

Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết lên hoạt tính chống oxy hóa, thành phần ginsenoside và dược tính của dịch chiết sâm Ngọc Linh

Nguyễn Quốc Duy^{1,*}, Nguyễn Thị Vân Linh¹, Huỳnh Quốc Trung¹, Nguyễn Đức Tín¹, Đinh Trung Hiếu¹, Trần Thế Minh¹, Lương Trọng Khoa²

¹Viện Ứng dụng công nghệ và Phát triển bền vững, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Công ty Cổ phần Sâm Việt Nam VINAPANAX

*nquy@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushy) là một trong những loại thảo dược có giá trị kinh tế và dược tính nổi bật tại Việt Nam bao gồm khả năng chống ung thư, chống viêm, chống trầm cảm, chống stress và tác dụng bảo vệ tế bào gan. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình chiết xuất dịch sâm Ngọc Linh lên hàm lượng phenolic tổng, hoạt tính chống oxy hóa, thành phần ginsenoside và hoạt tính kháng viêm. Kết quả cho thấy trong khi 40 °C là nhiệt độ tốt nhất để thu được dịch chiết có hàm lượng phenolic và hoạt tính chống oxy hóa (ABTS và FRAP) cao nhất, nhiệt độ 60 °C lại được ghi nhận là hiệu quả để chiết xuất thành phần saponin trong củ sâm Ngọc Linh. Ngoài ra, kết quả phân tích HPLC-MS cũng kết luận rằng Rg1 và Mr2 là hai ginsenoside chính trong dịch chiết sâm Ngọc Linh ngoài các ginsenoside khác bao gồm Re, Rb1 và Rd. Dịch chiết cũng không thể hiện độc tính tế bào ở nồng độ dưới 1 000 µg/mL và dịch chiết thu được ở nhiệt độ chiết cao (60 °C và 80 °C) cho thấy hoạt tính ức chế các cytokine gây viêm NO và IL-6 hiệu quả hơn.

Nhận 03/09/2024

Được duyệt 29/11/2024

Công bố 28/12/2024

Từ khóa

Sâm Ngọc Linh
nhiệt độ chiết xuất,
chất chống oxy hóa,
thành phần ginsenoside,
hoạt tính kháng viêm

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grush.) hay còn gọi là sâm Ngọc Linh (SNL) thuộc họ Araliaceae là một loại cây quý hiếm được công nhận trên toàn thế giới vì những đặc tính dược liệu vượt trội của nó [1]. Nhiều nghiên cứu đã kết luận rằng đây là một trong những loại sâm quý hiếm và quý nhất thế giới bên cạnh các giống từ Hàn Quốc, Nhật Bản, Trung Quốc và Hoa Kỳ. Hàm lượng saponin của SNL cao hơn nhiều về nồng độ cũng như đa dạng hơn về cấu trúc so với các loài sâm khác trên thế giới [2]. Các saponin này có thể được chia thành bốn phân nhóm chính dựa trên sự khác biệt về cấu trúc hóa học của aglycone, bao gồm protopanaxadiol (PPD), protopanaxatriol (PPT),

ocotillol (OCT) và oleanane (OA). Tương tự như các loài *Panax* L. nổi tiếng khác như *Panax ginseng*, *Panax notoginseng* và *Panax quinquefolius*, các thành phần saponin chính của *Panax vietnamensis* bao gồm saponin loại dammarane có bộ khung protopanaxadiol (Rb1, Rc, Rd) hoặc bộ khung protopanaxatriol (Rg1, Re, R1). Thú vị hơn, saponin trong *Panax ginseng* và *Panax quinquefolium* chủ yếu thuộc loại PPD và PPT, saponin loại ocotillol chiếm số lượng lớn nhất trong SNL, hơn 50 % tổng số saponin [3]. Majonoside R2 (Mr2), có hàm lượng cao nhất (5,29 %) trong số các saponin được phân lập từ SNL, là một saponin loại ocotillol đáng chú ý không có trong *Panax ginseng*. Ngoài ra, các saponin khác, bao gồm ginsenoside Rb1, ginsenoside Rd, ginsenoside Re, ginsenoside Rg1,

majonoside R1, notoginsenoside R1, vinaginsenoside R1, vinaginsenoside R2 và vinaginsenoside R11 cũng là những thành phần chính trong rễ và thân rễ của SNL. Về dược tính, SNL đã được chứng minh là có một số tác dụng sinh học như hoạt tính chống oxy hóa, bảo vệ tế bào gan, chống stress và chống ung thư [4]. Các hợp chất saponin chính như Mr2, Rg1 và Rb1 cho thấy khả năng hạn chế peroxy hóa lipid do gốc tự do gây ra. Hầu hết các saponin loại dammarane có chuỗi bên loại ocotillol, cho thấy loại cấu trúc này có thể cần thiết cho tác dụng bảo vệ tế bào gan và khả năng chống viêm trong các đại bào thực bào được kích hoạt bằng lipopolysaccharide của sâm Việt Nam [4].

Chiết là phương pháp sử dụng dung môi lôi cuốn các chất tan trong mô thực vật. Quá trình chiết mẫu thường sử dụng các dung môi như là methanol, ethanol tinh khiết hoặc nước và thường kết hợp với nhiệt, siêu âm, vi sóng, Soxhlet hoặc chất lỏng siêu tới hạn [5]. Trong đó, chiết nước nóng là một phương pháp phổ biến, an toàn, thân thiện với môi trường và chi phí thấp với khả năng chiết xuất nhiều hợp chất khác nhau từ nguyên liệu thực vật như trà xanh [6], húng tây [7] và trà đen [8]. Một số nghiên cứu cho thấy sự ảnh hưởng của nhiệt độ lên chất lượng dịch trích như hoạt tính chống oxy hóa polyphenol ở 20 °C cao hơn 1,7 lần mẫu trích ở 120 °C [9]. Hiện tại, các nghiên cứu về SNL chưa được thực hiện và công bố nhiều tại Việt Nam cũng như trên thế giới. Do đó, mục đích của nghiên cứu này là đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất hàm lượng chất chống oxy hóa (phenolic), hoạt tính chống oxy hóa (ABTS và FRAP), thành phần ginsenoside và khả năng kháng viêm của dịch chiết SNL.

2 Nguyên liệu và phương pháp

2.1 Nguyên liệu

Củ SNL 6 năm tuổi được thu hoạch ở huyện Nam Trà My (Quảng Nam, Việt Nam). Củ sâm được lựa chọn có kích thước đồng nhất với độ dài (9-10) cm và có màu vàng nâu sáng. Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đều đạt chuẩn phân tích.

Phương pháp thu nhận dịch chiết SNL

Sau khi thu nhận và rửa sạch với nước để loại bỏ tạp chất, củ SNL được cắt lát với độ dày (0,3-0,5) cm và xay nhuyễn. Dịch chiết SNL được thu nhận bằng

phương pháp chiết rắn-lỏng sử dụng dung môi nước dưới sự hỗ trợ của siêu âm. Cụ thể, hỗn hợp sâm sau khi xay nhuyễn được chiết với nước theo tỉ lệ 1:10 (g/mL) ở ba điều kiện nhiệt độ khác nhau là 40 °C, 60 °C và 80 °C trong 15 phút. Sau khi được siêu âm trong 5 phút bằng máy siêu âm JPS-10A (80 W, 40 kHz) và ly tâm tốc độ cao bằng máy TG16 (Yingtai, China) ở mức 7 000 rpm trong 10 phút. Dịch bên trên được thu nhận và phân tích các chỉ tiêu hóa học và dược tính.

2.2 Phương pháp phân tích

2.2.1 Độ pH và tổng chất khô hòa tan

Độ pH của mẫu được đo bằng máy đo pH kỹ thuật số A211-pH (Thermo Scientific Orion Star, Indonesia) trong khi tổng chất khô hòa tan (TSS, độ Brix) được đo bằng khúc xạ kế kỹ thuật số cầm tay PR-101 (Atago Co., Tokyo, Japan).

2.2.2 Hàm lượng phenolic tổng

Tổng hàm lượng phenolic của dịch chiết SNL được đo bằng phương pháp Folin-Ciocalteu với một số sửa đổi [10]. Cụ thể, mẫu dịch pha loãng (0,6 mL) được trộn với 1,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu được pha loãng 10 lần bằng nước cất và ủ 5 phút trước khi thêm 1,2 mL dung dịch Na₂CO₃ 7,5 %. Sau khi ủ trong bóng tối 30 phút, độ hấp thụ của hỗn hợp được đo ở 765 nm bằng máy đo quang phổ UV2600 (Shimadzu, Kyoto, Japan). Hàm lượng phenolic tổng được tính toán dựa trên đường chuẩn acid gallic và được biểu thị bằng mg đương lượng acid gallic trong 1 L dịch (mg GAE/L).

2.2.3 Hoạt tính khử gốc tự do ABTS

Hoạt tính chống oxy hóa ABTS được xác định theo được thực hiện theo quy trình được mô tả trong nghiên cứu trước đó với một số sửa đổi [10]. Dịch phân tích (0,2 mL) được phản ứng với 2,8 mL thuốc thử ABTS được điều chỉnh về độ hấp thụ 1,1 ở bước sóng 734 nm. Hỗn hợp được giữ trong bóng tối trong 30 phút ở nhiệt độ phòng và độ hấp thụ được xác định ở cùng bước sóng. Hoạt tính chống oxy hóa ABTS được tính toán dựa trên đường chuẩn Trolox và được biểu thị bằng mg đương lượng Trolox trong 1 L dịch (mg TE/L).

2.2.4 Hoạt tính khử sắt FRAP

Hoạt tính khử sắt FRAP được thực hiện theo quy trình được mô tả trong nghiên cứu trước đó với một số thay đổi [10]. Thuốc thử FRAP được điều chế bằng cách

trộn 2,5 mL dung dịch TPTZ (10 mM) pha trong HCl 40 mM, 25 mL dung dịch đệm acetate (0,3 M ở pH = 3,6) và 2,5 mL dung dịch FeCl₃ (20 mM). Để phản ứng, dịch phân tích (0,2 mL) được phản ứng với 2,8 mL dung dịch thuốc thử FRAP. Hỗn hợp được giữ trong bóng tối trong 30 phút ở nhiệt độ phòng và độ hấp thụ được xác định ở bước sóng 593 nm. Hoạt tính chống oxy hóa FRAP được tính toán dựa trên đường chuẩn Trolox và được biểu thị bằng mg đương lượng Trolox trong 1 L dịch (mg TE/L).

2.2.5 Thành phần ginsenoside

Thành phần ginsenoside trong dịch chiết được định lượng bằng hệ thống sắc ký lỏng Shimadzu LC-40D (Shimadzu, Kyoto, Japan) ghép với cột phenyl (250 mm × 4.6 mm; 5.0 μm), đầu dò UV SPD-20A và bơm LC-40D. Mẫu được pha loãng với methanol, siêu âm ở 45 °C trong 15 phút trước khi được lọc qua màng PTFE 0.45 μm. Pha động bao gồm nước (dung môi A) và acetonitrile (dung môi B) với gradient rửa giải như sau: 80 % A trong 5 phút, 77 % A trong (5-20) phút, 70 % A trong (20-25) phút, 60 % A trong (25-32) phút, 50 % A trong (32-38) phút, 15 % A trong (38-52) phút và 80 % A trong (52-61) phút. Tốc độ dòng được cố định ở 1 mL/phút và nhiệt độ buồng cột được duy trì ở 35 °C. Bước sóng UV sử dụng để phát hiện hợp chất là 203 nm và thể tích tiêm mẫu là 10 μL. Chất chuẩn ginsenoside sử dụng bao gồm: Rg1, Re, Rf, Rb1, Rc, Rb2, Rd, Rg3 và Mr2.

2.2.6 Độc tính tế bào và hoạt tính kháng viêm

Khả năng gây độc tế bào và hoạt tính kháng viêm của dịch chiết được xác định theo phương pháp được mô tả trong nghiên cứu trước đó [11].

Nuôi cấy tế bào: tế bào RAW 264.7 được nuôi cấy trong DMEM chứa 10 % FBS và 1 % penicillin. Tế bào được duy trì ở 37 °C trong môi trường ẩm với tủ ẩm CO₂ 5 %. Tế bào nuôi cấy phụ được xử lý bằng 0,05 % Trypsin-EDTA (1X).

Độc tính tế bào: độc tính tế bào của dịch chiết trong môi trường không có huyết thanh được đánh giá bằng bộ xét nghiệm EZ-Cytox. Tế bào RAW 264.7 được cấy với mật độ 1×10^5 trên một giếng trong một đĩa 96 giếng. Sau đó, các tế bào được xử lý bằng các chiết xuất có nồng độ khác nhau và ủ trong 24 giờ. Sau đó, 10 μL

EZ-Cytox được thêm vào và ủ thêm trong 2 giờ. Độ hấp thụ của hỗn hợp được đo tại 450 nm và khả năng sống của tế bào được tính toán.

Hoạt tính kháng viêm: tác dụng ức chế phản ứng viêm của đại thực bào được thực hiện trên các cytokine gây viêm bao gồm NO và IL6. Các tế bào được cấy với mật độ 1×10^5 trên mỗi giếng trong các đĩa 96 giếng và ủ trong 12 giờ, sau đó kích thích bằng 50 μL lipopolysaccharide (LPS) 10 μg/mL và ủ trong 4 giờ. Sau đó, 100 μL dịch chiết ở các nồng độ khác nhau được thêm vào các giếng và ủ trong 24 giờ. Corticosterone acetate được sử dụng làm đối chứng dương ở nồng độ 10 μg/mL hòa tan trong DMSO.

2.2.7 Phương pháp xử lý thống kê

Dữ liệu thực nghiệm được phân tích bằng phần mềm SPSS 26 (SPSS Inc. Chicago, USA) sử dụng những kỹ thuật thống kê cơ bản. Phân tích phương sai một nhân tố (one-way ANOVA) được áp dụng để xác định sự khác nhau giữa các chế độ xử lý mẫu và Tukey's Multiple Range test được áp dụng để xác định sự khác biệt có ý nghĩa giữa các giá trị trung bình ở mức ý nghĩa 5 %.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất lên tính chất hóa lý của dịch chiết SNL

Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất lên một số tính chất hóa lý của dịch chiết SNL được trình bày trong Bảng 1. Có thể dễ dàng nhận thấy rằng pH và tổng chất khô hòa tan của ba mẫu không có sự khác biệt đáng kể và lần lượt nằm trong khoảng (5,76-5,81) °Bx và (1,0-1,1) °Bx. Việc xử lý nhiệt nguyên liệu trong dung môi nước gia tăng sự thẩm thấu của các phân tử nước vào bên trong mô thực vật và thúc đẩy quá trình truyền khối của các chất tan bên trong nguyên liệu [12]. Trong khi đó, hàm lượng phenolic tổng và hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết giảm khi tăng nhiệt độ chiết từ 40 °C lên 80 °C. Kết quả này cho thấy sự khác biệt với một số nghiên cứu khác về chiết xuất sâm. Trong một nghiên cứu khác, nhiệt độ và thời gian tối ưu cho việc thu nhận dịch chiết có hoạt tính chống oxy hóa DPPH, ABTS và FRAP cao là 90 °C trong 60 phút do nhiệt độ cao giúp giải phóng các phenolic tự do trong nguyên liệu [13]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, nhiệt độ thấp tỏ ra

hiệu quả hơn đối với nguyên liệu SNL. Điều này có thể được giải thích bởi sự khác biệt về loại nguyên liệu và thành phần saponin trong củ sâm. Đối với SNL, thành phần majonoside R2 (Mr2) thuộc loại ocotillol chiếm hàm lượng cao nhất, khác với sâm Hàn Quốc. Rõ ràng,

chiết xuất nước nóng là một giải pháp thay thế an toàn, thân thiện với môi trường và chi phí thấp trong khi vẫn có khả năng chiết xuất nhiều nhóm hợp chất từ nguyên liệu thực vật [14]. Tuy nhiên, việc gia nhiệt quá mức có thể gây ra tổn thất đáng kể về chất lượng dinh dưỡng.

Bảng 1 Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết lên một số tính chất hóa lý và hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết SNL

Chỉ tiêu đo	Nhiệt độ chiết (°C)		
	40	60	80
pH	5,76 ± 0,01 ^a	5,80 ± 0,02 ^b	5,81 ± 0,01 ^b
TSS (°Bx)	1,1 ± 0,1 ^a	1,0 ± <0,1 ^a	1,1 ± 0,2 ^a
Phenolic (mg GAE/L)	9,24 ± 0,15 ^c	4,14 ± 0,06 ^a	5,28 ± 0,14 ^b
ABTS (mg TE/L)	28,97 ± 1,15 ^a	23,97 ± 0,71 ^b	22,38 ± 0,23 ^c
FRAP (mg TE/L)	4,70 ± 0,10 ^a	3,96 ± 0,12 ^b	4,05 ± 0,04 ^b

Ghi chú: dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần lặp. Giá trị trong cùng một hàng có chữ cái giống nhau thể hiện sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5 % (p < 0,05).

3.2 Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất lên thành phần ginsenoside của dịch chiết SNL

Ginsenoside thuộc nhóm saponin steroid và saponin triterpene, là những hợp chất hoạt tính sinh học được nghiên cứu nhiều nhất trong sâm [15]. Thành phần ginsenoside của dịch chiết SNL được chiết ở ba mức nhiệt độ khác nhau được trình bày trong Bảng 2. Kết quả cho thấy Rg1 và Mr2 là hai ginsenoside chính có mặt với hàm lượng lớn trong dịch chiết SNL ngoài các ginsenoside khác bao gồm Re, Rb1 và Rd. Dễ dàng nhận thấy rằng, khác với hoạt tính chống oxy hóa, hàm lượng saponin và thành phần ginsenoside của dịch chiết ở 60 °C cho thấy giá trị cao nhất trừ hợp chất Re. Điều này cho thấy tính ổn định của một số ginsenoside giảm do tiếp xúc với nhiệt độ cao [13]. Ngoài ra, có thể giải thích rằng gốc đường trong phân tử saponin dạng glucoside được thủy phân và tạo thành các hợp chất ginsenoside có trọng lượng phân tử thấp khác. Sự gia tăng hàm lượng saponin trong sâm khi xử lý nhiệt ẩm có thể được giải thích bằng quá trình nhiệt phân malonyl ginsenoside, tạo ra aglycone của saponin chuỗi diol; ví dụ, Rg2 và Rh1 được chuyển hóa từ Re [16].

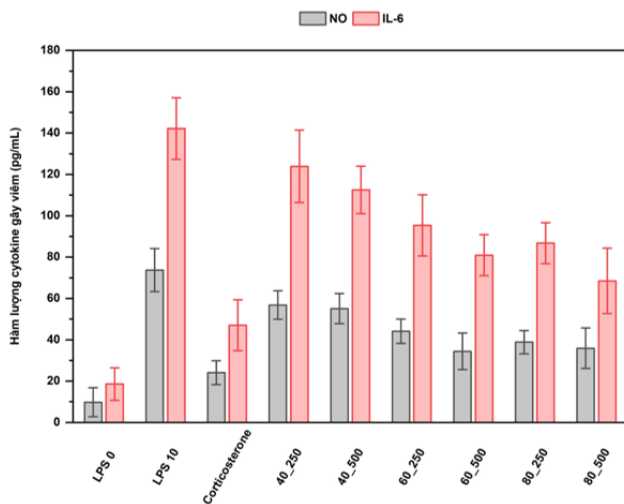
Bảng 2 Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất lên thành phần ginsenoside của dịch chiết SNL

Hợp chất (mg/L)	Nhiệt độ chiết xuất (°C)		
	40	60	80
Rg1	845,8	998,5	465,8
Re	78,3	66,0	61,8

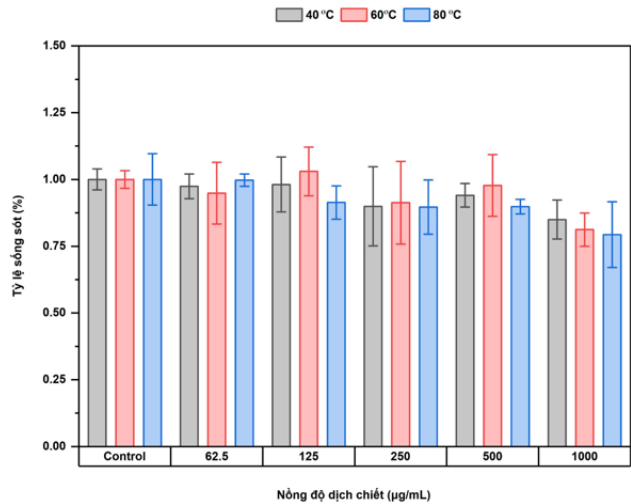
Rb1	156,3	175,5	93,5
Rd	64,3	107,5	32,0
Mr2	500,0	650,0	486,5
Tổng	1644,7	1997,5	1139,6

3.3 Đánh giá độc tính tế bào và hoạt tính kháng viêm của dịch chiết SNL

Viêm là phản ứng sinh học thiết yếu để phục hồi cân bằng mô, nhưng tình trạng viêm quá mức có thể dẫn đến tổn thương cho tế bào. Ngoài ra, tác dụng chống viêm chủ yếu bằng cách giảm các chất trung gian gây viêm của các hợp chất có thể bị thay đổi tùy thuộc vào phương pháp chiết và thành phần của dịch chiết [17]. Về hoạt tính kháng viêm của dịch chiết SNL trình bày ở Hình 1, có thể nhận thấy rằng khả năng ức chế hình thành cytokine gây viêm NO và IL-6 của dịch chiết thu nhận ở nhiệt độ 60 °C và 80 °C cao hơn dịch chiết ở 40 °C với nồng độ NO và IL-6 lần lượt nằm trong khoảng (34,39-44,13) pg/mL và (68.51-95.40) pg/mL. Ngoài ra, việc tăng nồng độ dịch chiết sâm lên 500 µg/mL cũng ức chế sự hình thành các cytokine gây viêm khi so sánh với nồng độ 250 µg/mL. Ginsenoside thể hiện các tác động chống viêm rõ rệt đã được chứng minh bởi nhiều nghiên cứu khác nhau [18]. Bên cạnh đó, ginsenoside cho thấy làm giảm sự tạo ra các phân tử gây viêm và mRNA của các cytokine/enzyme gây viêm [19]. Sâm và nhiều loại ginsenoside, chẳng hạn như Rg1, Rg3, Rp3 và F4, cho thấy hiệu quả ức chế quá trình hoạt hóa tiểu cầu và huyết khối [20].



Hình 1 Hoạt tính kháng cytokine gây viêm NO và IL-6 ở các nồng độ khác nhau của dịch chiết SNL được chiết ở các nhiệt độ khác nhau



Hình 2 Độc tính tế bào của dịch chiết SNL được chiết ở các nhiệt độ khác nhau

Ngoài ra, kết quả trình bày ở Hình 2, dịch chiết SNL được chiết ở ba nhiệt độ khác nhau đều không thể hiện độc tính đối với tế bào RAW 264.7 khi sử dụng với nồng độ dưới 1000 ug/mL.

4 Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng nhiệt độ chiết xuất trong quá trình chiết xuất bằng nước nóng 60 °C làm tăng 21,5% tổng hàm lượng ginsenoside cũng như các ginsenoside khác (như Rg1, Rb1, Rd và Mr2) trong củ SNL so với chiết ở nhiệt độ 40 °C. Tuy nhiên, nhiệt độ cao hơn (80 °C) lại làm giảm hàm lượng các hợp chất này. Mặt khác, nhiệt độ chiết xuất trên 40 °C lại làm giảm hàm lượng phenolic, hoạt tính chống oxy hóa ABTS và hoạt tính chống oxy hóa FRAP tương ứng là 55,2%, 17,3% và 15,7%. Xét về dược tính của dịch chiết từ củ SNL, việc sử dụng với nồng độ dưới 1000 ug/mL không gây ra độc tính trên tế bào và dịch chiết thu nhận ở nhiệt độ chiết cao (60 và 80 °C) thể hiện hoạt tính kháng các cytokine gây viêm NO và

IL-6 cao hơn 36,8-44,7% so với dịch chiết ở nhiệt độ thấp. Các kết quả trên cho thấy rằng nhiệt độ đã làm thay đổi khả năng chiết xuất, cấu trúc hóa học và nồng độ của ginsenosides, hợp chất phenolic và các thành phần hoạt tính sinh học khác, tác động đến đặc tính chống oxy hóa và dược tính của chúng. Có thể kết luận rằng dịch chiết từ SNL là nguồn dồi dào các hợp chất hoạt tính sinh học thể hiện tác dụng chống viêm và chống oxy hóa cao, từ đó cho thấy tiềm năng ứng dụng trong thực dược phẩm. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu khác cần được thực hiện để hiểu đầy đủ về cơ chế hoạt động lâm sàng và cận lâm sàng, khả năng tương tác thuốc và tối ưu hóa việc sử dụng các hợp chất này trong điều trị. Ngoài ra, việc khám phá thân lá sâm như một giải pháp thay thế tiết kiệm chi phí với các đặc tính hoạt tính sinh học tương tự có thể mở rộng khả năng tiếp cận và ứng dụng của nó.

Lời cảm ơn

Cám ơn Trường Đại học Nguyễn Tất Thành đã hỗ trợ điều kiện cơ sở vật chất trong suốt quá trình nghiên cứu.

Tài liệu tham khảo

1. Chaingam, J., Noguchi, K., Nuntawong, P., Vimolmangkang, S., Yodsurang, V., Yusakul, G., Morimoto, S., & Sakamoto, S. (2024). Monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for quantification of majonoside R2 as an authentication marker for Ngoc Linh and Lai Chau ginsengs. *Journal of Ginseng Research*, 48, 474-480.

2. Thanh, N. T., Van, T. T. H., Hung, L. V., Van Khiem, N., Mai, L. Q., Xuyen, D. T., Oanh, P. T., Van Hai, D., Dien, N. D., & Nhut, D. T. (2023). Bioactive Compounds and Biological Activities of Vietnamese Ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.). *Bioactive Compounds in the Storage Organs of Plants*, 1-25.
3. Le, Q.-U., Lay, H.-L., Wu, M.-C., Nguyen, T. H.-H., & Nguyen, D.-L. (2018). Phytoconstituents and biological activities of *Panax vietnamensis* (Vietnamese Ginseng): A precious ginseng and call for further research-a systematic review. *Natural Product Communications*, 13(10), 1934578X1801301036.
4. Tran, Q. Le, Adnyana, I. K., Tezuka, Y., Nagaoka, T., Tran, Q. K., & Kadota, S. (2001). Triterpene Saponins from Vietnamese Ginseng (*Panax vietnamensis*) and Their Hepatocytoprotective Activity. *Journal of Natural Products*, 64(4), 456-461.
5. Kim, E. O., Xu, J. L., & Um, B. H. (2016). Optimization of extraction of marker compounds from red ginsengs by accelerated solvent extraction using response surface methodology. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 45(8), 1162-1169.
6. Liang, H., Liang, Y., Dong, J., Lu, J., Xu, H., & Wang, H. (2007). Decaffeination of fresh green tea leaf (*Camellia sinensis*) by hot water treatment. *Food Chemistry*, 101(4), 1451-1456.
7. Matshediso, P. G., Cukrowska, E., & Chimuka, L. (2015). Development of pressurised hot water extraction (PHWE) for essential compounds from *Moringa oleifera* leaf extracts. *Food Chemistry*, 172, 423-427.
8. Hajiaghaalipour, F., Sanusi, J., & Kanthimathi, M. S. (2016). Temperature and time of steeping affect the antioxidant properties of white, green, and black tea infusions. *Journal of Food Science*, 81(1), H246-H254.
9. Larrauri, J. A., Rupérez, P., & Saura-Calixto, F. (1997). Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1390-1393.
10. Nguyen, Q.-D., Dang, T., Nguyen, T., Nguyen, T., & Nguyen, N. (2022). Microencapsulation of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) anthocyanins: effects of drying conditions on some physicochemical properties and antioxidant activities of spray-dried powder. *Food Science & Nutrition*, 10(1), 191-203.
11. Shan, L., Tyagi, A., Ham, H.-J., & Oh, D. H. (2024). Uncovering the antiinflammatory potential of *Lactiplantibacillus Plantarum* fermented *Cannabis Sativa* L seeds. *npj Science of Food*, 8(1), 42.
12. Plaza, M., Castro-Puyana, M., & Marina, M. L. (2019). Pressure hot water processing of food and natural products. In *Green Food Processing Techniques* (pp. 193-220). Elsevier.
13. Lee, K.-Y., Shim, S.-L., Jang, E.-S., & Choi, S.-G. (2024). Ginsenoside stability and antioxidant activity of Korean red ginseng (*Panax ginseng* CA meyer) extract as affected by temperature and time. *LWT*, 200, 116205.
14. González-Ballesteros, N., Torres, M. D., Flórez-Fernández, N., Diego-González, L., Simón-Vázquez, R., Rodríguez-Argüelles, M. C., & Domínguez, H. (2021). Eco-friendly extraction of *Mastocarpus stellatus* carrageenan for the synthesis of gold nanoparticles with improved biological activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 1436-1449.
15. Ratan, Z. A., Haidere, M. F., Hong, Y. H., Park, S. H., Lee, J.-O., Lee, J., & Cho, J. Y. (2021). Pharmacological potential of ginseng and its major component ginsenosides. *Journal of Ginseng Research*, 45(2), 199-210.
16. Yang, S.-J., Woo, K.-S., Yoo, J.-S., Kang, T.-S., Noh, Y.-H., Lee, J.-S., & Jeong, H.-S. (2006). Change of Korean ginseng components with high temperature and pressure treatment. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 38(4), 521-525.
17. Zhuang, Y., & Lyga, J. (2014). Inflammaging in skin and other tissues-the roles of complement system and macrophage. *Inflammation & Allergy-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Inflammation & Allergy)(Discontinued)*, 13(3), 153-161.
18. Jung, D.-H., Nahar, J., Mathiyalagan, R., Rupa, E. J., Ramadhania, Z. M., Han, Y., Yang, D.-C., & Kang, S. C. (2023). A focused review on molecular signalling mechanisms of ginsenosides anti-Lung cancer and anti-

inflammatory activities. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 23(1), 3-14.

19. Lee, J.-O., Yang, Y., Tao, Y., Yi, Y.-S., & Cho, J. Y. (2022). Korean Red Ginseng saponin fraction exerts anti-inflammatory effects by targeting the NF- κ B and AP-1 pathways. *Journal of Ginseng Research*, 46(3), 489-495.

20. Bian, Y., An, G.-J., Kim, K., Ngo, T., Shin, S., Bae, O.-N., Lim, K.-M., & Chung, J.-H. (2019). Ginsenoside Rg3, a component of ginseng, induces pro-thrombotic activity of erythrocytes via hemolysis-associated phosphatidylserine exposure. *Food and Chemical Toxicology*, 131, 110553.

Effect of extraction temperature on antioxidant activities, ginsenoside profiles and therapeutic properties of Ngoc Linh ginseng extracts

Nguyen Quoc Duy^{1,*}, Nguyen Thi Van Linh¹, Huynh Quoc Trung¹, Nguyen Duc Tin¹, Dinh Trung Hieu¹, Tran The Minh¹, Luong Trong Khoa²

¹Institute of Applied Technology and Sustainable Development, Nguyen Tat Thanh University

²VINAPANAX Company

*nqduy@ntt.edu.vn

Abstract Ngoc Linh ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv) is one of the medicinal herbs with outstanding economic and medicinal values in Viet Nam, including anti-cancer, anti-inflammatory, anti-depression, anti-stress and hepatoprotective effects. This study was conducted to evaluate the effects of temperature (40, 60 and 80) °C during the extraction of Ngoc Linh ginseng on total phenolic content, antioxidant activity, ginsenoside profiles and anti-inflammatory activity. The results showed that while 40 °C was the optimal temperature to obtain the extract with the highest phenolic content and antioxidant activity, 60 °C was noted to be effective for extracting saponin components in Ngoc Linh ginseng. In addition, results from the HPLC-MS analysis also showed that Rg1 and Mr2 were the two major ginsenosides in Ngoc Linh ginseng extract, in addition to other ginsenosides, including Re, Rb1 and Rd. The extract exhibited no cytotoxicity at doses lower than 1,000 μ g/mL and the extract obtained at high extraction temperatures (60 °C and 80 °C) showed higher inhibitory activity against inflammatory cytokines NO and IL-6.

Keywords Ngoc Linh ginseng, extraction temperature, antioxidant, ginsenoside profile, anti-inflammatory activity