



Original Article

Analysis of Triacylglyceride and Conjugated Fatty Acid Compositions in Seed Oils of some Plants of Cucurbitaceae Family in Vietnam

Nguyen Van Anh^{1,*}, Vu Thi Ngoc Anh²

¹Ho Chi Minh City University of Food Industry, 140 Le Trong Tan, Tan Phu, Ho Chi Minh, Vietnam

²Environmental Analysis Laboratory, Southern Branch of Vietnam-Russia Tropical Center, 3/2 Street, District 10, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 27 October 2021

Revised 18 May 2022; Accepted 24 May 2022

Abstract: Conjugated fatty acids were known potential sources for the pharmaceutical industry with beneficial bioactivities, including anti-cancer effects, anti-diabetes, anti-obesity, and anti-inflammatory properties. In the present work, characteristics of triglycerides and fatty acids of the seed oils of five plants (*Momordica Cochinchinensis* (Lour.) Spreng, *Momordica subangulata* Blume, *Momordica charantia*, *Thladiantha nudiflora* Hemsl, and *Trichosanthes cucumerina* var. *anguina*) in Vietnam were analyzed by UV and FTIR spectroscopy and reversed-phase high-performance

liquid chromatography. Triacylglycerides compositions of the seed oils were determined using RP-HPLC with a DAD detector connected with an MS detector in series. The seed oils of *M. Cochinchinensis*, *M. subangulata*, and *M. charantia* are rich sources of conjugated octadecatrienoic acid with α -eleostearic acid (C18:3^{9E,11E,13Z}) as the base acid and β -eleostearic as the minor conjugated acid. In the seed of *Thladiantha nudiflora* (*T. nudiflora*), both α -eleostearic and punicic acid (C18:3^{9Z,11E,13Z}) were synthesized with approximately equal proportions. In *T. cucumerina* var. *anguina* seed oil, punicic acid was synthesized as the main conjugated fatty acid. In addition, some oil parameters, such as oil yield and their refractive index, were determined.

Keywords: Seed oils, triacylglycerides, conjugated fatty acid, Cucurbitaceae.

* Corresponding author.

E-mail address: anhnv@hufi.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5361>

Nghiên cứu thành phần triglixerit và axit béo liên hợp trong dầu hạt của một số loài thuộc họ cucurbitaceae ở Việt Nam

Nguyễn Văn Anh^{1,*}, Vũ Thị Ngọc Ánh²

¹Trường Đại học Công nghiệp Thực Phẩm Thành phố Hồ Chí Minh,
140 Lê Trọng Tấn, Tân Phú, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trung tâm nhiệt đới Việt-Nga, 3 đường 3/2, Quận 10, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Nhận ngày 27 tháng 10 năm 2021

Chỉnh sửa ngày 18 tháng 5 năm 2022; Chấp nhận đăng ngày 24 tháng 5 năm 2022

Tóm tắt: Các axit béo liên hợp được biết như những nguồn tiềm năng cho công nghiệp dược phẩm với hoạt tính sinh học có giá trị, bao gồm khả năng chống ung thư, chống tiêu đường, chống béo phì và khả năng chống viêm. Trong nghiên cứu này, các đặc điểm của triglixerit và axit béo trong dầu hạt của 5 loài ở Việt Nam (*Momordica Cochinchinensis* (Lour.) Spreng, *Momordica subangulata* Blume, *Momordica charantia*, *Thladiantha nudiflora* Hemsl, và *Trichosanthes cucumerina* var. *anguina*) đã được phân tích bằng phổ UV, FTIR và sắc ký lỏng hiệu năng cao pha đảo (RP-HPLC). Thành phần các triglixerit của các dầu hạt đã được xác định sử dụng RP-HPLC với đầu dò diot quang DAD kết nối với khối phổ MS. Kết quả chỉ ra rằng, các dầu hạt của *M. Cochinchinensis*, *M. subangulata*, và *M. charantia* là những nguồn giàu các axit béo octadecatrienoic với thành phần chính là α -eleostearic axit, và một lượng nhỏ β -eleostearic axit. Trong dầu hạt *T. nudiflora*, cả α -eleostearic và axit punicic được tổng hợp với tỉ lệ xấp xỉ nhau. Trong khi đó, axit punicic được tổng hợp như là thành phần chính của axit liên hợp trong dầu hạt *T. cucumerina* var. *Anguina*. Ngoài ra, hàm lượng dầu béo, chỉ số khúc xạ của các loại dầu trên đã được xác định.

Từ khóa: Dầu hạt, triglixerit, axit béo liên hợp, cucurbitaceae.

1. Đặt vấn đề

Dầu thực vật với thành phần giàu axit béo không no là một nguồn nguyên liệu có giá trị trong sản xuất thực phẩm chức năng. Các axit béo chưa no không những là nguồn cung cấp năng lượng cho cơ thể, một số axit béo (ω -3, ω -6, ω -9) đóng vai trò là các axit thiết yếu, không thể tự tổng hợp trong cơ thể con người và cần phải được bổ xung từ các nguồn bên ngoài. Đặc biệt, các axit béo chứa các nối đôi C=C liên hợp gần đây đang được nhiều nhà khoa học quan tâm bởi một số hoạt tính sinh học quý [1-5]; bao gồm hoạt tính chống ung thư, tác dụng chống bệnh tiểu đường, chống

béo phì với khả năng bình thường hóa quá trình chuyển hóa axit béo trong cơ thể và đặc tính chống viêm. Các hoạt tính chống ung thư của axit octadecatrienoic liên hợp được Hennessy [6] và Yuan [7] tổng kết, bao gồm gây độc tế bào đối với một số nhóm tế bào ung thư: HepG2 (gan; A549 (phổi); U-937 (bạch cầu); MDA-MB-231, MDA-ERa7v, MCF-7 (vú); MKN-7 (dạ dày); PC12, SHSY5Y, NG108-15 (thần kinh); DLD-1 (đại trực tràng); T24 (bàng quang); PC-3, LNCaP, DU 145 (tuyến tiền liệt) và 3T3-L1 (tế bào tiền bạch cầu). Các axit octadecadienoic liên hợp thường tồn tại chủ yếu trong sản phẩm của bơ sữa [8] với hàm lượng rất nhỏ, chính vì vậy việc chiết xuất và thương mại hóa trở lên khó khăn, trong khi đó các axit octadecatrienoic liên hợp được tìm thấy như là một thành phần chính trong dầu của một số loại

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: anhnv@hufi.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5361>

hạt [6]. Trong dầu thực vật, các axit béo tồn tại chủ yếu dưới dạng các triglixerit (trên 95%), phân bố vào trong mạch của glixerol. Chính vì vậy, phân tích thành phần triglixerit không những cung cấp thông tin chính xác thành phần của axit béo trong dầu mà còn cung cấp thông tin về sự phân bố của các axit đó trong các triglixerit - đây là một đặc tính quan trọng có thể được sử dụng để xác định tính giả mạo trong chất béo [9].

Hạt của một số loài thuộc họ Cucurbitaceae có thể được phân loại là hạt có dầu, vì hạt có chứa khoảng 50% dầu và 35% protein theo trọng lượng [10]. Một số dầu hạt trong họ Cucurbitaceae đã được nghiên cứu là chứa các axit béo octadecatrienoic liên hợp (axit linolenic liên hợp) (CLnA) [11], điều đó làm tăng giá trị thương mại khi được ứng dụng làm dầu khô, hoặc nguồn để sản xuất thực phẩm chức năng. Các nghiên cứu bước đầu về thành phần axit béo liên hợp trong một số loài thuộc họ Cucurbitaceae ở Việt Nam đã được đề cập tới trong nghiên cứu của nhóm tác giả Phạm Quốc Long [12]. Trong nghiên cứu này chúng tôi tập trung nghiên cứu thành phần triglixerit và các axit béo chứa đôi nối liên hợp trong năm loài (*M. Cochinchinesis*, *M. Subangulata*, *M. Charantia*, *T. nudiflora* và *T. Cucumerina* var. *Anguina*) thuộc họ Cucurbitaceae ở Việt Nam.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Mẫu hạt *M. subangulata* Blume (gấc cạnh), *T. nudiflora* Hemsl (xích bào hoa trần, khó áo trần) được thu hái vào tháng 10 năm 2018 tại Lâm Đồng được TS. Nguyễn Quốc Bình - Bảo tàng thiên nhiên (Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) định tên khoa học và lưu giữ tiêu bản. Mẫu hạt *T. cucumerina* var. *anguina* (lặc lè), *M. cochinchinensis* (Lour.) Spreng (gấc), và *M. charantia* (mướp đắng) được thu tại Hoài Đức, Hà Nội vào tháng 10 năm 2020.

2.2. Hóa chất, thiết bị

Các dung môi dùng: isopropanol, acetonitrile, *n*-hexan và acetone của hãng Sigma-Aldrich.

Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC DAD/MS Agilent 1260 infinity được sử dụng cho quá trình tách triglixerit.

Các sắc ký đồ được ghi lại, xử lý bằng phần mềm Agilent Chemstation và MagicPlot Student để tách các cặp triglixerit chưa tách hoàn toàn sử dụng hàm Gaussian.

Phổ hấp thụ UV-VIS của các dung dịch chiết trong *n*-hexan được đo trên máy Shimadzu UV-1550, Phổ FTIR của dầu hạt được đo trên Shimadzu IR-Prestige trong khoảng số sóng 450-4000 cm⁻¹ trên bản mỏng KBr.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp chiết và xác định hàm lượng dầu tổng

Hạt khô sau khi được tách bỏ lớp vỏ, nhân hạt (m_{sample}) (2 g) được nghiền nhỏ và chiết 5 lần, mỗi lần 20 ml *n*-hexan ở nhiệt độ phòng đến khi toàn bộ lượng dầu được chiết hết (kiểm tra bằng phổ UV-VIS khi mật độ quang của dung dịch chiết cuối cùng tại bước sóng 270 nm nhỏ hơn 0,02). Dịch chiết được cất quay chân không ở 30 °C để bay hơi hoàn toàn dung môi và hàm lượng dầu tổng trong hạt được xác định bằng phương pháp khối lượng. Mẫu dầu thu được được làm sạch bằng phương pháp chiết pha rắn sử dụng silica gel làm pha tĩnh trên cột chiết DIAPAK C cartridges (BioChemMak ST, Moscow) sử dụng dung môi acetone để rửa giải. Sau khi đuổi dung môi, dầu sạch được lưu giữ ở -20 °C đến khi tiến hành phân tích.

Hàm lượng dầu tổng được xác định theo

$$\text{công thức: } \%DW = \frac{m_{\text{oil}}}{m_{\text{sample}}} \times 100$$

2.3.2. Phương pháp HPLC và HPLC-MS trong phân tích các triglixerit

Các triglixerit được tách bằng phương pháp HPLC và HPLC-MS trên hệ thống Agilent 1260 infinity. Điều kiện sắc ký: cột tách Kromasil 100-5-C18 4.6×250 mm, đầu dò DAD tại bước sóng $\lambda = 278$ nm, nhiệt độ cột sắc ký

30 °C, tốc độ dòng 0.8 ml/min, chế độ đẳng dòng; pha động: hệ dung môi acetontrile và isopropanol. Đối với đầu dò khối phổ MS, sử dụng cột tách Kromasil 110-3.5-C18 2.1×150 mm, tốc độ dòng 0.2 ml/min. Chế độ ion hóa hóa học tại áp suất khí quyển (APCI) trong các điều kiện thông thường ở điện áp phân mảnh 160 V; áp dụng tín hiệu phân tích các ion tích điện dương. Để tăng khả năng ion hóa của phân tử triglycerit, một lượng thích hợp HCOONH₄ đã được thêm vào trong thành phần pha động sao cho nồng độ HCOONH₄ trong pha động là 10 mM.

- Phân tích định tính các triglycerit

Để định tính các triglycerit, phương pháp số gia (incremental approach) [13] đã được sử dụng để định danh triglycerit. Kết quả định danh các pic được xác nhận lại bằng phổ hấp thụ electron của từng triglycerit và thông tin khối phổ.

Phương pháp số gia dựa trên sự khác biệt về logarit của các hệ số lưu giữ của triglycerit (số gia $\Delta(i \rightarrow j)$) khi thay thế một gốc axit béo trong phân tử triglycerit bằng một gốc axit béo khác. $\Delta(i \rightarrow j)$ không phụ thuộc vào cấu trúc của hai gốc axit béo còn lại, điều không bị thay thế trong phân tử triglycerit.

Ví dụ: số gia $\Delta(L \rightarrow O) = \log k(XYO) - \log k(XYL)$

$$\text{Trong đó } \log k(XYO) = \log \frac{t_R - t_M}{t_M}$$

Thời gian chết của cột (t_M) được xác định thông qua thời gian giữ của NaNO₃. Trong nghiên cứu này $t_0 = 3,11$ phút.

- Phân tích định lượng các triglycerit và axit béo

Các triglycerit được định lượng bằng phương pháp chuẩn hóa diện tích, sử dụng diện tích các pic tại bước sóng “giả đẳng quang” của các axit béo octadecatrienoic liên hợp [14].

Phần mol của các triglycerit có trong dầu hạt được tính theo công thức:

$$\alpha(\text{TG}_i) = \frac{S_i}{\sum_i S_i} \times 100\%$$

Trong đó:

S_i là diện tích của triglycerit i ;

n_i - là số lượng gốc axit béo liên hợp có trong phân tử triglycerit i .

Phần mol của các axit béo trong thành phần triglycerit được tính theo công thức:

n_{ij} - là số lượng gốc axit béo j có trong phân tử triglycerit i .

Mỗi phép đo được tiến hành 3 lần, lấy kết quả trung bình.

2.4. Kí hiệu viết tắt

Các triglycerit được kí hiệu theo quy ước, sử dụng các chữ cái đại diện cho các gốc axit béo và không có sự phân biệt vị trí của các gốc axit béo trong mạch glycerol. Trong đó:

L - Linoleic axit (C18:2^{9Z,13Z}); O - Oleic axit (C18:1^{9Z}); S - Stearic axit (C18:0); P - Palmitic axit (C16:0); αE - α -eleostearic axit (C18:3^{9Z,11E,13E}); βE - β -eleostearic axit (C18:3^{9E,11E,13E}) và Pu - Punicic axit (C18:3^{9Z,11E,13Z});

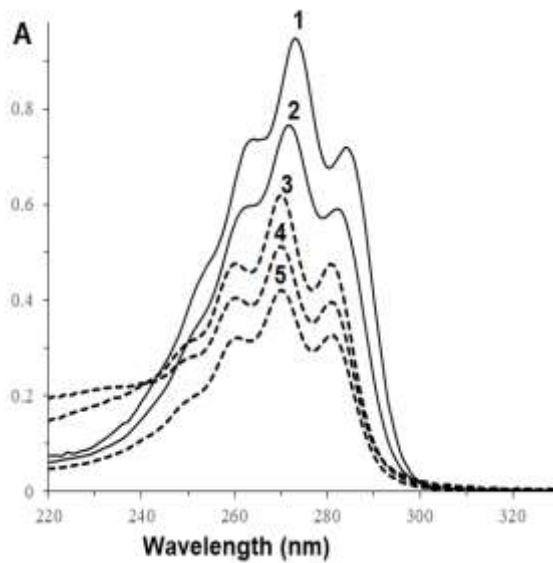
Ví dụ: Triglycerit αELO (α -eleostearat linolea oleat): triglycerit tạo bởi ba gốc axit: α -eleostearic, linoleic và oleic axit.

3. Nghiên cứu và thảo luận

3.1. Phân tích thành phần của các triglycerit có trong dầu thực vật

Chú ý rằng, phổ hấp thụ electron phân tử của các axit chứa 3 nối đôi C=C liên hợp có hình dạng đặc trưng với ba đỉnh pic nằm trong vùng 260-280 nm [15]. Chính vì vậy, để phát hiện nhanh dầu hạt chứa nối đôi liên hợp trong các loài thuộc họ Cucurbitaceae chúng tôi tiến hành đo phổ hấp thụ electron của các dung dịch chiết các mẫu hạt trong n-hexan (Hình 1).

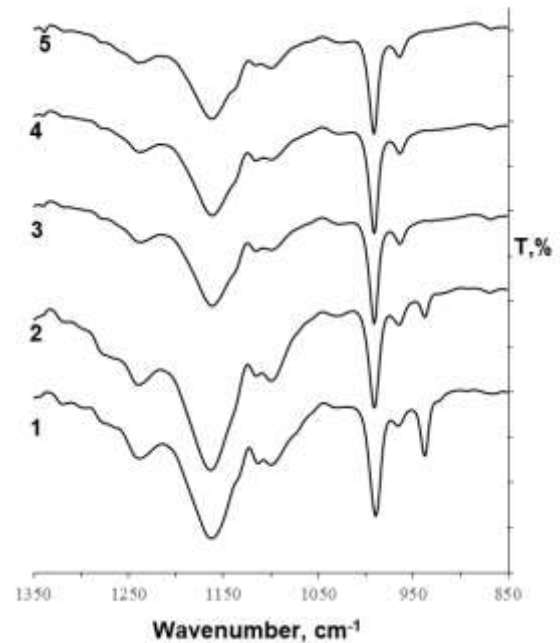
Kết quả chỉ ra rằng, phổ UV của cả 5 mẫu dầu hạt đều có hình dạng đặc trưng của hợp chất chứa ba nối đôi C=C liên hợp với 3 đỉnh phổ rõ, trong đó đỉnh phổ ở giữa có cường độ cao hơn hai đỉnh phổ còn lại. Điều này khẳng định rằng trong dầu hạt của 5 mẫu phân tích đều chứa các gốc axit béo với ba nối đôi C=C liên hợp.



Hình 1. Phổ hấp thụ của dung dịch chiết các mẫu hạt trong dung môi n-hexan; 1- *T. cucumerina* var. *Anguina*, 2- *T. nudiflora*, 3- *M. subangulat*, 4- *M. cochinchinensis*, 5- *M. charantia*.

Phổ UV của 3 dầu hạt thuộc chi *Momordica* có hình dạng và vị trí cực đại hấp thụ gần như hoàn toàn giống nhau. Trong khi đó phổ UV của dầu hạt *T. nudiflora* có sự dịch chuyển về vùng có bước sóng dài hơn (dịch chuyển đỏ) so với phổ UV của dầu hạt các mẫu thuộc chi *Momordica*, đồng thời có sự dịch chuyển về vùng có bước sóng ngắn hơn (dịch chuyển xanh) so với phổ electron của dầu hạt *Trichosanthes*. Sự chuyển dịch cực đại hấp thụ trên phổ UV của dầu hạt *T. nudiflora* và *T. Cucumerina* var. *anguina* chỉ ra rằng trong dầu hạt của hai loài này chứa axit béo với gốc hydrocarbon có ba nối đôi C=C liên hợp có cấu hình khác với cấu hình của axit béo liên hợp trong dầu hạt từ các mẫu thuộc chi *Momordica* (có sự thay thế cấu hình dạng trans trong hệ liên hợp bằng cấu hình cis). Kết luận này phù hợp với các dữ liệu trong các tài liệu tham khảo về sự có mặt của axit punicic (C18:3^{9Z,11E,13Z}) trong dầu hạt của một loài *Trichosanthes* khác (*T. Kirilowii*), trong khi đó axit liên hợp chính trong dầu hạt một số loài thuộc chi *Momordica* là axit α -eleostearic (C18:3^{9E,11E,13Z}) [15].

Phổ IR của 5 mẫu phân tích đã được nghiên cứu (Hình 2) trong vùng số sóng từ 800-1000 cm^{-1} .



Hình 2. Phổ IR của dầu hạt 1- *T. cucumerina* var. *Anguina*, 2- *T. nudiflora*, 3- *M. subangulat*, 4- *M. cochinchinensis*, 5- *M. Charantia*.

Kết quả cũng thu được phổ IR trong dầu của ba loài thuộc chi *Momordica* là giống nhau với 2 đỉnh hấp thụ ở vùng 991 cm^{-1} (cường độ cao hơn) và 964 cm^{-1} . Trong khi đó, phổ IR của dầu hạt *thladiantha* và *trichosanthes* xuất hiện 3 đỉnh phổ 991, 964 và 937 cm^{-1} . Các đặc điểm này đặc trưng cho sự có mặt của axit béo chứa 3 nối đôi C=C liên hợp trong phân tử [16] của cả 5 mẫu dầu phân tích. Ngoài ra, tổng hàm lượng lipid có trong dầu béo, chỉ số khúc xạ của dầu hạt thu được đã được xác định. Kết quả chỉ ra rằng, hàm lượng lipid tổng (trong mẫu khô) và chỉ số khúc xạ n_D^{25} của dầu hạt *M. Cochichinenis* là 42,4% và 1,489; của dầu hạt *M. Charantia* là 41,5% và 1,501; của dầu hạt *M. subangulata* là 39,5% và 1,478; của dầu hạt *T. nudiflora* là 31,8% và 1,495; của dầu hạt *T. cucumerina* là 45,7 và 1,497. Giá trị chỉ số khúc xạ của cả 5 loại dầu hạt khá cao, nằm trong khoảng 1,47-1,50 phù hợp với kết quả xác định chỉ số khúc xạ của một số dầu chứa hàm

lượng lớn axit octadecatrienoic khác (dầu hạt lựu, dầu hạt lạnh).

Với sự có mặt của các axit béo chứa nối đôi liên hợp trong thành phần dầu hạt của các mẫu phân tích, chúng tôi đã tiến hành phân tích thành phần triglycerit có trong dầu hạt bằng

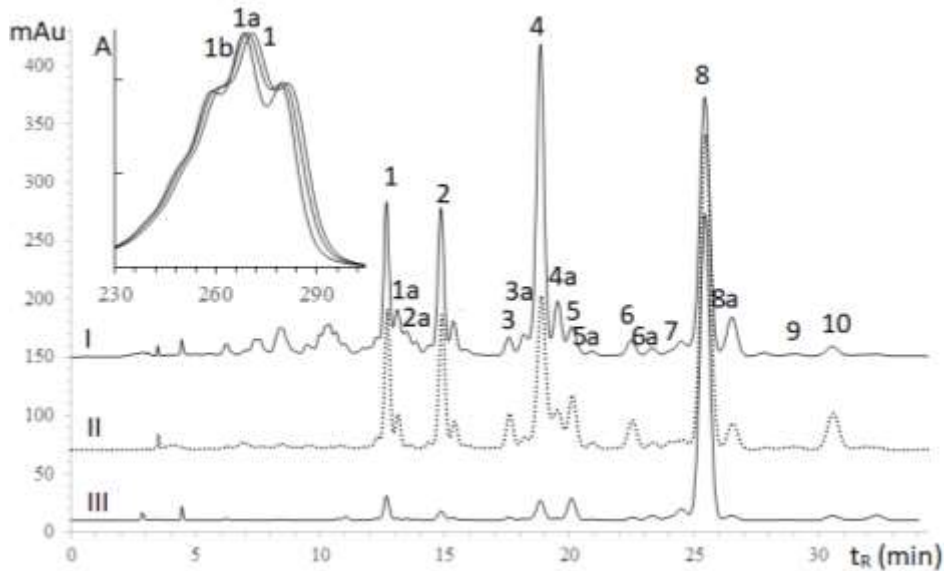
phương pháp HPLC với đầu dò DAD. Trong nghiên cứu này các triglycerit có trong 5 mẫu dầu hạt được tách bằng cột Kromasil C18 với hệ dung môi acetonitrile và isopropanol. Sắc ký đồ triglycerit của 3 dầu hạt thuộc chi *Momordica* được thể hiện trong Hình 3.

Bảng 1. Các thông số sắc ký của quá trình tách dầu hạt morordica *M. cochochinensis*, *M. subangulata* và *M. charantia* và hàm lượng triglycerit

No*	TGs	t _R , min	logk	$\Delta(X \rightarrow Y) = \log k(ABY) - \log k(ABX)$				M/z [M+NH ₄] ⁺	Hàm lượng của triglycerit**, %		
				E→L	L→O	O→P	P→S		M. Su	M. Co	M. Ch
1	<i>αE₃</i>	12,67	0,490					890,7	1,88	5,11	5,59
2	<i>αE₂L</i>	14,86	0,579	0,089				892,7	1,31	8,50	9,04
3	<i>αEL₂</i>	17,58	0,669	0,090				894,6	0,91	4,85	2,67
4	<i>αE₂O</i>	18,86	0,706		0,127			894,6	3,52	12,71	24,45
5	<i>αE₂P</i>	20,12	0,740			0,033		896,7	4,05	4,45	2,62
6	<i>αELO</i>	22,52	0,797	0,091				896,7	1,06	5,56	3,08
7	<i>αELP</i>	24,06	0,830			0,033		870,7	1,12	1,68	1,32
8	<i>αE₂S</i>	25,46	0,858				0,119	896,8	70,43	31,10	25,74
9	<i>αEO₂</i>	29,07	0,923		0,126			898,6	2,24	1,02	1,04
10	<i>αELC</i>	30,56	0,947	0,089			0,117	898,7	3,09	8,79	2,74
Giá trị trung bình				0,090	0,127	0,033	0,118	-	-	-	-

* Đánh số các TGs theo Hình 3

**Thành phần tương đối về phân mol giữa các triglycerit trong dầu hạt



Hình 3. Sắc ký đồ triglycerit trong dầu hạt *Momordica Charantia* (I), *M. cochinchinensis* (II) và *M. subangulata* (III). Điều kiện chạy sắc ký: Cột tách Kromasil 100*5C18 250*4.6 mm; pha động 42% isopropanol và 58% acetonitrile; tốc độ dòng 0.8 ml/min, nhiệt độ cột 30 °C, bước sóng λ=278 nm.

Sắc ký đồ chỉ ra rằng, cả 3 mẫu dầu đều chứa 10 triglixerit chính với phổ hấp thụ UV giống nhau với ba đỉnh hấp thụ cực đại 269, 271 và 280 nm. Điều này chứng tỏ rằng cả 10 triglixerit đó đều chứa cùng một loại axit béo liên hợp duy nhất – α -eleostearic axit. Thành phần của 10 triglixerit này được xác định bằng phương pháp số gia [13] (chỉ ra trong Bảng 1), trong đó số gia $\Delta(i \rightarrow j)$ tương ứng với sự thay thế của gốc axit j bằng gốc axit i trong phân tử triglixerit trong khi hai gốc axit còn lại được giữ không đổi.

Từ bảng 1 thấy rằng, số gia khi thay thế một gốc α -eleostearic axit bằng một gốc linoleic có độ lặp lại tốt (với sai số $\pm 0,002$); giá trị trung bình $\Delta(\alpha E \rightarrow L) = 0,090$; tương tự $\Delta(L \rightarrow O) = 0,127$; $\Delta(O \rightarrow P) = 0,033$ và $\Delta(P \rightarrow S) = 0,118$. Kết quả định tính các triglixerit bằng phương pháp số gia được xác nhận bằng kết quả phổ khối với mảnh ion cơ bản $[M+NH_4]^+$.

Ngoài 10 thành phần chính trên, trong sắc ký đồ quan sát thấy hiện tượng “nhân bản” các pic chính, bên cạnh mỗi pic chính xuất hiện một nhóm các pic nhỏ hơn, với tốc độ rửa giải chậm hơn các pic chính, và phổ electron của các pic nhỏ có sự chuyển dịch xanh so với các đỉnh phổ electron của các pic chính. Điều đó khẳng định rằng, trong các pic nhỏ có sự thay thế một hay nhiều gốc α -eleostearic axit bằng một hay nhiều gốc axit linolenic liên hợp khác [15].

Chú ý rằng, trong tự nhiên các CLnA được tìm thấy bao gồm các đồng phân chứa 3 nối đôi C=C ở vị trí 8, 10, 12 hoặc 9, 11, 13 trong đó nối đôi C=C ở giữa chỉ có cấu hình trans [6]. Chính vì vậy CLnAs được bắt gặp trong các nguồn tự nhiên bao gồm 7 đồng phân: α - eleostearic (18:3^{9E,11E,13Z}); β - eleostearic (18:3^{9E,11E,13Z}); puniic (C18:3^{9Z,11E,13Z}); jacaric (C18:3^{8Z,10E,12Z}); catalpic (C18:3^{9E,11E,13Z}); α -calendic (C18:3^{8E,10E,12Z}); β -calendic (C18:3^{8E,10E,12Z}). Đồng thời, khi thay thế cấu hình cis trong hệ liên hợp bằng cấu hình trans trong phân tử của các axit liên hợp quan sát thấy phổ hấp thụ phân tử có sự chuyển dịch xanh [15], ngoài ra thời gian lưu của các axit béo đó trong điều kiện RP HPLC tăng dần. Điều này được giải thích bằng cơ chế phân bố trong quá trình

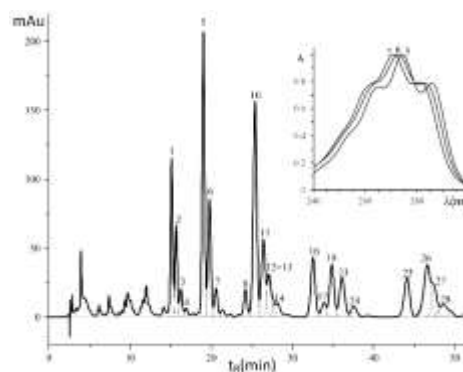
tách các axit béo hoặc triglixerit trong điều kiện sắc ký lỏng pha đảo [17]. Dựa trên cơ sở đó, bằng việc so sánh thời gian lưu và phổ UV của các chất, chúng tôi đã xác định được rằng trong thành phần của các pic nhỏ có sự thay thế 1 (các pic được đánh dấu a) hoặc 2 gốc α -eleostearic (đánh dấu b trong Hình 3) bằng gốc β -eleostearic axit.

Từ diện tích các triglixerit trong sắc ký đồ tại bước sóng $\lambda=278\text{nm}$, tiến hành định lượng tỉ lệ mol các triglixerit trong dầu hạt, kết quả được trình bày trong Bảng 1. Kết quả chỉ ra rằng, trong thành phần triglixerit của cả ba loài thuộc chi *Momordica* hàm lượng của di- α -eleostearatstearat (αE_2S) có phần mol lớn nhất. Trong đó đặc biệt với dầu hạt *M. subangulata* hàm lượng của αE_2S lên đến trên 70%, đối với dầu hạt *M. Charantia* là 25,71% và *M. Cochinchinesis* là 31,1%.

Tương tự, tiến hành phân tích thành phần triglixerit trong dầu của hạt của *T. nudiflora* và *T. cucumerina* var. *Anguina* bằng phương pháp RP HPLC.

Kết quả chỉ ra rằng thành phần axit béo octradecatrienoic liên hợp chính trong dầu hạt *Trichosanthes* là axit puniic (C18:3^{9Z,11E,13Z}) trong đó ba nối đôi liên hợp ở cacbon số 9,11,13 với cấu hình cis-trans-cis. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với kết quả thu được khi phân tích thành phần axit béo trong dầu hạt của *Trichosanthes kirilowii* [18].

Sắc ký đồ cũng như thành phần của các triglixerit được thể hiện trong Hình 4.



Hình 4. Sắc ký đồ triglixerit của dầu hạt *T. cucumerina* var. *Anguina*; Thành phần pha động: 35% isopropanol và 65% acetonitrile.

Trong sắc ký đồ của dầu hạt *Trichosanthes* (Hình 5) xuất hiện 5 nhóm pic chính.

Thành phần của 11 triglycerit chính đã được xác định bằng phương pháp số gia, kết quả được xác nhận bằng phổ khối và phổ hấp thụ electron của mỗi pic được ghi lại trong quá trình tách bằng detector diot quang. Ngoài 11 triglycerit chính được định danh, trong sắc ký đồ xuất hiện một số các pic nhỏ đi theo sau các pic chính với phổ electron có sự chuyển dịch xanh. Kết hợp so sánh thời gian giữ, phổ electron của các pic này với các triglycerit có trong dầu hạt *M. Charantia* có thể kết luận được rằng, thành phần của axit béo octadecatrienoic liên hợp trong dầu hạt *Trichosanthes* ngoài thành phần chính là axit punicic, dầu còn chứa một lượng nhỏ axit α -eleostearic. Kết quả định lượng thành phần các triglycerit được trình bày trong Bảng 2.



Hình 5. Sắc ký đồ triglycerit của dầu hạt *T. nudiflora*; thành phần pha động: 40% isopropanol và 60% acetonitrile.

Bảng 2. Thành phần và hàm lượng các TGs trong dầu hạt *T. cucumerina* var. *Anguina* và *T. nudiflora*

No*	TGs	Hàm lượng của triglycerit**, %	
		<i>T. cucumerina</i> var. <i>Anguina</i>	<i>T. nudiflora</i>
1	Pu ₃	3,74	1,06
2	Pu ₂ α E	2,52	3,06
3	Pu α E ₂	0,79	4,26
4	α E ₃	0,25	1,40
5	Pu ₂ L	11,85	5,64
6	Pu α EL	5,86	15,11

7	α E ₂ L	1,51	9,19
8	PuL ₂	2,98	6,97
9	α EL ₂	NA	8,73
10	Pu ₂ O	11,68	
11	Pu α EO	5,24	4,09
12	α E ₂ O	3,19	3,04
13	Pu ₂ P		
14	Pu α EP	0,81	2,74
15	α E ₂ P	NA	1,88
16	PuLO	8,36	5,24
17	α ELO	2,05	5,59
18	PuLP	7,72	5,95
19	Pu ₂ S	NA	0,98
20	α EPL	NA	4,90
21	Pu α ES	NA	1,68
22	α E ₂ S	NA	1,04
23	Pu ₂ P	3,41	NA
24	Pu α EP	1,02	NA
25	PuO ₂	7,19	NA
26	PuLS	11,22	3,60
27	α ELS	2,72	3,84
28	PuOP	4,19	NA

* Đánh số các TGs theo hình 4 và 5

** Thành phần tương đối về phần mol giữa các triglycerit trong dầu hạt; NA- Không có giá trị

Trong số các triglycerit đã tách được trong điều kiện sắc ký, có 2 cặp chất α E₂O + Pu₂P và α EL₂ + Pu₂O hầu như chưa tách được. Tuy nhiên với hai cặp chất này chúng tôi sử dụng phần mềm Magicplot để tách thành các pic riêng lẻ sử dụng hàm Gaussian. Kết quả định lượng của 24 triglycerit được trình bày trong Bảng 2.

3.2. Phân tích thành phần axit béo có trong dầu thực vật

Từ kết quả phân tích thành phần của các triglycerit, tiến hành tính toán phần mol của các axit béo trong thành phần triglycerit có trong các mẫu dầu thực vật. Kết quả thu được trình bày trong Bảng 3.

Kết quả chỉ ra rằng tổng hàm lượng của các axit béo octadecatrienoic liên hợp có trong cả 5 mẫu dầu hạt đều trên 50%, trong đó đối với 3 mẫu dầu hạt của chi *Momordica* là trên 60%. Trong khi đó, ngoài trừ dầu của *M. subangulata*, tổng hợp lượng của các axit béo no (stearic và palmitic) trong cả 4 dầu hạt

còn lại chỉ chiếm khoảng 9-16% (tương đối thấp). Kết quả cũng chỉ ra rằng, thành phần chủ yếu của các axit béo liên hợp trong dầu của 3 mẫu hạt của chi *Momordica* là α -eleostearic axit, cùng với một lượng nhỏ đồng phân β -eleostearic axit. Trong khi đó thành phần của axit béo liên hợp của của dầu hạt *T. cucumerina*

var. Anguina và *T. nudiflora* là punicic và α -eleostearic axit.

Như vậy, cả 5 mẫu dầu hạt nghiên cứu đều là những nguồn phong phú chứa các axit béo liên hợp, có tiềm năng sử dụng trong công nghiệp được phẩm cũng như trong công nghiệp sơn (dầu khô).

Bảng 3. Thành phần axit béo chứa trong mẫu phân tích

Axit béo	Hàm lượng axit béo*, %				
	<i>M. Cochichinenis</i>	<i>M. Charantia</i>	<i>M. subangulata</i>	<i>T. nudiflora</i>	<i>T. cucumerina var. Anguina</i>
α -eleostearic	54,30	55,65	58,48	29,06	9,75
β -eleostearic	5,47	8,07	3,59	-	-
Punicic	-	-	-	26,79	43,3
Linoleic	14,54	11,46	5,68	28,42	19,53
Oleic	8,68	11,73	3,84	6,35	15,98
Palmitic	2,81	2,35	3,46	5,66	6,79
Stearic	14,19	10,74	24,95	3,71	4,46

* Thành phần tương đối về phần mol giữa các axit béo

4. Kết luận

Thành phần triglixerit có trong dầu béo của 5 mẫu hạt thuộc họ Cucurbitaceae đã được tách và phân tích sử dụng phương pháp HPLC với pha động là isopropanol và acetonitrile và cột tách pha đảo C18. Kết quả phân tích thành phần triglixerit và axit béo có trong dầu hạt của 3 loài thuộc chi *Momordica* chỉ ra rằng, cả 10 triglixerit đều chứa gốc axit béo octadecatrienoic liên hợp với thành phần αE_2S chiếm trên 25%. Ngoài α -eleostearic axit là thành phần chính, trong dầu hạt còn chứa một lượng nhỏ (dưới 10%). Dầu hạt của 2 loài *Trichosanthes* và *T. nudiflora* là một nguồn giàu axit punicic và axit α -eleostearic.

Lời cảm ơn

Đề tài được thực hiện bằng nguồn kinh phí hỗ trợ từ Chương trình Vườn ươm Sáng tạo Khoa học và Công nghệ Trẻ, được quản lý bởi Trung tâm Phát triển Khoa học và Công nghệ Trẻ - Thành Đoàn thành phố Hồ Chí Minh và Sở Khoa học và Công nghệ thành phố Hồ Chí Minh, theo hợp đồng số “20/2021/HĐ-KHCNT-VU”.

Tài liệu tham khảo

- [1] L. J. Den Hartigh, Conjugated Linoleic Acid Effects on Cancer, Obesity, and Atherosclerosis: A Review of Pre-Clinical and Human Trials with Current Perspectives, *Nutrients*, Vol. 11, No. 2, 2019, pp. 370, <https://doi.org/10.3390/nu11020370>.
- [2] S. Parisa, A. R. Mohamed, Y. M. Goh et al., Conjugated Linoleic Acid: A Potent Fatty Acid Linked to Animal and Human Health, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, Vol. 57, No. 13, 2017, pp. 2737-2748, <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1060190>.
- [3] A. A. Hennessy, R. P. Ross, R. Devery, C. Stanton, The Health Promoting Properties of the Conjugated Isomers of α -linolenic Acid, *Lipids*, Vol. 46, 2011, pp. 105-119, <https://doi.org/10.1007/s11745-010-3501-5>.
- [4] K. Koba, A. Akahoshi, M. Yamasaki, et al., Dietary Conjugated Linolenic Acid in Relation to CLA Differently Modifies Body Fat Mass and Serum and Liver Lipid Levels in Rats, *Lipids*, Vol. 37, 2002, pp. 343-35, <https://doi.org/10.1007/s11745-002-0901-7>.
- [5] N. Shinohara, T. Tsuduki, J. Ito. et al., Jacaric Acid, a Linolenic Acid Isomer with a Conjugated Triene System, Has a Strong

- Antitumor Effect in Vitro and in Vivo, *J. Biochimica, et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, Vol. 1821, No. 7, 2012, pp. 980-988, <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2012.04.001>.
- [6] A. A. Hennessy, R. P. Ross, P. R. Fitzgerald, G. F. Stanton, Sources and Bioactive Properties of Conjugated Dietary Fatty Acids, *Lipids*, Vol. 51, 2016, pp. 377-339, <https://doi.org/10.1007/s11745-016-4135-z>.
- [7] G. F. Yuan, X. E. Chen, D. Li, Conjugated Linolenic Acids and Their Bioactivities: A Review, *Food Funct*, Vol. 5, 2014, pp. 1360-1368, <https://doi.org/10.1039/c4fo00037d>.
- [8] A. Ferlay, L. Bernard, A. Meynadier, M. B. Corinne, Production of Trans and Conjugated Fatty Acids in Dairy Ruminants and Their Putative Effects on Human Health: A Review, *Biochimie*, Vol. 141, 2017, pp. 107-120, <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2017.08.006>.
- [9] M. J. L. García, R. Lusardi, E. Chiavaro, et al., Use of Triacylglycerol Profiles Established by High Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet-visible Detection to Predict the Botanical Origin of Vegetable Oils, *J. Chromatogr. A*, Vol. 1218, No. 42, 2011, pp. 7521-7527, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.07.078>.
- [10] T. J. Jacks, T. P. Hensarling, L. Y. Yatsu, Cucurbit Seeds: I. Characterizations and uses of Oils and Proteins, *Econ Bot*, Vol. 26, 1972, pp. 135-141, <https://doi.org/10.1007/BF02860774>.
- [11] M. J. Chisholm, C. Y. Hopkins, Conjugated Fatty Acids in some Cucurbitaceae Seed Oils, *Canadian Journal of Biochemistry*, Vol. 45, No. 7, 1967, pp. 1081-1086, <https://doi.org/10.1139/o67-125>.
- [12] B. Matthaus, K. Vosmann, L. Q. Pham, K. Aitzetmüll, FA and Tocopherol Composition of Vietnamese Oilseeds, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Vol. 80, No. 10, 2003, pp. 1013-1020, <https://doi.org/10.1007/s11746-003-0813-y>.
- [13] V. I. Deineka, V. M. Staroverov, G. M. Fofanov, et al., An Increment Approach to the HPLC Analysis of Triglycerides, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, Vol. 36, 2002, pp. 392-395, <https://doi.org/10.1023/A:1021004516406>.
- [14] A. V. Nguyen, V. I. Deineka, L. A. Deineka, Spectrophotometric Determination of Oils with Radicals of Conjugated Octadecatrienoic Acids, *J. Appl, Spectrosc.*, 85, 2018, 483-487, <https://doi.org/10.1007/s10812-018-0676-7>.
- [15] A. V. Nguyen, V. I. Deineka, L. A. Deineka, A. T. N. Vu, Comparison of Separation of Seed Oil Triglycerides Containing Isomeric Conjugated Octadecatrienoic Acid Moieties by Reversed-phase HPLC, *Separations*, Vol. 4, 2017, pp. 37, <https://doi.org/10.3390/separations4040037>.
- [16] N. K. Freeman, Applications of Infrared Absorption Spectroscopy in the Analysis of Lipids, *J Am Oil Chem Soc*, Vol. 45, 1968, pp. 798-809, <https://doi.org/10.1007/BF02631958>.
- [17] V. I. Deineka, A. V. Nguyen, L. A. Deineka, Model of a Reversed Phase Grafted on Silica Gel. *Russ. J. Phys. Chem.*, Vol. 93, 2019, pp. 2490-2493. <https://doi.org/10.1134/S0036024419120057>.
- [18] Y. G. Joh, S. L Kim, W. W. Christie, The Structure of the Triacylglycerols, Containing Punicic Acid, in the Seed Oil of *Trichosanthes kirilowii*, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Vol. 72, 1995, pp. 1037-1042, <https://doi.org/10.1007/BF02660718>.