

OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION PROCESS OF α – MANGOSTIN FROM MANGOSTEEN PERICARP (*GARCINIA MANGOSTANA* L.)

Huynh Thi Nhu Quynh, Tran Luu Phuc, Hoang Thi Thu Huyen, Huynh Van Chung,
Hoang Thuy Binh, Kieu Vu Adrong, Ha Hoang Anh Vinh, Le Trung Khoang*

Buon Ma Thuot Medical University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 09/10/2023	The aim of the study is to investigate the influence factors and find the optimal extraction conditions of α -mangostin from mangosteen pericarp. The single-factor variables include: size of the material, ethanol concentration, extraction time, solvent/material ratio, and extraction temperature. The evaluation criteria are the recovery of α -mangostin and the extraction yield. The results of the influence of individual factors on the extraction conditions are used as input data in the optimization model. The design experiment is Box Benhken with 3 factors each at 3 levels. The results show that, the optimal conditions based on the expectation functions: ethanol 90%, solvent/material ratio 8/1, extraction time 1 hr, α -mangostin recovery 85.01%, and extraction yield 22.96%. The optimal condition was replicated three times to verify, and the result shows that the confirmation value ($83.93 \pm 3.03\%$; $22.03 \pm 0.65\%$) is very close to predicted value (85.01% ; 22.96%).
Revised: 29/11/2023	
Published: 30/11/2023	
KEYWORDS	
α – mangostin	
Extract	
<i>Garcinia mangostana</i>	
Mangosteen	
Optimization	

TỐI ƯU HÓA QUI TRÌNH CHIẾT XUẤT α – MANGOSTIN TỪ VỎ QUẢ MĂNG CỤT (*GARCINIA MANGOSTANA* L.)

Huỳnh Thị Như Quỳnh, Trần Lưu Phúc, Hoàng Thị Thu Huyền, Huỳnh Văn Chung,
Hoàng Thúy Bình, Kiều Vũ Adrong, Hà Hoàng Anh Vinh, Lê Trung Khoang*

Trường Đại học Y Dược Buôn Ma Thuột

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 09/10/2023	Mục tiêu của nghiên cứu là khảo sát sự ảnh hưởng của các yếu tố kỹ thuật và tối ưu hóa qui trình chiết xuất α – mangostin từ vỏ quả măng cụt. Các yếu tố khảo sát đơn biến là: Kích thước dược liệu, nồng độ ethanol, thời gian chiết, tỷ lệ dung môi/dược liệu và nhiệt độ chiết. Chỉ tiêu đánh giá là độ thu hồi α – mangostin và hiệu suất chiết cao toàn phần. Kết quả khảo sát đơn biến được sử dụng làm căn cứ để xác định yếu tố và khoảng giá trị của yếu tố đưa vào mô hình tối ưu hóa. Thiết kế tối ưu hóa được lựa chọn là Box - Behnken với 3 yếu tố, mỗi yếu tố có 3 mức. Kết quả thu được cho thấy điều kiện tối ưu theo hàm kỳ vọng là dung môi ethanol 90%, tỷ lệ dung môi/dược liệu 8/1, thời gian chiết là 1 h, độ thu hồi α – mangostin là 85,01% và hiệu suất chiết cao toàn phần là 22,96%. Kiểm chứng kết quả tối ưu bằng thực nghiệm cho thấy, giá trị trung bình của hiệu suất chiết thực tế ($83,93 \pm 3,03\%$; $22,03 \pm 0,65\%$) so với giá trị hiệu suất chiết dự đoán ($85,01\%$; $22,96\%$) khác nhau không nhiều.
Ngày hoàn thiện: 29/11/2023	
Ngày đăng: 30/11/2023	
TỪ KHÓA	
α – mangostin	
Chiết xuất	
<i>Garcinia mangostana</i>	
Măng cụt	
Tối ưu hóa	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.8949>

* Corresponding author. Email: Trungkhoang@gmail.com

1. Giới thiệu

Mãng cụt - *Garcinia mangostana* L., là loại cây nhiệt đới cho quả ăn được, được trồng nhiều tại khu vực trên thế giới như Thái Lan, Malaysia, Ấn Độ, Việt Nam... Tại Việt Nam, cây măng cụt được trồng phổ biến ở các tỉnh Bến Tre, Cần Thơ, Hậu Giang, Bình Dương, Đồng Nai [1]. Phần ruột màu trắng của quả măng cụt được sử dụng để ăn, trong khi hạt và vỏ thường ít được sử dụng và bị loại bỏ.

Bên cạnh giá trị dinh dưỡng mà quả măng cụt mang lại, phần vỏ măng cụt còn được tận dụng để chiết xuất lấy chất màu sử dụng để làm chất nhuộm màu [2]. Theo Y học cổ truyền, vỏ măng cụt dùng để điều trị một số bệnh như tiêu chảy mãn tính, kiết lỵ [1]. Trong y học hiện đại, vỏ măng cụt đã được phân tích cho thấy có chứa nhiều thành phần có các tác dụng sinh học khác nhau. Một số thành phần trong vỏ măng cụt như: α , β và γ -mangostin, isomangostin, R-mangostin, garcinone B, D, E, normangostin,... Trong đó, α - mangostin có hàm lượng cao nhất và được coi là chất chỉ dấu sinh học cho vỏ quả măng cụt [3]. Cả cao chiết từ vỏ quả măng cụt và α - mangostin đã được đánh giá các tác dụng sinh học trên mô hình động vật hoặc trên người. Một số các tác dụng được lý công bố gồm cải thiện trí nhớ, chống lão hóa, cải thiện chỉ số cholesterol tỷ trọng cao (HDL) và giảm glucose máu, chống ung thư [4]-[7]... Trên người, tác dụng cải thiện độ nhạy cảm insulin cũng được chứng minh khi sử dụng cao chiết từ vỏ quả măng cụt ở những bệnh nhân tiểu đường type 2 [8]. Vì vậy, với mục tiêu tận dụng nguồn vỏ măng cụt ở Việt Nam để ứng dụng làm nguyên liệu cho các sản phẩm hỗ trợ điều trị bệnh tiểu đường và chống lão hóa, chúng tôi tiến hành nghiên cứu tối ưu hóa qui trình chiết xuất α - mangostin từ vỏ quả măng cụt.

2. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng, hóa chất nghiên cứu

Nguyên liệu: Quả măng cụt được thu mua tại thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk. Sau khi thu mua, quả măng cụt sẽ được rửa sạch sẽ, loại bỏ những quả hỏng, tiến hành lấy vỏ quả. Vỏ quả được rửa sạch, cắt nhỏ và mang đi sấy ở nhiệt độ 60°C đến độ ẩm dưới 12%. Sau đó, vỏ quả măng cụt được nghiền nhỏ thành dạng bột và được bảo quản trong túi polyethylen (PE) và hút chân không để tránh ảnh hưởng của không khí và độ ẩm.

Hóa chất: Chất chuẩn α - mangostin (Sigma-Aldrich, 99,7%), ethanol, acetonitril, nước cất 2 lần.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Qui trình chiết xuất cao từ vỏ măng cụt: Cân 50 g bột măng cụt cho vào bình nón nút mài, thêm dung môi chiết và ngâm trong 2 h. Sau đó tiến hành quá trình chiết bằng phương pháp chiết nóng. Sau thời gian chiết, làm nguội, lọc lấy dịch chiết. Cô đặc dịch chiết trong máy cô quay chân không và bếp cách thủy ở nhiệt độ không quá 60°C cho đến khi thu được cao có thể chất mềm (độ ẩm < 20%).

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của các đơn yếu tố đến quá trình chiết α - mangostin

Thông số qui trình chiết xuất trong khảo sát đơn biến là: Kích thước bột được liệu < 0,5 mm; nồng độ ethanol 70%; tỷ lệ dung môi/dược liệu (DM/DL) 15/1; thời gian chiết 2 h; nhiệt độ 60°C. Tiến hành khảo sát thay đổi lần lượt đơn yếu tố trong khi giữ nguyên các thông số khác.

Các đơn yếu tố khảo sát trong khoảng: Kích thước bột được liệu: < 0,5 mm ; 0,5 - 1,0 mm và 1 - 2,0 mm. Nồng độ ethanol: 30%; 50%; 70%; 90%. Tỷ lệ DM/DL: 8/1; 11/1; 14/1; 17/1; 20/1 (ml/g). Thời gian chiết: 1 h, 2 h, 3 h, 4 h. Nhiệt độ chiết: 40°C, 60°C, 80°C. Đánh giá và lựa chọn điều kiện chiết thông qua chỉ số: độ thu hồi α - mangostin và hiệu suất chiết cao toàn phần.

2.2.2. Tối ưu hóa quy trình chiết α - mangostin

Sau khi lựa chọn được các yếu tố đơn biến để đưa vào mô hình tối ưu, chúng tôi tiến hành tối ưu hoá các thông số với phần mềm Design Expert 12.0. Các biến độc lập lựa chọn bao gồm: Thời

gian, nồng độ dung môi và tỷ lệ DM/DL. Biến phụ thuộc là độ thu hồi α – mangostin và hiệu suất chiết cao toàn phần.

2.2.3. Phương pháp định lượng α - mangostin

Hàm lượng α - mangostin trong cao chiết được định lượng bằng phương pháp HPLC. Điều kiện sắc ký: Cột C18 (250 x 4,6 mm; 5 μ m). Nhiệt độ cột 35°C. Pha động: acetonitril: nước 95:05. Thể tích bơm mẫu là 10 μ l. Tốc độ dòng 1,5 ml/phút. Đo tại bước sóng 320 nm [9].

- Độ thu hồi α - mangostin được tính bằng công thức:

$$\text{Độ thu hồi } \alpha\text{- mangostin} = \frac{\text{Tổng lượng } \alpha\text{- mangostin trong cao chiết}}{\text{Tổng lượng } \alpha\text{- mangostin trong dược liệu}} \cdot 100\% \quad (1)$$

- Hiệu suất chiết cao toàn phần được xác định bằng công thức:

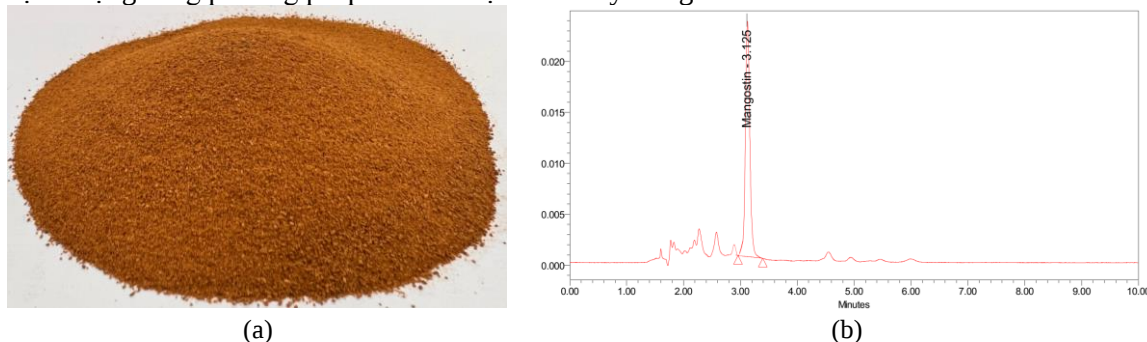
$$\text{Hiệu suất chiết} = \frac{\text{Khối lượng cao chiết thu được}}{\text{Khối lượng dược liệu}} \cdot 100\% \quad (2)$$

2.3. Xử lý số liệu: Số liệu được trình bày với phần mềm Excel 2016 và tối ưu với phần mềm Design expert 12.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các đơn yếu tố đến độ thu hồi α - mangostin và hiệu suất chiết cao toàn phần

Hàm lượng α - mangostin trong nguyên liệu vỏ măng cụt được định lượng theo phương pháp HPLC là 4,504% (tính theo khối lượng khô kiệt). Hình ảnh của bột vỏ măng cụt và sắc ký đồ định lượng bằng phương pháp HPLC được trình bày trong Hình 1.



Hình 1. Ảnh bột vỏ măng cụt (a) và sắc ký đồ định lượng α - mangostin (b)

Kết quả khảo sát ảnh hưởng đơn biến của các yếu tố được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của các đơn yếu tố đến độ thu hồi α - mangostin và hiệu suất chiết

Yếu tố khảo sát	Hiệu suất chiết cao toàn phần (%)	Độ thu hồi α - mangostin (%)
Kích thước dược liệu (mm)		
< 0,5	34,19	90,18
0,5 - 1	29,86	75,71
1 - 2	27,96	71,61
Nồng độ ethanol (% v/v)		
30	28,20	1,72
50	31,80	58,97
70	34,66	90,18
90	28,86	89,16
Nhiệt độ chiết (°C)		
40	31,30	90,59
60	34,66	89,23
80	33,87	88,21

Yếu tố khảo sát	Hiệu suất chiết cao toàn phần (%)	Độ thu hồi α- mangostin (%)
Thời gian chiết (h)		
1	33,86	84,14
2	34,47	88,75
3	34,79	89,71
4	34,83	90,11
Tỷ lệ DM/DL (ml/g)		
8/1	28,40	75,01
11/1	34,66	89,23
14/1	35,70	91,23
17/1	35,48	91,11
20/1	36,08	92,88

Kết quả thu được ở Bảng 1 cho thấy có sự khác biệt lớn về hiệu suất chiết cao toàn phần và độ thu hồi α - mangostin theo kích thước nguyên liệu. Với kích thước bột được liệu là $< 0,5$ mm, độ thu hồi α - mangostin cao hơn rất nhiều so với 2 kích thước còn lại. Do vậy, chúng tôi lựa chọn cỡ định kích thước được liệu là $< 0,5$ mm cho thiết kế tối ưu hóa điều kiện chiết xuất. Đối với khảo sát nồng độ ethanol, độ thu hồi α - mangostin có xu hướng tăng theo trong quãng nồng độ ethanol 30-70%. Độ thu hồi α - mangostin ít có sự khác biệt ở nồng độ ethanol 70% và 90%, nhưng có sự khác biệt về hiệu suất chiết cao toàn phần. Do vậy, nồng độ ethanol được đưa vào đánh giá tối ưu trong khoảng 50-90%.

Kết quả khảo sát nhiệt độ chiết cho thấy, độ thu hồi α - mangostin có xu hướng giảm nhẹ khi tăng nhiệt độ và lượng tạp thu được (hiệu suất chiết cao toàn phần) tăng lên, do vậy chúng tôi cố định nhiệt độ chiết là 40°C. Đối với khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết, hiệu suất chiết cao toàn phần tương đương nhau trong khoảng thời gian 2-4 h. Độ thu hồi α - mangostin tăng trong khoảng thời gian 1-3 h và ít có sự khác biệt giữa thời điểm 3 h và 4 h. Do vậy, thời gian chiết được lựa chọn để khảo sát điều kiện tối ưu là 1-3 h. Với kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ DM/DL, cả hiệu suất chiết cao toàn phần và độ thu hồi α - mangostin đều có xu hướng tăng theo tỷ lệ thuận với tỷ lệ DM/DL, do vậy khoảng khảo sát điều kiện tối ưu của tỷ lệ DM/DL là 8/1 - 20/1.

3.2. Kết quả tối ưu hóa quy trình chiết α – mangostin

Với các thông số đã được khảo sát sơ bộ để lựa chọn giới hạn đánh giá, chúng tôi tiến hành tối ưu hóa các thông số với phần mềm Design Expert 12.0. Các biến độc lập lựa chọn bao gồm: Thời gian chiết, nồng độ ethanol và tỷ lệ DM/DL. Biến phụ thuộc gồm độ thu hồi α - mangostin và hiệu suất chiết. Thiết kế tối ưu được lựa chọn là Box - Behnken với 3 yếu tố, ở 3 mức và 3 thí nghiệm trung tâm. Bảng khai báo biến đầu vào và kết quả của các thử nghiệm tối ưu hóa các công thức được thể hiện trong Bảng 2 và Bảng 3.

Bảng 2. Khai báo các biến của mô hình tối ưu hóa chiết α – mangostin từ vỏ măng cụt

Biến	Đơn vị	Mức thấp	Mức trung bình	Mức cao
A – Thời gian chiết	giờ	1	2	3
B – Nồng độ dung môi	%	50	70	90
C - Tỷ lệ DM/DL	ml/g	8	14	20
Y ₁ – Hiệu suất chiết cao toàn phần	%			
Y ₂ – Độ thu hồi α - mangostin	%			

Dựa vào kết quả các thử nghiệm, phân tích bằng phần mềm Design Expert 12.0 để đánh giá các mô hình và các mối quan hệ nhân quả.

3.2.1. Kết quả phân tích ảnh hưởng của các thông số đầu vào tới hiệu suất chiết cao toàn phần

Kết quả phân tích ảnh hưởng của các thông số đầu vào tới hiệu suất chiết được trình bày trong Bảng 4.

Bảng 3. Kết quả của các thử nghiệm tối ưu hoá

STT	Thời gian	Nồng độ dung	Tỷ lệ DM/DL	Hiệu suất chiết cao	Độ thu hồi α-
------------	------------------	---------------------	--------------------	----------------------------	--

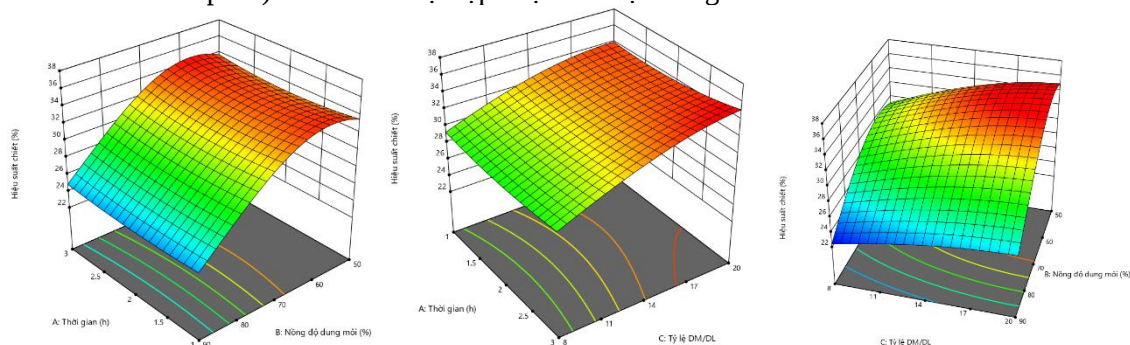
	(h)	môi (%)	(ml/g)	toàn phần (%)	mangostin (%)
1	3	50	14	34,78	81,01
2	1	90	14	24,07	89,41
3	1	50	14	34,21	78,35
4	2	50	20	34,74	78,96
5	1	70	8	29,75	81,59
6	3	90	14	24,54	89,26
7	2	90	8	22,43	83,52
8	2	90	20	25,98	90,16
9	1	70	20	33,23	86,87
10	2	70	14	31,31	84,09
11	2	70	14	31,14	82,51
12	3	70	8	29,27	76,39
13	3	70	20	33,95	85,45
14	2	50	8	28,21	63,51
15	2	70	14	33,74	82,71

Bảng 4. Kết quả phân tích ảnh hưởng của các thông số đầu vào tới hiệu suất chiết cao toàn phần

	Tổng bình phương	Trung bình bình phương	F-value	p-value	Các giá trị khác
Mô hình	0,0004	0,0000	19,78	0,0021	
A	2,341E-07	2,341E-07	0,1137	0,7496	CV = 4,23%
B	0,0002	0,0002	112,97	0,0001	
C	0,0001	0,0001	26,75	0,0035	
AB	2,661E-08	2,661E-08	0,0129	0,9139	Adjusted R ² = 0,9235
AC	3,518E-07	3,518E-07	0,1710	0,6964	Predicted R ² = 0,70268
BC	8,517E-08	8,517E-08	0,0414	0,8468	
A ²	1,222E-06	1,222E-06	0,5940	0,4757	Adequate Precision = 13,68
B ²	0,0001	0,0001	34,98	0,0020	
C ²	5,114E-06	5,114E-06	2,49	0,1757	
Lack of Fit	6,464E-06	2,155E-06	1,13	0,5021	

Ghi chú: A – Thời gian; B – Nồng độ ethanol; C – Tỷ lệ DM/DL; CV – Hệ số biến thiên; Adjusted R² – hệ số R² đã hiệu chỉnh; Predicted R² – Hệ số R² dự đoán; Adequate Precision: Tỷ số tín hiệu trên nhiễu.

Từ kết quả phân tích cho thấy, ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đối với hiệu suất chiết cao toàn phần được mô tả theo hàm bậc 2. Các yếu tố nồng độ ethanol và tỷ lệ DM/DL ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê tới hiệu suất chiết (tương ứng với p = 0,0001 và 0,0035). Thời gian trong khoảng khảo sát có ảnh hưởng tới hiệu suất chiết nhưng không có ý nghĩa thống kê. Mối liên hệ giữa biến phụ thuộc (hiệu suất chiết cao toàn phần) và các biến độc lập được thể hiện trong Hình 2.



Hình 2. Bề mặt đáp ứng của hiệu suất chiết cao toàn phần theo các biến đầu vào

Thông qua bề mặt đáp ứng của hiệu suất chiết với các yếu tố khảo sát cho thấy, hiệu suất chiết tỷ lệ thuận với tỷ lệ DM/DL trong khoảng 8/1-20/1. Nồng độ ethanol ảnh hưởng tới hiệu suất chiết theo hình parabol với đỉnh là 57,7%. Thời gian ảnh hưởng không có ý nghĩa thống kê.

Phương trình mô tả hiệu suất chiết cao toàn phần: $1/Y_1 = 0,0312 - 0,0002A + 0,0054B - 0,0026C - 0,0001AB - 0,0003AC - 0,000A^2 + 0,0044B^2 + 0,0012C^2$

Phương trình mô tả có ý nghĩa thống kê với $p = 0,0014$, $R^2 = 0,9235$ và R^2 dự đoán = 0,706. Do vậy phương trình trên được chúng tôi lựa chọn để tối ưu hoá biến hiệu suất chiết. Kiểm định F cho sự thiếu phù hợp mô hình không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), cho thấy mô hình thu được mô tả tốt các dữ liệu đầu vào, và tỷ số tín hiệu trên nhiễu (Adequate Precision) = 22,71 (yêu cầu > 4) cho thấy mô hình có tính dự đoán tốt. Hệ số biến thiên (CV) $< 10\%$ cho thấy tính lặp lại ổn định của mô hình thu được. Do vậy phương trình trên được lựa chọn để tối ưu hoá hiệu suất chiết cao toàn phần.

3.2.2. Kết quả phân tích ảnh hưởng của các thông số đầu vào tới độ thu hồi α -mangostin

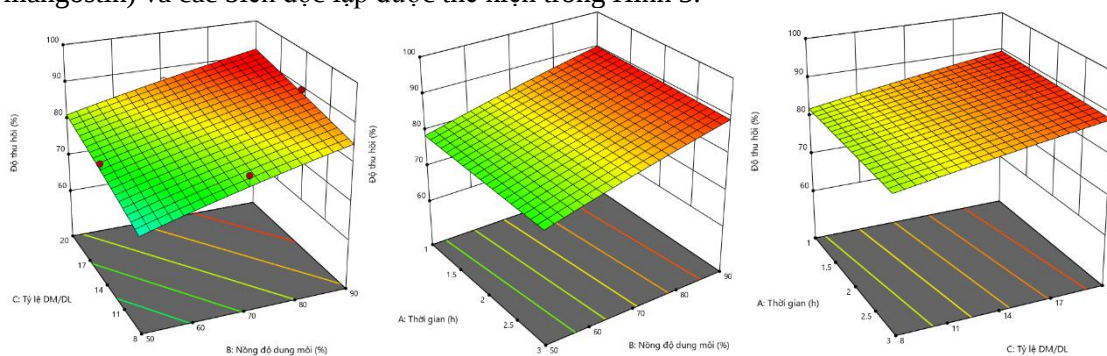
Kết quả phân tích ảnh hưởng của các thông số đầu vào tới độ thu hồi α -mangostin được trình bày trong Bảng 5.

Bảng 5. Kết quả phân tích ảnh hưởng của các thông số tới độ thu hồi α -mangostin

	Tổng bình phương	Trung bình bình phương	F-value	p-value	Các giá trị khác
Mô hình	1,875E+11	6,250E+10	21,65	< 0,0001	CV = 9,15 %
A	8,862E+08	8,862E+08	0,3069	0,5906	Adjusted $R^2 = 0,8157$
B	1,264E+11	1,264E+11	43,77	< 0,0001	Predicted $R^2 = 0,6938$
C	6,023E+10	6,023E+10	20,86	0,0008	Adequate Precision = 15,31
Lack of Fit	3,108E+10	3,453E+09	10,15		

Ghi chú: A – Thời gian; B – Nồng độ ethanol; C – Tỷ lệ DM/DL; CV – Hệ số biến thiên; Adjusted R^2 – Hệ số R^2 đã hiệu chỉnh; Predicted R^2 – Hệ số R^2 dự đoán; Adequate Precision: Tỷ số tín hiệu trên nhiễu.

Từ kết quả phân tích cho thấy, ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đối với độ thu hồi α -mangostin được mô tả theo hàm bậc 1. Các yếu tố nồng độ ethanol và tỷ lệ DM/DL ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê tới hiệu suất chiết ($p < 0,0005$). Thời gian trong khoảng khảo sát có ảnh hưởng tới hiệu suất chiết nhưng không có ý nghĩa thống kê. Mối liên hệ giữa biến phụ thuộc (độ thu hồi α -mangostin) và các biến độc lập được thể hiện trong Hình 3.



Hình 3. Bề mặt đáp ứng của độ thu hồi α -mangostin theo các biến đầu vào

Kết quả thu được cho thấy độ thu hồi α -mangostin tăng tỷ lệ thuận với nồng độ ethanol và tỷ lệ dung môi trong khoảng khảo sát. Thời gian chiết (1-3 h) ảnh hưởng không đáng kể tới độ thu hồi α -mangostin. Phương trình mô tả độ thu hồi α -mangostin theo các biến đầu vào:

$$(Y_2 + 1,00)^3 = 5,869.10^5 - 10524,69A + 1,257.10^5B + 86770,49C$$

Phương trình mô tả có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$, $R^2 = 0,8157$ và R^2 dự đoán = 0,6938. Có 2 yếu tố ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê là nồng độ dung môi và tỷ lệ DM/DL. Kiểm định F cho sự thiếu phù hợp mô hình không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), cho thấy mô hình thu được mô tả tốt các dữ liệu đầu vào, và tỷ số tín hiệu trên nhiễu (Adequate Precision) = 15,31 cho thấy mô hình có tính dự đoán tốt. Hệ số biến thiên (CV) $< 10\%$ cho thấy tính lặp lại ổn định của mô hình thu được. Do vậy phương trình trên được lựa chọn để tối ưu hoá độ thu hồi α -mangostin.

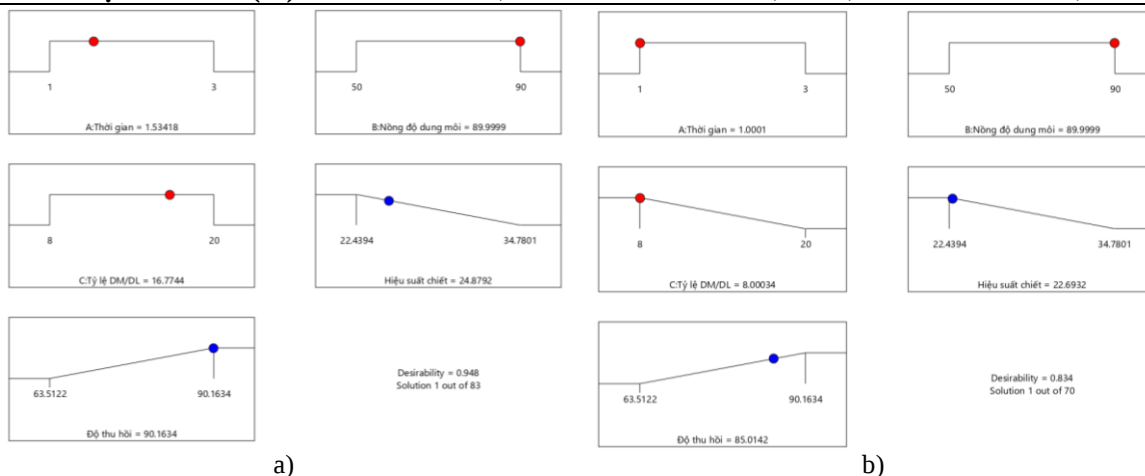
3.2.3. Tối ưu hóa điều kiện chiết xuất

Sau khi đã xây dựng được mối quan hệ nhân quả giữa các biến độc lập và biến phụ thuộc, tiến hành tối ưu hóa với mong muốn độ thu hồi α -mangostin thu được cao nhất và hiệu suất chiết cao toàn phần thấp nhất (ít tạp chất nhất). Kết quả thu được điều kiện chiết là: thời gian 1,53 h, nồng độ ethanol 90%, tỷ lệ DM/DL 16,77 và độ thu hồi α -mangostin là 90,16% (Hình 4a). Với tỷ lệ DM/DL là 16,77, lượng dung môi sử dụng khá nhiều, vì vậy trong hàm kỳ vọng, chúng tôi thêm điều kiện là lượng dung môi sử dụng ít nhất có thể. Kết quả thu được điều kiện chiết xuất là: thời gian 1 h, nồng độ ethanol 90%, tỷ lệ DM/DL 8 và độ thu hồi α -mangostin là 85,01% (Hình 4b). Hiệu suất giảm khoảng 5% nhưng lượng dung môi sử dụng giảm 50%, vì vậy chúng tôi lựa chọn hàm kỳ vọng được mô tả Hình 4b để tiến hành thực nghiệm kiểm chứng.

Tiến hành thí nghiệm kiểm chứng mô hình đề xuất, lặp lại 3 lần và lấy trung bình. Kết quả cho thấy giá trị thực tế không có sự khác biệt nhiều so với giá trị dự đoán (Bảng 6).

Bảng 6. Kết quả kiểm chứng mô hình tối ưu

	Giá trị dự đoán	Giá trị thực tế (mean $\pm$ SD)	RSD (%)
Độ thu hồi α-mangostin (%)	85,01	83,93 $\pm$ 3,03	3,62
Hiệu suất chiết (%)	22,69	22,03 $\pm$ 0,65	2,98



Hình 4. Điều kiện tối ưu hoá theo 2 hàm kỳ vọng khác nhau

3.3. Bàn luận

Kích thước dược liệu là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới hiệu suất chiết cao toàn phần và α - mangostin. Nếu kích thước quá to sẽ làm dung môi khó thấm vào dược liệu, làm giảm diện tích tiếp xúc và kết quả làm hoạt chất khó khuếch tán vào dung môi. Ngược lại, dễ gây tắc trong quá trình lọc và tăng lượng tạp chất do phá vỡ cấu trúc tế bào dược liệu [10]. Trong nghiên cứu, chúng tôi khảo sát kích thước ở 3 mức < 0,5 mm ; 0,5 - 1,0 mm và 1 - 2,0 mm. Kết quả cho thấy tại kích thước 0,5 - 1,0 mm và 1 - 2,0 mm ít khác biệt về hiệu suất chiết và độ thu hồi α - mangostin (Bảng 1). Tuy nhiên, ở kích thước < 0,5 mm, có sự gia tăng mạnh về độ thu hồi α - mangostin nhưng kèm theo đó là lượng cao chiết toàn phần thu được cũng tăng mạnh (bao gồm hoạt chất và tạp chất). Do độ thu hồi α - mangostin khi kích thước bột < 0,5 mm rất cao, vì vậy chúng tôi cố định biến kích thước dược liệu là < 0,5 mm và tìm điều kiện giảm tạp chất trong phần tối ưu hóa.

Đặc điểm α - mangostin cũng như các dẫn chất xanthon - polyphenol khác là khó tan trong nước và dễ tan trong methanol, ethanol [11]. Vì vậy, chúng tôi không khảo sát dung môi nước mà khảo sát hỗn hợp dung môi ethanol - nước ở các nồng độ khác nhau. Kết quả phân tích đơn biến (Bảng 1) và đa biến theo bề mặt đáp ứng (Hình 3) cho thấy độ thu hồi α -mangostin có xu hướng tỷ lệ thuận với nồng độ ethanol. Khi sử dụng dung môi ethanol 30% cho độ thu hồi α -mangostin

rất thấp (1,72%). Tại nồng độ ethanol 70% và 90% có độ thu hồi α -mangostin tương đương nhau, nhưng hiệu suất chiết cao toàn phần khi sử dụng ethanol 90% thấp hơn (ít tạp chất hơn). Nguyên nhân có thể do lượng nước trong dung môi ethanol 90% chiếm tỷ lệ thấp, do vậy những tạp chất tan tốt trong nước và tan kém trong cồn như gôm, đường, chất nhầy... ít xuất hiện trong cao chiết và làm cho quá trình chiết chọn lọc hơn. Kết quả này cũng lặp lại trong phần tối ưu hóa, phân tích bề mặt đáp ứng của hiệu suất chiết cao theo nồng độ ethanol cho thấy ảnh hưởng theo hình parabol với đỉnh là 57,7% (Hình 2), đây là điểm cân bằng tỷ lệ nước – ethanol do vậy thu được nhiều chất tan trong nước và trong ethanol. Đây cũng là yếu tố có ảnh hưởng mạnh nhất trong 3 yếu tố ở mô hình tối ưu hóa ($p < 0,0001$).

Kết quả khảo sát nhiệt độ chiết cho thấy nhiệt độ trong khoảng khảo sát 40-80°C không ảnh hưởng tới độ thu hồi α - mangostin. Nguyên nhân có thể do trong khảo sát đơn biến nhiệt độ, chúng tôi cố định các điều kiện khác trong đó dung môi sử dụng là ethanol 70% và dùng nhiều dung môi (15/1) làm cho độ tan của α - mangostin trong khoảng nhiệt độ khảo sát không có sự khác biệt. Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ chiết lại làm tăng độ tan của tạp chất làm tăng khối lượng cao toàn phần thu được. Do vậy để tiết kiệm chi phí và dễ tiến hành, chúng tôi cố định nhiệt độ chiết ở 40°C.

Với kết quả khảo sát đơn biến ảnh hưởng của thời gian chiết cho thấy hiệu suất chiết cao toàn phần ít có sự khác biệt và độ thu hồi α - mangostin có xu hướng tăng nhẹ theo thời gian. Nhưng khi khảo sát có sự tương tác đa biến (tỷ lệ DM/DL và nồng độ ethanol) trong tối ưu hóa, thì ảnh hưởng của thời gian chiết quá nhỏ so với 2 yếu tố còn lại và không tác động có ý nghĩa thống kê tới cả hiệu suất chiết và độ thu hồi α - mangostin (Hình 2 và Hình 3). Yếu tố ảnh hưởng cuối cùng là tỷ lệ DM/DL có ảnh hưởng tỷ lệ thuận với hiệu suất chiết và α - mangostin. Càng sử dụng nhiều dung môi thì lượng chất chiết được (hoạt chất và tạp chất) cũng tăng trong cả khảo sát đơn biến và đa biến.

Sau khi khảo sát sơ bộ thông qua đánh giá ảnh hưởng đơn biến, 3 yếu tố đầu vào được lựa chọn để tối ưu hóa là: Thời gian chiết, nồng độ ethanol, tỷ lệ DM/DL. Các phương trình mô tả đều có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$) và dự đoán tốt trong khoảng khảo sát. Tuy nhiên, nếu chỉ lựa chọn hàm mục tiêu là hiệu suất chiết cao toàn phần thấp nhất và độ thu hồi α - mangostin cao nhất, các giải pháp tối ưu đưa ra đều sử dụng lượng dung môi lớn (tỷ lệ DM/DL > 16). Lượng dung môi sử dụng nhiều làm gia tăng chi phí đầu vào và yêu cầu thiết bị dung tích lớn trong thực nghiệm. Do vậy, với mục tiêu tiết kiệm chi phí nguyên liệu và tạo điều kiện dễ nâng cấp qui mô khi áp dụng vào thực tế, chúng tôi thêm điều kiện kỳ vọng là lượng dung môi dùng ít nhất có thể (Hình 4b). Kết quả thu được là độ thu hồi α - mangostin là 85,01%, giảm khoảng 5% so với giá trị cao nhất, tuy nhiên tỷ lệ DM/DL trong trường hợp này là 8/1 giảm 50% so với dự kiến và cao chiết thu được ít tạp chất hơn (hàm lượng α - mangostin trong cao chiết lớn hơn).

Tại Việt Nam, hiện tại chưa có nhiều nghiên cứu về tối ưu hóa qui trình chiết xuất α -mangostin từ vỏ quả măng cụt. Đối với các công bố trên thế giới, đã có một số nghiên cứu tối ưu hóa với các phương pháp khác nhau, trong đó phổ biến nhất là chiết xuất có sự hỗ trợ của vi sóng. A. Ghasemzadeh cùng cộng sự nghiên cứu tối ưu hóa chiết xuất α - mangostin bằng phương pháp chiết có sự hỗ trợ của vi sóng, kết quả cho thấy với tỷ lệ DM/DL 10/1, thời gian chiết 3,16 phút, công suất 189,2 W và dung môi là ethanol 72,4%. Với sự hỗ trợ của vi sóng, làm cho thời gian chiết rất ngắn, lượng dung môi sử dụng ít nhưng hiệu suất thu được cao, đây là đặc điểm chung của các phương pháp chiết xuất cải tiến (có sự hỗ trợ của siêu âm, vi sóng...) [12]. Tương tự với công bố của tác giả N.A. Mohammad khi chiết xuất cao chiết giàu hợp chất xanthone (bao gồm cả α - mangostin) từ vỏ quả măng cụt có sự hỗ trợ của vi sóng. Điều kiện chiết xuất tối ưu là thời gian chiết 2,24 phút, dung môi ethanol 71% và tỷ lệ DM/DL là 25/1 [13]. Nhìn chung, ưu điểm của phương pháp cải tiến so với các phương pháp thường qui là thời gian chiết xuất ngắn và hiệu suất cao. Tuy nhiên các phương pháp này yêu cầu thiết bị hiện đại với chi phí cao và khó triển khai ở qui mô lớn.

4. Kết luận

Quy trình chiết α - mangostin từ vỏ quả măng cụt đã được tối ưu hoá, các thông số tối ưu theo hàm kỳ vọng là: kích thước bột < 0,5 mm, tỷ lệ DM/DL 8/1, dung môi ethanol 90%, thời gian chiết là 1 h và nhiệt độ chiết là 40°C. Thực nghiệm kiểm chứng cho thấy giá trị trung bình của hiệu suất chiết thực tế ($83,93 \pm 3,03\%$) so với giá trị dự đoán (85,01%) khác nhau không nhiều.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] Research Center for Medicinal Plants, *The medicinal plants and animals in Vietnam*, vol. 2, Science and Technics Publishing House, 2004, pp. 239-241.
- [2] T. H. Ph. Pham, "Research on the extraction process of natural color compounds from fruit of *garcinia mangostana* and *diospyros mollis* for application in dyeing silk fabric," PhD thesis, Hanoi University of Science and Technology, 2016.
- [3] M. Alam, S. Rashid, K. Fatima *et al.*, "Biochemical features and therapeutic potential of α -Mangostin: Mechanism of action, medicinal values, and health benefits," *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 163, 2023, Art. no. 114710.
- [4] Y. Oh, H. T. T. Do, S. Kim *et al.*, "Memory-Enhancing Effects of Mangosteen Pericarp Water Extract through Antioxidative Neuroprotection and Anti-Apoptotic Action," *Antioxidants (Basel)*, vol. 10, no. 1, p. 34, 2021.
- [5] W. Widowati, C. N. Ginting, I. N. E. Lister *et al.*, "Anti-aging Effects of Mangosteen Peel Extract and Its Phytochemical Compounds: Antioxidant Activity, Enzyme Inhibition and Molecular Docking Simulation," *Trop Life Sci Res.*, vol. 31, no. 3, pp. 127-144, 2020.
- [6] R. S. M. Labban, H. A. Alfawaz, A. T. Almnaizel *et al.*, "Garcinia mangostana extract and curcumin ameliorate oxidative stress, dyslipidemia, and hyperglycemia in high fat diet-induced obese Wistar albino rats," *Sci Rep.*, vol. 11, no. 1, 2021, Art. no. 7278.
- [7] M. C. Nauman and J. J. Johnson, "The purple mangosteen (*Garcinia mangostana*): Defining the anticancer potential of selected xanthenes," *Pharmacol Res.*, vol. 175, 2022, Art. no. 106032.
- [8] M. Watanabe, E. Gangitano, D. Francomano *et al.*, "Mangosteen Extract Shows a Potent Insulin Sensitizing Effect in Obese Female Patients: A Prospective Randomized Controlled Pilot Study," *Nutrients*, vol. 10, no. 5, 2018, Art. no. 586.
- [9] T. N. Q. Huynh, H. A. V. Ha, L. P. Tran *et al.*, "Development and validation of a high performance liquid chromatography analytical method for the determination α -mangostin in mangosteen peel," (in Vietnamese), *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 228, no. 13, pp. 44-52, 2023.
- [10] Q. W. Zhang, L. G. Lin, and W. C. Ye, "Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review," *Chin Med.*, vol. 17, pp. 13-20, 2018.
- [11] R. Tsao, "Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols," *Nutrients*, vol. 2, no. 12, pp. 1231-1246, 2010.
- [12] A. Ghasemzadeh, H. Z. E. Jaafar, A. Baghdadi *et al.*, "Alpha-Mangostin-Rich Extracts from Mangosteen Pericarp: Optimization of Green Extraction Protocol and Evaluation of Biological Activity," *Molecules*, vol. 23, 2018, Art. no. 1852.
- [13] N. A. Mohammad, D. N. A. Zaidel, I. I. Muhamad *et al.*, "Optimization of the antioxidant-rich xanthone extract from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) pericarp via microwave-assisted extraction," *Heliyon*, vol. 5, no. 10, 2019, Art. no. e02571.