

NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT HỢP CHẤT KHÁNG OXY HÓA TỪ LÁ GIANG (*Aganonerion polymorphum* Pierre ex Spire) CÓ HỖ TRỢ SÓNG SIÊU ÂM

Phù Thị Thanh Khiết^{1*}, Trần Việt Quyền¹, Phạm Thị Kim Quyên¹, Nguyễn Thị Thu Hậu²

¹Khoa khoa học Thực phẩm và Sức khỏe, Trường Đại học Kiên Giang

²Khoa Dược, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

*Email: pttkhiet@vnkgu.edu.vn

Ngày nhận bài: 09/6/2025; Ngày nhận sửa bài: 18/12/2025; Ngày chấp nhận đăng bài: 20/3/2026

TÓM TẮT

Lá giang (*Aganonerion polymorphum* Pierre ex Spire) là một loại thảo dược bản địa giàu hợp chất sinh học, bao gồm polyphenol (TPC) và flavonoid (TFC), đồng thời thể hiện khả năng chống oxy hóa đáng chú ý. Tuy nhiên, việc nghiên cứu chiết xuất các hợp chất này bằng phương pháp hỗ trợ sóng siêu âm (UAE) vẫn còn hạn chế, đặc biệt liên quan đến các yếu tố như nhiệt độ sấy, nồng độ ethanol, cũng như điều kiện nhiệt độ và thời gian xử lý bằng sóng siêu âm. Do đó, nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của các thông số trên đến hiệu quả chiết xuất TPC và TFC từ lá giang. Các thí nghiệm được bố trí với nhiệt độ sấy 45 đến 65 °C, dung môi chiết gồm nước và ethanol ở nồng độ 50 đến 90% theo tỷ lệ 1:10 (w/v), kết hợp hỗ trợ sóng siêu âm ở tần số 37 kHz với các mức nhiệt độ 28 đến 60 °C trong khoảng thời gian 5 đến 20 phút. Các chỉ tiêu phân tích bao gồm hàm lượng TPC ($\mu\text{gGAE}/100 \text{ g}$ vật chất khô [vck]), TFC ($\mu\text{gQE}/100 \text{ g}$ vck) và giá trị IC_{50} . Kết quả cho thấy điều kiện tốt nhất khoảng khảo sát như sau: sấy lá giang ở 55 °C, sử dụng ethanol 70% để trích ly, xử lý sóng siêu âm ở 50 °C trong 10 phút đạt hàm lượng TPC và TFC cao nhất lần lượt $456,57 \pm 2,34 \mu\text{gGAE}/100 \text{ g}$ vck và $138,21 \pm 1,37 \mu\text{gQE}/100 \text{ g}$ vck. Dịch chiết thu được cũng thể hiện khả năng kháng oxy hóa với IC_{50} đạt $207,50 \pm 3,74 \mu\text{g}/\text{mL}$.

Từ khóa: Lá giang, sóng siêu âm, polyphenols, flavonoids, kháng oxy hóa.

1. MỞ ĐẦU

Lá giang (*Aganonerion polymorphum*) thuộc họ Apocynaceae, phân bố chủ yếu ở khu vực miền Trung và Tây Nguyên Việt Nam, chúng được dùng rộng rãi trong ẩm thực cũng như y học dân gian [1]. Loài cây này có vị chua đặc trưng, thường được dùng như rau hoặc làm thuốc. Thành phần hóa học của lá giang bao gồm saponin, tanin, flavonoid, sterol, acid hữu cơ và nhiều vi chất dinh dưỡng [2]. Trong số đó, các hợp chất polyphenol, flavonoid và saponin là những chất chuyển hóa thứ cấp có nguồn gốc tự nhiên, phổ biến trong thảo dược, đã được chứng minh có hoạt tính sinh học quan trọng, đặc biệt là khả năng chống oxy hóa [3]. Chúng có tác dụng trung hòa gốc tự do và hạn chế quá trình peroxy hóa lipid trong cơ thể [4]. Ngoài ra, polyphenol và flavonoid còn được xem như những kháng sinh tự nhiên đối với một số vi khuẩn sinh độc tố gây ngộ độc thực phẩm [5]. Mặc dù lá giang là nguồn dược liệu tiềm năng, nhưng các nghiên cứu về hoạt tính sinh học của dịch chiết từ loài này vẫn còn hạn chế. Phần lớn các công bố hiện nay chỉ đề cập đến lá giang cùng với các loài thực vật khác có đặc tính tương tự, mà chưa tập trung đánh giá chi tiết các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất TPC, TFC và khả năng kháng oxy hóa [2,6]. Hơn nữa, các nghiên cứu đã công bố trước đây chủ yếu sử dụng phương pháp chiết xuất truyền thống, chưa áp dụng công nghệ hiện đại hỗ trợ quá trình chiết tách.

Chiết xuất hợp chất sinh học là quá trình tách các chất từ nguyên liệu thực vật hoặc sinh vật bằng dung môi thích hợp. Trong thời gian gần đây, sự kết hợp giữa kỹ thuật chiết xuất truyền thống và hỗ trợ siêu âm (UAE) đã trở thành hướng nghiên cứu nổi bật vì giúp tăng hiệu suất, rút ngắn quá trình trích ly và hạn chế nhu cầu sử dụng dung môi trong trích ly, nhưng vẫn giữ được hoạt tính sinh học của những hợp chất tự nhiên dễ biến đổi khi tiếp xúc với nhiệt [7]. Phương pháp UAE cho thấy

khả năng thúc đẩy giải phóng cũng như chiết tách các hợp chất đa dạng về tính phân cực, đặc biệt là polyphenol và flavonoid, từ nguyên liệu có nguồn gốc thực vật [8]. Xuất phát từ những cơ sở này, nghiên cứu được tiến hành nhằm xác định các thông số ảnh hưởng đến quá trình chiết tách polyphenol và flavonoid từ lá giang bằng UAE, tạo nền tảng khoa học cho việc xây dựng quy trình trích ly các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học, ứng dụng trong y dược, công nghệ sinh học và công nghiệp thực phẩm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Lá giang được thu hái vào thời gian tháng 1 đến 3 năm 2025, tại ba điểm trên địa bàn tỉnh Kiên Giang, mẫu được trộn gộp với tỷ lệ bằng nhau.

Hóa chất sử dụng: Folin - Ciocalteu's phenol reagent (2N, Đức); Na₂CO₃ (99,8%, Xilong, Trung Quốc); AlCl₃.6H₂O (98%, Xilong, Trung Quốc); NaNO₂ (99%, Xilong, Trung Quốc); NaOH (96%, Xilong, Trung Quốc); acid ascorbic (99,7%, Xilong, Trung Quốc); ethanol (99,5%, Xilong, Trung Quốc); methanol (99,5%, Xilong, Trung Quốc); DPPH (95%, Alfa Aesar, Mỹ).

Thiết bị: tủ sấy nhiệt đối lưu (dung tích 108 lít, UF110Mettmert, Đức); bể rửa siêu âm (18 lít, Elma S180H, Đức); máy ly tâm (Rotofix 32A, Hettich, Đức); máy quang phổ UV - VIS (UV 1800, Shimadzu, Nhật); cân sấy ẩm (MS70, A&D, Nhật).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Ảnh hưởng nhiệt độ sấy

Lá giang sau khi loại bỏ phần dây leo (thân), được rửa sạch để ráo nước (bề mặt lá khô nước, độ ẩm của nguyên liệu 81,32 ± 1,8%). Lá được phủ đều trên mặt khay lỗ (kích thước khay 40 x 60 cm), độ dày lớp lá 1,5 ± 0,3 cm, mỗi khay sấy 0,5 kg lá giang, nguyên liệu được sấy theo lượt, mỗi lượt sấy 5 khay. Sử dụng tủ sấy nhiệt đối lưu ở các mức nhiệt độ 45; 50; 55; 60 °C quá trình sấy cố định thông số tốc độ gió 60% công suất, cửa thoát ẩm mở 100%. Lá giang được sấy đến độ ẩm 9 ± 1% (xác định bằng cân sấy ẩm), kết thúc quá trình sấy mẫu được nghiền thành bột định lượng polyphenol, flavonoid. Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại, tổng số 12 đơn vị thí nghiệm.

2.2.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ ethanol trong dung môi chiết

Lá giang được sấy theo nhiệt độ đã chọn ở phần 2.2.1, nghiền thành bột. Chuẩn bị dung môi ethanol ở nồng độ 50; 70; 90% đong 30 mL dung môi vào ống nghiệm có nắp. Cân 3 g mẫu cho vào ống nghiệm có chứa dung môi, tỷ lệ 1:10 (w/v). Lắc cho mẫu hòa với dung môi, đặt ống nghiệm vào giá đỡ và chuyển vào bể rửa siêu âm hoạt động ở tần số 37 kHz, nhiệt độ nước trong bể được cố định 55 °C trong thời gian 15 phút. Sau đó mẫu được ly tâm 4000 vòng trong 15 phút, dịch chiết thu được tiến hành định lượng polyphenol, flavonoid. Các thí nghiệm được sắp xếp theo thiết kế ngẫu nhiên, mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần, tạo thành tổng cộng 9 đơn vị thí nghiệm.

2.2.3. Ảnh hưởng của điều kiện nhiệt độ và thời gian siêu âm đến quá trình chiết

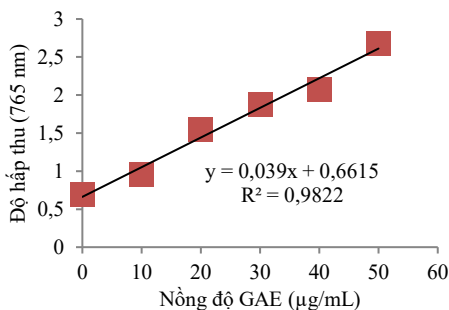
Lá giang được sấy theo nhiệt độ đã chọn ở phần 2.2.1, nghiền thành bột. Chuẩn bị dung môi ethanol theo nồng độ đã chọn ở phần 2.2.2, đong 30 mL dung môi vào ống nghiệm có nắp. Cân 3 g mẫu cho vào ống nghiệm có chứa dung môi, tỷ lệ 1:10 (w/v). Lắc cho mẫu hòa với dung môi, đặt ống nghiệm vào giá đỡ và chuyển vào bể rửa siêu âm hoạt động ở tần số 37 kHz, nhiệt độ nước trong bể được điều chỉnh ở các mức 28 ± 0,5; 40; 50; 60 °C trong thời gian 5; 10; 15; 20 phút. Sau đó mẫu được ly tâm tốc độ 4000 vòng trong 15 phút, dịch chiết thu được tiến hành định lượng polyphenol, flavonoid. Các thí nghiệm được sắp xếp theo thiết kế ngẫu nhiên, mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần, tạo thành tổng cộng 36 đơn vị thí nghiệm.

2.2.4. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH

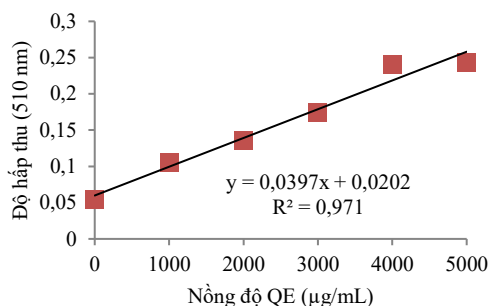
Dịch chiết lá giang được chuẩn bị mẫu theo các nghiệm thức đã chọn ở mục 2.2.1; 2.2.2; 2.2.3, mẫu dịch chiết thu được sử dụng để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa bằng phép thử DPPH. Dùng acid ascorbic làm chất chuẩn để so sánh khả năng kháng gốc tự do của dịch chiết từ lá giang. Các thí nghiệm được sắp xếp theo thiết kế ngẫu nhiên, mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.2.5. Phương pháp phân tích

Polyphenol tổng xác định bằng phương pháp Folin - Ciocalteu theo Lim et al. (2007) [9], có hiệu chỉnh. Hút 0,5 mL mẫu hoặc gallic acid chuẩn (pha trong methanol) vào ống nghiệm, thêm tiếp 1,5 mL thuốc thử Folin - Ciocalteu 10% (v/v) lắc đều, sau đó để yên 5 phút, thêm tiếp 1,2 mL Na₂CO₃ 7,5% (w/v) trộn hỗn hợp bằng vortex và ủ 30 phút ở 40 °C trong điều kiện chắn sáng. Giá trị mật độ quang được đo tại bước sóng 765 nm bằng quang phổ UV - vis. Hàm lượng polyphenol trong mẫu được quy đổi dựa trên chuẩn gallic acid (GAE) theo phương trình đường chuẩn Hình 1.



Hình 1. Đồ thị đường chuẩn gallic acid



Hình 2. Đồ thị đường chuẩn quercetin

Flavonoid xác định bằng phương pháp phản ứng tạo màu với AlCl₃ theo Somdee et al. [6], có hiệu chỉnh. Hút 1 mL mẫu hoặc quercetin chuẩn (pha trong methanol) vào ống nghiệm, thêm 0,15 mL dung dịch NaNO₂ 5% (w/v) lắc đều, sau đó để yên 6 phút, thêm 0,3 mL dung dịch AlCl₃.6H₂O 10% (w/v) lắc đều sau đó để yên 5 phút, thêm 1 mL NaOH 1 M trộn hỗn hợp bằng vortex sau đó để yên 15 phút trong điều kiện chắn sáng. Giá trị mật độ quang được đo tại bước sóng 510 nm bằng quang phổ UV - Vis. Hàm lượng flavonoid trong mẫu được quy đổi dựa trên chuẩn quercetin (QE) theo phương trình đường chuẩn Hình 2.

Khả năng kháng gốc tự do DPPH được thực hiện theo Sakong et al. [2], có hiệu chỉnh. Hút 1 mL mẫu hoặc acid ascorbic chuẩn (pha trong methanol) vào ống nghiệm, thêm vào 1 mL dung dịch DPPH 0,1 mM (pha trong methanol bảo quản ngăn mát tủ lạnh 24 giờ có chắn ánh sáng). Trộn đều bằng vortex và ủ 15 phút ở 30 °C trong điều kiện chắn sáng. Phép đo quang phổ UV - Vis được thực hiện tại bước sóng 517 nm để xác định giá trị mật độ quang.

Khả năng kháng oxy hóa (%) được tính theo công thức:

$$\text{Khả năng kháng oxy hóa (\%)} = \left[\frac{OD_c - OD_t}{OD_c} \right] * 100$$

Trong đó:

OD_c: Giá trị mật độ quang đo được của DPPH pha trong methanol (mẫu đối chứng).

OD_t: Giá trị mật độ quang của DPPH khi có bổ sung mẫu thử (dịch chiết).

2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

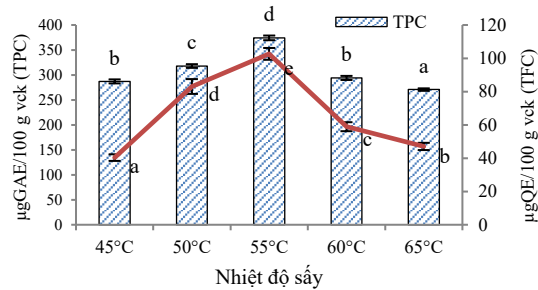
Các thí nghiệm được tiến hành theo thiết kế ngẫu nhiên, mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần, dữ liệu từ thí nghiệm trước được dùng làm cơ sở cho thí nghiệm sau. Số liệu ghi nhận được tính toán và vẽ đồ thị bằng Microsoft Excel 2023, các kết quả thí nghiệm được đánh giá thông qua ANOVA và kiểm định LSD ($\alpha = 0,05$) được thực hiện bằng phần mềm Statgraphics Centurion 18.1.12.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát nhiệt độ sấy đến polyphenol, flavonoid trong lá giang

Sự thay đổi nhiệt độ sấy có thể tác động đến khả năng giữ lại các hợp chất sinh học, trong đó hàm lượng polyphenol chịu ảnh hưởng rõ rệt. Biểu đồ Hình 3 thể hiện kết quả tác động của các mức nhiệt độ sấy khác nhau đến TPC trong lá giang. Kết quả cho thấy, TPC thu được thay đổi khi thay đổi các mức nhiệt sấy lá giang, qua đó cho thấy ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình sấy ảnh hưởng đến khả năng chiết xuất TPC trong lá giang. Khoảng nhiệt độ sấy từ 45; 50; 55 °C lượng TPC chiết xuất được có xu hướng tăng lần lượt 287,07; 317,85; 374,20 µgGAE/100 g vck. Trong đó khoảng nhiệt độ 45 và

50 °C không đủ để phá hủy cấu trúc tế bào, dẫn đến hạn chế khả năng giải phóng hợp chất trong quá trình chiết xuất, đồng thời ở mức nhiệt này enzyme polyphenol oxydase còn khả năng hoạt động, dẫn đến sự phân hủy một phần hợp chất TPC trong quá trình sấy [10]. Khi tăng nhiệt độ lên 55 °C hàm lượng TPC chiết xuất đạt cao nhất, theo nghiên cứu của Patrón-Vázquez et al. [10] công bố nhiệt độ sấy nguyên liệu 50 - 55 °C có thể cải thiện khả năng chiết xuất của các hợp chất TPC, do cấu trúc tế bào bị phá vỡ một phần, Điều này giúp giải phóng các hợp chất phenolic tổng số, điển hình là acid ferulic, gallic và vanillic vốn thường gắn kết với các đại phân tử trong thành tế bào thực vật [2]. Ở 60 và 65 °C hợp chất TPC giảm còn 293,97; 270,64 µgGAE/100 g vck, hiện tượng suy giảm này được lý giải bởi sự biến đổi và phá vỡ cấu trúc hóa học của các hợp chất khi chịu tác động của nhiệt độ cao, cũng như quá trình oxy hóa xảy ra mạnh, ngoài ra một số hợp chất TPC có thể bị bay hơi hoặc biến tính ở nhiệt cao [11].



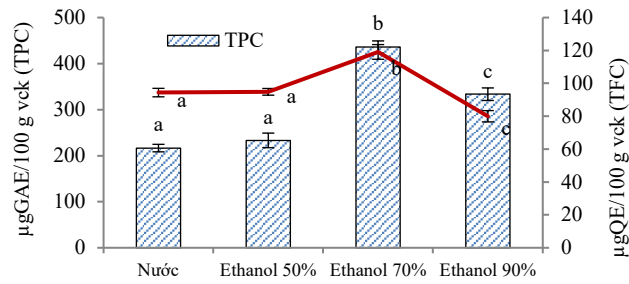
Hình 3. Tác động của nhiệt độ sấy đến TPC và TFC trong lá giang
(Các chữ cái a, b, c... khác nhau biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%)

Biểu đồ Hình 3 thể hiện hàm lượng TFC trong lá giang ở ba mức nhiệt độ sấy khác nhau (45, 50, 55, 60 và 65 °C). Kết quả ghi nhận TFC thu được khác biệt có ý nghĩa thống kê ở các mức nhiệt đã bố trí thí nghiệm, nhiệt độ sấy 45; 50 và 55 °C lượng TFC thu được có xu hướng tăng lần lượt 40,34; 83,05; 102,64 µgGAE/100 g vck, khi nhiệt độ sấy tăng lên 60 và 65 °C, hàm lượng TFC thu được có xu hướng giảm. Theo nghiên cứu của Patrón-Vázquez et al. [10] cho thấy các hợp chất TPC và TFC dễ bị mất hoạt tính ở nhiệt độ cao do cấu trúc vòng thơm và nhóm hydroxyl bị phá vỡ, những yếu tố này quyết định đến hoạt tính sinh học cũng như khả năng chống oxy hóa của hợp chất. Kết quả trên cho thấy, điều kiện sấy 55 °C thích hợp sấy nguyên liệu lá giang tươi thành lá khô nhằm chiết xuất hàm lượng TPC và TFC trong lá giang.

3.2. Kết quả khảo sát nồng độ dung môi đến polyphenol, flavonoid trong lá giang

Kết quả được trình bày ở Hình 4 cho thấy nồng độ dung môi ethanol ảnh hưởng đáng kể đến khả năng chiết xuất TPC từ lá giang, nồng độ dung môi đóng vai trò quyết định đến quá trình hòa tan và lan truyền các hợp chất polyphenol từ mô thực vật, vì vậy lượng TPC được giải phóng trong quá trình chiết xuất bị ảnh hưởng rõ rệt. TPC ở mẫu đối chứng (dung môi nước) đạt 216,50 µgGAE/100 g vck, khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với mẫu sử dụng dung môi ethanol 50%. Khi nồng độ ethanol tăng lên 70%, hợp chất TPC đạt giá trị cao nhất là 436,04 µgGAE/100 g vck, giá trị này vượt trội so với các nồng độ dung môi khác và khác biệt rõ rệt về mặt thống kê khi so sánh với mẫu đối chứng. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ ethanol lên 90%, hàm lượng TPC giảm xuống còn 333,52 µgGAE/100 g vck, mặc dù vẫn cao hơn mẫu đối chứng nhưng thấp hơn đáng kể so với mức thu được tại nồng độ 70%. Trong quá trình chiết xuất, nhóm hydroxyl của polyphenol tương tác với nhóm hydroxyl của dung môi qua liên kết hydro, giúp chúng hòa tan và ổn định cấu trúc. Tuy nhiên, công thức hóa học của polyphenol tồn tại dưới hai dạng chính là glycoside và aglycone. Trong đó, glycoside có độ phân cực cao hơn so với aglycone, có khả năng tan tốt trong dung môi phân cực mạnh, điển hình là nước; ngược lại, dạng aglycone có độ phân cực trung bình và thường dễ tan trong dung môi phân cực vừa phải, điển hình là ethanol [12]. Vì vậy, sự hòa tan của hợp chất polyphenol tốt hơn khi dung môi chiết xuất có tỷ lệ ethanol và nước phù hợp, kết quả cho thấy nồng độ ethanol 70% đáp ứng tốt cho quá trình hòa tan polyphenol từ lá giang, khi cân bằng tốt giữa tính phân cực của dung môi và khả năng hòa tan các hợp chất polyphenol. Đồng thời, kết quả này nhất quán với báo cáo trước đây của Chemat và cộng sự [6] cho rằng ethanol ở nồng độ 60 đến 70% là tối ưu cho chiết xuất polyphenol từ thực vật, vì sự phối hợp giữa ethanol và nước tạo nên môi trường dung môi tối ưu, hiệu quả của quá trình hòa tan và khuếch tán các

hợp chất cũng được tăng cường, hay Martín-García et al. [13] khi chiết xuất TPC từ lá dâu tằm (*Morus alba*) đã ghi nhận nồng độ ethanol 70% cho kết quả tốt nhất.



Hình 4. Tác động của nồng độ dung môi đến TPC và TFC trong lá giang (Các chữ cái a, b, c... khác nhau biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%)

Hình 4 minh họa rằng nồng độ dung môi ethanol ảnh hưởng đến lượng TFC được chiết xuất từ lá giang. Cụ thể, hợp chất TFC ở mẫu đối chứng (dung môi nước) đạt 94,37 µgGAE/100 g vck, sự khác biệt này không đạt mức ý nghĩa thống kê khi so sánh với mẫu chiết bằng dung môi ethanol 50%, qua đó cho thấy dung môi ethanol ở nồng độ thấp làm hạn chế khả năng chiết xuất TFC. Tuy nhiên, khi nồng độ ethanol được nâng lên 70%, hàm lượng flavonoid chiết xuất đạt 119,095 µg GAE/100 g vck, kết quả cho thấy mức giá trị vượt trội, đồng thời khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với các mẫu khác. Tuy nhiên, ở nồng độ ethanol 90% hợp chất TFC chiết xuất giảm xuống còn 79,97 µgGAE/100 g vck, thấp hơn mẫu đối chứng. Nguyên nhân, do nồng độ ethanol cao làm giảm độ trương mô, cản trở quá trình giải phóng hợp chất TFC từ tế bào thực vật, đồng thời độ phân cực của dung môi thấp hơn nên không phù hợp để hòa tan các TFC vốn có tính phân cực trung bình [14]. Các kết quả trên chứng minh rằng nồng độ ethanol 70% là điều kiện dung môi thích hợp cho quá trình chiết xuất TPC và TFC từ lá giang. Kết quả nêu trên nhất quán với nghiên cứu của Sari et al. [15], việc áp dụng dung môi ethanol 69% cùng với hỗ trợ siêu âm cho quá trình chiết xuất đã cho phép thu hồi TPC từ lá gấm (*Gnetum gnemon*) hiệu quả hơn, và với nghiên cứu của Hikmawanti et al. [16], cho thấy ethanol 70% tối ưu cho chiết xuất TFC từ lá và vỏ quả bồ ngót (*Sauropus androgynus*).

3.3. Kết quả khảo sát nhiệt độ và thời gian hỗ trợ sóng siêu âm đến polyphenol, flavonoid, trong lá giang

Bảng 1. Tác động của nhiệt độ và thời gian hỗ trợ sóng siêu âm đến TPC, TFC lá giang

STT	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	TPC (µgGAE/100 g vck)	TFC (µgQE/100 g vck)
1	28 ± 0,5	5	394,32 ^c ± 6,89	92,58 ^b ± 4,18
2		10	401,11 ^d ± 1,68	93,58 ^{bc} ± 4,74
3		15	413,09 ^e ± 2,51	94,40 ^{bc} ± 1,37
4		20	395,16 ^{cd} ± 4,06	86,87 ^a ± 2,98
5	40	5	394,97 ^{cd} ± 5,46	94,90 ^{bc} ± 4,48
6		10	450,07 ^g ± 2,11	98,24 ^{cd} ± 2,74
7		15	434,83 ^f ± 2,05	99,79 ^d ± 1,23
8		20	395,35 ^{cd} ± 4,11	97,78 ^{cd} ± 3,18
9	50	5	409,75 ^e ± 2,98	113,57 ^e ± 1,35
10		10	456,57 ^h ± 2,34	138,21 ^h ± 1,37
11		15	438,73 ^f ± 2,27	127,26 ^{fg} ± 1,34
12		20	434,83 ^f ± 2,11	116,31 ^e ± 1,31
13	60	5	377,79 ^a ± 1,05	113,57 ^e ± 1,37
14		10	413,18 ^e ± 4,10	122,50 ^f ± 5,09
15		15	392,00 ^{bc} ± 3,37	130,00 ^g ± 1,37
16		20	387,26 ^b ± 4,60	115,85 ^e ± 3,16

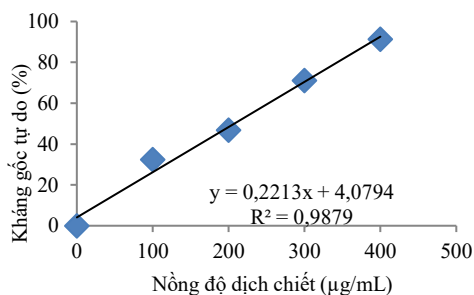
(Các chữ cái a, b, c... khác nhau biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%)

Phân tích dữ liệu trong Bảng 1 cho thấy sự kết hợp giữa nhiệt độ và thời gian xử lý bằng sóng siêu âm có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) chiết xuất từ lá giang. Ở mỗi mức nhiệt độ, hàm lượng TPC tăng dần, đạt giá trị cực đại, sau đó giảm khi thời gian siêu âm kéo dài. Đáng chú ý, tại $28 \pm 0,5$ °C, giá trị cao nhất xuất hiện ở 15 phút, trong khi ở 40, 50 và 60 °C, mức cực đại được ghi nhận ở 10 phút. Sự gia tăng TPC trong khoảng 10 đến 15 phút có thể được giải thích bởi hiệu ứng cơ học của sóng siêu âm, bao gồm hiện tượng tạo bọt khí, chuyển động hỗn loạn và sự vỡ bọt trong dung môi, góp phần phá vỡ thành tế bào thực vật và giải phóng hợp chất sinh học [17]. Tuy nhiên, khi thời gian siêu âm kéo dài, hiện tượng tái hấp thụ và sự gia tăng nhiệt từ môi trường cũng như từ chuyển động phân tử có thể dẫn đến phân hủy nhiệt, đặc biệt đối với các hợp chất nhạy cảm [18]. Do đó, hàm lượng TPC giảm rõ rệt khi thời gian siêu âm đạt 20 phút, đặc biệt ở nhiệt độ 60 °C. Kết quả cho thấy TPC tăng trong khoảng 28 đến 50 °C nhưng giảm ở 60 °C. Sự gia tăng ban đầu phản ánh vai trò của nhiệt độ thích hợp trong việc nâng cao động năng phân tử, thúc đẩy khuếch tán cũng như hòa tan polyphenol [17]. Ngược lại, Vượt quá mức nhiệt tối ưu có thể dẫn đến giảm hàm lượng TPC, nguyên nhân là do oxy hóa hoặc biến đổi cấu trúc phân tử [12].

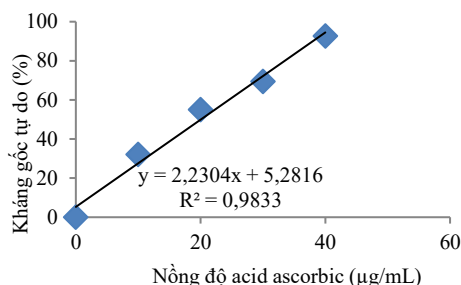
Kết quả thí nghiệm được trình bày trong Bảng 1 thể hiện nhiệt độ và thời gian đánh sóng siêu âm ảnh hưởng đến TFC. Tương tự như TPC, khi tăng nhiệt độ và thời gian siêu âm, hàm lượng TFC ban đầu tăng và đạt mức cao nhất ở điều kiện thích hợp, sau đó giảm khi kéo dài thời gian và tăng nhiệt độ môi trường đánh sóng. Tuy nhiên, ở nhiệt độ đánh sóng siêu âm $28 \pm 0,5$ và 40 °C hàm lượng TFC ghi nhận tăng trong thời gian đánh sóng 15 phút, đồng thời khác biệt này không đạt mức ý nghĩa thống kê khi so sánh so với 10 phút. Khi nhiệt độ được nâng lên 50 và 60 °C hàm lượng TFC ghi nhận tăng trong thời gian đánh sóng 10 phút. Từ đó cho thấy môi trường đánh sóng 50 °C trong 10 phút thích hợp chiết xuất TPC và TFC trong lá giang. Kết quả tương đồng với nghiên cứu của Machado et al. [19] đã công bố nghiên cứu chiết xuất hợp chất sinh học trong vỏ trái lựu (*Punica granatum* L.), kết quả thể hiện hàm lượng TPC và TFC được chiết xuất trong ethanol 70% ở nhiệt độ 50 đến 60 °C có hỗ trợ sóng siêu âm tần số 37 kHz, hay Martín - Garcia et al. [13] khi chiết xuất TPC và TFC từ lá dâu tằm ở nhiệt độ 50 °C và thời gian siêu âm 10 đến 15 phút cho kết quả chiết xuất tốt nhất.

3.4. Kết quả xác định khả năng kháng gốc tự do DPPH

Dịch chiết lá giang được chuẩn bị ở các nồng độ 100; 200; 300; 400 µg/mL để xác định hiệu quả kháng lại gốc tự do DPPH, tương tự như vậy đối với chất chuẩn acid ascorbic ở các nồng độ 10; 20; 30 và 40 µg/mL. Hiệu lực chống oxy hóa từ dịch chiết từ lá giang cùng với chất chuẩn acid ascorbic được xác định thông qua thí nghiệm loại bỏ gốc tự do DPPH, và được thể hiện chi tiết trong các đồ thị Hình 5 và 6.



Hình 5. Đồ thị khả năng kháng gốc tự do DPPH của dịch chiết lá giang



Hình 6. Đồ thị khả năng kháng gốc tự do DPPH của acid ascorbic

Ở các nồng độ khác nhau của dịch chiết lá giang, tăng từ 100 đến 400 µg/mL, mức độ kháng lại gốc tự do DPPH cũng tăng theo, cho thấy có mối quan hệ trực tiếp giữa nồng độ dịch chiết và hoạt tính kháng oxy hóa. Mối tương quan này được mô tả bằng phương trình hồi quy tuyến tính $y = 0,2213x + 4,0794$, với độ tin cậy đạt 98,79%. Đối với chất chuẩn acid ascorbic, xu hướng tương tự cũng được ghi nhận: khi nồng độ tăng từ 10 đến 40 µg/mL, khả năng kháng lại gốc tự do DPPH tăng dần. Phương trình hồi quy tuyến tính $y = 2,2304x + 5,2816$ phản ánh mối quan hệ này, với độ tin cậy đạt 98,33%.

Bảng 2. IC₅₀ được xác định từ dịch chiết lá giang và acid ascorbic

Mẫu	IC ₅₀ (µg/mL)
Dịch chiết lá giang	207,50 ^b ± 3,74
Acid ascorbic	20,05 ^a ± 1,82

(Các chữ cái a, b, c... khác nhau biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%)

Dựa trên phương trình hồi quy, giá trị IC₅₀ phản ánh khả năng ức chế 50% gốc tự do DPPH của dịch chiết lá giang và acid ascorbic, được trình bày trong Bảng 2. Kết quả cho thấy IC₅₀ của dịch chiết lá giang cao hơn đáng kể so với chất chuẩn, chứng tỏ hiệu quả kháng gốc tự do của nó thấp hơn acid ascorbic. Tuy nhiên, khi đối chiếu với các loài cùng họ Apocynaceae, kết quả nghiên cứu lại tương đồng với báo cáo của Alshehri et al. [20], trong đó dịch chiết từ lá cây sứ Thái (*Adenium obesum*) có IC₅₀ đạt 187,46 µg/mL. So sánh thêm với nghiên cứu của Trần Phạm Tuệ Hưng và cộng sự [21], IC₅₀ của cao chiết từ lá cây huỳnh anh (*Allamanda nerifolia*) là 936,86 µg/mL, cao hơn nhiều lần so với dịch chiết lá giang. Điều này cho thấy khả năng kháng lại gốc tự do DPPH của lá giang ở mức tương đương hoặc vượt trội hơn một số loài khác trong cùng họ Apocynaceae.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã làm rõ các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả chiết xuất polyphenol tổng số (TPC) và flavonoid tổng số (TFC) từ lá giang khi áp dụng kỹ thuật hỗ trợ sóng siêu âm. Các thông số được xem xét bao gồm: nhiệt độ sấy nguyên liệu, nồng độ ethanol trong dung môi, nhiệt độ môi trường siêu âm và thời gian xử lý. Kết quả cho thấy điều kiện tối ưu là sấy lá giang ở 55 °C đến khi đạt độ ẩm khoảng 9 ± 1%, sử dụng dung môi ethanol 70% với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:10 (w/v), và tiến hành siêu âm ở 50 °C trong 10 phút. Trong điều kiện này, dịch chiết thu được chứa hàm lượng TPC và TFC lần lượt đạt 456,57 ± 2,34 µgGAE/100 g vck và 138,21 ± 1,37 µgQE/100 g vck. Đồng thời, dịch chiết thể hiện khả năng kháng oxy hóa đáng kể thông qua thử nghiệm DPPH, với giá trị IC₅₀ đạt 207,50 ± 3,74 µg/mL. Những kết quả này không chỉ khẳng định tiềm năng sinh học của lá giang mà còn cung cấp cơ sở khoa học cho việc tối ưu hóa quy trình chiết xuất trong các nghiên cứu tiếp theo, hướng đến ứng dụng trong y dược, công nghệ sinh học và công nghiệp thực phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D. T. L. Phương, N. T. Nghĩa, H. N. T. Liên, and V. T. T. Tuyền, "Khảo sát thành phần hóa học và tác dụng kháng khuẩn của lá giang (*Aganonerion polymorphum* Pierre ex Spire) ở Bình Định," *Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học*, vol. 29, no. 1, pp. 79-84, 2023.
- [2] P. Sakong, T. Khampitak, U. Cha'on, C. Pinitsoontorn, P. Sriboonlue, P. Yongvanit, and P. Boonsiri, "Antioxidant activity and bioactive phytochemical," *J. Med. Plant Res.*, vol. 5, no. 31, pp. 6822-6831, 2011, doi: <https://doi.org/10.5897/JMPR11.1222>.
- [3] P. Garcia-Salas, A. Morales-Soto, A. Segura-Carretero, and A. Fernández-Gutiérrez, "Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples," *Molecules*, vol. 15, no. 12, pp. 8813-8826, 2010, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules15128813>.
- [4] G. G. Duthie, S. J. Duthie, and J. A. Kyle, "Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants," *Nutr. Res. Rev.*, vol. 13, no. 1, pp. 79-106, 2000, doi: <https://doi.org/10.1079/095442200108729016>.
- [5] I. L. Elisha, F. S. Botha, L. J. McGaw, and J. N. Eloff, "The antibacterial activity of extracts of nine plant species with good activity against *Escherichia coli* against five other bacteria and cytotoxicity of extracts," *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 17, no. 113, pp. 1-10, 2017, doi: <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1645-z>.
- [6] T. Somdee, U. Mahaweerawat, M. Phadungkit, S. Yangyuen, "Antioxidant compounds and activities in selected fresh and blanched vegetables from northeastern Thailand," *Chiang Mai J. Sci.*, vol. 43, no. 4, pp. 834-844, 2016.

- [7] F. Chemat, Z.-e.-Huma, and M. K. Khan, "Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 18, no. 4, pp. 813-835, 2011, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>.
- [8] M. Vinatoru, "An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 8, no. 3, pp. 303-313, 2011, doi: [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(01\)00071-2](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(01)00071-2).
- [9] Y. Y. Lim, T. T. Lim, and J. J. Tee, "Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study," *Food Chem.*, vol. 103, no. 3, pp. 1003-1008, 2007, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.038>
- [10] J. Patrón-Vázquez, L. Baas-Dzul, N. Medina-Torres, T. Ayora-Talavera, Á. Sánchez-Contreras, U. García-Cruz, and N. Pacheco, "The effect of drying temperature on the phenolic content and functional behavior of flours obtained from lemon wastes," *Agronomy*, vol. 9, no. 9, pp. 474-488, 2019, doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy9090474>.
- [11] A. V. Lopez-Corona, I. Valencia-Espinosa, F. A. González-Sánchez, A. L. Sánchez-López, L. E. Garcia-Amezquita, and R. Garcia-Varela, "Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of phenolic compound family extracted from raspberries (*Rubus idaeus*): A general review," *Antioxidants*, vol. 11, no. 6, pp.1-20, 2022, Art. no. 1192, doi: <https://doi.org/10.3390/antiox11061192>.
- [12] R. K. Singla *et al.*, "Natural polyphenols: Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures," *J. AOAC Int.*, vol. 102, no. 5, pp. 1397-1400, 2019, doi: <https://doi.org/10.1093/jaoac/102.5.1397>.
- [13] B. Martín-García, M. J. Aznar-Ramos, V. Verardo, and A. M. Gómez-Caravaca, "The establishment of ultrasonic-assisted extraction for the recovery of phenolic compounds and evaluation of their antioxidant activity from *Morus alba* leaves," *Foods*, vol. 11, no. 3, pp. 1-12, Art. no. 314, 2022, doi: <https://doi.org/10.3390/foods11030314>.
- [14] D. Kumar, M. S. Ladaniya, M. Gurjar, and S. Kumar, "Impact of drying methods on natural antioxidants, phenols and flavanones of immature dropped *Citrus sinensis* L. Osbeck fruits," *Sci. Rep.*, vol. 12, no. 1, pp. 1-12, 2022, doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10661-7>.
- [15] M. Sari, S. I. Rahmawati, F. N. Izzati, and M. Y. Putra, "Antioxidant activity of ethanolic extract of peel and seed Melinjo (*Gnetum gnemon*) based on color variations," in *Int. Conf. Health Res. – BRIN (ICHR 2022)*, pp. 255-265, 2023, doi: https://doi.org/10.2991/978-94-6463-112-8_25.
- [16] N. P. E. Hikmawanti, S. Fatmawati, and A. W. Asri, "The effect of ethanol concentrations as the extraction solvent on antioxidant activity of Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) leaves extracts," in *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, vol. 755, 2021, doi: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/755/1/012060>.
- [17] T. Mason and D. Peters, *Practical Sonochemistry: Power Ultrasound Uses and Applications*. Woodhead Publishing, pp. 345-355, 2002.
- [18] B. Xiang, X. Zhou, D. Qin, C. Li, and J. Xi, "Infrared assisted extraction of bioactive compounds from plant materials: Current research and future prospect," *Food Chemistry*, vol. 371, art. no. 131192, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131192>.
- [19] A. P. D. F. Machado, B. R. Sumere, C. Mekaru, J. Martinez, R. M. N. Bezerra, and M. A. Rostagno, "Extraction of polyphenols and antioxidants from pomegranate peel using ultrasound: influence of temperature, frequency and operation mode," *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 54, no. 9, pp. 2792-2801, 2019, doi: <https://doi.org/10.1111/ijfs.14194>.
- [20] A. Alshehri *et al.*, "In vitro evaluation of antioxidant, anticancer, and anti-inflammatory activities of ethanolic leaf extract of *Adenium obesum*," *Front. Pharmacol.*, vol. 13, p. 1-12, 2022, doi: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.847534>.
- [21] H. P. T. Tran, H. T. M. Nguyen, and P. N. D. Quach, "Studying antibacterial, antioxidant and tyrosinase inhibition activities of golden trumpet (*Allamanda nerifolia*)," *Sci. Technol. Dev. J.*, vol. 17, no. 3, pp. 62-70, 2014, doi: <https://doi.org/10.32508/stdj.v17i3.1371>.

ABSTRACT

ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION OF ANTIOXIDANT COMPOUNDS FROM LA GIANG (*Aganonerion polymorphum* Pierre ex Spire)

Phu Thi Thanh Khiết^{1*}, Tran Viet Quyên¹, Pham Thi Kim Quyên¹, Nguyen Thi Thu Hau²

¹Faculty of Food Science and Health, Kien Giang University

²Faculty of Pharmacy, Hong Bang International University

*Email: pttkhiết@vnkgu.edu.vn

Aganonerion polymorphum Pierre ex Spire, commonly known as *lá giang*, is an indigenous medicinal plant that contains various bioactive compounds, notably total polyphenols (TPC) and total flavonoids (TFC), which exhibit potential antioxidant activity. However, research on ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from *A. polymorphum*, and the influence of factors like drying temperature, extraction solvents, ultrasonic temperature, and duration, remains limited. Therefore, this study was conducted to evaluate the effects of these parameters on the yield of TPC and TFC from *A. polymorphum* using UAE. The experimental design included the following conditions: drying temperatures of 45; 50; 55; 60; and 65 °C; extraction with a 1:10 (w/v) solvent-to-sample ratio using water and ethanol at concentrations of 50%; 70%; and 90%; and ultrasound treatment at a frequency of 37 kHz, under temperatures of 28 ± 0.5; 40; 50; and 60 °C for durations of 5; 10; 15; and 20 minutes. The analytical parameters included the quantification of TPC (expressed as µg gallic acid equivalents per 100 g dry weight [dw]), TFC (expressed as µg quercetin equivalents per 100 g dw), and antioxidant activity measured by IC₅₀ values. The results indicated that a drying temperature of 55 °C was optimal for preserving bioactive compounds in *A. polymorphum*. The most effective extraction solvent was 70% ethanol. Maximum extraction efficiency for both TPC and TFC was achieved at 50 °C ultrasonic treatment for 10 minutes, yielding 456.57 ± 2.34 (µgGAE/100 g dw) and 138.21 ± 1.37 (µgQE/100 g dw), respectively. The extract also demonstrated notable antioxidant activity, with an IC₅₀ value of 207.50 ± 3.74 µg/mL.

Keywords: *Aganonerion polymorphum*, ultrasound-assisted extraction, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity.