

Xác định hoạt tính chống oxy hóa của một số thực phẩm bằng phương pháp đo khả năng hấp thụ gốc oxy hóa (ORAC)

Lê Thị Thúy^{*}, Nguyễn Như Thượng¹, Nguyễn Thị Bằng²,
Đỗ Trúc Quỳnh³, Vũ Thị Trang¹ Phạm Thị Ngọc Mai²

¹Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm Quốc gia, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

³Học Viện Y dược học cổ truyền Việt Nam, Hà Nội, Việt Nam

Ngày đến tòa soạn: 19/07/2021; Ngày chấp nhận đăng: 20/09/2021

Tóm tắt

Phương pháp được phát triển để xác định chỉ số hydrophilic-oxygen radical absorbance capacity (H-ORAC) trong thực phẩm. Phương pháp dựa trên khả năng chống lại gốc tự do tạo thành bởi 2,2'-azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH) ở 37°C, sử dụng fluorescein là thuốc nhuộm huỳnh quang, dùng đầu dò huỳnh quang để đo mức độ phản ứng với gốc peroxy. Hoạt tính chống oxy hóa được đánh giá bằng diện tích dưới đường cong (AUC) của mẫu thử so với mẫu trắng. Kết quả được biểu diễn dưới dạng đơn vị ORAC (tương đương số μM Trolox-/100g). Phương pháp có độ đặc hiệu tốt, đường chuẩn trong khoảng 5 - 50 μM Trolox, hệ số tuyến tính $R^2 = 0,9987$, độ thu hồi từ 93,2 - 104,0 %, độ lặp lại với RSD < 6,60 %, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp lần lượt là 5 μM Trolox và 10 μM Trolox. Phương pháp đã được áp dụng để xác định chỉ số H-ORAC của 65 mẫu, bao gồm rau củ quả, sản phẩm từ rau củ quả và thực phẩm bảo vệ sức khỏe, kết quả thu được từ 720 - 310878 μM TE/100g.

Từ khóa: ORAC, hoạt tính chống oxy hóa, thực phẩm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chất chống oxy hóa được định nghĩa là những chất mà khi có trong thực phẩm hay trong cơ thể ở nồng độ rất thấp, làm trì hoãn, kiểm soát hoặc ngăn chặn quá trình oxy hóa. Quá trình oxy hóa là một trong những nguyên nhân làm giảm chất lượng thực phẩm hay gây bệnh cho cơ thể.

Cơ thể con người có thể tự sản xuất các chất chống oxy hóa. Tuy nhiên khi tuổi tác càng cao, stress nhiều hoặc trong điều kiện môi trường ô nhiễm, thức ăn chứa nhiều độc tố, chế độ ăn không đủ chất dinh dưỡng, khoáng chất, vitamin,... làm các gốc tự do xuất hiện quá nhiều và cơ thể không sản xuất đủ các chất chống oxy hóa để đáp ứng. Gốc tự do là các nguyên tử hoặc phân tử có lớp quỹ đạo ngoài cùng chứa một electron không cặp đôi, do vậy các gốc tự do có khả năng oxy hóa rất cao. Chúng bao gồm các dạng oxy hoạt động (ROS - Reactive oxygen species) và một số phân tử đặc biệt mà trong cấu trúc có chứa oxy có khả năng tham gia phản ứng oxy hóa khử mạnh [1]. Các gốc tự do này có thể gây nên những rối loạn các phản ứng và chuỗi phản ứng hóa học trong cơ thể, phá hủy màng tế bào, tiếp đó là các tổn thương như biến đổi nội tiết tố, kích thích các mầm bệnh và dẫn đến các chứng bệnh xơ vữa động mạch, tiểu đường, tai biến, ung thư,... [2-4]. Để hạn chế vấn đề này, con người cần bổ sung các chất chống oxy hóa từ bên ngoài thông qua thực phẩm hoặc thực phẩm chức năng. Tại Việt Nam, một số các sản phẩm rau củ quả có hàm lượng chất chống oxy hóa cao và được sử dụng khá phổ biến như: rau ngót, bắp cải, đậu đen, đậu nành, dưa hấu,...

* Điện thoại: 0385805442 Email: lethuyinf@gmail.com

Chỉ số ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) được sử dụng để đánh giá khả năng chống oxy hóa của thực phẩm. Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ đã công bố danh sách ban đầu các giá trị ORAC cho hơn 100 loại thực phẩm phổ biến trong năm 2004, mở rộng lên 277 loại thực phẩm và gần đây nhất là vào năm 2010, danh sách này đã tăng lên tới 326 loại thực phẩm [5]. Các sản phẩm có chỉ số chống oxy hóa cao nhất trong danh sách ORAC là đậu (pinto, thận đỏ và đậu đỏ nhỏ) và nhiều loại quả mọng khác nhau (quả việt quất, nho đen, quả mâm xôi và quả nam việt quất). Chỉ số ORAC được báo cáo bao gồm chỉ số ORAC thân nước (Hydrophilic-ORAC), chỉ số ORAC thân dầu (Lipophilic-ORAC) và chỉ số ORAC tổng (total-ORAC) tính tương đương theo số micromole Trolox trên 100 g. Chỉ số ORAC càng cao có nghĩa là thực phẩm có khả năng chống oxy hóa càng tốt.

Trong nền thực phẩm, hoạt tính chống oxy hóa chủ yếu là từ phần thân nước, chỉ số ORAC thân dầu (L-ORAC) thường rất thấp so với chỉ số ORAC thân nước (H-ORAC) [5]. Do vậy, nghiên cứu này tập trung vào xác định chỉ số ORAC thân nước [5].

Phương pháp ORAC dựa trên cơ chế chuyển nguyên tử hydro (HAT), sử dụng thuốc thử 2,2'-azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH) phản ứng tạo gốc peroxy. Đo huỳnh quang để xác định mức độ phản ứng với gốc peroxy. Hoạt tính chống oxy hóa được đánh giá bằng thời gian phát huỳnh quang và diện tích dưới đường cong (AUC) của mẫu thử so với mẫu trắng. Trong đó mẫu trắng không có chất chống oxy hóa và sử dụng Trolox làm chuẩn [6-9].

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu nghiên cứu: Lựa chọn các loại mẫu thực phẩm rau, củ, quả tươi và sản phẩm rau, củ, quả có chứa hàm lượng chất chống oxy hóa cao như các loại quả có màu đỏ đến tím chứa nhóm anthocyanin gồm: bắp cải tím, blackberry, nho đen, khoai lang, đậu đen; rau ngót (chứa polyphenol), cà rốt (chứa caroten), mầm bột đậu nành (chứa flavonoid), bột cam (chứa vitamin C) và một số mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe được lấy ngẫu nhiên trên địa bàn Hà Nội.

Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đều là hóa chất có độ tinh khiết phân tích bao gồm: trolox(6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-chroman-2-carboxylic acid) (Sigma), 2,2'-azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH) (TRC), natri fluorescein (Sigma), dipotassium phosphate (Merck), monopotassium phosphate (Merck) caroten, mầm bột đậu nành (chứa flavonoid), bột cam (chứa vitamin C) và một số mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe được lấy ngẫu nhiên trên địa bàn Hà Nội.

2.2. Thiết bị

Thiết bị quang phổ huỳnh quang Synergy™ HT nhiều lần.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp xử lý mẫu

Cân chính xác mẫu đã đồng nhất vào ống ly tâm 50 mL, sử dụng hỗn hợp dung môi acetone : nước (50 : 50) để chiết các chất chống oxy hóa thân nước. Dịch chiết sau đó được lọc và pha loãng đến nồng độ phù hợp trước khi phản ứng với AAPH và đo huỳnh quang.

2.3.2. Phương pháp phân tích

Sử dụng phương pháp ORAC, dựa trên cơ chế HAT, dùng thuốc thử phản ứng tạo gốc peroxy, thường sử dụng một số hợp chất azo, ví dụ 2,2'-azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH).

Diện tích dưới đường cong được tính theo công thức:

$$AUC = 0,5 + f_1 / f_0 + \dots + f_i / f_0 + \dots + f_{34} / f_0 + 0,5 \times (f_{35} / f_0)$$

Trong đó:

- f_0 là giá trị phát huỳnh quang đo được tại thời điểm 0 phút, f_i là giá trị phát huỳnh quang đo được tại thời điểm i phút.

- Lấy giá trị AUC tính được của mẫu trừ đi AUC của mẫu trắng để thu được AUC net. Xây dựng đường chuẩn và tính toán kết quả dựa theo AUC net.

- Kết quả biểu thị dưới dạng đơn vị ORAC trên 100 g, 1 đơn vị ORAC tương đương với $1 \mu\text{M}$ Trolox.

2.4.3. Điều kiện phân tích trên thiết bị

Máy đo huỳnh quang được cài đặt bước sóng kích thích tại $485 \pm 20 \text{ nm}$ và bước sóng phát xạ tại $528 \pm 20 \text{ nm}$. Phản ứng với AAPH xảy ra ở 37°C và kết quả được đo trong 35 phút.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

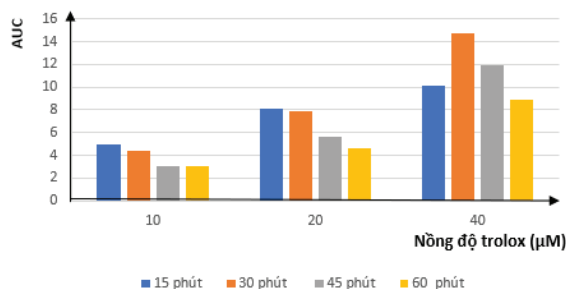
3.1. Xây dựng phương pháp xác định hoạt tính chống oxy hóa

3.1.1. Khảo sát điều kiện đo

Do đặc trưng phát huỳnh quang của fluorescein (FL), bước sóng kích thích và bước sóng phát xạ được lựa chọn lần lượt là $485 \pm 20 \text{ nm}$ và $528 \pm 20 \text{ nm}$. Thời gian đo huỳnh quang được cố định là 35 phút. Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của chất chống oxy hóa đến phản ứng của AAPH với FL.

Nhiệt độ phản ứng ảnh hưởng đến tốc độ phản ứng của mẫu phân tích và thuốc thử. Trên thiết bị đo huỳnh quang Synergy™ HT, kiểm soát được nhiệt độ trong quá trình ủ mẫu. Thực hiện khảo sát nhiệt độ phản ứng của chuẩn Trolox tại các giá trị nhiệt độ gồm: 25°C , 30°C , 35°C , 37°C , 40°C , 45°C và 50°C . Kết quả phân tích cho thấy khi ủ tại nhiệt độ 25°C , diện tích đường chuẩn dưới đường cong thu được không ổn định, khi tăng nhiệt độ phản ứng, tốc độ phản ứng tăng lên nên diện tích tăng và cao nhất tại nhiệt độ 37°C . Khi tiếp tục tăng nhiệt độ phản ứng $40 - 50^\circ\text{C}$, diện tích thu được giảm xuống do nhiệt độ phản ứng không thích hợp. Như vậy, nhiệt độ phản ứng được lựa chọn là 37°C .

Tiến hành khảo sát các mức thời gian phản ứng từ 15 - 60 phút, khi thực hiện phản ứng tại thời gian 15 phút diện tích dưới đường cong thu được không ổn định do quá trình tạo phản ứng với FL chưa đạt tới điểm kết thúc. Diện tích dưới đường cong tăng lên khi thời gian ủ tăng, thu được cao nhất tại thời gian ủ 30 phút và có xu hướng giảm khi tăng thời gian từ 30 - 60 phút (Hình 1). Thời gian 30 phút phù hợp để phản ứng xảy ra hoàn toàn.



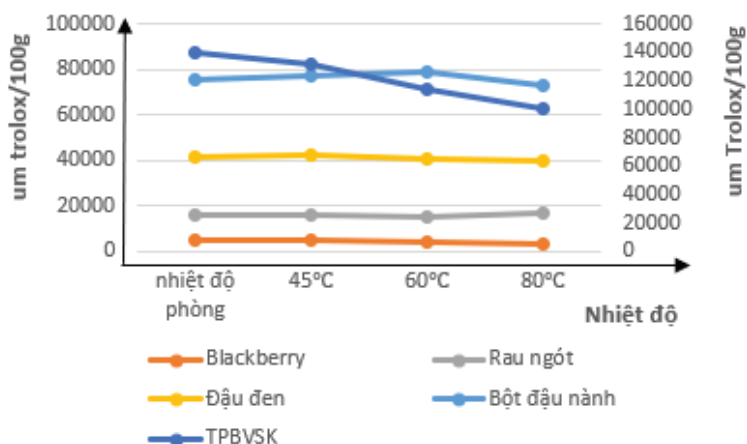
Hình 1. Ảnh hưởng của thời gian phản ứng

3.1.2. Khảo sát quy trình xử lý mẫu

Thành phần các hợp chất tự nhiên trong các đối tượng thực phẩm, thực phẩm bổ sung, thực phẩm bảo vệ sức khỏe rất đa dạng và phong phú, có chứa nhiều các hoạt chất có hoạt tính sinh học khác nhau ảnh hưởng đến quy trình chiết mẫu và quá trình tạo phản ứng với AAPH. Các hợp chất có hoạt tính sinh học có thể tan trong các môi trường dung môi khác nhau: từ phân cực tốt, phân cực vừa và kém phân cực. Trong phạm vi nghiên cứu của hoạt động này tập trung khảo sát các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa có tính chất ưa nước. Tham khảo một số nguồn tài liệu để tối ưu khả năng chiết chất phân tích ra khỏi nền mẫu, nhóm nghiên cứu tiến hành thay đổi dung môi chiết mẫu gồm nước và aceton với các tỷ khác nhau thay đổi từ 100 % nước đến 100 % aceton.

Hàm lượng các chất có hoạt tính chống oxy hóa trong các nền mẫu khác nhau khi chiết trong các tỷ lệ dung môi khác nhau. Khi thực hiện chiết mẫu trong 100 % aceton hàm lượng các chất chống oxy hóa thu được thấp và có xu hướng tăng lên khi tăng tỷ lệ hàm lượng H₂O trong dung môi chiết lên 25, 50, 75, 100 %. Tuy nhiên, tỷ lệ dung môi có khả năng chiết chất phân tích tốt nhất ra khỏi nền mẫu là tỷ lệ H₂O : Aceton = 50 : 50.

Nhiệt độ ảnh hưởng đến khả năng hòa tan, độ bền và độ ổn định của các chất có hoạt tính chống oxy hóa, khi nhiệt độ tăng có thể làm tăng khả năng hòa tan của các chất, đồng thời cũng có thể làm làm cho các chất bị phân hủy. Do đó, chúng tôi đã tiến hành khảo sát nhiệt độ chiết mẫu ở các điều kiện sau: nhiệt độ phòng (25°C), 45°C, 60°C và 80°C (Hình 2).



Hình 2. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ chiết

Hàm lượng hoạt chất chống oxy hóa cao nhất khi chiết tại nhiệt độ phòng và có xu hướng giảm dần khi tăng nhiệt độ lên đối với nền mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe. Hàm lượng hoạt chất chống oxy hóa chiết được trong các mẫu có nguồn gốc tự nhiên không bị ảnh hưởng nhiều bởi nhiệt độ. Một số các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa kém bền, dễ bị phân hủy bởi các điều kiện như: nhiệt độ, ánh sáng (vitamin C) nên khi tăng nhiệt độ các chất bị phân hủy và mất hoạt tính dẫn đến kết quả chỉ số chống oxy hóa thu được thấp. Hơn nữa, khi thực hiện chiết mẫu ở nhiệt độ cao 80°C, dung môi bị bay hơi nên quá trình chiết không ổn định và hiệu quả chiết mẫu bị giảm. Do đó, nhiệt độ chiết mẫu được lựa chọn là nhiệt độ phòng.

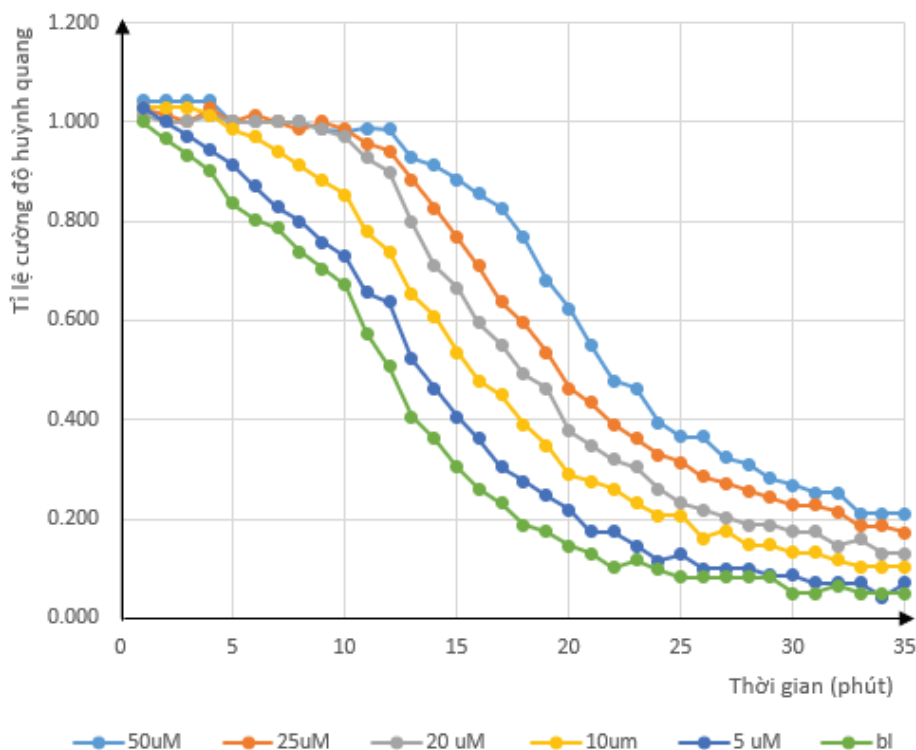
Lượng dung môi chiết mẫu có ảnh hưởng đến khả năng hòa tan của chất phân tích, khi lượng dung môi chiết mẫu không đủ, các chất phân tích không được phân tán đều trong dung môi nên

không được hòa tan hoàn toàn dẫn đến kết quả thu được thấp. Kết quả cho thấy, nếu sử dụng 50 mL dung môi tiến hành chiết 01 lần, các chất có hoạt tính chống oxy hóa chưa hòa tan hết nên hàm lượng hoạt tính chống oxy hóa trong các nền mẫu thu được thấp. Khi tăng số lần lên 02 lần các chất thu được tăng lên và thay đổi không đáng kể khi chiết lặp 03 lần. Thực hiện chiết mẫu trong các khoảng thời gian khác nhau: 15, 30, 60, 90 và 120 phút. Khi thời gian chiết mẫu thời gian ngắn (15 - 30 phút), các chất chống oxy hóa chưa hòa tan hoàn toàn trong dung môi chiết nên hàm lượng chất phân tích thu được thấp. Khi tăng thời gian chiết mẫu từ 30 - 60 phút chất phân tích thu được tăng lên đáng kể và thay đổi không đáng kể khi tăng lên 90 phút. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng thời gian chiết mẫu hàm lượng chất phân tích thu được có xu hướng giảm xuống do một số chất chống oxy hóa dễ bị phân hủy bởi các tác nhân như ánh sáng, nhiệt độ nên làm mất hoạt tính của các chất chống oxy hóa. Vì vậy để có thể đạt được hiệu quả chiết tốt nhất nhóm nghiên cứu thực hiện chiết lặp lại 2 lần với tổng thời gian chiết 60 phút.

3.2. Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp

3.2.1. Khoảng tuyến tính và đường chuẩn

Để xác định khoảng tuyến tính, tiến hành đo các dung dịch chuẩn Trolox có nồng độ trong khoảng 5 - 50 μM (Hình 3). Đường chuẩn được xây dựng trong khoảng 5 - 50 μM Trolox, với hệ số hồi quy tuyến tính $R^2 = 0,9987$ và độ lệch bias của các điểm trong đường chuẩn đều nhỏ hơn 15 %.



Hình 3. Đường cong phân rã huỳnh quang của đường chuẩn

3.2.2. Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Do đặc trưng phát huỳnh quang của fluorescein (FL), bước sóng kích thích và bước sóng phát xạ được lựa chọn lần lượt là 485 ± 20 nm và 528 ± 20 nm. Thời gian đo huỳnh quang được cố định là 35 phút. Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của chất chống oxy hóa đến phản ứng của AAPH với FL.

3.2.3. Độ lặp lại

Trên nền mẫu thực, tiến hành phân tích lặp lại 6 lần, tính giá trị RSD %. Kết quả phân tích thu được: Nền mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe, nền mẫu rau ngót, nền mẫu dưa hấu, nền mẫu đậu đen và nền mẫu blackberry cho độ lặp lại RSD % lần lượt là 3,15; 4,05; 5,23; 4,69 và 3,48 %. Các nền mẫu đều cho kết quả độ lặp lại tốt, đạt yêu cầu theo AOAC.

3.2.4. Độ tái lập nội bộ

Để đánh giá độ tái lập nội bộ của phương pháp, trong nghiên cứu này chúng tôi đã phân tích trên các nền mẫu: nền mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe, nền mẫu rau ngót, nền mẫu dưa hấu, nền mẫu đậu đen và nền mẫu blackberry. Mỗi nền mẫu, tiến hành phân tích lặp lại giữa hai kiểm nghiệm viên vào hai ngày khác nhau để đánh giá độ tái lập nội bộ. Kết quả phân tích cho thấy độ lặp lại tốt đạt yêu cầu AOAC với RSD % lần lượt của thực phẩm bảo vệ sức khỏe, rau ngót, dưa hấu, đậu đen và blackberry lần lượt là: 4,20; 3,93; 7,27; 5,43 và 3,64 %. Các nền mẫu đều cho kết quả độ tái lập nội bộ tốt, đạt yêu cầu theo AOAC.

3.2.5. Độ thu hồi

Để đánh giá độ thu hồi, thêm chuẩn vitamin C vào nền mẫu tại 03 mức nồng độ, mỗi mức phân tích lặp lại 04 lần, tính toán độ thu hồi đạt từ 93,2 - 104 %.

3.2.6. Độ không đảm bảo đo

Độ không đảm bảo đo của phương pháp được tính toán theo hướng dẫn của AOAC. Độ không đảm bảo đo mở rộng của từng nền mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe, rau ngót, dưa hấu, đậu đen và blackberry lần lượt là: 10,4; 11,1; 18,2; 14,5 và 9,5 %.

3.3. Kết quả phân tích mẫu thực

Sau khi khảo sát và đánh giá quy trình phân tích, chúng tôi áp dụng để phân tích các mẫu thực phẩm rau, củ, quả và sản phẩm rau, củ, quả, TPBVSK. Mẫu được thu thập trên thị trường Hà Nội gồm 30 mẫu thuộc các nền mẫu khác nhau (rau, củ, quả), 15 mẫu sản phẩm rau, củ, quả, 20 mẫu TPBVSK. Kết quả thu được được trình bày trong Bảng 1.

Các kết quả cho thấy hàm lượng chất chống oxy hóa trong thực phẩm có thể khác nhau hàng nghìn lần. Các loại rau và hạt khác nhau có nồng độ chất chống oxy hóa khá cao, điều này có thể giải thích bằng hàm lượng nước chứa trong rau và hạt thấp hơn rất nhiều so với trái cây tươi. Thành phần có hoạt tính chống oxy hóa có thể đến từ các polyphenol (trong rau ngót), anthocyanin, anthocyanidin (trong đậu đen) hay các flavonoid,... Các mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe có hàm lượng chất chống oxy hóa rất cao do thành phần của chúng đa số là chiết xuất từ các thảo dược, ngoài ra chúng còn được bổ sung thêm các vitamin, các chất khác có khả năng chống oxy hóa. Mẫu blackberry cho kết quả hoạt tính chống oxy hóa tương đồng với công bố của Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ (USDA) trong khi đó mẫu nho đen cho kết quả cao hơn khá nhiều so với công bố của USDA (1,746 μ M TE/100g).

Bảng 1. Kết quả phân tích

<i>Nền mẫu</i>	<i>Số lượng mẫu</i>	<i>Trung bình ($\mu\text{M TE}/100\text{g}$)</i>	<i>Trung vị ($\mu\text{M TE}/100\text{g}$)</i>	<i>Min ($\mu\text{M TE}/100\text{g}$)</i>	<i>Maz ($\mu\text{M TE}/100\text{g}$)</i>
<i>TPBVSK</i>	20	221823	254973	20393	310878
<i>Rau ngót</i>	5	12986	13098	12465	13345
<i>Bắp cải tím</i>	5	2555	2517	2210	2844
<i>Blackberry</i>	5	5630	5624	5377	5867
<i>Nho đen</i>	5	3494	3477	3325	3687
<i>Cà rốt</i>	5	751	746	720	798
<i>Khoai lang</i>	5	2379	2223	2153	2844
<i>Đậu đen</i>	5	23831	23115	22943	25212
<i>Mầm bột đậu nành</i>	5	36864	37123	35157	38251
<i>Bột cam</i>	5	14416	14338	13524	15224

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã thành công trong việc xác định hoạt tính chống oxy hóa trong một số thực phẩm bằng phương pháp ORAC. Đã xây dựng được quy trình phân tích xác định tổng hoạt tính chống oxy hóa thân nước trong thực phẩm bằng phương pháp ORAC. Quy trình phân tích đã được đánh giá các thông số cơ bản như đường chuẩn, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, độ lặp lại, độ chính xác và được phê duyệt áp dụng tại phòng thí nghiệm đạt yêu cầu theo ISO/IEC 17025 : 2017 trên các nền mẫu thực phẩm và thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. A. Phaniendra, D. B. Jestadi, and L. Periyasamy, "Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases," *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, vol. 30, pp. 11-26, 2015.
- [2]. I. Gülcin, "Antioxidant activity of food constituents: an overview," *Archives of Toxicology*, vol. 86, pp. 345-391, 2012.
- [3]. A. Karadag, B. Ozcelik, and S. Saner, "Review of methods to determine antioxidant capacities," *Food Analytical Methods*, vol. 2, pp. 41-60, 2009.
- [4]. V. T. Trang, L. T. H. Hao, N. D. Hao, N. H. Thu, L. H. Duc, và N. X. Trung, "Xác định tính chống oxy hóa của một số anthocyanin và anthocyanidin bằng phương pháp đo quang sử dụng phản ứng với 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)," *Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học*, tập 23, số 5, tr. 33-38, 2018.
- [5]. B. S. Haytowitz DB, "USDA Database for the Oxygen Radical Absorbance (ORAC) of selected foods," *Release 2*, May 2010.

- [6]. G. Cao, E. Sofic, and R. L. Prior, "Antioxidant capacity of tea and common vegetables," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 44, pp. 3426-3431, 1996.
- [7]. AOAC Official Method 2012.23, "Total antioxidant activity oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using fluorescein as the fluorescence probe," *First Action*, 2012.
- [8]. B. Ou, M. Hampsch-Woodill, and R. L. Prior, "Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 49, pp. 4619-4626, 2001.

Determination of antioxidant capacity in some foods by oxygen radical absorbance capacity (ORAC)

Le Thi Thuy¹, Nguyen Nhu Thuong¹, Nguyen Thi Bang²,
Do Truc Quynh³, Vu Thi Trang¹, Pham Thi Ngoc Mai²

¹National institute for Food Control, Hanoi, Vietnam

²University of Science, Vietnam National University, Hanoi, Vietnam

³Vietnam Univesity of Traditional Medicine, Hanoi, Vietnam

Abstract

Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay has been applied to determine the Hydrophilic - ORAC index in food. The method measures antioxidant scavenging activity against peroxy radical induced by 2,2'-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH) at 37°C, used fluorescein as the fluorescent probe. The antioxidant capacity is measured by assessing the fluorescence decay curve (AUC) of the sample as compared to that of the blank in which no antioxidant is present. Results expressed in ORAC units, equivalent to micromole Trolox per 100 grams sample (Trolox equivalent). The method was shown with high selectivity, a wide linear range, from 5 to 50 μM Trolox with linear coefficient R^2 of 0.9987. The recovery from 93.2 to 104.4 % and repeatability (RSD) was less than 6.60 %. The limits of detection and quantitation were 5 and 10 μM Trolox, respectively. The method has been applied to determine of H-ORAC index in 65 samples including vegetables, fruits, vegetable products and health supplements with content ranging from 720 to 310878 $\mu\text{M TE}/100\text{g}$.

Keywords: phytoestrogen, puerarin, daidzein, miroestrol, HPLC, dietary supplement.