ phối trộn thích hợp cho từng công thức

Từ các nguyên liệu thông dụng, sẵn có dùng để trồng rau mầm, chúng tôi tiến hành nghiên cứu xác định tỷ lệ phối trộn cho từng công thức trước khi tiến hành các nghiên cứu chuyên sâu. Năng suất rau mầm thu được trên các giá thể khác nhau được thể hiện ở bảng 3.3.

Bảng 3.3. Bảng năng suất rau mầm trồng trên các giá thể với tỷ lệ phối trộn khác nhau

Tỷ lệ phối trộn các nguyên liệu trong giá thể số 1 (Than sinh học: Mùn rơm, rạ)	Năng suất (g)
Tỷ lệ 1:1	1.017,53±15,27
Tỷ lệ 1:2	1.016,52±14,24
Tỷ lệ 1:3	1.015,52±13,24
Tỷ lệ 1:4	1.012,50±14,19
Tỷ lệ 1:5	1.007,47±16,12
(a). Giá thể số 1	
Tỷ lệ phối trộn các nguyên liệu trong giá thể số 2 (Phân trùn quế: Xơ dừa)	Năng suất (g)
Tỷ lệ 1:1	657.85±15,39
Tỷ lệ 1:2	700.63±14,59
Tỷ lệ 1:3	761.26±15,28
Tỷ lệ 1:4	783.76±16,03
Tỷ lệ 1:5	866.63±15,64
Tỷ lệ 2:1	869,23±15,11
Tỷ lệ 2:1	870,45±16,04
Tỷ lệ 2:3	872,28±14,81
Tỷ lệ 2:4	874,43±14,73
(b). Giá thể số 2	
Tỷ lệ phối trộn các nguyên liệu trong giá thể số 4 (Xơ dừa:Phân trùn quế:Rong biển)	Năng suất (g)
Tỷ lệ 5:1:0,5	979,69±16,17
Tỷ lệ 5:1:1	980,67±15,39
Tỷ lệ 5:1:1,5	983,61±15,46
Tỷ lệ 5:1:2	985,39±14,50
Tỷ lệ 5:1:2,5	985,70±16,05
Tỷ lệ 5:1:3	987,39±15,54
(c). Giá thể số 4	

Từ các kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi lựa chọn tỉ lệ phối trộn thích hợp cho từng loại giá thể như sau: + Giá thể số 1: Than sinh học + mùn rơm rạ (tỉ lệ 1:1); Giá thể số 2: Phân trùn quế + xơ dừa (tỉ lệ 1:5); Giá thể số 3: Xơ dừa; Giá thể số 4: Xơ dừa + phân trùn quế + rong biển (tỉ lệ 5:1:0,5). Các kết quả trên được sử dụng

trong các thí nghiệm tiếp theo.

3.2.2. Hàm lượng hoạt chất GLS và khả năng chống oxy hóa

Hàm lượng hoạt chất GLS và có khả năng chống oxy hóa trong rau mầm củ cải đỏ trên bốn loại giá thể được thể hiện ở bảng 3.4; 3.5.

Bảng 3.4. Hàm lượng GLS trong rau mầm củ cải đỏ trồng trên một số loại giá thể

Giá thể	Hàm lượng GLS (mg sinigrin/100 g trọng lượng tươi)	Năng suất (g)
Giá thể số 1	23,45±1,35	1.021,51±15,27
Giá thể số 2	21,80±1,60	870,91±15,64
Giá thể số 3	20,95±1,84	731,30±14,71
Giá thể số 4	24,26±1,70	980,13±15,52

Bảng 3.5. Khả năng chống oxy hóa và năng suất của rau mầm củ cải đỏ trồng trên một số loại giá thể nghiên cứu

Giá thể	Khả năng chống oxy hóa SC ₅₀ (µg/ml)	Năng suất (g/khay)
Giá thể số 1	395.07±52.67	1.021,51±15,27
Giá thể số 2	Âm tính	870,91±15,64
Giá thể số 3	448.09±45.70	731,30±14,71
Giá thể số 4	255.73±44.70	980,13±15,52

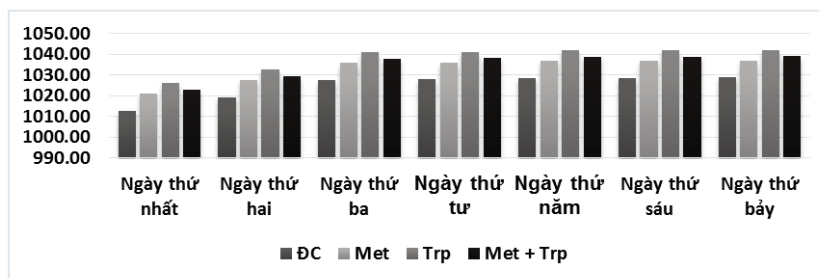
Qua kết quả ở bảng 3.4 và 3.5, chúng tôi chọn được giá thể số 1 làm từ than sinh học và mùn rơm, rạ thích hợp để trồng rau mầm củ cải đỏ hàm lượng GLS: đạt 24,45 (mg sinigrin/100g trọng lượng tươi), khả năng chống oxy hóa SC₅₀ 395,07 (µg/ml), và năng suất đạt cao nhất 1.021,51 (g). Giá thể 2 không thể hiện khả năng chống oxy hóa

3.3. Ảnh hưởng của một số loại axit amin tới hoạt chất GLS và khả năng

chống oxy hóa trong rau mầm củ cải đỏ

3.3.1. Thời gian bổ sung axit amin vào giá thể trồng rau mầm

Việc xác định thời gian bổ sung các axit amin vào giá thể trồng rau mầm sẽ quyết định tới năng suất và chất lượng của rau mầm. Do đó, đã khảo sát ảnh hưởng của thời gian bổ sung Met và Trp tới năng suất rau mầm củ cải đỏ trồng trên giá thể số 1. Kết quả cụ thể được trình bày ở hình 3.1.



Hình 3.1.. Biểu đồ chỉ thời gian bổ sung Met và Trp vào giá thể trồng rau mầm

Từ biểu đồ quan sát thấy, thời gian bổ sung Met và Trp vào ngày thứ 3 cho năng suất rau mầm phù hợp nhất. Chúng tôi sử dụng kết quả nghiên cứu này cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.3.2. Lựa chọn liều lượng Met và Trp bổ sung vào giá thể trồng rau mầm thu được hoạt chất GLS và khả năng chống ôxy hóa cao

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của các axit amin tới hàm lượng GLS, năng suất và khả năng chống ôxy hóa của rau mầm củ cải đỏ

Công thức	Năng suất (g/khay)	Hàm lượng GLS sinigrin/100 g trọng lượng tươi	Khả năng chống ôxy hóa SC ₅₀ (µg/ml)
Bổ sung 60 mg Met	1.035,57±13,17	24,80±2,96	369,2±28,0
Bổ sung 50 mg Trp	1.040,96±12,67	28,63±4,08	290,8±18,24
Bổ sung 70 mg Trp	1.028,51±12,27	24,33±2,28	390,8±42,32
Bổ sung 25 mg Met + 25 mg Trp	1.029,32±14,07	23,95±2,29	396,4±33,60
Bổ sung 35 mg Met + 35 mg Trp	1.023,12±12,27	24,36±2,01	387,0±23,77

Trong quá trình trồng rau mầm củ cải đỏ, khi bổ sung thêm 50 mg Trp vào ngày thứ 3 đã làm tăng hàm lượng GLS đạt 28,63 mg sinigrin/100 g trọng lượng tươi và khả năng chống ôxy hóa cũng được tăng lên đáng kể, chỉ số SC₅₀ là 290,8 µg/ml so với không bổ sung giá trị SC₅₀ chỉ đạt 395,07 µg/ml.

IV. KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi có một số kết luận sau:

1. Với 2 loại rau mầm cải ngọt và củ cải trắng hoặc đỏ, đã chọn được rau mầm củ cải đỏ có hàm lượng GLS và khả năng chống ôxy hóa cao hơn, cụ thể là 23,36 mg sinigrin/100 g trọng lượng tươi, SC₅₀ là 574,8 µg/ml.

2. Đã lựa chọn được giá thể số 1 làm từ than sinh học và mùn rơm, rạ thích hợp để trồng rau mầm củ cải đỏ: hàm lượng

Trong một số nghiên cứu của các tác giả trong và ngoài nước cho thấy, khi bổ sung thêm các axit amin thì hàm lượng GLS trong rau mầm tăng lên. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu bổ sung vào giá thể số 1 trồng rau mầm củ cải đỏ Methionin và Tryptophan ở các nồng độ khác nhau, thời gian bổ sung vào ngày thứ 3. Kết quả chỉ ra bảng 3.6.

GLS đạt 23,45 mg sinigrin/100g trọng lượng tươi, khả năng chống ôxy hóa SC₅₀ là 395,07 µg/ml và năng suất đạt cao nhất 1.021,51 g.

3. Đã chọn được khi bổ sung là Trp với liều lượng 50 mg vào ngày thứ 3 đã làm tăng hàm lượng GLS đạt 28,63 mg sinigrin/100 g trọng lượng tươi và khả năng chống ôxy hóa cũng được tăng lên đáng kể (290,8 µg/ml) so với không bổ sung giá trị SC₅₀ chỉ đạt 395,07 µg/ml.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Trần Nam Trung (2012). *Nghiên cứu ảnh hưởng của một số biện pháp kỹ thuật đến năng suất và chất lượng rau mầm họ hoa thập tự (Brassicaceae)*. Báo cáo luận án tiến sĩ Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội.
- Brooks JD, Paton VG, Vidanes G (2001). *Potent induction of phase 2 enzymes in human prostate cells by sulforaphane*.

- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, V. 10(9), pp. 949 - 954.
3. Charlotte N. Armah et al (2015). *Diet rich in high glucoraphanin broccoli reduces plasma LDL cholesterol: Evidence from randomised controlled trials*. Mol. Nutr. Food Res, 59, pp. 918 - 926.
 4. Galan M.V., Kishan A.A., Silverman A.L. (2007). *Oral broccoli sprouts for the treatment of Helicobacter pylori infection: a preliminary report*. Dig Dis Sci., 49 (7 - 8); pp 1088 - 1090.
 5. Rangkadilok. N et al. (2002). *Developmental changes of sinigrin and glucoraphanin in three Brassica species (Brassica nigra Brassica juncea and Brassica oleracea var italica)*. Sci. Hortic, 96, pp. 11 - 26.
 6. Rijken P.J et al (1999). *Effect of vegetable and carotenoid consumption on aberrant crypt multiplicity, a surrogate end-point marker for colorectal cancer in azoxymethane-induced rats*. Carcinogenesis, 20(12), pp. 2267 - 2272.
 7. Ruud Verkerk et al, 2009. *Glucosinolates in Brassica vegetable: The influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health*. Mol.Nutr.Food Res, 53, pp. 219 - 265.
 8. Shela G. et al (2003). *Bioactive compounds and antioxidant potential in fresh and dried Jaffa sweeties, a new kind of citrus fruit*. J. Nutri. Biochem., 14 pp 154 - 159.

Summary

STUDY ON TYPE OF SUBSTRATES TO GLUCOSINOLATE AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF VEGETABLE SPROUTS

In this study, we investigated the possibility of glucosinolate biosynthesis of active substances (GLS) and resistance to oxidation (SC_{50}) in red beet sprouts on different types of substrates, in order to select the type of substrate for biosynthesis of active and capable GLS highest antioxidant. Substrate No.1 made by biochar and straw humus suitable for the biosynthesis of concentration GLS and high antioxidant activity was selected. When planting red beet sprouts on the substrate No.1, concentration GLS was 23.45 mg sinigrin/100 g fresh weight, SC_{50} was 395.07 $\mu\text{g/ml}$ and crop yield was 1021.51 g. When adding the amino acid L-Tryptophan 50 mg, additional time on day 3 for GLS content and high antioxidant ability were 28.63 mg sinigrin /100 g fresh weight and 290.8 $\mu\text{g/ml}$, respectively.

Keywords: *Glucosinolates, antioxidant ability, sprouts, substrates.*

