TÍNH KÍCH ỨNG DA CỦA DỊCH ÉP QUẢ NHO TRONG MỘT SỐ LOÀI NHO Ở VIỆT NAM (*VITIS VINIFERA* L., VITACEAE)

Bùi Thị Thùy Liên*, Trần Thị Thu Hằng, Nguyễn Thị Ngọc Yến

Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Resveratrol được tìm thấy rất nhiều trong quả nho, resveratrol có tác dụng trong việc chống oxy hóa làm chậm quá trình lão hóa. Do đó, dịch ép quả nho có nhiều khả năng được sử dụng làm mỹ phẩm. Trong nghiên cứu này, khả năng kích ứng da của dịch ép quả nho trong một số loại nho ở Việt Nam được khảo sát trên 12 thỏ và sử dụng 2 mẫu dịch ép nho: một mẫu dịch ép nho cô đặc và một mẫu dịch ép nho tươi. Kết quả cho thấy các mẫu dịch ép nho khảo sát không gây kích ứng da.

***Từ khóa**: dịch ép nho, kích ứng da, resveratrol.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nho là một loại quả mọng lấy từ các loài cây thân leo thuộc chi Nho (*Vitis*) họ Nho (*Vitaceae*). Quả nho mọc thành chùm, có màu đen, vàng, lục, đỏ tía hay trắng. Khi chín, quả nho có thể ăn tươi hoặc được sấy khô để làm nho khô, cũng như được dùng để sản xuất các loại rượu vang, thạch nho, nước quả, mật nho, dầu hạt nho. Ở Việt Nam cây nho trồng phổ biến nhiều nơi như Phú Yên, Khánh Hòa, Ninh Thuận, Bình Thuận, Lâm Đồng, thành phố Hồ Chí Minh [1] và có nhiều loài khác nhau. Các chuyên gia dinh dưỡng đã tìm thấy resveratrol trong hơn 70 loại thực phẩm như đậu phộng, dâu tằm... nhưng lượng resveratrol trong nho là khá cao [2], [3]. Bên cạnh đó, nho cũng rất giàu vitamin C [1], một loại vitamin cực kỳ quan trọng cho sức khỏe làn da. Chất chống oxy hóa đối lập các gốc tự do, nó làm sạch các gốc tự do và ngăn chặn gốc tự do làm hỏng các tế bào. Các nghiên cứu cũng cho thấy các chất chống oxy hóa tại chỗ mang lại nhiều lợi ích như bảo vệ da chống lại tia UV, kháng viêm, chậm lão hóa da, săn da [1], [4], [5]. Do vậy chất chống oxy hóa được sử dụng rộng rãi trong các sản phẩm chăm sóc da để cải thiện nhiều vấn đề thẩm mỹ cho da [4].

Resveratrol sở hữu nhiều đặc tính sinh học, nhưng đặc tính được mô tả tốt nhất là khả năng hoạt động như một chất chống oxy hóa mạnh [2], [3], [4]. Resveratrol giúp bảo vệ bề mặt da, giúp loại bỏ các ảnh hưởng tiêu cực của môi trường, và làm sáng đều màu da. Resveratrol cũng có tính chất làm dịu da đáng kể, có thể giúp giảm thiểu các vết đỏ cũng như tăng cường collagen và elastin cho làn da [4]. Resveratrol trong vỏ nho còn cao hơn cả thịt quả và khả năng chống oxy hóa của chất này được đánh giá là mạnh gấp nhiều lần vitamin E [6].

Hiện nay, thị trường mỹ phẩm Việt Nam không có nhiều sản phẩm từ nho. Các thành phần hóa học trong nước ép của một số loài nho cho thấy có sự hiện diện của chất resveratrol, là một trong những chất chống oxy hóa mạnh nhất

*Tác giả liên hệ: ThS. Bùi Thị Thùy Liên
Email: lienbtt@hiu.vn

được biết đến [3], [4]. Chính vì vậy, việc nghiên cứu tính kích ứng trên da của dịch ép nho là cần thiết, vì đây là chỉ tiêu kiểm nghiệm bắt buộc đối với các sản phẩm mỹ phẩm [7], [8] và kết quả nghiên cứu này sẽ là cơ sở cho việc sản xuất cũng như sử dụng các mỹ phẩm có dịch ép nho trên thị trường.

2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu của đề tài này là tính kích ứng da của hai mẫu dịch ép nho và được khảo sát bằng phương pháp thử trực tiếp trên thỏ. Dịch ép nho làm từ nho xanh và nho đỏ trồng ở Phan Rang, chọn những quả nho tươi tốt, xay nhuyễn nguyên quả. Dịch ép nho được thử nghiệm dưới 2 dạng: dịch ép nho tươi (ký hiệu DN_T) và dịch ép nho cô đặc (ký hiệu DN_C)

2.2. Động vật thí nghiệm

Thỏ trắng khỏe mạnh, đực và cái, cân nặng 2 kg trở lên, mua ở Bà Rịa – Vũng Tàu, tổng cộng 12 con.

2.3. Dụng cụ, hóa chất thí nghiệm

- Mâm cố định thỏ.
- Tông đơ điện, dao lam để làm sạch lông thỏ.
- Kéo, panh.
- Cloroform, NaCl 0.9%.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Thử kích ứng trên da

Thử kích ứng trên da dựa vào mức độ phản ứng của da thỏ sau khi cho da thỏ tiếp xúc với chất thử và quan sát các phản ứng xảy ra trên da thỏ như phù nề, ban đỏ, tạo vảy. Khi thực hiện phép thử, cần thực hiện hai mẫu dịch ép nho song song với mẫu chứng âm và mẫu chứng dương. Phép thử không áp dụng cho các chất axid (pH < 2), chất kiềm mạnh (pH > 11.5) và các chất đã biết là có tính kích ứng da [8].

a) Chuẩn bị mẫu thử

- Mẫu thử: sử dụng mẫu dịch ép nho DN_T và DN_C.
- Dịch ép nho được làm từ những quả nho tươi trồng ở Việt Nam sau khi rửa sạch để ráo, nho cho vào máy xay nhuyễn và lọc ép lấy dịch. Dịch chia làm 2 phần, 1 phần là dịch ép nho tươi (DN_T) phần còn lại đun cách thủy đến thể chất sánh như mật đặc là dịch ép nho cô đặc (DN_C) [9].
- Mẫu chứng âm: dung dịch nước muối sinh lý NaCl 0.9 %.
- Mẫu chứng dương: cloroform (của hãng VN – Chemsol, với độ tinh khiết ≥ 99% cloroform)

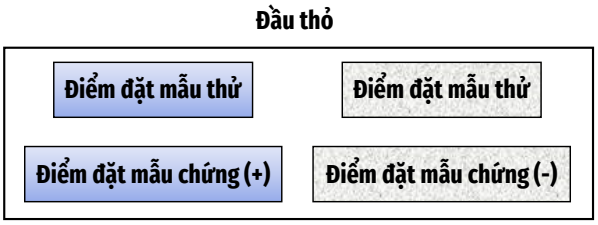
b) Chuẩn bị động vật

- Thỏ được nhốt riêng từng con và nuôi dưỡng trong điều kiện thí nghiệm ít nhất 5 ngày trước khi thử. Thí nghiệm tiến hành trong điều kiện nhiệt độ phòng, độ ẩm tương đối 30 – 70% và ánh sáng đảm bảo.
- Trước ngày thí nghiệm, cạo lông thỏ ở vùng lưng chia đều về hai bên cột sống một khoảng đủ rộng để đặt các mẫu thử và mẫu chứng (khoảng 10 cm x 15 cm). Sau khi cạo chỉ những thỏ có da khoẻ mạnh, đồng đều và lành lặn mới được chọn [8].

c) Đặt mẫu thử

- Xác định vị trí đặt mẫu thử ở mỗi thỏ.
- Mỗi mẫu thử sẽ được làm trên o6 thỏ. Liều mẫu thử trên mỗi thỏ là 0.5 mL. Cho mẫu thử lên miếng gạc vô trùng và không gây kích ứng có kích thước 2.5 cm x 2.5 cm và có độ dày thích hợp rồi đắp lên da thỏ. DN_T đắp trực tiếp trên da thỏ qua một lớp gạc, còn DN_C thêm nước muối sinh lý tỷ lệ 1 : 1 để giảm độ đặc rồi đắp lên da thỏ và thực hiện giống như DN_T. Cố định miếng gạc bằng băng dính không gây kích ứng. Sau 4 giờ đắp mẫu thử, tháo gạc và băng dính, làm sạch chỗ đắp bằng dung dịch nước muối sinh lý NaCl 0.9% [8].

Sơ đồ đặt mẫu thử:



Hình 1. *Sơ đồ đặt mẫu thử*

d) Quan sát và ghi điểm

Quan sát và ghi điểm phản ứng chỗ da đắp chất thử so với da kề bên không đắp chất thử ở các thời điểm 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ.

Đánh giá phản ứng trên da ở các mức độ gây ban đỏ, phù nề theo quy định ở **Bảng 1**.

Bảng 1. *Mức độ phản ứng trên da thỏ*

Phản ứng	Điểm đánh giá
Sự tạo vẩy và ban đỏ	
- Không ban đỏ	0
- Ban đỏ rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
- Ban đỏ nhận thấy rõ	2
- Ban đỏ vừa phải đến nặng	3
- Ban đỏ nghiêm trọng (đỏ tấy) đến tạo thành vẩy để ngăn ngừa sự tiến triển của ban đỏ	4
Gây phù nề	
- Không phù nề	0
- Phù nề rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
- Phù nề nhận thấy rõ (viền phù nề phồng lên rõ)	2
- Phù nề vừa phải (da phồng lên khoảng 1 mm)	3
- Phù nề nghiêm trọng (da phồng lên trên 1 mm và có lan rộng ra vùng xung quanh)	4
Tổng số điểm kích ứng tối đa có thể	**8**

e) Đánh giá kết quả

Trên mỗi thỏ, điểm phản ứng được tính bằng tổng số điểm ở hai mức độ ban đỏ và phù nề chia cho số lần quan sát. Điểm kích ứng của mẫu thử được lấy trung bình điểm phản ứng của các thỏ đã thử.

Dựa vào điểm trung bình kích ứng của mẫu để phân loại phản ứng trên da thỏ.

Bảng 2. *Phân loại các phản ứng trên da thỏ*

Loại phản ứng	Điểm trung bình
Kích ứng không đáng kể	0 – 0.5
Kích ứng nhẹ	> 0.5 – 2.0
Kích ứng vừa phải	> 2.0 – 5.0
Kích ứng nghiêm trọng	> 5.0 – 8.0

2.4.2. Phương pháp phân tích dữ liệu

Phân tích giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 365, được trình bày dưới dạng "Giá trị trung bình ± Độ lệch chuẩn". Song song đó, phần mềm IBM SPSS Statistics 20.0 được sử dụng để đánh giá hệ số tin cậy Cronbach's Alpha [10].

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Tính kích ứng của dịch ép nho trên da thỏ

Phần mềm IBM SPSS Statistics 20.0 được sử dụng để đánh giá hệ số tin cậy Cronbach's Alpha, sau khi tính điểm và xử lý số liệu kết quả của thang đo đều lớn hơn 0.8 và nhỏ hơn 0.95 qua đó cho thấy các biến quan sát đều đạt độ tin cậy.

***Bảng 3**. Điểm kích ứng trên da thỏ ở các thời điểm khác nhau*

Dịch ép nho	Điểm kích ứng								
	Mẫu chứng (-)			Mẫu chứng (+)			Mẫu dịch ép nho		
	24 giờ	48 giờ	72 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ
DN_T	0.00	0.00	0.00	4.67	3.17	3.33	0.00	0.00	0.00
DN_C	0.00	0.00	0.00	4.67	2.50	4.00	0.00	0.00	0.00

Điểm kích ứng của các mẫu thử vào mỗi thời điểm (24 giờ, 48 giờ, 72 giờ) là tổng số của trung bình điểm ban đỏ 6 thỏ và trung bình điểm phù nề 6 thỏ.

***Bảng 4.** Điểm kích ứng trên da thỏ đối với các mẫu dịch ép nho*

Dịch ép nho	Điểm kích ứng		
	Mẫu chứng (-)	Mẫu chứng (+)	Mẫu dịch ép nho
DN_T	0.00 ± 0.00	3.70 ± 0.43	0.00 ± 0.00
DN_C	0.00 ± 0.00	3.65 ± 0.40	0.00 ± 0.00

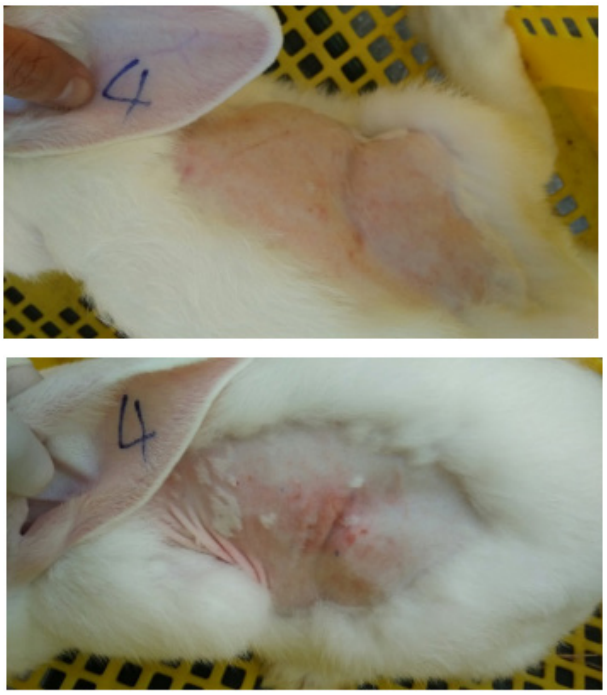
Qua kết quả tính điểm cho thấy mẫu chứng âm không gây kích ứng (điểm kích ứng = 0), mẫu chứng dương gây kích ứng (điểm kích ứng > 2.0 – 5.0) và phản ứng trên da thỏ khi quan sát xuất hiện nhanh rõ ràng và dễ thấy. Kết quả của mẫu chứng âm, chứng dương chứng tỏ da của các thỏ trong thử nghiệm này bình thường, nhạy cảm với các chất gây kích ứng, da không trơ, đủ điều kiện và phù hợp để làm thử nghiệm kích ứng trên da [8].

***Bảng 5.** Bảng so sánh loại kích ứng của 2 mẫu dịch ép nho*

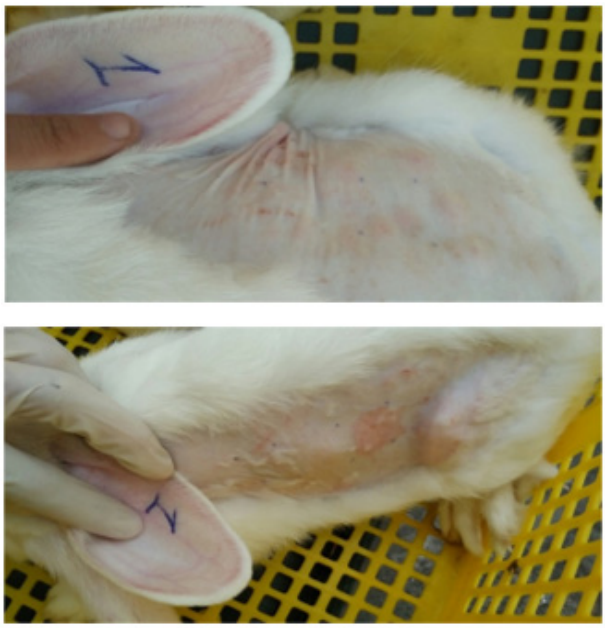
Mẫu dịch ép nho	Điểm kích ứng	Loại kích ứng
DN_T	0.00 ± 0.00	Không gây kích ứng
DN_C	0.00 ± 0.00	Không gây kích ứng

Dịch nho từ quả nho tươi trồng ở Việt Nam sau khi ép lấy dịch thử trực tiếp (DN_T) và thử sau khi cách thủy dịch nho đến cô đặc (DN_C) đều không gây kích ứng da.

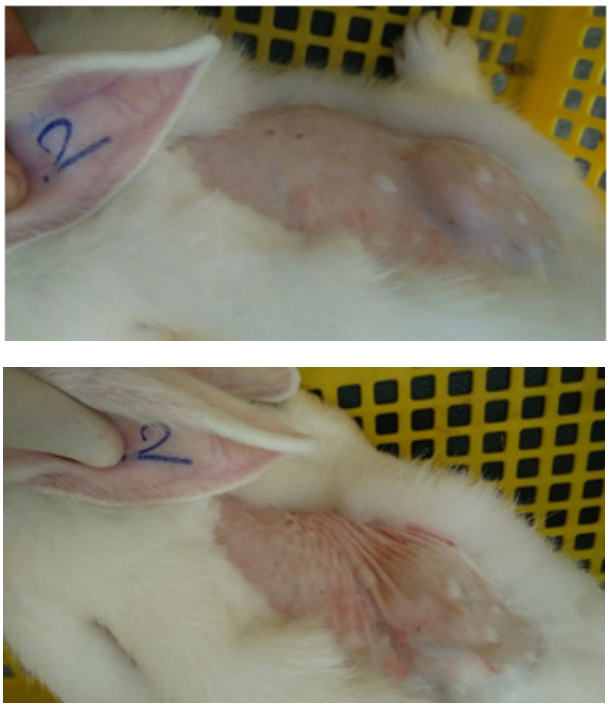
***Hình 2.** Tính kích ứng da của mẫu dịch nho tươi (DN_T) - chứng âm - chứng dương*



***Hình 3.** Tính kích ứng da của mẫu dịch nho tươi (DN_T) - chứng âm - chứng dương*



Hình 4. *Tính kích ứng da của mẫu dịch nho cô đặc (DN_C) - chứng âm - chứng dương*



Hình 5. *Tính kích ứng da của mẫu dịch nho cô đặc (DN_C) - chứng âm - chứng dương*

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hai mẫu dịch ép nho khảo sát - dịch ép nho tươi (DN_T) và dịch ép nho cô đặc (DN_C) - đều không gây kích ứng da. Kết quả này bước đầu tạo cơ sở cho việc sử dụng nho Việt Nam trong mỹ phẩm. Các nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học, hoạt tính của dịch ép nho cần được tiếp tục để hoàn chỉnh đề tài góp phần làm phong phú thêm nguồn nguyên liệu thiên nhiên dùng trong hóa mỹ phẩm.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng cấp kinh phí thực hiện dưới mã số đề tài GV1926.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] V. V. Chi, *"Từ điển cây thuốc Việt Nam"*, NXB Y học, 1997.

[2] C. K. Singh, X. Liu, N. Ahmad (2015), *"Resveratrol, in its natural combination in whole grape, for health promotion and disease management"*, Biomedicines.

[3] A. P. Mishra, M. Nigam, B. Salehi (2018), *"Resveratrol: A Double-Edged Sword in Health Benefits"*, Biomedicines.

[4] Arct J Ratz-Łyko A (2019), *"Resveratrol as an active ingredient for cosmetic and dermatological applications: a review"*, NCBI.

[5] VM. Adhami, N. Ahmad, F. Afaq (2006), *"Prevention of short-term ultraviolet B radiation-mediated damages by resveratrol in SKH-1 hairless mice"*, NCBI.

[6] M. Martínez-Tomé, M. Murcia (2001), "*Antioxidant activity of resveratrol compared with common food additives*", NCBI.

[7] B. Y. Tế, *"Quyết định 35/2006/QĐ-BYT Quy chế Quản lý mỹ phẩm"*, 2006.

[8] B. Y. Tế, *"Quyết định 3113/1999/QĐ-BYT ban hành tiêu chuẩn giới hạn vi khuẩn, nấm,*

mốc trong mỹ phẩm và phương pháp thử kích ứng trên da", 1999.

[9] B. Y. Tế, *"Dược Điển Việt Nam"*, NXB Y học, 2018.

[10] Nguyễn Đình Thọ, *"Phương pháp nghiên cứu khoa học trong kinh doanh"*, NXB Tài chính, 2013.

SKIN IRRITATION OF GRAPE JUICE FROM DIFFERENT TYPES OF GRAPE IN VIET NAM (*VITIS VINIFERA* L., VITACEAE)

Bui Thi Thuy Lien, Tran Thi Thu Hang, Nguyen Thi Ngoc Yen

ABSTRACT

Resveratrol is found abundant in grapes; resveratrol is also useful in anti-oxidant that slow down the aging process. With this potential, grape juice is more likely to be used as a cosmetic. In this article, by using different Vietnamese grapes, a skin irritation test was conducted in 12 rabbits with two groups of grape juice types: the first group is testing on the concentrate grape juice, the second one is on fresh grape juice. Results showed that grape juice does not cause any skin irritation.

Keywords: *grape juice, skin irritation, resveratrol.*

Received: 28/03/2020

Revised: 27/04/2020

Accepted for publication: 13/05/2020