

NGHIÊN CỨU ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI MỘT SỐ CAROTENOID TRONG NƯỚC CAM TỰ NHIÊN

Đến tòa soạn 19-05-2024

Nguyễn Đức Thanh^{1,4}, Dương Thị Dung², Nguyễn Thị Vân Anh², Vũ Thị Trang³,
Lê Thị Hồng Hảo³, Tạ Thị Thảo^{1*}

¹ Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà nội

² Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam

³ Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm Quốc Gia

⁴ Học viện Quân Y

*Email: tathithao@hus.edu.vn

SUMMARY

STUDY ON SIMULTANEOUS DETERMINATION OF SELECTED CAROTENOIDS IN ORANGE JUICE

*The reverse phase - high performance liquid chromatography (RP-HPLC) method was developed to simultaneously determine three carotenoids, including lutein, lycopene, and β -carotene, in orange juice. Orange juice was extracted with n-hexane for 10 minutes, centrifuged for 5 minutes at 6000 rpm, and then evaporated under vacuum. A volume of 5 mL of the mobile phase was added, filtered through filter paper, and injected into the HPLC-PDA system under the following conditions: XBridge® C18 column (250 mm x 4.6 mm, 5 μ m), mobile phase consisting of a mixture of acetonitrile: methanol: water: ethyl acetat = 70:9.6:0.4:20 (v/v/v/v) according to an isocratic program, detection wavelength 455 nm. The calibration curves for lutein, lycopene, and β -carotene determination had R^2 coefficients > 0.9997 , and the validation parameters met AOAC standards. The method detection limits for lutein, lycopene, and β -carotene were 0.002 mg/L, 0.003 mg/L, and 0.006 mg/L, respectively. The validated method was applied to simultaneously determine lutein, lycopene, and β -carotene in 45 Vietnamese orange juice samples. Lycopene was not detected in the Vietnamese orange samples. The content of lutein and β -carotene varied depending on the orange variety and region. The β -carotene content in Citrus nobilis was much higher than in the other orange varieties in this study. The minimum and maximum contents of lutein in the collected samples were 0.018 ± 0.008 mg/L and 0.221 ± 0.039 mg/L, respectively, whereas these values for β -carotene content were 0.020 ± 0.009 mg/L and 0.423 ± 0.099 mg/L, respectively. **Keywords:** RP- HPLC, lutein, lycopene and β -carotene, orange juice.*

1. MỞ ĐẦU

Cam là loại cây ăn quả có giá trị và phù hợp với điều kiện tự nhiên tại Việt Nam nên được trồng phổ biến khắp ba miền của nước ta với đa dạng các giống như: cam Xã Đoài, cam Vinh, cam Sành,....

đem lại hiệu quả kinh tế cao. Nước Cam cung cấp cho cơ thể nhiều hợp chất có lợi như vitamin C, carotenoid, một số acid hữu cơ... có tác dụng chống oxy hóa, chống ung thư, hạ lipid và chống viêm [1].

Carotenoid là một nhóm các hợp chất thực vật tạo nên màu vàng, cam cho trái cây và rau củ, hiện được sử dụng nhiều trong công nghiệp dược phẩm, mỹ phẩm và thực phẩm (thuốc bổ mắt, vi chất dinh dưỡng, kem chống nắng, son dưỡng môi, chất màu thực phẩm...). Lutein là một carotenoid rất quan trọng đối với cơ thể, có khả năng phản ứng với các gốc tự do, bảo vệ tế bào khỏi bị oxy hoá, chống ung thư da, lão hoá da, làm giảm hiện tượng xơ vữa động mạch và còn có tác dụng như một màng lọc ánh sáng bảo vệ mắt chống lại các tia cực tím làm tổn thương mắt [1,2]. Lycopene có đặc tính kháng oxy hóa rất cao trong gần 600 loại carotenoid được biết đến, có tác dụng chống lại các tác nhân gây đột biến cho các tế bào của sinh vật, có khả năng làm chậm quá trình phát triển ung thư (chủ yếu là ung thư tuyến tiền liệt) và làm giảm nguy cơ các bệnh tim mạch [1]. β -caroten là tiền chất vitamin A có tác dụng phòng tránh được tình trạng thiếu hụt vitamin A, khả năng phòng chống ung thư và ngăn ngừa các triệu chứng lão hóa ở con người, bởi khả năng loại bỏ các gốc tự do và tăng cường chức năng của hệ miễn dịch [1].

Hiện nay, chưa có công bố nào về nghiên cứu xác định carotenoid trong nước chiết từ quả Cam Việt nam. Trên thế giới, một số công trình đã được công bố về phương pháp xác định carotenoid (chủ yếu bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao pha đảo (RP-HPLC) trên một số nền mẫu là các nguồn nguyên liệu tự nhiên, các mẫu sinh học, thực phẩm, dược phẩm [3-8]. Các carotenoid trong một số loại trái cây *Malpighia glabra* L., *Myrciaria dubia*,

Caryocar brasiliense Camb. và *Eugenia uniflora* L. được định danh bằng phương pháp HPLC với detector mảng photodiode và MS với cột C18 ODS2, 3 μ m, 4,6 $\times$ 150 mm [5] hoặc hàm lượng các carotenoid trong nước cam Valencia ở Brazil được định lượng bằng phương pháp HPLC sử dụng cột C18 (4,6 $\times$ 250 mm, 5 μ m), pha động gồm acetonitrile: methanol: ethyl acetate với chế độ gradient, cho kết quả tổng hàm lượng carotenoid là 12 $\pm$ 6,7 mg/L, carotenoid chính là lutein (23%) [6].

Để phát triển phương pháp phân tích và đánh giá hàm lượng một số carotenoid trong nước cam của một số giống cam tại Việt Nam, nghiên cứu này tiến hành khảo sát lựa chọn các điều kiện phân tích phù hợp, xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp RP-HPLC và ứng dụng qui trình phân tích xây dựng được để định lượng 3 carotenoid gồm lutein, lycopene và β -carotene trong nước cam vắt của một số giống cam Việt Nam hiện đang trồng phổ biến ở các vùng khác nhau.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, dụng cụ, thiết bị

Các chất chuẩn lutein, lycopene và β -carotene, độ tinh khiết $\geq 95\%$ (Sigma Aldrich -Mỹ); Dung môi chiết mẫu và sử dụng làm pha động trong phương pháp HPLC gồm acetonitrile, n-hexan, ethyl acetate, dichloromethan, methanol có nguồn gốc từ Merck (Mỹ). Nước dùng trong nghiên cứu được làm sạch từ hệ thống MilliQSP (Merck, Đức).

Dung dịch chuẩn gốc từng chất nồng độ 100 mg/L được chuẩn bị bằng cách cân chính xác khoảng 1 mg chất chuẩn (có tính đến độ tinh khiết) trên cân phân tích

có độ chính xác 0,1 mg, hòa tan và định mức đến thể tích 10,00 mL bằng dung môi dichloromethan.

Các dung dịch hỗn hợp chuẩn làm việc được pha loãng từ dung dịch hỗn hợp chuẩn gốc bằng dung môi dichloromethan để thu được dãy các dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ từ 0,01 đến 50 mg/L.

Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC (Alliance - Waters e2695 kết nối với detector 2998 PDA - Water, Singapore. Cột và tiền cột tương ứng; thể tích tiêm mẫu 10 μ L.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát lựa chọn các thông số thiết bị HPLC-PDA

Để tối ưu quá trình tách các carotenoid ra khỏi nhau và ra khỏi nền mẫu phân tích (dựa trên độ phân giải các peak liên kề và hình dáng peak thu được, tiến hành nghiên cứu các điều kiện HPLC-PDA gồm:

Lựa chọn bước sóng phát hiện khi phân tích đồng thời lutein, lycopene và β -caroten với detector PDA trên cơ sở quét phổ UV-Vis trong khoảng 190 - 800 nm mỗi chất và chọn cực đại hấp thụ cho mỗi chất. Với pha tĩnh, có 4 loại cột tách pha đảo gồm: (a) Symmetry® C18 (3,0x150 mm, 3,6 μ m); (b) SunFire® C18 (4,6x250 mm, 5 μ m); (c) Symmetry® C18 (6x250 mm, 5 μ m); (d) XBridge® C18 (4,6x250 mm, 5 μ m) được khảo sát để đánh giá khả năng tách.

Lựa chọn thành phần pha động với chương trình đẳng dòng, các dung môi pha động gồm MeOH 100%; hệ dung môi 1 (ACN: MeOH:CH₂Cl₂ theo tỷ lệ 70:27:3 (v/v/v)); hệ dung môi 2 (ACN:MeOH:H₂O:CH₃COOC₂H₅ =

70:9,6:0,4:20 (v/v/v/v)). Tổng thời gian phân tích là 20 phút.

Khảo sát tốc độ dòng 0,8 mL/phút, 1,0 mL/phút và 1,2 mL/phút. Tốc độ dòng thích hợp được đánh giá qua tín hiệu nhiễu nền (S/N), hệ số đối xứng (Symmetry Factor) và độ rộng chân peak (Width 50%).

2.2.2. Phương pháp xử lý mẫu

Quy trình xử lý mẫu được ấn định ban đầu như sau: lấy 20,00 mL mẫu nước cam đã đồng nhất vào ống ly tâm 50 mL, thêm 15 mL dung môi chiết (lựa chọn 1 trong các dung môi dichloromethan, n-hexan, ethyl acetate), lắc ngang trong 10 phút. Ly tâm mẫu 5 phút ở tốc độ 6000 vòng/phút. Gạn dịch chiết, cô quay chân không sau đó định mức bằng 5 mL dung môi để hòa cần (lựa chọn trong số methanol, dung môi pha động (acetonitrile: methanol: nước: ethyl acetate = 70: 9,6: 0,4: 20 (v/v/v/v)); lọc qua màng lọc 0,22 μ m rồi bơm vào hệ thống sắc ký HPLC - PDA. Số lần chiết được khảo sát là 1,2,3 lần.

2.2.3. Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp phân tích

Phương pháp phân tích được xác nhận giá trị sử dụng thông qua việc đánh giá các thông số sau [9, 10]:

Độ ổn định của hệ thống sắc ký được đánh giá qua độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của thời gian lưu và diện tích peak với 6 lần tiêm lặp dung dịch mẫu chuẩn có nồng độ 20 mg/L vào hệ thống, yêu cầu RSD không quá 2%.

Độ đặc hiệu của phương pháp được đánh giá dựa trên thời gian lưu khi phân tích mẫu trắng (dung môi pha động; dung môi

chiết mẫu), mẫu chuẩn, mẫu thực và mẫu thực thêm chuẩn.

Giới hạn phát hiện (MDL) và giới hạn định lượng (MQL) của phương pháp được xác định qua phân tích lặp lại 10 lần mẫu thực có nồng độ thấp (trong khoảng 5-7 lần MDL ước lượng), tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (SD) của nồng độ xác định được. MDL và MQL tương ứng bằng 3SD và 10SD, hệ số $R = \bar{x}/MDL$ phải trong khoảng từ 4 - 10.

Độ chính xác của phương pháp được đánh giá qua độ lặp lại (phân tích lặp 6 lần mẫu nước cam) với yêu cầu RSD không vượt quá 11% và độ thu hồi được xác định bằng cách thêm 1 lượng chất chuẩn xác định ở 3 mức 50%, 100%, 200% so với hàm lượng chất có trong mẫu nước cam, thực hiện lặp lại 12 lần vào mẫu thực với với yêu cầu độ thu hồi tại mức hàm lượng 100 µg/L - 10 mg/L phải đạt từ 80 - 110 % [10].

Xử lý số liệu bằng phần mềm Empower 3 và Microsoft Excel 2020.

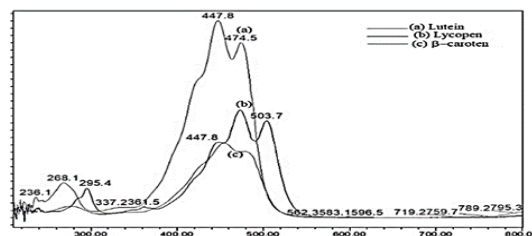
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tối ưu hóa điều kiện phân tích carotenoid trên hệ RP-HPLC

3.1.1. Lựa chọn bước sóng phát hiện

Phổ hấp thụ phân tử (UV-Vis) của 3 chất phân tích (Hình 1) cho thấy lutein, lycopene và β -caroten có cực đại hấp thụ chính ở các bước sóng tương ứng là 447,8; 473,4 và 453,9 nm. Nghiên cứu đã tiến hành khảo sát dải bước sóng từ 400-503 nm, kết quả cho thấy tại 455 nm tín hiệu thu được ổn định nhất với cả 3 chất. Do vậy, để đảm bảo độ ổn định khi đo nhưng vẫn đáp ứng được độ nhạy của

phương pháp khi phân tích đồng thời cả 3 carotenoid, trong nghiên cứu này bước sóng 455 nm được lựa chọn.



Hình 1. Phổ UV-Vis của (a) lutein, (b) lycopene, (c) β -caroten trong dung môi dichlorometan

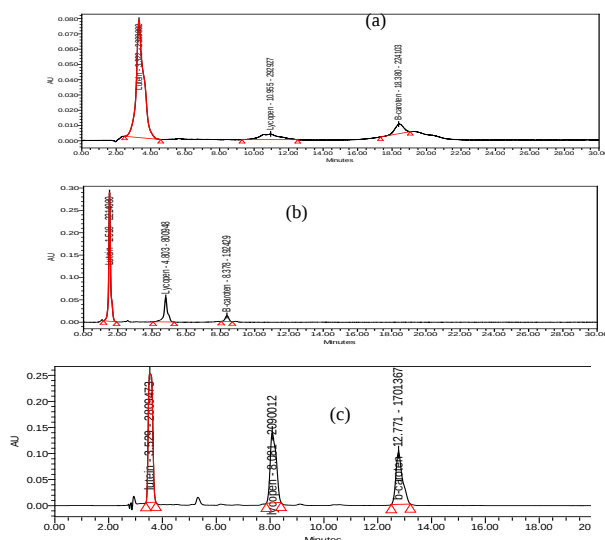
3.1.2. Ảnh hưởng của loại cột tách C18

Tiến hành thí nghiệm với 4 loại cột sắc ký C18: (a) Symmetry® C18 (3,0x150 mm, 3,6 µm); (b) SunFire® C18 (4,6x250 mm, 5 µm); (c) Symmetry® C18 (6,0x250 mm, 5 µm); (d) XBridge® C18 (4,6x250 mm, 5 µm). Cột (a) có đường kính nhỏ và ngắn nên các chất rửa giải ra sớm, dễ bị trùng tạp và ảnh hưởng bởi nền của dung môi pha động. Cột (b) thời gian lưu dài so với cột (c) và cột (d), do cột (b) là cột sunfire chỉ thuận lợi với các hệ pha động pH thấp nên các chất bị kéo dài thời gian lưu và khả năng tách kém. Trên cột (c) và cột (d) thời gian lưu tương đương nhau, tuy nhiên cột (c) cho kết quả peak lutein bị dính tạp, cột (d) các peak hoàn toàn tách ra khỏi nhau. Do đó, cột (d) XBridge® C18 (4,6x250 mm, 5 µm) được lựa chọn sử dụng trong nghiên cứu này.

3.1.3. Nghiên cứu lựa chọn pha động tách các carotenoid

Những kết quả nghiên cứu sơ bộ cho thấy với 3 hệ dung môi pha động nghiên cứu, khi sử dụng chế độ pha động đẳng dòng đã tách hoàn toàn được 3 chất phân tích ra khỏi nhau (Hình 2), đường nền ổn định và

thời gian lưu phù hợp. Do đó, chế độ gradient là không cần thiết.



Hình 2. Sắc ký đồ với pha động (a) Methanol, (b) hệ dung môi 1 (ACN: MeOH:CH₂Cl₂ = 70:27:3 (v/v/v)), (c) hệ dung môi 2 (ACN:MeOH:H₂O:CH₃COOC₂H₅ = 70:9,6:0,4:20 (v/v/v/v))

Khi sử dụng hệ dung môi pha động 2 gồm ACN: MeOH: H₂O: CH₃COOC₂H₅ theo tỷ lệ thể tích 70: 9,6: 0,4: 20 cho khả năng tách tốt, peak sắc ký gọn và cân xứng nhất.

3.1.4. Khảo sát lựa chọn tốc độ dòng pha động

Khi thay đổi tốc độ dòng pha động từ 0,8; 1,0 và 1,2 mL/phút, các sắc ký đồ thu được đều cho khả năng tách tốt. Các giá trị tỷ số tín hiệu/ nhiễu (S/N), hệ số đối xứng và độ rộng chân peak của lutein trong dung dịch có nồng độ 1 mg/L, ở tốc độ dòng 0,8 mL/phút lần lượt là 389; 1,336; 0,136, ở tốc độ dòng 1 mL/phút lần lượt là 4632; 1,275; 0,086 và ở tốc độ dòng 1,2 mL/phút lần lượt là 777; 1,280; 0,088. Các giá trị S/N, hệ số đối xứng và độ rộng chân peak của lycopene có nồng

độ 2 mg/L, ở tốc độ dòng 0,8 mL/phút lần lượt là 144; 1,497; 0,297, ở tốc độ dòng 1 mL/phút lần lượt là 1708; 1,289; 0,226 và ở tốc độ dòng 1,2 mL/phút lần lượt là 240; 1,337; 0,229. Các giá trị S/N, hệ số đối xứng và độ rộng chân peak của β -caroten có nồng độ 1 mg/L ở tốc độ dòng 0,8 mL/phút lần lượt là 177; 1,212; 0,261, ở tốc độ dòng 1 mL/phút lần lượt là 2058; 1,049; 0,183 và ở tốc độ dòng 1,2 mL/phút lần lượt là 332; 1,063; 0,185.

Như vậy, với tốc độ dòng 1 mL/phút, tỉ lệ S/N lớn nhất ở cả 3 chất, hệ số đối xứng gần 1 nhất và độ rộng chân peak nhỏ nhất. Do vậy, để thu được sắc ký đồ với các peak gọn, không dính tạp, thời gian phân tích vừa phải, tốc độ 1 mL/phút được lựa chọn.

3.1.5. Xây dựng đường chuẩn

Tiến hành đo dung dịch chuẩn có nồng độ thay đổi từ 0,01 mg/L đến 50 mg/L với cả 3 chất. Kết quả đường chuẩn của lutein: $y = 140541x - 2036,8$; $R^2 = 1,0000$, lycopene: $y = 104597x - 1205,9$; $R^2 = 1,0000$ và của β -caroten: $y = 85195x - 797,64$; $R^2 = 0,9999$.

Đường chuẩn của cả 3 chất đều có hệ số tương quan $R^2 > 0,9997$ đạt yêu cầu của AOAC [10].

3.2. Nghiên cứu lựa chọn phương pháp xử lý mẫu

3.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của dung môi chiết mẫu

Khảo sát chiết mẫu bằng 3 dung môi khác nhau: diclometan, n-hexan, ethyl acetat.

Kết quả cho thấy trong mẫu nước cam nghiên cứu chỉ phát hiện lutein và β -caroten. Khi đo trực tiếp không dùng dung môi chiết, hàm lượng lutein và β -

caroten thu được rất thấp so với khi chiết với dung môi (chỉ đạt khoảng 30-70% so với hàm lượng chiết bằng dung môi n-hexan). Khi sử dụng dung môi chiết, hàm lượng lutein và β -caroten khi chiết bằng n-hexan lớn nhất so với 2 dung môi còn lại. Do đó, dung môi n-hexan được lựa chọn cho nghiên cứu.

3.2.2. Khảo sát dung môi hòa tan cặn

Việc lựa chọn dung môi hòa tan rất quan trọng vì nó ảnh hưởng tới khả năng hòa tan của chất phân tích vào dung môi đó. Khảo sát với hai hệ dung môi là methanol và dung môi pha động. Kết quả cho thấy hàm lượng lutein và β -caroten thu được khi sử dụng dung môi pha động để hòa tan đều cao hơn khi sử dụng methanol, đồng thời tín hiệu thu được ổn định hơn. Vì vậy, hệ dung môi pha động được sử dụng làm dung môi hòa tan.

3.2.3. Khảo sát số lần chiết

Chiết lặp lại là một cách để đảm bảo chất phân tích được chiết tối đa ra khỏi nền mẫu. Khi số lần chiết tăng lên 2, 3 lần, hàm lượng cả 2 chất có mặt trong mẫu

nước cam tự nhiên là lutein và β -caroten đều cao hơn hơn chiết 1 lần. Hàm lượng chiết được sau khi chiết 3 lần so với 2 lần tăng gần như rất ít. Vì vậy, để kết quả chiết mẫu đảm bảo đồng thời tiết kiệm thời gian và dung môi, nghiên cứu lựa chọn chiết 2 lần.

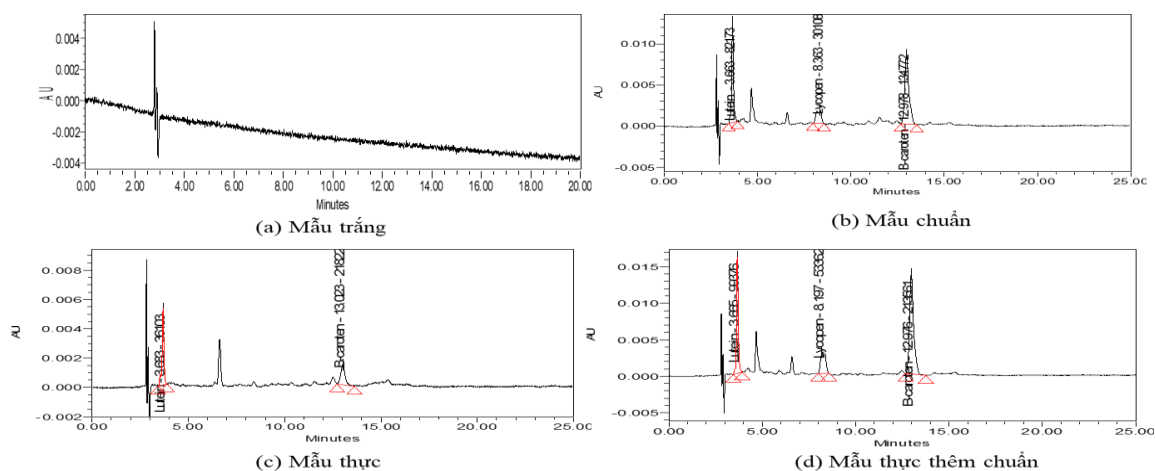
3.3. Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp

3.3.1. Độ ổn định hệ thống

Sau khi tiêm lặp lại 6 lần dung dịch mẫu chuẩn có nồng độ 20 mg/L vào hệ thống sắc ký, giá trị RSD theo diện tích peak của lutein, lycopene, β -caroten tương ứng là 0,76%; 1,53%, 0,58% và RSD theo thời gian lưu lần lượt là 0,06%; 0,05%; 0,55%. Số đo lý thuyết của lutein, lycopene, β -caroten lần lượt là 14213 ± 121 ; 8913 ± 87 ; 34250 ± 187 .

Độ lệch chuẩn tương đối của cả thời gian lưu và diện tích peak đối với 3 chất đều nhỏ hơn 2%, đáp ứng theo yêu cầu của AOAC [10].

3.3.2. Độ đặc hiệu



Hình 3. Độ đặc hiệu của phương pháp phân tích

Kết quả (Hình 3) cho thấy mẫu trắng không cho tín hiệu phân tích, mẫu chuẩn, mẫu thực và mẫu thực thêm chuẩn cho tín hiệu chất phân tích tại cùng thời gian lưu với sai lệch nhỏ hơn 3%. Như vậy, phương pháp có độ đặc hiệu tốt.

3.3.3. Giới hạn phát hiện (MDL) và giới hạn định lượng (MQL)

Tiến hành phân tích lặp lại 10 lần mẫu thực có nồng độ thấp. Kết quả MDL và MQL của lutein, lycopene, β -caroten lần lượt là 0,002 và 0,006 mg/L; 0,003 và 0,010 mg/L; 0,006 và 0,019 mg/L. Giá trị R tương ứng với 3 chất lần lượt là 8,59; 4,11; 4,17, các giá trị R này đều nằm trong khoảng 4 - 10 đáp ứng yêu cầu của AOAC [10].

3.3.4. Độ chính xác

Khi phân tích lặp lại 6 lần mẫu nước cam Vinh có phát hiện được lutein và β -caroten ở mức nồng độ 0,1 mg/L và 0,04 mg/L với độ lệch chuẩn tương đối lần lượt là 2,4% và 0,3% và không phát hiện được lycopene. Khi thêm 0,5 mg/L lycopene vào mẫu nước cam này thì độ lệch chuẩn khi phân tích mẫu thêm chuẩn này với lycopene là 1,3%. Như vậy RSD đều đạt yêu cầu dưới 11% theo AOAC [10].

Độ thu hồi của phép phân tích 3 chất khi thêm các mức nồng độ khoảng 50%, 100% và 200% so với nồng độ có trong mẫu đều trong khoảng 80 - 110% và độ lệch chuẩn tương đối không vượt quá 2% (Bảng 1). Điều này chứng minh phương pháp đáp ứng được yêu cầu theo tiêu chuẩn của AOAC về độ thu hồi [10].

Bảng 1. Độ thu hồi của lutein, lycopene, β -caroten trên nền mẫu nước cam Vinh.

Chất phân tích	Lượng thêm chuẩn (% so với hàm lượng mẫu thực)	Độ thu hồi (R%)	RSD (%)
Lutein	50	90,8 $\div$ 93,6	0,35
	100	80,4 $\div$ 81,6	0,33
	200	103 $\div$ 106	1,12
Lycopene	50	81,0 $\div$ 87,1	0,73
	100	87,9 $\div$ 90,5	0,78
	200	99,9 $\div$ 105	1,62
β -caroten	50	95,4 $\div$ 96,8	0,18
	100	95,7 $\div$ 97,1	0,36
	200	83,7 $\div$ 86,9	1,20

3.4. Xác định hàm lượng carotenoid trong một số giống cam trồng tại Việt Nam

Áp dụng quy trình đã xây dựng và thẩm định, tiến hành phân tích hàm lượng carotenoid có trong nước cam được lấy theo giống và địa phương khác nhau tại Việt Nam gồm 9 nhóm mẫu. Các mẫu đều được lấy mẫu, mã hóa và lưu theo đúng quy trình của Viện kiểm nghiệm an toàn về sinh thực phẩm quốc gia [11]. Kết quả phân tích carotenoid trong 45 mẫu cam của các giống cam khác nhau gồm cam Vinh (V), cam Sành (S), cam Xã Đoài (XD), cam Cao Phong (CP) trồng tại các vùng địa lý khác nhau thuộc Bắc Giang (BG), Hưng Yên (HY), Tuyên Quang (TQ), Quảng Ninh (QN), Vĩnh Long (VL), Nghệ An (NA), Hà Giang (HG), Hòa Bình (HB) gồm 9 nhóm mẫu, mỗi nhóm lấy 5 mẫu.

Bảng 2. Hàm lượng lutein, lycopene và β -caroten (trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (n=5)) trong nước cam Việt Nam

Nhóm mẫu (Tỉnh.giống g cam)	Lutein (mg/L)	Lycopene (mg/L)	β -caroten (mg/L)
BG.V	0,092 $\pm$ 0,003	KPH*	0,041 $\pm$ 0,002
HY.V	0,032 $\pm$ 0,008	KPH	0,029 $\pm$ 0,008
TQ.V	0,116 $\pm$ 0,020	KPH	0,042 $\pm$ 0,001
QN.V	0,058 $\pm$ 0,007	KPH	0,031 $\pm$ 0,005
TQ.S	0,221 $\pm$ 0,039	KPH	0,423 $\pm$ 0,099
VL.S	0,051 $\pm$ 0,003	KPH	0,345 $\pm$ 0,011
NA.XD	0,062 $\pm$ 0,001	KPH	0,031 $\pm$ 0,008
HG.XD	0,018 $\pm$ 0,008	KPH	0,020 $\pm$ 0,009
HB.CP	0,116 $\pm$ 0,014	KPH	0,045 $\pm$ 0,003

(*nồng độ dưới MDL=0,003 mg/L)

Kết quả phân tích cho thấy, không phát hiện thấy lycopene trong các mẫu cam Việt nam đem phân tích. Hàm lượng lutein và β -caroten nói chung thay đổi tùy thuộc giống cam và vùng địa lý. Trong giống cam sành hàm lượng β -caroten và lutein cao hơn rất nhiều so với các giống cam còn lại trong nghiên cứu này. Hàm lượng lutein nằm trong khoảng từ 0,010- 0,260

mg/L và có hàm lượng cao nhất trong cam được trồng tại Tuyên Quang. Hàm lượng β -caroten nằm trong khoảng hàm lượng từ 0,011 - 0,522 mg/L, hàm lượng cao nhất được tìm thấy trong giống cam Sành trồng ở Tuyên Quang. Trong thời gian tới, tiếp tục phân tích hàm lượng các carotenoid trong nước cam với các giống cam, các vùng trồng cam ở Việt Nam nhằm tìm ra những tín hiệu đặc trưng về thành phần hóa học để có thể phân biệt được các giống cam hoặc vùng địa lý trồng cam.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng thành công quy trình xác định đồng thời lutein, lycopene và β -caroten trong nước cam bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) detector PDA với khoảng tuyến tính rộng từ 0,01 mg/L đến 50 mg/L. Quy trình xử lý mẫu tương đối đơn giản, có thể dễ dàng triển khai ở các cơ sở kiểm nghiệm địa phương. Phương pháp đã được xác nhận giá trị sử dụng và áp dụng để phân tích mẫu nước cam Việt Nam đều không phát hiện lycopene, hàm lượng lutein và β -caroten thay đổi theo giống cam và vùng địa lý.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ từ nguồn kinh phí của nhiệm vụ Khoa học và Công nghệ cấp Đại học Quốc Gia Hà Nội mã số QG.23.68.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2007), Dược lý học, NXB Y học, Hà Nội.
2. FAO (2004), Lutein from Tagetes erecta, *Chemical and Technical Assessment*, 63rd JECFA, 1-5.

3. Antonio J Meléndez-Martínez 1, Isabel M Vicario, Francisco J Heredia (2003), A routine high-performance liquid chromatography method for carotenoid determination in ultrafrozen orange juices, *J. Agric. Food Chemistry*, 51(15), 4219-24.
4. Catherine N, Gérard S, Edmond R, Pierre A, and Christian R (2004), Genetic Variability Influences Carotenoid, Vitamin, Phenolic, and Mineral Content in White, Yellow, Purple, Orange, and Dark-orange Carrot Cultivars, *Research*, 129(4), 523–529.
5. Cristiane HAM, Delia BRA (2004), Confirmation of the identity of the carotenoids of tropeakal fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS, *Journal of Food Composition and Analysis*, 17(3-4), 385-396.
6. Gama JJT, Sylos CM (2005), Major carotenoid composition of Brazilian Valencia orange juice: Identification and quantification by HPLC, *Food Research International*, 38(8-9), 899-903.
7. Habib UB, Ariful I, Isha T(2015), Development and validation of method for determination of lutein by HPLC, *World J. Pharm. Res.*, 4(04), 145-156.
8. Purpin AM, Dennis MJ, Toledo MCF (1999), HPLC analysis of carotenoids in orange juice, *Food Chemistry*, 64(2), 269–275.
9. Nguyễn Đức Thanh, Nguyễn Thị Thanh Hương (2020), Phân tích công cụ, NXB Quân đội nhân dân.
10. AOAC Research Institute (2016), "Guidelines for Standard Method Performance Requirements", AOAC Official Methods of Analysis, AOAC international, United States of America, pp. Appendix F: 1-18.
11. Viện kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia, SOP “*Hướng dẫn quản lý mẫu thử phòng thí nghiệm hóa*”, Mã số NIFC.L.G.12, lần ban hành (4), ngày ban hành (12/07/2023).