

## KHẢO SÁT HÀM LƯỢNG STACHYOSE, POLYSACCHARIDE VÀ SAPONIN CỦA CAO TÔNG NƯỚC CỦ CỎ SÙNG THẢO (*Stachys affinis*) Ở CÁC ĐIỀU KIỆN CHIẾT KHÁC NHAU

Đoàn Thị Tám<sup>1\*</sup>, Nguyễn Thị Dung<sup>1</sup>, Phan Văn Hồ Nam<sup>2</sup>, Ngô Thị Phương Anh<sup>1</sup>, Phan Thị Lộc<sup>1</sup>, Nguyễn Đăng Quân<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Trung tâm Công nghệ sinh học Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup> Trung tâm Khoa học công nghệ dược Sài Gòn

### TÓM TẮT

Stachyose, polysaccharide và saponin là các nhóm chất chính tồn tại trong củ Sùng thảo (*Stachys affinis*), có khả năng phòng ngừa và điều trị bệnh đái tháo đường, đã được các nhà khoa học công bố những năm gần đây. Hiện nay, Trung tâm Công nghệ Sinh học thành phố Hồ Chí Minh là tổ chức tiên phong trong trồng trọt, khai thác các hoạt tính sinh học từ cây Sùng thảo. Trong nghiên cứu này, cao tổng củ Sùng thảo được chiết bằng nước ở các điều kiện khác nhau bao gồm nhiệt độ phòng (RT), gia nhiệt 80°C và 95°C đã được xác định hiệu suất thu hồi. Hàm lượng stachyose có trong cao chiết được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng siêu hiệu năng ghép đầu dò khối phổ (UPLC - MS). Hàm lượng polysaccharide được xác định bằng phương pháp phenol - acid sulfuric. Hàm lượng saponin được xác định bằng phương pháp vanillin - sulfuric acid assay. Ở điều kiện chiết gia nhiệt 95°C cho hiệu suất thu hồi cao tổng nước củ Sùng thảo tốt nhất đạt 75,5%. Hàm lượng stachyose và polysaccharide trong mẫu cao chiết 95°C đạt lần lượt 32,78% và 61,73% chất khô, cao hơn các mẫu còn lại. Hàm lượng saponin của mẫu cao chiết 80°C đạt 70,17 mg/g chất khô khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với mẫu cao chiết 95°C đạt 62,41 mg/g chất khô, cao hơn mẫu cao chiết (RT) đạt 41,54 mg/g chất khô. Cao tổng nước củ Sùng thảo ở điều kiện gia nhiệt 95°C sẽ được sử dụng trong nghiên cứu đánh giá tác dụng hạ đường huyết trên chuột.

*Từ khóa:* Đái tháo đường, polysaccharide, UPLC-MS, saponin, stachyose, *Stachys affinis*, Sùng thảo.

### MỞ ĐẦU

Sùng thảo (*Stachys affinis* Bunge) thường gọi là atisô Trung Quốc - "Chinese artichoke" hay Chorogi là loài thực vật đặc hữu ở Trung Quốc và Nhật Bản. Ở đây, chúng được trồng rộng rãi để thu hoạch củ, sử dụng làm thực phẩm. Củ Sùng thảo giàu protein, carbohydrate, vitamin, đặc biệt chứa hàm lượng lớn stachyose (Lukasz *et al.*, 2011). Stachyose chiếm 80% hàm lượng carbohydrate trong củ Sùng thảo (Keller *et al.*, 1985).

Stachyose có tác dụng kích thích sự phát triển của lợi khuẩn đường ruột, giúp bảo vệ chức năng của các cơ quan cũng như loại bỏ các độc tố trong cơ thể (Desai *et al.*, 2002). Stachyose có tác dụng hạ đường huyết hiệu quả ở chuột nhắt. Kết quả nghiên cứu cơ chế điều trị bệnh đái tháo đường tuýp 2 của stachyose trên mô hình chuột cho thấy stachyose có tác dụng cải thiện nồng độ insulin, cholesterol lipoprotein ở mật độ thấp và triglyceride. Ngoài ra, stachyose có khả năng điều trị bệnh đái tháo đường tuýp 2 trên chuột một phần nhờ vào cơ chế điều chỉnh chuyển hóa năng lượng và thay đổi hệ vi sinh vật đường ruột (Liang *et al.*, 2020). Stachyose là nguồn đường thay thế tiềm năng cho bệnh nhân đái tháo đường.

Polysaccharide tự nhiên có hoạt tính chống đái tháo đường và liệu pháp sử dụng chất này trong điều trị đái tháo đường ngày càng tăng ở các nước đang phát triển. Các thí nghiệm *in vivo* và *in vitro* đã chỉ ra rằng việc sử dụng polysaccharide có tác dụng hạ đường huyết và làm giảm rối loạn chức năng tế bào  $\beta$  tuyến tụy, hiệu quả điều trị đái tháo đường tương đương với các thuốc tổng hợp điều trị đái tháo đường (Wu *et al.*, 2016).

Saponin chiết xuất từ cây dược liệu có tác dụng trong điều trị bệnh đái tháo đường. Saponin đã được chứng minh có hoạt tính chống oxy hóa trong cả hai mô hình *in vivo* và *in vitro*. Sự hiện diện của nhiều nhóm (-OH) trong cấu trúc của saponin làm tăng cường hoạt động chống oxy hóa và ngăn ngừa sự hình thành ROS (Reactive oxygen species - các gốc tự do) trong bệnh đái tháo đường. Ngoài ra, saponin tạo ra các enzyme chống oxy hóa như catalase và superoxide effutase (SOD) trong mô hình động vật mắc bệnh đái tháo đường (Elekofehinti, 2015).

Tuy nhiên, ở Việt Nam vẫn chưa có công bố nào về hợp chất stachyose, polysaccharide hay saponin từ củ Sùng thảo. Trung tâm Công nghệ Sinh học thành phố Hồ Chí Minh là tổ chức tiên phong trong trồng trọt, khai thác các hoạt tính sinh học từ cây Sùng thảo. Trong bài báo này chúng tôi khảo sát các điều kiện thu hồi stachyose, polysaccharide, saponin từ củ Sùng thảo (*Stachys affinis*). Kết quả của nghiên cứu là tiền đề hướng đến tạo sản phẩm từ củ Sùng thảo ứng dụng trong phòng ngừa và điều trị bệnh đái tháo đường.

## NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Củ Sùng thảo 5 tháng tuổi, trồng tại Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh.

Hóa chất: stachyose (S4001 - 100MG, Sigma), glucose (G8270, Sigma), oleanolic acid (O5504 - 100MG Sigma), HCOOH (PA - Merck), nước cất (HPLC), MeOH (HPLC - Merck).

### Phương pháp thu thập và xử lý sơ bộ mẫu

Mẫu củ Sùng thảo sau khi thu hoạch được rửa sạch, để ráo nước. Nguyên liệu được sấy ở nhiệt độ dưới 50°C đến khi mẫu khô và có khối lượng không đổi, mẫu củ khô được xay nhuyễn thành bột, bảo quản ở 4°C.

### Phương pháp chiết cao tổng

Cao tổng nước củ Sùng thảo được chiết bằng kỹ thuật chiết ngâm dầm (chiết rắn - lỏng) (Hân *et al.*, 2007).

Bột củ Sùng thảo được chiết bằng nước cất theo tỉ lệ: mẫu: nước tương ứng 1:10 (w/v) trong 2,5 giờ ở nhiệt độ phòng (RT), tốc độ lắc 150 vòng/ phút, lặp lại 3 lần. Đối với các điều kiện chiết nóng 80°C và 95°C gia nhiệt trong bể ủ nhiệt thời gian 2,5 giờ, lặp lại 3 lần ở mỗi mẫu. Dịch chiết nước được lọc qua giấy lọc, cô cạn bằng máy cô quay chân không ở 40°C, sau đó được đông khô chân không để tạo thành dạng cao khô theo Dược điển.

### Phương pháp phân tích hàm lượng polysaccharide

Hàm lượng polysaccharide trong mẫu được xác định theo phương pháp phenol - acid sulfuric, được mô tả bởi Nielsen (2010): Sử dụng glucose làm chất chuẩn được pha với các nồng độ: 10, 20, 40, 60, 80 và 100 µg/mL. Mẫu bột cao chiết được pha ở nồng độ 20 µg/mL. Thành phần phân ứng bao gồm: 1 mL mẫu chuẩn hoặc bột cao chiết; 0,5 mL phenol 5% và 2,5 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đậm đặc, dung dịch sau khi phản ứng được để nguội ở nhiệt độ phòng, tiến hành đo mật độ quang ở bước sóng λ = 490 nm bằng máy đọc đĩa elisa VersaMax. Hàm lượng polysaccharide được tính toán dựa trên đường chuẩn glucose ( $y = 0,0105x - 0,0137$ ;  $R^2 = 0,9698$ ).

Hàm lượng đường hòa tan được tính theo công thức:

$$G = \frac{C_1}{C} * 100$$

Trong đó: G: Hàm lượng đường hòa tan (%); C<sub>1</sub>: Nồng độ đường hòa tan chứa trong mẫu (µg/mL); C: Nồng độ mẫu bột cao chiết (µg/mL).

### Phương pháp phân tích hàm lượng stachyose

Hàm lượng đường stachyose trong mẫu được xác định theo phương pháp sắc ký lỏng siêu hiệu năng ghép đầu dò khối phổ (UPLC - MS) theo mô tả của Xue (2018) và có hiệu chỉnh như sau: chất chuẩn stachyose. Hệ thống sắc ký: Waters Acquity QDA - Quaternary Solvent Manager R – Sample manager FTN-R - QDa Detector. Điều kiện sắc ký: pha tĩnh: C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm); pha động: Dung môi A: methanol; dung môi B: acid formic 1%; chương trình dung môi A: 0 → 8 phút: 100% B; 8 → 15 phút: 100% B → 0% B. Nhiệt độ tiêm mẫu: 30°C, thể tích tiêm: 5µL, tốc độ dòng: 0,6 mL/phút. Phát hiện: đầu dò khối phổ, ESI (-), m/z (stachyose) 665, m/z (hydrocortisone) 407, Cone voltage: 20 V. Chuẩn bị mẫu: dung dịch nội chuẩn: pha dung dịch nội chuẩn hydrocortisone có nồng độ 50 ppm; Dung dịch chuẩn: pha dung dịch stachyose có nồng độ 50 ppm. Thêm 200 µL dung dịch nội chuẩn hydrocortisone vào 1,8 mL dung dịch chuẩn, lọc qua màng lọc 0,22 µm. Dung dịch thử: cân chính xác 100 mg mẫu, cho vào bình định mức 100 mL, thêm khoảng 20 mL nước cất để hòa tan, bổ sung nước tới vạch. Thêm 200 µL dung dịch nội chuẩn hydrocortisone vào 1,8 mL dung dịch thử, lọc qua màng lọc 0,22 µm.

Hàm lượng stachyose trong mẫu thử được tính theo công thức:

$$X = (S_{Sta\ thử}/S_{HC\ thử})/(S_{Sta\ chuẩn}/S_{HC\ chuẩn}) * (m_{chuẩn} * H/m_{thử}) * (Df_{thử}/Df_{chuẩn}) * 100$$

Trong đó: X: Hàm lượng stachyose (%); S<sub>Sta thử</sub>: Diện tích pic stachyose trên sắc ký đồ của dung dịch thử; S<sub>HC thử</sub>: Diện tích pic hydrocortisone trên sắc ký đồ của dung dịch thử; S<sub>Sta chuẩn</sub>: Diện tích pic stachyose trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn; S<sub>HC chuẩn</sub>: Diện tích pic hydrocortisone trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (g); m<sub>chuẩn</sub>: Khối lượng cân stachyose chuẩn (tính trên chế phẩm làm khan) (g); H: Hàm lượng chuẩn (tính trên chế phẩm làm khan); m<sub>thử</sub>: Khối lượng cân mẫu thử; Df<sub>thử</sub>: Độ pha loãng thử (100); Df<sub>chuẩn</sub>: Độ pha loãng chuẩn (100).

### Phương pháp phân tích hàm lượng saponin

Hàm lượng saponin tổng được xác định theo phương pháp vanillin - sulfuric acid assay, được mô tả bởi Anh và cộng sự (2018) có hiệu chỉnh như sau: 0,25 mL mẫu trộn đều với 0,25 mL dung dịch vanillin 8% (w/v) và cuối cùng bổ sung 2,5 mL dung dịch acid sulfuric 72% (w/v) và trộn đều trong đá. Sau đó, hỗn hợp được làm ấm ở

60°C trong 15 phút và làm mát lại trong nước khoảng 5 phút. Kết quả được đo ở bước sóng 560 nm bằng máy đọc đĩa elisa VersaMax. Hàm lượng saponin tổng được tính dựa trên đường chuẩn oleanolic acid (OA) với các nồng độ tương ứng là 500; 250; 125; 62,5; 31,25 và 15,625 µg/mL. Hàm lượng polysaccharide được tính toán dựa trên đường chuẩn OA ( $y = 0,001x + 0,002$ ;  $R^2 = 0,9995$ ). Kết quả biểu thị bằng số mg OA trên g mẫu.

### Phương pháp xử lý thống kê

Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng thống kê sinh học theo chương trình GraphPad Prism 8.

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

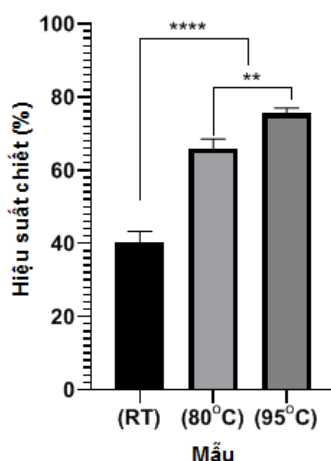
### Thu nhận cao chiết tổng nước củ Sùng thảo

Mẫu cao chiết tổng nước củ Sùng thảo thu nhận ở các điều kiện nhiệt độ khác nhau bao gồm: nhiệt độ phòng (RT), gia nhiệt 80°C và gia nhiệt 95°C (Hình 1).



**Hình 1. Cao chiết tổng nước củ Sùng thảo**  
A. Nhiệt độ phòng, B. Gia nhiệt 80°C, C. Gia nhiệt 95°C

Biểu đồ Hình 2 thể hiện hiệu suất thu hồi cao tổng nước ở điều kiện nhiệt độ phòng đạt 40,3% thấp hơn so với các điều kiện chiết có gia nhiệt. Ở điều kiện chiết gia nhiệt 95°C đạt hiệu suất 75,5% cao hơn điều kiện chiết 80°C đạt hiệu suất 65,92%. Như vậy điều kiện chiết có gia nhiệt cho hiệu suất thu hồi cao chiết củ Sùng thảo tốt hơn và tốt nhất ở nhiệt độ 95°C.

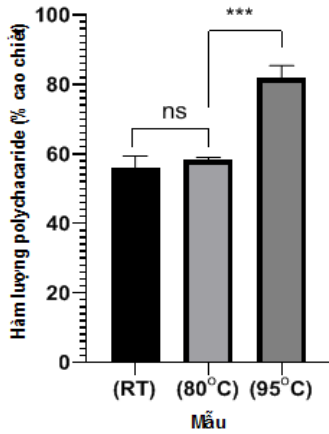


**Hình 2. Biểu đồ hiệu suất chiết cao tổng nước củ Sùng thảo**

Chú thích: \*\* $p = 0,05$ : khác biệt có ý nghĩa thống kê  
\*\*\* $p = 0,0001$ : khác biệt có ý nghĩa thống kê

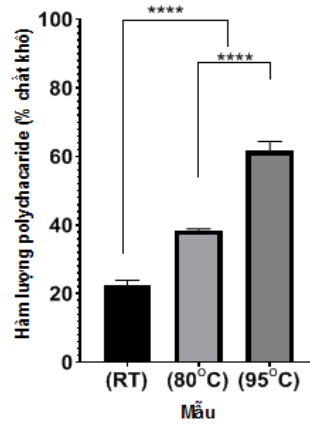
### Phân tích hàm lượng polysaccharide

Kết quả phân tích hàm lượng polysaccharide trong cao chiết củ Sùng thảo được trình bày ở biểu đồ Hình 3, trong số các loại cao chiết mẫu củ Sùng thảo thì hàm lượng đường hòa tan trong mẫu (95°C) cho kết quả cao nhất đạt 81,76% cao chiết, tương tự với nghiên cứu của Feng và cộng sự (2015). Mẫu (RT) có hàm lượng đường hòa tan thấp nhất đạt 56,04% cao chiết, khác biệt không đáng kể so với mẫu (80°C).



Hình 3. Biểu đồ hàm lượng polysaccharide trong cao chiết củ Sùng thảo

Chú thích: <sup>ns</sup>*p* > 0,05: khác biệt không có ý nghĩa thống kê  
<sup>\*\*\*</sup>*p* = 0,0001: khác biệt có ý nghĩa thống kê



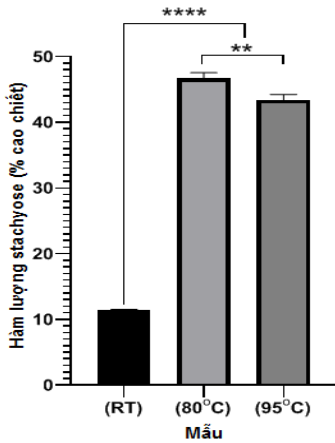
Hình 4. Biểu đồ hàm lượng polysaccharide trong nguyên liệu khô củ Sùng thảo

Chú thích: <sup>\*\*\*\*</sup>*p* < 0,0001: khác biệt có ý nghĩa thống kê

Hàm lượng polysaccharide trong nguyên liệu khô củ Sùng thảo thể hiện ở biểu đồ Hình 4, hàm lượng polysaccharide cao nhất ở mẫu (95°C) đạt 61,73%, giảm dần ở mẫu (80°C) đạt 38,41% và thấp nhất ở mẫu (RT) đạt 22,59%. Như vậy, điều kiện thu hồi polysaccharide tốt nhất đối với củ Sùng thảo là chiết bằng nước ở nhiệt độ 95°C. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Feng và cộng sự (2015).

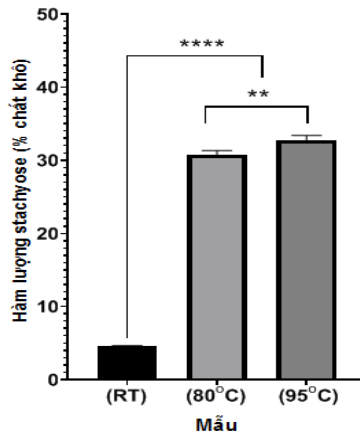
### Phân tích hàm lượng stachyose

Hàm lượng stachyose trong cao chiết củ Sùng thảo ở mẫu (80°C) đạt 46,68% và (95°C) đạt 43,41% cao hơn so với mẫu (RT) đạt 11,35% (Hình 5). Sự khác biệt hàm lượng stachyose giữa mẫu (80°C) và mẫu (95°C) có thể giải thích do stachyose là một tetrasaccharide nên kém bền ở điều kiện nhiệt độ cao.



Hình 5. Biểu đồ hàm lượng stachyose trong cao chiết củ Sùng thảo

Chú thích: <sup>\*\*\*\*</sup>*p* < 0,0001: khác biệt có ý nghĩa thống kê  
<sup>\*\*</sup>*p* = 0,05: khác biệt có ý nghĩa thống kê



Hình 6. Biểu đồ hàm lượng stachyose trong nguyên liệu khô củ Sùng thảo

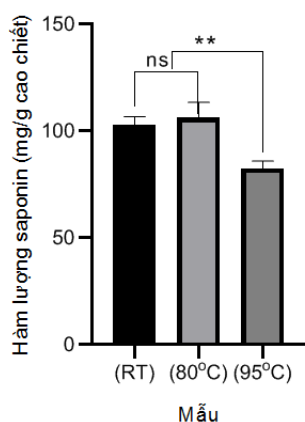
Chú thích: <sup>\*\*\*\*</sup>*p* < 0,0001: khác biệt có ý nghĩa thống kê  
<sup>\*\*</sup>*p* = 0,05: khác biệt có ý nghĩa thống kê

Hàm lượng stachyose trong nghiên cứu của chúng tôi ở mẫu (80°C) đạt 30,77% chất khô và mẫu (95°C) đạt 32,78% chất khô cao hơn kết quả của Yin và cộng sự (2006). Yin và cộng sự (2006) đã thu nhận stachyose theo 2 phương pháp khác nhau và phân tích bằng HPLC - ELSD cho kết quả hàm lượng stachyose trong củ lần lượt là 236 mg/g (23,6% chất khô), 194,6 mg/g (19,46% chất khô).

Mặt khác, theo kết quả nghiên cứu của Keller và cộng sự (1985), stachyose chiếm 80% hàm lượng carbohydrate trong củ Sùng thảo. Trong nghiên cứu của chúng tôi hàm lượng stachyose ở mẫu (80°C) chiếm 80,1% hàm lượng polysaccharide, phù hợp với kết quả nghiên cứu của Keller.

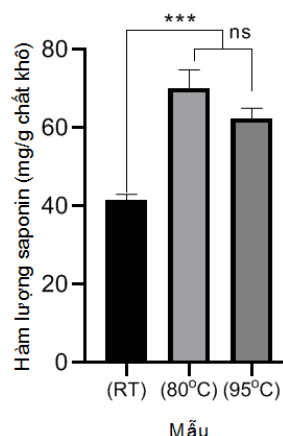
Tuy nhiên, dựa vào hiệu suất chiết, hàm lượng stachyose của mẫu (95°C) đạt 32,78% chất khô cao hơn có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,05$ ) so với mẫu (80°C) đạt 30,77% chất khô (Hình 6). Do vậy, căn cứ vào hiệu suất chiết chúng tôi chọn điều kiện chiết có gia nhiệt 95°C để thu hồi stachyose.

### Phân tích hàm lượng saponin



Hình 7. Biểu đồ hàm lượng saponin trong cao chiết củ Sùng thảo

Chú thích: \*\* $p = 0,05$ : khác biệt có ý nghĩa thống kê  
 $^{ns}p > 0,05$ : khác biệt không có ý nghĩa thống kê



Hình 8. Biểu đồ hàm lượng saponin trong nguyên liệu khô củ Sùng thảo

Chú thích: \*\*\* $p = 0,0001$ : khác biệt có ý nghĩa thống kê  
 $p > 0,05$ : khác biệt không có ý nghĩa thống kê

Hàm lượng saponin của mẫu Sùng thảo được trình bày ở Hình 7 và Hình 8. Đường lượng OA trong mẫu (RT), (80°C), (95°C) lần lượt là 103,09; 106,44; 82,66 mg/g cao chiết tương ứng với 41,54; 70,17; 62,41 mg/g chất khô. Hàm lượng saponin trong cao chiết ở nhiệt độ phòng (RT) và 80°C cao hơn so với cao chiết ở 95°C. Tuy nhiên, hiệu suất chiết ở điều kiện có gia nhiệt cao hơn so với nhiệt độ phòng, kết quả đường lượng OA (mg/g chất khô) ở mẫu (80°C) và (95°C) là tương đương nhau và cao hơn mẫu (RT). Như vậy, điều kiện chiết gia nhiệt 80°C là phù hợp để thu nhận saponin.

### KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu của chúng tôi, điều kiện thích hợp để thu hồi stachyose và polysaccharide trong củ Sùng thảo là chiết bằng nước cất ở nhiệt độ 95°C trong 2,5 giờ. Hàm lượng stachyose, polysaccharide trong mẫu (95°C) cao hơn mẫu (80°C) và mẫu (RT) đạt lần lượt 32,78 và 61,73% chất khô. Điều kiện chiết gia nhiệt 80°C là phù hợp để thu nhận saponin trong củ Sùng thảo. Hàm lượng saponin trong mẫu (80°C) và (95°C) không khác biệt đạt lần lượt 70,17 và 62,41 mg/g chất khô, cao hơn mẫu (RT). Trong nghiên cứu tiếp theo chúng tôi sử dụng cao tổng nước củ Sùng thảo chiết ở điều kiện gia nhiệt 95°C để đánh giá tác động hạ đường huyết trên chuột.

**Lời cảm ơn:** Kinh phí thực hiện nghiên cứu này được cung cấp bởi Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anh LV, Parks SE, Minh NH, Roach PD (2018). Improving the Vanillin - Sulphuric Acid Method for Quantifying Total Saponins. *Technol* 6(84): 1 - 12.
- Desai A, Small D, Mc GILL AEJ, Shah NP (2002). Metabolism of Raffinose and Stachyose in Reconstituted Skim Milk and of n-Hexanal and Pentanal in Soymilk by *Bifidobacteria*. *Biosci Microfl* 21(4): 245-250.
- Elekofehinti OO (2015). Saponins: Anti-diabetic principles from medicinal plants-A review. *Pathophysiol* 22(2): 95 - 103.
- Feng K, Chen W, Sun L, Liu J, Zhao Y, Li L, Wang Y, Zhang W (2015). Optimization extraction, preliminary characterization and antioxidant activity *in vitro* of polysaccharide from *Stachys sieboldii* Miq. Tubers. *Carbohydr Pol* 125: 45-52.
- Keller F, Matile P (1985). The Role of the Vacuole in Storage and Mobilization of Stachyose in Tubers of *Stachys sieboldii*. *J Plant Physiol* 119: 369-380.
- Liang L, Liu G, Yu G, Zhang F, Linhardt RJ, Li Q (2020). Urinary metabolomics analysis reveals the anti-diabetic effect of stachyose in high-fat diet/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Carbohydr Pol* 229 (115534): 1-8.
- Lukasz JL, Svanberg I, Koehler P (2011). Marsh woundwort, *Stachys palustris* L. (Lamiaceae): an overlooked food plant. *Gen Res Crop Evol* 58(5): 783 - 793.
- Nguyễn Văn Hân, Đỗ Hữu Nghị (2007). Kỹ thuật chiết xuất dược liệu. *NXB Y học*, 25 - 41.

- Nielsen SS (2010). Phenol-Sulfuric Acid Method for Total Carbohydrates. *Food Analysis Laboratory Manual, Springer*, 47 - 53.
- Wu J, Shi S, Wang H, Wang S (2016). Mechanisms underlying the effect of polysaccharide in the treatment of type 2 diabetes: A review. *Carbohydr Pol* 25(144): 474 - 494.
- Xue S, Wang L, Chen S, Cheng Y (2018). Simultaneous Analysis of Saccharides between Fresh and Processed Radix Rehmanniae by HPLC and UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS with Multivariate Statistical Analysis. *Molecules* 23(541): doi:10.3390/molecules23030541.
- Yin J, Yang G, Wang S, Chen Y (2006). Purification and determination of stachyose in Chinese artichoke (*Stachys Sieboldii* Miq.) by high-performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection. *Talanta* 70(1): 208 - 212.

## INVESTIGATION OF STACHYOSE, POLYSACCHARIDE AND SAPONIN CONTENT OF TOTAL WATER EXTRACT FROM *Stachys affinis* TUBERS IN DIFFERENCE EXTRACTION CONDITIONS

Doan Thi Tam <sup>1\*</sup>, Nguyen Thi Dung<sup>1</sup>, Phan Van Ho Nam<sup>2</sup>, Ngo Thi Phuong Anh<sup>1</sup>, Phan Thi Loc<sup>1</sup>, Nguyen Dang Quan<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Biotechnology Center of Ho Chi Minh City

<sup>2</sup> Sai Gon Pharmaceutical Science and Technology Center

### SUMMARY

Stachyose and polysaccharide are the main substances existing in *Stachys affinis* tuber, they have the ability to prevent and treat diabetes, published by scientists in recent years. Currently, Biotechnology Center of Ho Chi Minh City is a pioneer organization in cultivating and exploiting biological activities from *Stachys affinis*. In this study, the total of the extract of a *Stachys affinis* tubers extracted by water at room temperature (RT), 80°C and 95°C, were determined performance recovery. The content of stachyose present in the extract is determined by ultra-performance liquid chromatography mass spectrometry (UPLC - MS) method. The polysaccharide content is determined by phenol - sulfuric acid method. The saponin content is determined by vanillin - sulfuric acid assay. At 95°C heat extraction condition, the best total water extract recovery efficiency is 75.5%. The content of stachyose and polysaccharide in the extract reached 95°C respectively 32.78% and 61.73% of the dry matter, higher other samples. The saponin content of the 80°C extract sample was 70.17 mg/g dry matter difference was not statistically significant compared to the 95°C extract sample with 62.41mg/g dry matter, higher than the extract sample (RT) reach 41.54 mg/g dry matter. The total extract of a *Stachys affinis* tubers extracted with water at 95°C heating condition will be used in the study to evaluate the hypoglycemic effect in mice.

**Keywords:** Diabetes, polysaccharide, UPLC-MS, saponin, stachyose, *Stachys affinis*, Sùng thảo.

\* Author for correspondence: Tel: +84-90-6402 79; Email: doanthitam88@gmail.com