

Nghiên cứu quá trình trích ly siêu âm hàm lượng tổng phenolic, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa từ lá cây dây thìa canh (*Gymnema sylvestre*)

Nguyễn Tân Thành^{1*}, Nguyễn Thị Uyển Nhi¹, Đinh Thị Trường Giang², Trương Chiến Thắng³, Bùi Xuân Hưng²

¹Viện Công nghệ Hóa sinh - Môi trường, Trường Đại học Vinh

²Khoa Hóa học, Trường Sư phạm, Trường Đại học Vinh

³Khoa Dược, Trường Đại học Y khoa Vinh

Ngày nhận bài 6/9/2021; ngày chuyển phản biện 10/9/2021; ngày nhận phản biện 11/10/2021; ngày chấp nhận đăng 18/10/2021

Tóm tắt:

Nghiên cứu thực hiện nhằm nâng cao hiệu suất thu hồi hàm lượng tổng phenolic (TPC), flavonoid (TFC) và hoạt tính chống oxy hóa từ lá cây dây thìa canh (*Gymnema sylvestre*) bằng phương pháp đáp ứng bề mặt (response surface methodology - RSM). Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp Box - Behnken; xây dựng điều kiện trích ly tối ưu hàm lượng TPC (Y_1 , %), TFC (Y_2 , %) và hoạt tính chống oxy hóa (Y_3 , %) với 4 yếu tố là nhiệt độ trích ly (X_1), thời gian siêu âm (X_2), nồng độ dung môi ethanol (X_3) và công suất siêu âm (X_4). Kết quả cho thấy, điều kiện tối ưu hóa quá trình trích ly siêu âm để thu được hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học cao nhất là ở 62°C, thời gian siêu âm 50 phút, nồng độ dung môi 55% và công suất siêu âm là 300 W. Với điều kiện này, hàm lượng TPC đạt 21,2±0,5 mg GAE/g, TFC 8,2±0,15 mg CE/g và hoạt tính chống oxy hóa đạt 72,5±0,5%.

Từ khóa: flavonoid, *Gymnema sylvestre*, hoạt tính chống oxy hóa, phenolic, phương pháp đáp ứng bề mặt, trích ly siêu âm.

Chỉ số phân loại: 1.4

Đặt vấn đề

Dây thìa canh thuộc chi Lỗ ti (*Gymnema*) họ Trúc đào (Apocynaceae), còn được gọi là Lỗ ti rừng. Hiện nay, chi *Gymnema* được trồng phổ biến trên thế giới với mục đích chính là chữa bệnh tiểu đường. Trên thế giới, dây thìa canh còn được gọi với các tên gọi khác nhau như: Diabeticin (Ấn Độ), Sugarest (Mỹ) hay Glucos care (Singapore)... Loại cây này được tìm thấy đầu tiên ở Ấn Độ và phát triển nhiều nhất ở thung lũng Paltacot miền trung nam nước này. Ngoài ra, chúng còn được phân bố nhiều ở Trung Quốc, Indonesia và Việt Nam [1, 2]. Các bộ phận trên mặt đất của dây thìa canh đều có thể dùng làm thuốc [3]. Dây thìa canh gồm có 2 loại là lá to và nhỏ, trong đó loại lá to có tác dụng dược lý tốt hơn loại lá nhỏ. Theo dân gian, dây thìa canh là loại cây có giá trị dược liệu cao và được dùng để chữa bệnh tiểu đường, tăng huyết áp, rối loạn chuyển hóa lipid..., vì vậy loài cây này được trồng nhiều ở nước ta.

Hiện nay, có nhiều công trình trên thế giới công bố về hoạt tính sinh học của dây thìa canh như: khả năng hạ đường huyết, chống viêm loét, kháng khuẩn cùng khả năng chống oxy hóa, dị ứng... Nhiều nhà khoa học trên thế giới đã công bố về thành phần hóa học trong cây dây thìa canh gồm các chất như flavone, alkaloid, acid formic, chlorophylls, anthraquinone, henti-acontane, pentatriacontane, resins, phytin, d-quercitol, acid tartaric, acid butyric, lupeol, saponin [4-8]. Ở Việt Nam, các nhà khoa học cũng tập trung nghiên cứu nhiều về thành phần hóa học và hoạt tính sinh

học từ cây dây thìa canh, tuy nhiên nghiên cứu sâu về quá trình tách chiết các hoạt chất chống oxy hóa từ loài cây này còn nhiều hạn chế. Nghiên cứu này tập trung vào việc xác định thông số trích ly tối ưu có sự hỗ trợ của sóng siêu âm nhằm nâng cao hàm lượng các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa từ lá cây dây thìa canh.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng

Lá cây dây thìa canh được thu tại vùng đệm Vườn quốc gia Pù Mát (tỉnh Nghệ An). Mẫu được định danh bởi Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu nguyên liệu sau khi sấy được nghiền nhỏ và bảo quản ở -20°C trước khi tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

Phương pháp nghiên cứu

Trích ly siêu âm: Mỗi thí nghiệm cân 10 g mẫu cho vào bình tam giác thể tích 500 ml, thêm dung môi với tỷ lệ cho trước theo phương pháp bố trí thí nghiệm tối ưu. Cho bình vào thiết bị siêu âm CYF-TE600N-4S (Đài Loan), điều chỉnh công suất sóng siêu âm theo các điều kiện thí nghiệm. Tiến hành trích ly theo thời gian định trước. Sau khi kết thúc quá trình trích ly, dịch được lọc qua giấy lọc và đưa đi phân tích.

Xác định hàm lượng TPC: Hàm lượng TPC từ dịch chiết lá cây dây thìa canh được xác định theo phương pháp Folin-

*Tác giả liên hệ: Email: nguyentanthanh@vinhuni.edu.vn

Ultrasonic extraction of total phenolics, total flavonoids, and antioxidant activities from *Gymnema sylvestre*

Tan Thanh Nguyen^{1*}, Thi Uyen Nhi Nguyen¹,
Thi Truong Giang Dinh²,
Chien Thang Truong³, Xuan Hung Bui²

¹School of Chemistry, Biology and Environment, Vinh University

²Faculty of Chemistry, School of Education, Vinh University

³Pharmacy Faculty, Vinh Medical University

Received 6 September 2021; accepted 18 October 2021

Abstract:

The study on ultrasonic extraction conditions aims to improve the yield of total phenolic content, total flavonoid content, and antioxidant activity from the leaves of *Gymnema sylvestre* by response surface methodology (RSM). The experimental arrangement according to the Box - Benhken method, the optimal extraction conditions were established for total phenolic content (Y_1 , %), total flavonoid content (Y_2 , %), and antioxidant activity (Y_3 , %), with four factors, are extraction temperature (X_1), ultrasonic time (X_2), concentration of ethanol solvent (X_3), and ultrasonic power (X_4). According to the model, the optimal conditions for ultrasonic extraction to obtain the highest content of biologically active compounds are extraction temperature of 62°C, ultrasonic time of 50 minutes, solvent concentration of 55%, and ultrasonic power is 300 W. Under this condition, the total phenolic content was 21.2±0.5 mg GAE/g, the total flavonoid content was 8.2±0.15 mg CE/g, and the highest antioxidant activity was 72.5±0.5%.

Keywords: antioxidant activity, flavonoid, *Gymnema sylvestre*, phenolic, response surface methodology, ultrasonic extraction.

Classification number: 1.4

Ciocalteu [9]. Hút 1 ml dịch mẫu pha loãng, thêm 5 ml thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% và lắc đều, sau 3 phút tiếp tục thêm 4 ml dung dịch Na_2CO_3 7,5%, lắc đều và để yên 1h trong bóng tối, sau đó tiến hành so màu ở bước sóng 765 nm bằng máy đo quang phổ Agilent 8453.

Xác định hàm lượng TFC: Hàm lượng TFC từ dịch chiết lá cây dây thìa canh được xác định theo phương pháp Al-flavonoid [10]. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 510 nm, dùng chất chuẩn là catechin. Một phần dịch chiết (1 ml) hoặc dung dịch catechin chuẩn được thêm vào bình định mức 10 ml chứa 4 ml H_2O . Sau đó, thêm 0,3 ml NaNO_2 5%, 5 phút sau thêm 0,3 ml dung dịch AlCl_3 10%; sau 6 phút, cho thêm 2 ml NaOH 1 M và định mức đến thể tích 10 ml bằng nước cất. Dung dịch được trộn đều và độ hấp thụ được đo ở bước sóng 510 nm bằng máy đo quang phổ Agilent 8453.

Xác định hoạt tính chống oxy hóa theo khả năng khử gốc tự do DPPH: Dịch chiết lá cây dây thìa canh được đánh giá hoạt tính chống oxy hóa thông qua xác định khả năng khử gốc tự do DPPH theo phương pháp của H.Y. Fu và D.E. Shieh (2002) [11]. Lấy khoảng 20 đến 140 μl dịch chiết pha với nước cất để hỗn hợp dịch đạt thể tích 3 ml. Sau đó, thêm 1 ml dung dịch DPPH 0,2 mM, lắc đều và để yên trong bóng tối 30 phút. Độ hấp thụ quang học được đo ở bước sóng 517 nm bằng máy Agilent 8453.

Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định theo công thức sau:

$$\text{DPPH (\%)} = 100 \times (\text{Abs}_s - \text{Abs}_c) / \text{Abs}_s$$

trong đó: Abs_s : độ hấp thụ quang học của mẫu trắng không chứa dịch chiết; Abs_c : độ hấp thụ quang học của mẫu có chứa dịch chiết.

Bố trí thí nghiệm và tối ưu hóa điều kiện sấy: Lựa chọn RSM để tối ưu hóa điều kiện trích ly siêu âm hàm lượng TPC, TFC và hoạt tính chống oxy hóa từ lá cây dây thìa canh. Bốn thông số được nghiên cứu trong quá trình trích ly bao gồm: nhiệt độ (X_1), thời gian siêu âm (X_2), nồng độ dung môi ethanol (X_3) và công suất siêu âm (X_4). Các thí nghiệm được bố trí theo phương pháp Box - Benhken, gồm 27 thí nghiệm với 3 thí nghiệm ở tâm. Mỗi thí nghiệm được tiến hành 3 lần và lấy kết quả trung bình. Mô hình toán học mô tả ảnh hưởng của các biến độc lập đối với biến phụ thuộc có dạng hàm đa thức bậc hai tổng quát như sau:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j$$

trong đó: Y: biến phụ thuộc (hàm mục tiêu); X_i, X_j : biến mã hóa (biến độc lập) ảnh hưởng đến Y; $\beta_0, \beta_i, \beta_j$: các hệ số hồi quy.

Kết quả và bàn luận

Thiết lập mô hình

Sử dụng phần mềm Design-Expert®, phiên bản 7.0 để đánh giá ảnh hưởng của các thông số quan trọng của quá

trình trích ly đến hàm lượng TPC, TFC và hoạt tính chống oxy hóa từ lá cây dây thìa canh. Các thông số được mã hóa theo các mức như ở bảng 1.

Bảng 1. Bảng mã hóa của các biến độc lập.

Các biến độc lập	Đơn vị	Ký hiệu	Các mức mã hóa		
			-1	0	+1
Nhiệt độ trích ly	°C	X ₁	50	60	70
Thời gian siêu âm	phút	X ₂	30	45	60
Nồng độ dung môi ethanol	%	X ₃	40	55	70
Công suất siêu âm	W	X ₄	200	300	400

Các thí nghiệm được thực hiện với thông số tỷ lệ nguyên liệu/dung môi trích ly là 1/30 g/ml. Phương án bố trí và kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Thiết kế thí nghiệm và kết quả.

Thí nghiệm	X ₁ (°C)	X ₂ (phút)	X ₃ (%)	X ₄ (W)	Hàm lượng TPC Y ₁ (mg GAE/g)	Hàm lượng TFC Y ₂ (mg CE/g)	Hoạt tính chống oxy hóa Y ₃ (%)
1	-1	1	0	0	18,26	6,34	73,29
2	1	0	0	1	23,17	7,64	71,77
3	0	0	-1	1	22,55	7,67	70,04
4	1	0	1	0	16,79	5,42	73,43
5	0	-1	1	0	16,21	5,22	71,70
6	0	1	1	0	17,98	5,21	74,08
7	0	-1	0	-1	15,86	4,71	73,38
8	0	-1	0	1	20,18	6,93	70,98
9	0	0	-1	-1	21,29	6,34	70,53
10	1	0	0	-1	15,49	5,51	74,08
11	-1	0	1	0	15,71	4,68	73,21
12	0	0	1	1	19,48	6,92	70,37
13	0	1	0	-1	19,53	6,54	73,70
14	0	0	1	-1	15,54	4,06	74,41
15	0	0	0	0	22,76	7,94	74,1
16	1	-1	0	0	17,13	6,17	73,39
17	1	1	0	0	18,50	7,17	73,64
18	0	0	0	0	24,31	8,43	74,21
19	1	0	-1	0	22,08	7,48	72,79
20	-1	0	0	-1	16,26	5,22	73,40
21	-1	0	-1	0	16,75	5,12	71,67
22	0	0	0	0	21,58	8,16	74,48
23	-1	-1	0	0	15,16	4,48	70,29
24	0	1	-1	0	22,94	7,74	70,16
25	0	-1	-1	0	17,51	5,19	70,41
26	0	1	0	1	21,73	7,88	73,31
27	-1	0	0	1	17,22	5,68	70,49

Từ các phân tích hồi quy tuyến tính của 27 thí nghiệm đã xây dựng được phương trình hồi quy bậc hai của hàm lượng TPC, TFC và hoạt tính chống oxy hóa như sau:

$$Y_1 = 22,88 + 1,15X_1 + 1,41X_2 - 1,78X_3 + 1,70X_4 - 0,43X_1X_2 - 1,06X_1X_3 + 1,68X_1X_4 - 0,92X_2X_3 - 0,53X_2X_4 + 0,67X_3X_4 - 3,35X_1^2 - 2,29X_2^2 - 1,81X_3^2 - 1,38X_4^2$$

$$Y_2 = 8,18 + 0,66X_1 + 0,68X_2 - 0,67X_3 + 0,86X_4 - 0,22X_1X_2 - 0,40X_1X_3 + 0,42X_1X_4 - 0,64X_2X_3 - 0,22X_2X_4 + 0,38X_3X_4 - 1,28X_1^2 - 0,95X_2^2 - 1,26X_3^2 - 0,76X_4^2$$

$$Y_3 = 74,26 + 0,56X_1 + 0,67X_2 + 0,97X_3 - 1,04X_4 - 0,69X_1X_2 - 0,22X_1X_3 + 0,15X_1X_4 + 0,66X_2X_3 + 0,5X_2X_4 - 0,89X_3X_4 - 0,47X_1^2 - 0,86X_2^2 - 1,55X_3^2 - 1,10X_4^2$$

Kết quả phân tích ANOVA mô hình bậc 2 của Y₁, Y₂ và Y₃ được đánh giá bằng các giá trị F, p và R² tương ứng (bảng 3). Giá trị F của Y₁, Y₂, Y₃ lần lượt là 17,76, 45,08 và 7,81 đều thỏa mãn điều kiện p<0,05, điều này cho thấy các mô hình hoàn toàn có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy cao (p<0,0005).

Bảng 3. Kết quả phân tích hồi quy hàm lượng TPC, TFC và hoạt tính chống oxy hóa.

Nguồn	Y ₁ (IPC)		Y ₂ (TFC)		Y ₃ (Yield)	
	Giá trị F	Giá trị p	Giá trị F	Giá trị p	Giá trị F	Giá trị p
Mô hình	17,76	<0,0001	45,08	<0,0001	7,81	0,0005
X ₁	19,31	0,0009	76,59	<0,0001	7,28	0,0194
X ₂	28,93	0,0002	82,74	<0,0001	10,30	0,0075
X ₃	46,48	<0,0001	79,73	<0,0001	21,50	0,0006
X ₄	42,03	<0,0001	132,21	<0,0001	25,12	0,0003
X ₁ X ₂	0,91	0,3588	2,74	0,1235	3,62	0,0812
X ₁ X ₃	5,49	0,0371	9,74	0,0089	0,39	0,5449
X ₁ X ₄	13,74	0,0030	10,35	0,0074	0,17	0,6852
X ₂ X ₃	4,08	0,0664	24,31	0,0003	3,31	0,0937
X ₂ X ₄	1,37	0,2650	2,87	0,1159	1,94	0,1893
X ₃ X ₄	2,18	0,1651	8,68	0,0122	6,04	0,0302
X ₁ ²	72,76	<0,0001	129,58	<0,0001	2,28	0,1571
X ₂ ²	34,02	<0,0001	70,80	<0,0001	7,60	0,0174
X ₃ ²	21,25	0,0006	126,06	<0,0001	24,67	0,0003
X ₄ ²	12,28	0,0043	45,21	<0,0001	12,28	0,0044
Lack of fit	0,33	0,9085 ^{NS}	1,14	0,5536 ^{NS}	16,17	0,0596 ^{NS}
R ²	0,9540		0,9813		0,9011	

^{NS}: không có ý nghĩa.

Phân tích các bề mặt đáp ứng

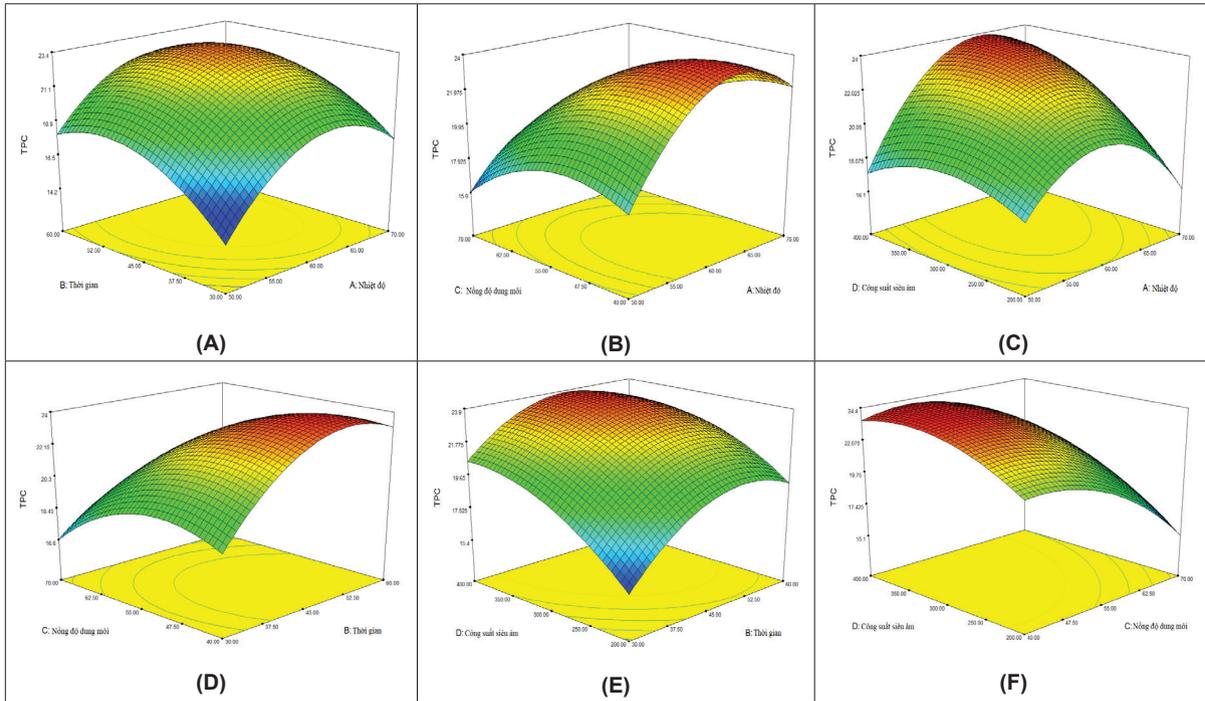
Dựa vào mô hình đa thức bậc 2 thực nghiệm, dữ liệu nghiên cứu được phân tích bằng RSM bằng phần mềm Design-Expert 7.0. Các trục X và Y của bề mặt đáp ứng ba chiều đại diện cho hai yếu tố, trục Z là một trong các chỉ số đánh giá là hàm lượng TPC, TFC và hoạt tính chống oxy hóa.

Phân tích bề mặt đáp ứng của hàm lượng TPC: Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly siêu âm hàm lượng TPC từ lá cây dây thìa canh được thể hiện ở hình 1

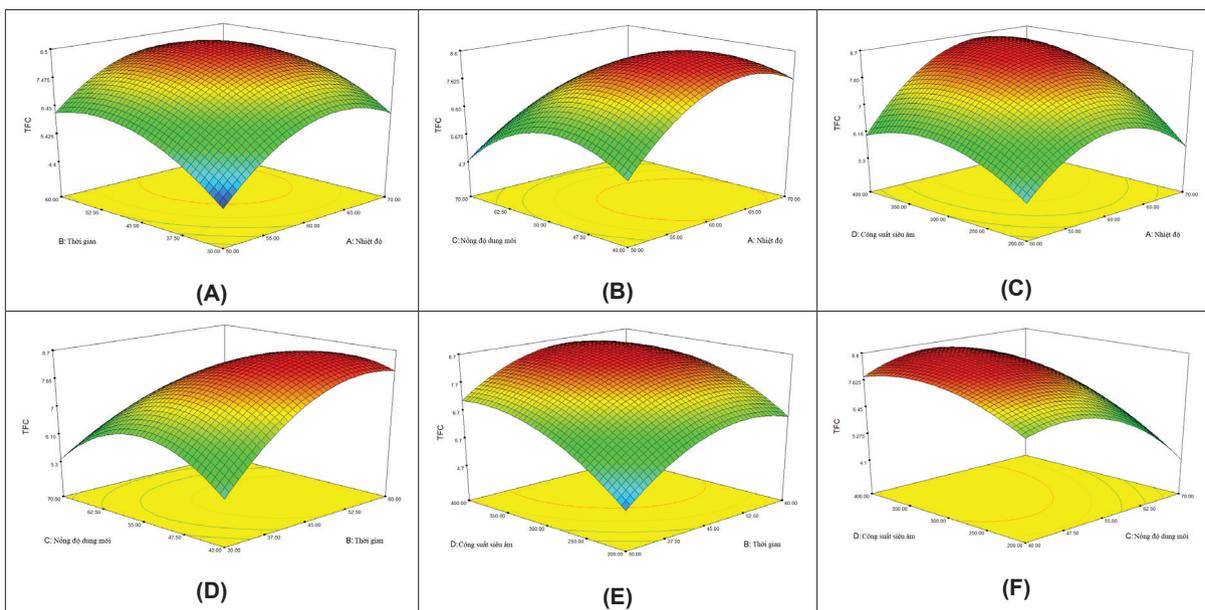
và bảng 3. Kết quả hình 1A và bảng 3 cho thấy, ảnh hưởng tương tác của nhiệt độ và thời gian siêu âm đến quá trình trích ly hàm lượng TPC khi nồng độ ethanol và công suất siêu âm được giữ ổn định tại tâm (nồng độ ethanol 55% và công suất siêu âm 300 W). Hai yếu tố này ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng TPC thu được ($p < 0,05$). Tương tác của yếu tố nhiệt độ và thời gian siêu âm là xấp xỉ như nhau đến quá trình trích ly. Hàm lượng TPC tăng dần khi nhiệt độ tăng từ 50 đến 63°C, khi nhiệt độ tiếp tục tăng thì hàm lượng TPC có xu hướng giảm dần, hàm lượng TPC đạt cao nhất

khi nhiệt độ trích ly nằm trong khoảng 60 đến 65°C. Tương tự như vậy, khi thời gian siêu âm tăng từ 30 đến 52 phút thì hàm lượng TPC tăng, khi thời gian siêu âm tiếp tục tăng từ 52 đến 60 phút thì hàm lượng TPC giảm. Xu hướng này cũng giống như trong nghiên cứu của H.Z. Li và cs (2016) [12].

Kết quả hình 1F và bảng 3 cho thấy, ảnh hưởng của công suất siêu âm và nồng độ dung môi đến hàm lượng TPC khi nhiệt độ và thời gian siêu âm giữ ở mức tâm. Ảnh hưởng tương tác của 2 yếu tố này có ý nghĩa đến quá trình trích



Hình 1. Bề mặt đáp ứng hàm lượng TPC của quá trình trích ly dịch chiết từ lá cây dây thia canh.



Hình 2. Bề mặt đáp ứng hàm lượng TFC của quá trình trích ly dịch chiết từ lá cây dây thia canh.

ly ($p < 0,05$). Công suất siêu âm tăng thì hàm lượng TPC tăng, hàm lượng TPC cao nhất khi công suất siêu âm nằm trong khoảng 300-400 W. Ngược lại, khi nồng độ dung môi ethanol tăng thì hàm lượng TPC lại có xu hướng giảm, hàm lượng TPC cao nhất khi nồng độ dung môi này nằm trong khoảng 40-50%.

Phân tích bề mặt đáp ứng của hàm lượng TFC: Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly hàm lượng TFC từ lá cây dây thìa canh được thể hiện ở hình 2 và bảng 3. Tương tự như phân tích bề mặt đáp ứng của quá trình trích ly hàm lượng TPC (hình 1), hàm lượng TFC cao nhất khi các yếu tố nhiệt độ nằm trong khoảng 60-68°C, thời gian 48-55 phút, nồng độ ethanol trong khoảng 40-55% và công suất siêu âm từ 300 đến 380 W.

Phân tích bề mặt đáp ứng của hoạt tính chống oxy hóa

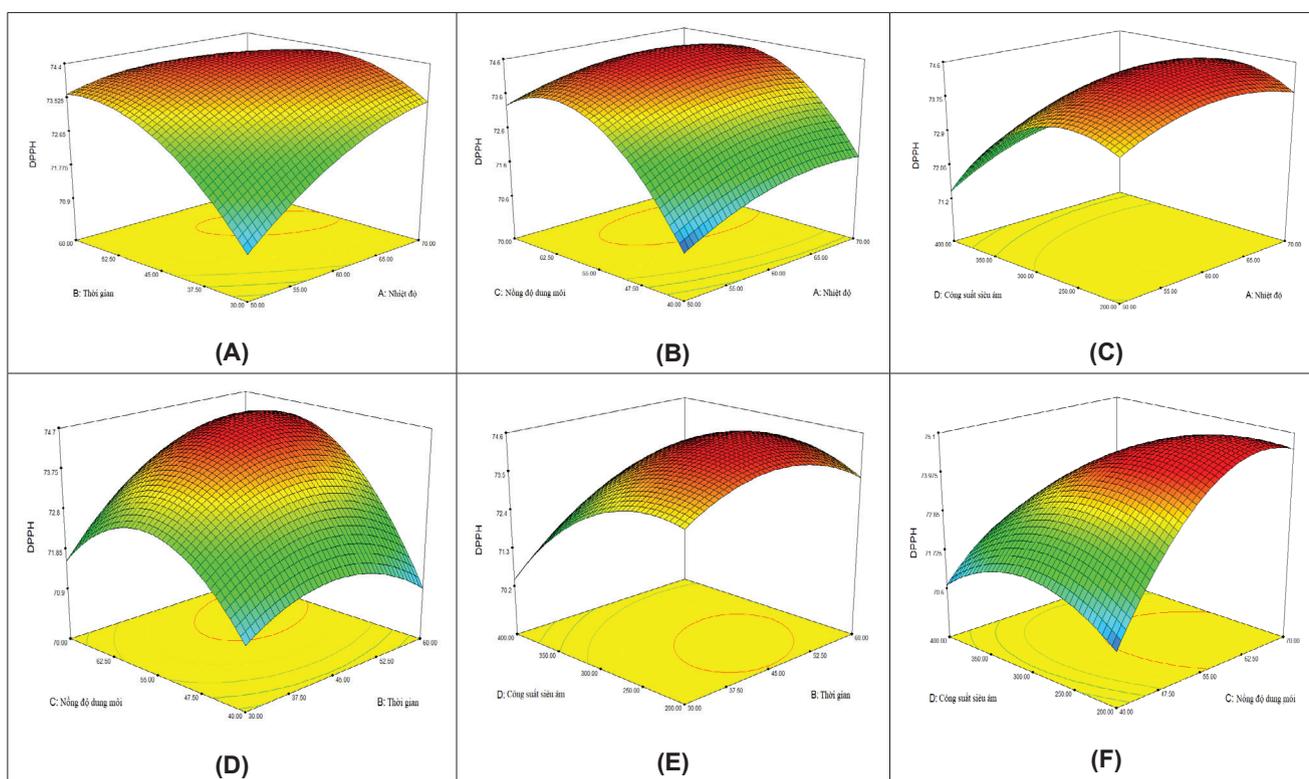
Hình 3 thể hiện bề mặt đáp ứng của hàm mục tiêu hoạt tính chống oxy hóa, trong đó hình 3A thể hiện ảnh hưởng tương tác của hai yếu tố nhiệt độ và thời gian siêu âm đến hoạt tính chống oxy hóa trong dịch chiết từ lá cây dây thìa canh. Thời gian siêu âm tăng thì hoạt tính chống oxy hóa tăng và đạt giá trị cao nhất khi thời gian nằm trong khoảng 52-60 phút. Tương tự, khi nhiệt độ trích ly tăng thì hoạt tính chống oxy hóa cũng tăng lên và đạt giá trị cao nhất khi nhiệt độ nằm trong khoảng 65-70°C. Hình 3F biểu diễn ảnh

hưởng của công suất siêu âm và nồng độ ethanol đến khả năng chống oxy hóa của dịch chiết. Công suất siêu âm tăng từ 200 đến 300 W thì hoạt tính chống oxy hóa tăng, khi công suất siêu âm tăng từ 300 đến 400 W thì hoạt tính chống oxy hóa giảm. Nồng độ ethanol tăng thì khả năng chống oxy hóa tăng, khả năng chống oxy hóa cao nhất khi nồng độ ethanol nằm trong khoảng 55-70%.

Tối ưu hóa mô hình

Thực nghiệm tối ưu hóa trên phần mềm Design-Expert® 7.0 quá trình trích ly siêu âm lá cây dây thìa canh nhằm thu được hàm lượng TPC, TFC và hoạt tính chống oxy hóa cao nhất cho kết quả như sau: nhiệt độ trích ly là 62,17°C, thời gian siêu âm 49,42 phút, nồng độ dung môi là 54,56% và công suất siêu âm là 304,71 W. Với điều kiện này thì hàm lượng TPC dự đoán thu được là 23,32 mg GAE/g, TFC 8,43 mg CE/g và hoạt tính chống oxy hóa là 74,37%.

Để phù hợp với các thông số công nghệ của thiết bị, tiến hành thực nghiệm lại mô hình tối ưu tại các thông số: nhiệt độ trích ly 62°C, thời gian siêu âm 50 phút, nồng độ dung môi 55% và công suất siêu âm 300 W, kết quả thu được như sau: hàm lượng TPC là 21,2±0,5 mg GAE/g, hàm lượng TFC 8,2±0,15 mg CE/g và hoạt tính chống oxy hóa là 72,5±0,5% (bảng 4). Kết quả thí nghiệm lại cho thấy quy trình trích ly phù hợp với giá trị tối ưu của mô hình.



Hình 3. Bề mặt đáp ứng hoạt tính chống oxy hóa của quá trình trích ly dịch chiết từ lá cây dây thìa canh.

Bảng 4. Kết quả trích ly siêu âm dịch chiết cây dây thìa canh theo điều kiện tối ưu (n=3).

Điều kiện tối ưu				Các hàm mục tiêu	Giá trị thực nghiệm	Giá trị dự đoán
X_1	X_2	X_3	X_4			
62°C	50 phút	55%	300 W	Y_1	21,2±0,5	23,32
				Y_2	8,2±0,15	8,43
				Y_3	72,5±0,5	74,37

Kết luận

Kết quả nghiên cứu đã tối ưu hóa được quá trình trích ly siêu âm nhằm thu được hàm lượng TPC, TFC và hoạt tính chống oxy hóa đạt giá trị cao nhất bằng RSM. Các thông số tối ưu của quá trình đã thu được là: nhiệt độ trích ly ở 62°C, thời gian siêu âm 50 phút, nồng độ dung môi 55% và công suất siêu âm 300 W, khi đó hàm lượng TPC cao nhất đạt 21,2±0,5 mg GAE/g, TFC đạt 8,2±0,15 mg CE/g và hoạt tính chống oxy đạt hóa cao nhất là 72,5±0,5%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] S. Gurav, et al. (2007), "Pharmacognosy, phytochemistry, pharmacology and clinical applications of *Gymnema sylvestre* R Br", *Pharmacog. Rev.*, **1(2)**, pp.338-343.

[2] S.E. Potawale, et al. (2008), "*Gymnema sylvestre*: A comprehensive review", *Pharmacologyonline*, **2**, pp.144-157.

[3] Đỗ Tất Lợi (2006), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Thời đại.

[4] P. Daisy, et al. (2009), "A novel dihydroxy gymnemic triacetate isolated from *Gymnema sylvestre* possessing normoglycemic and hypolipidemic activity on STZ-induced diabetic rats", *Journal of Ethnopharmacology*, **126(2)**, pp.339-344.

[5] H.M. Liu, F. Kiuchi, Y. Tsuda (1992), "Isolation and structure elucidation of gymnemic acids, antisweet principles gymnema sylvestre", *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **40**, pp.1366-1375.

[6] B. Liu, et al. (2009), "Characterisation of the insulinotropic activity of an aqueous extract of *Gymnema sylvestre* in mouse β -cells and human islets of langerhans", *Cellular Physiology and Biochemistry*, **23**, pp.125-132.

[7] N. Sahu, et al. (1996), "Triterpenoid saponins from *Gymnema sylvestre*", *Phytochemistry*, **41**, pp.1181-1185.

[8] Y. Sugihara, et al. (2000), "Antihyperglycemic effects of gymnemic acid IV, a compound derived from *Gymnema sylvestre* leaves in streptozotocin diabetic mice", *Journal of Asian Natural Products Research*, **2(4)**, pp.321-327.

[9] V.L. Singleton, et al. (1999), "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent", *Methods in Enzymology*, **299**, pp.152-178.

[10] D. Marinova, et al. (2005), "Total phenolics and total flavonoid in Bulgarian fruits and vegetables", *The Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, **40(3)**, pp.255-260.

[11] H.Y. Fu, D.E. Shieh (2002), "Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms", *Journal of Food Lipid*, **9**, pp.35-46.

[12] H.Z. Li, et al. (2016), "Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants and rosmarinic acid from perilla leaves using response surface methodology", *Food Science and Technology*, **36(4)**, pp.686-693.