

SO SÁNH QUÁ TRÌNH CHIẾT MANGIFERIN TỪ LÁ XOÀI KEO TRONG DUNG MÔI ETHANOL BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾT TRUYỀN THỐNG VÀ CHIẾT CÓ HỖ TRỢ SIÊU ÂM

COMPARISON OF CONVENTIONAL AND ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION OF MANGIFERIN FROM MANGO (*MANGIFERA INDICA* L.) LEAVES IN ETHANOL SOLVENT

Nguyễn Thị Trúc Loan

Trường Đại học Bách khoa – Đại học Đà Nẵng; nttloan@dut.udn.vn

Tóm tắt - Trong nghiên cứu này, phương pháp chiết Soxhlet và phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm được sử dụng để chiết mangiferin từ bột lá xoài trong ethanol. Kết quả nghiên cứu cho thấy, bước sóng hấp thụ cực đại của dịch chiết mangiferin trong ethanol là 258 nm. Điều kiện chiết mangiferin tốt nhất bằng phương pháp chiết Soxhlet: dung môi ethanol 70^o, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml) là 1/17, thời gian chiết 10 giờ. Điều kiện chiết mangiferin tốt nhất bằng phương pháp chiết siêu âm: nồng độ dung môi 70^o, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml) là 1/20, biên độ siêu âm 80%, chu kỳ đóng ngắt 0,8s trong 20 phút. Phương pháp chiết bằng siêu âm cho hiệu suất chiết (59,43 µg/ml) cao gấp 1,3 lần khi chiết bằng phương pháp Soxhlet (46,57 µg/ml). Bên cạnh đó khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết lá xoài bằng phương pháp siêu âm cao hơn 11,3% so với phương pháp Soxhlet, lần lượt bằng 73,2% và 64,5% so với vitamin C, chứng tỏ tính ưu việt của phương pháp chiết hỗ trợ siêu âm so với phương pháp truyền thống.

Từ khóa - mangiferin từ lá xoài; phương pháp chiết Soxhlet; phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm; ethanol; hoạt tính kháng oxy hóa.

Abstract - In the present study, Soxhlet and ultrasound-assisted extraction methods were used to extract mangiferin from mango leaf powder with ethanol solvents. The results showed that the maximum absorption wavelength of mangiferin extract in ethanol was 258 nm. The optimum condition to obtain mangiferin under Soxhlet extraction method included: ethanol solvent 70^o, w/v ratio (g/ml) at 1/17, duration of 10 hours. The optimum condition to obtain mangiferin under ultrasonic-assisted extraction method is: ethanol solvent 70^o, w/v ratio (g/ml) at 1/20, ultrasonic amplitude of 80 %, turn-off cycle of 0.8s, duration of 20 minutes. The ultrasound-assisted method showed a higher extraction efficiency (59,43 µg/ml) – 1.3 times higher than that of the Soxhlet method (46,57 µg/ml). In addition, the antioxidant activity of extract from mango leaves under the ultrasound-assisted method was 11.3% higher than that under the Soxhlet one – 73.2% and 64.5% respectively compared to vitamin C, which proved the optimal advantages of ultrasound-assisted extraction method in comparison with conventional one.

Key words - mangiferin from mango leaves; Soxhlet extraction method; ultrasound-assisted extraction method; ethanol; antioxidant activity.

1. Đặt vấn đề

Theo thống kê của Tổ chức Y tế thế giới, tỷ lệ bệnh đái tháo đường ở Việt Nam tăng nhanh nhất thế giới. Trong 10 năm qua, số bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường đã tăng đến 211%, với số lượng người tử vong cao gấp 3 lần so với số người mắc bệnh HIV/AIDS và lao, cao gấp 10 lần so với số người mắc bệnh sốt rét [1]. Do đó, việc điều trị bệnh đái tháo đường đang trở nên cấp bách hơn bao giờ hết nhưng điều trị bằng thuốc tổng hợp thường mang lại tác dụng phụ. Vì vậy, những chiết xuất từ thiên nhiên đang được ưu tiên trong quá trình điều trị bệnh.

Mangiferin là một C-glycoside có công thức phân tử là C₁₉H₁₈O₁₁ (M = 445,35) được Wiechowski (1923) phân lập từ vỏ cây xoài và được Iseda (1957) xây dựng cấu trúc. Sau đó Ramanahan và Sechadi (1960) đã nghiên cứu điều chỉnh lại cấu trúc. Cấu trúc được thừa nhận hiện nay là một glycoside với phần aglycon có bộ khung xanthan chứa nhóm hydroxyl là một phân tử glucose đính vào C số 2 [2].

Mangiferin đã được biết đến trong y học với những tác dụng như: kháng virus, kích thích hệ miễn dịch, chống oxy hóa và công dụng hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường với những tác dụng lâm sàng đã được thử nghiệm ở chuột [3], [2]. Hàm lượng mangiferin trong thực vật có thể kể đến như: lá trầm hương 17,16 mg/g [4], cây quế khoảng 40 – 50 mg/g [5], nhiều nhất trong lá xoài với hàm lượng mangiferin khoảng 58,46 mg/g [2] cao hơn hẳn các nguyên liệu khác.

Cây xoài có tên hoa học *Mangifera Indica* L., thuộc họ Đào lộn hột Anacardiaceae có nguồn gốc từ Ấn Độ hiện được trồng ở hơn 90 nước trên thế giới và là loại trái cây

được ưa chuộng chỉ đứng sau chuối. Hầu hết các bộ phận của cây xoài đều có thể được sử dụng để trị bệnh. Sản lượng xoài toàn cầu đã tăng gấp đôi chỉ trong vòng 10 năm từ 2001 đến 2010. Ở Việt Nam, xoài được trồng nhiều nhất ở Đồng bằng sông Cửu Long, miền Trung – Tây Nguyên và các tỉnh Tây Bắc. Năm 2013, sản lượng xoài cả nước vào khoảng 780 000 tấn (đứng thứ 13 trên thế giới) [6].

Xoài keo là giống xoài được trồng rất phổ biến ở khu vực miền Trung – Tây Nguyên, lượng lá xoài hàng năm bị cắt tỉa để nuôi trái rất lớn và không được sử dụng. Chính vì vậy, việc sử dụng nguồn lá xoài này để trích ly mangiferin sẽ cho lại hiệu quả kinh tế cao hơn do nguồn lá nguyên liệu dễ kiếm, rẻ tiền có thể sử dụng để trích ly ở quy mô công nghiệp và góp phần tăng thêm giá trị kinh tế cho cây xoài.

Hiện nay trên thế giới, công nghệ chiết tách và ứng dụng của chiết xuất từ lá xoài đã được sử dụng rộng rãi trong dược phẩm. Riêng ở Việt Nam, chiết xuất mangiferin hiện nay chủ yếu bằng các phương pháp ngâm chiết truyền thống có thời gian chiết dài, hiệu suất không cao chưa bắt kịp với xu hướng trên thế giới, lá xoài mới chỉ được sử dụng trong các bài thuốc cổ truyền, chưa có nhiều công trình khoa học công bố về các thành phần hóa học, hoạt tính sinh học cũng như đánh giá so sánh hiệu quả của các phương pháp chiết hiện đại.

Do đó, để tăng hiệu suất trích ly, tiết kiệm thời gian, hóa chất và chi phí lao động, nhóm tác giả đề xuất sử dụng sóng siêu âm trong việc hỗ trợ trích ly mangiferin từ lá xoài, đồng thời so sánh với phương pháp chiết Soxhlet vốn có nhiều ưu điểm trong chiết xuất dược liệu.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Lá xoài được thu hái ở dạng lá tươi thuộc giống xoài keo ở Đà Nẵng. Lá xoài sau khi hái được rửa sạch, để ráo nước, sấy ở 50 - 55°C trong 24 giờ, sau đó nghiền mịn, rây và bảo quản trong túi zip để nghiên cứu.



Hình 1. Lá xoài keo

Dung môi sử dụng: ethanol tuyệt đối (độ tinh khiết 96%). Dung dịch mangiferin chuẩn được cung cấp bởi Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xác định một số thành phần hóa học của lá xoài, của dịch chiết và khả năng kháng oxy hóa

Xác định độ ẩm bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi [7], hàm lượng tro toàn phần bằng phương pháp tro hóa mẫu [7], hàm lượng chất béo bằng phương pháp chiết có sử dụng thiết bị Soxhlet [7], xác định hàm lượng protein bằng phương pháp Kjeldahl [7], xác định hàm lượng tinh bột, đường sacharose, đường khử bằng phương pháp Bertrand [7], hàm lượng polyphenol bằng phương pháp đo quang ở bước sóng 765 nm [8], [9].

Phương pháp định tính các chất có trong dịch chiết lá xoài là saponin, phenol và tanin, terpenoid, flavonoid, glycosid, coumarin, alkaloid [10], [11].

Đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết bằng phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH [10], [11].

Phương pháp định lượng mangiferin bằng phương pháp hấp thụ phân tử (UV-VIS) [12] được sử dụng để khảo sát quá trình chiết.

Phương pháp định tính và định lượng hàm lượng mangiferin trong dịch chiết cuối cùng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Điều kiện sắc ký: Cột C18 (50 × 4,6 mm, 5 μm), pha động: methanol – axit phosphoric 0,1% (31:69, v/v), lưu lượng dòng 1,0 ml/phút, bộ phận phát hiện: detector UV – VIS, bước sóng: 258 nm, thể tích tiêm mẫu 5 μl [13].

2.2.2. Phương pháp xây dựng đường chuẩn để định lượng mangiferin bằng phương pháp hấp thụ phân tử UV-VIS

Có nhiều cách để định lượng hàm lượng mangiferin có trong nguyên liệu như: phương pháp cân, phương pháp hấp thụ phân tử (UV-VIS), phương pháp sắc ký lỏng cao áp HPLC. Phương pháp cân đơn giản nhưng độ chính xác không cao, phương pháp HPLC tuy có độ chính xác cao nhưng khá phức tạp và tốn kém.

Với mục đích xác định hàm lượng mangiferin có trong dịch chiết một cách tương đối chính xác và ít tốn chi phí phương pháp UV-VIS được đề xuất để sử dụng. Tính chính xác của phương pháp này được quyết định bởi việc phải tìm ra bước sóng hấp thụ cực đại (λ_{\max}) của hợp chất cần phân tích (mangiferin) trong dung môi chiết (ethanol).

Theo công bố của XIE Yu-qi và cộng sự [12], tác giả tiến hành khảo sát λ_{\max} của dung dịch mangiferin chuẩn ở 2 nồng độ 8,24 μg/ml và 6,592 μg/ml trong ethanol 95% và của dịch chiết bột lá xoài trong dung môi ethanol 95%

với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (w/v) là 1/6 trong 12 giờ trong phạm vi $\lambda = 200 - 400$ nm để so sánh và chọn ra λ_{\max} của dung dịch chuẩn và của dịch chiết lá xoài trong dung môi ethanol [12].

Tiến hành xây dựng đường chuẩn mangiferin (với λ_{\max} đã chọn được ở các thí nghiệm phía trên) bằng cách pha loãng mangiferin chuẩn thành các nồng độ 4,12; 8,24; 12,36; 16,48; 20,6; 24,72; 28,84; 32,96; 37,08; 41,2 μg/ml trong ethanol.

2.2.3. Khảo sát đơn biến các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly mangiferin từ lá xoài bằng phương pháp chiết Soxhlet và chiết có hỗ trợ siêu âm

Đối với phương pháp chiết Soxhlet, dựa trên công bố của Xie Yu-qi và cộng sự [12], tiến hành khảo sát quá trình chiết Soxhlet ở nhiệt độ bay hơi của ethanol cho các yếu tố như sau để tìm ra điều kiện chiết tối ưu với hàm mục tiêu là độ hấp thụ quang cao nhất (OD = maximum): Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi: 1/18, thời gian chiết: 2 giờ, chu kỳ đóng ngắt 0,8, biên độ siêu âm 70 %, độ pha loãng 10⁴ lần.

- Khảo sát nồng độ ethanol từ 50⁰ đến 90⁰, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (w/v) 1/18, thời gian chiết là 2 giờ.

- Khảo sát tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (w/v) từ 1/15 đến 1/20, nồng độ ethanol tìm được ở trên, thời gian chiết là 2 giờ.

- Khảo sát thời gian chiết từ 2 giờ đến 14 giờ, nồng độ ethanol và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi tìm được ở trên.

Đối với phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm, dựa trên công bố của Tang-Bin Zou và cộng sự [14], tác giả tiến hành khảo sát để tìm ra điều kiện chiết tối ưu với hàm mục tiêu là độ hấp thụ quang cao nhất (OD = maximum), sử dụng thiết bị phát sóng siêu âm Labsonic® với các yếu tố như sau: Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1/10, thời gian siêu âm 10 phút, chu kỳ đóng ngắt 0,8, biên độ siêu âm 70%, độ pha loãng 10⁴ lần.

- Khảo sát nồng độ ethanol từ 30⁰ đến 80⁰.

- Khảo sát tỉ lệ nguyên liệu/dung môi từ 1:5 đến 1:50.

- Khảo sát thời gian siêu âm từ 10 phút đến 35 phút.

- Khảo sát chu kỳ siêu âm từ 0,5 đến 1.

- Khảo sát biên độ siêu âm từ 50 % đến 100 %.

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả được tính toán trên phần mềm Excel và ANOVA một chiều, sai khác có nghĩa ở mức $p < 0,05$.

3. Kết quả nghiên cứu và biện luận

3.1. Một số thành phần hóa học của bột lá xoài keo

Một số thành phần hóa học chính của bột lá xoài được thể hiện ở Bảng 1. Từ Bảng 1, ta thấy lá xoài giàu hàm lượng các chất dinh dưỡng, đặc biệt là hàm lượng polyphenol, chất khoáng và chất xơ.

Polyphenol trong dịch chiết lá xoài được định tính gồm một số thành phần thuộc nhóm flavonoid, xanthonoid (mangiferin), v.v.- những hoạt chất có lợi và quý báu cho sức khỏe con người trong việc duy trì tốt tình trạng tinh thần và thể chất của cơ thể.

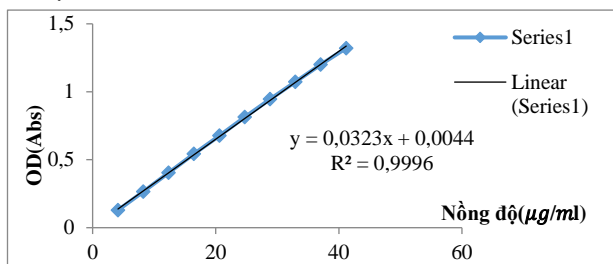
Bảng 1. Thành phần hóa học chính của bột lá xoài

STT	Thành phần	Hàm lượng	Đơn vị
1	Độ ẩm	50,27 ± 1,02	% NL
2	Độ tro	8,8 ± 0,05	% CK
3	Protein	0,38 ± 0,01	% CK
5	Đường khử	3,07 ± 0,03	% CK
6	Đường saccharose	0,33 ± 0,05	% CK
7	Tinh bột	0,77 ± 0,04	% CK
9	Polyphenol tổng số	14,28 ± 0,25	% CK
10	Xơ thô	19,17 ± 0,2	% CK

3.2. Đường chuẩn định lượng mangiferin trong dung môi ethanol bằng UV – VIS

Kết quả nghiên cứu cho thấy, dung dịch mangiferin chuẩn có đỉnh hấp thụ cực đại tại các bước sóng 210, 245, 258, 315, 370 nm. Tại bước sóng 258 nm thì dung dịch mangiferin chuẩn có OD cao nhất, đạt 0,4 Abs ứng với nồng độ 6,592% và 0,575 Abs ứng với nồng độ 8,24%. Dịch chiết lá xoài có đỉnh hấp thụ cực đại tại các bước sóng 220, 240, 258, 295, 370 nm. Tại bước sóng 258 nm thì dịch chiết lá xoài có OD cao nhất, đạt 0,789 Abs. Kết quả khảo sát này gần giống với kết quả của Xie Yu-qi và cộng sự [12] đã công bố khi khảo sát bước sóng của dịch chiết lá xoài.

Từ hai kết quả trên, tác giả quyết định chọn bước sóng 258 nm để tiến hành xây dựng đường chuẩn và thu được đồ thị như Hình 2.

**Hình 2.** Đường chuẩn dung dịch mangiferin chuẩn

Với hệ số tương quan $R^2 = 0,9996$, chứng tỏ hơn 99% số liệu thực nghiệm có thể tính bằng phương trình hồi quy: $y = 0,0323x + 0,0044$. Ngoài ra, phương trình có tính tuyến tính cao và hệ số b khá thấp (0,0044) biểu thị mức độ sai số của phép đo là rất thấp. Do đó, có thể sử dụng đường chuẩn Hình 2 để định lượng mangiferin từ dịch chiết lá xoài trong dung môi ethanol.

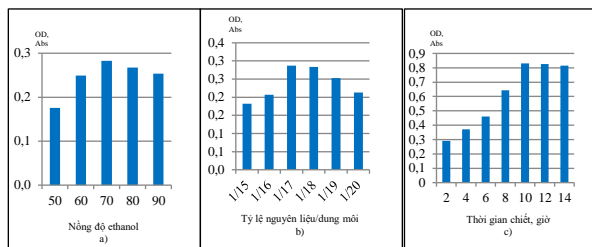
Tuy nhiên, do độ hấp thụ quang đo được ngoài tính chất tuyến tính với nồng độ dung dịch còn có đặc tính quan trọng là tính cộng tính, tức là giá trị đó chính là tổng giá trị các mật độ quang của các chất có trong dung dịch [15]. Đây là nguyên nhân dẫn đến việc sử dụng phương pháp hấp thụ phân tử UV – VIS làm phương pháp định lượng mangiferin trong dịch chiết lá xoài mang lại độ chính xác không cao. Vì vậy, trong nghiên cứu này tác giả không định lượng hàm lượng mangiferin trong dịch chiết lá xoài bằng phương pháp phân tử UV – VIS mà chỉ dùng phương pháp này để tìm ra điều kiện tối ưu cho quá trình chiết.

3.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết mangiferin từ bột lá xoài

3.3.1. Phương pháp chiết Soxhlet

Kết quả khảo sát đơn biến các yếu tố ảnh hưởng đến

quá trình chiết mangiferin từ lá xoài bằng phương pháp chiết Soxhlet được thể hiện ở Hình 3.

**Hình 3.** Đồ thị biểu diễn sự ảnh hưởng của nồng độ ethanol, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và thời gian chiết đến độ hấp thụ quang của dịch chiết lá xoài bằng phương pháp Soxhlet

Kết quả khảo sát ở Hình 3a cho thấy khả năng hòa tan mangiferin của ethanol tăng dần theo chiều tăng của nồng độ, độ hấp thụ quang cao nhất là 0,283 khi chiết với ethanol 70⁰.

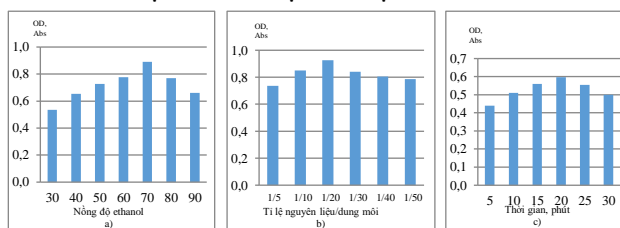
Bên cạnh đó, cùng một khối lượng nguyên liệu nhưng khi thay đổi thể tích dung môi (nồng độ 70⁰) thì độ hấp thụ quang của dịch chiết tăng dần (Hình 3b). Kết quả khảo sát cho thấy, độ hấp thụ quang cực đại 0,287 với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (w/v) là 1/17 sau đó giảm. Nguyên nhân là do khi tăng thể tích dung môi làm tăng tốc độ hồi lưu, tăng khả năng tiếp xúc với nguyên liệu dẫn đến hiệu quả chiết tăng. Tuy nhiên, đến một thể tích nhất định, khi tốc độ hồi lưu hầu như không tăng nữa thì hiệu suất chiết không ảnh hưởng đến, mặc khác khi tăng thể tích dung môi làm giảm độ hấp thụ quang do dịch chiết bị loãng.

Kết quả khảo sát cho thấy, thời gian ảnh hưởng rất lớn đến hiệu suất chiết mangiferin (ethanol 70⁰, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (w/v) là 1/17). Khi thời gian tăng làm tăng thời gian tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi nên có thể chiết được nhiều hoạt chất dẫn đến độ hấp thụ quang tăng và đạt cực đại ở 0,83 tại thời gian 10 giờ (Hình 3c), sau đó nếu tiếp tục tăng thời gian chiết thì lượng hoạt chất tách ra gần như hoàn toàn và không thể chiết thêm được. Hơn nữa, khi chiết nóng trong thời gian dài sẽ làm một số hợp chất nhạy cảm với nhiệt độ sẽ bị phân hủy và nguyên liệu ngâm trong dung môi thời gian dài sẽ trương nở làm bít lỗ thông của màng tế bào, cản trở khả năng thâm của dung môi làm giảm hiệu suất chiết.

Như vậy, điều kiện chiết mangiferin tốt nhất từ lá xoài bằng phương pháp chiết Soxhlet trong phạm vi nghiên cứu như sau: dung môi ethanol 70⁰, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (w/v) là 1/17 và thời gian chiết là 10 giờ ở nhiệt độ bay hơi của ethanol.

3.3.2. Phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm

Kết quả khảo sát đơn biến các yếu tố ảnh hưởng của quá trình chiết mangiferin từ lá xoài bằng phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm được thể hiện ở Hình 4.

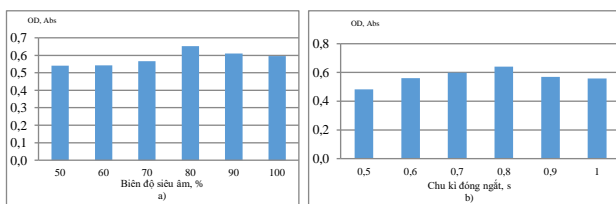
**Hình 4.** Đồ thị biểu diễn sự ảnh hưởng của nồng độ ethanol, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và thời gian chiết đến độ hấp thụ quang của dịch chiết lá xoài bằng phương pháp siêu âm

Kết quả khảo sát cho thấy, khả năng hòa tan mangiferin của ethanol tăng dần theo chiều tăng của nồng độ, độ hấp thụ quang cao nhất là 0,889 khi chiết với ethanol 70⁰ (Hình 4a). Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng nồng độ ethanol thì OD của dịch chiết lại có xu hướng giảm. Nguyên nhân có thể là do trong quá trình siêu âm, khi tăng nồng độ của dung môi lên quá cao thì độ nhớt của dung môi tăng, sự lan truyền của các phần tử trong trường siêu âm bị cản trở và do đó làm giảm mức độ sủi bong bóng, giảm hiệu suất chiết.

Tại tỉ lệ nguyên liệu/dung môi 1/5 và 1/10 (ethanol 70⁰) độ hấp thụ quang không cao, đạt cực đại tỉ lệ 1/20 (OD= 0,926 Abs) sau đó giảm dần (Hình 4b). Nguyên nhân có thể là do lúc đầu lượng dung môi quá ít không đủ để trích li các chất hòa tan trong lá xoài, dẫn đến khó khăn trong quá trình chiết. Ở tỉ lệ 1/20 lượng chất khuếch tán ra ngoài dung môi đã đạt tối đa, nếu tiếp tục tăng thì dịch chiết quá loãng trong khi các thành phần chất tan trong dung dịch không tăng lên nữa, dẫn đến OD giảm đáng kể.

Khi tăng thời gian siêu âm (ethanol 70⁰, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi 1/20) thì hiệu suất chiết cũng tăng dần lên, và đạt cực đại ở 20 phút (OD = 0,597 – pha loãng 2*10⁴ lần) sau đó giảm dần (Hình 4c). Nguyên nhân có thể là do khi thời gian siêu âm tăng thì sự dao động và nổ vỡ của bong bóng siêu âm “cavitation” càng nhiều làm thúc đẩy quá trình khuếch tán của dung môi vào nguyên liệu, tăng quá trình thẩm thấu hợp chất cần chiết ra ngoài dung môi. Nhưng nếu sự tạo thành các “cavitation” một cách liên tục với số lượng lớn thì khi nổ vỡ chúng sẽ tạo ra rất nhiều các điểm nhiệt có nhiệt độ cao có thể gây bay hơi và phân hủy một số thành phần nằm xung quanh làm giảm hiệu suất chiết.

Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng quá trình siêu âm đến độ hấp thụ quang của dịch chiết lá xoài được thể hiện ở Hình 5.



Hình 5. Đồ thị biểu diễn sự ảnh hưởng quá trình siêu âm đến độ hấp thụ quang của dịch chiết lá xoài

Khi tăng biên độ siêu âm, độ hấp thụ quang tăng dần, đạt cực đại ở biên độ 80% (OD = 0,653) sau đó giảm nhẹ (Hình 5a). Điều này có thể do ở các mức biên độ thấp năng lượng chưa đủ lớn để phá vỡ cấu trúc của nguyên liệu vậy nên trong quá trình trích ly các chất khó tan chưa giải phóng ra được. Ngược lại ở biên độ quá cao thì năng lượng này làm phá hủy nguyên liệu sâu sắc dẫn đến một số chất bị phân hủy làm độ hấp thụ quang giảm.

Kết quả khảo sát cũng cho thấy chu kỳ có ảnh hưởng đến OD và đạt cực đại ở chu kỳ 0,8 s (OD=0,64) và sau đó có xu hướng giảm dần (Hình 5b). Điều này có thể giải thích như sau: khi tăng chu kỳ đóng ngắt siêu âm tức là giảm thời gian nghỉ phát xung của máy và quá trình phát xung siêu âm tăng làm tăng sự hình thành các bong bóng và dao động. Từ đây, số lượng các “cavitation” tạo ra một cách liên tục, khi chu kỳ tăng đến cực đại (0,9 hay 1) thì siêu âm tạo ra nhiều các điểm nhiệt làm tăng cường sự phá vỡ tế bào, gây

bay hơi và phân hủy một số thành phần trong dịch chiết khiến độ hấp thụ quang của dịch chiết giảm nhẹ.

Như vậy, điều kiện chiết mangiferin tốt nhất từ lá xoài bằng phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm trong phạm vi nghiên cứu như sau: nồng độ dung môi 70⁰, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (w/v) là 20:1, biên độ siêu âm 80%, chu kỳ đóng ngắt 0,8 giây trong thời gian 20 phút.

3.4. Định tính thành phần hóa học, định lượng mangiferin bằng HPLC, và so sánh hoạt tính kháng oxy hóa của các dịch chiết

Kết quả định tính thành phần hóa học của các dịch chiết lá xoài cho thấy sự có mặt của các một số chất là saponin, phenol, tanin, terpenoid, flavonoid, glycosid, coumarin, alkaloid (Bảng 2). Các hợp chất này đều có hoạt tính sinh học tốt có lợi cho sức khỏe của con người [9].

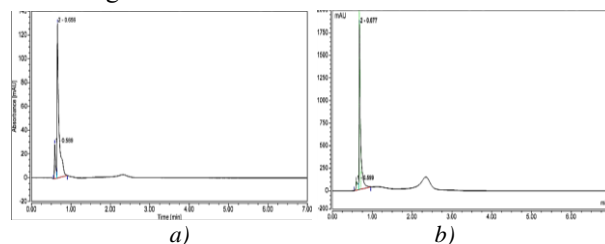
Bảng 2. Định tính thành phần hóa học của các dịch chiết

STT	Nhóm chất	Phản ứng đặc hiệu	Kết quả	
			Soxhlet	Siêu âm
1	Saponin	Tạo bọt	+*	+
2	Phenol và tanin	FeCl ₃ 2%	+	+
3	Terpenoid	Tác dụng với axit và chloroform	+	+
4	Flavonoid	Cyanidin	+	+
5	Glycosid	Kellere- Kiani	+	+
7	Alkaloid	Bouchardat	+	+

*: Có phản ứng

Bên cạnh đó, các hợp chất này cũng hấp thụ quang phổ yếu tại bước sóng 258 nm, do đó, nhóm tác giả dùng phương pháp HPLC để định tính và định lượng hàm lượng mangiferin trong dịch chiết để kiểm chứng lại quá trình chiết. Để định tính mangiferin có trong dịch chiết lá xoài, tiến hành so sánh thời gian lưu của dung dịch chiết lá xoài, tiến hành so sánh thời gian lưu của dung dịch mangiferin chuẩn và dịch chiết lá xoài (Hình 6).

Sắc ký đồ Hình 6 cho thấy đối với dung dịch mangiferin chuẩn (nồng độ 19,1 µg/ml) thì thời gian lưu của peak ở 0,668 phút (Hình 6a) tương tự như thời gian lưu của peak ở 0,676 phút đối với dịch chiết lá xoài (Hình 6b). Do đó, có thể khẳng định được dịch chiết lá xoài có chứa mangiferin.



Hình 6. Sắc ký đồ của dung dịch mangiferin chuẩn và của dịch chiết mangiferin

Tiến hành xây dựng đường chuẩn của dung dịch mangiferin chuẩn được pha loãng ở các nồng độ khác nhau thu được phương trình tuyến tính có dạng: $y = 0,9066x + 6,6586$ ($R^2 = 0,9996$). Trong đó: y là diện tích peak thu được (mAU), x là nồng độ dung dịch mangiferin (µg/ml).

Kết quả định lượng hàm lượng mangiferin có trong dịch chiết lá xoài, tiến hành tiêm mẫu với độ pha loãng 1000 lần

vào công tiêm mẫu được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng mangiferin và giá trị IC_{50} của dịch chiết

Chi tiêu	Dịch chiết Soxhlet	Dịch chiết siêu âm
Hàm lượng mangiferin, $\mu\text{g/ml}$	46,57	59,43
Giá trị IC_{50} , $\mu\text{l/ml}$	89,71	79,002

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, với phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm cho hiệu suất chiết mangiferin cao gấp 1,3 lần khi chiết bằng phương pháp Soxhlet. Kết quả nghiên cứu này tương đương so với khi chiết bằng phương pháp hỗ trợ siêu âm từ nguyên liệu lá xoài ở Trung Quốc (58,46 $\mu\text{g/ml}$) [14, 15].

Khả năng kháng oxy hóa (giá trị IC_{50}) của dịch chiết lá xoài bằng phương pháp siêu âm cao hơn 11,3% so với bằng phương pháp Soxhlet (Bảng 3). Điều này chứng tỏ quá trình chiết Soxhlet trong thời gian dài (12 giờ) làm phá hủy một số chất có hoạt tính sinh học có trong lá xoài.

Bên cạnh đó, giá trị IC_{50} của dịch chiết Soxhlet và siêu âm lần lượt bằng 64,5% và 73,2% so với giá trị IC_{50} thực nghiệm của vitamin C (57,838 $\mu\text{g/ml}$) cho thấy tiềm năng có thể sử dụng lá xoài làm nguồn chiết xuất chất chống oxy hóa và khả năng áp dụng dịch chiết này trong một số lĩnh vực trong đó có thực phẩm.

4. Kết luận và kiến nghị

4.1. Kết luận

Nghiên cứu này đã tìm ra điều kiện chiết mangiferin từ bột lá xoài keo trong dung môi ethanol 70⁰ tốt nhất bằng phương pháp chiết Soxhlet là tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml) 1/17 trong 10 giờ cho hiệu suất đạt 46,57 $\mu\text{g/ml}$. So sánh khi chiết bằng phương pháp có hỗ trợ siêu âm với các điều kiện tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml) 1/20, biên độ siêu âm 80 %, chu kỳ đóng ngắt 0,8 s trong 20 phút hiệu suất chiết đạt 59,43 $\mu\text{g/ml}$ cao gấp 1,3 lần. Bên cạnh đó, khả năng kháng oxy hóa (giá trị IC_{50}) của dịch chiết lá xoài bằng phương pháp siêu âm cao hơn 11,3 % so với phương pháp Soxhlet, lần lượt bằng 73,2% và 64,5% so với giá trị IC_{50} thực nghiệm của vitamin C chứng tỏ tính ưu việt của phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm. Đồng thời trong các dịch chiết lá xoài định tính được nhiều hoạt chất có hoạt tính sinh học cao thuộc nhóm polyphenol như saponin, phenol tannin, terpenoid, flavonoid, glycoside và alkaloid có tiềm năng ứng dụng lớn trong y học và thực phẩm đặc biệt trong việc phòng chống bệnh tiểu đường.

4.2. Kiến nghị

Trên cơ sở kết quả nghiên cứu, tác giả đề xuất nghiên cứu làm sạch dịch chiết, đánh giá tính an toàn của dịch

chiết, đồng thời tối ưu hóa các điều kiện chiết bằng phương pháp siêu âm để tăng hiệu suất chiết mangiferin.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ Đại học Đà Nẵng trong đề tài có mã số B2018-ĐN02-45.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] <http://nhandan.com.vn/suckhoe/tin-tuc/item/34146402-70-nguoi-mac-benh-dai-thao-duong-tai-viet-nam-chua-duoc-chan-doan.html>
- [2] S. Muruganandan, K. Srinivasan, S. Gupta, P.K. Gupta, J. Lal, Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats, *Journal of Ethnopharmacology* 97, 2005, pp. 497 – 501.
- [3] Tang-Bin Zou, En-Qin Xia, Tai-Ping He, Ming-Yuan Huang, Qing Jia and Hua-Wen Li, *Ultrasound-Assisted Extraction of Mangiferin from Mango (Mangiferin indica L.) Leaves Using Response Surface Methodology*, 2014, pp. 1411 – 1421.
- [4] http://tratram.com/san-pham_19_mangiferin---tram-huong-than-duoc-ngu-y-thang..aspx.
- [5] Đỗ Hương Lan, *Nghiên cứu sự tích lũy và biến động hàm lượng Mangiferin trong quá trình sinh trưởng và phát triển của cây quế Sơn La và tiếp tục phân lập thành phần hóa học trong lá của nó*, Khóa luận tốt nghiệp Dược sĩ, Trường đại học Dược Hà Nội, Hà Nội, 2002.
- [6] <http://vietnamtradeoffice.net/tong-quan-va-tinh-hinh-xuat-khau-xoai-viet-nam/>
- [7] Đặng Minh Nhật, *Bài giảng phân tích thực phẩm*, Trường Đại học Bách Khoa Đà Nẵng, 2010.
- [8] Lê Tư Hải, Nguyễn Thị Lan Anh, Lưu Vũ Diễm Hằng, *Nghiên cứu chiết tách và xác định thành phần hoá học của hợp chất polyphenol nhóm tanin từ vỏ keo lá tràm*, Tạp chí Khoa học và công nghệ, Đại học Đà Nẵng, số 3(44), 2011.
- [9] Trương Thị Tuyết Mai, Trương Hoàng Kiên, Nguyễn Công Khẩn, Nguyễn Văn Chuyên, *Hàm lượng polyphenol và khả năng chống oxy hóa của 28 thực vật ăn được tại Việt Nam*, Tạp chí Y học dự phòng, tập 20, số 2 (110).
- [10] Nguyễn Thị Ngân *Nghiên cứu đặc điểm thực vật & thành phần hóa học của lá xoài tròn Yên Châu*, Trường đại học Dược Hà Nội.
- [11] Phạm Thị Mai Quế Và Nguyễn Minh Thủ, *Biện pháp tiền xử lý và tối ưu hóa quá trình trích ly anthocyanin từ vỏ khoai lang tím*, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ, Nông nghiệp (2016)(1), trang 43-50.
- [12] Xie Yu-qi, LIN Cui-wul, LAI Qing-hua, HUANG Cui-you, *Determination of chlorophyll and mangiferin content in mango leaves by using UV-VIS Spectrum*, 45(3), 2014, pp.463-468.
- [13] Zhang, X.; Su, B.; Li, J.; Li, Y.; Lu, D.; Zhu, K.; Pei, H.; Zhao, M. Analysis by RP-HPLC of mangiferin component correlation between medicinal loranthus and their mango host trees. *Chromatography Science*, 52, 2014, pp. 1–4.
- [14] <http://naturalchemistry.utu.fi/research/qualitative-analysis/uv-spectra-of-polyphenols/>.
- [15] Zou, T.B.; Wu, H.F.; Li, H.W.; Jia, Q.; Song, G. Comparison of microwave-assisted and conventional extraction of mangiferin from mango (*Mangifera indica* L.) leaves. *J. Sep. Sci.* 36, 2013, pp. 3457–346.

(BBT nhận bài: 21/8/2018, hoàn tất thủ tục phân biện: 10/9/2018)