

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG AXÍT AMIN CỦA SÂM BỐ CHÍNH (*Abelmoschus sagittifolius*) THU HẢI TẠI TỈNH QUẢNG BÌNH

Trần Lý Tường¹, Nguyễn Phương Văn¹

TÓM TẮT

Sâm Bồ Chính (*Abelmoschus sagittifolius* (Kurz) Merr) hay còn được gọi tên khác như sâm Phú Yên, sâm Thổ Hào. Đây là loài sâm bản địa được tìm thấy lần đầu tiên tại Châu Bồ Chính (Quảng Bình ngày nay). Thời gian gần đây, Trường Đại học Quảng Bình, Công ty Trách nhiệm Hữu hạn Nông nghiệp công nghệ cao Tuệ Lâm đã phối hợp để phát triển loài sâm Bồ Chính với quy mô lớn ở Quảng Bình và các tỉnh lân cận bên cạnh việc đa dạng hóa các sản phẩm từ sâm. Để có cơ sở xây dựng chuỗi sản phẩm dinh dưỡng cho loài được liệu này đã tiến hành nghiên cứu xác định hàm lượng và thành phần axit amin trong củ sâm Bồ Chính thu hái tại tỉnh Quảng Bình bằng máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Kết quả nghiên cứu đã cho thấy có tới 18 loại axit amin ở mẫu thủy phân và 16 loại axit amin tự do, trong đó có đầy đủ 9 loại axit amin thiết yếu, hàm lượng axit amin tổng số là 6,786% (axit amin thiết yếu chiếm 2,228% khối lượng sâm và gần 33% trên tổng hàm lượng axit amin) và tổng hàm lượng axit amin tự do là 1,5% khối lượng sâm (axit amin thiết yếu chiếm hơn 25% tổng hàm lượng axit amin tự do), trong đó hàm lượng aspartic là cao nhất (hơn 23% trên tổng hàm lượng axit amin).

Từ khóa: *Abelmoschus sagittifolius*, axit amin, sâm Bồ Chính, HPLC, Quảng Bình.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Axit amin là thành phần chính tạo nên giá trị dinh dưỡng riêng của các phân tử protein, rất cần cho sự sống [6]. Cơ thể con người phải tự tổng hợp các protein trong cơ thể của mình bằng sử dụng nguyên liệu là những axit amin cần thiết có nguồn gốc từ thực phẩm và kết hợp chúng lại theo trình tự nhất định trên cơ sở mật mã di truyền bảo tồn trong phân tử DNA. Bình thường, khi ăn các thức ăn giàu chất đạm như: thịt, cá, trứng, sữa,... thì các protein này sẽ được phân hủy bởi dịch vị tiêu hóa trong dạ dày cơ thể thành các phân tử nhỏ hơn là axit amin. Các axit amin này lại được tổng hợp trở lại để hình thành nên các loại protein của cơ thể. Trong 22 loại axit amin phổ biến tổng hợp nên các loại protein cho cơ thể thì có 9 axit amin cơ thể không tự tổng hợp được mà bắt buộc phải được cung cấp từ thực phẩm bên ngoài, chúng được gọi là axit amin thiết yếu hay axit amin không thay thế, bao gồm: isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan, valine và histidine. Sự thiếu hụt axit amin dẫn đến rối loạn chức năng làm cơ thể mệt mỏi, hạ đường huyết, dị ứng [7].

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao là phương pháp hiện đại, phát triển mạnh trong những năm 1980s, 1990s và hiện đang được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khác nhau như sinh hóa, hóa học, môi trường trong đó có ứng dụng để phân tích các vitamin và axit amin. Việc sử dụng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao để xác định hàm lượng axit amin đã được sử dụng phổ biến và có độ tin cậy cao [1 - 5, 8, 9].

Sâm Bồ Chính (*Abelmoschus sagittifolius* (Kurz) Merr) hay còn được gọi tên khác như sâm Phú Yên, sâm Thổ Hào là một loài thảo dược bản địa quý, hiếm có giá trị y tế cao. Trong thời gian qua Trường Đại học Quảng Bình, Công ty Trách nhiệm Hữu hạn Nông nghiệp công nghệ cao Tuệ Lâm đã phát triển mô hình trồng loài sâm này trên địa bàn tỉnh Quảng Bình và nhiều địa phương khác cũng đã nhân rộng mô hình trồng bởi giá trị kinh tế cao của loài sâm này so với các cây trồng truyền thống khác. Trong khi đó hiện chưa có nhiều công trình nghiên cứu sâu về thành phần dinh dưỡng của sâm Bồ Chính. Chính vì vậy, việc nghiên cứu về hàm lượng và thành phần axit amin trong củ sâm Bồ Chính để làm cơ sở cho việc phát triển và sử dụng loài dược liệu này tại tỉnh Quảng Bình nói riêng cũng như Việt Nam nói chung là rất cần thiết.

¹ Trường Đại học Quảng Bình
Email: tuongtranly@gmail.com

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Hàm lượng axit amin trong củ Sâm Bó Chính được trồng từ 9/2019 đến 5/2020 tại thị trấn Nông trường Việt Trung, huyện Bố Trạch, tỉnh Quảng Bình, mẫu tiêu bản được gửi đi giám định tên khoa học tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật vào tháng 2/2019. Phương pháp lấy mẫu dựa vào TCVN 9016 : 2011.

2.2. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất

Tủ sấy, máy nghiền mẫu, rây có đường kính lỗ 0,5 mm, cân phân tích, máy siêu âm, giấy lọc, bình định mức, ống nghiệm, máy HPLC hiệu Hitachi L – 8800, máy ly tâm, máy đo pH, sâm củ 9 tháng tuổi tại Quảng Bình, Tetraborat natri ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) 0,25M, axit clohydric (HCl) 6M, axit sulfosalicylic 4%, axit sunfuric (H_2SO_4).

2.3. Phương pháp thí nghiệm

Hàm lượng axit amin tổng số và axit amin tự do được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao [4, 9, 11].

- *Xác định axit amin tổng số trong củ sâm Bó Chính:* Củ sâm Bó Chính được sấy khô ở nhiệt độ 40 - 50°C, đưa vào nghiền thành bột và sàng qua rây có đường kính lỗ 0,5 mm, cân chính xác 1 g bột mẫu sâm Bó Chính cho vào ống nghiệm 18 x 180 mm, thêm vào 3 ml axit HCl (6M) lắc đều, cho vào máy siêu âm 10 phút để hòa tan mẫu, loại bỏ không khí trong vòng 15 phút. Thủy phân bằng cách cho vào tủ sấy ở nhiệt độ 110 ± 1°C để trong 24 giờ, lấy mẫu ra khỏi tủ để nguội, điều chỉnh độ pH trong khoảng 5 - 6 bằng $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ (0,25M), lọc qua giấy lọc thường và điều chỉnh pH nằm trong khoảng 9 - 10 bằng $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ (0,25M), sau đó cho vào bình và định mức 50 ml cùng với nước cất đến vạch định mức. Lọc qua màng 0,45 µm, cho mẫu chạy trên máy HPLC.

- *Xác định axit amin tự do:* Củ sâm Bó Chính được sấy khô ở nhiệt độ 40 - 50°C, đưa vào nghiền thành bột và sàng qua rây có đường kính lỗ 0,5 mm. Cân chính xác 500 mg bột sâm cho vào bình tam giác có dung tích 50 ml, thêm 20 ml dung dịch axit sulfosalicylic (4%) và lắc đều, cho vào máy siêu âm trong vòng 30 phút, sau đó ly tâm ở 16.000 vòng/phút trong vòng 15 phút lấy ra và lọc bằng màng 0,45 µm, cho mẫu chạy trên máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

- *Điều kiện phân tích:* Máy HPLC hiệu Hitachi L – 8800, thời gian phân tích: 53 phút; cột phản ứng 4,6 mm x 60 mm, nhiệt độ cột 70°C; tốc độ dòng 0,4 ml/phút.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Axit amin tổng số bao gồm axit amin tự do và axit amin ở dạng liên kết peptit, axit amin tự do là nhóm axit amin ưa nước, có liên kết chặt chẽ với môi trường nước và thường tạo liên kết hydro với môi trường và giữa các axit amin với nhau, axit amin ở dạng liên kết peptit là nhóm axit amin kỵ nước không hoặc khó tan trong nước [11]. Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng axit amin tổng số chiếm 6,786% và tổng hàm lượng axit amin tự do chiếm gần 1,5%. Hàm lượng của từng loại axit amin trong sâm Bó Chính được thể hiện trong bảng 1 và 2.

3.1. Hàm lượng axit amin tổng số

Bảng 1. Hàm lượng axit amin tổng số trong củ sâm Bó Chính

Axit amin thiết yếu	Hàm lượng (%)	Axit amin không thiết yếu	Hàm lượng (%)
Histidine	0,2013	Alanine	0,3597
Isoleucine	0,2749	Arginine	0,7128
Leucine	0,3967	Aspartate	1,5664
Lysine	0,2762	Cysteine	0,0672
Methionine	0,1104	Glutamine	0,6363
Phenylalanine	0,3067	Glycine	0,2888
Threonine	0,2266	Proline	0,6006
Tryptophan	0,0644	Serine	0,1743
Valine	0,3703	Tyrosine	0,1521
Tổng	2,228	Tổng	4,558
Tổng axit amin	6,786% khối lượng sâm		

Kết quả phân tích (Bảng 1) cho thấy củ sâm Bó Chính chứa 18/22 loại axit amin phổ biến tổng hợp nên các loại protein cho cơ thể, trong đó có đầy đủ tất cả 9 loại axit amin thiết yếu, bao gồm: histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan, valine, trong đó histidine là loại axit amin thiết yếu cho trẻ em dưới 1 tuổi [9]. Hàm lượng axit amin tổng số (gồm axit amin thiết yếu và không thiết yếu) chiếm 6,786% khối lượng sâm. Hàm lượng axit amin thiết yếu là 2,228% khối lượng sâm và gần 33% trên tổng hàm lượng axit amin. Hàm lượng axit amin cao nhất là aspartate, chiếm 1,5664% khối lượng sâm và hơn 23%

trên tổng hàm lượng axit amin, hàm lượng thấp nhất là tryptophan, chỉ chiếm 0,0644% khối lượng sâm và gần 1% trên tổng hàm lượng axit amin.

3.2. Hàm lượng axit amin tự do

Bảng 2. Hàm lượng axit amin tự do trong củ sâm Bồ Chính

Axit amin thiết yếu	Hàm lượng (mg/100 g)	Hàm lượng (%)	Axit amin không thiết yếu	Hàm lượng (mg/100 g)	Hàm lượng (%)
Histidine	279,621	0,280	Alanine	70,302	0,07
Isoleucine	4,518	0,005	Arginine	33,185	0,033
Leucine	3,482	0,003	Aspartate	552,941	0,553
Lysine	17,184	0,017	Cysteine	16,709	0,017
Methionine	11,267	0,011	Glutamine	80,158	0,08
Phenylalanine	39,848	0,040	Glycine	7,130	0,007
Threonine	8,978	0,009	Proline	353,064	0,353
Tryptophan	4,025	0,004	Serine	Không phát hiện	0
Valine	11,712	0,012	Tyrosine	Không phát hiện	0
Tổng	380,634	0,381	Tổng	1113,489	1,113
Tổng axit amin tự do		1494,123 mg/100g		~1,5% khối lượng sâm	

Kết quả phân tích thành phần axit amin tự do (Bảng 2) cho thấy củ sâm chứa 16/22 loại axit amin phổ biến để tổng hợp các loại protein cho cơ thể, trong đó có đầy đủ 9 axit amin thiết yếu. Tổng hàm lượng axit amin tự do (gồm axit amin thiết yếu và không thiết yếu) chiếm gần 1,5% khối lượng củ sâm, trong đó hàm lượng cao nhất là axit amin aspartate (chiếm 37% trên tổng số hàm lượng axit amin tự do) và thấp nhất là leucine. Hàm lượng axit amin thiết yếu chiếm hơn 25% tổng hàm lượng axit amin tự do. Hai axit amin là serine và tyrosine không được tìm thấy trong các mẫu đo axit amin tự do.

Bảng thành phần thực phẩm (Food Composition Table) là một trong những công trình nghiên cứu quan trọng trong lĩnh vực khoa học về thực phẩm, là một công cụ không thể thiếu trong nghiên cứu về dinh dưỡng, đặc biệt là các nghiên cứu về khẩu phần ăn uống, dịch tễ học dinh dưỡng và chế độ dinh dưỡng tiết chế trong lâm sàng và ăn điều trị cho bệnh nhân. Ngày nay, bảng thành phần thực phẩm còn được sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực xây dựng chính sách, lập kế hoạch về dinh dưỡng, đảm bảo an ninh thực phẩm cấp quốc gia và gia đình nhằm đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng, từ đó có kế hoạch phát triển sản xuất thực phẩm phù hợp. Đây cũng là tài liệu gốc phục vụ giảng dạy, nghiên cứu và triển khai công tác giáo dục dinh dưỡng cho cộng đồng, cho người tiêu dùng trong việc lựa chọn thực phẩm phù

hợp với tình hình sức khỏe. Trong điều kiện hội nhập hiện nay với một thị trường thực phẩm Việt Nam ngày càng đa dạng, nhiều đòi hỏi thông tin không chỉ là các chất dinh dưỡng và phi dinh dưỡng trong thực phẩm mà cần có thông tin về các chất chống oxy hóa, các axit amin, các hợp chất có hoạt tính sinh học đóng vai trò quan trọng bảo vệ, nâng cao sức khỏe và phòng chống bệnh tật. Mặt khác, do sự giao lưu trên thị trường thực phẩm nhập khẩu đang diễn ra mạnh mẽ đòi hỏi các thông tin cập nhật và chi tiết hơn [10]. Việc nghiên cứu thành phần axit amin của sâm Bồ Chính sẽ bổ sung vào bảng thành phần thực phẩm Việt Nam, qua đó so sánh với các kết quả đã công bố của Viện Dinh dưỡng về hàm lượng axit amin của một số loại thực phẩm như [10]: khoai lang, bí ngô, cà rốt, củ cải, đậu cove, hạt sen, ngó sen.... (Bảng 3).

Bảng 3 cho thấy hàm lượng axit amin tổng số của sâm Bồ Chính cao hơn nhiều so với các loại thực phẩm thông thường, trong 100 g mẫu thí nghiệm thì tổng hàm lượng axit amin của sâm Bồ Chính là 6.786 mg cao gấp: 1,4 lần hàm lượng axit amin của hạt sen (4.723 mg); 3,4 lần hàm lượng axit amin của đậu cove (1.984 mg); 4,5 lần hàm lượng axit amin của ngó sen (1.503 mg); 7,2 lần hàm lượng axit amin của bí ngô (944 mg); 8,3 lần hàm lượng axit amin của khoai lang (821 mg); 8,8 lần hàm lượng axit amin của cà rốt (770 mg) và 12,3 lần hàm lượng axit amin của củ cải (551 mg). Điều này chứng tỏ rằng, sâm Bồ Chính là loài

thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao, có tác dụng bồi bổ sức khỏe, tăng sức đề kháng cho cơ thể.

Bảng 3. So sánh hàm lượng axit amin tổng số của một số loài thực phẩm

DVT: mg/100 g

Axit amin	Sâm Bó chính*	Hạt sen	Đậu Cove	Ngó sen	Bí ngô	Khoai lang	Cà rốt	Củ cải
Lysine	276	264	132	94	63	30	39	27
Methionine	110	72	31	22	12	10	12	7
Tryptophan	64	59	33	20	18	2	7	3
Phenylalanine	307	206	102	47	34	40	27	27
Threonine	227	200	93	51	31	40	29	23
Valine	370	266	118	55	48	30	44	37
Leucine	397	326	166	69	69	40	44	35
Isoleucine	275	205	90	54	47	30	30	26
Arginine	713	338	102	88	46	30	44	51
Histidine	201	115	56	38	20	10	14	13
Cysteine	67	54	20	22	10	12	10	7
Tyrosine	152	100	80	29	18	48	22	12
Alanine	360	239	106	54	47	58	48	23
Aspartate	1566	505	288	369	151	176	117	48
Glutamine	636	957	257	139	233	139	194	160
Glycine	289	221	91	156	31	42	29	18
Proline	601	344	91	136	29	34	28	17
Serine	174	252	128	60	37	50	32	17
Tổng (mg/100 g)	6.786	4.723	1.984	1.503	944	821	770	551

*Ghi chú: *Là số liệu được tổng hợp từ kết quả nghiên cứu của bài báo này*

4. KẾT LUẬN

Củ sâm Bó Chính 9 tháng tuổi có tới 18 loại axit amin ở mẫu thủy phân và 16 loại axit amin tự do, trong đó có đầy đủ 9 loại axit amin thiết yếu cho cơ thể gồm: histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan, valine, trong đó histidine là loại axit amin thiết yếu cho trẻ em dưới 1 tuổi.

Hàm lượng axit amin tổng số (gồm axit amin thiết yếu và không thiết yếu) chiếm 6,786% khối lượng sâm. Hàm lượng axit amin thiết yếu là 2,228% khối lượng sâm và gần 33% trên tổng hàm lượng axit amin. Hàm lượng axit amin cao nhất là aspartate, chiếm 1,5664% khối lượng sâm và hơn 23% trên tổng hàm lượng axit amin, hàm lượng thấp nhất là tryptophan, chỉ chiếm 0,0644% khối lượng sâm và gần 1% trên tổng hàm lượng axit amin.

Tổng hàm lượng axit amin tự do (gồm axit amin thiết yếu và không thiết yếu) chiếm gần 1,5% khối lượng củ sâm, trong đó hàm lượng cao nhất là axit

amin aspartate (chiếm 37% trên tổng số hàm lượng axit amin tự do) và thấp nhất là leucine. Hàm lượng axit amin thiết yếu chiếm hơn 25% tổng hàm lượng axit amin tự do. Hai axit amin là serine và tyrosine không được tìm thấy trong các mẫu đo axit amin tự do.

Hàm lượng axit amin tổng số của sâm Bó Chính cao hơn nhiều so với các loại thực phẩm thông thường, cao gấp 1,4 lần so với hạt sen, 3,4 lần so với đậu cove, 4,5 lần so với ngó sen, 7,2 lần so với bí ngô, 8,3 lần so với khoai lang, 8,8 lần so với cà rốt và 12,3 lần so với củ cải. Điều này chứng tỏ rằng, sâm Bó Chính là loài thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao, có tác dụng bồi bổ sức khỏe, tăng sức đề kháng cho cơ thể

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Apriyanto, Mulono (2017). Analysis of Amino Acids in Cocoa Beans Produced during Fermentation by High Performance Liquid Chromatography

- (HPLC). *International Journal of Food and Fermentation Technology*. 7 (1), pp. 25 - 31.
2. Apriyanto, Mulono and Harmayani, Eni (2017). Amino acid analysis of cocoa fermented by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Asian Journal of Dairy and Food Research*. 36 (2), pp. 156 - 160.
3. Lamiae, Alami, *et al.* (2016). HPLC analysis and Study of the evolution of the amino acids contents in sugar beet pulp during silage. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 16 (3), p. 496.
4. Ebert, Ray F (1986). Amino acid analysis by HPLC: optimized conditions for chromatography of phenylthiocarbamyl derivatives. *Analytical biochemistry*. 154 (2), pp. 431 - 435.
5. HU, Neng-bing, *et al.* (2009). Influence of Exo - auxins on Seeds Germination and Seedlings Antioxidant Enzyme System of *Abelmoschus sagittifolius* (Kurz) Merr [J]. *Acta Laser Biology Sinica*. 3.
6. Meister, Alton (1957). *Biochemistry of the amino acids*. Academic Press.
7. Song, Yaru, *et al.* (2005). Enantiomeric separation of amino acids derivatized with 7-fluoro-4-nitrobenzoxadiazole by capillary liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1091 (1 - 2), pp. 102-109.
8. Strydom, Daniel J, *et al.* (1993). Cysteine and tryptophan amino acid analysis of ABRF92-AAA. *Techniques in Protein Chemistry IV*, Elsevier, pp. 279 - 288.
9. Lê Thị Hồng Hảo (2008). Nghiên cứu tối ưu hoá các điều kiện để tách và xác định một số Axit amin trong thực phẩm bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC): Luận án tiến sỹ hoá học. Trường Đại học Khoa học Tự nhiên.
10. Nguyễn Công Khẩn và cs (2007). Bảng thành phần thực phẩm Việt Nam. Nxb Y học, Hà Nội.
11. TCVN12621 (2019). Xác định hàm lượng axit amin bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

AMINO ACIDS ANALYSIS OF *Abelmoschus sagittifolius* (Kurz) MERR USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

Tran Ly Tuong¹, Nguyen Phuong Van¹

¹Quang Binh University

Summary

Abelmoschus sagittifolius (Kurz) Merr, alias of Bo Chinh ginseng, also called the Phu Yen ginseng, Tho Hao ginseng is an herb. This ginseng species was first recorded in Quang Binh province with the name of Bo Chinh ginseng. Scientists from Quang Binh University and Tue Lam high tech Agriculture Co. Ltd restored this ginseng. Nowadays, model of this ginseng cultivation is being expanded by many provinces and initially brought high economic efficiency. In order to have a basis to build a nutritional product chain for it, we conducted an analysis of amino acid content in the rhizome of Bo Chinh ginseng. The study results showed that there are up to 18 types of amino acids in hydrolyzed samples and 16 types of free amino acids, including 9 essential amino acids, the hydrolyzed amino acid content is 6.786% and the total free amino acid content is 1.5% of ginseng root weight, aspartic content is the highest. The essential amino acid content accounts for 28.93% of the total amino acid content. The hydrolyzed amino acid content is 6.786% (essential amino acid accounts for 2.228% of the ginseng weight and nearly 33% of the total amino acid content) and the total free amino acid content is 1.5% of the ginseng (essential amino acids account for more than 25% of the total free amino acid content), of which the aspartic content is the highest (more than 23% of the total amino acid content).

Keywords: *Abelmoschus*, amino acids, *Abelmoschus sagittifolius*, HPLC.

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Khiêm

Ngày nhận bài: 3/7/2020

Ngày thông qua phản biện: 4/8/2020

Ngày duyệt đăng: 11/8/2020