

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA VÀ ỨC CHẾ TYROSINASE TỪ CAO CHIẾT METHANOL THÂN VÀ THỊT QUẢ CÂY DỨA (*Ananas comosus*) VÙNG TẮC CẬU, KIÊN GIANG

Nguyễn Thị Thu Hậu¹, Trần Nhân Dũng², Nguyễn Minh Chơn²,
Nguyễn Đức Độ², Phạm Thị Bé Tư², Huỳnh Văn Bá³, Trần Thị Ngọc Lý¹,
Lâm Huỳnh Đức¹, Phạm Thị Ái Vi¹, Lý Lệ Quyên¹, Lê Thị Ngọc Ngà¹

TÓM TẮT

Dứa có tên khoa học là *Ananas comosus*, là loại cây ăn trái có giá trị dinh dưỡng cao. Khảo sát khả năng kháng oxy hóa và ức chế tyrosinase của cao chiết methanol thân và thịt quả thu hái tại Tắc Cậu, tỉnh Kiên Giang được thực hiện nhằm tìm ra nguồn nguyên liệu mới sử dụng trong ngành dược liệu và mỹ phẩm. Nghiên cứu hiệu suất ly trích cao trong dung môi methanol 99%, tỷ lệ phối trộn giữa mẫu với dung môi là 1:4, kết hợp đánh sóng siêu âm với công suất là 120 W trong 72 giờ. Kết quả, hàm lượng polyphenol tổng số ở mẫu thân (301,990 mg GAE/g) cao hơn nghiệm thức thịt quả (142,562 mg GAE/g). Khả năng bắt gốc tự do DPPH ở mẫu thân với $IC_{50} = 158,94 \mu\text{g/ml}$ cao hơn mẫu thịt quả $IC_{50} = 196,97 \mu\text{g/ml}$, khả năng khử ion Cu^{2+} mẫu thịt quả với $IC_{50} = 310,1 \mu\text{g/ml}$ lại cao hơn mẫu thân $IC_{50} = 1819,6 \mu\text{g/ml}$. Đồng thời, khả năng ức chế tyrosinase của cao thịt quả với $IC_{50} = 395,51 \mu\text{g/ml}$ cao hơn mẫu thân $IC_{50} = 825,82 \mu\text{g/ml}$. Nghiên cứu đã phát hiện việc tận dụng phế phẩm từ thân và thịt quả dứa có khả năng kháng oxy hóa và ức chế tyrosinase là nguồn nguyên liệu tiềm năng trong lĩnh vực sản xuất dược liệu và mỹ phẩm.

Từ khóa: Cao chiết, dứa, kháng oxy hóa, polyphenol, tyrosinase.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tyrosinase là enzyme chính trong đường sinh tổng hợp melanin hình thành các hạt sắc tố melanosomes, là nguyên nhân của hàng loạt các loại bệnh như: nám, tàn nhang, parkinson (Kong *et al.*, 2000). Do đó, tyrosinase và các chất ức chế tyrosinase được nghiên cứu và ứng dụng vào lĩnh vực y học, công nghiệp thực phẩm, xử lý môi trường và mỹ phẩm (Zolghadri *et al.*, 2019). Tuy nhiên, những hoạt chất ức chế tyrosinase được tổng hợp bằng phương pháp hóa học hiện nay như hydroquinon, aloesin, arbutin, axit azelaic, axit glycolic, axit kojic, axit ascorbic... lại chưa thật sự an toàn và hiệu quả (Hae *et al.*, 2019; Kong *et al.*, 2000; MacLean *et al.*, 2019; Zolghadri *et al.*, 2019).

Sự thoái hóa của tế bào (hay sự oxy hóa tế bào) là nguyên nhân chính gây nên các bệnh trong cơ thể con người do tạo ra quá nhiều loại oxy phản ứng

(Reactive Oxygen Species-ROS (Hileman *et al.*, 2004). Cơ thể động vật và cả con người thường tạo ra các hợp chất có tính kháng oxy hóa. Khi hàm lượng các chất kháng oxy hóa trong cơ thể giảm xuống sẽ làm tăng nguy cơ hủy hoại các tế bào. Các hợp chất kháng oxy hóa là những hợp chất làm chậm hoặc ngăn chặn được sự phát triển của các gốc tự do bảo vệ tế bào và cơ thể.

Dứa có tên khoa học là *Ananas comosus* là loại trái cây có giá trị dinh dưỡng cao. Dứa Tắc Cậu thuộc tỉnh Kiên Giang từ lâu đã là đặc sản nổi tiếng và là loại cây nằm trong danh sách được bảo tồn nguồn gen của tỉnh Kiên Giang. Mục tiêu của nghiên cứu này là bước đầu định tính các hợp chất thiên nhiên và đánh giá khả năng kháng oxy hóa và ức chế enzym tyrosinase từ cao methanol thân và thịt quả, nhằm tìm ra nguồn nguyên liệu mới sử dụng trong ngành dược liệu và mỹ phẩm.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Hóa chất

Axit ascorbic (99%, Merck, Đức); axit gallic (99%, Nhật Bản), axit kojic (99%, Nhật Bản), methanol 99% (Việt Nam), DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (free radical), 95%), (Alfa Aesar, Nhật Bản), Folin-

¹ Trường Đại học Kiên Giang

² Trường Đại học Cần Thơ

³ Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

*Email: ntthau@vnkgu.edu.vn

Ciocalteu (Merck, Đức), Na_2CO_3 99,8%; axit clohydric (36% HCl), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, sodium acetat buffer (pH=5,5), tyrosinase (Sigma, Mỹ).

2.2. Nguyên liệu chiết xuất

Thân cây và thịt quả dứa Tắc Cậy (*Ananas comosus*) được thu hái ở vùng Cù Lao, Tắc Cậy, Kiên Giang. Mẫu được định danh dựa vào đặc điểm hình thái theo Phạm Hoàng Hộ (1993).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp thu mẫu



Hình 1. Thịt quả (ảnh trái), thân cây (ảnh phải) của cây dứa Tắc Cậy (*Ananas comosus*)

Bảng 1. Các nghiệm thức cao chiết methanol thân cây và thịt quả dứa Tắc Cậy

Tên nghiệm thức	Bộ phận	Dung môi	Xử lý sóng siêu âm
SP	Thân Dứa	Methanol 99 ⁰ , 4000 mL	120 walt, 72 giờ
FP	Thịt quả Dứa	Methanol 99 ⁰ , 4000 mL	120 walt, 72 giờ

2.3.3. Khảo sát hàm lượng polyphenol tổng số

Hàm lượng polyphenol tổng số được xác định dựa trên phương pháp sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteu, đo quang phổ ở bước sóng 765 nm. Chất chuẩn được sử dụng là axit gallic ở 5 nồng độ 0,01; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5 mg/mL. Nồng độ cao chiết sử dụng lần lượt là 0,1 mg/mL. Hàm lượng polyphenol tổng số được tính dựa trên phương trình đường chuẩn $y = ax + b$ của chất chuẩn là axit gallic. Hàm lượng polyphenol tổng số: $C = c \times V_m$. Trong đó: C: hàm lượng polyphenol tổng số (mg GAE/g chiết xuất); c: giá trị x từ đường chuẩn với axit gallic/ascorbic ($\mu\text{g/mL}$); V: thể tích dịch chiết (mL); M: khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

2.3.4. Phương pháp khảo sát khả năng kháng oxy hóa của cao chiết

- Khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng DPPH

Thí nghiệm sử dụng DPPH nồng độ 0,1 mM pha trong methanol, sodium acetat buffer (pH = 5,5). Hòa tan cao chiết với nồng độ từ 50; 100; 150; 200; 250 $\mu\text{g/mL}$ (mẫu thân) và từ 100; 200; 300; 400; 500 $\mu\text{g/mL}$ (mẫu thịt), axit ascorbic nồng độ 12,5; 25; 50; 100; 150 $\mu\text{g/mL}$ (dùng làm đường chuẩn). Đo độ hấp

thu thịt quả và thân của cây dứa Tắc Cậy (Hình 1) được thu tại vị trí GPS (Vĩ độ: 9,45361 B; Kinh độ: 109,08195 Đ). Thời gian thu mẫu từ 6-8 giờ sáng, ngày 10/9/2020. Mẫu sau khi thu được vận chuyển về Phòng thực hành Sinh hóa, Trường Đại học Kiên Giang, rửa sạch để khô tự nhiên. Sau đó, mẫu được cắt nhỏ với kích thước 3 x 5 x 0,5 cm (rộng, dài, dày) và xử lý các bước tiếp theo để tạo cao chiết.

2.3.2. Phương pháp điều chế cao (trích ly)

Mẫu gồm thân cây (SP) và thịt quả (FP) của cây dứa Tắc Cậy được thu nhận và rửa, để khô tự nhiên, cắt nhỏ và xác định khối lượng tươi. 1000 (g) mẫu được xay nhuyễn với methanol 99% (w/w) (MeOH), bằng phương pháp ngâm chiết với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:4 (w/v), nhiệt độ trích ly là nhiệt độ phòng kết hợp đánh sóng siêu âm với công suất là 120 W trong 72 giờ. Sau đó, lọc dịch chiết, dịch chiết được cô quay chân không để thu hồi dung môi dưới áp suất thấp và nhiệt độ 47°C (Bảng 1).

thu ở bước sóng 517 nm. Mẫu đối chứng được thực hiện tương tự nhưng thay thế cao chiết bằng MeOH. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Khả năng ức chế DPPH được tính theo công thức sau:

$$\text{DPPH (\%)} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

Trong đó: A_0 : độ hấp thụ của mẫu đối chứng (không chứa cao chiết); A: độ hấp thụ của mẫu. Xây dựng đường chuẩn $y = ax + b$ với phần trăm ức chế DPPH ở các nồng độ khác nhau. Từ đó, tính giá trị IC_{50} của axit ascorbic hay cao chiết.

- Khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng năng lực khử Cu^{2+}

Thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của Maclean *et al.*, 2019, có hiệu chỉnh. Axit ascorbic có nồng độ 150, 200, 250, 300, 350 $\mu\text{g/mL}$ được sử dụng là chất chuẩn để so sánh với các nghiệm thức cao. Đo bước sóng ở độ hấp thụ 450 nm, thí nghiệm được lặp lại 3 lần (MacLean *et al.*, 2019). Khả năng khử ion Cu^{2+} được tính theo công thức:

$$\text{Khả năng khử } \text{Cu}^{2+} (\%) = \frac{A_s - A_0}{A_s} \times 100$$

Trong đó: A_s là độ hấp thụ của mẫu cao hoặc axit ascorbic; A_0 là độ hấp thụ của mẫu trắng (mẫu không chứa cao chiết hoặc axit ascorbic).

2.3.5. Phương pháp khảo sát khả năng ức chế tyrosinase in-vitro

Thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của Chintong *et al.*, 2019 và Nguyễn Khoa Hạ Mai và cs., 2018, có hiệu chỉnh. Axit kojic nồng độ từ 2; 4; 6; 8; 10 và 12 $\mu\text{g/ml}$. Cao thô và các cao phân đoạn được pha trong DMSO đạt nồng độ 2 mg/ml . Sau đó, pha loãng trong dung dịch đệm phosphate pH = 6,8 theo dãy nồng độ 31,25; 62,5; 125; 250; 500 $\mu\text{g/ml}$. Enzyme tyrosinase và L-Dopa được lần lượt pha loãng trong dung dịch đệm phosphate pH 6,8 để đạt các nồng độ là 250 U/ml và 1 mg/ml . Tổng thể tích phản ứng là 1 ml, trong đó 25 μL tyrosinase được ủ với 200 μL cao chiết ở 37°C trong 15 phút. Cuối cùng, thêm vào 50 μL L-Dopa ủ 37°C trong 15 phút. Hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thụ quang phổ ngay ở bước sóng 475 nm. Khả năng ức chế tyrosinase được tính theo công thức:

$$\% \text{ ức chế} = \frac{(A - B) - (C - D)}{(A - B)} \times 100$$

Trong đó: A: độ hấp thụ ở 475 nm của phản ứng giữa enzyme và cơ chất, không có cao chiết; B: độ hấp thụ ở 475 nm của phản ứng chỉ có cơ chất, không có cao chiết và enzyme; C: độ hấp thụ ở 475 nm của phản ứng có enzyme, cơ chất và cao chiết; D: độ hấp thụ ở 475 nm của phản ứng có cao chiết và cơ chất nhưng không có enzyme (Chintong *et al.*, 2019).

Tiến hành dựng đường chuẩn biểu diễn mối tương quan giữa phần trăm ức chế và nồng độ mẫu. Dựa vào phương trình đường chuẩn xác định được giá trị IC_{50} (mức nồng độ có khả năng ức chế 50% enzyme).

2.4. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Kết quả thực nghiệm được nhập liệu bằng Microsoft Excel và phân tích bằng phần mềm Minitab 1.6 để phân tích phương sai ANOVA, hệ số biến động (CV) và so sánh trung bình các nghiệm thức bằng kiểm định LSD (0,05%).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu suất trích cao

Hiệu suất ly trích ở mẫu thịt quả cao hơn mẫu thân cây (Bảng 2). Lý do mẫu thịt quả có hiệu suất

trích cao lớn hơn mẫu thân cây là do trong thịt quả chứa lượng lớn các loại đường và các axit hữu cơ.

Bảng 2. Hiệu suất trích cao thân cây và thịt quả dứa Tắc Cậy

Nghiệm thức	Khối lượng mẫu tươi (g)	Khối lượng cao chiết (g)	Hiệu suất trích cao (%)
Thân (SP)	1000	36,8	3,68
Thịt quả (FP)	1000	118,2	11,82

Kết quả nghiên cứu cho thấy, khả năng ly trích cao chiết thân cây và thịt quả cao hơn so với mẫu cỏ Mần Trầu là 2,82% (Nguyễn Thanh Nhật Phương và cộng sự., 2017), thân rễ cây cỏ Tranh 1,15% (Võ Thị Kiều Ngân và cộng sự., 2017).

3.2. Kết quả định lượng hàm lượng polyphenol tổng số

Hàm lượng polyphenol tổng số của 2 nghiệm thức được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn axit gallic, bằng cách thế giá trị OD của mẫu vào phương trình đường chuẩn. Giá trị mg GAE/g chiết xuất càng cao thì hàm lượng chúng có trong cao chiết càng cao và ngược lại.

Bảng 3. Hàm lượng polyphenol tổng số có trong mẫu cao chiết thân và thịt quả dứa Tắc Cậy

Tên nghiệm thức	Hàm lượng polyphenol (mg GAE/g chiết xuất)
Thân (SP)	$301,990 \pm 11,184$
Thịt quả (FP)	$142,562 \pm 11,649$

Bảng 3 cho thấy, hàm lượng polyphenol tổng số trong thân cây dứa ($301,990 \pm 11,184 \text{ mg GAE/g}$) cao hơn trong mẫu thịt quả dứa ($142,562 \pm 11,649 \text{ mg GAE/g}$). So với nghiên cứu của Nguyễn Khoa Hạ Mai và cs. (2014), tổng hàm lượng polyphenol tổng số ở 90 loại cây thuốc ở An Giang thì hàm lượng polyphenol tổng số trong thân cây dứa cao bằng mẫu lá dâu tằm (mẫu có polyphenol tổng số cao nhất trong số 90 loại cây khảo sát) nhưng mẫu thịt quả dứa lại có hàm lượng polyphenol tổng chỉ ở mức trung bình và thấp hơn nhiều so với một số cây dược liệu khác như: lá cây dâu tằm, vỏ cây cà dăm, thân cây lã vàng, lá cây cỏ sữa lá nhỏ, lá cây lá liễu, lá cây dâu tằm, thân cây huyết rồng hoa nhỏ, thân cây dây rom.

3.3. Kết quả khảo sát khả năng kháng oxy hóa

Hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết thân và thịt quả cây dứa vùng Tắc Cậu được đánh giá qua khả năng khử gốc tự do DPPH. Phương trình hồi quy tuyến tính của phần trăm ức chế theo nồng độ

($\mu\text{g/ml}$), hệ số tương quan (r^2) và giá trị IC_{50} của cao chiết ở mẫu thân và thịt quả so với axit ascorbic được thể hiện qua bảng 4.

Bảng 4. Phương trình hồi quy tuyến tính, hệ số tương quan và chỉ số IC_{50} của cao chiết thân cây, thịt quả và axit ascorbic thử nghiệm bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH

Mẫu	Lần lặp	Phương trình	R^2	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Giá trị trung bình IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Thân (SP)	1	$y = 0,0709x + 37,402$	0,9895	177,687	$158,94 \pm 16,32^b$
	2	$y = 0,0955x + 35,559$	0,9653	151,215	
	3	$y = 0,1101x + 33,715$	0,9913	147,911	
Thịt quả (FP)	1	$y = 0,0392x + 42,334$	0,9643	195,561	$196,97 \pm 2,33^a$
	2	$y = 0,0381x + 42,544$	0,9711	195,695	
	3	$y = 0,0383x + 42,353$	0,9694	199,661	
Ascorbic acid	1	$y = 0,4201x + 23,853$	0,9702	62,239	$62,41 \pm 0,36^c$
	2	$y = 0,4091x + 24,297$	0,9684	62,828	
	3	$y = 0,4146x + 23,807$	0,9644	63,176	

Ghi chú: *Phương trình đường chuẩn, hệ số tương quan (R^2) giá trị IC_{50} đã được tính toán, giá trị trung bình IC_{50} đã xử lý thống kê, các số trung bình theo sau bởi một chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 0,05%

Kết quả trong bảng 4 cho thấy, khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH của mẫu cao chiết thân dứa cao hơn so với mẫu thịt quả dứa và cao hơn so với một số cây khác. Cao chiết thân cây dứa khi thử nghiệm khả năng bắt gốc tự do DPPH có giá trị $\text{IC}_{50} = 158,94 \mu\text{g/ml}$ cho khả năng kháng oxy hóa cao hơn mẫu đối chứng là axit ascorbic $\text{IC}_{50} = 62,41 \mu\text{g/ml}$. So với nghiên cứu của Vrianty *et al.* (2019), trên lá ở đỉnh cây thì ở nồng độ $50 \mu\text{g/ml}$ cho khả năng kháng oxy hóa là 46,44% thì cả hai mẫu cao chiết thân và thịt quả dứa Tắc Cậu cho kết quả thấp hơn so với mẫu lá ở đỉnh cây dứa ở Indonesia. Tuy nhiên, hoạt tính kháng oxy hóa phụ thuộc vào rất nhiều hợp chất khác nhau có trong tế bào từng loại mô, từng loài cây khác nhau, từng vùng sinh thái khác nhau (đối với cây cùng loài), từng độ tuổi của cây khác nhau (đối với cây cùng loài và cùng vùng sinh thái) của cây thậm chí trên cùng một cây ở các bộ phận khác nhau thì hàm lượng và hoạt tính kháng oxy hóa cũng không giống nhau.

Đối với khả năng bắt gốc tự do DPPH so sánh với kết quả của Shete *et al.* (2015) nghiên cứu trên lá và củ của hai loài cây *Amorphophallus konkanensis* và *Amorphophallus bulbifer* (họ Araceae) ly trích với dung môi là ethanol 90% với giá trị IC_{50} lần lượt là

$2700 \mu\text{g/ml}$ và $3020 \mu\text{g/ml}$ cho thấy khả năng kháng oxy hóa của mẫu thân và thịt quả của cây dứa Tắc Cậu cho kết quả kháng oxy hóa cao hơn (vì giá trị IC_{50} càng thấp thì khả năng kháng oxy hóa càng cao). Kết quả này cũng cao hơn nghiên cứu của Nguyễn Văn Bản *và cs.* (2018), trên bẹ cây môn ngứa ly trích bằng ethanol 96% có kết hợp đánh sóng siêu âm trong 60 phút ở 42°C có khả năng bắt gốc tự do DPPH với IC_{50} là $1947 \pm 109,4 \mu\text{g/ml}$.

Hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết thân và thịt quả dứa còn được đánh giá qua khả năng khử ion Cu^{2+} . Phương trình hồi quy tuyến tính của phần trăm ức chế theo nồng độ ($\mu\text{g/ml}$), hệ số tương quan (r^2) và giá trị IC_{50} của cao chiết so với axit ascorbic được thể hiện qua bảng 5.

Kết quả kháng oxy hóa của cao chiết thân và thịt quả cây dứa Tắc Cậu, tỉnh Kiên Giang thể hiện qua khả năng khử ion Cu^{2+} cho thấy, mẫu thịt có khả năng khử ion Cu^{2+} cao hơn mẫu thân cây đồng thời cả hai mẫu đều có khả năng kháng oxy hóa thấp hơn mẫu đối chứng là axit ascorbic. Mẫu thân và thịt cây dứa có khả năng khử ion Cu^{2+} thấp hơn so với cao thô cũng như các cao phân đoạn của lá cây bình bát nước (Tăng Hoàng Tỷ, 2020).

Bảng 5. Phương trình hồi quy tuyến tính, hệ số tương quan và chỉ số IC₅₀ của cao chiết thân và thịt quả dứa và axit ascorbic thử nghiệm bằng phương pháp khử ion Cu²⁺

Mẫu	Lần lặp	Phương trình	R ²	IC ₅₀ (µg/ml)	Giá trị Trung bình IC ₅₀ (µg/ml)
Thân (SP)	1	y = 0,022x + 8,6218	0,9855	1880,827	1819,6 ± 56,5 ^b
	2	y = 0,0224x + 9,4928	0,9702	1808,357	
	3	y = 0,0239x + 7,708	0,9752	1769,540	
Thịt quả (FP)	1	y = 0,1018x + 18,438	0,9763	310,039	310,1 ± 0,2 ^a
	2	y = 0,1041x + 18,449	0,9670	309,931	
	3	y = 0,1055x + 17,265	0,9724	310,284	
Axit ascorbic	1	y = 0,1730x + 2,5806	0,9637	274,101	263,4 ± 12,85 ^c
	2	y = 0,1960x - 2,2107	0,9878	266,381	
	3	y = 0,1570x + 10,887	0,9746	249,127	

Ghi chú: *Phương trình đường chuẩn, hệ số tương quan (R²) giá trị IC₅₀ đã được tính toán, giá trị trung bình IC₅₀ đã xử lý thống kê, các số trung bình theo sau bởi một chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 0,05%

3.4. Kết quả ức chế tyrosinase

Tyrosinase xúc tác sự hình thành sắc tố melanin từ tyrosine. Quá trình tổng hợp và phân phối melanin sẽ hình thành sắc tố da, màu lông, màu tóc, màu mắt và cả sợi trục thần kinh có bao melanin (nguyên nhân gây bệnh mất trí nhớ) ở động vật có vú. Melanin đóng vai trò quan trọng trong việc hấp thu các gốc tự do được tạo ra cũng như che chắn cho vật chủ khỏi nhiều loại bức xạ ion hóa, như tia cực tím. Khi tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời dẫn đến việc làm gia tăng sự hình thành gốc tự do và hoạt độ tyrosinase hình thành melanin ở tế bào biểu bì da, lông, tóc, niêm mạc mắt và cả trên sợi trục thần kinh. Tyrosinase là tác nhân chính gây ra các vấn đề rối loạn về da, tóc, mắt và mất trí nhớ ở người. Hiện nay, các hợp chất có nguồn gốc từ thiên nhiên có khả năng kháng khuẩn, trung hòa gốc tự do và ức chế enzym. Kết quả phân tích cho thấy, mẫu thân và thịt quả của cây dứa Tắc Cậy, Kiên Giang đều có khả năng ức chế tyrosinase.

Kết quả khảo sát khả năng ức chế tyrosinase của cao thân và thịt quả cây dứa vùng Tắc Cậy thể hiện qua giá trị IC₅₀ (nồng độ, cao chiết ức chế 50% hoạt động của tyrosinase) so với axit kojic được thể hiện qua bảng 6.

Kết quả cho thấy khả năng ức chế tyrosinase trong các cao thịt quả (395,51 ± 17,10 µg/ml) cao hơn mẫu thân (825,82 ± 22,95 µg/mL) cây dứa Tắc Cậy và cả hai mẫu đều có khả năng ức chế tyrosinase thấp hơn so với mẫu đối chứng axit kojic. Huỳnh Duy Phúc (2020) đã nghiên cứu khả năng ức chế

tyrosinase từ các phân đoạn cao chiết từ vi tảo *H. Pluvialis* kết quả thu được ở cao phân đoạn số 4 có khả năng ức chế tyrosinase cao nhất với giá trị IC₅₀ là 215,67 µg/ml. Vrianty và cs., 2019, đã nghiên cứu khả năng ức chế tyrosinase trên lá ở đỉnh cây dứa ở Indonesia, kết quả ở nồng độ 100 µg/mL ức chế 60,52% hoạt động của tyrosinase. Vậy khả năng ức chế tyrosinase của cao thô lá ở đỉnh cây dứa ở Indonesia có khả năng ức chế tyrosinase cao hơn mẫu thân và mẫu thịt quả của cây dứa trồng tại vùng Tắc Cậy, Kiên Giang, Việt Nam.

Bảng 6. Khả năng ức chế tyrosinase của các cao thân và thịt quả dứa so với axit kojic

Tên nghiệm thức	IC ₅₀ ức chế tyrosinase (µg/ml)
Thân (SP)	825,82 ± 22,95 ^a
Thịt quả (FP)	395,51 ± 17,10 ^b
Axit kojic	9,22 ± 0,74 ^c

Chú ý: Giá trị IC₅₀ là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Ở mỗi nghiệm thức, các số có ít nhất một chữ cái theo sau thì khác biệt không có ý nghĩa với mức ý nghĩa 1% qua kiểm định Tukey.

4. KẾT LUẬN

Cao chiết thân và thịt quả cây dứa Tắc Cậy, Kiên Giang đều có khả năng kháng oxy hóa và ức chế tyrosinase cao. Hàm lượng polyphenol tổng số ở các nghiệm thức cao chiết thân đạt 301,990 ± 11,184 mg GAE/g, nghiệm thức thịt quả đạt 142,562 ± 11,649 mg GAE/g. Khả năng kháng oxy hóa khi thử nghiệm bằng khả năng bắt gốc tự do DPPH ở nghiệm thức thân (158,94 µg/mL) cao hơn nghiệm thức thịt quả

(196,97 µg/mL), khả năng khử ion Cu^{2+} cao thịt quả (310,1 µg/mL) lại cao hơn mẫu cao thân (1819,6 µg/mL). Đồng thời, khả năng ức chế tyrosinase của cao thịt quả với chỉ số $\text{IC}_{50} = 395,51$ µg/mL cao hơn mẫu thân ($\text{IC}_{50} = 825,82$ µg/mL). Kết quả nghiên cứu bước đầu cho thấy thân và thịt quả dứa Tắc Cậu, Kiên Giang, Việt Nam có khả năng kháng oxy hóa và ức chế enzyme tyrosinase. Tuy nhiên, cần nghiên cứu thêm khả năng kháng oxy hóa và ức chế tyrosinase ở giai đoạn *in vivo* để tận dụng hết nguồn nguyên liệu sử dụng cho mỹ phẩm và dược liệu từ dứa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ghasemzadeh A, Azarifar M, Hawa ZOS, Jaafar E, 2012. Flavonoid compounds and their antioxidant activity in extract of some tropical plants. *Journal of medicinal plants research*, 6(13), 2639-2643.
2. Chintong Sutasinee, Wipaporn Phatvej, Ubon Rerk-Am, Yaowapha Waiprib Wanwimol Klaypradit, 2019. In vitro antioxidant, antityrosinase, and cytotoxic activities of astaxanthin from shrimp waste. *Antioxidants*, 8 (5): 128.
3. Da Hae Gam, Jae Min Jo, Song Yi Kim., 2019. Tyrosinase inhibitors from natural source as skin-whitening agents and the application of edible insects. *International Journal of Clinical Nutrition Kim Dietetics*, (5), 2019, 141-144.
4. Hileman E. O, Liu J, Albitar M, Keating M. J Huang P, 2004. Intrinsic oxidative stress in cancer cells: a biochemical basis for therapeutic selectivity. *Cancer chemother pharmacol*, 53(3), 209-219.
5. Huỳnh Duy Phúc, 2020. Khảo sát khả năng kháng vi khuẩn (*Propionibacterium Acnes*), kháng oxy hóa và ức chế enzyme Tyrosinase từ cao chiết vi tảo (*Haematococcus Pluvialis*). *Luận văn tốt nghiệp cao học ngành Công nghệ sinh học*, Trường Đại học Cần Thơ.
6. Kong Kwang-Hoon, Min-Pyo Hong, Sang-Sook Choi, Yong-Tae Kim, Sung-Hye., 2000. Purification and characterization of a highly stable tyrosinase from thermomicrobium roseum. *Biotechnology applied biochemistry*, 31, 113-118.
7. MacLean Louise, Dariusz Karcz, Hollie Jenkins, Siobhán McClean, Michael Devereux, Orla Howe, Marcos D Pereira, Nóra V May., 2019. Copper (II) complexes of coumarin-derived schiff base ligands: pro-or antioxidant activity in MCF-7 cells. *Éva A Enyedy Bernadette S Journal of inorganic biochemistry Creaven*, 197, 110-122.
8. Nguyễn Văn Băn, Huỳnh Thanh Duy, Trần Hải Dương, Trần Thị Tuyết Nhung, Thạch Trọng Nghĩa, Nguyễn Đức Độ, Huỳnh Ngọc Thanh Tâm, 2018. Khảo sát hàm lượng Polyphenol, Saponin, hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn từ cao chiết bẹ và củ rễ cây môn ngựa (*Colocasia Esculenta*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp*, tập 2 (3).
9. Nguyễn Khoa Hạ Mai, Nguyễn Xuân Hải, Nguyễn Trung Nhân, Nguyễn Thị Thanh Mai, 2014. Tổng hàm lượng polyphenol của một số cây thuốc An Giang. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*, Tập, 17, Số 2 (2014), 5-9.
10. Phạm Hoàng Hộ, 1999. Cây cỏ Việt Nam. Nhà xuất bản Trẻ. Tập 1, trang 423.
11. Tăng Hoàng Tỷ, 2020. Khảo sát hàm lượng anthocyanin và khả năng kháng oxy hóa bằng các phương pháp khử NO^3 , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mo^{6+} của cao phân đoạn sắc ký cột silicagel từ lá bình bát nước (*Annona Glabra L.*). *Luận văn tốt nghiệp đại học ngành Công nghệ sinh học*, Trường Đại học Cần Thơ.
12. Trần Phạm Tuệ Hưng Nguyễn Thị Mỹ Hạnh, Quách Ngô Diễm Phương, 2014. Nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn, kháng oxy hóa, ức chế tyrosinase của cao ethanol chiết xuất từ cây huỳnh anh (*Allamanda Neriifolia*). *Science & Technology Development*, Số 17, Tập 3, 62-69.
13. Vrianty Dela, Rismawati Laila Qodariah, Wahyu Widowati., 2019. Comparison of antioxidant and anti-tyrosinase activities of pineapple (*Ananas comosus*) core extract and luteolin compound. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 30, 240-246.
14. Wang Zhihong, Ruiqing Long, Mijun Peng, Te Li Shuyun Shi, 2019. Molecularly Imprinted Polymers-Coated CdTe Quantum Dots for Highly Sensitive and Selective Fluorescent Determination of Ferulic Acid. *Journal of analytical methods in chemistry*, 2019,
15. Zolghadri Samaneh, Asieh Bahrami, Mahmud Tareq Hassan Khan, J Munoz-Munoz, Francisco Garcia-Molina, F Garcia-Canovas, 2019. A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. *ali akbar journal of enzyme inhibition saboury medicinal*

chemistry. Journal of Enzyme Inhibition and medicinal chemistry, 34, 279-309.

**ANTIOXIDANT AND INHIBITION OF TYROSINASE FROM METHANOL EXTRACTION OF
STEMS AND FRUITS PINEAPPLE (*Ananas comosus*) AT TAC CAU, KIEN GIANG PROVINCE**

Nguyen Thi Thu Hau, Tran Nhan Dung, Nguyen Minh Chon,

Nguyen Duc Do, Pham Thi Be Tu, Huynh Van Ba,

Tran Thi Ngoc Ly, Lam Huynh Duc, Pham Thi Ai Vi,

Ly Le Quyen, Le Thi Ngoc Nga

Summary

Pineapple has the scientific name of *Ananas comosus*, it is a fruit with very high nutritional value. Investigation of oxidation resistance and the tyrosinase inhibition of stems and fruits of Pineapple methanol extract collected from Tac Cau, Kien Giang province were performed to find new sources of materials used in pharmaceutical and cosmetic industry. Study of high extraction efficiency in 99% methanol solvent, mixing ratio between samples (stems and fruits) with the solvent is 1: 4, combined ultrasonic wave with a capacity of 120 W within 72 hours. The results showed that, methanol extract of stems and fruits of pineapple contained the total polyphenol content in stems (301.990 mg/g) was higher than in fruit (142.562 mg/g). In terms, DPPH oxidation resistance was (158.94 µg/mL) was higher than in FP (196.97 µg/mL). Deionized Cu²⁺, tin fruit (310.1 µg/mL) was higher than in stem (1819.6 µg/mL). Tyrosinase inhibition of fruit was higher with IC₅₀ = 395.51 µg/ml than in stems IC₅₀ = 825.82 µg/ml. The research suggested that the pineapple waste products from stems and fruits may be used as an antioxidant properties as a potential source of materials in the field of pharmaceutical production.

Keyword: *Antioxidant, extraction, pineapple, polyphenol, tyrosinase.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Khiêm

Ngày nhận bài: 8/10/2020

Ngày thông qua phản biện: 9/11/2020

Ngày duyệt đăng: 16/11/2020