

Antioxidant activity of extract from some squid species in Khanh Hoa

Nguyen Phuong Anh*, Pham Xuan Ky, Dao Viet Ha, Le Ho Khanh Hy,
Doan Thi Thiet, Phan Bao Vy

Institute of Oceanography, VAST, Vietnam

*E-mail: phuonganh.46cntp@gmail.com

Received: 28 August 2020; Accepted: 26 October 2020

©2020 Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

Abstract

The antioxidant activities against DPPH free radical of crude extracts using ethyl acetate and methanol from ink sac, muscles, and bones of 5 squid species (*Uroteuthis chinensis*, *Uroteuthis sibogae*, *Uroteuthis duvaucelii*, *Sepia esculenta*, *Sepioteuthis lessoniana*) collected in Khanh Hoa waters were investigated. These activities ranged from 4.21% (ethyl acetate extract from ink of *U. chinensis*) to 54.51% (methanol extract from muscle of *S. esculenta*). The functional group analysis by infrared adsorption spectrum (FTIR) in these crude extracts revealed the absorption peaks of melanin in ink, polysaccharide in bone and protein in muscle extracts. In addition, the SDS-PAGE result of some methanol extracts showed the presence of proteins with a molecular weight of 30-150 kDa.

Keywords: Extract, squid, antioxidant, FTIR, SDS-PAGE.

Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết từ một số loài mực ở Khánh Hòa

Nguyễn Phương Anh*, Phạm Xuân Kỳ, Đào Việt Hà, Lê Hồ Khánh Hy,
Đoàn Thị Thiết, Phan Bảo Vy

Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Việt Nam
*E-mail: phuonganh.46cntp@gmail.com

Nhận bài: 28-8-2020; Chấp nhận đăng: 26-10-2020

Tóm tắt

Hoạt tính chống oxy dựa vào khả năng khử gốc tự do DPPH của cao chiết thô bằng ethyl acetat và methanol từ túi, cơ, nang của 5 loài mực (*Uroteuthis chinensis*, *Uroteuthis sibogae*, *Uroteuthis duvaucelii*, *Sepia esculenta*, *Sepioteuthis lessoniana*) thu ở Khánh Hòa đã được khảo sát. Hoạt tính này dao động từ 4,21% (cao chiết ethyl acetat từ túi mực *U. chinensis*) đến 54,51% (cao chiết methanol từ cơ *S. esculenta*). Kết quả phân tích các nhóm chức bằng phổ hấp phụ hồng ngoại (FR-IR) từ một số mẫu chiết cho thấy cao chiết từ túi mực thể hiện các đỉnh hấp thụ của melanine, nang mực xuất hiện của đỉnh polysaccharide và các mẫu cơ có các đỉnh đặc trưng của protein. Phân tích điện di SDS-PAGE cao chiết methanol cho thấy sự hiện diện của các protein với trọng lượng phân tử từ 30-150kDa.

Từ khóa: Cao chiết, mực, kháng oxy hóa, phổ hồng ngoại, SDS-PAGE.

GIỚI THIỆU

Hiện nay chất chống oxy hóa có 2 dạng cơ bản là tổng hợp và tự nhiên. Chất chống oxy hóa tổng hợp được sử dụng trong công nghiệp chế biến, kéo dài sự ổn định lưu trữ thực phẩm và dùng để giảm thiệt hại cho cơ thể con người. Tuy nhiên các nhà khoa học khuyến cáo hạn chế sử dụng chất chống oxy hóa tổng hợp vì khả năng gây ung thư của một số chất [1, 2].

Do đó, các chất chống oxy hóa hiệu quả có nguồn gốc từ tự nhiên đã và đang được các nhà nghiên cứu phát triển và đưa vào sử dụng. Trong quá trình tìm kiếm các chất chống oxy hóa mới, việc thăm dò môi trường sống dưới nước đã phát hiện ra thực vật biển và động vật không xương sống chứa chất chống oxy hóa cao.

Cho đến nay một số lượng đáng kể các nghiên cứu về các chất có hoạt tính kháng oxy hóa chiết tách từ động vật thân mềm đã được công bố. Một số nghiên cứu gần đây đã gợi ý rằng động vật nhuyễn thể có tiềm năng khai

thác các hợp chất có khả năng kháng oxy hóa mạnh. Vào năm 1989, Roesijadi et al., [3] đã tách chiết chất kháng oxy hóa metallothionein I từ hào *Crassostrea virginica*. Năm 2014, Madhu et al., [4] đã khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa của chất chiết thô từ vẹm *Perna viridis* và kết luận rằng *P. viridis* là một nguồn kháng khuẩn và oxy hóa hiệu quả. Ngoài ra, protein tách chiết từ loài nghêu *Atactodea striata* cho thấy có hoạt tính kháng oxy hóa mặc dù thấp hơn ascorbic acid [5]. Gần đây nhất, Arumugasamy và Cyril [6] đã chỉ ra rằng các chất chiết từ mô loài ốc *Hemifusus pugilinus* thể hiện các hoạt tính như kháng độc nội bào, kháng khuẩn và kháng oxy hóa.

Ở mực, kết quả nghiên cứu đã chỉ ra các polysaccharides thu từ loài mực không những có hoạt động bắt các gốc DPPH và hydroxyl mà còn bảo vệ DNA khỏi tác hại oxy hóa gây ra bởi các gốc tự do có nguồn gốc từ UV và H₂O₂ [7]. Các polysaccharides tách chiết từ

động vật chân đầu như mực nang *Sepia aculeate* có khả năng kháng oxy hóa mạnh [8]. Ở động vật chân đầu khác, chất chiết methanol từ mô của 3 loài *Sepia pharaonis*, *Sepia intermis* và *Octopus Vulgaris* biểu hiện hoạt tính kháng oxy hóa khá mạnh [9]. Liu et al., [10] đã nghiên cứu ảnh hưởng của túi mực của loài mực nang đến hiệu suất tăng trưởng, chức năng kháng oxy hóa và khả năng miễn dịch trong nuôi gà thu được kết quả khả quan. Fahmy và Soliman [11] đã thử nghiệm đánh giá tác dụng kháng oxy hóa và kháng ung thư của chất chiết từ mực nang và kết quả cho thấy chất chiết từ mực nang có đặc tính kháng oxy hóa, chống viêm và gây độc tế bào, có thể xem là thuốc chống ung thư đầy hứa hẹn. Melanin trong mực ống *Loligo formosana* cho thấy các hoạt động kháng oxy hóa qua khả năng bắt gốc tự do DPPH ở nồng độ protein $179,6 \pm 2,1$ $\mu\text{mol TE}$ (tương đương với hợp chất Trolox)/g protein [12]. Ngoài ra nó cũng có thể ngăn chặn quá trình oxy hóa lipid ở gel surimi trong quá trình bảo quản lạnh [13]. Sudhakar và Nazeer [14] cho rằng peptide mực có thể được sử dụng làm chất chống oxy hóa tự nhiên trong việc tăng cường các đặc tính chống oxy hóa của thực phẩm chức năng và ngăn chặn các phản ứng oxy hóa trong chế biến thực phẩm. Aubourg et al., [15] đã xác định các chất chiết xuất từ da mực *Dosidicus gigas* với dung môi ethanol là nguồn chất chống oxy hóa hứa hẹn để làm chậm quá trình oxy hóa lipid của cá. Nghiên cứu của Li et al., [16] cho thấy chất chiết từ mô của mực ống cải thiện khả năng chống oxy hóa của lá lách ở động vật. Tuy nhiên, các nghiên cứu khảo sát về các chất hoạt sinh học của động vật thân mềm và vai trò của chúng như chất kháng oxy hóa ở các loài mực ở nước ta còn khá hạn chế. Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa ở một số loài mực ở Khánh Hòa để xác định các hợp chất có tầm quan trọng trong y sinh.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu mực

5 loài mực được mua tại chợ Khánh Hòa, bao gồm: *Uroteuthis chinensis*, *Uroteuthis sibogae*, *Uroteuthis duvaucelii*, *Sepia*

esculenta, *Sepioteuthis lessoniana* từ tháng 4 đến tháng 5.

Xử lý mẫu

Mẫu mực tươi sau khi thu được rửa sạch bên ngoài, lưu trữ trong đá lạnh và vận chuyển ngay về phòng thí nghiệm trong vòng 1 giờ. Việc định danh các loài mực được tiến hành bởi chuyên gia phân loại động vật thân mềm của Viện Hải dương học. Mẫu sau đó được thấm khô, tách làm 3 phần: Túi mực, cơ mực, nang mực.

Chiết tách hợp chất thô

Dung môi chiết được sử dụng là methanol và ethyl acetate. 10–20 g mẫu được xay nhuyễn, ngâm với dung môi chiết trong 24 giờ (tỉ lệ 1 g : 5 ml), hỗn hợp được lọc bỏ cặn bằng giấy lọc Whatman No1. Sau đó dịch chiết được cô quay ở nhiệt độ 40–50°C để loại bỏ dung môi và thu cao chiết thô. Cao chiết thô được sử dụng cho thí nghiệm kháng oxy hóa và xác định một số tính chất.

Thí nghiệm kháng oxy hóa

Khả năng kháng oxy hóa của các chất chiết thô qua hoạt tính bắt gốc tự do diphenyl-picrylhydrazine (DPPH) được thực hiện theo Nazeer et al., [17]. Chất kháng oxy hóa có khả năng cho một nguyên tử hydrogen để khử gốc tự do DPPH màu tím thành dạng ổn định DPPH-H có màu vàng.

Quá trình thực hiện: Các cao chiết được pha trong methanol/ethyl acetate ở nồng độ 25 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$. Sau đó lấy 4 ml DPPH 0,004% pha trong dung môi methanol/ethyl acetate bổ sung vào 1 ml dung dịch chiết ở nồng độ này. Mẫu trắng là methanol/ethyl acetate không có chất chiết. Hỗn hợp được lắc đều bằng tay trong 10 giây và ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong thời gian 30 phút, sau đó độ hấp thụ của DPPH được đo bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 517 nm. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần ($n = 3$).

Khả năng kháng oxy hóa được tính theo công thức sau:

$$I\% = \frac{OD_c - OD_m}{OD_c} \times 100$$

Trong đó: I%: Tỷ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH; OD_m : Giá trị mật độ quang OD của

mẫu đo; OD_c : Giá trị mật độ quang OD của mẫu trắng.

Xác định các nhóm chức: bằng phổ hấp thụ hồng ngoại (FTIR)

Một số mẫu có hoạt tính kháng oxy hóa cao được sử dụng để xác định các nhóm chức có trong hợp chất qua phổ hấp thụ hồng ngoại (FTIR) bằng máy Bruker Equinox 55 với độ phân giải 16 cm^{-1} trong 32 lần quét sử dụng chất nền KBr. 10 μg mẫu được trộn với 100 μg kali bromua khô (KBr) và được nén trong đĩa muối (đường kính 10 mm) để đo phổ.

Xác định thành phần và trọng lượng phân tử của các protein trong chất chiết thô: bằng phương pháp điện di SDS-PAGE, theo Laemmli [18]

Một số mẫu chiết methanol có hoạt tính kháng oxy hóa được sử dụng để thực hiện SDS-PAGE. Mẫu được hòa tan trong dung dịch đệm 20 mM Tris-HCl pH 8,0 chứa 8 M urea, 2% sodium dodecyl sulfate (SDS) và 2% 2-mercaptoethanol. Các hỗn hợp được ly tâm ở 5.000 vòng/phút trong 5 phút. Các mẫu hòa tan được trộn theo tỷ lệ 1:1 (v/v) với dung dịch đệm mẫu (0,5 M Tris HCl, pH 6,8, SDS 10% glycerol 100% và bromophenol blue) và 2% 2-mercaptoethanol. Sau đó đun sôi trong 5 phút. Sử dụng 7,5% gel polyacrylamide. Sau khi gel được tạo bản xong, 20 μl mẫu thí nghiệm được

cho vào các giếng trên bản gel để tiến hành điện di. Gel được nhuộm màu với Commasive Brilliant Blue R - 250 và rửa giải với 7% acid acetic chứa 25% methanol sau khi kết thúc quá trình điện di. Dựa vào thang trọng lượng phân tử protein chuẩn để xác định thành phần, trọng lượng phân tử protein của chất chiết.

Xử lý số liệu

Hàm lượng cao chiết thô, hoạt tính kháng oxy hóa được xử lý bằng phần mềm Excel, thể hiện bằng giá trị trung bình \pm SE.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hàm lượng cao chiết thô

Hàm lượng cao chiết methanol và ethyl acetate từ các bộ phận của 5 loài mực được trình bày trong bảng 1.

Hàm lượng cao chiết methanol của túi mực dao động từ 1,46% (*U. sibogae*) đến 4,06% (*S. lessoniana*), của nang mực dao động từ 0,89% (*S. esculenta*) đến 4,26% (*S. lessoniana*), của cơ mực dao động từ 2,36% (*U. chinensis*) đến 5,63% (*U. sibogae*).

Hàm lượng cao chiết ethyl acetate của túi mực dao động từ 0,17% (*U. chinensis*) đến 0,63% (*S. esculenta*), của nang mực dao động từ 0,04% (*S. esculenta*) đến 0,88% (*S. lessoniana*), của cơ mực dao động từ 0,30% (*U. chinensis*) đến 0,94% (*U. sibogae*) (bảng 1).

Bảng 1. Hàm lượng cao chiết thô (%) của 5 loài mực chiết bằng ethyl acetate và methanol

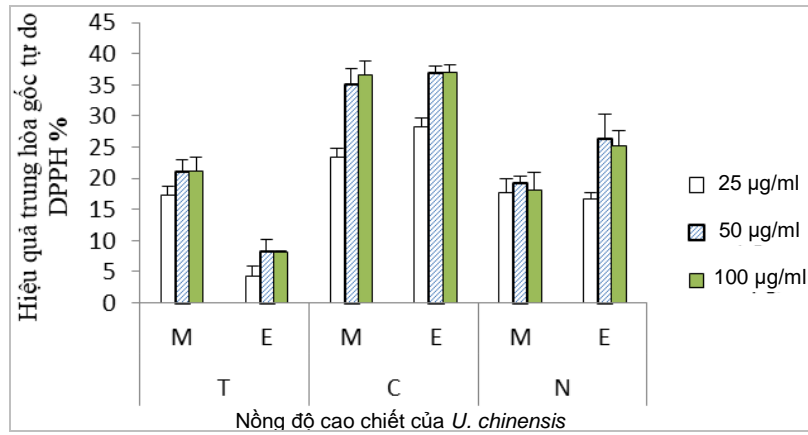
Loài	Túi mực (%)		Nang mực (%)		Cơ mực (%)	
	Ethyl acetate	Methanol	Ethyl acetate	Methanol	Ethyl acetate	Methanol
<i>U. chinensis</i>	0,17	3,31	0,69	2,17	0,30	2,36
<i>U. sibogae</i>	0,21	1,46	0,69	1,72	0,94	5,63
<i>U. duvaucelii</i>	0,27	2,48	0,77	2,07	0,89	4,40
<i>S. esculenta</i>	0,63	3,63	0,04	0,89	0,63	4,00
<i>S. lessoniana</i>	0,36	4,06	0,88	4,26	0,40	4,39

Khả năng kháng oxy hóa của các chất chiết thô qua hoạt tính bắt gốc tự do diphenylpicrylhydrazine

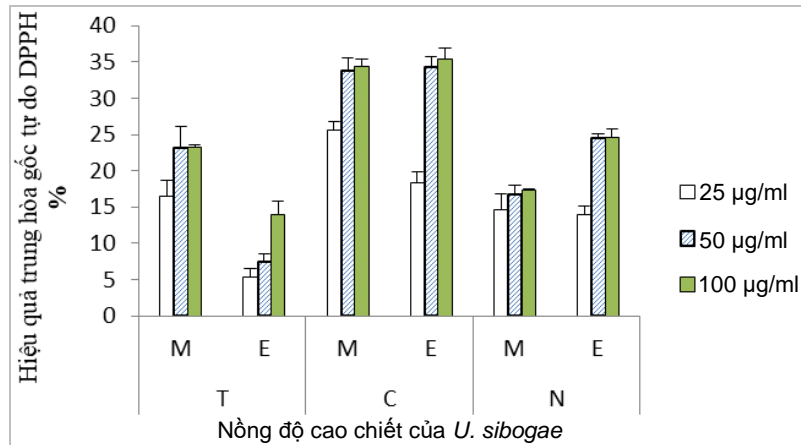
Kết quả hoạt tính kháng oxy hóa của các chất chiết từ các bộ phận của 5 loài mực được thể hiện qua 5 Hình từ 1 đến 5. Các mẫu đều có hoạt tính kháng oxy hóa ở mức độ khác nhau. Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết thô ethyl acetate dao động từ 4,21% (*U. chinensis*) đến 39,84% (*S. lessoniana*).

Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết thô methanol dao động từ 13,32% (*U. duvaucelii*) đến 54,51% (*S. esculenta*).

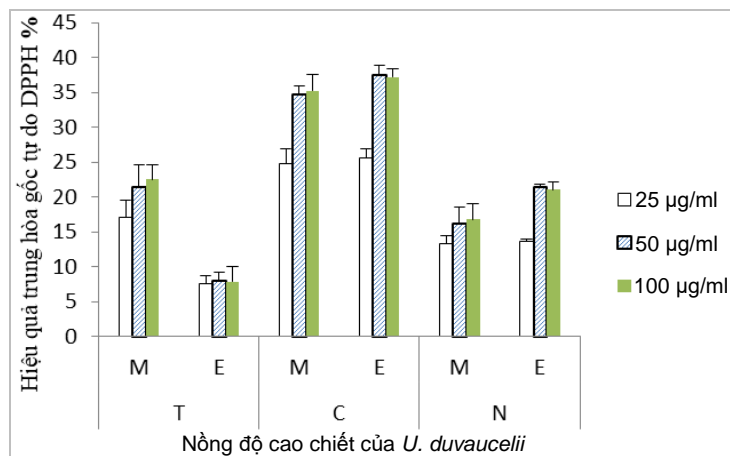
Đối với các dung môi chiết khác nhau thì hoạt tính kháng oxy hóa của chất chiết thô khác nhau. Hoạt tính kháng oxy hóa đạt giá trị cao nhất ở mẫu cơ của *S. esculenta* chiết bằng methanol ở nồng độ 50 $\mu\text{g/ml}$ và thấp nhất ở mẫu túi mực của *U. chinensis* nồng độ 25 $\mu\text{g/ml}$.



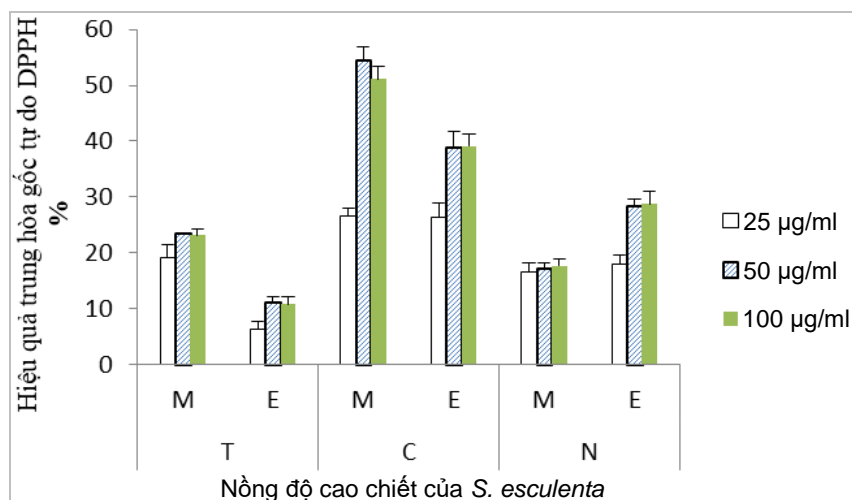
Hình 1. Hoạt tính kháng oxy hóa của *U. chinensis*: M: Methanol, E: Ethyl acetate, T: Túi mực, C: Cơ mực, N: Nang mực



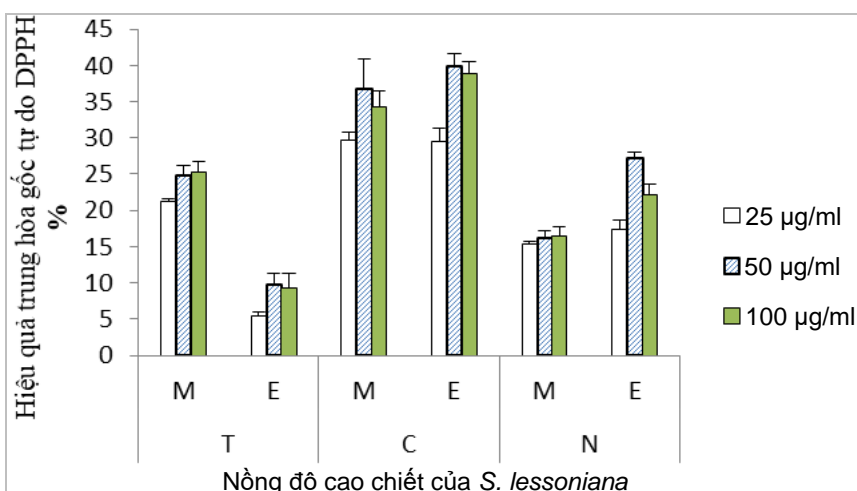
Hình 2. Hoạt tính kháng oxy hóa của *U. Sibogae*: M: Methanol, E: Ethyl acetate, T: Túi mực, C: Cơ mực, N: Nang mực



Hình 3. Hoạt tính kháng oxy hóa của *U. duvaucelii*: M: Methanol, E: Ethyl acetate, T: Túi mực, C: Cơ mực, N: Nang mực



Hình 4. Hoạt tính kháng oxy hóa của *S. Esculenta*: M: Methanol, E: Ethyl acetate, T: Túi mực, C: Cơ mực, N: Nang mực



Hình 5. Hoạt tính kháng oxy hóa của *S. Lessoniana*: M: Methanol, E: Ethyl acetate, T: Túi mực, C: Cơ mực, N: Nang mực

Thành phần các nhóm chất được phân tích bằng phổ hồng ngoại

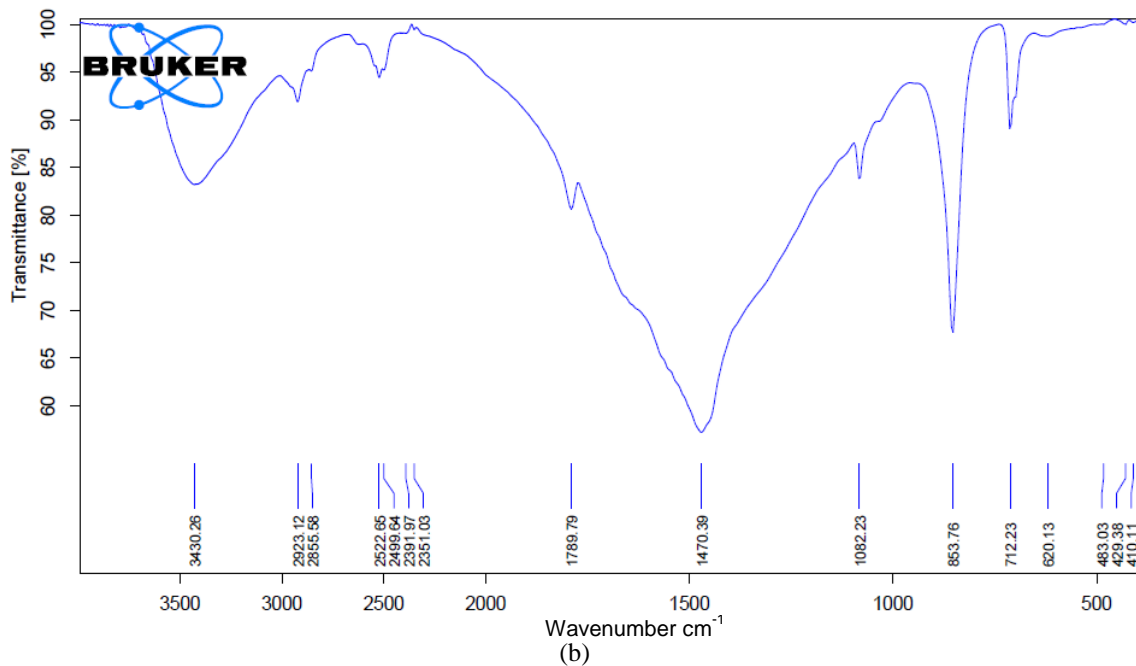
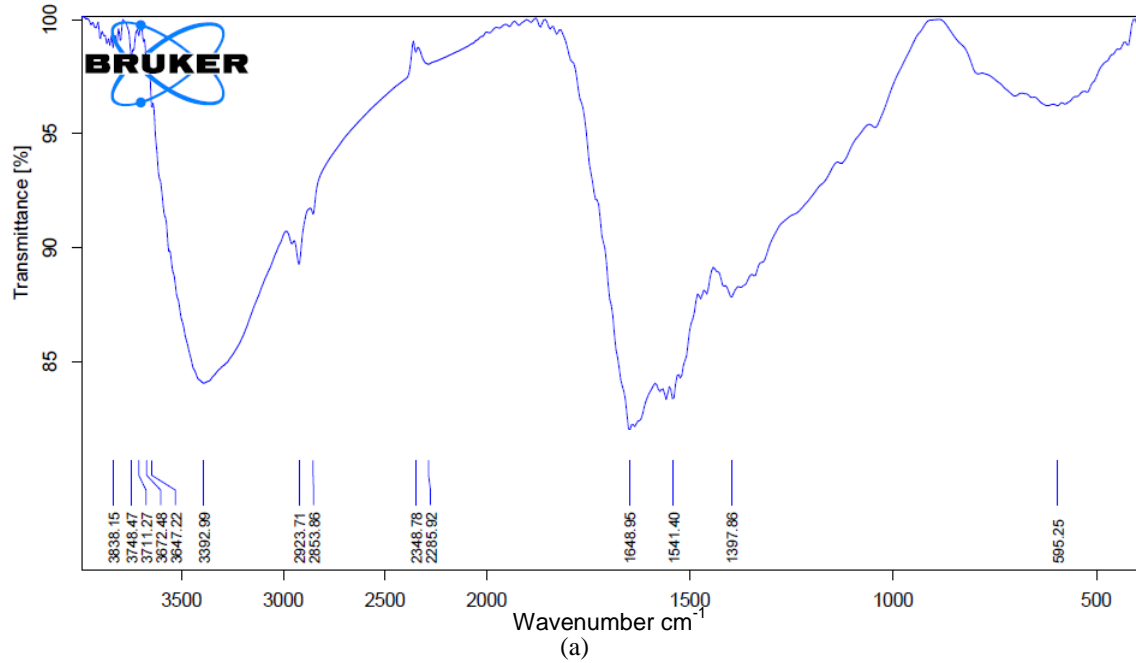
Kết quả đo FT-IR một số bộ phận của các loài mực được thể hiện qua hình 6.

Phổ IR của túi mực thể hiện các đỉnh hấp thụ của melanine (hình 6a). Đỉnh hấp thụ ở $1.648,95\text{ cm}^{-1}$ là do dao động hóa trị và dao động uốn của nhóm amin bậc 1 H-N-H. Các dải ở $1.397,86\text{--}1.541,40\text{ cm}^{-1}$ xuất hiện là do dao động của vòng triazine trong phân tử melanine. Một đỉnh rộng ở $3.392,99\text{ cm}^{-1}$ là do dao động của nhóm amin bậc 2 N-H. Các đỉnh xuất hiện ở $2.923,71\text{ cm}^{-1}$ và $2.853,66\text{ cm}^{-1}$ có thể được

gán cho dao động hóa trị C-H của nhóm methylene và dao động C-N của các amin bậc hai và bậc ba. Dải ở $595,25\text{ cm}^{-1}$ thể hiện chế độ rung của khung xương triazine và được gán cho dao động β C-N [19].

Phổ FT-IR của nang mực cho thấy các đỉnh đặc trưng trong phạm vi từ $3.430,26\text{ cm}^{-1}$ đến $410,11\text{ cm}^{-1}$ (hình 6b). Đỉnh rộng tại $3.430,26\text{ cm}^{-1}$ biểu thị dao động hóa trị của nhóm OH và đỉnh ở $2.923,87\text{ cm}^{-1}$ đại diện cho các dao động hóa trị đặc trưng của nhóm C-H [12]. Tương tự, Jin [20] đã tìm thấy đỉnh polysaccharide đặc trưng trong vỏ quả của *Camellia oleifera* ở

3.463 cm^{-1} và 2.933 cm^{-1} tương ứng với rung động OH và CH. Trong phổ FT-IR này, dải hấp thụ ở 853,76 cm^{-1} đại diện cho các liên kết glycoside.

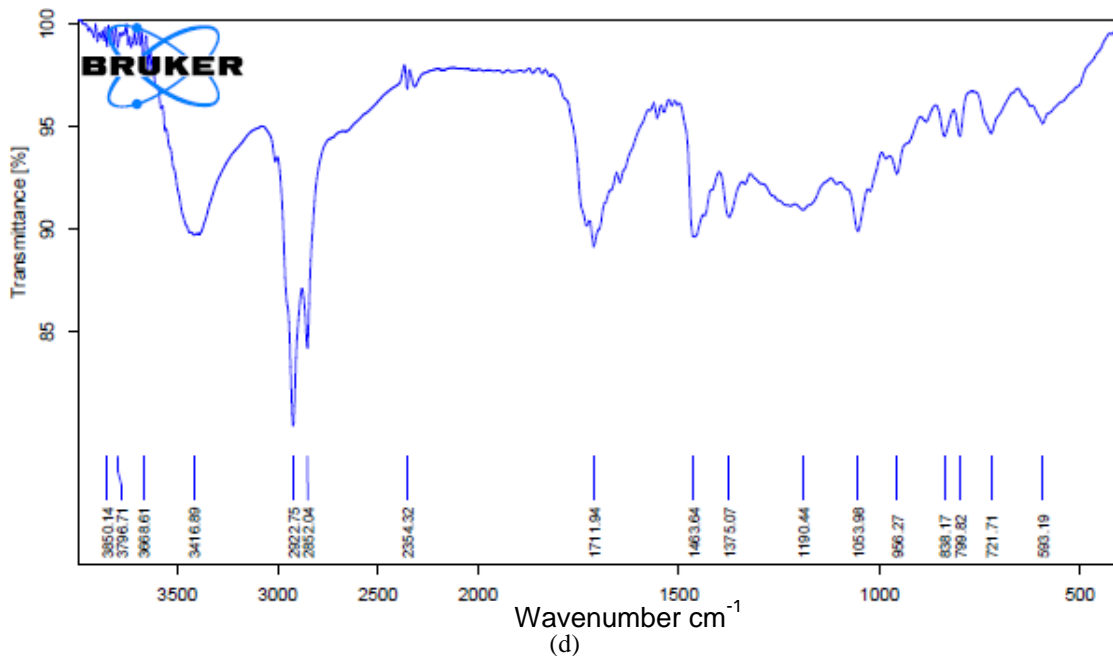
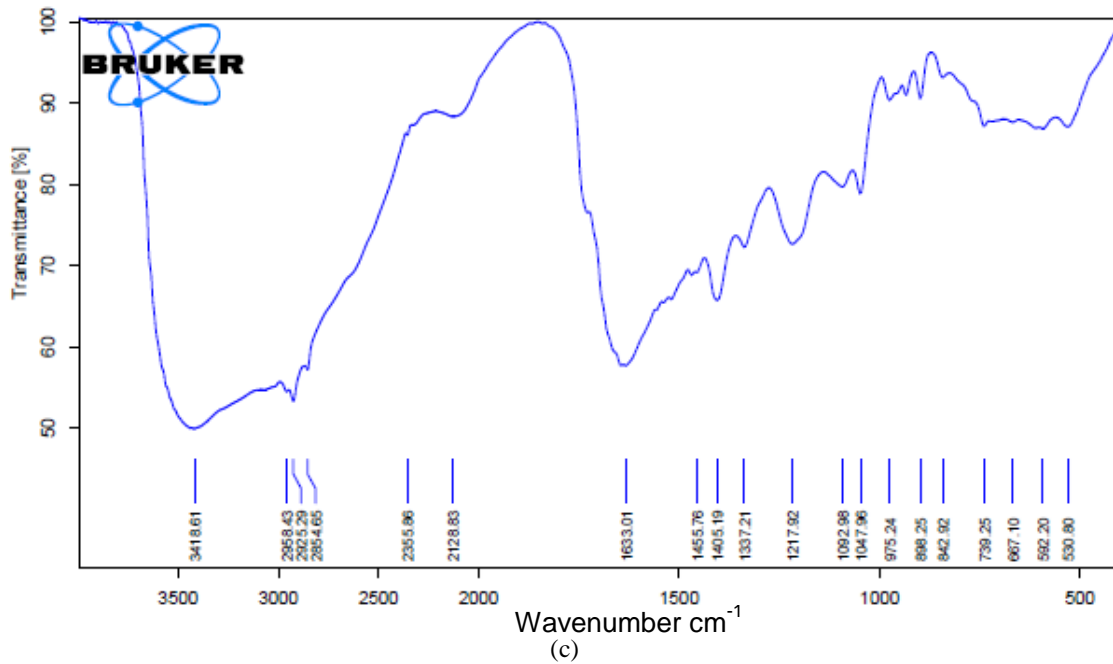


Hình 6. (a): Phổ IR của chất chiết túi mực *S. Esculenta*, (b): Phổ IR của nang mực *S. Esculenta*, (c): Phổ IR của cao chiết cơ *S. lessoniana* bằng methanol, (d): Phổ IR của cao chiết cơ *S. lessoniana* bằng ethyl acetate

Phổ IR của cao chiết cơ *S. lessoniana* bằng methanol cho thấy các đỉnh đặc trưng của protein (hình 6c). Dao động hóa trị của NH tự do xuất hiện ở 3.418,61 cm^{-1} và dao động của amide I

hấp thụ ở $1.633,01\text{ cm}^{-1}$, phát sinh chủ yếu từ dao động kéo dài của C=O. N-deuteration đã chuyển đổi chế độ amide II thành dao động hóa trị C-N ở $1.455,76\text{--}1405,19\text{ cm}^{-1}$ (được đặt tên là chế độ amide II). Vùng amide III ($1.217,92\text{--}1.337,21$

cm^{-1}) là dao động uốn cong của N-H trong mặt phẳng kết hợp với dao động hóa trị C-N và các dao động biến dạng C-H và N-H. Các đỉnh hấp thụ ở $530,80\text{--}592,20\text{ cm}^{-1}$ là kết quả của dao động uốn cong CO ngoài mặt phẳng [21].



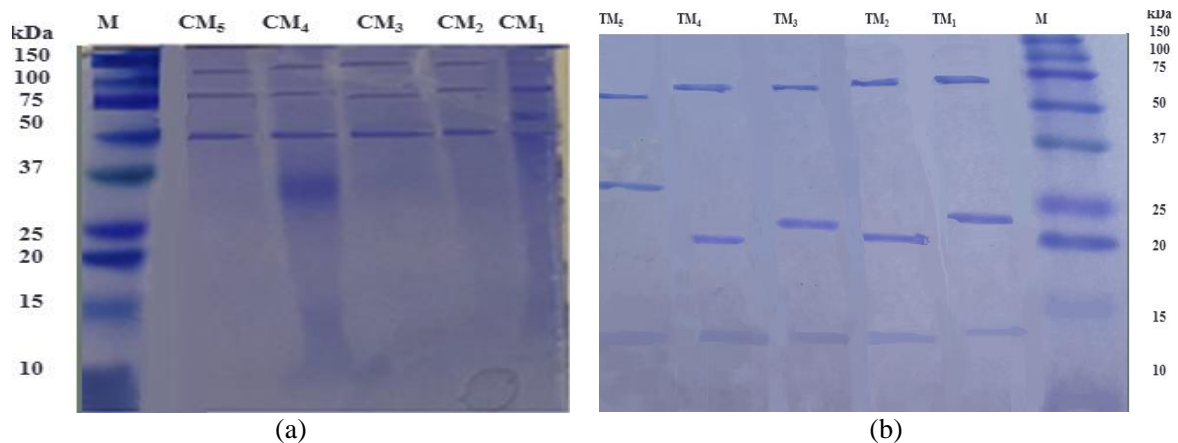
Hình 6. (a): Phổ IR của chất chiết túi mực *S. esculenta*, (b): Phổ IR của nang mực *S. esculenta*, (c): Phổ IR của cao chiết cơ *S. lessoniana* bằng methanol, (d): Phổ IR của cao chiết cơ *S. lessoniana* bằng ethyl acetate (tiếp)

Phổ IR của cao chiết cơ *S. lessoniana* bằng ethyl acetate thể hiện dao động hóa trị của NH ở $3.416,89\text{ cm}^{-1}$, dao động của amide I ở $1.711,94\text{ cm}^{-1}$, dao động của amide II ở $1.375,07\text{--}1.463,64\text{ cm}^{-1}$ và dao động của amide III ở $1.190,44\text{ cm}^{-1}$ (hình 6d). Tuy nhiên các dao động này hấp thụ ở cường độ thấp hơn so với trong phổ IR của cao chiết cơ *S. lessoniana* bằng methanol. Ngoài ra, các dao động hóa trị của CH được hấp thụ ở cường độ cao hơn so với cao chiết cơ *S. lessoniana* bằng methanol ($2.852,04\text{--}2.922,75\text{ cm}^{-1}$) điều này cho thấy trong cao chiết cơ *S. lessoniana* bằng ethyl acetate có thể chứa nhiều các hợp chất có nối

C-H, chứng tỏ dung môi ethyl acetate hòa tan được nhiều chất ít phân cực hơn methanol.

Thành phần protein của các cao chiết methanol

Phân tích SDS-PAGE của các mẫu methanol cho thấy sự hiện diện của protein trong túi mực và trong cơ mực, còn trong nang mực thì không thấy xuất hiện. Hình 7 cho thấy trong các túi mực có sự hiện diện của protein có trọng lượng phân tử (MW) từ 14–75 kDa, còn trong cơ mực thì có sự hiện diện của các protein có MW từ 30–150 kDa. Đặc biệt ở mẫu cơ của mực *S. lessoniana* có sự xuất hiện của protein có MW khoảng 30 kDa.



Hình 7. SDS-PAGE của các mẫu chiết xuất methanol của các loài mực: (a) M: Protein chuẩn, C₁M: Cao chiết cơ *U. chinensis*, C₂M: Cao chiết cơ *U. sibogae*, C₃M: Cao chiết cơ *U. duvaucelii*, C₄M: Cao chiết cơ *S. esculenta*, C₄M: Cao chiết cơ *S. lessoniana*; (b) TM₁: Cao chiết túi mực *U. chinensis*, TM₂: Cao chiết túi mực *U. sibogae*, TM₃: Cao chiết túi mực *U. duvaucelii*, TM₄: Cao chiết túi mực *S. esculenta*, TM₅: Cao chiết túi mực *S. Lessoniana*

Cao chiết methanol từ cơ của loài *S. esculenta* thể hiện hoạt tính oxy hóa khá cao (54,51%), có thể được xem như nguồn chất chống oxy hóa tiềm năng. Theo Papas [22], actin trong mực có MW là 45 kDa. Nghiên cứu của Ponnuchamy et al., [23] cho thấy protein ở mực *S. esculenta* có đặc tính kháng khuẩn và gây độc tế bào với 4 dải protein nổi bật: Protease xúc tác kim loại type I (70 kDa), protein trong tế bào thần kinh (68 kDa), protein không bị biến đổi và protein kết dính. Các nghiên cứu cũng cho thấy protein có MW càng nhỏ hoạt tính kháng oxy hóa càng cao. Các phân tích của chúng tôi cho thấy chất chiết methanol từ mô các loài mực chứa các protein với MW

khác nhau. Đây có thể là nguồn chất hoạt tính chủ yếu ở cơ mực cần được quan tâm.

Nghiên cứu của Namasivayam et al., [8] phát hiện polysaccharide từ nang mực *S. aculeata* có hoạt tính chống oxy hóa lên đến 36,27%, cao hơn glycosaminoglycans từ nang của *S. brevimana* (19,3%) [24], vì vậy polysaccharide nên được sử dụng như một nguồn chất chống oxy hóa tự nhiên hoặc thành phần trong ngành công nghiệp dược phẩm. Trong khảo sát này, chất chiết ethyl acetate từ nang *S. esculenta* cũng thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa đáng kể.

Theo Nicy [25], hoạt tính kháng oxy hóa DPPH tối đa của melanin từ mực nang *S.*

pharaonic là 8,83%; *S. prabahari* là 20,12% và *S. ramani* 11,81%. Melanin trong mực được xem như là một chất làm sạch gốc tự do và chất chống oxy hóa hiệu quả [26]. Katritzky et al., [27] cho rằng melanin trong mực nang *Sepia* là đồng trùng hợp của eumelanin cấu thành từ khoảng 20% của các đơn vị 5,6 dihydroxy indole (DHI) và 75% của các đơn vị 5,6 dihydroxy, indole-2-acid-carboxylic (DHICA). Melanin có thể xúc tác O_2 thành H_2O_2 và do đó tránh được phản ứng chuỗi gốc tự do được thúc đẩy bởi O_2 [28]. Melanin của mực ống cũng có thể hoạt động như superoxide effutase (SOD) do sự hiện diện của DHI bằng cách xúc tác sự không cân xứng của O_2 thành H_2O_2 và O_2 [29]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy thành phần chất chủ yếu trong túi mực là melamin. Kết quả điện di cũng thể hiện các thành phần protein với các trọng lượng phân tử khác nhau. Nghiên cứu của Vate et al., [16] cho thấy melanin trong mực *Loligo formosana* các phần có MW dưới 3 kDa có các hoạt động chống oxy hóa cao nhất ($p < 0,05$), do đó có thể đóng vai trò là chất chống oxy hóa tự nhiên để làm chậm quá trình oxy hóa lipid trong các sản phẩm thực phẩm. Như vậy khả năng kháng oxi hóa của chất chiết từ túi mực nang và mực ống trong khảo sát này có thể chủ yếu là do melamin tạo nên. Tuy nhiên cấu trúc của các melamin này cần được nghiên cứu sâu hơn.

KẾT LUẬN

Hoạt tính kháng oxy hóa của chất chiết thô từ các bộ phận của 5 loài mực thay đổi theo loài và dung môi chiết. Chất chiết methanol từ cơ của loài *S. esculenta* có hoạt tính kháng oxy cao. Thành phần chất chiết methanol từ cơ của 5 loài mực chủ yếu là protein, từ nang của 5 loài mực chủ yếu là polysaccharide, từ túi mực của 5 loài mực chủ yếu là melanin.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Ths. Bùi Quang Nghị, Viện Hải dương học đã giúp chúng tôi phân loại các loài mực.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Guyton, K. Z., Bhan, P., Kuppasamy, P., Zweier, J. L., Trush, M. A., and Kensler, T. W., 1991. Free radical-derived quinone

methide mediates skin tumor promotion by butylated hydroxytoluene hydroperoxide: expanded role for electrophiles in multistage carcinogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(3), 946–950. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.3.946>.

- [2] Papas, A., 1999. Diet and antioxidant status. *Food and Chemical Toxicology*, 37(9–10), 999–1007.
- [3] Roesijadi, G., Kielland, S., and Klerks, P., 1989. Purification and properties of novel molluscan metallothioneins. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 273(2), 403–413. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(89\)90499-2](https://doi.org/10.1016/0003-9861(89)90499-2).
- [4] Madhu, V., Sivaperumal, P., Kamala, K., Ambekar, A. A., and Kulkarni, B. G., 2014. Antibacterial and antioxidant activities of the tissue extract of *Perna viridis* Linnaeus, 1758 (Mollusca: Bivalvia) from versova coast, Mumbai. *Int J Pharmacy Pharmaceutical Sci.*, 6, 704–707.
- [5] Hasan, T., Wahab, A. W., Djide, N., and Zakir, M., 2015. Antioxidant Activity of Bioactive Protein of Kerang Kepah (*Atactodea striata*) from South Sulawesi. *American Journal of Biomedical and Life Sciences*, 3(6), 111–114.
- [6] Arumugasamy, K., and Cyril, R., 2017. Cytotoxicity, Antibacterial and Antioxidant Activities of the Tissue Extracts of Marine Gastropod Hemifusus Pugilinus (Born, 1778) J. Chem. Pharm. Res, 9(10), 267–274.
- [7] Luo, P., and Liu, H., 2013. Antioxidant ability of squid ink polysaccharides as well as their protective effects on deoxyribonucleic acid DNA damage in vitro. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7(21), 1382–1388.
- [8] Subhapradha, N., Ramasamy, P., Seedevi, P., Shanmugam, V., Srinivasan, A., and Shanmugam, A. 2014. Extraction, characterization and its antioxidant efficacy of polysaccharides from *Sepia aculeata* (Orbigny, 1848) cuttlebone. *African Journal of Biotechnology*, 13(1), 138–144. <https://doi.org/10.5897/AJB2013.12893>.

- [9] Ponnusamy, K., Kamala, K., Munilkumar, S., and Pal, A. K., 2016. Antioxidant Properties from Tissue Extract of Cephalopods around Madras Atomic Power Station, Kalpakkam Coast. *Int. J. Pharm. Res. Health Sci*, 4, 1086–1091.
- [10] Liu, H., Luo, P., Chen, S., and Shang, J., 2011. Effects of squid ink on growth performance, antioxidant functions and immunity in growing broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(12), 1752–1756.
- [11] Fahmy, S. R., and Soliman, A. M., 2013. In vitro antioxidant, analgesic and cytotoxic activities of *Sepia officinalis* ink and *Coelatura aegyptiaca* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7(22), 1512–1522. <https://doi.org/10.5897/AJPP2013.3564>.
- [12] Vate, N. K., and Benjakul, S., 2013. Antioxidative activity of melanin-free ink from splendid squid (*Loligo formosana*). *International Aquatic Research*, 5(1), 9. <https://doi.org/10.1186/2008-6970-5-9>.
- [13] Vate, N. K., Benjakul, S., and Agustini, T. W., 2015. Application of melanin-free ink as a new antioxidative gel enhancer in sardine surimi gel. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(11), 2201–2207. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6934>.
- [14] Sudhakar, S., and Nazeer, R. A., 2015. Preparation of potent antioxidant peptide from edible part of shortclub cuttlefish against radical mediated lipid and DNA damage. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 593–601. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.031>.
- [15] Aubourg, S. P., Torres-Arreola, W., Trigo, M., and Ezquerra-Brauer, J. M., 2016. Partial characterization of jumbo squid skin pigment extract and its antioxidant potential in a marine oil system. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(9), 1293–1304. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500356>.
- [16] Li, F., Luo, P., and Liu, H., 2018. A potential adjuvant agent of chemotherapy: sepia ink polysaccharides. *Marine Drugs*, 16(4), 106. <https://doi.org/10.3390/md16040106>.
- [17] Nazeer, R. A., and Naqash, S. Y., 2013. In vitro antioxidant activity of two molluscs, *Loligo duvauceli* Orbigny and *Donax cuneatus* Linnaeus, by solvent extraction methods. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 6(1), 17–21. <https://doi.org/10.1007/s12349-011-0088-1>.
- [18] Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>.
- [19] Ma, F., Zhao, H., Sun, L., Li, Q., Huo, L., Xia, T., ... and Feng, S., 2012. A facile route for nitrogen-doped hollow graphitic carbon spheres with superior performance in supercapacitors. *Journal of Materials Chemistry*, 22(27), 13464–13468. <https://doi.org/10.1039/C2JM32960C>.
- [20] Jin, X., 2012. Bioactivities of water-soluble polysaccharides from fruit shell of *Camellia oleifera* Abel: Antitumor and antioxidant activities. *Carbohydrate Polymers*, 87(3), 2198–2201. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.10.047>.
- [21] Barth, A., 2007. Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1767(9), 1073–1101. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2007.06.004>.
- [22] Pappas, A., 1995. Extraction and characterization of proteases from squid processing waste (*Doctoral dissertation, M. Sc. Thesis, Department of Food Science and Nutrition, University of Rhode Island, Kingston, RI*).
- [23] Kumar, P., Kannan, M., ArunPrasanna, V., Vaseeharan, B., and Vijayakumar, S., 2018. Proteomics analysis of crude squid ink isolated from *Sepia esculenta* for their antimicrobial, antibiofilm and cytotoxic properties. *Microbial Pathogenesis*, 116, 345–350. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.039>.
- [24] Barwinvino, A., 2010. Bioactive compounds from cephalopod mollusk: Isolation, characterization and in vitro antioxidant activity of glycosa-minoglycans from cuttlefish *Sepia brevimana* Steenstrup, 1875 and its cardioprotective effect on

- isoproterenol-induced myocardial infarction in male wistar rats (*Doctoral dissertation, PhD thesis, Annamalai University, Tamil Nadu, India*).
- [25] Nicy, B., 2016. Antioxidant And Antibacterial Properties Of Cuttlefish Ink Collected From Selected Cuttlefish Landed At Thoothukudi Coast. (*Doctoral dissertation, Thesis of Master Degree*).
- [26] Prota, G., 2012. Melanins and melanogenesis. *Academic Press*.
- [27] Katritzky, A. R., Akhmedov, N. G., Denisenko, S. N., and Denisko, O. V., 2002. ^1H NMR spectroscopic characterization of solutions of *Sepia* melanin, *Sepia* melanin free acid and human hair melanin. *Pigment cell research*, 15(2), 93–97. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0749.2002.1o062.x>.
- [28] Chen, S. G., Xue, C. H., Xue, Y., Li, Z. J., Gao, X., and Ma, Q., 2007. Studies on the free radical scavenging activities of melanin from squid ink. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 26(1), 24.
- [29] Meyskens Jr, F. L., Farmer, P., and Fruehauf, J. P., 2001. Redox regulation in human melanocytes and melanoma. *Pigment Cell Research*, 14(3), 148–154. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0749.2001.140303.x>.