

Composition and antioxidant activity of crude extract from squid *Uroteuthis chinensis*

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

Institute of Oceanography, VAST, Vietnam

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

Received: 2 July 2021; Accepted: 26 October 2021

©2021 Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

Abstract

The antioxidant activities against DPPH free radical of crude extracts using ethyl acetate and methanol from *Uroteuthis Chinensis* were studied muscles of, ranged from 13.43% to 41.13%. TLC and FT-IR analysis of several fractions methanol extracts showed the presence of amino acids, peptides, and proteins. SDS-PAGE result of some fractions of methanol extracts described the presence of proteins with a molecular weight of 19-220 kDa. The antioxidant activities of different segments of the *Uroteuthis Chinensis* were various.

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

Hoạt tính kháng oxi hóa của các phân đoạn chất chiết thô từ cơ loài mực *Uroteuthis chinensis*

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

Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt nam, Việt Nam

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

Nhận bài: 2-7-2021; Chấp nhận đăng: 26-10-2021

Tóm tắt

Hoạt tính chống oxy dựa vào khả năng khử gốc tự do DPPH của các phân đoạn cao chiết thô bằng ethyl acetate và methanol từ cơ của loài mực *Uroteuthis chinensis* đã được khảo sát. Hoạt tính này dao động từ 13,43% đến 41,13%. Phân tích TLC và FT-IR từ một số phân đoạn chiết của cao chiết methanol cho thấy sự hiện diện của các acid amin, peptit và protein. Phân tích điện di SDS-PAGE các phân đoạn cao chiết methanol cho thấy sự hiện diện của các protein với trọng lượng phân tử từ 19-220 kDa. Các phân đoạn chất chiết chỉ ra khả năng kháng oxi hóa ở các phân đoạn khác nhau của loài mực *Uroteuthis chinensis* là khác nhau.

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

GIỚI THIỆU

Sinh vật biển được xem là nguồn cung cấp quan trọng các sản phẩm tự nhiên có hoạt tính sinh học. Các hợp chất hoạt tính sinh học biển cho thấy các đặc tính tự nhiên, có tiềm năng được phẩm và dược phẩm của chúng được coi là lựa chọn an toàn hơn so với thuốc tổng hợp và phụ gia thực phẩm [1]. Các hợp chất hoạt tính sinh học biển đã được phân lập và đặc trưng từ các nguồn như thực vật biển, vi sinh vật, tảo và động vật (động vật có xương sống và động vật không xương sống) [2]. Động vật thân mềm được đánh giá là đối tượng tiềm năng chứa các hợp chất kháng ung thư. Ví dụ như, Dolastatin 10 và Dolastatin 15 từ thỏ biển *Dollabella auricularia* của vùng biển Ấn Độ Dương được ghi nhận có hoạt tính kháng ung thư vú và gan. Kahalalide F từ loài thân mềm Hawaiian *Elysia rufescens* có tiềm năng kháng ung thư đại tràng, vú, phổi và đã được phát triển thành thuốc điều trị. Keenamide A

từ loài thân mềm *Pleurobranchus forskalii* có khả năng bất hoạt các dòng tế bào ung thư P-388, A-549, MEL-20 và HT-29 [3]. Ngoài ra, các hợp chất như chlorine acetylene, glycoprotein, depsipeptide, sterol, sesquiterpenes, terpenes, polypropylen, các hợp chất chứa nitơ, macrolide, prostaglandin, các dẫn xuất acid béo, alkaloid và peptide chứa hoạt tính kháng vi sinh đã được phân lập từ động vật thân mềm [4]. Một số alkaloids từ nhóm động vật này có tiềm năng kháng viêm, chẳng hạn như neurotoxin từ ốc *Conus magus* có hoạt tính giảm đau cao hơn morphine 1.000 lần và không gây tác dụng phụ [3]. Các hợp chất myticin và aplysia có khả năng kháng vi sinh vật từ vẹm *Mytilus galloprovincialis* [5], các peptide kháng vi sinh vật từ một số loài *Mytilus galloprovincialis*, *Mytilus edulis*, *Mytilus trosolus*, *Crassostrea virginica*, *Ruditapes philippinarum* và *Biomphalaria glabrata*,

Haliotis discus hannai, *Haliotis discus discus*, *Haliotis laevigata* được tìm thấy [6].

Trong quá trình tìm kiếm các chất chống oxy hóa mới, các nghiên cứu đã phát hiện ra rằng thực vật biển và động vật không xương sống cũng chứa chất chống oxy hóa mạnh. Cho đến nay một số lượng đáng kể các nghiên cứu về các chất có hoạt tính kháng oxi hóa chiết tách từ động vật thân mềm đã được công bố. Roesijadi và cs. đã tách chiết chất kháng oxy hóa metallothionein I từ hàu *Crassostrea virginica* [7]. Năm 2014, Madhu et al., đã khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxi hóa của chất chiết thô từ vẹm *Perna viridis* và kết luận rằng *P. viridis* chứa nguồn chất kháng khuẩn và oxi hóa hiệu quả [8]. Ngoài ra, protein tách chiết từ loài nghêu *Atractodes striata* cho thấy có hoạt tính kháng oxi hóa mặc dù thấp hơn ascorbic acid [9]. Trong khi đó, chất chiết ethyl acetate và methanol từ loài ốc *Littorina littorea* và hai mảnh vỏ *Galatea paradoxa* cũng cho thấy hoạt tính kháng gốc tự do 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), trong đó chất chiết methanol có hoạt tính mạnh hơn chất chiết ethyl acetate [10]. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra polysaccharides tách chiết từ động vật chân đầu như mực nang *Sepia aculeate* có khả năng kháng oxi hóa mạnh [11].

Vùng biển Việt Nam khá phong phú các loài sinh vật biển như hải miên, hải sâm, sao biển, san hô mềm, động vật thân mềm,... và đã được quan tâm trong thời gian gần đây với sự phát hiện một số hợp chất mới có hoạt tính sinh học. Tuy nhiên, các nghiên cứu về các hoạt chất sinh học nói chung và chất kháng oxi hóa nói riêng ở động vật thân mềm ở nước ta còn khá hạn chế. Nguyễn Phương Anh và nnk., cũng đã có những nghiên cứu bước đầu hoạt tính kháng oxi hóa của một số chất chiết thô methanol và ethyl acetate của 5 loài mực ở Khánh Hòa, trong đó chất chiết thô từ cơ loài *U. chinensis* có hoạt tính kháng oxi hóa khá cao [12]. Vì vậy trong nghiên cứu này chúng tôi nghiên cứu phân tách các phân đoạn và đánh giá khả năng kháng oxi hóa của các phân đoạn từ chất chiết thô của cơ loài mực *Uroteuthis chinensis*, làm cơ sở cho các nghiên cứu sâu hơn như xác định thành phần và cấu trúc các chất.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

Loài mực *Uroteuthis chinensis* được mua tại chợ Khánh Hòa 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 tách lấy phần cơ mực.

Chiết tách hợp chất thô

Dung môi chiết được sử dụng là methanol và ethyl acetate. Một kg 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.

Phương pháp sắc kí bản mỏng (TLC)

Các phân đoạn của các chất chiết thô được phân tách trên các bản tráng silica gel sử dụng các hệ dung môi và chất hiện màu thích hợp.

Chất chiết methanol: Sử dụng 3 hệ dung môi n-butanol:acid axetic:nước (BAW) (5:1:4), acid acetic và toluene:ethyl acetate (9:5). Sau khi phân tách, các vết chất được hiện màu bằng ninhydrin (1,5 g ninhydrin trong 100 mL ethanol) và được sấy khô ở 45°C và giữ trong không khí trong 5–10 phút.

Chất chiết ethyl acetate: Sử dụng 2 hệ dung môi hexan:ethyl acetate (5:1), hexan:ethyl acetate (4:1), và toluene:ethyl acetate (9:5). Sau đó sử dụng iod làm chất hiện hình.

Các nhóm chất được tính toán hệ số di chuyển (R_f), là tỷ lệ giữa khoảng dịch chuyển của chất thử và khoảng dịch chuyển của dung môi.

$$R_f = \frac{a}{b}$$

Trong đó: a là khoảng cách di chuyển của chất phân tích; b là khoảng cách di chuyển của dung môi tính từ điểm chấm mẫu.

Dựa vào hệ số R_f , các phân đoạn trên bản silica gel được thu hồi và rửa giải bằng dung môi thích hợp. Sau đó tiến hành cô quay và thu được các nhóm chất từ các phân đoạn này.

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., [13]. 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 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/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 (FT-IR).

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 (FT-IR) bằng máy Bruker Equinox 55 với độ phân giải 16cm^{-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 (1970) [14].

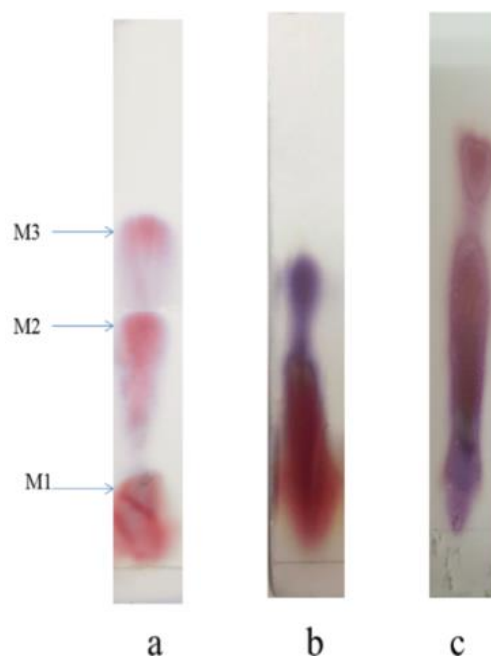
Một số mẫu chiết methanol có hoạt tính kháng oxy hóa được sử dụng để thực hiện SDS-

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.

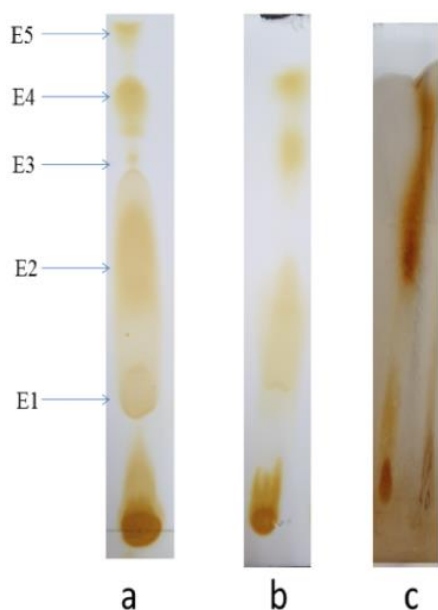
Xử lý số liệu: Kết quả hoạt tính kháng oxy hóa thể hiện bằng giá trị trung bình \pm SE, được tính toán bằng Excel. Sự sai khác chỉ số kháng oxy hóa được thực hiện bằng ANOVA.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Sắc kí bản mỏng (TLC)



Hình 1. Hình TLC của chiết xuất methanol Trong đó hệ dung môi: a) n-butanol:acid axetic:nước (5: 1: 4), b) acid acetic, c) toluene-ethanol (9:5)



Hình 2. Hình TLC của chiết xuất ethyl acetate Trong đó hệ dung môi: a) hexan:ethyl acetate (5:1), b) hexan:ethyl acetate (4:1), c) toluene:ethanol (9:5)

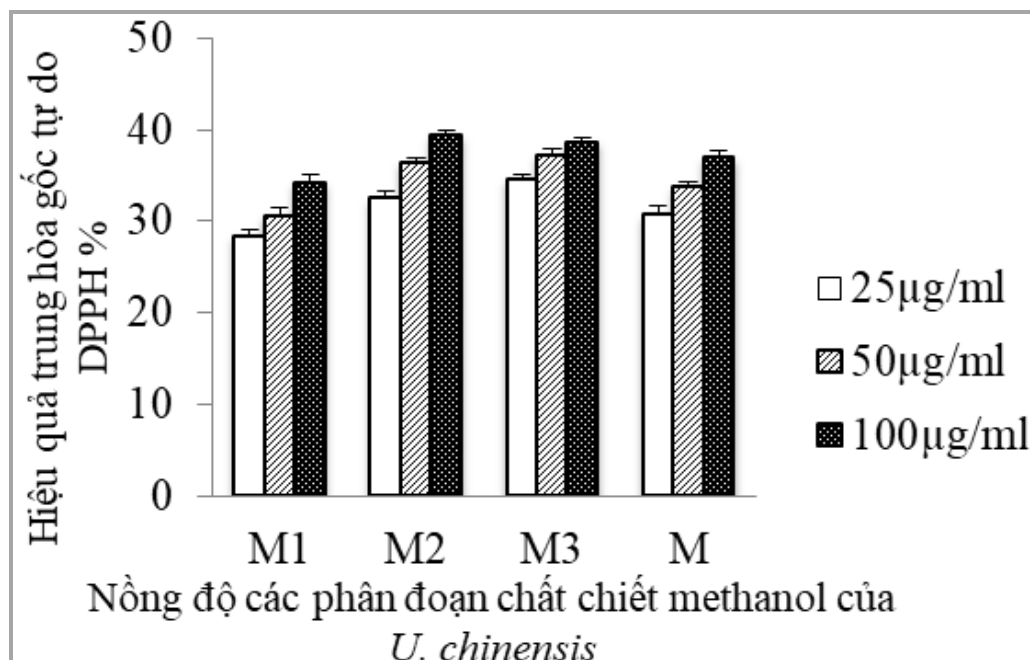
Chất chiết methanol: Trong các hệ dung môi được sử dụng thì hệ dung môi n-butanol:acid axetic: nước (BAW) (5:1:4) cho

kết quả phân tách tốt nhất. Trên tấm bản mỏng các chất khác nhau cho thấy sự hiện diện của acid amin và peptit được hiển thị các vết màu tím đến hồng khi TLC đã được phun với ninhydrin. Các chất được phân tách thành 3 phân đoạn M1, M2, M3 có hệ số Rf tương ứng là 0,11; 0,45 và 0,59 (hình 1).

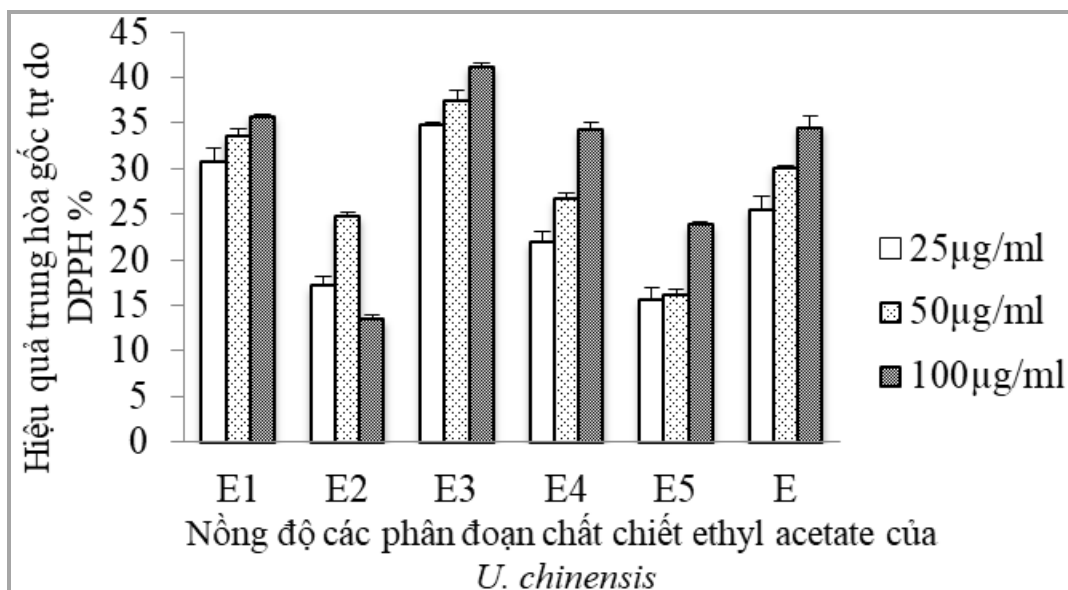
Chất chiết ethyl acetate: Trong các hệ dung môi được sử dụng thì hệ dung môi hexan: ethyl acetate (5:1) cho kết quả phân tách tốt nhất. Sử dụng chất hiện hình là iod trên bản mỏng, các chất được phân tách thành 5 phân đoạn E1, E2, E3, E4, E5 có hệ số Rf tương ứng là 0,27; 0,52; 0,68; 0,81; 0,95 (hình 2).

Khả năng kháng oxy hóa của các phân đoạn chất chiết thô *U. chinensis*

Tất cả các mẫu đều có hoạt tính kháng oxy hóa. Hoạt tính kháng oxy hóa của các phân đoạn cao chiết thô bằng methanol dao động từ 28,34 % (M1) đến 39,26 % (M2) và ethyl acetate dao động từ 13,43 % (E2) đến 41,13% (E3). 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 phân đoạn E3 ở nồng độ 100 µg/ml (41,13%), và thấp nhất ở mẫu phân đoạn E2 nồng độ 100 µg/ml (13,43%) (hình 3, 4).



Hình 3. Hoạt tính kháng oxy hóa của các phân đoạn chất chiết methanol của *U. chinensis*



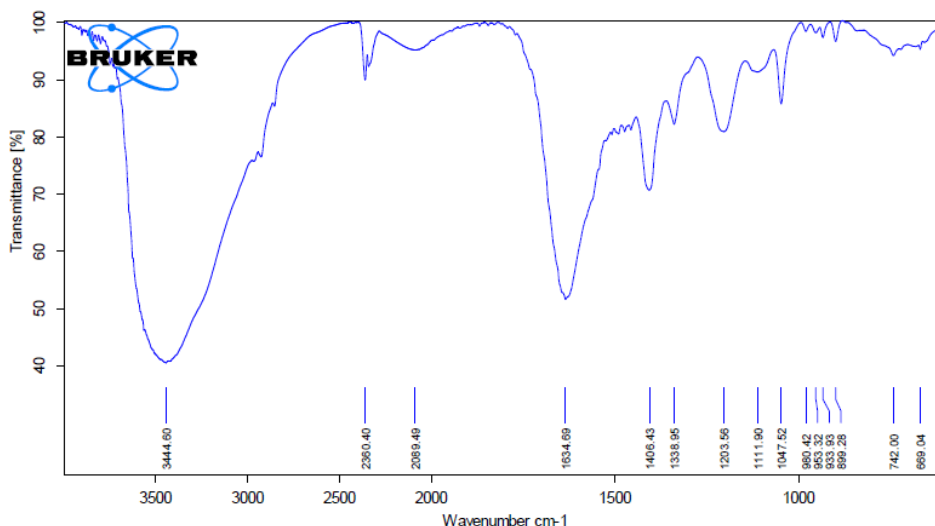
Hình 4. Hoạt tính kháng oxy hóa của các phân đoạn chất chiết ethyl acetate của *U. chinensis*

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

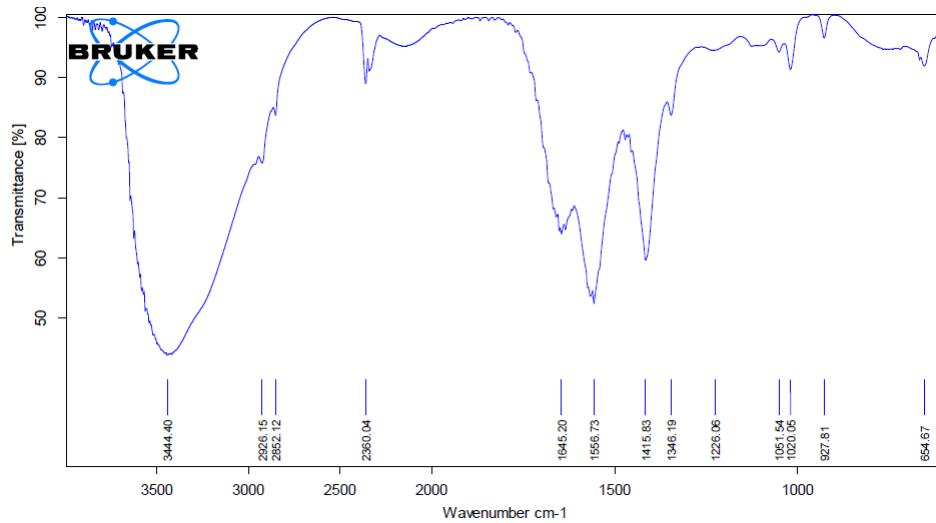
Kết quả đo FT-IR một số phân đoạn chất chiết được thể hiện qua hình 5a-5c.

Phổ IR M1 cho thấy dao động của amide I thể hiện với dao động hóa trị của N-H hấp thụ ở 3.444,60 cm^{-1} và C=O ở 1634,69 cm^{-1} . Dao động C-N của amide II hấp thụ ở 1.406,63 cm^{-1} . Trong khi đó dao động của amide III bao gồm dao động uốn của N-H ở 1.203,56 cm^{-1} và dao động hóa trị C-N ở 1.338,95 cm^{-1} . Hơn

nữa, phổ còn thể hiện dao động uốn ngoài mặt phẳng của N-H ở 669,04 cm^{-1} và 742,0 cm^{-1} , dao động giãn C-O được hấp thụ ở các giá trị 1.047,52 và 1.111,90 cm^{-1} . Các giá trị ở vùng 900-980 cm^{-1} thể hiện cấu trúc chất có vòng thơm hoặc chất có nối đôi qua dao động CH=. Dao động này không xuất hiện trong các phổ M2 và M3, điều này có thể giải thích cho độ phân cực cao hơn của M1 so với M2 và M3, khi chất có nối đôi trong phân tử có thể xảy ra hiệu ứng liên hợp làm cho chất phân cực hơn.



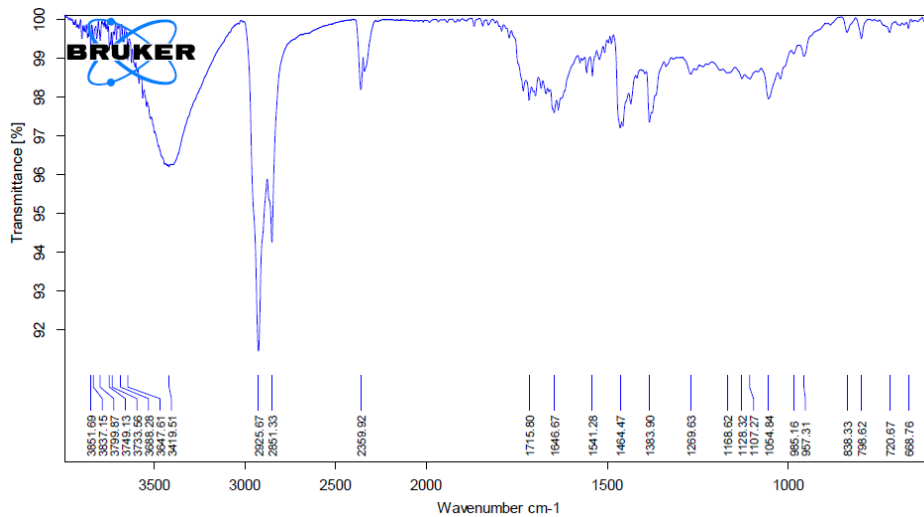
Hình 5a. Phổ IR của phân đoạn M1 chiết bằng methanol



Hình 5b. Phổ IR của phân đoạn M2 chiết bằng methanol

Phổ IR M2 và M3 cho thấy các hợp chất này có nhóm chức tương đối giống nhau, tuy nhiên khác nhau về mật cường độ. Trên phổ đều thể hiện các dao động NH và C=O của amide I (M2: 3.444,40 cm^{-1} và 1.645,20 cm^{-1} ; M3: 3.445,87 cm^{-1} và 1.646,85 cm^{-1}), dao động C–N của amide II (M2: 1.415,83 cm^{-1} ; M3:

1.415,01 cm^{-1}) và dao động uốn của N–H và dao động C–N của amide III (M2: 1.226,06 cm^{-1} và 1.346,19 cm^{-1} ; M3: 1.226,68 cm^{-1} và 1.346,89 cm^{-1}). Các dao động uốn của C–H được hấp thụ ở vùng từ 1.000–1.200 cm^{-1} trong phổ M2 và M3.



Hình 5c. Phân tích FT-IR của phân đoạn E5 chiết bằng ethyl acetate

Ngược lại, phổ các chất E1 đến E5 thể hiện các chất ít phân cực hơn, thể hiện ở sự hấp thụ ở 3.400 cm^{-1} trong các phổ này. Ở đây có thể là dao động giãn của N–H hoặc O–H, tuy nhiên liên kết hydro liên phân tử ít dẫn đến cường độ

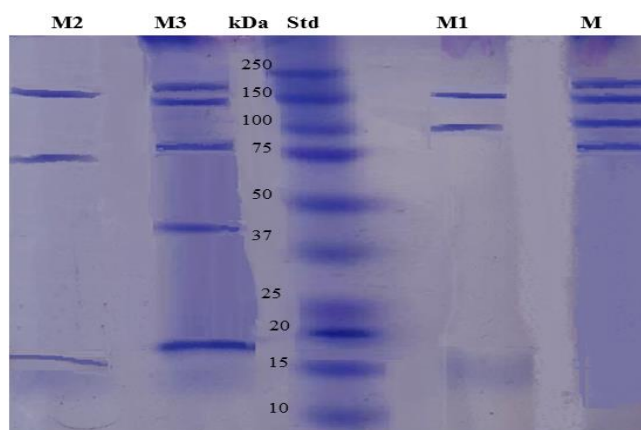
thấp hơn khi so sánh với cường độ các đỉnh này trong phổ M1, M2, M3. Đồng thời, các dao động hóa trị của CH được hấp thụ ở cường độ cao hơn trong phổ cao EtOAc so với cao methanol (vùng 2.800–2.900 cm^{-1}) điều này cho

thấy trong cao chiết này 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. Đồng thời dao động uốn trong mặt phẳng và ngoài mặt phẳng của nhóm chức C-H hấp thụ trong các phổ E1 đến E5 tương ứng với vùng bước sóng 1.000-1.275 cm^{-1} và 690-900 cm^{-1} . Các dao động từ 1.300-1.500 cm^{-1} có thể liên quan đến dao động của nhóm methyl và methylen: giãn đối xứng (1.470 cm^{-1}) và bất đối xứng (1.380 cm^{-1}) của methyl ; dao động biến dạng của nhóm methylen (1.300, 1.465 cm^{-1}). Dao động giãn của C=O trong các phổ E1 đến E5 hấp thụ ở bước sóng cao hơn, vào khoảng 1700 cm^{-1} so với các chất hòa tan trong cao

methanol (khoảng 1.600 cm^{-1}), điều này có thể do nhóm chức C=O này gắn với các nhóm chức có hiệu ứng cảm hoặc cộng hưởng.

Phân tích SDS-PAGE của các các mẫu methanol cho thấy sự hiện diện của protein

Từ Hình 6 ta thấy trong cao chiết methanol của *U. chinensis* có sự hiện diện của protein có trọng lượng phân tử (MW) khoảng 19-220 kDa, còn trong các phân đoạn cao chiết ta thấy cũng có sự hiện diện của các protein có MW này. Đặc biệt ở mẫu của các phân đoạn M2, M3 có sự xuất hiện của protein có MW thấp khoảng 19 kDa.



Hình 6. SDS-PAGE của các phân đoạn cao chiết methanol

Trong đó: M: Cao chiết methanol của *U. chinensis*, M1, M2, M3: Các phân đoạn của cao chiết, Std: Protein chuẩn

Thảo luận

Trong nghiên cứu của chúng tôi các phân đoạn chất chiết thô của dung môi methanol và ethyl acetate đều thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa nhưng ở các mức độ khác nhau. Từ hình 3, 4 ta thấy số liệu hoạt tính kháng oxy hóa của các phân đoạn chất chiết của dung môi methanol, theo đó phân đoạn M2 (ở nồng độ 100 $\mu\text{g/ml}$) có khả năng kháng oxy hóa mạnh nhất mạnh nhất so với các phân đoạn khác trong nhóm chất chiết methanol ($p < 0,05$ thể hiện sai khác có ý nghĩa về giá trị trung bình kháng oxy hóa). Tuy nhiên giá trị kháng oxy hóa của phân đoạn M2, M3 thể hiện sự sai khác không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$). Đối với các phân đoạn chất chiết ethyl acetate phân đoạn E3 của chất chiết bằng dung môi

ethyl acetate ở nồng độ 100 $\mu\text{g/ml}$ thể hiện khả năng kháng oxy hóa cao nhất 41,13% so với các phân đoạn còn lại và cao ethyl acetate ($p < 0,05$ thể hiện sai khác có ý nghĩa về giá trị trung bình kháng oxy hóa). Các phân đoạn M2 và M3 có hoạt tính kháng oxy hóa cao hơn ở phân đoạn M1. Ở cao chiết ethyl acetate thì ở 2 phân đoạn E2 và E5 có hoạt tính kháng oxy hóa thấp hơn nhiều so với phân đoạn E1, E4.

Dao động giãn của C=O trong các phổ E1 đến E5 hấp thụ ở bước sóng cao hơn, vào khoảng 1700 cm^{-1} so với các chất hòa tan trong cao methanol (khoảng 1600 cm^{-1}), điều này có thể do nhóm chức C=O này gắn với các nhóm chức có hiệu ứng cảm hoặc cộng hưởng. Khả năng chống oxy hóa của các nhóm hydroxyl đã được báo cáo rộng rãi, và các hợp chất phenolic

được công nhận là một số chất chống oxy hóa mạnh nhất trong tự nhiên. Cơ chế được điều khiển bởi hiệu ứng cộng hưởng của vòng thơm [15]. Các kết quả IR cho thấy rằng, vòng thơm có trong các hợp chất ommochromes có cấu trúc cơ bản là phenoxazone, được tạo ra từ acid amin tryptophan [16]. Ngoài những kết quả này, theo Aubourg và cs. đỉnh ở 1740 cm^{-1} là đặc trưng của xanthommatin, một ommochrome có trong chất chiết xuất từ da mực thu được bằng ethanol / acid axetic là một chất có hoạt tính kháng oxi hóa mạnh [17]. Theo nghiên cứu của Chan-Higuera và cs. kết quả thu được cho phân đoạn F7 phù hợp với các báo cáo trước đây về xanthommatin [18, 19]. Phổ $^1\text{H NMR}$ của phân đoạn F7 cho thấy các tín hiệu có thể là do sự hiện diện của lõi phenoxazone. Phổ NMR, cùng với phổ FT-IR đã xác nhận sự hiện diện của các nhóm chức liên quan đến hoạt động chống oxy hóa.

Kết quả phân tích TLC và IR đối với dịch chiết methanol *U.chinensis* đã chứng minh sự hiện diện của các hợp chất protein, trong đó TLC chỉ ra sự hiện diện của acid amin và peptit.

Phân tích SDS-PAGE của chiết xuất methanol cho thấy điểm tương đồng với phổ IR về sự tồn tại của hợp chất protein hợp chất có dao động amide I, II, III. Kết quả cho thấy các protein hiện diện trong phạm vi MW từ rất thấp 19 đến 220 kDa (Hình 6). Rocha-Estrada và cs. chỉ ra MW của protein mực *Dosidicus gigas* là 220 kDa (myosin); 170 kDa (α 2-macroglobulin); 116 kDa (β -galactosidase); 76 kDa (transferrin); 53 kDa (glutamic dehydrogenase); 97 kDa (phosphorilase b); 66 kDa (albumin); 45 kDa (ovalbumin); 30 kDa (carbonic anhydrase); 20.1 kDa (trypsin inhibitor); và 14,4 kDa (α -lactalbumin) [20]. Kết quả của Ramya và cs. cho thấy sự tồn tại của peptit hoặc acid amin có màu tím đỏ hoặc tím bởi TLC và MW của protein từ 13-72 kDa bởi SDS-PAGE từ các chiết xuất kháng khuẩn có hoạt tính sinh học trong sên biển *Armina babai* [21]. Periyasamy và cs. tìm thấy MW của protein trong chiết xuất hoạt chất kháng vi khuẩn từ loài Babylon *Babylonia spirata* dao động từ 2-110 kDa [22]. MW của protein kháng khuẩn chiết xuất từ mang của vẹm xanh *Perna viridis* là 9,7 kDa, của chiết xuất

methanol từ mô của loài này là 20-63 kDa [23, 24]. Các protein kích thước nhỏ đã được chứng minh là có hoạt tính chống oxy hóa, kháng khuẩn mạnh, do đó chúng có thể là nguồn thuốc tiềm năng với hứa hẹn cho việc khám phá các hợp chất hoạt tính sinh học mới thay vì thực vật. Nghiên cứu này chỉ ra sự hiện diện của các hợp chất kháng oxi hóa trong các phân đoạn chiết tách từ cơ mực *U.chinensis* có MW thấp thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa mạnh.

KẾT LUẬN

Hoạt tính kháng oxy hóa của 3 phân đoạn chất chiết methanol và 5 phân đoạn chất chiết ethyl acetate của loài mực *U. chinensis* phân lập bằng sắc kí bản mỏng có sự khác nhau, trong đó từ phân đoạn E3 (Rf 0,68) từ chất chiết ethyl acetate có hoạt tính kháng oxy cao nhất. Kết quả phân tích phổ IR và SDS-PAGE của các phân đoạn chất chiết cho thấy thành phần chất chiết methanol chủ yếu là acid amin, peptid và protein với trọng lượng phân tử từ 19 đến 220 kDa và các phân đoạn chất chiết ethyl acetate chứa các nhóm chất ít phân cực.

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

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Chan-Higuera J.E., Santacruz-Ortega H.C., Carbonell-Barrachina Á.A., Burgos-Hernández A., Robles-Sánchez R.M., Cruz-Ramírez S.G., Ezquerro-Brauer J.M., 2019. Xanthommatin is Behind the Antioxidant Activity of the Skin of *Dosidicus gigas*. *Molecules* 24(19): 3420-3429
- [2] Suleria H.A.R., Gobe G., Masci P. and Osborne S.A, 2016 Marine bioactive compounds and health promoting perspectives; innovation pathways for drug discovery. *Trends Food Science Technology* 50: 44–55.
- [3] Premalata P., Biraja K.S. and Panigraphy R.C., 2015. Marine molluscs as a potential drug cabinet: an overview. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences* 44(7): 961-970.
- [4] Balcazar J.L., Blas I.D., Ruiz-Zarzuola I., Cunningham D., Vendrell D. and Muzquiz

- J.L., 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology* 114:173-186.
- [5] Mitta G., Hubert F., Noel T., and Roch P., 1999. Myticin, a novel cysteine-rich antimicrobial peptide isolated from haemocytes and plasma of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *European Journal Biochemistry* 265: 71-78.
- [6] Li H., Parisi M.G., Parrinello N., Cammarata M. and Roch P., 2011. Molluscan antimicrobial peptides, a review from activity-based evidences to computer assisted sequences. *Information Systems Journal* 8: 85-97.
- [7] Roesijadi G., Kielland S., and Klerks P., 1989. Purification and properties of novel molluscan metallothioneins. *Archives Biochemistry and Biophysics* 273: 403-413.
- [8] Madhu V.N., Sivaperumal P., Kamala K., Ambekar Ajit 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 Internation Journal Pharmacy Sciences* 6: 704-707.
- [9] 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.
- [10] Borquaye L.S., Darko G., Oklu N., Anson-Yevu C. and Ababio A., 2016. *Cogent Chemistry* 2: 1161865.
- [11] Subhapradha N., Ramasamy P., Seedeivi 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.
- [12] Nguyen Phuong Anh, Pham Xuan Ky, Dao Viet Ha, Le Ho Khanh Hy, Doan Thi Thiet, Phan Bao Vy, 2020. Antioxidant activity of extract from some squid species in Khanh Hoa. *Vietnam Journal of Marine Science and Technology*, 20(4A), 187-198.
- [13] 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: 17-21.
- [14] Laemmli U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- [15] Cai Z., Wu J., Chen L., Guo W., Li J., Wang J., Zhang Q., 2011. Purification and characterisation of aquamarine blue pigment from the shells of abalone (*Haliotis discus hannai* Ino). *Food Chemistry* 128: 129-13
- [16] Blanco-Diaz M.T., Del Rio-Celestino M., Martinez-Valdivieso D., Font R., 2014. Use of visible and near-infrared spectroscopy for predicting antioxidant compounds in summer squash (*Cucurbita pepo* ssp *pepo*). *Food Chemistry* 164: 301-308.
- [17] Aubourg S.P., Torres-Arreola W., Trigo M., Ezquerro-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: 1293-1304.
- [18] Kumar A., Williams T.L., Martin C.A., Figueroa-Navedo A.M., Deravi L.F. , 2018. Xanthommatin-based electrochromic displays inspired by nature. *ACS Applied Materials and Interfaces* 10: 43177-43183.
- [19] Chan-Higuera J.E., Santacruz-Ortega H.C., Carbonell-Barrachina Á.A., Burgos-Hernández A., Robles-Sánchez R.M., Cruz-Ramírez S.G., Ezquerro-Brauer J.M., 2019. Xanthommatin is Behind the Antioxidant Activity of the Skin of *Dosidicus gigas*. *Molecules* 24(19): 3420-3429
- [20] Rocha-Estrada J.G., Córdova-Murueta J.H., García-Carreno F.L., 2010. Functional Properties of Protein from Frozen Mantle and Fin of Jumbo Squid

- Dosidicus gigas* in Function of pH and Ionic Strength. *Food Science and Technology International* 16 (5): 451-458.
- [21] Ramya M. S., Sivasubramanian K., Ravichandran S. and Anbuhezian R. (2014). Screening of antimicrobial compound from the sea slug *Armina babai*. *Bangladesh Journal of Physiology and Pharmacology* 9: 268-274.
- [22] Periyasamy N., Srinivasan M. and Balakrishnan S., 2012. Antimicrobial activities of the tissue extracts of *Babylonia spirata* Linnaeus, 1758 (Mollusca: Gastropoda) from Thazhanguda, southeast coast of India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2: 36-40.
- [23] Chandran B., Rameshkumar G. and Ravichandran S., 2009. Antimicrobial activity from the gill extraction of *Perna viridis* (Linnaeus, 1758). *Global Journal of Biochemistry and Biotechnology* 4: 88-92.
- [24] Madhu V.N., Sivaperumal P., Kamala K., Ambekar Ajit 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 Internation Journal Pharmacy Sciences* 6: 704-707.