

# NGHIÊN CỨU FUCOIDAN VÀ CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CHỨNG TỪ RONG NÂU VIỆT NAM

## STUDIES ON FUCOIDAN AND ITS PRODUCTION FROM VIETNAMESE BROWN SEAWEEDS

**Bùi Minh Lý, Nguyễn Duy Nhứt, Trần Thị Thanh Vân, Nguyễn Ngọc Linh, Hoàng Ngọc Minh, Phạm Đức Thịnh, Võ Mai Như Hiếu, Ngô Quốc Bưu, Nguyễn Đình Thuất, Cao Thị Thúy Hằng, Đặng Xuân Cường**

Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang  
02 - Hùng Vương, Nha Trang, Khánh Hòa  
Email: [bminhly@nitra.ac.vn](mailto:bminhly@nitra.ac.vn)

### Tóm tắt:

Trong những năm gần đây, fucoidan được đặc biệt quan tâm nghiên cứu nhờ hoạt tính sinh học đa dạng của chúng. Trong công bố này, fucoidan từ một số loài rong Nâu Việt Nam như *S. polycystum*, *S. oligocystum*, *S. mcclurei*, *S. swartzii*, *S. denticarpum*, *S. assimile*, *S. binderi*, *S. microcystum*, *S. feldmannii* và *Turbinaria ornata* được chiết bằng dung dịch axit clohydric 0,1M ở 60<sup>0</sup>C trong 6-8 giờ. Dịch chiết được cô đặc bằng siêu lọc, trung hòa và làm khô bằng đông cô lạnh. Fucoidan sau đó được phân lập bằng sắc kí kị nước và sắc kí trao đổi ion. Các phương pháp hóa học và hóa lý đã được sử dụng để phân tích thành phần và cấu trúc của các polysaccharit. Hàm lượng fucoidan là từ 0,8% (*S. swartzii*) đến 2,6% (*S. polycystum*). Tất cả fucoidan đều là galactose fucan sulfat hóa có chứa các nhóm este sulfat và axit uronic và được tạo thành chủ yếu bởi các fucose và galactose cùng một lượng nhỏ xylose, mannose và glucose. Kết quả thu được cho thấy fucoidan từ *S. polycystum*, *S. oligocystum*, *S. mcclurei*, *S. swartzii*, *S. denticarpum*, và *Turbinaria ornata* thể hiện hoạt tính kháng lại tế bào ung thư người. Một pilot sản xuất fucoidan từ rong Nâu Việt Nam công suất 2kg fucoidan thô trong ngày đã được thiết lập.

### Abstract:

In recent years, fucoidans have been extensively studied due to their diverse biological activities. In this report, fucoidan from some Vietnamese brown seaweeds such as *S. polycystum*, *S. oligocystum*, *S. mcclurei*, *S. swartzii*, *S. denticarpum*, *S. assimile*, *S. binderi*, *S. microcystum*, *S. feldmannii* and *Turbinaria ornata* were extracted with 0,1M hydrochloric acid solution at 60<sup>0</sup>C for 6-8h. The extracts were concentrated by ultrafiltration, neutralized and lyophilized. The fucoidans were then isolated by hydrophobic and ion exchange chromatography. The chemical and physico-chemical methods were used to analyse the composition and structure of polysaccharides. The fucoidan contents were from 0.8% (*S. swartzii*) to 2.6% (*S. polycystum*). All fucoidans found to be the sulfated galactofucans containing sulfate ester groups and uronic acid, and essentially composed of fucose and galactose, as well as a minor amount of xylose, mannose and glucose. The obtained results showed that fucoidans from *S. polycystum*, *S. oligocystum*, *S. mcclurei*, *S. swartzii*, *S. denticarpum* and *Turbinaria ornata* demonstrated bioactivity effects against cancer cells. A scale pilot for fucoidan production from Vietnamese brown seaweeds has been set up with a capacity of 2kg of crude fucoidan per day.

## I. MỞ ĐẦU

Trong đa dạng vô tận của thảm thực vật đại dương, rong nâu là một trong số các loài thực vật biển có thể tự tái tạo đáng được lưu ý nhất mà loài người đã phát hiện ra. Rong nâu chứa rất nhiều hợp chất thiên nhiên có giá trị dinh dưỡng và dược dụng cao [1]. Trong số đó fucoidan đã thu hút sự quan tâm nghiên cứu nhiều nhất trong những năm gần đây nhờ sở hữu những hoạt tính dược lý tuyệt vời như: kháng đông [2], kháng khuẩn và kháng virus [3,4,5], kháng khối huyết [6], kháng u [7], kháng viêm nhiễm [8], kháng tăng sinh [9], kháng thụ tinh [10]. Chúng còn được sử dụng rất thành công trong việc phòng ngừa và điều trị các bệnh phổ biến như cao huyết áp, viêm khớp, dị ứng và béo phì. Các tính chất sinh học này phụ thuộc chủ yếu vào khối lượng phân tử, hàm lượng và vị trí nhóm sulphat, cũng như cấu trúc phân tử của fucoidan [11].

Các nghiên cứu đang tiến triển về fucoidan đã được chứng minh một cách thuyết phục khả năng của chúng gây cảm ứng sự giáng hóa (apoptosis) tế bào ung thư trong bạch cầu, dạ dày, kết tràng, phổi, gan [12]. Khác với hoại tử- một sự chết tế bào do tổn thương bệnh lý, giáng hóa được coi là sự chết tế bào mà được lập trình cố hữu trong gen của chính bản thân tế bào. Vì vậy, có thể tin rằng một số thông số bên ngoài hoặc bên trong gây ra sự kích hoạt các gen mà lập trình sự giáng hóa, nhờ đó một protein gen chết lập trình được tổng hợp bằng con đường sinh học và bản thân tế bào tự bị phân hủy bởi protein gen gây chết lập trình thu được rồi dẫn đến sự chết.

Fucoidan rong nâu biểu lộ tác dụng ức chế sự phát triển đối với các tế bào ung thư khác nhau. Như đã biết rất rõ ràng, các tế bào ung thư được phép tái tạo do hệ miễn dịch không còn nhận biết được chúng để tiêu diệt. Fucoidan sản xuất ra các hợp chất interleukin và interferon trong hệ miễn dịch ngăn chặn sự phát triển tế bào ác tính, nhờ vậy nó có tác dụng kháng ung thư [13]. Vì những tác dụng này mà fucoidan có thể đóng một vai trò then chốt trong phản ứng miễn dịch của chúng với ung thư và nhiễm trùng.

Một số thí nghiệm ở phòng thí nghiệm còn chỉ ra rằng fucoidan có thể ngăn chặn sự phân chia tế bào nguy hiểm trong các xét nghiệm sử dụng các tế bào ung thư từ biểu bì, tĩnh mạch, phế quản người (tế bào ung thư phổi), fucoidan phong bế pha chia tế bào G1, là suy giảm sự phát triển của các u ác tính.

Mặc dù trong 10 năm trước đây một bằng sáng chế Châu Âu [14] khẳng định rằng “fucoidan chưa được sản xuất và bán ở quy mô công nghiệp, mặc dù nó là một vật liệu có thể được sử dụng ở rất nhiều lĩnh vực như đã nói ở trên, nguyên nhân lớn nhất là chưa phát hiện được nguồn rong biển chứa nhiều fucoidan”, đến nay có đã nhiều công ty trên thế giới như Sigma, LCR- Fucoidan, Sea Vegg, Fucoidan QOL, the Lab Dept Inc, Natureza, VINAFUCO JSC,... sản xuất fucoidan từ rong nâu để cung cấp cho thị trường. Công ty Sigma bán fucoidan thô điều chế từ loài rong *Fucus vesiculosus* với giá 43,50 USD/gram, trong khi The Lab Depot Inc bán với giá 90,51 USD/gram như hóa chất phòng thí nghiệm.

Việt Nam có tổng chiều dài bờ biển hơn 3.600 km với khí hậu thay đổi từ cận nhiệt đới ở phần phía Bắc đến nhiệt đới ở phần phía Nam của đất nước, rất thuận lợi cho nhiều loài rong phát triển. Kết quả điều tra đến nay đã thống kê được khoảng 1000 loài rong biển trong đó có 683 loài đã được phân loại, bao gồm 230 loài rảo đỏ, 125 loài tảo nâu, 145 loài tảo lục và 75 loài tảo lam [15]. Trong đa dạng rong biển này, các loài rong nâu thuộc chi rong mơ (*Sargassum*) là nguồn lợi rong biển tự nhiên lớn nhất của nước ta, cho đến nay đã phát hiện được hơn 60 loài phân bố phổ biến và rộng khắp ven biển và các đảo với sản lượng khai thác hàng năm ước tính vào khoảng 10.000 tấn khô [16]. Tuy nhiên, việc khai thác và sử dụng rong mơ ở Việt Nam còn chưa phù hợp và nằm dưới tiềm năng của nguồn nguyên liệu này.

Cho đến nay, rong mơ chủ yếu được sử dụng bổ xung vào thức ăn cho gia súc và phân bón cho trồng trọt hành, tỏi, ớt, cà chua,... gây lãng phí lớn.

Bài báo này trình bày tóm tắt một số kết quả nghiên cứu của tập thể tác giả từ năm 2004 đến 2010 về fucoidan và công nghệ sản xuất chúng từ rong nâu Việt Nam theo định hướng dược liệu, góp phần tăng cường sức khỏe cộng đồng.

## II. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Rong biển được thu ở vùng bờ biển tỉnh Khánh Hòa vào tháng 5-6.

Đường trung tính và đường khử được xác định bằng phương pháp của Dubois và cs [17] và phương pháp của Nelson và cs [18].

*Hóa chất:* Chất mang sắc ký polychrome-1 của hãng “Reachim” (Russia), DEAE-cellulose của hãng “Sigma” (USA) các hóa chất còn lại của hãng “Sigma”.

*Chiết sơ bộ:* Rong nguyên liệu được ngâm trong cồn (1: 10- khối lượng/ thể tích) trong khoảng 10 ngày ở nhiệt độ phòng. Lọc tách dịch chiết ra, rong còn lại được phơi khô trong không khí.

*Thu nhận các dịch chiết rong biển (1):* Rong khô (250 gram) được chiết bằng dung dịch  $\text{CaCl}_2$  2% trong nước (2,5 lít) tại nhiệt độ  $70^\circ\text{C}$  trong 6 giờ. Dịch chiết được tách ra bằng ly tâm, phần còn lại được xử lý lại lần nữa trong điều kiện tương tự. Bã rong còn lại được chiết bằng dung dịch 0,01 M HCl trong nước (tỷ lệ rong khô với dịch chiết = 1: 10; pH = 3), tại  $60^\circ\text{C}$  trong 6 giờ việc chiết được lặp lại hai lần trong cùng điều kiện. Dịch chiết chứa các polysacarit tan trong nước được gom lại và tách ra khỏi bã rong bằng cách lọc qua lớp vải lọc mịn khít, trung hòa bằng dung dịch  $\text{NaHCO}_3$  8% đến pH = 5-6. Dịch chiết được cô đặc bằng máy cô quay chân không đến thể tích 1/5 thể tích ban đầu, cho chạy thẩm tách với màng 10 kDa trong thời gian 48 giờ sau đó tiến hành làm khô bằng đông khô lạnh. Rong còn lại được chiết bằng 5 lít dung dịch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1% trong 6 giờ tại nhiệt độ  $60^\circ\text{C}$ , sau đó đưa thêm 2 lít nước và chiết qua đêm. Dịch chiết alginat natri được tách khỏi bã rong bằng cách lọc qua lớp vải lọc mịn khít rồi cô đặc trên máy cô quay chân không và thẩm tách. Sau đó bổ xung thêm HCl 0,1M và để yên 12 giờ. Tủa axit alginic được hòa tan lại trong dung dịch  $\text{NaHCO}_3$  8% (1 lít) và thẩm tách.

*Thu nhận các dịch chiết rong biển (2):* Rong khô (250 gram) được chiết bằng dung dịch 0,01 M HCl trong nước (tỷ lệ rong khô trên dịch chiết = 1: 10, pH = 3) tại nhiệt độ  $60^\circ\text{C}$  trong 6 giờ. Các dịch chiết được gom lại và tách ra khỏi bã rong bằng lớp vải mịn khít, trung hòa với NaOH 40% đến pH = 6-7. Các bước còn lại được tiến hành như phương pháp (1).

*Sắc ký kỵ nước (Zvyagintseva và cs., 1999) [19]:* Dịch chiết chứa laminaran, fucoidan và một lượng nhỏ axit alginic được đưa lên cột polychrome-1 (3,5x57 cm). Cột sau đó được rửa giải lần lượt với nước và cồn etylic 15% đến phản ứng âm tính với hydrat cacbon bằng phương pháp phenol-sulfuric axit. Dung dịch laminaran của dịch giải hấp bằng cồn etylic 15% được cô đặc trên máy bay hơi chân không đến thể tích nhỏ nhất có thể (10 ml) và được làm khô bằng đông khô lạnh. Dung dịch các axit polysacarit không bị hấp trên cột polychrome-1 (fucoidan và axit alginic) được cô đặc về thể tích 50 ml, chỉnh về pH = 2,0 bằng dung dịch HCl 1M và để yên 12 giờ để kết tủa axit alginic tạo thành. Tủa axit alginic được tách ra khỏi dung dịch bằng ly tâm. Tủa được hòa tan lại bằng  $\text{NaHCO}_3$  8% (20 ml), dung dịch bên trên chứa fucoidan và dung dịch alginat-Na được thẩm tách bằng màng Millipor 3 kDa và làm khô bằng đông khô lạnh.

**Sắc ký trao đổi ion:** Các phân đoạn của các chế phẩm polysaccharit được gộp lại và hòa tan trong 0.1M NaCl được đưa lên cột nhồi DEAE-celulose. Tiến hành rửa giải theo các gradient nồng độ 0.1; 0.5; 1.0; 2.0 M NaCl. Các phân đoạn được thẩm tách, bay hơi và làm khô bằng đông khô lạnh.

**Khối lượng phân tử của các polysaccharit:** Được xác định bằng phương pháp sắc ký lọc-gel trên cột Superdex 75- HR 10/30 (1.0x 30 cm) (ACTA FPLC, <<Amersham pharmacia biotech>>, Sweden) sau khi cân bằng về pH- 5.2 bằng đệm acetat có chứa NaCl 0.15M việc giải hấp được thực hiện bằng chính dung dịch đệm này với tốc độ 0.4 ml/phút. Các chất nội chuẩn là Dextran với trọng lượng phân tử 10, 20, 40, 80 kDa.

**Thành phần đường đơn của các polysaccharit:** Các phân đoạn của các polysaccharit (5mg) được đưa đi thủy phân với TFA 2N tại nhiệt độ 100°C trong 4 giờ. Thành phần đường đơn của các phân đoạn được xác định trên máy phân tích hydrat cacbon IC-500 Biotronik (Germany); cột Shim-, pack ISA- 07/S2504 (0.4 x 25 cm), đệm Borat, tốc độ rửa giải 0.6 ml/phút. Đường đơn được phát hiện bằng phương pháp dicinchorine, hệ phân tích Shimadzu C- R2 AX. Các đường đơn (Rha, Rib, Man, Gal, Xyl, Glc,... ) được sử dụng làm chất chuẩn.

**Hàm lượng sulphat:** Được xác định bằng phương pháp gelatin/BaCl<sub>2</sub> sau khi thủy phân trong dung dịch HCl 1N trong 6 giờ ở 100°C [20, 21].

Hàm lượng axit uronic được xác định bằng phương pháp carbazone sử dụng axit D-gluconic làm chất chuẩn [22].

Đề sulphat hóa các fucan sunphat được tiến hành bằng dung môi phân cực (solvolysis) trong dimethyl sulfoxide [23,24].

**Đánh giá hoạt tính kháng ung thư:** Được thực hiện theo phương pháp của Likhitwitaywid và cs [25]. Các dòng ung thư người được sử dụng là Lu- tế bào ung thư phổi, Hep- G2- tế bào ung thư gan, RD- tế bào ung thư màng tim và MDA- MB- 231- tế bào ung thư vú, LDL-1 tế bào ung thư kết tràng ở ruột người.

**Phổ NMR:** Phổ NMR của các polysaccharit được ghi trên máy quang phổ Bruker Advance DPX- 300 (D<sub>2</sub>O; tần số làm việc 75,5 MHz, chất chuẩn trong Me<sub>4</sub>Si (δ<sub>H</sub> 0 ppm) và methanol (δ<sub>c</sub> 50,15 ppm) tại 60°C).

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ 10 loài rong nâu thuộc vùng biển Việt Nam, đã tiến hành tách chiết các polysaccharit tan trong nước: laminaran, fucoidan và axit alginic. Các dữ liệu được đưa ra trên Bảng. 1

*Bảng 1 Hiệu suất và thành phần các đường đơn của fucoidan của một số loài rong nâu Sargassum vùng biển Khánh Hòa.*

Stt	Loài rong	Hiệu suất laminaran %	Hiệu suất fucoidan %*	Thành phần các đường đơn trong fucoidan (mol %)					SO <sub>3</sub> Na % w/w**	Axit uronic % w/w
				Fuc	Man	Gal	Xyl	Glc		
1	<i>S. feldmannii</i>	0,20	2,31	45,8	8,0	44,5	2,3	0		
2	<i>S. swartzii</i>	0,29	0,82	35,8	19,2	32,3	9,9	2,8	20,40	14,28
3	<i>S. oligocystum</i>	0,04	1,78	41,3	8,9	38,3	7,1	3,4	22,46	21,54
4	<i>S. denticapum</i>	0,09	2,00	40,1	15,9	38,7	5,3	0	25,69	21,20

5	<i>S. assimile</i>	Vết	2,13	49,2	3,0	43,3	2,2	2,3		
6	<i>S. microcystum</i>	0,17	2,64	28,6	1,7	31,1	1,6	37,0		
7	<i>S. mcclurei</i>	0,08	2,37	38,5	4,2	33,1	3,6	20,6	33,15	17,87
8	<i>S. polycystum</i>	0,36	2,57	32,4	12,6	33,5	8,5	11,2	25,60	23,74
9	<i>S. binderi</i>	0,12	1,13	42,2	10,3	38,0	9,5	0		
10	<i>Turbina ornata</i>	0,29	1,23	55,9	9,2	14,8	0	1,2	25,30	7,50

\* Hiệu suất tính theo trọng lượng rong khô đã loại chất béo được xác định tại PIBOC-L.B.Nga

\*\* Được xác định tại NITRA- Việt Nam

Chúng tôi đã sử dụng hai sơ đồ tách chiết các polysacarit. Đối với những loài rong cứng như *S. binderi* và *T. ornata* chúng tôi đã sử dụng sơ đồ xử lý 1 bao gồm cả việc chiết với dung dịch  $\text{CaCl}_2$  và đun nóng ở  $75^\circ\text{C}$ , tiếp theo tách chế phẩm polysacarit tổng (thô) trên cột DEAE-celulose. Các polysacarit từ các loài rong còn lại được tách chiết theo sơ đồ 2 với các điều kiện chiết nhẹ nhàng hơn và sử dụng sắc ký kỵ nước trên cột Polychrome-1 (Zvyagintseva et al., 1999), tiếp theo tách phân đoạn các chế phẩm polysacarit tổng trên cột DEAE-celulose. Bảng.1 cho thấy hàm lượng fucoidan của các loài rong là từ 0,8 (*S. swartzii*) đến 2,6% (*S. polycystum*). Tất cả fucoidan đều là các galactofucan sunphat hóa, bên cạnh fucose và galactose còn chứa những lượng nhỏ xylose, mannose, glucose. Hàm lượng laminaran trong các loài rong nghiên cứu là không đáng kể nhỏ hơn (0,3%). Hiệu suất và thành phần các monosacarit của các phân đoạn fucoidan từ một số loài rong nâu được đưa ra trên Bảng 2.

Bảng 2. Hiệu suất, thành phần monosacarit của các phân đoạn fucoidan từ 5 loài rong nâu

Tên loài rong	Phân đoạn rửa giải	Hiệu suất %	Đường tổng %	Thành phần mono sacarit, % mol						$\text{SO}_3\text{Na}$ %	
				Fuc	Man	Rham	Malt	Gal	Xyl		Glc
<i>S. mcclurei</i> *	F2-1,0N NaCl	26,3	23,45	34,65	0	4,59	0	37,56	15,48	7,73	19,0
	F3-1,5N NaCl	34,4	47,09	49,87	0	13,22	0	33,50	0	0	36,4
<i>S. polycystum</i> *	F2-1,0N NaCl	18,3	21,68	28,00	26,70	13,08	0	12,76	11,31	8,15	20,11
	F3-1,5N NaCl	43,2	23,63	59,16	6,02	8,04	0	26,60	0	0	25,67
	F4-2,0N NaCl	21,0	29,78	68,63	0	0	0	26,88	4,49	0	33,99
<i>S. oligocystum</i> *	F1-(0,5-2,0N NaCl)	37,5	32,02	45,63	11,43	11,51	7,70	23,72	0	0	35,31
<i>S. denticapum</i> *	F1-0,5N NaCl	1,2	18,03	38,62	19,98	13,70	16,01	10,68	1,02	0	23,67
	F2-1,0N NaCl	8,3	24,52	48,55	12,33	13,21	15,43	8,16	1,16	1,16	27,64
	F3-1,5N NaCl	7,1	24,00	49,44	10,07	14,21	12,88	13,39	0	0	39,14
<i>Turbina ornata</i> *	F1-0,5N NaCl	6,6	21,01	76,3	0	0	0	23,6	0	0	33,87
	F2-1,0N NaCl	9,7	25,92	72,23	2,40	2,71	1,59	27,67	0	0	43,26
	F3-	10,4	22,13	75,67	1,40	2,66	1,96	18,35	0	0	42,36

	1,5N NaCl										
	F4- 2,0 NaCl	20,3	21,69	92,14	0	6,07	1,51	0	0	0	38,75
<i>S. binderi</i> *	F1- 0,5N NaCl	17,2		55,56	11,11	0	kxd	22,22	5,65	5,65	22,0
	F2- 1,0N NaCl	45,7		67,57	6,76	2,03	kxd	20,27	3,38	0	28,3
	F3- 1,5N NaCl	15,3		59,88	6,00	6,00	kxd	23,95	4,19	0	24,0
	F4- 2,0 NaCl	2,5		63,69	12,74	6,37	kxd	12,74	4,46	0	28,3
<i>S. swartzii</i> **	Toàn phần	-		54,0	3,9	2,1	kxd	28,7	1,8	2,8	23,5
	F1(0-0,5N NaCl)	2,0		kxd	kxd	kxd	kxd	kxd	kxd	kxd	5,6
	F2(0,5- 1,0N NaCl)	20,2		49,5	4,7	2,7	kxd	29,4	2,7	3,0	14,6
	F3(1,0- 1,5N NaCl)	33,3		56,0	3,0	1,9	kxd	28,9	1,9	3,2	18,4
	F4(1,5- 2,0N NaCl)	26,2		55,0	3,6	3,3	kxd	27,9	2,4	2,8	28,0
	F5(2,0- 2,5N NaCl)	16,0		57,1	4,0	2,0	kxd	27,4	0,9	2,0	42,3
<i>S. swartzii</i> ***				Thành phần mono sacarit, tỉ lệ mol							
	F1- 0,5N NaCl			1,0	1,16	0,72		1,23	0	0,55	8,69
	F2- 1,0N NaCl			1,0	0	0,35		0,17	0,07	0,04	22,68
	F3- 1,5N NaCl			1,0	0,38	0,31		0,26	0,04	0,06	25,24
	F4- 2,0N NaCl			1,0	0,38	0,24		0,49	0,04	0,07	25,42
	F5- 2,5N NaCl			1,0	0,40	0,22		2,07	0,15	0,18	27,62
<i>S. polycystum</i> ***	F2- 1,0N NaCl			1,0	0,60	0,50		0,70	0,05	0,35	20,64
	F4- 2,0N NaCl			1,0	0,30	0,30		0,30	0,10	0,10	21,78

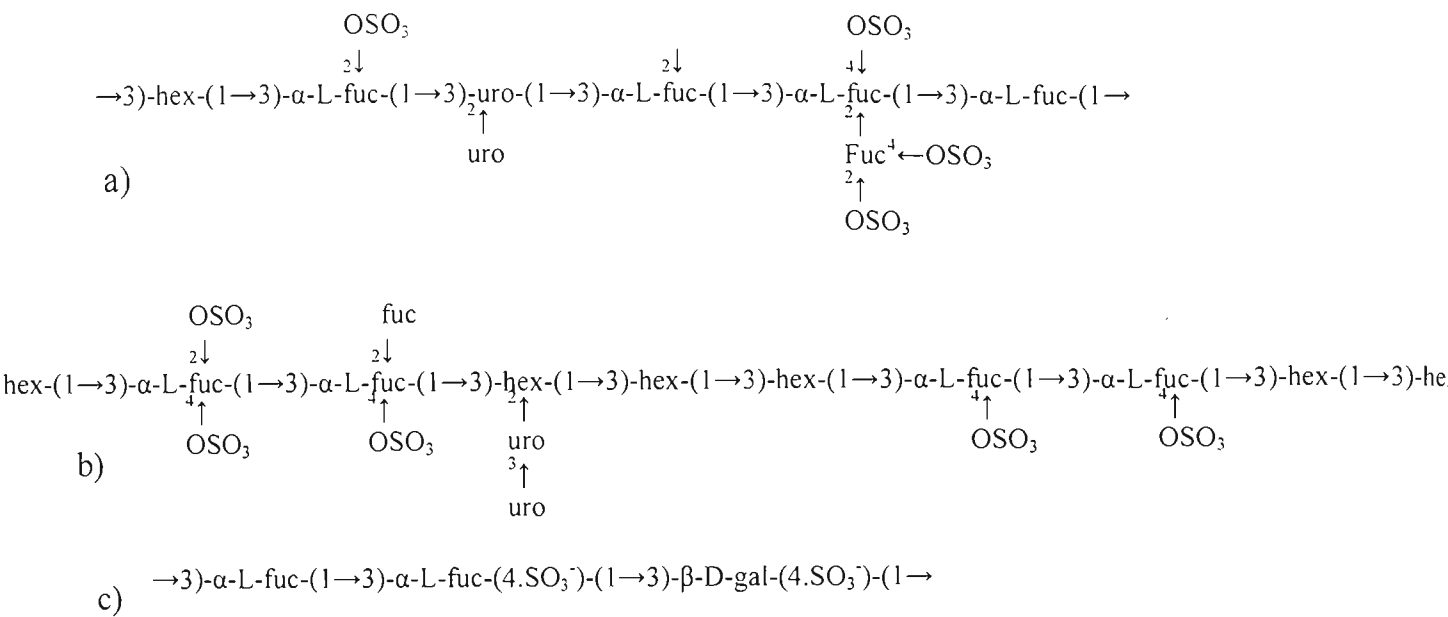
\* Tách trên cột DEAE- Celulose và xác định tại PIBOC- L.B.Nga

\*\* Tách trên cột DEAE- Sephadex A-25 và xác định tại KRIBB- Hàn Quốc

\*\*\* Tách bằng nhựa trao đổi anion lỏng Cetavlon cho chế phẩm fucoidan từ loài rong *S. polycystum* và *S. swartzii*

Các kết quả đưa ra trên Bảng.2 cho thấy thành phần chủ yếu của fucoidan trong các loài rong nâu Việt Nam là fucose (28,0- 76,3%), galactose (8,16- 37,56%) và sunphat (19,0- 59,68%), ngoài ra còn có thêm một số thành phần khác với hàm lượng nhỏ hơn, cụ thể là mannose, rhamnose, maltose, xylose và glucose. Thành phần fucoidan rong nâu là rất phức tạp, gây rất nhiều khó khăn cho việc xác định cấu trúc của chúng. Vì vậy, ta sẽ chọn phân đoạn đại diện và có thành phần đơn giản để tiến hành phân tích cấu trúc.

Sử dụng các phương pháp phân tích hóa học, GLC, IR, NMR và ESI-MS chúng tôi đã bước đầu đưa ra được đặc điểm cấu trúc của các phân đoạn fucoidan chính từ loài rong *S. polycystum*; *S. swartzii* và *Turbina ornata* như trên Hình1 [26,27,28,29].



Hình 1. Cấu trúc của một phân đoạn fucoidan đặc trưng tách và phân lập từ rong nâu  
 a; *S. polycystum* (F4- cetavlon)      b; *S. swartzii* (F4- cetavlon)  
 c; *Turina ornata* (F2-DEAE sephadex).

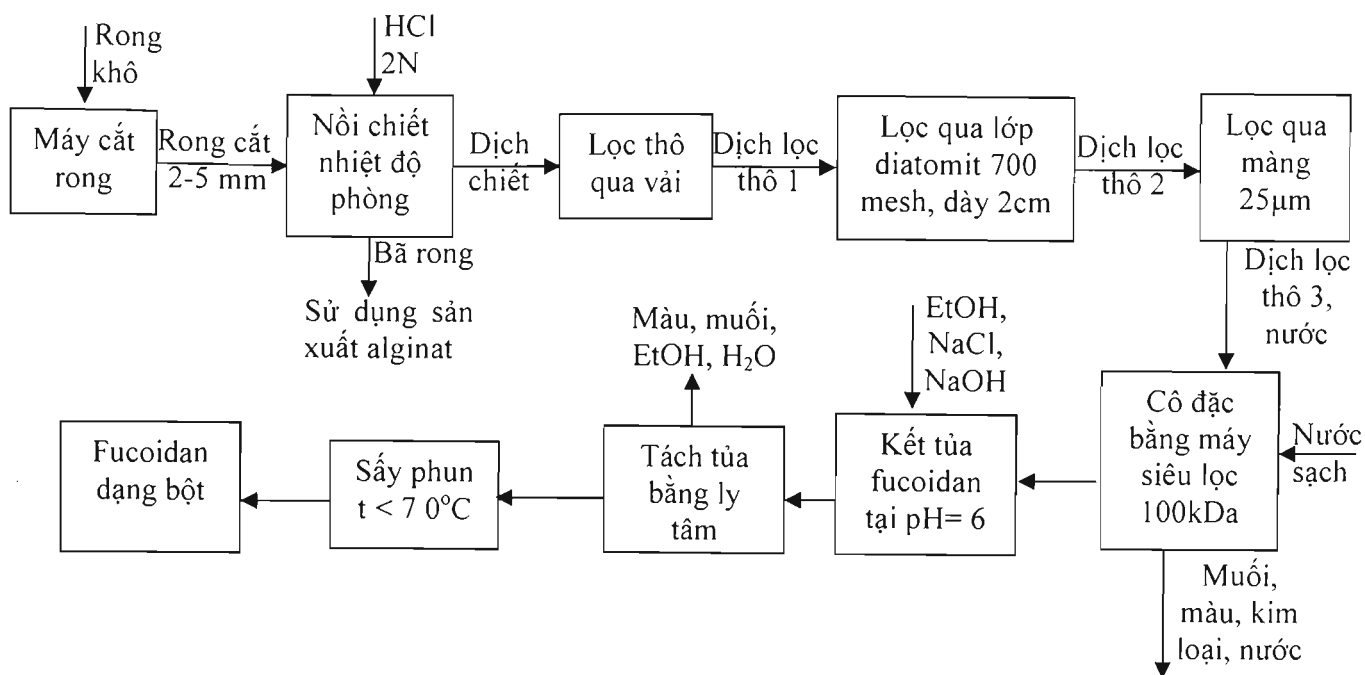
Các chế phẩm polysaccharit sulphat hóa thô chiết từ các loài rong biển được tiến hành sàng lọc theo định hướng hoạt tính sinh học. Việc thử nghiệm in vitro hoạt tính gây độc tế bào và kháng vi sinh vật kiểm định của các polysaccharit sulphat hóa thô chiết từ 15 loài rong biển khác nhau được tiến hành tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên (INPC- VAST), Viện Nghiên cứu Sinh học sự sống và Công nghệ sinh học- Hàn Quốc (KIRBB), Viện Hóa sinh Hữu cơ Thái Bình Dương- Phân viện Viễn Đông- Viện Hàn lâm Khoa học Nga (PIBOC-FEB- RAS). Kết quả thử nghiệm được đưa ra trên Bảng.3.

Bảng.3 cho thấy trong số 15 loài rong biển dự đoán, qua sàng lọc đã xác định được 10 loài rong chứa polysaccharit sulphat hóa có hoạt tính kháng tế bào ung thư người trong đó bao gồm 6 loài rong nâu (*S. polycystum*, *S. mcclurei*, *S. oligocystum*, *S. swartzii*, *S. denticapum* và *Turbina ornata*), 3 loài rong đỏ (*G. bailinea*, *G. tenuistipitata* và *G. asiatica*) và 1 loài rong lục (*Ulva fenestrata*). Trong đó có 1 loài kháng 4 dòng ung thư (*S.swartzii*), 2 loài kháng 3 dòng ung thư (*S.polycystum* và *S.oligocystum*), 6 loài kháng 2 dòng ung thư (*S. denticarpum*, *Turbina ornata*, *G. bailinea*, *G. tenuistipitata*, *G. asiatica* và *Ulva fenestrata*).

Đồng thời từ năm 2005 Viện nghiên cứu và Ứng dụng công nghệ Nha Trang đã thiết lập một dây chuyền sản xuất fucoidan quy mô pilot công suất 1kg/ngày và hiện đang hoạt động tại Khánh Hòa: Rong nguyên liệu sau khi thu được phơi khô, cắt nhỏ đến kích thước cỡ 3- 7 cm, đưa rong vào nồi chiết sau đó đổ nước vào với tỉ lệ rong: nước = 1: 10 (m/v), cứ sau 2 giờ lại xả dịch chiết dưới đáy rồi bơm tuần hoàn lên lại bên trên (trộn đảo bằng cách cho dịch lỏng chuyển động thay cho sử dụng cánh khuấy để đảo rong). Sau 24 giờ lọc lấy dịch chiết, phần bã còn lại được chiết lặp lại như trên 1-2 lần. Dịch chiết được gom lại, lọc thô lần lượt qua lớp vải lọc, lớp diatomit 700 mesh dày 2cm và màng 25 µm.

Dung dịch sau đó được cô đặc, loại bỏ các tạp chất màu, muối, các kim loại nặng bằng màng siêu lọc 100 kDa, đến nồng độ fucoidan 2%. Chính pH dung dịch về 6 bằng dung dịch NaOH 1M sau đó đưa thêm EtOH và NaCl vào dung dịch (75% EtOH (v/v) và 2% NaCl), khuấy mạnh rồi để lắng khoảng 12 giờ, gạn bớt phần dung dịch bên trên, sau đó ly tâm lấy tủa fucoidan. Tủa sau đó được lọc rửa nhiều lần bằng dung dịch EtOH 75% để loại hết muối, tủa fucoidan được chuyển qua dạng huyền phù trong dung dịch EtOH 75% rồi được đem sấy

phun ở nhiệt độ 65°C để thu fucoidan dưới dạng bột. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất fucoidan từ rong nâu được đưa ra trên Hình.2



Hình.2. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất fucoidan từ rong nâu

Bảng.3. Kết quả thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào và hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của hoạt chất polysaccharit sunphat hóa chiết từ một số loài rong biển phía Nam Việt Nam

Tt	Tên loài rong	Dòng tế bào ung thư người			Vi khuẩn Gr (-)		Vi khuẩn Gr (+)		Nấm mốc			
		Hep-2*	RD*	MDA-MB-231**	LU*	DLD-1***	E.coli*	P.aeruginosa	B.subtilis*	S.aureus*	C.albicans*	S.cerevisiae*
1	<i>S. polycystum</i>	+	+	CXD	CXD	+	CXD	CXD	CXD	CXD	CXD	CXD
2	<i>S. mcclurei</i>	+	-	CXD	CXD	+	CXD	CXD	CXD	CXD	CXD	CXD
3	<i>S. oligocystum</i>	+	+	CXD	CXD	+	CXD	CXD	CXD	CXD	CXD	CXD
4	<i>S. swartzii</i>	+	+	+	+	-	CXD	CXD	CXD	CXD	CXD	CXD
5	<i>S. denticapum</i>	+	+	CXD	CXD	-	CXD	CXD	CXD	CXD	CXD	CXD
6	<i>S. ilicifolium</i>	-	-	CXD	CXD		CXD	CXD	CXD	CXD	CXD	CXD
7	<i>S. xuanmai</i>	-	-	CXD	CXD		CXD	CXD	CXD	CXD	CXD	CXD
8	<i>Turbina ornata</i>	+	+	CXD	CXD	CXD	+	-	-	-	-	+
9	<i>Kappaphucus alvarezii</i>	-	-	CXD	CXD		+	+	-	-	-	+
10	<i>G. bailinea</i>	+	+	CXD	CXD	CXD	+	+	-	-	-	+
11	<i>Ulva reticulata</i>	-	-	CXD	CXD	CXD	-	+	-	-	-	-
12	<i>Euclima denticulatum</i>	-	-	CXD	CXD	CXD	-	-	+	-	-	-
13	<i>Ulva fenestrata</i>	+	+	CXD	CXD	CXD	-	-	+	-	-	-
14	<i>G. tenuisipitata</i>	+	+	CXD	CXD	CXD	-	-	+	-	-	+
15	<i>G. asiatica</i>	+	+	CXD	CXD	CXD	-	-	+	-	+	+

\* Kết quả phân tích tại Phòng Thử nghiệm Hoạt tính Sinh học- Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên.

\*\* Kết quả phân tích tại Korean Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Korea.

\*\*\* Kết quả phân tích tại Pacific Institute of Bioorganic Chemistry- FEB- RAS, Russia.

Hep-2: tế bào ung thư gan người; RD: tế bào ung thư màng tim người; MDA-MB-231: tế bào ung thư vú người;

LU: tế bào ung thư phổi người; DLD-1: tế bào ung thư kết tràng ở ruột người.

+: có tác dụng dương tính; -: không có tác dụng; CXD: chưa xác định

#### IV. KẾT LUẬN

Fucoidan từ một số loài rong nâu Việt Nam như *S. feldmanni*, *S. swartzii*, *S. oligocystum*, *S. denticapum*, *S. assimile*, *S. microcystum*, *S. mcclurei*, *S. polycystum*, *S. binderi* và *Turbina ornata* được chiết và tách phân đoạn trên cột trao đổi ion DEAE-celulose hoặc/và DEAE-Sephadex, hoặc/và dung dịch cetavlon.

Fucoidan từ các loài rong trên đều là các galactofucans sunphat hóa có chứa các nhóm ester sunphat và axit uronic, được tạo thành chủ yếu bởi fucose, galactose và một lượng nhỏ các đường đơn khác như: manose, xylose và glucose.

Đã tiến hành sàng lọc các polysacarit thu được theo định hướng kháng ung thư. Kết quả thu được chỉ ra rằng fucoidan từ 6 loài rong nâu *S. swartzii*, *S. oligocystum*, *S. denticapum*, *S. mcclurei*, *S. polycystum* và *Turbina ornata* có khả năng kháng từ 1- 4 dòng tế bào ung thư. Các phát hiện này cho phép đề sử dụng fucoidan từ rong nâu trong việc phòng ngừa và điều trị các bệnh ung thư.

Một pilot sản xuất fucoidan từ rong nâu công xuất từ 1-2 kg/ngày đã được thiết lập.

#### Lời cảm ơn:

Tập thể tác giả xin chân thành cảm ơn GS.TSKH Trần Văn Sung, và TS. Thành Thị Thu Thủy- Viện Hóa học, PGS.TS. Lê Mai Hương, GS.TS. Châu Văn Minh, TS. Nguyễn Mạnh Cường, PGS. TS. Phạm Quốc Long- Viện Hóa học Các hợp chất Thiên nhiên, PGS.TS. Vũ Mạnh Hùng- Học viện Quân y, GS.TSKH. Zvyagintseva T.N- Viện Hóa sinh Hữu cơ Thái Bình Dương- L.B.Nga (PIBOC- FEB- RAS), GS.TSKH. Usov. A.I- Viện Hóa hữu cơ Zenlinsky- L.B.Nga đã hợp tác và giúp đỡ chúng tôi hoàn thành công trình này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Elkins. R. Limu Moui- Prize Sea Plant of Tonga and the South Pacific Publisher (S): Wood land Pub. First- Edition, 10/01/2001.
2. Pereira, M., Mulloy, B., and Mourao, P.A.S. (1999), J. Biol. Chem., vol. 274, pp. 7656-7667.
3. Venkateswaran, P.S., Millman, I., and Blumberg, B. S. (1989), Planta Med., vol. 55, pp. 265-270.
4. Feldman, S.C., Reynaldi, S., Stortz, C.A., Cerezo, A.S., and Damonte, E.B. (1999), Phytomed, vol. 6, pp. 334- 340.
5. Ponce, N.M.A., Pujol, C.A., Danminte, E.B., Flores, M.L., and Stortz, C.A. (2003), Carbonhydr. Res., vol. 338, pp. 153- 165.
6. Mauray, S., Stenberg, C., Theveniaux, J., Siquin, C., Tapon- Bretauiere J., and Fisher A.M (1995), Thromb. Haemost., vol. 74, vol. 1280- 1285.
7. Itoh. H., Noda, H., Amano, H., Zhuang, C., and Mizuno, T. (1993), Anticancer Res., vol. 13, pp. 2045- 2052.
8. Blondin, C., Fisher, E., Boisson- Vidal, C., Kazatchkine, M., and Jozefon vicz, J. (1994). J. Mol. Immuol., vol. 31, pp. 245-253.
9. Ahuja, K.K. (1982), Exp. Cell Res., vol. 140, pp. 353- 362.
10. Peterson, R.N., Russell, L.D., and Hunt. W.P. (1984), J. Exp. Zool., vol. 231, pp. 137- 147.
11. Chevolut, L., Founcault, A., Chaubet, F., Kervarec, N., Siquin, C., Fisher, A.M., and Boisson- Vidal, C. (1999), Carbonhydrat. Res., vol. 319, pp. 154- 165.

12. Koyama, N., Sagawa, H., Kobayashi, E., Enoki, T., Wu, H.K., Nishiyama, E., Deguchi, S., Ikai, K., Ohnogi, H., Ueda, M., Kondo, A., and Kato, I. (1999). Patent EP 0 888 776 A1, 07.01.1999.
13. Rivov, D., Collic- Jovault, S., Pinczon du Sel, D., Siavoshian, S., Le Bert, V., Tomasoni, C., Siquin, C., Durand, P., and Roussakis, C. (1996), *Anticancer Res.*, vol. 16, pp. 1213- 1218.
14. Tako Masakuni. (2000), Patent EP 0 994 122 A1, 19.04. 2000.
15. Hynh, Q.N. and Nguyen H.D. (1998), *The seaweed resources of Vietnam*, In: A.T. Critchley, M. Ohno, *Seaweed resources of the World*, JICA, Japan, pp. 62-69.
16. Nguyễn Xuân Lý và cs. Nghiên cứu kỹ thuật sản xuất giống, trồng và chế biến một số loài rong biển có giá trị xuất khẩu cao. BCKH, Hải Phòng, 1995.
17. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J.K. Colorimetric method for determination of Sugars and related substances // *Anal. Chem-* 1956- vol.28- P.350- 356.
18. Nelson N. A photometric adaption of the Somogui method of determination of glucose // *J. Biol. Chem-* 1994- Vol. 153- P.375- 381.
19. Zvyagintseva T.N., Shevchenko N.M., Popivnich I. B. et al. A new procedure for the separation of water- soluble polysaccharides form brown seaweeds// *Carbonhydrat. Res-* 1999- vol. 322- P. 323.
20. Dodgson, K.S. (1961), *Biochem. J.*, vol. 78, pp. 312-319.
21. Saito, H., Yamagata, T., and Suzuki, S. (1968), *J. Biol. Chem.*, vol. 243, pp.1536- 1542.
22. Bitter, T., and Muir, H.M. (1962). *Anal. Biochem.*, vol.4, pp.330- 334.
23. Vieira R.P., Mulloy B., and Muraio, P.A.S. (1991). *J. Biol. Chem.*, vol. 266, pp.13530- 13536.
24. Mourao, P.A.S., and Perlin, A.S (1987). *Eur. J. Biochem*, vol. 166, pp.431- 436.
25. Kittisak Likhitwitaywid, Cyndik. Angerhobl, Geoffrey A. Cordell, John M. Pezzutto. *Journal of Natural Products*. Vol. 56, No.1, 30- 38 (1993).
26. Bùi Minh Lý. Báo cáo kết quả đề tài nghiên cứu khoa học- công nghệ Độc lập cấp Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam (2006), “Nghiên cứu công nghệ và thiết bị sản xuất fucoidan quy mô pilot từ một số loài rong nâu Việt Nam”.
27. B.M.Ly, N.Q.Buu, N.D.Nhut, P.D.Thinh and T.T.T.Van. Studies on fucoidan and its production from Vietnamese brown seaweeds. *AJSTD* Vol.22. Issue 4, pp. 371- 380 (2005).
28. Nguyễn Duy Nhút, Bùi Minh Lý, Thành Thị Thu Thủy, Nguyễn Mạnh Cường và Trần Văn Sung. Nghiên cứu cấu trúc của fucoidan có hoạt tính gây độc tế bào tách chiết từ rong nâu *Sargassum swartzii* bằng phương pháp khối phổ nhiều lần. *Tạp chí Hóa học*, T. 47(3), Tr. 300- 307, (2009).
29. Trần Thị Thanh Vân, Võ Mai Như Hiếu và Bùi Minh Lý. Phân tích đặc điểm, cấu trúc của fucoidan chiết từ loài rong nâu *Turbina ornata*. *Tạp chí Hóa học*, T. 47 (4A), Tr. 483- 487, 2009.