

KHẢO SÁT CÁC HOẠT CHẤT CHỐNG OXY HÓA TRÊN HAI LOÀI TRÙN ĐẤT *Perionyx excavatus* VÀ *Lampito mauritii*

Phan Thị Bích Trâm¹*, Lâm Thị Việt Hà¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định các hoạt chất chống oxy hóa có trong hai loài trùn đất *Perionyx excavatus* và *Lampito mauritii*. Kết quả cho thấy, các hoạt chất chống oxy hóa có bản chất không enzyme và enzyme ở loài trùn đất *Perionyx excavatus* đều cao hơn loài trùn đất *Lampito mauritii*. Trùn đất xử lý ở dạng bột đông khô lạnh có thể bị giảm đi 10% - 30% các hoạt chất chống oxy hóa so với sử dụng ở dạng nguyên liệu tươi. Hàm lượng polyphenol tổng số, glutathione và vitamin C đạt cao nhất trên loài trùn đất *Perionyx excavatus* dạng tươi là 15,69 mgGAE/g, 3,01 mg/g và 0,84 mg/g tương ứng. Bộ ba enzyme chống oxy hóa loại bỏ các ion superoxide và hydrogen peroxide có hoạt tính superoxide dismutase, catalase và glutathione peroxidase tương ứng đạt 6,31 U/mg; 13,5 U/mg và 6,53 U/mg protein. Khả năng loại 50% gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) của loài trùn đất *Perionyx excavatus* dạng tươi cao hơn gấp 2,7 lần so với loài trùn đất *Lampito mauritii* dạng bột khô và có giá trị IC50 đạt thấp nhất ở mức nồng độ 2,62 mg/mL.

Từ khóa: Chống oxy hóa, *Lampito mauritii*, *Perionyx excavatus*, TPC.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, trùn đất ở Việt Nam có trên 110 loài nhưng chỉ có 6 đến 8 loài được nuôi để sử dụng và sản xuất phân bón [15]. Trong số đó có loài trùn đất *Perionyx excavatus* là được nuôi phổ biến nhất ngoài việc cung cấp nguồn đạm dinh dưỡng quý giá cho gia súc, gia cầm và thủy hải sản. Có những khuyến cáo cho rằng sử dụng loài trùn đất *Perionyx excavatus* còn giúp các loại động vật nuôi, đặc biệt là tôm có sức đề kháng cao, khỏe mạnh, có khả năng vượt qua bệnh phân trắng và tăng trưởng nhanh [7]. Ngoài ra, ở một số tỉnh như An Giang, Trà Vinh còn phổ biến và dễ tìm nhất là loài trùn đất *Lampito mauritii*, chúng sống ở những vùng đồng bằng ven biển với số lượng khá nhiều và hiện nay đang được nhân giống để nuôi đại trà.

Một số nghiên cứu của các nhà khoa học trên thế giới cho thấy rằng trùn đất có khả năng kháng viêm [10], chống oxy hóa và đã được thử nghiệm trên động vật khi gây tổn thương tế bào gan [4]. Bansal và cs (2018) [6] sử dụng dịch chiết từ loài trùn đất *Eisenia fetida* có đặc tính kháng khuẩn rất mạnh được dùng để điều trị nhiễm trùng do vi khuẩn ở cá. Đặc biệt dịch chiết từ loài trùn đất *Perionyx excavatus* có khả năng kháng được 5 chủng vi khuẩn gram âm *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogens* và 2 chủng gram dương *Staphylococcus aureus* và *Micrococcus luteus* thường gây bệnh trên cá [5]. Tuy nhiên, các tài liệu phân tích cụ thể các chất chống oxy hóa trong trùn đất còn hạn chế hoặc không công bố. Vì vậy, trong phạm vi nghiên cứu này đã phân tích các hoạt chất chống oxy hóa trên hai loài trùn đất phổ biến là *Perionyx excavatus* và *Lampito mauritii* nhằm làm cơ sở cho các nghiên cứu về kháng khuẩn dùng trong lĩnh vực thủy sản cũng như thử nghiệm trên động vật để đánh giá khả năng bảo vệ tế bào gan bị tổn thương bởi các độc tố.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Trùn đất *Perionyx excavatus* (P. E) được thu hoạch khoảng 8 tuần tuổi đến 9 tuần tuổi, còn sống có khối lượng trung bình 500 con/kg từ hộ nông dân ấp Bình Yên A, thành phố Cần Thơ. Trùn đất *Lampito mauritii* (L. M) được thu nhận tại huyện Duyên Hải, tỉnh Trà Vinh. Trùn đất được rửa sạch bằng nước nhiều lần để loại bỏ đất và chất bẩn trên bề mặt cơ thể, sau đó được ngâm trong dung dịch NaCl 0,65%, cứ cách 30 phút thay dung dịch ngâm cho đến khi sạch ruột. Trùn đất rửa sạch đem đông lạnh ở -20°C, tiến hành các thí nghiệm trên mẫu tươi hoặc đem đông khô lạnh bằng máy Virtis (Mỹ) để thực hiện các thí nghiệm trên mẫu khô.

¹ Trường Đại học Cần Thơ

* Email: ptbtram@ctu.edu.vn

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định độ ẩm và hàm lượng protein nguyên liệu

Xác định độ ẩm nguyên liệu theo AOAC (2000) [2], hàm lượng protein xác định theo phương pháp của Lowry (1951) [13].

2.2.2. Khảo sát các hoạt chất chống oxy hóa trong hai loài trùn đất

Hàm lượng phenolic tổng số (TPC) được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu theo Rao (2010) [18] với chất chuẩn là axit gallic. Hàm lượng glutathione được xác định theo Haroon (2012) [9], xây dựng đường chuẩn GSH để xác định hàm lượng GSH có trong mẫu. Vitamin C được xác định bằng phương pháp đo quang phổ theo Joseph George (2003) [11].

Xác định hoạt tính enzyme catalase (CAT): Hoạt tính enzyme catalase được xác định theo phương pháp của Sinha (1972) [20]. Dùng đường chuẩn H_2O_2 với dãy nồng độ H_2O_2 từ 10 μmol - 160 μmol . Dựa vào đường chuẩn tính được nồng độ H_2O_2 suy ra hoạt tính enzyme catalase. Đơn vị hoạt tính catalase biểu thị lượng enzyme trong 1 mg protein có khả năng phân hủy 1 μmol H_2O_2 trong thời gian 1 phút (U_{CAT} /mg protein).

Xác định hoạt tính enzyme Glutathione peroxidase (GPx): Hoạt tính enzyme glutathione peroxidase được xác định theo Prakash (2007) [17]. Đơn vị hoạt tính GPx biểu thị lượng enzyme trong 1 mg protein có khả năng tiêu thụ 1 μmol GSH trong thời gian 1 phút (U_{GPx} /mg protein).

Xác định hoạt tính enzyme superoxide dismutase (SOD): Hoạt tính enzyme superoxide dismutase được xác định theo Kakkar (1984) [12].

Hoạt tính enzyme SOD quy về khả năng ức chế 50% nitroblue tetrazolium (NBT) khử trong 1 phút. Đơn vị hoạt tính SOD được xác định là lượng enzyme trong 1 mg protein ức chế 50% nitroblue tetrazolium (NTB) khử trong 1 phút (U_{SOD} /mg protein).

2.2.3. Đánh giá khả năng loại bỏ gốc tự do của hai loài trùn nghiên cứu

Xác định khả năng loại gốc tự do theo Sharma (2012) [21]. Kết quả SC% được xử lý bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVI để tìm phương trình hồi quy thể hiện mối quan hệ giữa SC% và nồng độ dịch chiết tương ứng. Từ phương trình hồi quy, mức nồng độ ức chế được 50% gốc tự do DPPH (IC_{50}) được xác định.

2.3. Phương pháp phân tích số liệu

Thí nghiệm được tiến hành ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại, kết quả được tính toán bằng phần mềm Excel và phần mềm thống kê Minitab 16. Kết quả phân tích ANOVA với độ tin cậy 95%, so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức qua phép thử LSD.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả hàm lượng các hoạt chất chống oxy hóa có bản chất không là enzyme

Các hợp chất polyphenol có khả năng chống oxy hóa bằng cách phản ứng trực tiếp với gốc tự do tạo thành một gốc tự do mới bền hơn, hoặc cũng có thể tạo phức với các ion kim loại chuyển tiếp vốn là xúc tác cho quá trình tạo gốc tự do [16]. Kết quả ở bảng 1 cho thấy, tất cả các chỉ tiêu phân tích các hoạt chất chống oxy hóa có bản chất không là enzyme ở loài trùn đất *P. excavatus* cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với loài trùn đất *L. mauritii* khi so sánh trên cùng dạng trùn tươi hoặc trùn đông khô.

Bảng 1. Hàm lượng TPC, GSH và vitamin C trong hai loài trùn đất

Mẫu trùn đất	TPC (mg GAE/g•)	GSH (mg/g•)	Vtm C (mg/g•)
<i>P. excavatus</i> tươi	15,69 ^a ± 0,32	3,01 ^a ± 0,04	0,84 ^a ± 0,02
<i>P. excavatus</i> khô	10,77 ^b ± 0,26	1,17 ^b ± 0,02	0,64 ^b ± 0,01
<i>L. mauritii</i> tươi	10,48 ^b ± 0,16	0,76 ^c ± 0,02	0,33 ^c ± 0,02
<i>L. mauritii</i> khô	8,65 ^c ± 0,03	0,61 ^d ± 0,03	0,27 ^d ± 0,01
Mức ý nghĩa	*	*	*
CV%	1,92	1,93	2,95

Ghi chú: Số liệu trong bảng là hàm lượng trung bình của mỗi chỉ tiêu phân tích. (*) khác biệt thống kê mức ý nghĩa 5%, • Kết quả được tính trên khối lượng VCK.

Hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) khảo sát đạt cao nhất (15,69 mg GAE/g) ứng với mẫu của loài trùn đất *P. excavatus* dạng tươi và gấp 1,5 lần so với mẫu của loài trùn đất *L. mauritii* (10,48 mg GAE/g) ở cùng dạng. Vì thế trong thực tế, loài trùn đất *P. excavatus* vừa là nguồn cung cấp đạm rất phổ biến, vừa có ý nghĩa trong việc bồi bổ sức khỏe cho vật nuôi sau khi trải qua thời gian dài điều trị bệnh. Loài trùn đất *L. mauritii* cũng được người dân sử dụng nhưng không phổ biến vì còn hạn chế trong việc nuôi đại trà. Các mẫu trùn đất nghiên cứu dạng tươi đều có hàm lượng polyphenol tổng số cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các mẫu trùn đất đông khô. Hàm lượng này giảm đi khoảng 17% - 31% so với mẫu tươi ban đầu, nguyên nhân có thể do các hợp chất polyphenol bị oxy hóa một phần trong quá trình đông lạnh và sấy đông khô cũng như bảo quản. Kết quả được so sánh với nghiên cứu của Anitha và Indira (2012) [1] đã công bố về hàm lượng polyphenol tổng số trên loài trùn đất *Eudrillus euginae* là 44,36 mg/g, so với của loài trùn đất *P. excavatus* có hàm lượng khá thấp có thể do đây là hai loài khác nhau ở Ấn Độ về điều kiện sống, ngoài ra cách quy đổi về phần trăm khối lượng mẫu cũng khác nhau.

Glutathione là chất chống oxy hóa có tính khử mạnh do sự có mặt của nhóm - SH trong phân tử. Chúng dễ dàng chuyển hóa qua lại giữa hai dạng Glu-SH (dạng khử) và Glu-S-S-Glu (dạng oxy hóa), thường xuyên có mặt trong các mô của cơ thể động vật và được xem như kháng thể [22] và là cơ chế phòng thủ bẩm sinh bảo vệ cơ thể [8]. Bảng 1 cho thấy, hàm lượng glutathione giảm dần theo thứ tự các mẫu khảo sát là loài trùn đất *P. excavatus* tươi, *P. excavatus* bột khô; loài trùn đất *L. mauritii* tươi và *L. mauritii* bột khô. Các mẫu của loài trùn đất *P. excavatus* và loài trùn đất *L. mauritii* dạng tươi đều có hàm lượng GSH cao hơn mẫu dạng bột khô tương ứng. Trong đó, hàm lượng GSH cao nhất ở loài trùn đất *P. excavatus* dạng tươi đạt 3,01 mg/g gấp khoảng 2,6 lần so với loài trùn đất *P. excavatus* dạng bột khô, trong khi đó hàm lượng GSH thấp nhất ứng với mẫu của loài trùn đất *L. mauritii* dạng bột khô (0,61 mg/g). Nguyên nhân có thể do GSH là chất chống oxy hóa mạnh nên càng có thời gian tiếp xúc với không khí càng nhiều thì hoạt tính giảm càng nhanh, hoạt tính GSH ở *P. excavatus* dạng bột khô giảm khoảng 60% so với dạng tươi.

Vitamin C thuộc nhóm chất chống oxy hóa hòa tan trong nước nên dễ dàng chuyển hóa giữa các mô trong cơ thể và hoạt động như một chất chống oxy hóa trong môi trường nước của cơ thể – cả nội bào lẫn ngoại bào. Vitamin C còn hoạt động cùng với các enzyme chống oxy hóa khác như GSH -Px, catalase và SOD. Ngoài ra, vitamin C giúp phục hồi và tái tạo lại vitamin E từ dạng bị oxy hóa trong cơ thể, làm tăng cường hiệu lực chống oxy hóa của vitamin E. Vì vậy đánh giá hàm lượng vitamin C được xem là một trong những chỉ tiêu quan trọng trong việc khảo sát khả năng chống oxy hóa của một đối tượng nguyên liệu. Kết quả khảo sát cho thấy hàm lượng vitamin C ở trùn đất tươi đạt cao hơn so với trùn đất dạng bột khô và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở 4 nghiệm thức khảo sát. Cụ thể, hàm lượng vitamin C đạt cao nhất ở loài trùn đất *P. excavatus* dạng tươi (0,84 mg/g), cao gấp 1,3 lần so với dạng bột khô (0,64 mg/g), cao gấp 2,5 lần so với loài trùn đất *L. mauritii* dạng tươi và gấp 3,1 lần so với loài trùn đất *L. mauritii* dạng bột khô có hàm lượng thấp nhất (0,27 mg/g). Kết quả này rất cao khi so sánh trên loài trùn đất *Eudrillus euginae* ở Ấn Độ chỉ có khoảng 0,005 mg/g bột khô. Đây cũng là cơ sở cho việc sử dụng trùn đất *P. excavatus* làm nguồn nguyên liệu đặc trị cho thử nghiệm *in vivo* trên chuột khi bị gây tổn thương tế bào gan.

3.2. Kết quả khảo sát các hoạt chất chống oxy hóa có bản chất là enzyme

Các tế bào được bảo vệ chống lại stress oxy hóa bởi một mạng lưới tương tác của các enzyme chống oxy hóa [19]. Các hợp chất superoxide khởi đầu bởi các quá trình phosphoryl oxy hóa biến đổi thành hydrogen peroxide và sau đó tiếp tục chuyển đến cho phân tử nước. Con đường giải độc này là kết quả của nhiều enzyme như superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) và glutathione peroxidase (GPx). Đây là ba enzyme quan trọng loại bỏ các ion superoxide và hydrogen peroxide. Đầu tiên, các ion superoxide sẽ được loại bỏ với sự xúc tác bởi superoxide dismutase, sau đó là catalase và peroxidase khác nhau sẽ loại bỏ các hydrogen peroxide [14]. Hệ thống phòng thủ các chất chống oxy hóa có bản chất enzyme là rào cản tự nhiên bảo vệ tế bào chống lại các peroxide của lipid. Các enzyme này ngăn ngừa sự tạo gốc hydroxyl gốc tự do và bảo vệ các thành phần tế bào từ quá trình oxy hóa.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy hoạt tính tất cả các enzyme superoxide dimutase, catalase, glutathione peroxidase trong loài trùn đất *P. excavatus* dạng tươi cao hơn so với loài trùn đất *L. mauritii* và chỉ có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trên hoạt tính enzyme catalase và glutathione peroxidase. Hoạt tính các enzyme ở trùn đất dạng bột khô đều có hoạt tính

thấp hơn so với dạng tươi. Nguyên nhân do các enzyme đều có bản chất protein rất dễ bị tác động bởi các yếu tố bên ngoài đặc biệt là nhiệt độ, các dạng trùn đất bột khô phải qua quá trình xử lý, đông khô lạnh một thời gian dài nên hoạt tính enzyme bị giảm là điều không thể tránh khỏi.

Bảng 2. Hoạt tính các enzyme chống oxy hóa trong hai loài trùn đất

Mẫu trùn đất	HT SOD (U_{SOD}/mg protein)	HT CAT (U_{CAT}/mg protein)	HT GPx (U_{GPx}/mg protein)
<i>P. excavatus</i> tươi	6,31 ^a ± 0,244	13,50 ^a ± 0,357	6,53 ^a ± 0,023
<i>P. excavatus</i> khô	5,73 ^b ± 0,209	11,50 ^b ± 0,287	5,29 ^b ± 0,048
<i>L. mauritii</i> tươi	6,19 ^{ab} ± 0,205	12,59 ^c ± 0,318	6,04 ^c ± 0,094
<i>L. mauritii</i> khô	5,84 ^b ± 0,147	11,02 ^b ± 0,366	4,07 ^d ± 0,130
Mức ý nghĩa	*	*	*
CV%	3,38	2,52	1,57

Ghi chú: Số liệu trong bảng là hoạt tính trung bình của mỗi chỉ tiêu phân tích. (*) khác biệt thống kê mức ý nghĩa 5%. (U_{SOD} = ức chế 50% NTB/phút; U_{CAT} = μmol H_2O_2 phân hủy/phút; U_{GPx} = μmol GSH tiêu thụ/phút)

Để đánh giá khả năng chống oxy hóa của hai mẫu trùn đất dạng tươi và bột khô, thí nghiệm tiến hành xác định hoạt tính enzyme Superoxide dimutase (SOD) theo phương pháp ức chế sự tạo thành sản phẩm formazan. SOD có tác dụng trung hòa gốc anion dioxide ($O_2^{\bullet-}$), SOD có hoạt tính càng cao thì khả năng $O_2^{\bullet-}$ cung cấp electron phản ứng với NADH-PMS-NBT càng giảm từ đó làm giảm độ hấp thụ sản phẩm formazan. SOD trong cơ thể đóng vai trò rất quan trọng trong việc điều hòa các quá trình oxy hóa đặc biệt là các quá trình lão hóa, chống viêm. Việc loại bỏ các gốc peroxide tự do của enzyme là rất cần thiết, nếu thiếu hụt sẽ dẫn đến nhiều bệnh lý, với hoạt tính enzyme SOD khảo sát được nghiên cứu cho thấy, có thể sử dụng trùn đất cho việc cung cấp, bổ sung lượng enzyme cho cơ thể.

Kết quả khảo sát cho thấy hoạt tính enzyme SOD cao nhất trong mẫu của loài trùn đất *P. excavatus* dạng tươi (6,31 U_{SOD}/mg protein), tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mẫu của loài trùn đất *L. mauritii* cùng dạng. Mặc dù vậy các mẫu bột khô đều có giá trị SOD thấp hơn so với các mẫu dạng tươi và khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Catalase là enzyme chống oxy hóa có tác dụng phân hủy hydrogen peroxide thành nước và oxy. Trong hệ thống enzyme chống oxy hóa thì catalase là một trong những enzyme quan trọng nhất, có tác

dụng loại trừ H_2O_2 tích tụ trong tế bào. Từ đó can thiệp vào quá trình oxy hóa và thúc đẩy quá trình tạo mô hạt giúp trị lành sẹo và vết thương, ngoài ra CAT còn có tác dụng kháng khuẩn nấm mốc, làm chậm quá trình oxy hóa. Với kết quả khảo sát cho thấy, hoạt tính enzyme catalase trong cả hai loại trùn đất nghiên cứu đều khá cao, đặc biệt là loài trùn đất *P. excavatus* nên có thể sử dụng để bổ sung vào thức ăn làm tăng sức đề kháng cho các loại động vật nuôi.

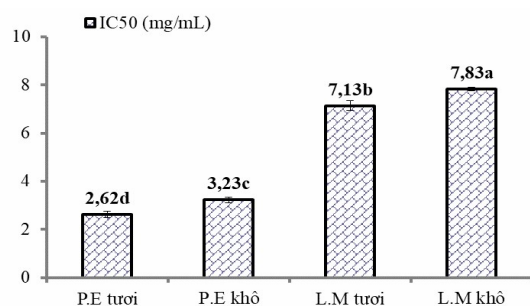
Việc thiếu hụt enzyme glutathione peroxidase (GPx) trong cơ thể là nguyên nhân dẫn đến sự tổn thương của các màng tế bào bởi các gốc tự do. Gây ra các nguy cơ cao của bệnh ung thư, bệnh tim mạch, bệnh viêm nhiễm và nhiều tình trạng bệnh lý khác có liên quan đến các tổn thương do tăng gốc tự do oxy hóa, gồm cả lão hóa sớm và hình thành đục thủy tinh thể. Kết quả khảo sát hoạt tính enzyme GPx trong loài trùn đất *P. excavatus* dạng tươi và bột khô đều cao hơn so với loài trùn đất *L. mauritii*. Đối với loài trùn đất *P. excavatus* giữa xử lý nguyên liệu dạng bột đông khô hoạt tính GPx giảm đi khoảng 19% hoạt tính so dạng tươi ban đầu, trong khi đối với loài trùn đất *L. mauritii* giảm khoảng 32,6% hoạt tính là rất cao. Với sự chênh lệch lớn cần chú ý nhiều đến việc xử lý và bảo quản nguyên liệu trong quá trình sử dụng các loài trùn đất.

So sánh kết quả nghiên cứu hoạt tính các chất chống oxy hóa có bản chất enzyme trên trùn đất

Eudrillus euginae ở Ấn độ trong nghiên cứu của Anitha và Indira (2012) [1] thì hoạt tính enzyme SOD (6,18 U/mg protein), catalase (14,43 U/mg protein) và GPx (6,89 U/mg protein) không có sự khác biệt nhiều so với loài trùn đất *P. excavatus* nếu tính trên cùng đơn vị đo hoạt tính. Riêng loài trùn đất *L. mauritii* có hoạt tính tương đối thấp hơn một phần có thể các yếu tố môi trường nuôi dưỡng cũng như các đặc tính của các loài trùn đất khác nhau. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu cũng cho thấy hầu hết các loài trùn đất đều có khả năng tự vệ nhờ các chất chống oxy hóa có bản chất enzyme có trong cơ thể chúng.

3.3. Kết quả khảo sát khả năng loại bỏ gốc tự do 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

Để đánh giá khả năng chống oxy hóa của các mẫu trùn đất nghiên cứu ở hai dạng tươi và bột đông khô lạnh, thí nghiệm tiến hành xác định khả năng loại bỏ gốc tự do bằng thử nghiệm DPPH. Đây là phương pháp khá đơn giản, dễ thực hiện và mang tính chất sàng lọc tác dụng chống oxy hóa của mẫu nghiên cứu trong thử nghiệm ban đầu. Khả năng loại 50% gốc tự do của DPPH từ các dịch trùn được thể hiện qua mức nồng độ mà tại đó mẫu loại bỏ được 50% gốc tự do gọi là giá trị IC₅₀. Kết quả khảo sát cho thấy khả năng loại gốc tự do của mẫu của loài trùn đất *P. excavatus* mạnh hơn hẳn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mẫu của loài trùn đất *L. mauritii*.



Hình 1. Giá trị IC₅₀ các mẫu trùn đất nghiên cứu

Giá trị IC₅₀ thấp nhất tức khả năng loại gốc tự do mạnh nhất ứng với mẫu của loài trùn đất *P. excavatus* dạng tươi ở mức nồng độ 2,62 mg/mL, giá trị IC₅₀ cao nhất tức khả năng loại gốc tự do yếu nhất ở mức nồng độ 7,83 mg/mL ứng với mẫu của loài trùn đất *L. mauritii* dạng bột khô. Như vậy, khả năng chống oxy hóa của của loài trùn đất *P. excavatus* cao hơn gấp 2,7 lần so với loài trùn đất *L. mauritii*.

Các mẫu trùn đất dạng tươi đều cho giá trị IC₅₀ nhỏ hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mẫu

trùn đất dạng bột khô khi xét trên cùng đối tượng là loài trùn đất *P. excavatus* hoặc loài trùn đất *L. mauritii* đồng nghĩa với khả năng loại gốc tự do của trùn đất dạng tươi mạnh hơn so với dạng bột khô. So sánh với kết quả đã công bố của Sharma (2012) [21] khả năng loại 50% gốc tự do của DPPH từ các loài thực vật dây leo *Cuscuta reflexa* ở mức nồng độ là 6,89 mg/mL và *Cassytha filiformis* là 11,02 mg/mL thì khả năng loại gốc tự do của dịch loài trùn đất *P. excavatus* dạng tươi cao hơn khá nhiều so với dịch chiết các loài thực vật này. Điều này cho thấy khả năng loại gốc tự do của các mẫu trùn đất có thể xem là tiềm năng sử dụng vào các lĩnh vực bảo vệ sức khỏe cho người và động vật nuôi.

Qua khảo sát các hoạt chất chống oxy hóa có bản chất không enzyme và enzyme trên hai loài trùn đất *P. excavatus* và *L. mauritii* cho thấy, ưu điểm nghiêng hẳn về loài trùn đất *P. excavatus*. Kết quả cũng có ý nghĩa rất lớn để có thể giải thích khả năng sử dụng nguồn dịch chiết của loài trùn đất *P. excavatus* trong tương lai để có thể phát triển như một chất chống ung thư theo thử nghiệm *in vitro* mới nhất của Augustine và cs (2019) [3], cho biết dịch chiết của loài trùn đất *P. excavatus* có hiệu quả tối ưu bất giữ các tế bào ung thư hòng SCC - 9 ở giai đoạn G2M của chu kỳ tế bào thông qua các thử nghiệm lactate dehydrogenase (LDH), khả năng sinh trưởng của tế bào (clonogenic assay) và điện di tế bào đơn trên gel (comet assay).

Trong phạm vi nghiên cứu, sẽ thử nghiệm thêm khả năng kháng khuẩn trên một số loài thủy sản trên các dạng phối trộn thêm chất độn, bảo quản dưới dạng bột dễ sử dụng. Xa hơn nữa là thử nghiệm *in vivo* các nghiệm thức gây nhiễm trên chuột có đối chứng, sử dụng bột của loài trùn đất *P. excavatus* để điều trị và so sánh với thuốc đặc trị. Nghiên cứu góp phần mở rộng phát triển mô hình nuôi loài trùn đất *P. excavatus*, giải quyết đầu ra của sản phẩm nhằm cải thiện cuộc sống của người dân ở đồng bằng sông Cửu Long, các tỉnh miền Đông Nam bộ cũng như các vùng khác có ngành chăn nuôi bò phát triển.

4. KẾT LUẬN

- Các hoạt chất chống oxy hóa có bản chất không phải enzyme và enzyme ở loài trùn đất *Perionyx excavatus* đều cao hơn loài trùn đất *Lampito mauritii*. Trùn đất xử lý ở dạng bột đông khô có thể bị giảm đi 10% - 30% các hoạt chất chống oxy hóa so với sử dụng ở dạng nguyên liệu tươi. Hàm

lượng polyphenol tổng số, glutathione và vitamin C đạt cao nhất trên loài trùn đất *P. excavatus* dạng tươi là 15,69 mgGAE/g, 3,01 mg/g và 0,84 mg/g tương ứng. Bộ ba enzyme chống oxy hóa loại bỏ các ion superoxide và hydrogen peroxide có hoạt tính superoxide dimutase, catalase và glutathione peroxidase tương ứng đạt 6,31 U/mg; 13,5 U/mg và 6,53 U/mg protein.

- Khả năng loại 50% gốc tự do của DPPH của loài trùn đất *P. excavatus* dạng tươi cao hơn gấp 2,7 lần so với bột khô từ loài trùn đất *Lampito mauritii* và có giá trị IC50 đạt thấp nhất ở mức nồng độ 2,62 mg/mL.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anitha. J and Indira A J., 2012. *Nutritional and antioxidant evaluation of Earthworm powder*. International Research Journal Pharmacy., 3 (2): 177 - 180.
2. AOAC, 2000. *Official Methods of Analysis*. Vol.II, Washington, DC, USA.
3. Augustinea D, Raoa RS, Anbub J, Chidambara Murthyc., 2019. *In vitro cytotoxic and apoptotic induction effect of earthworm coelomic fluid of Eudrilus eugeniae, Eisenia foetida, and Perionyx excavatus on human oral squamous cell carcinoma-9 cell line*. Toxicology Reports 6; 347 - 357.
4. Balamurugan M, Parthasarathi K, Cooper EL, Ranganathan LS, 2007. *Earthworm paste (Lampito mauritii, Kinberg) alters inflammatory, oxidative, haematological and serum biochemical indices of inflamed rat*. European Rev Med Pharmacol Sci., 11: 77 - 90.
5. Bansal N, Gupta R. K, Singh D, Shashank., 2015. *Comparative study of antibacterial activity of two different earthworm species, Perionyx excavatus and Pheretima posthuma against pathogenic bacteria*. Journal of Applied and Natural Science 7 (2): 666 - 671.
6. Bansal N, Gupta R K, Nehra V, 2018. *Antibacterial effects of Eisenia fetida, earthworm extract against pathogenic bacteria isolated from Cyprinus carpio*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 7 (4): 2329 - 2340.
7. Dương Nhật Linh, Nguyễn Văn Minh, Đan Duy Pháp, 2010. *Nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của dịch chiết trùn quế (Perionyx excavatus) đối với một số vi khuẩn gây bệnh cho động vật thủy sản*. Hội nghị công nghệ sinh học thủy sản toàn quốc, thành phố Hồ Chí Minh.
8. Gueeri H, 1995. *Influence on prolonged ethanol intake on the level and turnover of alcohol and aldehyde dehydrogenase and glutathione*. Adv. Exp. Med. Biol., 23: 133 - 134.
9. Haroon K, Muhammad FK, Syed UJ, Muhammad M, Naseem U and Naveed, 2012. *Role of Glutathione in protection against mercury induced poisoning*. Pak. J. Pharm. Sci., 25 (2): 395 - 400.
10. Ismail SA, Pulandiran K and Yegnaranayan R, 1992. *Antiinflammatory activity of earthworm extracts*. Soil Biol. Biochem., 24 (12): 1253 - 1254.
11. Joseph George, 2003. *Ascorbic acid concentrations in dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats*, Clinica Chimica Acta., 335: 39 - 47.
12. Kakkar R, Das B, Viswanathan PNA, 1984. *Modified spectroscopic assay of superoxide dismutase*. Indian J Biochem Biophys., 21: 130 - 132.
13. Lowry OH, Rosenberg WJ, Farr AL, Randall RJ, 1951. *Quantization of protein using Folin-Ciocalteu reagent*. Journal of Biological Chemistry, 193: 265 - 275.
14. Magnenat J L, Garganoam M, Cao J., 1998. *The nature of antioxidant defense mechanisms: A lesson from transgenic studies*. Environ Health Perspect., 106: 1219-1228.
15. Nguyễn Thanh Tùng, 2013. *Khu hệ giun đất đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam*. Luận án Tiến sĩ Sinh học. Trường Đại học Sư phạm Hà Nội.
16. Petti, S. & Scully, C., 2009. *Polyphenols, oral health and disease: a review*. Journal of Dentistry., 37: 413 - 423.
17. Prakash M, Balamurugan M, Parthasarathi K, Gunasekaran, Cooper EL, Ranganathan, 2007. *Anti-ulcer and anti-oxidative properties of "earthworm paste" of Lampito mauritii (Kinberg) on Rattus Norvegicus*. Eur Rev Med Pharmacol Sci., 11: 9 - 15.
18. Rao A., Sareddy G. R., Phanthy, P. B and Attipalli R. R., 2010. *The antioxidant and antiproliferative activities of methanolic extracts from Njavara rice bran*. BMC Complementary and Alternative Medicine., 10: 2 - 9.

19. Sies H, 1997. *Oxidants and antioxidants*. Exp Physiol., 82: 291 - 295.
20. Sinha KA, 1972. *Colorimetric assay of catalase*. Ann Biochem., 47: 389 - 394.
21. Sharma, S., Hullatti, K. K., Sachin, K., and Tiwari, K. B., 2012. *Comparative antioxidant activity of Cuscuta reflexa and Cassytha filiformis*. Journal of Pharmacy Research., 5 (1): 441 - 443.
22. Winkler B. S, 1992. *Unequivocal evidence is support of non-enzymatic redox coupling between glutathione, glutathione disulphate and ascorbic acid, dehydro ascorbic acid*. Biochim Biophys Acta., 1117: 287 - 290.

DETERMINATION OF ANTIOXYDANT COMPOUNDS IN THE *Perionyx excavatus* AND *Lampito mauritii* EARTHWORM

Phan Thi Bich Tram^{1*}, Lam Thi Viet Ha¹

¹Can Tho University

Summary

The aim of this study was to determinate the antioxydant compounds in *Perionyx excavatus* and *Lampito mauritii* earthworm. The result shows that *Perionyx excavatus* earthworm powder is recognized as potential source for both enzyme and non - enzyme antioxidant compounds. The freezed earthworm powder had 10% - 30% lower antioxydant activity compared to the fresh one. The amount of total phenolic compounds (TPC), reduced glutathione (GSH) and vitamin C contents reach the highest value at 15.69 mg GAE/g and 3.94 mg/g and 0.84 mg/g respectively. Enzymatic antioxidants to remove superoxide ions and hydrogen peroxides include superoxide dimutase, catalase and glutathione peroxidase had an activity at highest value 6.31 U/mg; 13.5 U/mg and 6.53 U/mg protein respectively. Free radical scavenging ability by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay with IC50 value on fresh *Perionyx excavatus* earthworm was 2.7 folds higher than *Lampito mauritii* earthworm powder and reach the lowest IC50 value at 2.62 mg/mL concentration.

Keywords: *Antioxydant, Lampito mauritii, Perionyx excavatus, TPC.*

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Công Khẩn

Ngày nhận bài: 18/6/2021

Ngày thông qua phản biện: 19/7/2021

Ngày duyệt đăng: 26/7/2021