

RESEARCH EXTRACTING POLYSACCHARIDES AND ALKALOIDS FROM *DENDROBIUM OFFICINALE* IN NET HOUSE

Nguyen Van Hong^{1,2}, Tran Dinh Ha^{2*}, Nguyen Thuong Tuan¹, Nguyen Huu Tho³

¹Institute of Life Sciences, ²TNU - University of Agriculture and Forestry

³Thainguyen University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 13/6/2023 Revised: 25/7/2023 Published: 28/7/2023	<i>Dendrobium officinale</i> Kimura et. Migo is one of the most valuable and rare medicinal orchids on the market today. However, the extraction of pharmacological ingredients from this plant is still limited. To improve the efficiency of the process of extracting polysaccharides and alkaloids active ingredients in <i>Dendrobium officinale</i> growth in net house, the study conducted experiments with different thresholds of technical parameters (kind of solvent, solvent concentration, time, materials/solvents ratio) in the extraction procedure. The results showed that the total polysaccharides and alkaloids content obtained the best values in the extraction of <i>Dendrobium officinale</i> stem when mixing the ratio of material/solvent was 1/10 or 1/15 and extract solvent Metanol 50 or 60% at the temperature of 50°C for 90 minutes. The research results are used to extract total polysaccharides and Alkaloids from <i>Dendrobium officinale</i> material, paving the way for further research and development of functional products to prevent and treat inflammation, high cholesterol levels, high blood pressure, and cancer.
KEYWORDS Dendrobium Officinale Polysaccharides Alkaloids Solvent Extraction time	

NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT POLYSACCHARID VÀ ALKALOID TỪ LAN THẠCH HỘC TÍA ĐƯỢC NUÔI TRỒNG TRONG NHÀ LƯỚI

Nguyễn Văn Hồng^{1,2}, Trần Đình Hà^{2*}, Nguyễn Thương Tuấn¹, Nguyễn Hữu Thọ³

¹Viện Khoa học Sự sống, ²Trường Đại học Nông lâm - ĐH Thái Nguyên

³Đại học Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 13/6/2023 Ngày hoàn thiện: 25/7/2023 Ngày đăng: 28/7/2023	Cây lan Thạch hộc tía (<i>Dendrobium officinale</i> Kimura et Migo) là một trong những loài lan dược quý và hiếm trên thị trường hiện nay. Tuy nhiên, việc chiết xuất các thành phần dược lý từ loại cây này vẫn còn nhiều hạn chế. Để nâng cao hiệu quả quy trình chiết xuất hoạt chất polysaccharides và alkaloids tổng số trong cây lan Thạch hộc tía nuôi trồng trong nhà lưới, nghiên cứu đã tiến hành các thử nghiệm với các ngưỡng thông số kỹ thuật khác nhau (loại dung môi, nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, thời gian) trong quy trình chiết xuất. Kết quả cho thấy, hàm lượng polysaccharid và alkaloid thu được giá trị cao nhất từ thân cây lan Thạch hộc tía khi pha tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/10 hoặc 1/15 và chiết dung môi Metanol 50 hoặc 60% ở nhiệt độ 50°C trong 90 phút. Kết quả nghiên cứu được sử dụng để chiết xuất polysaccharid và alkaloid từ nguyên liệu lan Thạch hộc tía, mở đường cho các nghiên cứu và phát triển các sản phẩm chức năng phòng và điều trị viêm nhiễm, cholesterol cao, cao huyết áp và ung thư trong giai đoạn tới.
TỪ KHÓA Dendrobium Officinale Polysaccharides Alkaloids Dung môi Thời gian chiết	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.8112>

* Corresponding author. Email: trandinhha@tuaf.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Loài *Dendrobium officinale* Kimura et Migo có tên tiếng Việt là Thạch học tía, thuộc chi lan Thạch học tía, họ lan (Orchidaceae). Đây là một cây hoa cảnh, một loài dược liệu rất quý, mọc ở vùng cao núi đá, nhiệt đới và á nhiệt đới [1], [2]. Thạch học tía có nguồn gốc xuất xứ từ rất nhiều nơi, đặc biệt là vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Tại Việt Nam, lan Thạch học tía phân bố chủ yếu ở vùng trung du và miền núi phía Bắc, xuất hiện tại các tỉnh như Hòa Bình, Lào Cai, Hà Giang, Quảng Ninh. Trong y học cổ truyền Trung Quốc, Thạch học tía là vị thuốc quý giúp tư âm, bổ thận, được xếp vào đại tiên thảo đầu vị của 9 loại đại tiên thảo [3]. Trong các nghiên cứu về thành phần hóa học của lan Thạch học tía, nhiều hợp chất phenanthrene, bibenzyl, adenosine thuộc nhóm polysaccharid, alkaloid có hiệu quả cao đối với việc phòng và điều trị các bệnh về đường huyết, tim mạch và ung thư [4]-[8].

Với giá trị về thẩm mỹ và dược liệu cao, hiện nay, lan Thạch học tía trong tự nhiên được khai thác mạnh mẽ để làm cây cảnh và làm thuốc, dẫn đến ngày một khan hiếm trong tự nhiên. Trong những năm gần đây, với sự phát triển của khoa học kỹ thuật, lan Thạch học tía đã và đang được đầu tư nuôi trồng trong nhà lưới công nghệ cao nhằm cung cấp sinh khối phục vụ nhu cầu dược liệu trên thị trường. Tuy nhiên, hiện nay, các nghiên cứu còn chưa đưa ra được quy trình chung về việc tách chiết các dược chất trong sinh khối lan Thạch học tía được nuôi trồng nhân tạo. Nghiên cứu này của chúng tôi nhằm mục tiêu đề xuất các thông số kỹ thuật tối ưu trong quy trình chiết xuất hoạt chất chính (Polysaccharid và alkaloid) từ sinh khối tái tạo của lan Thạch học tía.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Thân cây lan Thạch học tía (*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) được nhân bằng phương pháp nuôi cấy tế bào từ nguồn vật liệu thu thập trong tập đoàn giống lan Thạch học tía của Viện Khoa học Sự sống và nuôi trồng 2 năm trong điều kiện nhà lưới công nghệ cao.

2.2. Phương pháp xử lý mẫu

Cắt các đoạn thân dài 15-25 cm của cây lan Thạch học tía được lựa chọn, làm sạch (loại bỏ lá vàng, bụi bẩn), sử dụng như sinh khối tái tạo phục vụ nghiên cứu. Thân lan Thạch học tía sau khi xử lý được mang đi sấy khô kiệt (ẩm độ 11%) theo phương pháp sấy thăng hoa (-40°C) trên thiết bị VirTis Bench Top. Sản phẩm sấy sẽ được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu chiết xuất polysaccharide và alkaloid.

2.3. Phương pháp chiết xuất polysaccharid và alkaloid từ sinh khối tái tạo lan Thạch học tía

Mẫu lan Thạch học tía được thực hiện sấy khô theo phương pháp sấy thăng hoa đã trình bày ở mục 2.2. Mẫu sấy khô được chiết trên máy siêu âm Sonica, sử dụng phương pháp B.C. Talli [9] làm nền với sự biến động của các yếu tố trong các thử nghiệm cụ thể như sau:

Thí nghiệm 1: Lựa chọn dung môi chiết phù hợp cho quá trình chiết xuất hoạt chất của lan Thạch học tía

Lan Thạch học tía sau khi được sấy khô đem đi nghiền nhỏ thành bột mịn. Cố định thời gian chiết là 1,5 giờ và nhiệt độ ngâm chiết là 50°C [10]. Sau đó tiến hành ngâm chiết trong các dung môi khác nhau theo các công thức:

CT 1: Dung môi petroleum ether 98%.

CT 2: Dung môi ethanol 98%.

CT 3: Dung môi metanol 98%.

Thí nghiệm 2: Xác định nồng độ dung môi thích hợp cho quá trình chiết xuất hoạt chất của lan Thạch học tía

Sau khi lựa chọn được 1 dung môi phù hợp, cố định thời gian chiết là 1,5 giờ và nhiệt độ ngâm chiết là 50°C [10], tiến hành khảo sát các nồng độ khác nhau của methanol để lựa chọn nồng độ dung môi thích hợp.

- CT 1: Nước cất
- CT 2: Metanol 50%
- CT 3: Metanol 60%
- CT 4: Metanol 70%
- CT 5: Metanol 98%

Thí nghiệm 3: Xác định tỉ lệ nguyên liệu/dung môi thích hợp cho quá trình chiết xuất hoạt chất của lan Thạch học tía

Khảo sát tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết với Metanol 50% được xác định tối ưu ở các thử nghiệm trên. Cố định thời gian chiết là 1,5 giờ và nhiệt độ ngâm chiết là 50°C [10], tiến hành khảo sát các tỉ lệ nguyên liệu/dung môi theo các công thức:

- CT 1: Tỉ lệ nguyên liệu/dung môi 1/5 (w/v)
- CT 2: Tỉ lệ nguyên liệu/dung môi 1/10 (w/v)
- CT 3: Tỉ lệ nguyên liệu/dung môi 1/15 (w/v)
- CT 4: Tỉ lệ nguyên liệu/dung môi 1/20 (w/v)

Thí nghiệm 4: Xác định thời gian tách chiết thích hợp cho quá trình chiết xuất hoạt chất của lan Thạch học tía

Với metanol 50% và tỉ lệ 1/15 được lựa chọn ở thí nghiệm trên, cố định nhiệt độ chiết là 50°C, tiến hành khảo sát thời gian chiết theo các công thức:

- CT 1: Thời gian chiết là 30 phút
- CT 2 Thời gian chiết là 60 phút
- CT 3: Thời gian chiết là 90 phút
- CT 4: Thời gian chiết là 120 phút

2.4. Các chỉ tiêu theo dõi

Hàm lượng polysaccharid: Theo phương pháp phenol - acid sulfuric [11]. Dựa vào phản ứng thủy phân polysaccharid thành monosaccharid, monosaccharid tạo màu với phenol trong môi trường acid, dung dịch tạo thành có độ hấp thụ cực đại tại bước sóng $\lambda = 490$ nm. Trên cơ sở xây dựng đường chuẩn mật độ quang A ở bước sóng $\lambda = 490$ nm của glucose đã tạo màu với phenol. Hàm lượng polysaccharid được định lượng dựa trên số đo OD thu được của mẫu thí nghiệm đối chiếu với đồ thị chuẩn glucose.

Hàm lượng alkaloid (mg/100 g nguyên liệu khô): Hàm lượng alkaloid tổng được xác định theo phương pháp hình thành phức hợp với bromocresol green (BCG), tạo thành sản phẩm có màu vàng [12] và xây dựng đường chuẩn với atropin (AE).

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập và xử lý thống kê để xác định sự sai khác giữa các công thức. Xử lý thống kê bằng phần mềm SAS 9.1 và giá trị trung bình được so sánh theo phương pháp Duncan ($p \leq 0,01$).

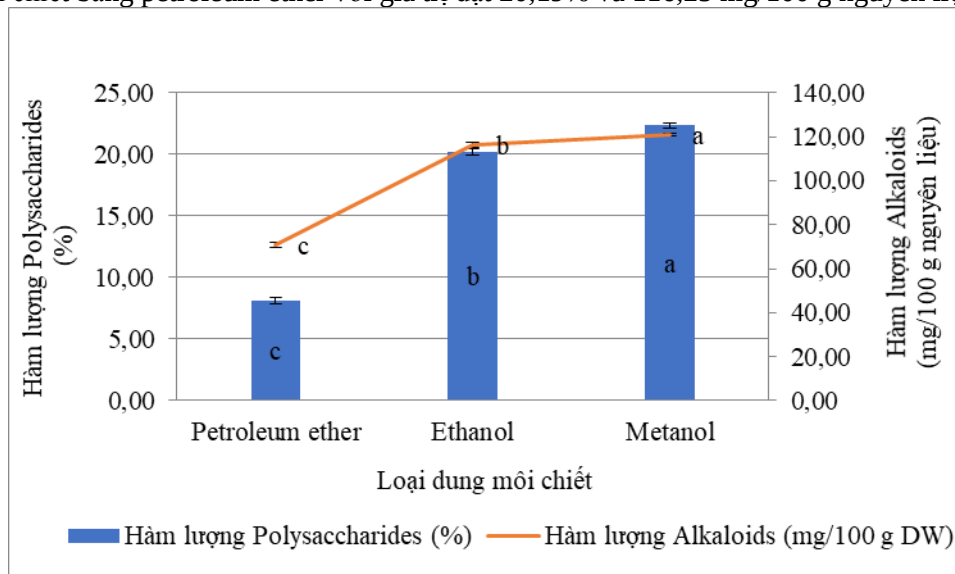
3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của loại dung môi chiết đến hàm lượng polysaccharide và alkaloid thu từ sinh khối lan Thạch học tía

Kết quả thí nghiệm thu được ở Hình 1 thể hiện sự biến động về hàm lượng polysaccharide và alkaloid thu được từ sinh khối lan Thạch học tía dưới tác động của dung môi chiết khác nhau ($p \leq 0,01$).

Ở các thử nghiệm loại dung môi chiết (Petroleum ether, ethanol, metanol), hàm lượng polysaccharide thu được dao động từ 8,15 - 22,34% (CV % = 1,39; LSD_{0,01} = 0,71), hàm lượng alkaloid thu được dao động từ 70,83-120,86 mg/100 g nguyên liệu (CV % = 0,92; LSD_{0,01} = 2,85) và được xếp theo thứ tự giảm dần “a”, “b” và “c” trong so sánh Duncan. Trong đó, các mẫu được chiết bằng metanol 98% cho hàm lượng polysaccharide và alkaloid cao nhất (lần lượt là 22,34% và 120,89 mg/100g nguyên liệu) và đều được xếp ở phân mức “a” trong so sánh Duncan.

Dung môi petroleum ether có hiệu quả chiết polysaccharide và alkaloid từ sinh khối lan Thạch học tía là thấp nhất với giá trị lần lượt đạt 8,15% và 70,83 mg/100 g nguyên liệu. Chiết bằng dung môi ethanol có hiệu quả chiết polysaccharide và alkaloid thấp hơn chiết bằng methanol và cao hơn chiết bằng petroleum ether với giá trị đạt 20,19% và 116,25 mg/100 g nguyên liệu.



Hình 1. Kết quả ảnh hưởng của loại dung môi chiết đến hàm lượng polysaccharide và alkaloid chiết xuất từ lan Thạch học tía

(a, b, c) ở giữa mỗi cột và cạnh mỗi điểm gấp khúc thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức 99% (theo phương pháp Duncan, $p \leq 0,01$). Hàm lượng $\pm$ độ lệch chuẩn

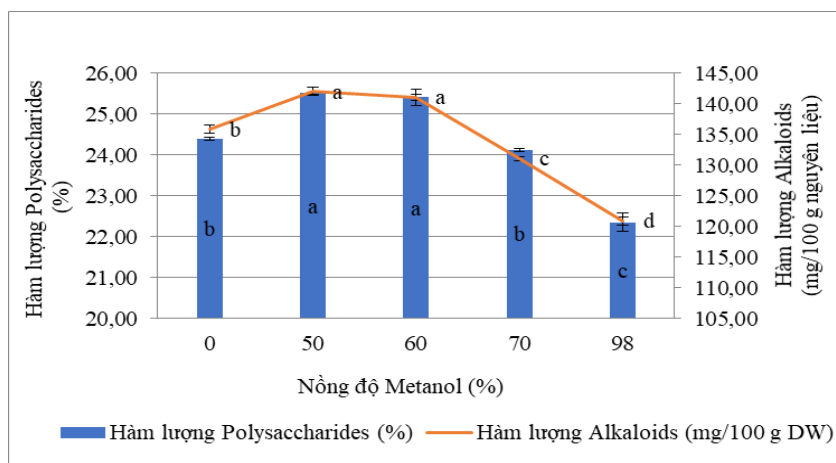
Dung môi chiết ảnh hưởng đến sự thu hồi hóa chất từ vật liệu thực vật [10], [13]-[15]. Trong thí nghiệm này, dung môi metanol có hiệu quả chiết polysaccharide và alkaloid là cao nhất. Kết luận tương tự về hiệu quả chiết tối ưu đạt được bằng dung môi metanol khi sử dụng chiết polyphenol ở cây Bàu đất (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) [13], flavonoid từ lan Kim Tuyến [10]. Ngược lại, hiệu quả chiết polyphenol ở cây Kim vàng (*Barleria lupulina* L.) [14], cây lan Hoàng thảo đùi gà (*Dendrobium nobile* Lindl) [16], polysaccharid từ cây Sâm xuyên đá (*Myxopyrum smilacifolium* (Wall.) Blume) [15] đạt cao nhất ở dung môi ethanol. Sự khác biệt này có thể xuất phát từ nguồn nguyên liệu khác nhau được sử dụng.

Như vậy, với mẫu lan Thạch học tía, kết quả chiết polysaccharide và alkaloid có hiệu quả thấp hơn khi sử dụng dung môi không phân cực là petroleum ether và đạt hiệu quả cao hơn ở 2 dung môi phân cực là ethanol và metanol. Trong đó, dung môi methanol cho hiệu quả chiết xuất với hàm lượng polysaccharide và alkaloid thu được cao nhất.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi metanol đến hàm lượng polysaccharide và alkaloid chiết từ sinh khối lan Thạch học tía

Nồng độ dung môi metanol khác nhau có ảnh hưởng khác nhau đến hàm lượng hóa chất thu hồi từ vật liệu thực vật [10], [13]. Kết luận tương tự về ảnh hưởng của nồng độ metanol đến hàm lượng polysaccharide và alkaloid chiết xuất ra từ sinh khối khô của lan Thạch học tía ($p \leq 0,01$) được ghi nhận ở Hình 2.

Hàm lượng polysaccharid thu được ở các nồng độ metanol đạt từ 22,34% đến 25,5% và được xếp theo thứ tự giảm dần ở các phân mức “a”, “b”, “c” theo so sánh Duncan ($CV\% = 0,45$; $LSD_{0,01} = 0,29$). Hàm lượng alkaloid cũng dao động từ 120,8 – 142,03 mg/100 g nguyên liệu tùy vào nồng độ Metanol sử dụng trong ngâm chiết ($CV\% = 0,58$; $LSD_{0,01} = 2,03$).



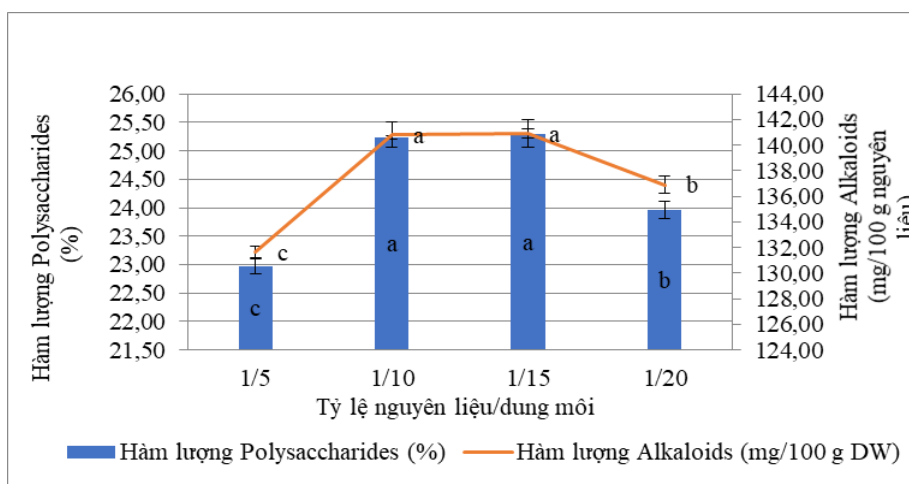
Hình 2. Kết quả ảnh hưởng của nồng độ dung môi methanol đến hàm lượng polysaccharide và alkaloid chiết xuất từ lan Thạch học tía

(a, b, c) ở giữa mỗi cột và cạnh mỗi điểm gấp khúc thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức 99% (theo phương pháp Duncan, $p \leq 0,01$). Hàm lượng $\pm$ độ lệch chuẩn

Ở cả hai ngưỡng nồng độ ngâm chiết là 50% và 60% đều cho hiệu quả chiết xuất polysaccharide và alkaloid được xếp ở phân mức cao nhất (mức “a”) theo so sánh Duncan ($p \leq 0,01$) và cao hơn so với trường hợp sử dụng dung môi là nước cất (xếp ở phân mức “b”). Tuy nhiên, khi tăng nồng độ metanol lên ngưỡng 70% và 98% thì hàm lượng polysaccharide và alkaloid thu được có xu hướng giảm thấp hơn so với chiết bằng nước cất. Kết quả này minh chứng cho giả thuyết suy giảm hiệu quả chiết xuất của dung môi khi sử dụng ở nồng độ quá cao.

Như vậy, metanol 50% và 60% là nồng độ thích hợp cho chiết xuất polysaccharide và alkaloid từ sinh khối tái tạo lan Thạch học tía.

3.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu và dung môi đến hàm lượng polysaccharide và alkaloid chiết từ sinh khối lan Thạch học tía



Hình 3. Kết quả ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu và dung môi đến hàm lượng polysaccharide và alkaloid chiết xuất từ sinh khối lan Thạch học tía

(a, b, c) ở giữa mỗi cột và cạnh mỗi điểm gấp khúc thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức 99% (theo phương pháp Duncan, $p \leq 0,01$). Hàm lượng $\pm$ độ lệch chuẩn

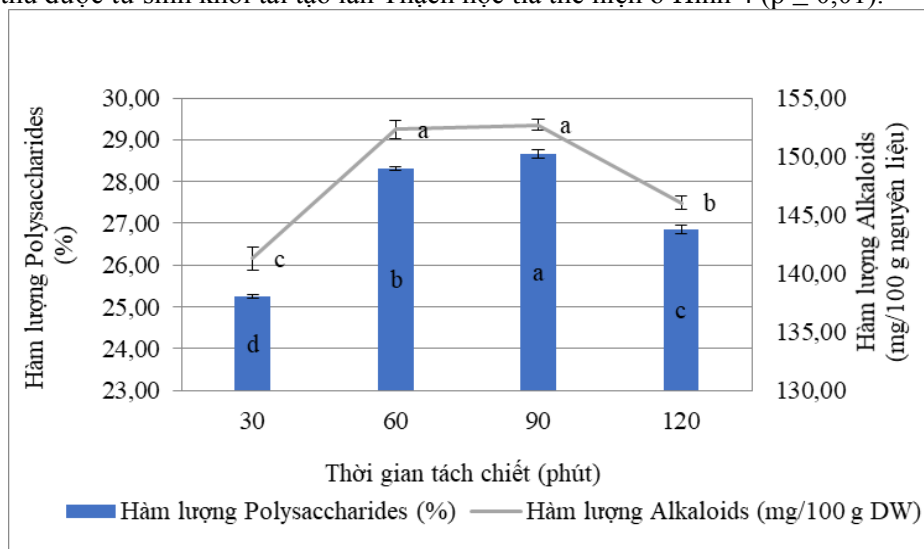
Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi ảnh hưởng đến hàm lượng polysaccharide và alkaloid chiết từ sinh khối lan Thạch học tía ($p \leq 0,01$). Kết quả thí nghiệm ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu lan Thạch học tía (W) và dung môi methanol 50% (V) ở các tỷ lệ 1/5; 1/10; 1/15 và 1/20 (g/ml) được trình bày trong Hình 3.

Hàm lượng polysaccharide có giá trị từ 22,97% - 25,3 % (CV% = 0,44; LSD_{0,01} = 0,30) và hàm lượng alkaloid có giá trị từ 131,65 - 140,9 mg/100 g nguyên liệu (CV% = 0,61; LSD_{0,01} = 2,31) tùy từng tỷ lệ phối trộn nguyên liệu và dung môi. Khi trộn nguyên liệu/dung môi ở tỷ lệ 1/10 và 1/15 cho hàm lượng polysaccharide và alkaloid thu được cao nhất, kết quả lần lượt là 25,3% và 140,9 mg/100g nguyên liệu và đều được xếp ở phân mức “a” theo so sánh Duncan. Ở tỷ lệ 1/20 (nguyên liệu/dung môi), lượng polysaccharide và alkaloid chiết được có giá trị thấp hơn, lần lượt là 23,96% và 136,9 mg/100g nguyên liệu. Ở tỷ lệ 1/5 (nguyên liệu/dung môi), lượng polysaccharide và alkaloid chiết được có giá trị thấp nhất, lần lượt là 22,97% và 131,65 mg/100g nguyên liệu và được đánh giá ở mức “c” trong so sánh Duncan.

Một số công bố trước đây đã chỉ ra rằng, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi ảnh hưởng đến hiệu quả chiết hóa chất từ nguyên liệu thực vật [9], [13], [15], [16]. Trong nghiên cứu này, ở tỷ lệ phối trộn nguyên liệu quá cao hoặc quá thấp đều giảm hiệu quả chiết xuất polysaccharid và alkaloid từ sinh khối tái tạo lan Thạch học tía. Nguyên nhân có thể do hàm lượng nguyên liệu/dung môi quá cao gây kìm hãm quá trình hòa tan của hoạt chất vào trong dịch chiết. Mặt khác, khi hàm lượng nguyên liệu/dung môi quá thấp lại gây hiện tượng thất thoát hoạt chất ở nồng độ thấp. Trong phạm vi thí nghiệm này, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (v/w) thích hợp nhất trong các thử nghiệm chiết xuất polysaccharide và alkaloid từ sinh khối thân lan Thạch học tía nuôi trồng nhân tạo trong nhà lưới là 1/10 và 1/15.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian tách chiết đến hàm lượng polysaccharide và alkaloid chiết từ sinh khối lan Thạch học tía

Kết quả thí nghiệm về thời gian tách chiết ảnh hưởng đến hàm lượng polysaccharide và alkaloid thu được từ sinh khối tái tạo lan Thạch học tía thể hiện ở Hình 4 ($p \leq 0,01$).



Hình 4. Kết quả ảnh hưởng của thời gian tách chiết đến hàm lượng polysaccharide và alkaloid chiết từ sinh khối lan Thạch học tía

(a, b, c) ở giữa mỗi cột và cạnh mỗi điểm gấp khúc thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức 99% (theo phương pháp Duncan, $p \leq 0,01$). Hàm lượng $\pm$ độ lệch chuẩn

Hàm lượng polysaccharide thu được cao nhất (28,66% - xếp ở phân mức “a” trong so sánh Duncan) với thời gian tách chiết 90 phút. Với thời gian tách chiết 30 phút, 60 phút và 120 phút cho hàm lượng polysaccharide đạt thấp hơn, lần lượt là 25,26%, 28,31% và 26,85% và được xếp ở các phân mức “d”, “b”, và “c” (CV% = 0,29; LSD_{0,01} = 0,22). Bên cạnh đó, hàm lượng alkaloid cũng biến động theo thời gian tách chiết và đạt giá trị từ 141,27- 152,72 mg/100 g nguyên liệu, được xếp theo thứ tự giảm dần ở các phân mức “a”, “b” và “c” theo phương pháp so

sánh Duncan ($CV\% = 0,51$; $LSD_{0,01} = 2,07$). Trong đó, hàm lượng alkaloid thu được cao nhất ở 2 ngưỡng thời gian tách chiết là 60 phút và 90 phút, giá trị đạt lần lượt là 152,34 và 152,72 mg/100 g nguyên liệu. Ở các ngưỡng thời gian tách chiết ngắn hơn (30 phút) và dài hơn (120 phút), hàm lượng alkaloid đạt giá trị thấp hơn lần lượt là 141,27 và 146,04 mg/100 g nguyên liệu.

Thời gian chiết tác động khác nhau đến hàm lượng hóa chất thu hồi từ nguyên liệu thực vật. Trong chiết xuất polysaccharid, thời gian chiết đạt tối ưu 3 giờ ở lan Hoàng thảo đùi gà (*Dendrobium nobile* Lindl) [16], 2 giờ ở lá cây Sâm xuyên đá (*Myxopyrum smilacifolium* (Wall.) Blume) [15], 4-6 giờ ở quả thể nấm linh chi đỏ [17]. Trong chiết xuất alkaloid từ rễ cây Bách hội, Đồng Quang Huy và cộng sự cho rằng thời gian chiết thích hợp nhất là 4 giờ [18]. Sự khác biệt của hiệu quả chiết hóa chất từ nguyên liệu thực vật đến từ thời gian ngâm chiết có thể do hiệu quả tương tác giữa nguyên liệu thực vật và các yếu tố thử nghiệm (dung môi chiết, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu, nhiệt độ chiết,...). Trong phạm vi của nghiên cứu này, 90 phút tách chiết là thích hợp nhất với mục đích thu cả polysaccharide và alkaloid từ sinh khối lan Thạch học tía nuôi trồng nhân tạo trong nhà lưới.

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu trong phạm vi thí nghiệm đã xác định được các thông số tối ưu của quy trình chiết xuất polysaccharide và alkaloid từ sinh khối tái tạo lan Thạch học tía như sau: phương pháp sấy lạnh duy trì tốt nhất về hình thái và chất lượng nguyên liệu sinh khối thân lan Thạch học tía nuôi trồng nhân tạo trong điều kiện nhà lưới; chiết xuất với dung môi metanol 50% và 60%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/10 và 1/15 trong thời gian 90 phút giúp thu được cả polysaccharide và alkaloid với hàm lượng cao nhất.

Lời cảm ơn

Chúng tôi chân thành cảm ơn Bộ giáo dục và Đào tạo đã tài trợ cho các hoạt động của nghiên cứu. Đồng thời, chúng tôi xin bày tỏ lòng biết ơn đến ban quản lý chương trình “Nghiên cứu, phát triển và ứng dụng công nghệ cao trong sản xuất một số cây trồng đặc trưng cho các tỉnh miền núi phía Bắc” đã hỗ trợ công tác quản lý cho nhóm nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] T. L. Do, Medicinal plants and traditional medicines in Vietnam. *Medical Publishing House*, 2004, pp. 638-640.
- [2] GBIF.org, “*Dendrobium officinale* Kimura & Migo in GBIF Secretariat,” 2023. [Online]. Available: <https://www.gbif.org/species/5317472>. [Accessed June 12, 2023].
- [3] W. Wei, L. Feng, W. R. Bao, D. L. Ma, C. H. Leung, S. P. Nie, and Q. B. Han, “Structure Characterization and Immunomodulating Effects of Polysaccharides Isolated from *Dendrobium officinale*,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 64, no. 4, pp. 881-889, 2016.
- [4] L. Lei, D. ChangChun, and L. FuHui, “Study on the antibacterial effects of two *Dendrobium* polysaccharides,” *Medicinal Plant*, vol. 2, no. 2, pp. 21-22, 2011.
- [5] T. B. Ng, J. Liu, J. H. Wong, X. Ye, S. C. Wing Sze, Y. Tong, and K. Y. Zhang, “Review of research on *Dendrobium*, a prized folk medicine,” *Appl Microbiol Biotechnol.*, vol. 93, no. 5, pp. 1795-803, 2012.
- [6] Y. Lam, T. B. Ng, R. M. Yao, J. Shi, K. Xu, S. C. Sze, and K. Y. Zhang, *Evaluation of chemical constituents and important mechanism of pharmacological biology in dendrobium plants*, Evidence-based complementary and alternative medicine : ECAM, 2015.
- [7] H. Tang, T. Zhao, Y. Sheng, T. Zheng, L. Fu, and Y. Zhang, *Dendrobium officinale* Kimura et Migo: A Review on Its Ethnopharmacology, Phytochemistry, Pharmacology, and Industrialization, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2017.
- [8] Y. Zhang, Z. Wu, J. Liu, Z. Zheng, Q. Li, H. Wang, Z. Chen, and K. Wang, “Identification of the core active structure of a *Dendrobium officinale* polysaccharide and its protective effect against dextran sulfate sodium-induced colitis via alleviating gut microbiota dysbiosis,” *Food Res Int.*, vol. 137, 2020, Art. no. 109641, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109641.

-
- [9] T. G. Do, V. H. Ha, H. H. Chu, and B. N. Pham, "Investigation of some chemical characteristics and antioxidant effects of flavonoids compounds extracted from the *Anoectochilus* species in Vietnam", *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology*, vol. 33, no. 1S, pp. 104-113, 2017.
- [10] N. T. Tuan and N. V. Hong, "Research completing the process of flavonoid compound fractional extraction from *Anoectochilus setaceus* Blume Cao Bang plant," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 226, no. 10, pp. 350-355, 2021.
- [11] M. DuBois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and S. Fred, "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances," *Analytical Chemistry*, vol. 28, no. 3, pp. 350-356, 1956.
- [12] F. Shamsa *et al.*, "Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants," *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 32, pp. 17-20, 2008.
- [13] T. K. Q. Pham, V. M. Nguyen, and T. H. Nguyen, "Effect of Extraction Conditions on Polyphenol Content and Antioxidant Activity of the Extract from *Gynura Procumbens* (Lour) Merr. Leaves," *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, vol. 14, no. 8, pp. 1248-1260, 2016.
- [14] N. K. Pham, "Study on extracting polyphenolic compounds indicates that antioxidant and antibacterial activities of *Barleria lupulina* L.," *Ho Chi Minh City Journal of medicine*, vol. 22, no. 1, pp. 35-41, 2018.
- [15] D. Pauline, I. R. Jonas, T. T. H. Le, T. T. Le, H. L. Cao, H. S. Luu, D. L. Vi, T. T. Nguyen, T. L. Ta, and T. K. H. Dinh, "Research the procedures for poliacaride total from the trunk of *myxopyrum smilacifolium* wall. Blume and assessment of action against oxization," *Scientific Journal of Tan Trao University*, vol. 17, pp. 36-41, 2020.
- [16] T. V. T. Nguyen, "Developing a Procedure of Extracting Total Polysaccharide from *Dendrobium Nobile* Lindl. in Vietnam," *Engineering and Technology for Sustainable Development*, vol. 31, no. 4, pp. 046-049, 2021.
- [17] V. B. Nguyen, T. P. Pham, and T. L. Nguyen, "Study on the factors affecting the extraction of polysaccharide content from red lingzhi," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 180, no. 04, pp. 3-8, 2018.
- [18] Q. H. Dong, N. M. Nguyen, Q. T. Nguyen, K. T. Nguyen, and T. H. Le, "Building alkaloid extract processing from the roots of *Stremona* in Thai Nguyen," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 194, no. 01, pp. 91-96, 2019.