

NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT TANNIN TỪ LÁ SẾN MẬT  
(*Madhuca pasquier* H. J. Lam)

Phạm Văn Hiến<sup>1\*</sup>, Vũ Bình Dương<sup>1</sup>

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Khảo sát lựa chọn phương pháp và thông số quy trình chiết xuất tannin từ lá Sến mật (*Madhuca pasquier* H. J. Lam). **Phương pháp nghiên cứu:** Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất như phương pháp chiết và các thông số quy trình chiết gồm dung môi chiết, nhiệt độ chiết, tỷ lệ dung môi/dược liệu (DM/DL), thời gian chiết dựa vào hàm lượng tannin biểu kiến và hiệu suất chiết tannin. **Kết quả:** Lựa chọn được phương pháp chiết xuất là chiết vi sóng với các thông số quy trình gồm: Dung môi chiết xuất là ethanol 70%, nhiệt độ chiết xuất là 70°C, số lần chiết là 1 lần, tỷ lệ DM/DL là 30/1 mL/g, thời gian chiết là 30 phút. Từ phương pháp chiết và các thông số khảo sát được ở trên, xác định được hiệu suất chiết tannin từ lá Sến mật đạt  $89,11 \pm 1,84\%$ . **Kết luận:** Đã khảo sát lựa chọn được phương pháp và các thông số quy trình chiết xuất tannin từ lá Sến mật.

**Từ khóa:** Lá Sến mật; Tannin; Chiết vi sóng; Thông số quy trình.

STUDY ON THE EXTRACTION OF TANNIN FROM SEN MAT LEAVES  
(*Madhuca pasquieri* H. J. Lam)

**Abstract**

**Objectives:** To investigate and choose a suitable extraction method and some processing parameters for extracting tannin from Sen mat leaves (*Madhuca pasquier* H. J. Lam). **Methods:** A study was conducted to select an extraction method and some processing parameters, including solvent, temperature, solvent-to-material ratio, and duration of the extraction process. Suitable parameters were chosen based on the apparent tannin content and tannin extraction efficiency. **Results:** The suitable extraction method was selected as microwave with some parameters, including extraction solvent was 70% ethanol, extraction temperature was 70°C,

<sup>1</sup>Trung tâm Nghiên cứu ứng dụng và sản xuất thuốc, Học viện Quân y

\*Tác giả liên hệ: Phạm Văn Hiến (phamvanhien181288@gmail.com)

Ngày nhận bài: 15/5/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 07/10/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i9.835>

extraction was performed once, the solvent-to-material ratio was 30/1 (mL/g), and extraction duration was 30 minutes. From the extraction method and parameters surveyed above, tannin extraction efficiency from Sen mat leaves was  $89.11 \pm 1.84\%$ . **Conclusion:** An extraction method and some processing parameters for extracting tannin from Sen mat leaves were established.

**Keywords:** Sen mat leaf (*Madhuca pasquier* H. J. Lam); Tannin; Microwave extract; Processing parameter.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Sén mật (*Madhuca pasquieri* H. J. Lam) thuộc họ Hồng xiêm (*Sapotaceae*). Lá và quả Sén mật chứa nhiều hợp chất có tác dụng kháng khuẩn, kháng viêm, ngăn ngừa lão hóa, chống ung thư [1, 2]. Lá Sén mật được sử dụng trong điều trị các vết thương bỏng vì có khả năng kháng khuẩn, tăng khả năng tái tạo da và làm liền vết thương do bỏng. Theo nhiều nghiên cứu, lá Sén mật có các công dụng trên vì trong thành phần chứa nhiều tannin [3, 4]. Trong dân gian, lá Sén mật thường được ép, nghiền và sắc lấy nước để đắp vào vết thương. Đây là phương pháp thủ công, không phát huy được hết các giá trị tiềm năng trong điều trị vết thương, vết bỏng của lá Sén mật. Vì vậy, để khắc phục các nhược điểm trên, nhằm ứng dụng vào các sản phẩm điều trị vết thương bỏng, cần chiết xuất tạo ra cao giàu tannin từ lá Sén mật. Học viện Quân y đã nghiên cứu bào chế thành công kem điều trị bỏng Maduxin từ cao lá Sén mật. Tuy nhiên, các nghiên cứu này sử dụng nước tinh khiết làm dung môi chiết nên hiệu suất chiết

tannin còn thấp và các thông số kỹ thuật khác cũng chưa được khảo sát đầy đủ [3, 4]. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm: *Khảo sát lựa chọn phương pháp chiết xuất và các thông số quy trình thích hợp chiết xuất tannin từ lá Sén mật ở quy mô phòng thí nghiệm, tạo tiền đề để nâng cấp quy mô sản xuất, hướng tới sản xuất các chế phẩm điều trị vết thương bỏng từ lá Sén mật.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

\* *Nguyên liệu:* Lá cây Sén mật được thu hái ở huyện Hà Trung, tỉnh Thanh Hóa vào tháng 02/2023. Sau đó, nguyên liệu được rửa sạch, sấy ở nhiệt độ  $60^{\circ}\text{C}$  trong 12 giờ rồi nghiền thành bột thô. Tiếp tục sấy bột được liệu ở  $60^{\circ}\text{C}$  trong 2 giờ (độ ẩm không quá 10%). Bột dược liệu được đóng gói trong 2 lớp túi polyethylen, bảo quản ở nhiệt độ phòng.

\* *Thiết bị, dụng cụ:* Máy đo quang phổ UV - VIS Labomed UVD - 2960 (Hoa Kỳ), cân kỹ thuật ACB-Plus (Anh), cân phân tích Sartorius (Đức),

bản mỏng silicagel 60F<sub>254</sub>, tủ sấy Memmert UN55 (Đức), máy đo hàm ẩm Adam AMB 310 (Mỹ), bộ chiết xuất hồi lưu Bomex (Trung Quốc), bể siêu âm Elmasonic S100H (Đức), thiết bị chiết vi sóng đa năng Sineo Uwave - 1000 (Hoa Kỳ), thiết bị cô quay thu hồi dung môi Eyela N-1200B (Hoa Kỳ) và một số dụng cụ thí nghiệm thường quy khác.

\* *Thuốc thử, dung môi, hoá chất:*

Ethanol thực phẩm 90%, natri tungstat, natri molibdat, acid hydrochlorid, acid phosphoric, lithi sulfat, brom lỏng, natri carbonat, casein, nước cất, nước tinh khiết và một số dung môi hoá chất thông dụng khác đạt tiêu chuẩn nhà sản xuất, tiêu chuẩn phân tích và tiêu chuẩn dược dụng. Chất chuẩn acid gallic (hàm lượng 99,69%) được cung cấp bởi Viện Kiểm nghiệm Thuốc Trung ương.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Xác định hàm lượng tannin trong lá Sến mật:*

Theo Dược điển Việt Nam V [5], hàm lượng tannin được tính dựa trên nồng độ phenol toàn phần và nồng độ polyphenol không liên kết với casein trong mẫu, thông qua các phản ứng tạo màu của dung dịch mẫu với thuốc thử phosphomolybdotungstic và Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> rồi đo quang ở bước sóng 760nm.

- Thuốc thử phosphomolybdotungstic: Hòa tan 100g natri tungstat và 25g natri molybdat trong 70mL nước, thêm

100mL acid hydrochlorid và 50mL acid phosphoric. Đun nóng hỗn hợp dưới ống sinh hàn trong 10 giờ, thêm 150g lithi sulfat, 50mL nước và 0,2mL brom, đun sôi khoảng 15 phút để đuổi brom thừa, để nguội, bổ sung nước cất vừa đủ 1000mL. Thuốc thử phải có màu vàng, nếu có màu xanh thì thêm 0,2mL brom, lắc đều rồi đun sôi đuổi hết brom thừa. Bảo quản thuốc thử ở 2 - 4°C.

- Môi trường (natri carbonat 29%): Cân 29g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, thêm 90mL nước cất, đun cách thủy có khuấy trộn đến tan hoàn toàn. Chuyển dung dịch trên sang bình định mức 100mL, bổ sung nước cất vừa đủ đến vạch.

- Xây dựng đường tuyến tính của chuẩn acid gallic: Cân chính xác khoảng 50mg chuẩn acid gallic vào bình định mức 100mL. Thêm khoảng 90mL nước cất, lắc đều đến tan hoàn toàn. Sau đó, bổ sung nước cất đến vạch, lắc đều thu được dung dịch chuẩn gốc acid gallic có nồng độ 0,5 mg/mL. Hút 5,0mL dung dịch chuẩn gốc vào bình định mức 50mL, bổ sung nước cất đến vạch thu được dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ 0,05 mg/mL. Hút chính xác lần lượt 1,0mL; 2,0mL; 3,0mL; 4,0mL; 5,0mL dung dịch chuẩn làm việc vào các bình định mức 25mL riêng biệt màu nâu, thêm vào mỗi bình 1mL thuốc thử phosphomolybdotungstic, sau đó thêm lần lượt 11mL; 10mL; 9mL; 8mL; 7mL nước vào các bình tương

ứng, thêm dung dịch natri carbonat 29% đến vạch, lắc đều. Chuẩn bị song song mẫu trắng. Đo độ hấp thụ của dãy dung dịch chuẩn ở 760nm, từ đó xây dựng đường chuẩn của acid galic ( $y = ax + b$ ).

- Mẫu thử dịch chiết lá Sến mật: Cân chính xác khoảng 0,5g lá Sến mật cho vào bình trung gian của thiết bị vi sóng, thêm chính xác 100mL nước, chiết xuất ở nhiệt độ 60°C trong 30 phút. Để yên, gạn lấy dịch chiết vào bình định mức 250mL tối màu. Bã dược liệu được chiết tiếp với 50mL nước với điều kiện như trên thêm 2 lần nữa. Gộp các dịch chiết vào bình định mức 250mL, bổ sung nước cất vừa đủ đến vạch. Dịch chiết được lọc qua giấy lọc, bỏ 10mL dung dịch đầu, thu lấy phần dịch lọc sau để làm phản ứng (dung dịch thử).

Hàm lượng tannin trong lá Sến mật =  
(Hàm lượng phenol toàn phần) -  
(Hàm lượng polyphenol không  
liên kết với casein)

Cách xác định hàm lượng phenol toàn phần và polyphenol không liên kết với casein được xác định như sau:

+ Hàm lượng phenol toàn phần: Hút chính xác 2mL dung dịch thử vào bình định mức 25mL màu nâu. Thêm 1mL thuốc thử phosphomolybdotungstic, trộn đều, thêm 10mL nước, thêm dung dịch natri carbonat 29% vừa đủ đến vạch, lắc đều. Chuẩn bị song song mẫu trắng. Đo độ hấp thụ ở 760nm. Dựa vào

đường chuẩn đã xây dựng ở trên để ngoại suy hàm lượng phenol toàn phần trong lá Sến mật theo công thức:

$$(A_{t1}-b) \times (25 \times 250) / (2 \times a \times m)$$

Trong đó:  $A_{t1}$  là độ hấp thụ của mẫu thử định lượng hàm lượng phenol toàn phần;  $m$  là khối lượng cân của mẫu thử lá Sến mật (g);  $a$  và  $b$  lần lượt là hệ số gốc và số chặn của đường chuẩn  $y = ax + b$ .

+ Hàm lượng polyphenol không liên kết với casein: Hút chính xác 25mL dung dịch thử vào bình nón nút mài 100mL đã có 0,6g casein, đậy kín. Đặt bình trong cách thủy trong 1 giờ ở 30°C, để nguội. Lọc, loại bỏ 5mL dịch lọc đầu, hút chính xác 2mL dịch lọc sau cho vào bình định mức 25mL màu nâu. Thêm 1mL thuốc thử phosphomolybdotungstic, trộn đều, thêm 10mL nước và bổ sung dung dịch natri carbonat 29% vừa đủ đến vạch, lắc đều. Chuẩn bị song song mẫu trắng. Đo độ hấp thụ quang ở 760nm. Dựa vào đường chuẩn đã xây dựng ở trên để ngoại suy hàm lượng polyphenol không liên kết với casein trong lá Sến mật theo công thức:

$$(A_{t2}-b) / a \times (25 \times 250) / (2 \times a \times m)$$

Trong đó:  $A_{t2}$  là độ hấp thụ của mẫu thử định lượng hàm lượng polyphenol không liên kết với casein;  $m$  là khối lượng cân của mẫu thử lá Sến mật (g);  $a$  và  $b$  lần lượt là hệ số gốc và số chặn của đường chuẩn  $y = ax + b$ .

*\* Xây dựng quy trình bào chế cao lỏng:*

Khảo sát lựa chọn các thông số quy trình chiết xuất:

- Khảo sát phương pháp chiết xuất:

Khảo sát các phương pháp chiết gồm chiết vi sóng, hồi lưu và siêu âm. Các phương pháp chiết được thực hiện cùng với quy trình chung như sau: Cân khoảng 0,5g lá Sến mật vào dụng cụ chiết. Thêm 100mL nước tinh khiết và chiết trong 30 phút. Nhiệt độ chiết của phương pháp chiết vi sóng và siêu âm là 60°C, đối với phương pháp chiết hồi lưu là 100°C. Sau khi chiết, gạn lấy phần dịch trong rồi lọc qua giấy lọc (pha loãng nếu cần) để định lượng tannin trong dịch chiết được thực hiện tương tự như xác định hàm lượng tannin trong lá Sến mật. Trong đó, mẫu thử là mẫu dịch chiết trong các khảo sát.

Chỉ tiêu đánh giá: Dựa vào hàm lượng tannin biểu kiến trong dược liệu và hiệu suất chiết tannin.

Hàm lượng tannin biểu kiến (H) trong mẫu được tính toán theo công thức:

$$HL (mg/g) = (C \times V \times k) \times 100 / (m \times (100 - a))$$

Trong đó: C là nồng độ tannin trong dịch chiết khảo sát (mg/mL) được ngoại suy dựa vào đường chuẩn và độ hấp thụ quang trong mẫu thử dịch chiết; V là thể tích dịch chiết (mL); k là hệ số pha loãng; m là khối lượng cân mẫu thử (g); a là hàm ẩm mẫu thử (%).

Hiệu suất chiết tannin từ lá Sến mật được xác định là tỷ lệ phần trăm (%) của hàm lượng tannin biểu kiến chiết được (mg/g)/hàm lượng tannin trong dược liệu đầu vào.

- Khảo sát lựa chọn các thông số của quá trình chiết xuất:

Sau khi đã lựa chọn được phương pháp chiết xuất, tiến hành khảo sát các thông số quy trình chiết gồm loại dung môi, nhiệt độ chiết, tỷ lệ DM/DL, thời gian chiết xuất. Cách tiến hành: Cân khoảng 0,5g bột lá Sến mật và chiết với các dung môi khác nhau gồm nước tinh khiết và ethanol có nồng độ từ 10 - 90%, nhiệt độ chiết từ 40 - 90°C, tỷ lệ DM/DL từ 10/1 - 40/1 (mL/g), thời gian chiết từ 5 - 60 phút. Đối với mỗi khảo sát, sau khi lựa chọn được thông số phù hợp sẽ cố định thông số đó để tiếp tục khảo sát các thông số tiếp theo.

*\* Chỉ tiêu đánh giá:* Dựa vào hàm lượng tannin biểu kiến trong dược liệu và hiệu suất chiết tannin.

### 3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành với các thông tin, dữ liệu và phương pháp minh bạch và trung thực. Kết quả của nghiên cứu được đánh giá một cách công bằng và chính xác. Số liệu nghiên cứu được Học viện Quân y cho phép sử dụng và công bố. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN**

**1. Kết quả định lượng tannin trong lá Sến mật**

**Bảng 1.** Hàm lượng tannin trong lá Sến mật.

Khối lượng cân (g)	Hàm ẩm (%)	Hàm lượng phenol toàn phần (mg/g)	Hàm lượng polyphenol không liên kết casein (mg/g)	Hàm lượng tannin (mg/g)
0,5009		10,98	1,42	9,56
0,5010	6,09	10,73	1,36	9,37
0,5004		10,55	1,38	9,18
		$\bar{X} \pm SD$		$9,37 \pm 0,19$

Bảng 1 cho thấy lá Sến mật có độ ẩm 6,09% và hàm lượng tannin là  $9,37 \pm 0,19$  mg/g tính theo dược liệu khô kiệt.

**2. Kết quả khảo sát xây dựng quy trình chiết xuất**

*\* Kết quả lựa chọn phương pháp chiết xuất:*

Tiến hành chiết xuất lá Sến mật theo các phương pháp: Chiết vi sóng, chiết hồi lưu, chiết siêu âm.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của phương pháp chiết đến chiết xuất tannin từ lá Sến mật ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 3).

Phương pháp chiết	Hàm lượng tannin biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết (%)
Chiết vi sóng	$5,25 \pm 0,36$	$56,02 \pm 1,12$
Chiết hồi lưu	$4,10 \pm 0,32$	$43,75 \pm 0,98$
Chiết siêu âm	$4,32 \pm 0,19$	$46,14 \pm 0,73$

Bảng 2 cho thấy hàm lượng và hiệu suất chiết tannin cao nhất khi chiết vi sóng (56,02%). Ngoài ra, thời gian chiết vi sóng cũng ngắn hơn (30 phút). Vì vậy, phương pháp vi sóng được lựa chọn để khảo sát các thông số quy trình chiết xuất.

Trong bào chế cao dược liệu, lựa chọn phương pháp chiết xuất là bước đầu tiên cần được khảo sát. Hiện nay, nhiều phương pháp chiết xuất khác nhau được áp dụng trong các nghiên cứu về dược liệu và có thể ứng dụng cho bào chế cao lỏng lá Sến mật. Phương pháp chiết vi sóng có nhiều ưu điểm như hiệu suất chiết cao, thân thiện với môi trường và người dùng do sử dụng các dung môi xanh (hỗn hợp ethanol - nước) [6, 7, 8, 9]. Hiệu suất chiết xuất tannin từ lá Sến mật khi sử dụng phương pháp chiết vi sóng cao hơn so với các phương pháp khác trong nghiên cứu này có thể được giải thích do dưới tác dụng của vi sóng (tần số 0,3 - 300GHz), các phân tử dung môi và các phân tử tannin đặc biệt

là các tannin ngưng tụ trong dược liệu sẽ dao động và nóng lên nhanh chóng, làm tăng khả năng hòa tan các chất vào dung môi. Đồng thời, vi sóng cũng làm phá hủy cấu trúc vách tế bào thực vật, tạo điều kiện để tannin giải phóng và khuếch tán vào dung môi chiết dễ dàng hơn so với các phương pháp truyền thống. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu đã công bố [10].

*\* Ảnh hưởng của loại dung môi:*

Tiến hành chiết vi sóng lá Sến mật ở nhiệt độ 60°C, chiết 1 lần với tỷ lệ DM/DL là 200/1, thời gian chiết 30 phút. Khảo sát các dung môi chiết gồm nước tinh khiết và ethanol có nồng độ khác nhau.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của dung môi đến chiết xuất tannin từ lá Sến mật ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 3).

Dung môi chiết	Hàm lượng tannin biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết (%)
Nước	5,25 ± 0,36	56,02 ± 1,12
Ethanol 10%	6,57 ± 0,27	70,12 ± 1,01
Ethanol 30%	7,21 ± 0,31	76,95 ± 1,34
Ethanol 50%	7,60 ± 0,36	81,11 ± 1,22
Ethanol 70%	8,06 ± 0,13	86,02 ± 0,52
Ethanol 90%	6,81 ± 0,54	72,68 ± 1,14

Kết quả bảng 3 cho thấy hiệu suất chiết khi dùng nước (56,02%) thấp hơn nhiều so với ethanol. Khi chiết bằng ethanol, tăng nồng độ từ 10% lên 70% thì hiệu suất chiết tannin cũng tăng dần từ 70,12% tới 86,02%. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ ethanol lên 90% thì hiệu suất chiết giảm còn 72,68%. Nguyên nhân có thể do lá Sến mật chứa các hợp chất taninoid có khả năng tan tốt trong ethanol 70%. Do vậy, lựa chọn ethanol 70% là dung môi để chiết xuất tannin từ lá Sến mật.

Chiết xuất tannin thường sử dụng dung môi là nước. Tuy nhiên, theo một số nghiên cứu gần đây, trong dược liệu, ngoài tannin tan tốt trong nước, còn chứa nhiều loại tannin có khả năng tan tốt trong cồn và các dung môi có độ phân cực trung bình khác [8, 9, 10]. Nghiên cứu này lựa chọn được ethanol 70% là dung môi cho hiệu suất chiết xuất tannin cao. Điều này cho thấy trong lá Sên mật, ngoài các loại tannin tan tốt trong nước còn chứa các loại tannin tan tốt trong cồn.

*\* Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết:*

Chiết vi sóng lá Sên mật với dung môi là ethanol 70%, chiết 1 lần với tỷ lệ DM/DL là 200/1, thời gian chiết 30 phút. Khảo sát với các nhiệt độ khác nhau (40° - 90°C).

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến chiết xuất tannin từ lá Sên mật ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 3).

<b>Nhiệt độ chiết (°C)</b>	<b>Hàm lượng tannin biểu kiến trong dược liệu (mg/g)</b>	<b>Hiệu suất chiết (%)</b>
40	6,51 ± 0,33	69,48 ± 0,78
50	7,19 ± 0,54	76,73 ± 1,24
60	8,06 ± 0,13	86,02 ± 0,52
70	8,66 ± 0,77	92,42 ± 1,25
80	8,79 ± 0,46	93,81 ± 0,55
90	8,70 ± 0,32	92,85 ± 0,43

Kết quả bảng 4 cho thấy khi tăng dần nhiệt độ từ 40°C lên 70°C thì hiệu suất chiết tannin cũng tăng dần. Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ từ 70°C lên 90°C thì hiệu suất chiết tăng không đáng kể. Như vậy, sự thay đổi nhiệt độ từ 70°C đến 90°C ảnh hưởng ít đến hiệu suất chiết xuất tannin. Điều này cho thấy 70°C là nhiệt độ phù hợp và được lựa chọn để chiết xuất tannin từ lá Sên mật.

*\* Ảnh hưởng của tỷ lệ DM/DL:*

Tiến hành chiết vi sóng lá Sên mật với dung môi là ethanol 70%, nhiệt độ 70°C, chiết 1 lần với thời gian 30 phút. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ DM/DL từ 10/1 - 40/1 (mL/g).



**Bảng 5.** Ảnh hưởng của tỷ lệ DM/DL đến chiết xuất tannin từ lá Sến mật ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 3).

Tỷ lệ DM/DL (mL/g)	Hàm lượng tannin biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết (%)
10/1	3,67 ± 0,13	39,17 ± 0,81
12/1	4,14 ± 0,21	44,18 ± 0,49
15/1	5,01 ± 0,42	53,36 ± 0,73
17/1	5,77 ± 0,19	61,58 ± 0,87
20/1	6,73 ± 0,45	71,82 ± 1,01
25/1	7,82 ± 1,02	83,46 ± 2,25
30/1	8,35 ± 0,19	89,11 ± 1,84
35/1	8,53 ± 0,57	91,04 ± 1,12
40/1	8,61 ± 0,53	91,89 ± 1,45

Kết quả ở bảng 5 cho thấy khi tăng dần tỷ lệ DM/DL từ 10/1 đến 40/1 làm tăng dần hàm lượng và hiệu suất chiết tannin. Khi tăng tỷ lệ DM/DL làm tăng chênh lệch gradient nồng độ hoạt chất trong và ngoài tế bào dược liệu, làm tăng quá trình khuếch tán hoạt chất vào dung môi, dẫn tới tăng hiệu suất chiết tannin. Khi tiếp tục tăng tỷ lệ từ 30/1 lên 40/1 thì lượng tannin chiết tăng không đáng kể (tăng 2,78%). Mặt khác, với tỷ lệ DM/DL là 200/1 (Bảng 4), hiệu suất chiết tannin đạt 92,42%. So sánh với kết quả khảo sát tỷ lệ

DM/DL ở nghiên cứu này cho thấy trong khoảng tỷ lệ DM/DL thay đổi từ 30/1 - 200/1, hiệu suất chiết xuất tannin tăng lên không đáng kể (89,11% so với 92,42%). Do vậy, lựa chọn tỷ lệ DM/DL là 30/1 để thực hiện các khảo sát tiếp theo.

*\* Ảnh hưởng của thời gian chiết:*

Tiến hành chiết vi sóng lá Sến mật với dung môi là ethanol 70%, nhiệt độ 70°C, chiết 1 lần với tỷ lệ DM/DL là 30/1. Khảo sát ở các thời gian chiết xuất khác nhau từ 5 - 60 phút.

**Bảng 6.** Ảnh hưởng của thời gian đến chiết xuất tannin từ lá Sến mật ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 3).

Thời gian chiết (phút)	Hàm lượng tannin biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết (%)
5	5,12 ± 0,41	54,64 ± 0,97
10	6,03 ± 0,15	64,35 ± 1,86
15	7,01 ± 0,23	74,81 ± 0,88
20	7,70 ± 0,66	82,18 ± 1,53
30	8,35 ± 0,19	89,11 ± 1,84
40	8,61 ± 0,47	91,89 ± 1,21
50	8,70 ± 0,44	92,85 ± 1,62
60	8,73 ± 0,21	93,17 ± 0,78

Kết quả ở bảng 6 cho thấy khi tăng thời gian từ 5 - 60 phút thì hiệu suất chiết tannin cũng tăng dần từ 54,64% lên 93,17%. Trong đó, tăng thời gian chiết từ 30 phút lên 60 phút thì hiệu suất chiết tăng lên không đáng kể. Do vậy, để tiết kiệm thời gian, lựa chọn thời gian chiết là 30 phút.

Áp dụng các thông số đã khảo sát được để chiết tannin từ lá Sến mật ở quy mô 30 g/mẻ với 10 mẻ chiết khác nhau. Kết quả cho thấy hiệu suất chiết tannin từ lá Sến mật đạt 89,31 ± 1,04%. Hiệu suất chiết ở quy mô lớn hơn (30 g/mẻ) không có sự thay đổi đáng kể so với khi chiết xuất ở quy mô nhỏ (0,5 g/mẻ).

## KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu lựa chọn được phương pháp và thông số quy trình thích hợp để chiết xuất tannin từ lá Sến mật: Chiết vi sóng với ethanol 70%, nhiệt độ chiết 70°C, chiết 1 lần với tỷ lệ DM/DL là 30/1 mL/g, thời gian chiết 30 phút. Với các thông số này, hiệu suất chiết tannin đạt 89,11 ± 1,84%. Khi nâng cấp lên quy mô 30 g/mẻ, hiệu suất chiết tannin đạt 89,31 ± 1,04% vẫn đảm bảo được hiệu suất như khảo sát ở quy mô nhỏ.

**Lời cảm ơn:** Chúng tôi trân trọng cảm ơn Trung tâm Nghiên cứu ứng dụng và sản xuất thuốc, Học viện Quân y đã hỗ trợ kinh phí để thực hiện nghiên cứu này.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Le Son Hoang, Tran Manh Hung, Joo SL, et al. Anti-inflammatory activity of pyrrolizidine alkaloids from the leaves of *Madhuca pasquieri* (Dubard). *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2015; 63(6):481-484.
2. Le Son Hoang, Tran Manh Hung, et al. Isolation of a new homomonoterpene from *Madhuca pasquieri* and effect of isolated compounds on NO production. *Natural Product Communications*. 2016; 11(6):729-732.
3. Lê Thế Trung và CS. Nghiên cứu cây Sến và dạng bào chế Maduxin. Báo cáo tổng kết đề tài cấp Bộ Quốc Phòng, Học viện Quân y. 1990.
4. Lê Bách Quang và CS. Hoàn thiện công nghệ sản xuất thuốc mỡ Maduxin từ lá cây Sến mật (*Madhuca pasquieri*) để điều trị vết bỏng, vết thương. Báo cáo tổng kết dự án, Học viện Quân y. 2006.
5. Bộ Y tế. Dược điển Việt Nam V. NXB Y học. 2017:273-274.
6. Akhtar I, Javad S, Zubaida Y, et al. Microwave assisted extraction of phytochemicals an efficient and modern approach for botanicals and pharmaceuticals. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2019; 32(1):223-230.
7. Cecilia SE, Erland B. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of chromatography A*. 2000; 902:227-250.
8. Dang Xuan Cuong, Nguyen Xuan Hoan, Dinh Huu Dong, et al. Tannins: Extraction from plants. *Tannins-structural Properties, Biological Properties and Current Knowledge*. 2019. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.86040>.
9. Das AK, Islam MN, Faruk MO, Ashaduzzaman M, Dungani R. Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. *South African Journal of Botany*. 2020; 135:58-70.
10. Ciuperca O, Ionescu E, Secula M, Volf I. Microwave-assisted extraction of condensed tannins from branches of *Prunus spinosa* L.: Response surface modeling and optimization. *Processes*. 2023; 11:2024.