

## NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH TÁCH CHIẾT POLYSACCARIDE TỔNG TỪ THÂN CÂY SÂM XUYÊN ĐÁ (*MYXOPYRUM SMILACIFOLIUM* WALL. BLUME) VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA

Damaso Pauline<sup>a</sup>, Igbonekwu-udoji Reagan Jonas<sup>a</sup>, Lê Thị Thu Hiền<sup>a</sup>, Lê Thu Thủy<sup>a</sup>, Cao Hồng Lê<sup>a</sup>, Lưu Hồng Sơn<sup>a</sup>,  
Vi Đại Lâm<sup>a\*</sup>, Nguyễn Thị Tình<sup>a</sup>, Tạ Thị Lượng<sup>a,b</sup>, Đinh Thị Kim Hoa<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên

<sup>b</sup>Đại học Queensland

\*Email: [vidailam@tuaf.edu.vn](mailto:vidailam@tuaf.edu.vn)

### Thông tin bài viết

Ngày nhận bài:

6/7/2020

Ngày duyệt đăng:

12/8/2020

### Tóm tắt

Sâm xuyên đá (*Myxopyrum smilacifolium* (Wall.) Blume) là một dược liệu quý. Tuy nhiên quy trình tách chiết chưa được tối ưu hóa. Trong nghiên cứu này sâm xuyên đá được thu mua tại xã La Hiên, huyện Võ Nhai, tỉnh Thái Nguyên. Kết quả nghiên cứu đã xác định được điều kiện tách chiết polysaccharide tổng từ thân cây sâm xuyên đá: dung môi ethanol 85%, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/15 (w/v), thời gian tách chiết là 120 phút, nhiệt độ 90°C. Quy trình tách chiết cho hàm lượng polysaccharide tổng số đạt 93,4 (mg/g), dịch chiết cho khả năng chống oxy hóa  $109,14 \pm 9,64$  ( $\mu\text{g/ml}$ ).

Từ khóa:

Đông góp, Hà Di Khánh, lịch sử dân tộc

### 1. MỞ ĐẦU

Sâm xuyên đá, tên khoa học là *Myxopyrum smilacifolium* (Wall.) Blume, là cây bụi leo, thân gỗ thuộc chi *Myxopyrum*, họ Nhài (Oleaceae). Ngoài ra sâm xuyên đá còn có tên thường gọi là Nhung Lê Kim Cang. Sâm xuyên đá là cây có khả năng mọc xuyên qua đá hay còn gọi là xuyên phá thạch là loại thảo dược quý chỉ có ở trong rừng già khu vực Tây Bắc như vùng Hà Giang, Lào Cai, Lai Châu, Thái Nguyên, Yên Bái... nơi có thổ nhưỡng phù hợp. Cây sinh sống chủ yếu ở trên các khe đá thuộc các núi đá vôi. Thân cây chính và rễ cây phát triển dưới lớp đất mùn đen do lá các loại cây phân hủy tạo thành. Củ sâm xuyên đá do thân cây chính

hình thành, mỗi đoạn thân chính sẽ hình thành 2 - 4 củ sâm có độ dài là 3 - 8cm [2], [4]. Chi *Myxopyrum* bao gồm 4 loài phân bố ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới của Đông Á. Rễ, thân, lá của nó có nhiều tác dụng y học và được sử dụng trong nhiều hệ thống y học cổ truyền, đặc biệt là tại Ấn Độ: Rễ dùng người mắc các bệnh như ghe, ho, thấp khớp, sốt và điều trị làm lành các vết thương. Lá cây là chất làm se, có vị chát, ngọt, sinh nhiệt, dùng làm thuốc giảm đau, dị ứng, giải nhiệt và bổ. Lá dùng chữa ho, hen suyễn, thấp khớp, đau đầu, sốt, bệnh về tai, đau dây thần kinh [6]. Chi *Myxopyrum* phân bố ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt

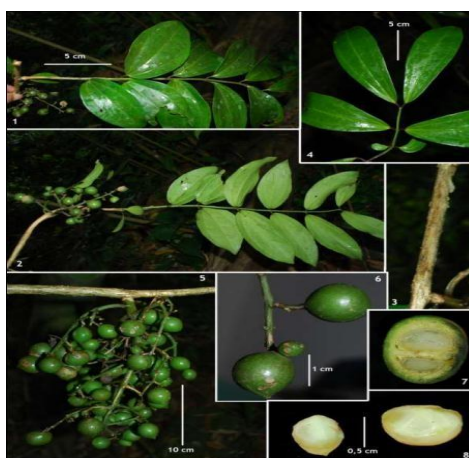
đới của Châu Á như: Bangladesh, Campuchia, Ấn Độ, Indonesia, Lào, Malaysia, Myanmar, New Guinea, Philippin, Thái Lan, Trung Quốc, Việt Nam [1], [3], [4]. Ở Việt Nam hiện có 3 loài: *M. pierrei*, *M. nervosum*, *M. smilacifolium* [1]. Hiện nay sâm Xuyên Đá vẫn đang là cây dược liệu mới được tìm ra và chưa được nghiên cứu kỹ lưỡng về thành phần hoá học, hoạt tính sinh học ở Việt Nam. Polysaccharide là nhóm hợp chất rất được các nhà khoa học quan tâm do các tác dụng quan trọng của chúng về tăng cường miễn dịch, kháng viêm, làm lành vết thương. Thành phần polysaccharide khác nhau trong thực vật đã được chứng minh tác dụng trong Y học: Kháng viêm, phân

hủy fibrin, làm lành vết thương.... [5]. Vì vậy, đây là hướng nghiên cứu đầy triển vọng.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Phương pháp thu thập mẫu

Cây sâm xuyên đá tươi (*Boehmeria nivea* (L.) Gaud) được thu mua tại xã La Hiên, huyện Võ Nhai, tỉnh Thái Nguyên đã được định danh kết luận loài và phần thân cây được sử dụng để phân tích. Nguyên liệu được rửa sạch, sau đó đem đi sấy ở nhiệt độ 60°C đến độ ẩm dưới 10%. Tiến hành bảo quản trong túi PE đặt trong hộp nhựa kín, lưu trữ ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng và ẩm, thời gian bảo quản mẫu 15 ngày.



Hình 1. *Myxopyrum smilacifolium* Blume

1-2. Dạng sống 3. Thân 4. Lá 5. Cụm quả 6. Quả 7. Quả cắt ngang 8. Hạt

### 2.2. Phương pháp chiết mẫu thực vật

Dung môi: các dung môi, hóa chất được sử dụng trong chiết xuất và phân tích đạt tiêu chuẩn PA. Polysaccharide được chiết từ thân cây sâm xuyên đá bằng dung môi ethanol tinh khiết ở nồng độ 75; 80; 85; 90 và 96%, tỷ lệ dung môi: Nguyên liệu lần lượt là 10:1; 15:1; 20:1 (v/w), trong các khoảng thời gian 60; 90; 120 và 150 phút với nhiệt độ trích ly lần lượt là 80; 85; 90; 95 °C.

### 2.3. Xác định độ ẩm theo phương pháp sấy đến khối lượng không đổi

Nguyên tắc: Dùng sức nóng để tách ẩm trong vật liệu, đồng thời giữ lại tất cả các chất có trong vật liệu. Do đó nhiệt độ sấy không được quá cao hay quá thấp.

Cách tiến hành: Lấy mẫu đem nghiền nát, dùng cân phân tích cân 2 - 5 g mẫu cho vào chén biết trước trọng lượng, sau đó đặt chén có chứa mẫu vào tủ sấy ở nhiệt độ 105 °C. Sấy trong khoảng 4 - 5 giờ, lấy chén có chứa mẫu đặt vào bình hút ẩm để làm nguội. Sau đó đem cân

và ghi lại kết quả. Tiếp tục cho đến khi có trọng lượng không đổi.

Tính kết quả: Độ ẩm được xác định bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi

Độ ẩm theo % (W) tính bằng công thức:

$$W = \frac{G1-G2}{G1-G} \times 100$$

Trong đó:

- W: Độ ẩm của thực phẩm (%).
- G: Khối lượng cốc sấy (g).
- G1: Khối lượng cốc sấy và mẫu thử trước khi sấy (g).
- G2: Khối lượng cốc sấy và mẫu thử sau khi sấy (g).

### 2.4. Phương pháp định lượng polysaccharide tổng sau khi trích ly

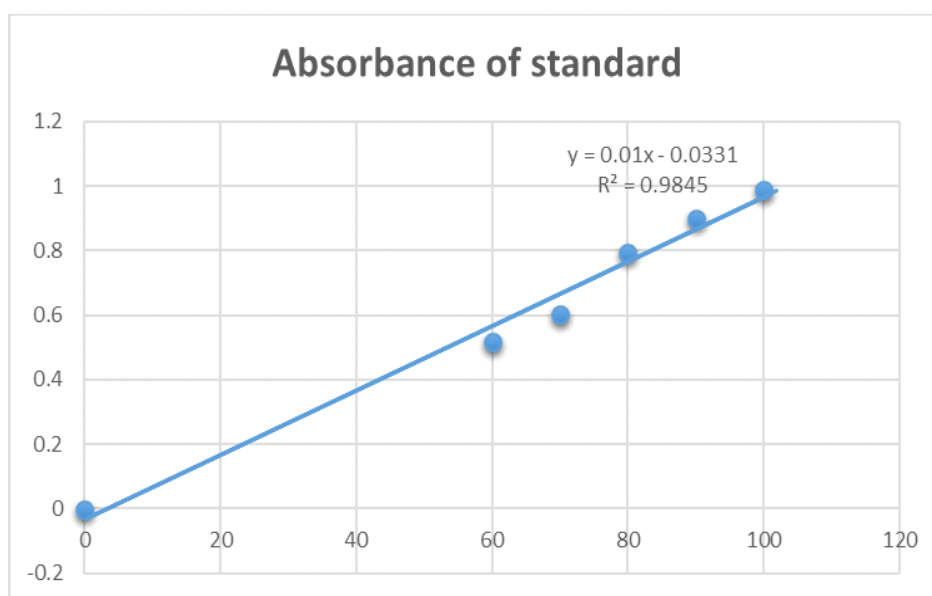
Polysaccharide được định lượng bằng phương pháp phenol-sulfuric acid. Các bước được mô tả tóm

tất như sau: 400  $\mu$ l dịch mẫu chứa polysaccharide cho tác dụng với 200  $\mu$ l dung dịch phenol 5%, cho thêm 1ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đậm đặc và để 30 phút ở nhiệt độ phòng. Màu của phản ứng được phát hiện trên máy quang phổ

ở bước sóng 490 nm. Hàm lượng polysaccharide được định lượng dựa trên số đo OD thu được của mẫu thí nghiệm đối chiếu với đồ thị chuẩn glucose.

**Bảng 1: Xây dựng đường chuẩn bằng glucose**

Dung dịch ban đầu 1000 $\mu$ g/ml	5 ml	4,5ml	4 ml	3,5 ml	3 ml	0 ml
Nước cất	45ml	45,5 ml	46 ml	46,5ml	47ml	100 ml
Dung dịch chuẩn	100 $\mu$ g/ml	90 $\mu$ g/ml	80 $\mu$ g/ml	70 $\mu$ g/ml	60 $\mu$ g/ml	0 $\mu$ g/ml



### 2.5. Khảo sát khả năng bắt gốc tự do bằng phương pháp DPPH

Cao ethanol từ thân sâm xuyên đá được pha loãng trong ethanol tuyệt đối thành dãy nồng độ khác nhau. Vitamin E là chứng dương, ethanol tuyệt đối là chứng âm. Hút lần lượt 0,5ml các dung dịch trên vào từng ống nghiệm, thêm 3ml ethanol tuyệt đối, 0,5ml dung dịch DPPH 0,6mM được pha trong ethanol tuyệt đối. Lắc đều hỗn hợp, ủ tối 30 phút ở nhiệt độ phòng và đo độ hấp thụ ở bước sóng 517nm. Phần trăm bắt gốc tự do DPPH được xác định bằng công thức:

$$\% \text{ IC} = \frac{[(A \text{ chung am} - A \text{ blank}) - (A \text{ thu nghiệm} - A \text{ blank})]}{(A \text{ chung am} - A \text{ blank})} \times 100$$

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả nghiên cứu lựa chọn nồng độ dung môi trích ly polysaccharide từ thân sâm xuyên đá

Ethanol là dung môi có khả năng hòa tan khá tốt. Sử dụng ethanol ở các nồng độ khác nhau sẽ có hiệu quả của quá trình trích ly khác nhau. Kết quả thu được như bảng 2:

**Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi ethanol đến hiệu quả trích ly polysaccharide trong thân sâm xuyên đá**

Nồng độ ethanol (%)	75	80	85	90	96
Hàm lượng polysaccharides (mg/g)	7,96 <sup>b</sup>	8,10 <sup>b</sup>	9,03 <sup>a</sup>	9,01 <sup>a</sup>	8,91 <sup>a</sup>

(Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột có chỉ số mũ khác nhau thì có sự khác nhau ở mức ý nghĩa  $\alpha = 0,05$ ).

Qua bảng 2 ta thấy: Các nồng độ dung môi khác nhau sẽ cho giá trị polysaccharide khác nhau. Hàm lượng polysaccharide tăng dần khi nồng độ tăng dần từ 7,96 mg/g ở nồng độ 75% lên 9,03 mg/g ở nồng độ 85%. Nồng độ tiếp tục tăng thì hàm lượng polysaccharide có xu hướng giảm. Từ đó, chúng tôi lựa chọn nồng độ dung môi ethanol trích ly tối ưu nhất là ethanol 85% và sử dụng kết quả cho các nghiên cứu sau.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi ethanol đến hiệu quả trích ly polysaccharide trong thân sâm xuyên đá**

Tỉ lệ nguyên liệu/dung môi	1/10	1/15	1/20	1/25
Hàm lượng polysaccharide (mg/g)	6,01 <sup>b</sup>	8,71 <sup>a</sup>	9,02 <sup>a</sup>	9,05 <sup>a</sup>

(Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột có chỉ số mũ khác nhau thì có sự khác nhau ở mức ý nghĩa  $\alpha = 0,05$ ).

Qua bảng 3, ta thấy hàm lượng polysaccharide tăng khi tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi tăng. Để đảm bảo hiệu suất trích ly cũng như để tối thiểu các chi phí sản xuất chúng tôi lựa chọn tỉ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/15 làm cơ sở cho các thí nghiệm tiếp theo.

### 3.3. Kết quả nghiên cứu lựa chọn thời gian trích ly polysaccharide từ thân sâm xuyên đá

**Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu quả trích ly polysaccharide trong thân sâm xuyên đá**

Thời gian (phút)	60	90	120	150
Hàm lượng polysaccharide (mg/g)	5,38 <sup>c</sup>	6,71 <sup>b</sup>	9,33 <sup>a</sup>	9,25 <sup>a</sup>

(Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột có chỉ số mũ khác nhau thì có sự khác nhau ở mức ý nghĩa  $\alpha = 0,05$ ).

Qua bảng 4 chúng tôi nhận thấy: Thời gian trích ly càng dài thì càng trích ly kiệt hoạt chất có trong nguyên liệu. Tuy nhiên, đến một thời gian trích ly nhất định thì lượng hoạt chất tăng lên rất chậm hoặc không tăng nữa. Khi trích ly ở thời gian 60 phút thì hàm lượng polysaccharide thu được thấp 5,38 mg/g. Hoạt chất tăng nhanh khi trích ly ở 90 phút, với hàm lượng polysaccharide là 6,71 mg/g, sau 120 phút trích ly, lượng polysaccharide thu được cao nhất 9,33 mg/g nguyên liệu được trích ly gần hết. Ở thời gian 150 phút polysaccharide bắt đầu giảm đi do polysaccharide bị phá hủy nhiều hơn polysaccharide được trích ly. Vì vậy chúng tôi chọn thời gian trích ly ở 120 phút cho quá trình tách chiết.

### 3.2. Kết quả nghiên cứu lựa chọn tỉ lệ nguyên liệu thân sâm xuyên đá/ dung môi trích ly

Lượng dung môi nhiều hay ít đều ảnh hưởng đến quá trình trích ly các chất trong nguyên liệu. Nếu lượng dung môi quá ít thì chỉ đủ để thấm ướt nguyên liệu, vì vậy hiệu suất trích ly sẽ thấp. Ngược lại, nếu lượng dung môi sử dụng quá nhiều thì gây hao phí dung môi, nhiên liệu trong quá trình lọc cô và các chi phí khác. Vì vậy việc tìm ra tỉ lệ nguyên liệu/dung môi là cần thiết cho quá trình trích ly, thu sản phẩm.

Thời gian trích ly có ảnh hưởng mạnh mẽ đến hiệu quả trích ly và chi phí năng lượng cũng như dung môi. Nếu thời gian trích ly ngắn, thì các hoạt chất giải phóng ra ít, nhưng khi tăng thời gian trích ly thì làm tổn hao năng lượng, quá trình sản xuất kéo dài. Do đó, chúng tôi tiến hành khảo sát các mức thời gian và kết quả được ghi ở bảng 4:

### 3.4. Kết quả nghiên cứu lựa chọn nhiệt độ trích ly polysaccharide từ thân sâm xuyên đá

Nhiệt độ là một trong yếu tố ảnh hưởng rất lớn tới quá trình trích ly. Khi nhiệt độ trích ly càng cao sẽ làm cho độ xốp của nguyên liệu tăng lên (do nguyên liệu trương nở), độ nhớt làm giảm và hoạt chất sẽ hòa tan dễ hơn vào dung môi. Tuy nhiên nhiệt độ là một yếu tố có giới hạn vì nhiệt độ quá cao có thể xảy ra các phản ứng không cần thiết như tăng độ tan của một số tạp chất, khó khăn cho quá trình lọc, thúc đẩy các biến đổi hóa học làm chất lượng dịch chiết biến đổi không có lợi và làm tăng chi phí sản xuất. Do đó chúng tôi tiến hành các thí nghiệm khảo sát ở nhiệt độ 80°C, 85°C, 90°C và 95°C. Kết quả thu được trình bày qua bảng 5:

**Bảng 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu quả trích ly polysaccharide trong sâm xuyên đá**

Nhiệt độ (°C)	80	85	90	95
Hàm lượng polysaccharide (mg/g)	7,14 <sup>c</sup>	9,16 <sup>b</sup>	9,34 <sup>a</sup>	9,29 <sup>a</sup>

(Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột có chỉ số mũ khác nhau thì có sự khác nhau ở mức ý nghĩa  $\alpha = 0,05$ ).

Theo bảng 5, khi nhiệt độ tăng thì giá trị polysaccharide tăng lên tỉ lệ với độ cao của nhiệt độ. Ở nhiệt độ 80°C cho hàm lượng 7,14 mg/g, sau đó khi tăng lên 85°C cho hàm lượng 9,16 mg/g. Ở nhiệt độ 90°C và 95°C thì hàm lượng lần lượt là 9,34 mg/g và 9,29 mg/g, polysaccharide có dấu hiệu giảm xuống, nguyên nhân do nhiệt độ cao gây ảnh hưởng tới cấu trúc polysaccharide. Vì vậy chúng tôi lựa chọn nhiệt

độ 90°C là nhiệt độ thích hợp cho trích ly các hoạt chất trong sâm xuyên đá.

### 3.5. Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hoá của dịch chiết polysaccharide tổng số

Hoạt tính chống oxy hoá của dịch chiết polysaccharide tổng số của thân sâm xuyên đá thể hiện ở bảng 6.

**Bảng 6. Hoạt tính chống oxy hoá của dịch chiết polysaccharide tổng số của thân sâm xuyên đá**

Mẫu	Vitamine E	Dịch chiết tổng từ thân sâm xuyên đá
IC <sub>50</sub> (µg/ml)	61,17±37,52	109,14±9,64

Chất có khả năng kháng oxy hóa sẽ nhường điện tử cho gốc tự do DPPH để tạo thành phân tử DPPH bền và mất đi màu tím đặc trưng ban đầu. Kết quả kháng oxy hóa bằng phương pháp đánh bắt gốc tự do DPPH của cao chiết tổng với giá trị IC<sub>50</sub> là **109,14 ± 9,64**. Từ bảng 6 ta thấy cao chiết tổng polysaccharide từ thân sâm xuyên đá có hoạt tính bắt gốc tự do DPPH, tuy nhiên vẫn thấp hơn nhiều chất đối chứng là vitamin E.

#### 4. KẾT LUẬN

Điều kiện trích ly thích hợp để thu được hàm lượng polysaccharide từ thân sâm xuyên đá được xác định như sau: nồng độ ethanol 85%, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi 1/15, nhiệt độ 90°C, thời gian xử, thời gian trích ly là 120 phút. Dịch chiết tổng có hoạt tính chống oxy hóa với giá trị IC<sub>50</sub> là **109,14±9,64** (µg/ml).

2. Vo Van Chi (2012), Dictionary of Vietnamese Medicinal Plants (new version), vol. 2, Medical Publisher, p.369.

3. Nguyen Viet Than (2003), Testing medicinal herbs by microscopic method, vol. 1, Publisher: Science and Technology Hanoi.

4. Institute of Medicinal Materials (2016), List of Vietnamese Medicinal Plants, Publisher: Science and Technology, p. 691.

5. Vo Hoai Bac (2018), research extraction and immune enhancing effects of polysaccharides from leaves of spring flowers pseudoranthemum palatiferum drugs (nees) radlk. Journal of biotechnology 16 ( vol.2), p. 327-335.

6. Praveen R.P. and Ashalatha S. N. (2014), "Callus induction and multiplication of internodal explants of *Myxopyrum smilacifolium* Blume", International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3(10), pp. 612-617.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Pham Hoang Ho (2000), Vietnamese Plants Book II, Publisher: Young, p. 889.

## Research the procedures for policaccaride total from the trunk of *myxopyrum smilacifolium* wall. Blume and assessment of action against oxization

Damaso Pauline, Igbonekwu-udoji Reagan Jonas, Le Thi Thu Hien, Le Thu Thuy, Cao Hong Le, Luu Hong Son, Vi Dai Lam, Nguyen Thi Tinh, Ta Thi Luong, Dinh Thi Kim Hoa

---

### Article info

Recieved:  
6/7/2020

Accepted:  
12/8/2020

Keywords:

*Myxopyrum*  
*smilacifolium*, process,  
extraction, Thai Nguyen,  
extract.

---

### Abstract

*Myxopyrum smilacifolium* (Wall.) Blume is a valuable medicinal herb. However, the extraction process has not been optimized. In this research, ginseng was collected from La Hien commune, Vo Nhai district, Thai Nguyen province. The results of the study have identified the conditions for the extraction of total polysaccaride from the ginseng tree trunk: ethanol solvent 85%, material / solvent ratio is 1/15 (w / v), the extraction time is 120 minutes at 90oC degree cenciuos . The extraction procedure yielded a total polysaccaride content of 93.4 (mg/g), the extract yielded an antioxidant capacity of  $109.14 \pm 9.64$  ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ ).

---