PROTEIN ANALYSIS OF THE RHIZOME OF ABELMOSCHUS SAGITT (Kurz Merr) GROWN IN QUANG BINH PROVINCE

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG PROTEIN TRONG CỦ SÂM BỐ CHÍNH (Kurz Merr) ĐƯỢC TRỒNG TRÊN ĐỊA BÀN TỈNH QUẢNG BÌNH

Trần Lý Tưởng

Trường Đại học Quảng Bình

ABSTRACT: Abelmoschus Sagittifolius(Kurz)Merr.), alias of Bo Chinh ginseng, is a perennial suffrutex sharp herb, first found in Chau Bo Chinh (a district of Quang Binh provicen nowaday) with rhizome used as medicine. Now, Bo Ching ginseng has been introduce to trade in the nationwide market with the variety of nutrition products with significant efects. It can be used to stimulate and awake the brain, nourish and build up strength, and probably to treat neurasthenia, dizziness, the pain in waist and lower extremities, the stomach ache, the diarrhea and so on. Under the basis the effect evaluation of this medicinal plant, the study used the Kjeldahl method and the Bradford method to determine the protein content in the Main Ginseng. The results showed that the protein content Total up to 9.16%, soluble protein content is 2.442%, much higher compared to the other conventional foods.

Keyword: Abelmoschus, Bradford, Kjeldahl, protein, ginseng, medicinal plant.

TÓM TẮT: Sâm Bố Chính (Abelmoschus Sagittifolius.Kurz Merr) là một loại thảo được được phát hiện lần đầu tiên ở Châu Bố Chính (tỉnh Quảng Bình ngày nay), củ được sử dụng trong nhiều bài thuốc nam. Hiện nay, sâm Bố Chính được thương mại hóa, rất nhiều sản phẩm dinh dưỡng từ sâm Bố Chính đã có mặt trên thị trường với tác dụng nuôi dưỡng và tăng cường sức khỏe, điều trị suy nhược thần kinh, chóng mặt, đau thắt lưng, đau dạ dày, trị tiêu chảy ...vv. Để có cơ sở trong việc đánh giá về tác dụng của sâm Bố Chính về giá trị dinh dưỡng, trong bài viết, chúng tôi sử dụng phương pháp Kjeldahl và phương pháp Bradford để xác định hàm lượng protein trong củ sâm Bố Chính được trồng trên địa bàn tỉnh Quảng Bình. Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng protein tổng số lên tới 9.160%, hàm lượng protein hòa tan là 2.442%, cao hơn so với các loại thực phẩm thông thường.

Từ khóa: Abelmoschus, Bradford, Kjeldahl, protein, sâm Bố Chính, thảo được.

1.ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Bố chính (*Abelmoschus Sagitt* (*Kurz*) *Merr*) là một loại thảo được được phân bố chủ yếu ở Việt Nam, Myanmar, Thái Lan, Lào; một số tỉnh ở Trung Quốc (Hải Nam, Quý Châu, Quảng Tây, Quảng Đông) và các nơi khác [4]. Tại Việt Nam, sâm Bố Chính được các y gia phát hiện và

sử dụng lần đầu tiên tại Châu Bố Chính (tỉnh Quảng Bình ngày nay), sau đó được phát hiện ở nhiều nơi và người dân thường gọi các tên khác nhau theo địa danh như: Sâm Thổ Hào (tại Thổ Hào - Nghệ An), Sâm núi Báo (tại núi Báo - Thanh Hóa), sâm Phú Yên... [1] Ở Trung Quốc còn được gọi là Nhân sâm năm ngón (五指山参) [5][6]

Sâm Bố Chính là cây thân thảo, có chiều cao dao động từ 30-100cm, rễ cây hình trụ hoặc hình nón, dài khoảng 10-25cm, đường kính cổ rễ khoảng 0.5-3.0cm, ở thân củ có phân thành 2-5 nhánh nhỏ, trên mỗi nhánh rễ có các rễ phu nhỏ hơn, bề ngoài có màu trắng hoặc vàng nhạt, hình dang giống củ nhân sâm, thân củ mềm, dễ gãy, tiết diện ngang củ màu trắng có phần vỏ đồng tâm, khi nếm có vị ngọt và độ nhớt cao [7]. Cuống lá dài khoảng 4-8cm, phần cuối phiến lá hình trái tim, phía ngọn càng lên càng hẹp, phiến lá chia 5 thủy với thủy giữa dài hơn, có khi phiến lá chia thùy giống mũi tên, vì vậy trong tài liệu Trung Quốc thường gọi là Nhân sâm năm ngón [1][8].

Củ sâm Bố Chính có tính ngọt, hàn, không có tác dung phu, được sử dung để bồi bổ sức khỏe, suy nhược thần kinh, chóng mặt, đau đầu, đau thắt lưng, đau dạ dày, tiêu chảy, bong gân, sưng tấy...[9], thành phần các chất trong củ sâm Bố Chính có chứa các enzyme chống oxy hóa nên có thể ứng dụng trong việc chăm sóc da, các loại mỹ phẩm [10], theo nghiên cứu của GS.TS Đỗ Tất Lợi thì thành phần của sâm gồm 35-40% chất nhầy, nhiều tinh bột, asparagin, đường sacaroza, trước đây thường sử dụng để làm thuốc chữa ho, viêm phế quản, viêm họng, viêm đường tiết niệu, ỉa chảy, mụn nhọt, giảm sự viêm tấy, làm chậm sự hấp thụ các loai thuốc khác cùng uống [1][2]. Trong bài báo này, tác giả tập trung nghiên cứu và tìm hiểu hàm lương protein thô và protein hòa tan trong củ sâm Bố Chính, nhằm làm cơ sở để đánh giá về hàm lượng dinh dưỡng và phát triển các sản phẩm từ loài được liệu này trên địa bàn tỉnh Quảng Bình.

1. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất

- Máy đo quang
- Bình Kjeldahl
- Cân phân tích
- Ô ng nghiệm
- Pipette 5ml, 1ml (có thể thay bằng pipetteman)
 - Đồng hồ bấm giây
 - Giấy thấm
 - Bình tia dựng cồn
 - NaCl
 - Albumine huyết thanh
- Coomassie Brilliant Blue G-250 (CBB G-250)
 - Ethanol 95%
 - Axit H₃PO₄ 85%
- Củ sâm Bố Chính thu hoạch tại Quảng Bình
 - H₂SO₄ 0.1N
 - NaOH 0.1N
 - K_2SO_4
 - CuSO₄

2.2. Phương pháp thí nghiệm

2.2.1. Xác định hàm lượng protein thô của sâm Bố Chính (phương pháp Kjeldahl)

Bước 1. Vô cơ hóa mẫu

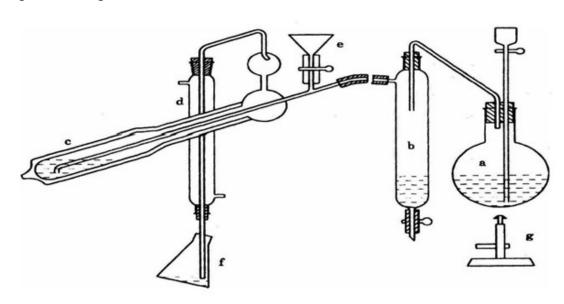
- a. Cân 100mg bột sâm Bố Chính cho cần thận vào bình Kjeldahl dung tích 50mL (không để bột bám vào cổ bình).
- b. Thêm 5mL dung dịch H_2SO_4 đậm đặc (d=1.84), trước khi cho axít vào cần cho vài giọt nước cất vào để thấm ướt bột, dùng pipet lấy 2mL.
- c. Đậy bằng nút thủy tinh, lắc nhẹ bình rồi đặt lên bếp đun nhẹ khoảng 30 phút
 - d. Cho vài giọt xúc tác hỗn hợp K₂SO₄

và CuSO₄ với tỉ lệ 3:1, tiếp tục đốt đến 30 phút, dung dịch sẽ chuyển từ màu đen sang màu cánh dán, nhấc bình ra khỏi bếp để nguội

e. Cho thêm vài giọt chất xúc tác axít percloric rồi tiếp tục đốt đến khi dung dịch trong bình không còn màu, nhấc bình ra để nguội.

f. Chuyển dung dịch sang bình định mức 100mL, tráng bình Kjeldahl vài lần bằng nước cất, sau đó dẫn nước đến vạch 100mL.

Bước 2. Cất đạm



Hình 01: Bộ chưng cất Kjeldahl định lượng nitơ

a-Bình đốt; b-bình rửa; c-bình phản ứng; d-ống làm lạnh; e-phểu; f-bình hứng; g-đèn đốt

a. Rửa bộ Kjeldahl bằng nước cất, lấy 10mL mẫu đã vô cơ hóa (Bước1) cho vào bình phản ứng (c) qua phểu (e).

b. Cho vào bình 20mL dung dịch H_2SO_4 0.1N sao cho ngập đầu ống làm lạnh và thêm vài giọt thuốc thử hỗn hợp. Theo dõi bình hứng (f), nếu thấy dung dịch chuyển từ màu vàng sang màu lá mạ thì cho thêm 5mL H_2SO_4 0.1N vào bình (cần thao tác nhanh để tránh mất Nitơ).

c. Đun sôi khoảng 30 phút, quan sát cột nước ở đầu ống làm lạnh nếu không chuyển từ màu hồng sang màu xanh là được. Lấy bình hứng ra và chuẩn độ axít bằng kiềm 0.1N (quá trình chuẩn độ kết

thúc khi dung dịch chuyển từ màu đỏ qua màu nhạt), lượng kiềm dùng để chuẩn độ đo chính xác (V_2) .

Bước 3. Tính toán kết quả

Hàm lượng % protein thô có trong mẫu được xác định theo công thức

$$P = \frac{c(V_1 - V_2) \times 0.0142 \times f \times 6.25}{w(1 - x)}$$

Frong do:

P. Hàm lượng % protein thô có trong mẫu; c- nồng độ dung dịch axít H_2SO_4 (mol/l);

V₁- là thể tích dung dịch H₂SO₄ 0.1N cho vào bình hứng (ml);

V₂- là thể tích dung dịch NaOH 0.1N

dùng để chuẩn độ axít dư trong bình hứng (ml);

f- Hệ số điều chỉnh nồng độ $\mathrm{H_2SO_4}$ ở bình hứng;

w- khối lượng mẫu dùng để vô cơ hóa (g);

x- là độ ẩm trong mẫu; 0.0142- là khối lượng mol Nito.

2.2.2. Xác định hàm lượng protein hòa tan trong sâm Bố Chính (Phương pháp Bradford)

Có nhiều phương pháp định lượng protein như: phương pháp quan phổ, phương pháp BCA, phương pháp Lowry, phương pháp Bradford... Phương pháp Bradford dựa trên sự thay đổi bước sóng hấp thu cực đại của thuốc nhuộm Coomassie Brilliant Blue khi tạo phức hợp với protein.

Bước 1. Chuẩn bị

a. NaCl (0.15mol/l): Cân 8.77g NaCl hòa tan trong 500mL $\rm H_2O$, pha loảng tới 1 lít.

b. Albumine huyết thanh (0.1 mg/mL): Lấy 10 mg hòa tan trong 100 ml nước cất, lắc đều cho tan và lưu giữ ở 20° C. c. Thuốc nhuộm: Cân 10mg Coomassie Brilliant Blue G-250 (CBB G-250) hòa tan trong 5mL dung dịch Ethanol 95%, cho tiếp 10mL dung dịch axit H₃PO₄ 85% và dẫn nước cất đến 1lít. Dung dịch được lưu trữ trong chai thủy tinh tối màu.

d. Cân 100mg bột sâm Bố Chính (khô tuyệt đối) cho vào ống nghiệm 25mL, thêm 15mL dung dịch NaCl nồng độ 0.15mol/L, đặt vào máy lắc điều chính nhiệt độ 45°C và lắc trong vòng 1h, chiết lặp lại từ 2-3 lần cho đến khi không còn protein (bằng phản ứng Biuret), bổ sung NaCl tới 100mL ta được dung dịch tinh bột Sâm 1%.

Bước 2. Dựng đường chuẩn

Lấy 6 ống nghiệm 25mL để tạo đường cong chuẩn theo các giá trị cho ở Bản 01. Trong đó, dung dịch smom Coomassie Blue G-250 được thêm vào từng ống, lắc đều. Tránh tạo bọt và giữ trong 10 phút. Giá trị OD của mỗi ống được đo ở bước sóng 595nm và ống số O được sử dụng làm đối chứng. Giá trị OD_{595nm} được thể hiện trên trục tung và hàm lượng Albumin được thể hiện trên trục hoành.

В	ång 01: I	Bång pha	nồng độ d	dung dịch	chuẩn

Ông nghiệm	0	1	2	3	4	5	X
Albumine (μg/mL)	0	10	20	40	60	80	-
V _{Albumine} (mL)	0.0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1
V _{Nước cất} (mL)	1.0	0.9	0.8	0.6	0.4	0.2	-
Tổng V (mL)	1	1	1	1	1	1	1
G-250 (mL)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
OD _{595nm} (3 lần đo)	0.000	0.107	0.220	0.370	0.533	0.682	

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hàm lượng protein thô

Hàm lượng % protein thô có trong mẫu được xác định theo công thức:

$$P\% = \frac{c(V_1 - V_2) \times 0.0142 \times f \times 6.25}{w(1 - x)}$$

Từ số liệu tại mục 2.2.2, thay số vào công thức trên ta được: P%=9.16

Hàm lượng protein tống số của sâm Bố Chính so với một số loại củ thường dùng làm thực phẩm hàng ngày được đối chứng ở Bảng 02.

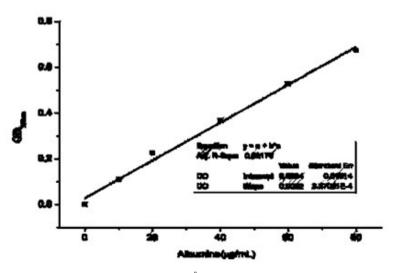
Bảng 02: So sánh hàm lượng % protein với một số loài củ được sử dụng làm
thực phẩm hàng ngày [3]

Loài Thực phẩm	sâm Bố Chính	củ cải	củ ấu	củ dong	củ từ	củ khoai lang	củ khoai môn	củ khoai sọ	củ khoai tây
Protein (%)	9.16	3.1	3.6	1.4	1.5	0.8	1.5	1.8	2.0

Nhìn vào Bảng 02 ta thấy, hàm lượng protein trong củ sâm Bố Chính cao hơn nhiều so với các loài thực phẩm thông thường, nếu được sử dụng để chế biến các món ăn sẽ mang lại giá trị dinh dưỡng cao.

3.2. Hàm lượng protein hòa tan

Từ Bảng 01, áp dụng phương pháp bình phương tối thiểu, sử dụng phần mềm Origin để xác định quan hệ tuyến tính giữa độ hấp thụ (OD) với nồng độ protein.



Hình 02: Dựng đường chuẩn xác định hàm lượng protein

Kết quả cho ta đường hồi quy tuyến tính có phương trình y=0.0082x+0.0284 (R²=0.992). Nồng độ protein trong mẫu cần

đo tính theo công thức:
$$x = \frac{y - 0.0284}{0.0082} \left(\frac{\mu g}{mL}\right)$$

trong đó y là giá trị $\mathrm{OD}_{\scriptscriptstyle{595\mathrm{nm}}}$.

Mẫu dung dịch sâm	OD	nồng độ protein (μg/ml	hàm lượng protein (%)	
1	0.241	25.75	2.575	
2	0.245	26.23	2.623	
3	0.244	26.11	2.611	
4	0.208	21.82	2.182	
5	0.231	24.56	2.456	
6	0.210	22.06	2.206	
	2.442			

Bảng 03: Hàm lượng % protein hòa tan qua các lần đo

Bảng 03 cho thấy giá trị trung bình thu được là 2.442%. Hàm lượng protein hòa tan có giá trị thấp hơn rất nhiều so với hàm lượng protein thô, điều này có thể do trong củ sâm Bố Chính chứa nhiều chất nhầy 35-45% nên việc chiết xuất protein gặp khó khăn.

4. KÉT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Bằng phương pháp Kjeldahl và phương pháp Bradford có thể xác định tương đối chính xác hàm lượng protein tổng số và protein hòa tan trong củ sâm Bố Chính trong các lần lặp đi lặp lại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt:

- [1] Đỗ Tất Lợi, Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. 2004, Nhà xuất bản Y học.
- [2] Đỗ Tất Lợi và cộng sự. Tài liệu học tập dược. 1961.
- [3] Nguyễn Công Khẩn, Hà Thị Anh Đào, Bảng thành phần thực phẩm Việt Nam. 2007, Nhà xuất bản Y học.

Kết quả tính toán cho thấy hàm lượng protein tổng số trong củ sâm Bố Chính trồng tại Quảng Bình có tỷ lệ là 9.16% và hàm lượng protein hòa tan là 2.442%.

Từ kết quả trên cho thấy hàm lượng protein trong củ sâm Bố Chính tương đối cao. Do vậy, ngoài các công dụng dược liệu để làm thuốc thì củ Sâm có thể được sử dụng để làm các thực phẩm dinh dưỡng khác.

Cần tiếp tục nghiên cứu các dược tính và thành phần dinh dưỡng khác để làm cơ sở khoa học cho việc phát triển các sản phẩm từ loài sâm này.

Tiếng nước ngoài:

- [4] Neng-bing, H., et al., Influence of Exoauxins on Seeds Germination and Seedlings Antioxidant Enzyme System of Abelmoschus sagittifolius (Kurz) Merr [J]. Acta Laser Biology Sinica, 2009. 3
- [5] 刘郁林, 可观赏的中药材——五指山参. 农村百事通, 2003(9): p. 29-51.

TCKH&CN, 19.(03), 2019

- [6] 刘郁林,观赏药材"五指山参"栽培法.农村新技术,2003(3):p.7-7.
- [7] 孙德夫, 人参伪品箭叶秋葵的鉴别. 安徽医药, 2003. 7(2): p. 86-86.
- [8] 中国科学院中国植物志.1984,北京:科 学出版社.p.49:59.
- [9] 胡能兵, et al., 外源生长素对箭叶秋葵 种子萌发及幼苗抗氧化酶系统的影响. 激光生物學報, 2009. 18(3): p. 315-319.
- [10] 苟兴,中药决明核型,抗氧化酶谱及营养成分分析.2009,重庆:西南大学硕士学位论文.

Liên hệ:

TS. Trần Lý Tưởng

Khoa Nông - Lâm - Ngư, Trường Đại học Quảng Bình Địa chỉ: 312 Lý Thường Kiệt, Đồng Hới, Quảng Bình.

Email: tuongtranly@gmail.com