

# KHẢO SÁT ĐIỀU KIỆN CHIẾT VÀ HÀM LƯỢNG POLYPHENOL, FLAVONOID TỔNG, KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA CỦA CAO CHIẾT LÁ CÂY TRỨNG CÁ (*Muntingia calabura* L.)

Đặng Ngọc Lý, Võ Thành Nhân,

Lê Thị Ngọc Hạnh, Phạm Thị Cẩm Hoa,

Lê Thị Kim Anh, Đoàn Thị Minh Phương\*

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

\*Email: [phuongdtm@hufi.edu.vn](mailto:phuongdtm@hufi.edu.vn)

Ngày nhận bài: 06/6/2022; Ngày chấp nhận đăng: 03/8/2022

## TÓM TẮT

Nghiên cứu này thực hiện khảo sát các thông số ảnh hưởng tới quá trình trích cao ethanol từ lá trứng cá, các thông số độc lập được tối ưu bằng phương pháp bề mặt đáp ứng gồm có: nhiệt độ, tỷ lệ dung môi và nguyên liệu, thời gian chiết. Kết quả cho thấy hiệu suất chiết cao nhất là 9,77% ở điều kiện nhiệt độ 80 °C, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 19 mL/g, thời gian 36 phút. Nghiên cứu cũng thực hiện định lượng tổng polyphenol, flavonoid cũng như khả năng khử gốc tự do DPPH trong cao ethanol và các cao phân đoạn. Ở phân đoạn ethyl acetate, tổng hàm lượng flavonoid, polyphenol và khả năng kháng gốc tự do cao hơn các phân đoạn khác, có giá trị lần lượt là: 93,3 (mg/g); 319,0 (mg/g) và IC<sub>50</sub> là 6,25 µg/mL.

Từ khóa: *Muntingia calabura* L., điều kiện chiết cao, polyphenol, flavonoid, DPPH, hóa đặc.

## 1. MỞ ĐẦU

Cây trứng cá (*Muntingia calabura* L.) là loại cây mọc hoang dại, có mặt khắp nơi từ nông thôn đến đô thị. Cây cũng được trồng để lấy bóng mát với chiều cao khoảng 7,5 đến 12 m và các nhánh lan rộng. Theo Izwan và cộng sự (2013), lá của cây trứng cá có chứa các hợp chất 5-hydroxy-3,7,8-trimethoxyflavone, 3,7-dimethoxy-5-hydroxyflavone, 2',4'-dihydroxy-3'-methoxychalcone, và calaburone [1]. Trong bài nghiên cứu của Su và cộng sự (2003), dịch chiết ethyl acetate từ lá trứng cá có chứa (2R,3R)-7-methoxy-3,5,8-trihydroxyflavanone, (2S)-5-hydroxy-7-methoxyflavanone, 2',4'-dihydroxychalcone, 4,2',4'-trihydroxychalcone, 7-hydroxy-isoflavone và 7,3',4'-trimethoxyisoflavone. Lá cây trứng cá cung cấp 3 hợp chất mới, đó là 2,3-dihydroxy-4,3',4',5'-tetramethoxydihydrochalcone, 4,2',4'-trihydroxy-3'-methoxydihydrochalcone, (2R,3R)-3,5-dihydroxy-6,7-dimethoxyflavanone và 19 hợp chất đã được biết đến. 2,3-Dihydroxy-4,3',4',5'-tetramethoxydihydrochalcone, 5,7-dihydroxy-3-methoxyflavone, 5,7-dihydroxy-6-methoxy flavone, 5,4'-dihydroxy-3,7-dimethoxyflavon, (2S)-7,8,3',4',5'-pentamethoxyflavan, (2S)-5'-hydroxy-7,8,3',4'-tetramethoxyflavan, và methyl gallate đã có các biểu hiện về tác dụng tập hợp các tiểu cầu trong máu (Chen và cộng sự 2007). Theo Gomathi và cộng sự (2013), chiết xuất từ lá trứng cá cho thấy sự hiện diện của phytol (26,26%), n-hexadecanoic acid (11,97%), cyclopropaneoctanoic acid (10,26%),  $\gamma$ -sitosterol (11,15%), stigmasterol (7,20%) và campesterol (4,47%) [2]. Theo nghiên cứu của Ragasa và cộng sự (2015), lá trứng cá có chứa một số chất vô cơ như: Cd, Mn, Cu, Ni, Pb, Zn, K và Na, dịch trích thu được từ lá trứng cá có một số hợp chất hóa học quý như: flavonoids, glycosides, saponins và tannin [3].

Pertiwi và cộng sự (2020) cũng đã thực hiện quá trình chiết lá trứng cá được trồng ở Bogor, Indonesia, ở các nồng độ ethanol khác nhau thu được tổng hàm lượng polyphenol cao nhất là 195,33 mg/g, tổng hàm lượng flavonoids 3,387 mg/g, khả năng kháng gốc tự do DPPH ở mức  $IC_{50} = 14,17 \mu\text{g/mL}$  [4]. Theo nghiên cứu của Sarabjot Kaur (2014) về định lượng polyphenol và flavonoid trong một số cây thuốc ở Punjab, Ấn Độ, hàm lượng polyphenol cao nhất được ghi nhận trong quả chanh là 566 mg/100g; đối với flavonoid, hàm lượng cao nhất được ghi nhận ở cây dứa cạn là 114,4 mg/100g trong cao chiết ethanol, các loại cây này thường được sử dụng phổ biến trong các bài thuốc dân gian cũng như sử dụng trích xuất của chúng trong các sản phẩm hỗ trợ sức khỏe [5].

Một số nghiên cứu cho thấy dịch chiết lá trứng cá có khả năng kháng oxy hóa, cải thiện chức năng nội mô, chức năng mạch máu, giảm huyết áp. Lá trứng cá có hoạt tính kháng khuẩn [6]. Trong y học cổ truyền, chiết xuất từ lá được sử dụng trong điều trị sưng tấy tuyền liệt, giảm đau đầu và trị cảm lạnh, làm chất khử trùng [7]. Bên cạnh đó, nước nấu từ lá trứng cá có thể dùng để hạ sốt, giảm đau hoặc sử dụng như trà làm nước giải khát [8].

Với một số đặc điểm như trên, việc tận dụng nguồn lá trứng cá sẵn có để nghiên cứu trích xuất các hợp chất có giá trị nhằm phục vụ cho lợi ích của con người thật sự có ý nghĩa thực tiễn.

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu

Lá trứng cá được thu hái tại quận 12, thành phố Hồ Chí Minh vào tháng 8 năm 2021. Chọn lá tươi, không bị sâu bệnh, nấm mốc; rửa sạch, sấy ở nhiệt độ 60 °C tới khi mẫu khô giòn (độ ẩm  $10,00 \pm 0,50\%$ ), xay nhỏ, chứa trong túi PE, bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh.

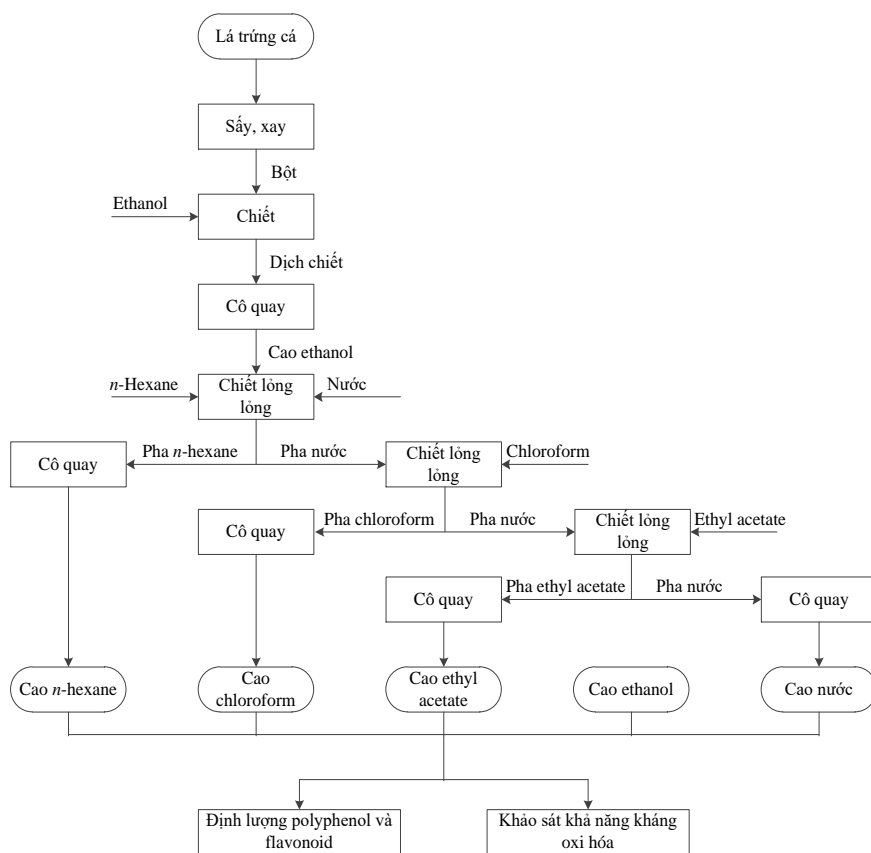
Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu thuộc loại tinh khiết sử dụng trong phân tích: chloroform, ethanol, ethyl acetate, *n*-hexane từ Scharlau của Tây Ban Nha; thuốc thử Folin-Ciocalteu, quercetin, gallic acid từ Merck của Đức; sodium carbonate, sodium nitrite từ Xilong của Trung Quốc; 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl từ Fisher của Mỹ.

### 2.2. Phương pháp

Bột lá trứng cá được trích trong dung môi ethanol để thu được cao tổng, sau đó thực hiện quá trình chiết lỏng lỏng qua các dung môi có độ phân cực tăng dần để thu được các cao phân đoạn lần lượt *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate và nước. Quy trình thực hiện được tóm tắt theo Hình 1.

#### 2.2.1. Trích cao

Quá trình trích cao tổng ethanol được thực hiện trong bể siêu âm ở tần số 37 kHz với các yếu tố khảo sát ảnh hưởng tới quá trình chiết là nhiệt độ ban đầu ( $X_1$ ), tỉ lệ dung môi/nguyên liệu ( $X_2$ ) và thời gian chiết ( $X_3$ ). Mỗi yếu tố được chia làm ba mức thay đổi theo Bảng 1. Theo đó, nhiệt độ được thực hiện từ 30 đến 80 °C, tỷ lệ giữa dung môi và nguyên liệu là 10 đến 20 mL/g, thời gian chiết khảo sát từ 10 đến 40 phút. Hiệu suất chiết là yếu tố đáp ứng, được tính bằng phần trăm lượng cao khô thu được so với lượng mẫu ban đầu. Việc tối ưu các thông số chiết giúp giảm thời gian chiết, giảm lượng dung môi sử dụng, tăng tính kinh tế và giảm thiểu tác động đến môi trường.



Hình 1. Quy trình thực nghiệm

Bảng 1. Giá trị mã hóa của các yếu tố khảo sát

Yếu tố	Ký hiệu	Giá trị mã hóa		
		Điểm cực tiểu (-1)	Điểm tâm (0)	Điểm cực đại (+1)
Nhiệt độ (°C)	X <sub>1</sub>	30	55	80
Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (mL/g)	X <sub>2</sub>	10	15	20
Thời gian (phút)	X <sub>3</sub>	10	25	40

Ma trận thực nghiệm để tối ưu được thiết kế theo mô hình Box - Behnken [9]. Mô hình bao gồm 15 thí nghiệm, trong đó có 3 thí nghiệm lặp lại ở tâm (Bảng 2). Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần và lấy kết quả trung bình. Hàm mục tiêu (Y) là phần trăm hiệu suất thu hồi cao thô sau khi tách chiết (%). Phương trình hồi quy được thể hiện như sau:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + \epsilon$$

Kết quả thực nghiệm được xử lý bằng phần mềm Modde 5.0 để xác định độ tin cậy của các yếu tố ảnh hưởng, các hệ số của phương trình hồi qui và điều kiện tối ưu để đạt hiệu suất chiết cao nhất.

Tiếp tục thực hiện chiết cao phân đoạn theo như sơ đồ Hình 1, thu được cao thô. Các cao khô này được bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh để hạn chế sự phát triển của nấm mốc trong thời gian chờ thực hiện các bước tiếp theo.

### 2.2.2. Định lượng polyphenol và flavonoid trong cao tổng và cao phân đoạn

Định lượng tổng polyphenol bằng phương pháp trắc quang với thuốc thử Folin-Ciocalteu. Sử dụng gallic acid (GA) làm chất chuẩn. Hợp chất tạo thành có màu xanh, hấp thụ cực đại trong khoảng bước sóng 650 nm [10].

Tổng flavonoid được xác định theo phương pháp trắc quang như miêu tả của Chan và cộng sự (2002) dựa phản ứng giữa flavonoid và  $AlCl_3$  tạo thành hợp chất có màu vàng. Cường độ màu tỷ lệ thuận với hàm lượng flavonoid được xác định ở bước sóng 415 nm. Quercetin (QE) được dùng làm chất chuẩn tham chiếu [11].

Các hợp chất được đề cập đều có tác dụng về mặt sinh học, flavonoid được dùng như chất chống oxy hóa, kháng vi sinh vật, kháng viêm, kháng sinh, hoạt tính đối với mạch máu như ức chế ngưng tập tiểu cầu là nguyên nhân gây xơ vữa động mạch [12]; các hợp chất phenol có tác dụng chống lại bức xạ của tia cực tím hoặc ngăn chặn các tác nhân gây bệnh, một số polyphenol còn có đặc tính chống oxy hóa mạnh, giảm được nguy cơ mắc bệnh tim mạch ngăn ngừa ung thư [13].

### 2.2.3. Khảo sát khả năng kháng oxy hóa DPPH của cao tổng và cao phân đoạn

1,2-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) là chất tạo ra gốc tự do dùng để thực hiện phản ứng mang tính chất sàng lọc tác dụng chống oxy hóa của các chất nghiên cứu. Hoạt tính chống oxy hóa thể hiện qua việc làm giảm màu của DPPH, được xác định bằng cách đo độ hấp thụ tại bước sóng 517 nm [14, 15]. Đối chứng dương được sử dụng là gallic acid (GA).

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Tối ưu điều kiện trích cao tổng

Hiệu suất chiết phụ thuộc vào các biến khảo sát được thực hiện qua các thí nghiệm theo Bảng 2. Mức độ ảnh hưởng của các biến đến hiệu suất chiết được thể hiện qua Hình 2 và độ tin cậy được trình bày trong Bảng 3.

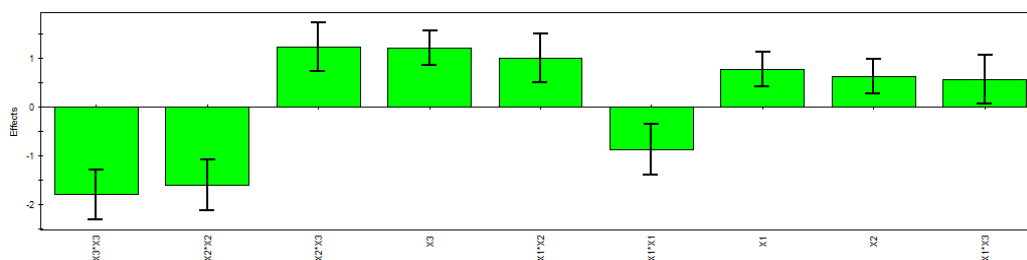
Mức độ ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến hàm mục tiêu được sắp xếp theo chiều giảm dần (Hình 2). Theo đó, ảnh hưởng theo hàm bậc hai của  $X_3$ , thời gian chiết, là lớn nhất với mức độ ảnh hưởng có giá trị -1,80, nhỏ nhất là ảnh hưởng của tương tác giữa hai yếu tố  $X_1$  và  $X_3$ , nhiệt độ và tỷ lệ dung môi/mẫu, với giá trị 0,55. Bên cạnh đó, các ảnh hưởng theo hàm bậc hai của các yếu tố đều mang giá trị âm, các hàm bậc một cũng như các tương tác giữa các yếu tố đều mang giá trị dương, điều này phù hợp với các hệ số thu nhận được khi xác định dạng của phương trình hồi quy (Bảng 3). Độ tin cậy của tất cả các giá trị đều bé hơn 0,05, điều này có nghĩa các yếu tố đều có ảnh hưởng đến hàm mục tiêu. Do đó, phương trình hồi quy tương thích với thực nghiệm có dạng như sau:

$$Y = 9,16 + 0,38X_1 + 0,31X_2 + 0,60X_3 - 0,44X_1^2 - 0,80X_2^2 - 0,90X_3^2 + 0,49X_1X_2 + 0,28X_1X_3 + 0,62X_2X_3$$

Các yếu tố tương tác với hàm mục tiêu, hiệu suất chiết, với giá trị mức ý nghĩa  $R^2 = 0,986$  và độ tin cậy 96%. Đồng thời, giá trị P của kiểm định sự không tương thích của mô hình (Lack of fit) từ phân tích ANOVA là 0,07, điều này cho thấy mô hình hồi quy tương thích với thực nghiệm. Các giá trị dự đoán từ mô hình có mối tương quan với giá trị thực thể hiện trong Hình 3.

Bảng 2. Ma trận thí nghiệm tối ưu

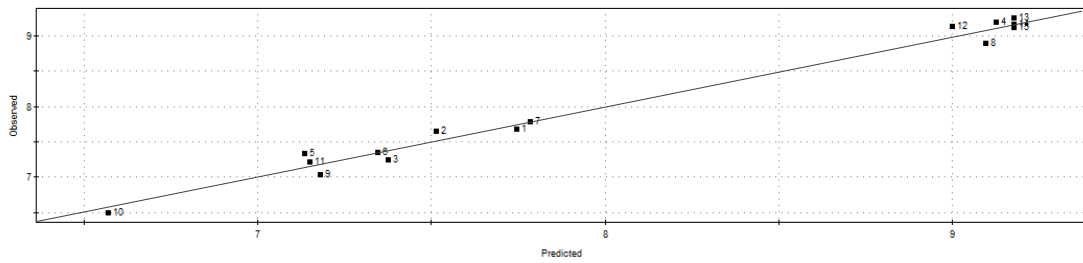
STT	Biến mã hóa			Hiệu suất chiết (%)
	Nhiệt độ (°C) X <sub>1</sub>	Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (mL/g) X <sub>2</sub>	Thời gian (phút) X <sub>3</sub>	
1	-1	-1	0	7,68
2	1	-1	0	7,65
3	-1	1	0	7,24
4	1	1	0	9,19
5	-1	0	-1	7,34
6	1	0	-1	7,35
7	-1	0	1	7,78
8	1	0	1	8,89
9	0	-1	-1	7,04
10	0	1	-1	6,5
11	0	-1	1	7,22
12	0	1	1	9,14
13	0	0	0	9,25
14	0	0	0	9,16
15	0	0	0	9,12



Hình 2. Mức độ ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến hiệu suất chiết

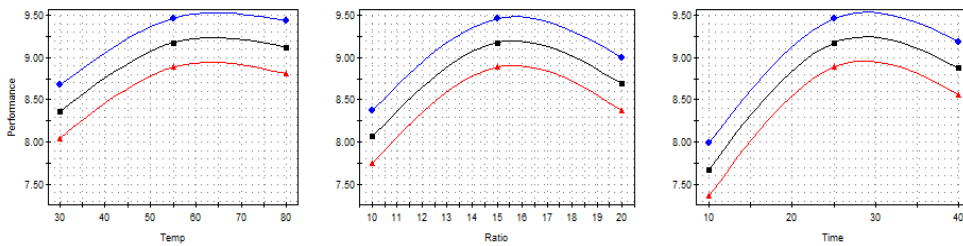
Bảng 3. Giá trị hệ số ảnh hưởng và độ tin cậy

Yếu tố	Giá trị hệ số ảnh hưởng	Độ tin cậy
Hệ số tự do	9,18	5,0443e-009
X1	0,38	0,0025894
X2	0,31	0,0061942
X3	0,60	0,00031818
X1*X1	-0,44	0,00748532
X2*X2	-0,80	0,000504646
X3*X3	-0,90	0,000289664
X1*X2	0,49	0,00370412
X1*X3	0,28	0,0360347
X2*X3	0,62	0,00141776



Hình 3. Tương quan giữa giá trị thực và giá trị dự đoán

Theo mô hình, hiệu suất chiết thay đổi theo các yếu tố được biểu diễn trong Hình 4.



Hình 4. Dự đoán hiệu suất chiết theo sự thay đổi của các yếu tố

Theo Hình 4, hiệu suất chiết có xu hướng tăng và đạt cực trị trong vùng khảo sát, sau đó đều giảm khi có sự thay đổi của các yếu tố. Sự thay đổi mạnh nhất ở yếu tố tỉ lệ dung môi/mẫu và thời gian, yếu tố nhiệt độ thay đổi rất ít sau khi đạt cực trị.

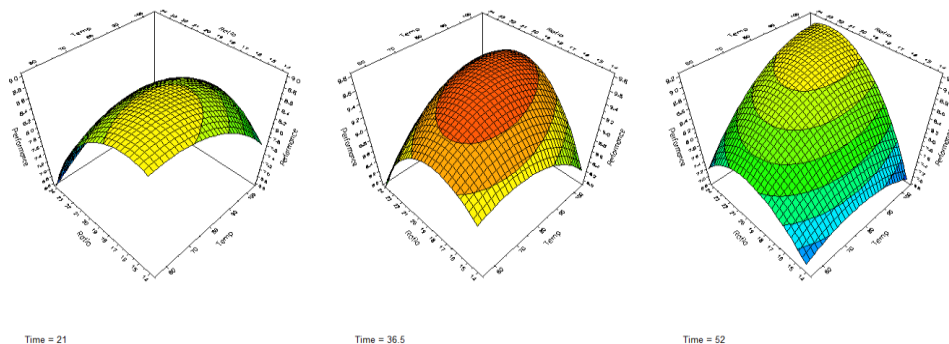
Tiến hành tối ưu hóa bằng phần mềm Modde 5.0 thu được các giá trị tối ưu ứng với giá trị cực đại của hàm mục tiêu là hiệu suất thu hồi cao thô theo Hình 5.

Temp	Ratio	Time	Performance
79.9305	18.9208	36.3558	9.7706
79.9684	19.0197	36.4831	9.7707
79.9375	19.0085	36.3896	9.7706
80	20	40	9.7142
65	15	25	9.2589
65	15	25	9.2589
65	15	25	9.2589
65	15	25	9.2589

Hình 5. Tối ưu điều kiện chiết

Theo đó, các điều kiện tối ưu lần lượt là:  $X_1 = 80\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $X_2 = 19\text{ mL/g}$ ,  $X_3 = 36\text{ phút}$ , sẽ đạt được hiệu suất chiết 9,77%.

Mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện qua các yếu tố khảo sát được mô phỏng trên Hình 6.



Hình 6. Đồ thị minh họa sự phụ thuộc của hàm mục tiêu vào yếu tố khảo sát

Để kiểm tra sự tương thích giữa kết quả của phương trình hồi quy RSM và thực nghiệm, tiến hành thực hiện quá trình chiết tại các điều kiện tối ưu thu được kết quả như Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả kiểm chứng tại điều kiện tối ưu

STT	Biến mã hóa			Hiệu suất chiết (%)
	Nhiệt độ (°C) X <sub>1</sub>	Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (mL/g) X <sub>2</sub>	Thời gian (phút) X <sub>3</sub>	
1	80	19	36	9,72
2	80	19	36	9,65
3	80	19	36	9,70
Trung bình				9,69

Sai số giữa kết quả thu được từ thực nghiệm và mô hình:

$$\% \Delta = \frac{|9,69 - 9,77|}{9,77} \times 100 = 0,82\%$$

Kết quả sai số thấp cho thấy mô hình tối ưu đạt yêu cầu.

### 3.2. Hàm lượng polyphenol và flavonoid và khả năng kháng oxy hóa của các phân đoạn

Kết quả định lượng polyphenol và flavonoid trong cao tổng ethanol và các cao phân đoạn được trình bày tóm tắt trong Bảng 5 và Bảng 6.

Bảng 5. Hàm lượng polyphenol

Loại cao	mg GA/g mẫu
Ethanol	95,3 ± 2,1
Ethyl acetate	319,0 ± 1,2
Nước	212,6 ± 1,5
<i>n</i> -Hexane	71,3 ± 1,8
Chloroform	70,4 ± 1,3

Bảng 6. Hàm lượng flavonoid

Loại cao	mg QE/g mẫu
Ethanol	53,0 ± 1,4
Ethyl acetate	93,3 ± 2,4
Nước	56,1 ± 1,6
Chloroform	49,0 ± 2,1
<i>n</i> -Hexane	17,8 ± 1,8

Dựa vào kết quả định lượng có thể thấy hàm lượng polyphenol tổng cũng như flavonoid trong cao ethanol và các cao phân đoạn chiết của lá trứng cá đều tương đối cao so với một số thực vật khác theo như báo cáo của Sarabjot Kaur (2014) về định lượng polyphenol và flavonoid trong một số cây thuốc [5], cho thấy tiềm năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kháng viêm cao của lá trứng cá có thể ứng dụng trong mỹ phẩm, dược phẩm.

Có sự tương đồng về hàm lượng các hợp chất này trong các phân đoạn, cao nhất là trong ethyl acetate, kế đến là nước và ethanol, *n*-hexane và chloroform có sự hoán đổi về vị trí. Điều này có thể giải thích dựa vào khả năng phân cực của các hợp chất trên và dung môi. Đây là bước đầu làm cơ sở nhằm chuẩn bị cho quá trình phân lập các hợp chất quý từ lá trứng cá.

Bảng 7 thể hiện kết quả kháng oxy hóa thông qua giá trị IC<sub>50</sub> để xác định nồng độ mẫu mà tại đó ức chế được 50% DPPH.

Bảng 7. Kết quả khả năng kháng oxy hóa của các loại cao

Loại cao	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Ethanol	57,88 ± 0,11
Ethyl acetate	6,25 ± 0,05
Nước	33,25 ± 0,14
<i>n</i> -Hexane	40,75 ± 0,60
Chloroform	74,65 ± 0,58

Với chất đối chứng dương là gallic acid, giá trị IC<sub>50</sub> là 1,24 ± 0,01 µg/mL. Điều này cho thấy các hợp chất trong các cao phân đoạn đều có khả năng kháng oxy hóa khi giá trị IC<sub>50</sub> nhỏ hơn 100 µg/mL, tuy nhiên khả năng này vẫn kém hơn chất đối chứng dương. Do mẫu thử từ các phân đoạn không phải là hợp chất tinh khiết mà là hỗn hợp của nhiều chất và cả tạp chất. Trong số các cao phân đoạn, cao ethyl acetate có khả năng kháng oxy hóa cao nhất, giá trị IC<sub>50</sub> khi dùng mẫu thử của phân đoạn này là 6,25 µg/mL, chỉ gấp khoảng 6 lần so với chất đối chứng dương nên hoàn toàn có cơ sở để khẳng định có thể thu nhận được các hợp chất có giá trị từ phân đoạn này. Hơn nữa, thành phần polyphenol và flavonoid trong cao nước khá cao, tương ứng với khả năng kháng oxy hóa có giá trị IC<sub>50</sub> là 33,25 µg/mL. Điều này rất có ý nghĩa vì nước được xem là dung môi xanh trong thực nghiệm hóa học.

#### 4. KẾT LUẬN

Qua quá trình thực nghiệm xây dựng quy trình tách chiết bằng phương pháp chiết siêu âm và sử dụng phần mềm Modde 5.0 đã dự đoán được điều kiện tách chiết để đạt hiệu suất cao nhất. Nghiên cứu cũng đánh giá hàm lượng tổng các hợp chất polyphenol, flavonoid trong cao tổng và các phân đoạn chiết từ bột lá trứng cá, nổi bật là hàm lượng polyphenol và flavonoid cao hơn so với các nghiên cứu trước. Khả năng kháng oxy hóa DPPH của dịch chiết cũng đã được chứng minh. Những điều này là cơ sở để định hướng cho việc phân lập các hợp chất quý có hoạt tính sinh học cũng như ứng dụng vào các sản phẩm cụ thể.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yusof M.I.M, Salleh M.Z, Kek T.L., Ahmat N., Azmin N.F.N, and Zakaria Z.A - Activity-guided isolation of bioactive constituents with antinociceptive activity from *Muntingia calabura* L. leaves using the formalin test, Evidence-Based Complement. Altern. Med. **2013** (2013) 9.
2. Gomathi R., Anusuya N., and Manian S. - A dietary antioxidant supplementation of Jamaican cherries (*Muntingia calabura* L.) attenuates inflammatory related disorders, Food Sci. Biotechnol. **22** (3) (2013) 787-794.
3. Ragasa C.Y., Tan M.C.S, Chiong I.D., and Shen C.C - Chemical constituents of *Muntingia calabura* L., Der Pharma Chem. **7** (5) (2015) 136-141.
4. Pertiwi R.D., Suwaldi, Martien R., and Setyowati E.P. - Radical scavenging activity and quercetin content of *Muntingia calabura* L. leaves extracted by various ethanol concentration, J. Food Pharm. Sci. (September) (2020) 1.
5. Kaur S. - Study of total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity and antimicrobial properties of medicinal plants, J. Microbiol. Exp. **1** (1) (2014) 23-28.
6. Aruna Sindhe M., Bodke Y.D., and Chandrashekar A. - Antioxidant and in vivo anti-



- hyperglycemic activity of muntingia calabura leaves extracts, *Der Pharm. Lett.* **5** (3) (2013) 427-435.
7. Sarojini S. and Mounika B. - Muntingia Calabura (Jamaica Cherry): An overview *PharmaTutor* **6** (11) (2018) 1.
  8. Mahmood N.D., Nasir N.L.M., Rofiee M.S., Tohid S.F.M., Ching S.M., Teh L.K., Salleh M.Z., Zakaria Z.A. - Muntingia calabura: A review of its traditional uses, chemical properties, and pharmacological observations, *Pharmaceutical Biology* **52** (12) (2014) 1598-1623.
  9. Nguyễn Cảnh - Quy hoạch thực nghiệm, NXB Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, 2016.
  10. Divya N. and Vijaya Anand A. - In vitro antioxidant activity of ethanolic extract of Terminalia catappa leaves, *Asian J. Pharm. Clin. Res.* **8** (5) (2015) 269-271.
  11. Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M., and Chern J.C - Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods, *J. Food Drug Anal.* **10** (3) (2002) 178-182.
  12. Trần Văn Sung, Trịnh Thị Thủy, Nguyễn Thị Hoàng Anh - Các hợp chất thiên nhiên từ một số cây cỏ Việt Nam. NXB Khoa học tự nhiên và công nghệ, 2011.
  13. Tsao R. - Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols, *Nutrients* **2** (12) (2010) 1231-1246.
  14. Nguyễn Thượng Dong - Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thảo dược. NXB Khoa học và Kỹ thuật, 2006.
  15. Wojdyło A., Oszmiański J., and Czemerys R. - Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, *Food Chem.* **105** (3) (2007) 940-949.

## ABSTRACT

### EXTRACTION PROCESS OPTIMIZATION AND INVESTIGATION OF TOTAL POLYPHENOLIC AND FLAVONOID CONTENTS, ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CALABUR TREE LEAF EXTRACT (*Muntingia calabura* L.)

Dang Ngoc Ly, Vo Thanh Nhan, Le Thi Ngoc Hanh,  
Pham Thi Cam Hoa, Le Thi Kim Anh, Doan Thi Minh Phuong\*

*Ho Chi Minh City University of Food Industry*

\*Email: [phuongdtm@hufi.edu.vn](mailto:phuongdtm@hufi.edu.vn)

Extraction of a total ethanolic leaf extract from *Muntingia calabura* L. species was optimized the parameters of process to maximize the yield. The optimization was designed by using response surface methodology for independent factors such as extraction temperature, ratio of solvent (ethanol) to materials, and time. The optimized conditions of total ethanolic extract were attained at 80 °C, 19 mL/g, and 36 minutes. The study also quantified total polyphenol, flavonoid as well as DPPH free radical scavenging ability in ethanolic extract and fractions. In the ethyl acetate fraction, the total content of flavonoid, polyphenol, and free radical scavenging ability reached the highest, respectively: 93.3 (mg/g); 319.0 (mg/g), and IC<sub>50</sub> as 6.25 µg/mL.

**Keywords:** *Muntingia calabura* L., extraction process, polyphenol, flavonoid, DPPH, chemometric.