**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC MỞ TP.HCM**



**BÁO CÁO THỰC TẬP TỐT NGHIỆP**

***Tên đề tài:***

**ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ỨC CHẾ ENZYME α-GLUCOSIDASE**

**TỪ LÁ MẬN NHẰM ỨNG DỤNG VÀO SẢN XUẤT THỰC PHẨM**

**KHOA CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

**CHUYÊN NGÀNH: CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM**

**CBHD: Tiến sĩ- Nguyễn Thị Lệ Thủy**

**SVTH: Lâm Thị Thanh Thảo**

**MSSV: 2153023102**

**Khóa: 2021-2025**

***Tp. Hồ Chí Minh, tháng 01. năm 2025***

# **LỜI CẢM ƠN**

Trong bài báo cáo thực tập này, em muốn bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến quý thầy, cô trong khoa Công Nghệ Sinh Học trường Đại Học Mở Thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ và định hình con đường nghề nghiệp của em.

Nguyện gửi lời cảm ơn chân thành đến cô TS. Nguyễn Thị Lệ Thủy, người đã dành thời gian, tâm huyết hướng dẫn, giúp đỡ em hoàn thiện chuyên đề báo cáo thực tập này.

Xin chân thành cảm ơn thầy Bùi Thanh Tùng, người đã tận tâm giảng dạy, mang đến những kiến thức chuyên môn trong đề tài nghiên cứu của em góp phần không nhỏ vào việc hoàn thành khóa thực tập này.

Nhà trường đã mang lại cho em cơ hội thực tập tại địa điểm đầy đủ cơ sở vật chất, giúp em hiểu rõ hơn những lý thuyết về ngành công nghệ thực phẩm và áp dụng kiến thức được học vào quy trình thực hành. Qua trải nghiệm này, em nhận thức được nhiều điều mới mẻ và hữu ích cho công việc sau này của bản thân.

Chân thành cảm ơn gia đình và bạn bè đã động viên, khích lệ, tạo điều kiện và giúp đỡ em trong suốt quá trình thực hiện và hoàn thành báo cáo thực tập này.

Với kiến thức còn hạn chế, em hiểu được rằng có những điểm cần cải thiện trong chuyên đề này. Em mong nhận được những góp ý quý báu từ quý thầy cô để tích lũy thêm nhiều kinh nghiệm và phát triển tốt hơn.

# **DANH MỤC BẢNG BIỂU**

[Bảng 1: Nghiệm thức đồ thị đường chuẩn acid gallic 23](#_Toc185278392)

[Bảng 2: Độ ẩm và hiệu suất thu nhận cao chiết từ lá mận 25](#_Toc185278393)

[Bảng 3: Tổng hàm lượng polyphenol của mỗi cao phân đoạn 26](#_Toc185278394)

# **DANH MỤC HÌNH VẼ**

# **DANH MỤC SƠ ĐỒ**

# **DANH MỤC PHỤ LỤC**

Mục lục

[**LỜI CẢM ƠN** 2](#_Toc185275400)

[**DANH MỤC BẢNG BIỂU** 3](#_Toc185275401)

[**DANH MỤC HÌNH VẼ** 4](#_Toc185275402)

[**DANH MỤC SƠ ĐỒ** 5](#_Toc185275403)

[**DANH MỤC PHỤ LỤC** 6](#_Toc185275404)

[**ĐẶT VẤN ĐỀ** 8](#_Toc185275405)

[**PHẦN I: TỔNG QUAN** 9](#_Toc185275406)

[1.1 Cây mận 9](#_Toc185275407)

[1.1.1 Nguồn gốc, lịch sử cây mận 9](#_Toc185275408)

[1.1.2 Đặc tính sinh vật học của mận 11](#_Toc185275409)

[1.1.3 Đặc tính vật lý và dinh dưỡng của lá mận 11](#_Toc185275410)

[1.2 Enzyme α-glucosidase 12](#_Toc185275411)

[1.2.1 Định nghĩa enzyme α-glucosidase 12](#_Toc185275412)

[1.2.2 Ức chế enzyme α-glucosidase 13](#_Toc185275413)

[1.2.3 Các nghiên cứu về việc ức chế enzyme α-glucosidase 13](#_Toc185275414)

[**II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU** 16](#_Toc185275415)

[2.1 Vật liệu, hóa chất, thiết bị và dụng cụ 16](#_Toc185275416)

[2.1.1 Vật liệu 16](#_Toc185275417)

[2.1.2 Hóa chất 16](#_Toc185275418)

[2.1.3 Thiết bị 16](#_Toc185275419)

[2.1.4 Dụng cụ 17](#_Toc185275420)

[2.2 Phương pháp đánh giá khả năng ức chế enzyme α-glucosidase 18](#_Toc185275421)

[2.2.1 Thu cao phân đoạn 18](#_Toc185275422)

[2.2.2 Khảo sát khả năng ức chế enzyme α-glucosidase của các cao phân đoạn 19](#_Toc185275423)

[2.2.3 Xử lý số liệu và thống kê 20](#_Toc185275424)

[2.3 Phương pháp định lượng polyphenol 20](#_Toc185275425)

[2.3.1 Xác định hàm lượng polyphenol của từng cao phân đoạn 20](#_Toc185275426)

[2.3.2 Xử lý số liệu và thống kê 21](#_Toc185275427)

[**III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN** 23](#_Toc185275428)

[3.1 Thu cao phân đoạn 23](#_Toc185275429)

[3.2 Hoạt tính ức chế α-glucosidase của các cao phân đoạn 25](#_Toc185275430)

[3.3 Định lượng hàm lượng polyphenol trong lá mận 25](#_Toc185275431)

[**IV. KẾT LUẬN NGHIÊN CỨU VÀ ĐỀ NGHỊ** 27](#_Toc185275432)

[**TÀI LIỆU THAM KHẢO** 28](#_Toc185275433)

# **ĐẶT VẤN ĐỀ**

Nền nông nghiệp Việt Nam đã và đang phát triển trở thành một trong những nền nông nghiệp lớn trên thế giới. Hằng năm, sản lượng các giống cây ăn quả của nước ta có hiệu suất ngày càng cao với sự đa dạng phong phú chủng loại cây trồng. Vào mỗi mùa cây rụng lá, để chuẩn bị cho sự đâm chồi ra hoa kết quả, hay vào mùa thu hoạch khi số lượng lá rụng rất nhiều và không được tận dụng triệt để công dụng của nó. Lá cây chứa hàm lượng lớn các chất có thể ứng dụng trong nhiều ngành chẳng hạn như ngành công nghiệp thực phẩm, thực phẩm chức năng, y dược, …

Hiện nay có nhiều nghiên cứu tập trung sử dụng nguyên liệu tự nhiên để giảm thiểu sự có mặt của các enzyme có trong thực phẩm nhằm ứng dụng theo mong muốn của người tiêu dùng. α-Glucosidase là một trong những enzyme chính tham gia vào quá trình phân hủy tinh bột và hấp thụ glucose ở ruột. Việc ức chế enzyme α-glucosidase có thể làm chậm quá trình vận chuyển carbohydrate vào máu, làm giảm đáng kể sự gia tăng lượng đường trong máu sau khi ăn chế độ ăn nhiều carbohydrate và từ đó có thể kiểm soát bệnh tiểu đường loại 2.

Với sự dồi dào các giống cây ăn quả, việc tăng cường lợi ích của lá cây sẽ góp phần nâng cao chất lượng nền nông nghiệp của nước ta. Trong đó, có nhiều loại cây ăn quả vừa được ưa chuộng với giống cây trong nước lẫn giống cây nhập khẩu từ nước ngoài điển hình như cây mận. Mận- một loại quả không quá xa lạ, mùa mận thường trong khoảng tháng 6-tháng 7 hàng năm. Sau mỗi mùa thu hoạch, lá mận không được tận dụng mà chỉ vứt đi. Do đó, có thể sử dụng lá mận phát triển thêm nhiều sản phẩm nhằm đa dạng hóa sản phẩm đáp ứng nhu cầu của người tiêu dung. Do đó việc đánh giá khảo sát khả năng ức chế -glucosidase từ dịch chiết lá mận ứng dụng vào sản xuất thực phẩm sẽ giúp giải quyết được vấn đề này.

# **PHẦN I: TỔNG QUAN**

* 1. Cây mận

### 1.1.1 Nguồn gốc, lịch sử cây mận

Mận thuộc họ Hoa Hồng (*Rosaceae*) là một loại cây ăn quả của các vùng á nhiệt đới. Trên thế giới có hai loại mận chính:

* *Prunus domestica* hay mận châu Âu (2n=48) là một loại cây ôn đới có yêu cầu khắc khe về nhiệt độ, mùa đông không có lạnh, khó khăn trong việc ra nụ hoa và ngay ở vùng Địa Trung Hải cũng chỉ ở những vùng cao 600-1000 m mới có sản lượng kinh tế. Mận thường mọc chậm, thời gian chín muộn.
* *Prunus salicina*: ở các sách tiếng Nhật, Anh, Pháp thường gọi là mận Nhật Bản và sách tiếng Trung Quốc gọi là mận Trung Quốc (2n=16). Mận Trung Quốc mọc nhanh, thời gian chính sớm, chịu rét yếu hơn mận châu Âu và đòi hỏi về độ lạnh thấp cho nên có thể trồng ở các xứ tương đối nóng; tất cả các giống mận trồng ở miền Bắc Việt Nam đều thuộc loại này.

Mận châu Âu được trồng nhiều hơn mận Trung Quốc và ở các nước như Nam Tư, Rumani, Cộng hòa liên bang Đức, Mỹ. Đa số các giống thuộc loại này, đòi hỏi lạnh nhiều, cây to, mọc thẳng đứng. Quả to nhỏ khác nhau màu sắc không đồng đều, xanh lục, xanh tím, vàng, đỏ hình dáng tròn hoặc dài. Mận châu Âu không giống được ở các xứ nóng. Người Pháp có mang sang trồng ở Sapa một số cây.

Mận Trung Quốc (hay Nhật Bản) trồng phổ biến nhất ở Trung Quốc, Nhật Bản, vùng Địa Trung Hải, vùng California. Chịu lạnh không bằng mận châu Âu nhưng có giống trồng lên tận các tỉnh Hắc Long Giang, Tân Cương vĩ tuyến 45-48oC. Hình thù cây tùy loại. Quả có nhiều màu sắc: xanh lục, đỏ, vàng nhưng không bao giờ có màu xanh tím như mận châu Âu, quả thường to, nhãn bóng, ít phấn. Một đặc điểm nữa của mận Trung Quốc là khi tới mùa thì nụ hoa rất nhiều, cây sai quả, hoa ra sớm và quả cũng chín sớm.

Mận là một loại quả mà phải có mùa đông thật sự lạnh như ở miền Bắc Việt Nam mới có thể trồng được. Tuy nhiên, ở các vùng đồng bằng miền Bắc, nhiệt độ còn quá cao so với yêu cầu lạnh của mận, dù là mận Trung Quốc (Prunus salicina). Điều đó cho thấy rằng dù là giống mận nào cũng chỉ trồng về phía Nam tới Ninh Bình, Thanh Hóa; ở Nghệ An, Hà Tĩnh phải lên các vùng núi Phủ Quì, Sông Con, Hương Sơn mới có mận.

Ở miền Nam, vùng Đà Lạt, có trồng một số giống mận Salicina nhưng sản lượng phẩm chất không tốt lắm. Việc trồng mận thuận lợi nhất ở miền Bắc là các vùng cao trên 800m từ Hà Tĩnh trở ra (ví dụ: Sapa, Bắc Hà, tỉnh Lào Cai, Đồng Văn tỉnh Hà Giang). Nơi đây mận mọc thực sự như những cây ven đường, không chăm sóc cũng sai quả và một số nơi nhiều đến nỗi rụng đầy dưới gốc cây, dù vậy nhưng chất lượng hơn hẳn mận trồng ở đồng bằng. Vùng Lạng Sơn chỉ có độ cao 200-300m, tuy vậy nhờ có lợi thế địa hình hướng về phía Bắc có mùa đông lạnh nên cũng có nhiều giống mận tốt, ví dụ mận đường, mận thép v.v… vùng Thất Khê.

Theo Guierơ, thành phân trong mận chứa 82% nước, 8-10% đường bột, 1,5% acid. Như vậy mận là một loại quả chua, hơi ít đường. Các dương chất trong mận rất nhiều, ví dụ như vitamin A chỉ thua có mơ, bí đỏ và hơn nhiều loại quả khác, khá giàu chất khoáng với 0,6% gồm: Fe, Ca, P, Mg, K, Mn v.v… Từ những ưu điểm đó, mận đươc đa dạng hóa thành nhiều sản phẩm khác nhau, trong đó mận phơi khô là một thực phẩm quý nhờ chứa nhiều đường, nhuận tràng, dễ tiêu, rất cần thiết đối với người bị bệnh táo. Giá trị của mận không thấp, sở dĩ nhiều người không thích ăn vì hiện tại còn nhiều giống mận xấu, còn giống mận ngon hợp khẩu vị lại ít phổ biến.

Tóm lại: mận là một cây ăn quả mang tầm giá trị của các miền ôn đới. Ở nước ta chỉ có miền Bắc và nhất là ở các vùng cao mới có điều kiện trồng. Các vùng này mận rất dễ trồng, sai quả sớm, quả có thể ứng dụng rộng rãi. Trước mắt để góp phần cải thiện nền kinh tế cho người dân, nên mận được coi là một cây ăn quả quan trọng ở các vùng cao.

### 1.1.2 Đặc tính sinh vật học của mận

Ở đồng bằng, mận thường chín vào tháng 5, 6; vùng núi cao mận chín muộn hơn 1, 2 tháng và còn tùy giống chín sớm hay muộn. Tùy giống mận sẽ thích hợp với từng đặc tính khí hậu khác nhau, đa số ưa độ ẩm không khí thấp, do đó vùng cao xa biển là nơi trồng thích hợp nhất.

Nhiệt độ là yếu tố ảnh hưởng lớn nhất đến cây mận. Trong điều kiện nước ta không có sương, tuyết nên vấn đề phải quan tâm đến không phải là nhiệt độ quá thấp mà là quá cao. Nhu cầu lạnh của mận là khoảng 700-1000 giờ, nhiệt độ là 7,2oC hay thấp hơn, cần phải có khoảng 1 tháng nhiệt độ trung bình dưới 7,2oC mới đủ lạnh cho mận. Vùng núi cao miền Bắc như Đồng Văn, Sapa yêu cầu lạnh được đáp ứng đầy đủ hơn, có thể trồng được mận tốt, quan trọng là chọn giống thích hợp.

Mận ở các khí hậu khô hạn mưa dưới 300 mm năm nhưng tiêu tưới đủ thì vẫn đạt năng suất cao, chất lượng tốt. Ở các núi cao, hay có sương mù, độ ẩm cao, lá mận dễ bị bệnh nấm phá hoại. Mận có bộ rễ không đâm sâu vào đất nên mận không chịu hạn và phải tưới khi trời không mưa, đặc biệt nếu quả đang lớn việc bổ sung nước là không thể thiếu. Ở miền bắc thời gian tháng 6-7 có mưa phùn, độ ẩm không khí thường cao nên yêu cầu chống hạn không lớn.

Vì có bộ rễ ăn nông, nên mận nổi tiếng là phù hợp đối với hầu hết điều kiện đất đai. Tuy nhiên không nên chỉ dựa trên khả năng này và trồng mận vào đất quá xấu. Thực sự mận có thể trồng ở các đất nông nhưng phải thoáng và dễ thoát nước. Vì sản lượng mận khá cao, đất nông thì khả năng cung cấp chất dinh dưỡng ít, do đó nên chọn đất chứa nhiều chất dinh dưỡng và phải chú ý thoát nước. Nếu đất nhẹ cần lưu ý bón phân. Về ánh sáng, yêu cầu của mận cũng khá nghiêm ngặt. Mận đạt sản lượng cao và chất lượng tốt nhất ở nơi nhiều ánh sáng, nhưng đất phải đủ ẩm.

### 1.1.3 Đặc tính vật lý và dinh dưỡng của lá mận

Lá mận mọc sát nhau, số chồi lá nhiều và dễ phát triển thành cành. Một số giống như mận Tam Hoa cành ra sớm, thân cây ngắn hơi cong về phía trước. Về bản chất cây mận đều rụng lá vào mùa đông do lạnh, thời gian này cây được nghỉ ngơi, sau đó mới ra mầm, ra nụ được nhiều. Vì vậy mà việc rụng lá được coi là một tiêu chuẩn giống tốt. Trong điều kiện khí hậu miền Bắc Việt Nam ít hay không có sương tuyết, cây con thường có biểu hiện không rụng lá hoặc rụng ít, đặc biệt khi cây còn non. Cây con một năm có thể ra 3-4 đợt cành. Cây trưởng thành, đến tuổi ra quả thì khác. Mùa đông lá rụng, sang xuân vào tháng 2 khi nhiệt độ tăng dần thì chồi bật lên. Trên một cành có rất nhiều chồi. Thường chồi phía giữa và phía chân cành là nụ hoa và chồi phía ngọn là chồi lá.

Trong lá mận có nhiều hoạt chất sinh học như các hợp chất polyphenol (acid phenolic, anthocyanin, flavanol), chất xơ (pectin), tannin, một số khoáng chất (ví dụ: kali, phốt pho, canxi và magie) và vitamin.

Hàm lượng polyphenol tổng số, anthocyanin và flavanol trong lá mận khá thấp (lần lượt là 160-300 mg/100 g, 1833 mg/100 g và 914 mg/100 g quả). Catechin, có mặt với số lượng từ 1,3 đến 3,9 mg/100 g, được phát hiện là hợp chất chiếm ưu thế đại diện cho các monome và dimer hoạt tính sinh học của flavanol. Hàm lượng acid hydroxycinnamic cao nhất, đặc biệt là acid neochlorogenic, (46-85 mg/100 g) được tìm thấy trong hầu hết các giống mận. Các sắc tố anthocyanin chính của mận là cyanidin-3-glucoside và cyanidine-3-rutinoside, chúng chiếm 42-62% tổng số anthocyanin. Tất cả các giống mận được nghiên cứu đều cho thấy hoạt động polyphenoloxidase cao nhưng có sự khác biệt đáng kể giữa các giống cụ thể, dao động từ 3200 đến 17200 U/g.

## 1.2 Enzyme α-glucosidase

### 1.2.1 Định nghĩa enzyme α-glucosidase

Glucosidase là các enzyme thuộc lớp enzyme hydrolase chịu trách nhiệm phân hủy thủy phân carbohydrate (tinh bột, glycogen và các dẫn xuất [disaccharides](https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/disaccharide) của chúng ) thành[các monome](https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/monomer" \o "Tìm hiểu thêm về monome từ các Trang chủ đề do AI tạo ra của ScienceDirect). Enzyme glucosidase có hai loại là α-glucosidase và β-glucosidase được phân chia dựa trên hướng của liên kết mà chúng cắt. Trong đó α - glucosidase là chất xúc tác chính của quá trình phân hủy polysaccharides thành monosaccharides có thể hấp thụ được. Các enzyme α-glucosidase có thể là trehalase, maltase-glucoamylase, lactase và sucrase-isomaltase. α-Glucosidase là một trong những enzyme chính tham gia vào quá trình phân hủy tinh bột và hấp thụ glucose ở ruột.

### 1.2.2 Ức chế enzyme α-glucosidase

Việc ức chế các enzyme này có thể làm giảm quá trình vận chuyển carbohydrate vào máu, làm chậm đáng kể sự gia tăng lượng đường trong máu sau ăn đối với chế độ ăn nhiều carbohydrate và do đó có thể là giải pháp quan trọng trong việc kiểm soát bệnh tiểu đường loại 2.

Trên thị trường có nhiều phương pháp ức chế loại enzyme này nhưng một nhược điểm chính cũng là điều đáng lưu ý nhất của việc sử dụng các chất ức chế α-glucosidase chẳng hạn như acarbose là việc xuất hiện tác dụng phụ như chướng bụng, đầy hơi, tiêu chảy. Những tác dụng phụ như vậy có thể là do ức chế quá mức dẫn đến quá trình lên men vi khuẩn bất thường của carbohydrate chưa tiêu hóa trong ruột hết. Một số nghiên cứu cho rang việc quản lý chế độ dinh dưỡng của bệnh nhân tiểu đường loại hai bằng cách sử dụng thực phẩm có nguồn gốc thực vật và các sản phẩm từ thực vật có thể mang lại hiệu quả tối ưu hơn vì khả năng đáp ứng nhu cầu cao và không mang đến tác dụng phụ.

### 1.2.3 Các nghiên cứu về việc ức chế enzyme α-glucosidase

Bên cạnh đó, chất ức chế glucosidase có tiềm năng điều trị đầy hứa hẹn trong việc điều trị nhiều rối loạn như nhiễm virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV), ung thư di căn và [các bệnh tích tụ lysosome](https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/lysosome-storage-disease" \o "Tìm hiểu thêm về các bệnh lưu trữ lysosome từ các Trang chủ đề do AI tạo ra của ScienceDirect). α-Glucosidase xúc tác quá trình thủy phân [polysaccharide](https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/polysaccharide) thành đường đơn, dẫn đến tăng nồng độ glucose trong máu. Ban đầu, xét nghiệm ức chế α-glucosidase dựa trên [esculin](https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/esculin) làm chất nền. Trong phương pháp này chất ức chế α- glucosidase xuất hiện dưới dạng đốm trắng trên nền nâu sẫm. Nhược điểm của phương pháp là khó loại bỏ kết quả dương tính giả. Sau đó, có một vài nghiên cứu mới chỉ ra rằng việc sử dụng 2-naphthyl-α- d -glucopyranoside hoặc 2-naphthyl-β- d -glucopyranoside làm chất nền cho enzyme α-glucosidase sẽ hiệu quả hơn. Sau khi ủ ở nhiệt độ 37̇ °C trong môi trường ẩm, 2-naphthol tạo ra trong phản ứng giữa chất nền và enzyme cùng lúc đó phản ứng với muối [Fast Blue](https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/fast-blue) B tạo ra thuốc nhuộm diazonium màu tím. Chất ức chế α-glucosidase được nhìn thấy dưới dạng các đốm vàng trên nền tím.

Ngoài ra, thực vật có nhiều thành phần hoạt tính sinh học được coi là rào cản tiềm ẩn để chống lại các biến chứng liên quan đến oxy hóa của căn bệnh tiểu đường loại hai. Có những nghiên cứu về việc sử dụng các loài thực vật để đánh giá đặc tính ức chế enzyme α-glucosidase. Chẳng hạn như chiết xuất methanol từ quả *Vaccinium arctostaphylos* cho thấy giá trị IC50 thấp hơn là 3,9 ± 0,9 μg/mL so với acarbose (IC 50 =10,4 ± 0,7 μg/mL) đối với α-glucosidase của nấm men (Salehi et al., 2013). Bên cạnh đó, chiết xuất nước từ quả của *S. cumini* ức chế α-glucosidase từ Saccharomyces cerevisiae với IC50 là 20,9 ± 1,8 μg/mL, hiệu quả hơn acarbose (giá trị IC50 là 581,1 ± 19,4 μg/mL) (Trinh và cộng sự, 2016). Hơn nữa, một số nghiên cứu trên các bộ phận khác nhau của *C. zeylanicum* đã báo cáo rằng khả năng ức chế glucosidase cao hơn so với đối chứng dương tính. Chẳng hạn như, Salehi và cộng sự (2013) đã tìm thấy hoạt tính ức chế α-glucosidase (nấm men) lớn hơn đối với chiết xuất dichloromethane, ethyl acetate và hexane từ vỏ cây *C. zeylanicum* (IC50 = 2,3 ± 0,5, 3,1 ± 0,6 và 7,0 ± 0,9 μg/mL, tương ứng) khi so sánh với acarbose (IC50 = 10,4 ± 0,7 μg/mL). Chiết xuất methanol (IC50 = 5,83 μg/mL) cũng cho thấy khả năng ức chế lớn hơn acarbose (IC 50 = 36,89 μg/mL) (Shihabudeen và cộng sự, 2011). Ngoài ra, Aumeeruddy-Elalfi et al. (2017) đã thử nghiệm lá *C. zeylanicum* về đặc tính ức chế đối với α-glucosidase từ nấm men S. cerevisiae và phát hiện ra rằng giá trị IC50 của tinh dầu lá (64,52 ± 0,69 μg/mL) thấp hơn bảy lần so với acarbose (448,80 ± 0,81 μg/mL).

Đặc biệt ở lá mận mang trong mình những hoạt chất như alkaloid, tannin, flavonoid, polyphenol có khả năng ức chế hoạt tính của enzyme α-glucosidase. Lá mận cũng được phân tích về hàm lượng phenolic hòa tan và hoạt động chống oxy hóa liên kết với việc dọn gốc tự do. Hoạt động ức chế của từng phenolic được tìm thấy trong thông tin phenolic của lá mận. Với từng mục tiêu khác nhau các phenolic cũng được đem ra so sánh và kết quả cho thấy mối tương quan giữa tổng mức độ hoạt động của phenolic và khả năng chống oxy hóa. Từ đó đưa ra giả thuyết lợi ích của việc ứng dụng các sản phẩm làm từ lá mận với mục đích phòng ngừa bệnh tiểu đường, để làm được điều này có liên quan tới hoạt động chống oxy hóa cùng lúc liên kết với phenolic hòa tan cao dẫn đến tiềm năng ức chế α-glucosidase. Sau cùng cho thấy khả năng làm giảm tình trạng tăng đường huyết có liên quan đến quá trình oxy hóa và nếu có thể ứng dụng được phương pháp này sẽ thỏa mãn mong muốn ít hoặc không có tác dụng phụ khi ức chế enzyme α-glucosidase.

# **II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

## 2.1 Vật liệu, hóa chất, thiết bị và dụng cụ

### 2.1.1 Vật liệu

Lá của cây mận được thu hái ở thị trấn Tân Phú, tỉnh Đồng Nai từ tháng 09/2024 – tháng 10/2024.

Lá tươi được vận chuyển về và định danh tại phòng thí nghiệm Sinh Hóa, khoa công nghệ sinh học, trường Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh.

### 2.1.2 Hóa chất

- Cồn 96o

- Ethyl acetate

- N-hexane

- DMSO 5%

- Dung dịch đệm phosphate pH 6.8

- p-Nitrophenyl α-D-lucoside (pNPG)

- Enzyme α-glucosidase

- NaOH 0,1M

- Acid galic

- Forlin 10%

- Na2CO3 10%

### 2.1.3 Thiết bị

- May xay

- Tủ sấy

- Bình hút ẩm

- Cân phân tích

- Cân kỹ thuật

- Máy đo quang phổ

- Nồi và bếp điện

### 2.1.4 Dụng cụ

- Ống nghiệm

- Giá đỡ ống nghiệm

- Phễu

- Bông gòn

- Muỗng kim loại

- Becher 500ml, 250ml, 100ml

- Erlen 250ml

- Pipet 10ml, 5ml, 1ml

- Ống đong 100ml, 200ml

- Bóp cao su

- Nhiệt kế

- Đũa khuấy

- Lọ thủy tinh

## 2.2 Phương pháp đánh giá khả năng ức chế enzyme α-glucosidase

### 2.2.1 Thu cao phân đoạn

Lá mận tươi (*Prunus salicina*.) được rửa sạch dưới vòi nước chảy để loại bỏ đất cát và các tạp chất. Sau đó, lá được phơi khô ở ngoài nắng đến khi độ ẩm dưới 12%. Lá mận được cắt nhỏ, xay thành bột mịn.

Sấy cốc trong tủ sấy ở nhiệt độ 105°C đến khối lượng không đổi, dùng cân phân tích xác định khối lượng cốc m0 (g). Sau đó cho 1g bột lá mận vào cốc sấy, đem đi cân trên cân phân tích, ghi nhận khối lượng, khi đó tổng khối lượng cốc và mẫu là m1 (g). Tiếp theo, đặt cốc sấy vào tủ sấy ở nhiệt độ 105°C đến khối lượng không đổi (trong 7 tiếng). Sau đó, lấy cốc sấy cho vào bình hút ẩm khoảng 30 phút, cân cốc mẫu đã sấy. Khi đó. khối lượng cốc và mẫu sấy là m2 (g) (AOAC, 1998). Ghi nhận số liệu và tính độ ẩm nguyên liệu theo công thức:

Độ ẩm (%) = × 100

Trong đó:

m0: Khối lượng cốc sau khi sấy đến khối lượng không đổi (g)

m1: Khối lượng cốc và mẫu trước khi sấy (g)

m2: Khối lượng cốc và mẫu sau khi sấy đến khối lượng không đổi (g)

Bột lá được chia ra mỗi lọ 20g bột và ngâm trong bốn loại dung môi là nước, cồn 96o, ethyl acetate, n-hexane với tỉ lệ 1:10 ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Sau quá trình trích ly, hỗn hợp được lọc bằng bông gòn, thu dịch chiết và đuổi dung môi ở nhiệt độ dưới 50oC rồi thu được cao thô. Cao chiết được bảo quản ở nhiệt độ 4oC để sử dụng vào các thí nghiệm tiếp theo.

Độ ẩm của nguyên liệu và độ ẩm của cao chiết đươc xác định trước và từ đó tinh được hiệu suất của quá trình chiết cao của mỗi dung môi theo công thức:

H (%) = × 100

### 2.2.2 Khảo sát khả năng ức chế enzyme α-glucosidase của các cao phân đoạn

Hoạt tính ức chế enzyme của các cao phân đoạn được xác định bằng phương pháp đo lượng p nitrophenol được tạo ra theo Lê Quốc Duy và cộng sự, có điều chỉnh.

Cao chiết được pha bởi DMSO 5% thành nồng độ 5,0 mg/mL và pha loãng thành dãy nồng độ 0,2; 0,4; 06 mg/mL đến 2,0 mg/mL bằng dung dịch đệm phosphate pH 6.8.

Thí nghiệm được tiến hành như sau: 20 μL cao chiết, 50 μL đệm phosphate pH 6.8 và 50 μL p Nitrophenyl α-D-Glucoside (pNPG) 0,5 mg/mL ủ ở nhiệt độ 37oC, thời gian 15 phút. Tiếp theo, thêm 10 μL enzym α-glucosidase 0,2 u/mL vào hỗn hợp, ủ ở nhiệt độ 37oC, thời gian 15 phút. Sau cùng, bổ sung 100 μL NaOH 0,1M để dừng phản ứng. Hoạt động ức chế của enzyme α-glucosidase được xác định bằng cách đo quang phổ ở bước sóng λ = 405 nm.

Song song với thí nghiệm trên, tiến hành đánh giá hiệu quả của việc ức chế enzyme α-glucosidase với đối chứng dương là Acarbose ở các mức nồng độ tương ứng. Đối với mẫu đối chứng 20 μL thay cao chiết bằng 20 μL dung dịch đệm phosphate pH 6,8.

Phần trăm enzyme α-glucosidase bị ức chế (%) được tính dựa vào lượng p-nitrophenol tạo thành từ pNPG trong phản ứng dựa vào giá trị đo độ hấp thu quang phổ theo công thức (3):

% ức chế α−glucosidase = ×100

Dựa vào phần trăm enzyme bị ức chế và nồng độ mẫu, dựng đường chuẩn có phương trình y = ax + b và xác định chỉ số IC50.

IC50 được định nghĩa là nồng độ (mg/mL) của mẫu mà tại đó có thể ức chế 50% hoạt tính của enzyme, mẫu có hoạt tính càng thấp thì giá trị IC50 càng cao.

### 2.2.3 Xử lý số liệu và thống kê

Các số liệu sau khi thu thập ghi nhận sẽ được xử lý và so sánh thống kê bằng phần mềm Statgraphics Plus 3.0 cho Windows. Các số trung bình trong cột của bảng với các mẫu tự khác nhau đính kèm khác biệt có ý nghĩa ở mức P ≤ 0,05 giữa các trung bình.

## 2.3 Phương pháp định lượng polyphenol

### 2.3.1 Xác định hàm lượng polyphenol của từng cao phân đoạn

Hàm lượng polyphenol trong lá mận được xác định bằng phương pháp đo quang phổ Folin–Ciocalteu. Phương pháp thử nghiệm dựa trên quy trình được báo cáo bởi Li et al với một số sửa đổi nhỏ.

Đầu tiên xây dựng đồ thị đường chuẩn acid gallic với acid galic, forlin và Na2CO3 chia thành nhiều nghiệm thức tạo thành dãy nồng độ. Bảng bố trí thí nghiệm như bảng 1. Phương trình biểu diễn đường chuẩn:

y = 7,1529x + 0,1182

Tiếp theo để xác định hàm lượng polyphenol của lá mận theo mỗi cao phân đoạn: nước, cồn 96o, ethyl acetate, n-hexane. Lấy 1 mL mẫu dịch chiết của từng cao phân đoạn vào ống nghiệm hòa với 2,5 mL dung dịch forlin 10% (v /v). Lắc đều các mẫu polyphenol và để nơi tránh ánh sáng trong vòng 5 phút. Tiếp theo, thêm 2,5mL dung dịch Na2CO3 10% và lắc đều. Để hỗn hợp ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Độ hấp thụ của các mẫu được đo ở 765 nm. Mỗi cao phân đoạn lặp lại thí nghiệm ba lần và ghi nhận số liệu.

Lưu ý: Nếu giá trị OD sau khi đi không nằm trên đồ thị đường chuẩn acid galic, tiến hành pha loãng thành tỉ lệ 1:10; 1;50; 1;100; 1:200. Đến khi giá trị OD thuộc trên đồ thị thì quá trình kết thúc.

Hàm lượng polyphenol toàn phần chứa trong mẫu cao chiết được đo lường bằng hàm lượng acid gallic đương lượng (GA) và được tính bằng công thức:

P =

Trong đó:

P: hàm lượng polyphenol trong nguyên liệu (mg/g)

X: giá trị x từ đường chuẩn acid gallic (µg/mL)

K: hệ số pha loãng

V: thể tích dịch sau khi lọc thu được (ml)

m: khối lượng nguyên liệu ban đầu (g)

W: độ ẩm nguyên liệu (%)

### 2.3.2 Xử lý số liệu và thống kê

Phân tích thống kê số liệu: Tất cả các kết quả thực nghiệm được phân tích bằng phần mềm Statgraphics Plus 3.0 cho Windows. Mỗi thí nghiệm đã được thực hiện trong ba lần. Phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) với kiểm định LSD được sử dụng để xác định sự khác biệt ý nghĩa (p<0,05) giữa các trung bình.

Bảng 1: Nghiệm thức đồ thị đường chuẩn acid gallic

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Hóa chất | Ống nghiệm | | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Dung dịch acid galic 1mg/ml (ml) | 0 | 0.05 | 0.1 | 0.15 | 0.2 | 0.25 | 0.3 |
| Nước cất (ml) | 5 | 4.95 | 4.9 | 4.85 | 4.8 | 4.75 | 4.7 |
| Thuốc thử Folin-Ciocalteu 10%(ml) | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| Lắc đều trong 5 phút | | | | | | | |
| Dung dịch Na2CO3 10% (ml) | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| Lắc đều, để yên ở nhiệt độ phòng trong 30 phút đo độ hấp thụ ở bước sóng 765nm | | | | | | | |

# **III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN**

## 3.1 Thu cao phân đoạn

Các thành phần hoạt chất sinh học của lá mận sẽ thay đổi dựa trên môi trường sinh sống, khí hậu, giống loài. Bột lá mận sau khi được thu nhận có độ ẩm là 4%. Tiếp theo tiến hành trích ly với từng dung môi và lọc thu nhận cao chiết, khả năng hòa tan của các chất mang hoạt tính sinh học trong lá mận không giống nhau phụ thuộc vào dung môi sử dụng. Kết quả thí nghiệm chứng mình rằng dung môi ngâm trích- đặc biệt độ phân cực của dung môi là một yếu tố rất quan trọng. gây ảnh hưởng lớn đến hiệu suất trích ly. Do đó, khảo sát quá trình trích ly lá mận được áp dụng trên 4 loại dung môi khác nhau gồm nước (độ phân cực 10.2, hằng số điện môi 80), cồn 96o ( độ phân cực 5.2, hằng số điện môi 24.5), ethyl acetate (độ phân cực 4.4, hằng số điện môi 6.02), n-hexane( độ phân cực 0.0, hằng số điện môi 1.9) với điều kiện nhiệt độ và thời gian như nhau để so sánh và đưa ra kết luận dung môi nào sẽ phù hợp với việc thu cao chiết từ lá mận.

Theo số liệu ghi nhận được cho thấy lá mận chứa nhiều hoạt chất sinh học tan tốt trong nước, hiệu suất khi trích ly sử dụng dung môi nước là cao nhất với hiệu suất trung bình 38.6105%, sau đó là cồn 96o với hiệu suất trung bình 21,1118%. Theo tính chất, lá mận chưa hàm lượng lớn polyphenol với chủ yếu là các hợp chất như acid phenolic, anthocyanin, flavanol, Dung môi có độ phân cực càng cao, hàm lượng polyphenol toàn phần chiết được càng nhiều (Mohsen and Ammar, 2008; Anwar et al., 2013). Chính vì vậy, nước và cồn 96o là hai dung môi có độ phân cực cao có thể hòa tan tốt các hợp chất thuộc polyphenol. Theo sau đó là ethyl acetate và n-hexane với hiệu suất trích ly trung bình lần lượt là 12,3162% và 10,6148%.

Trong những nghiên cứu về quá trình trích ly các hợp chất có nguồn gốc từ thực vật, dung môi thường được sử dụng là nước hoặc cồn – nước. Tuy nhiên, việc sử dụng nước là dung môi ngâm chiết từ ban đầu sẽ gặp một số khuyết điểm như khó khăn trong loại bỏ nước ra khỏi dịch chiết để thu được cao chiết, vì nước có nhiệt độ sôi cao và áp suất hơi thấp. Cùng với đó dịch chiết nước dễ bị nhiễm các vi sinh vật nếu phương thức bảo quản không phù hợp, nên cần phải thu hồi dung môi hoặc lắc phân bố với các dung môi sớm. Đa số trong các thí nghiệm trước đây, dung môi được sử dụng để thu cao tổng ban đầu thường là các alcol 80% như methanol và ethanol. Những dung môi này có khả năng thấm tốt qua màng sinh chất của nguyên liệu thực vật và có thể tạo liên kết hidro liên phân tử với các nhóm phân cực khác, do đó có thể chiết được các hợp chất có độ phân cực mạnh, vừa và yếu. Vì lí do an toàn cho sức khỏe và môi trường nên methanol ít được sử dụng. Bên cạnh đó dung môi ethyl acetate và n-hexane là một chất lỏng dễ bay hơi và dễ cháy, nên cần lưu ý sử dụng trong khu vực thông thoáng hoặc có hệ thống hút khí​, đảm bảo không có lửa trong phòng thí nghiệm. Thay vào đó hệ dung môi cồn – nước thường được sử dụng nhiều trong việc ly trích các hợp chất tự nhiên từ thực vật, song lượng nước có trong dung môi vẫn sẽ gây khó khăn trong việc thu hồi hơn việc sử dụng cồn cao độ. Vì vậy, dung môi được lựa chọn cho việc thu cao tổng lá mận là cồn 96o.

Độ ẩm của cao tổng và các cao phân đoạn nước, cồn 96o, ethyl acetate, n-hexan, lần lượt là 4.9778%, 1.5713%, 3.1924%, 2.3778%. Các kết quả này phù hợp với quy định về lượng nước còn lại trong cao chiết sau khi đuổi dung môi không quá 20% theo Dược điển Việt Nam V.

Bảng 2: Độ ẩm và hiệu suất thu nhận cao chiết từ lá mận

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Dung môi trích ly** | **Độ ẩm (%)** | **Hiệu suất (%)** |
| Nước | 4.9778 | 38.6105 |
| Cồn 960 | 1.5713 | 21.1118 |
| Ethyl acetate | 3.1924 | 12.3162 |
| N-hexane | 2.3778 | 10.6148 |

## 3.2 Hoạt tính ức chế α-glucosidase của các cao phân đoạn

## 3.3 Định lượng hàm lượng polyphenol trong lá mận

Hoạt tính chống oxy hóa của các loài thực vật chủ yếu được quyết định dựa trên những hợp chất thứ cấp có hoạt tính sinh học. Nhiều thí nghiêm cho thấy rằng polyphenol là hợp chất thứ cấp có mặt ở các loài thực vật mang trong mình hoạt tính chống oxy hóa và chống lão hóa. Vì vậy, định lượng hàm lượng polyphenol trong các cao chiết như nước, cồn 96o, ethyl acetate, n-hexane sẽ góp phần không nhỏ trong việc xác định hoạt tính chống oxy hóa. Cụ thể, đối chứng acid gallic thuộc nhóm polyphenol và được sử dụng làm chất chuẩn trong định lượng hàm lượng polyphenol tổng. Đường chuẩn acid gallic được sử dụng để xác định sự hiện diện của nhóm chất phenolic thể hiện ở phương trình đường chuẩn: y = 7,1529x + 0,1182, có hệ số R2= 0,993.

Độ hấp thu quang phổ (A)- giá trị OD của mỗi loại cao chiết được thay giá trị trung bình sau 3 lần đo của mỗi mẫu vào y, từ đó tìm ra được x cũng chính là hàm lượng hoạt chất có trong các mẫu cao chiết, kết quả được trình bày ở Bảng 3:

Bảng 3: Tổng hàm lượng polyphenol của mỗi cao phân đoạn

|  |  |
| --- | --- |
| **Dung môi trích ly** | **TPC (mg GAE/g cao chiết)** |
| Nước | 442.435a |
| Cồn 96o | 419.134b |
| Ethyl acetate | 350.035c |
| N-hexane | 274.094d |

Lưu ý: Các giá trị có mẫu tự theo sau trong cùng một cột giống nhau khác biệt không có ý nghĩa ở mức p<0.05

Từ kết quả bảng 3 cho thấy, đối với bốn loại dung môi nước, cồn 96o, ethyl acetate và n-hexane hàm lượng polyphenol dao động từ 270.049-442.435 mg GAE/g cao chiết. Trong đó hàm lượng polyphenol ở cao phân đoạn nước (442.435a) là cao nhất, có khác biệt có ý nghĩa khi thống kê so với 3 loại cao phân đoạn còn lại. Nước là dung môi có độ phân cực lớn, đem lại hiểu quả cao khi ứng dụng vào việc trích xuất nhưng hợp chất polyphenol. Theo sau đó cồn 96o (419.134b) là dung môi mang độ phân cực trung bình, nếu sử dụng cồn có nồng độ thấp hơn từ 50o-70o sẽ hiệu quả hơn vì nước có trong hệ dung môi nước-cồn sẽ phá vỡ các cấu trúc bảo vệ của tế bào trong thực vật và giải phóng một lượng lớn các hợp chất mang hoạt tính sinh học. Đối với dung môi ethyl acetate và dung môi n-hexane có độ phân cực kém, dẫn đến hàm lượng polyphenol thu được lần lượt là 350.035c và 274.094d thấp hơn gần một nửa so với hai dung môi là nước và cồn 96o.

Qua số liệu được ghi nhận cũng như mục tiêu là tối ưu khả năng thu nhận hợp chất có hoạt tính sinh học, cùng với yêu cầu sử dụng loại dung môi an toàn cho việc ứng dụng trong thực phẩm sau này, nước chính là dung môi phù hợp trong quá trình trích ly nhằm thu được hàm lượng hoạt chất sinh học-polyphenol tối ưu nhất đối với lá mận.

# **IV. KẾT LUẬN NGHIÊN CỨU VÀ ĐỀ NGHỊ**

Nghiên cứu đã xây dựng thành công phương pháp trích ly dịch chiết lá mận bằng quy trình ngâm trích Thực hiện thu cao chiết từ bột lá mận đối với các loại dung môi như nước, cồn 96, ethyl acetate, n-hexan để xác định các hoạt tính sinh học nhằm ức chế enzyme α-glucosidase. Trong quá trình khảo sát và tìm hiểu dung môi tối ưu nhất trong việc trích ly lá mận là nước với độ phân cực cao phù hợp với từng hợp chất sinh học chẳng hạn như polyphenol có trong lá mận. Bên cạnh đó, cồn 96o có độ phân cực khá cao cũng cho ra hiệu suất trích ly là 21.1118%.

Hàm lượng polyphenol thu được cũng có ảnh hưởng rất lớn từ dung môi ngâm trích cũng như độ phân cực của dung môi đó. Với hàm lượng polyphenol 442.435a nước là dung môi cho ra hàm lượng polyphenol cao nhất.

Cùng với việc ghi nhận được số liệu của hiệu suất trích ly và hàm lượng polyphenol trong dịch chiết lá mận khi ngâm trích từ dung môi nước đều mang lại giá trị cao nhất. Đồng thời nước được coi như dung môi an toàn trong quá trình thao tác nghiên cứu lẫn thân thiện đối với môi trường. Tuy nhiên, nếu ứng dụng vào thí nghiệm cần rút ngắn thời gian thực hiện mà vẫn muốn đạt hiệu suất trích ly cao thì việc sử dụng cồn 96o để ngâm trích lá mận sẽ đáp ứng được cả hai yêu cầu đó. Kết luận nước là một dung môi hiệu quả trong việc trích ly lá mận cho ra hàm lượng polyphenol cũng như các hoạt chất sinh học cao hơn so với ba dung môi còn lại trong nghiên cứu này là cồn 960, ethyl acetate và n-hexane và cồn 96o là dung môi cho ra hiệu suất trích ly cao mà vẫn đảm bảo không tốn quá nhiều thời gian thực hiện nghiên cứu.

# **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

**Tiếng Việt**

Lê Thu Thủy, Võ Ngọc Tố Trinh, Võ Phát Thịnh (2023), HOẠT TÍNH ỨC CHẾ ENZYME ALPHA-GLUCOSIDASE VÀ ALPHA-AMYLASE CỦA LÁ CÂY SỐNG ĐỜI (KALANCHOE PINNATA (LAM.) –PERS.), Khoa học Nông Nghiệp-Lâm Nghiệp-Y Dược, 228, 445-452.

Nguyễn Thị Việt Huỳnh, Huỳnh Tuyết Đào, Nguyễn Quốc Châu Thanh, Nguyễn Trọng Tuân, Hồ Ngọc Tri Tân và Đặng Huỳnh Giao (2023), NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH TRÍCH LY DỊCH CHIẾT THÔ LÁ CHUỐI GIÀ (Musa paradisiaca L.) VÀ KHẢO SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA DỊCH CHIẾT ĐỐI VỚI SÂU TƠ (Plutella xylostella), Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 59, 1-7.

Nguyễn Bảo Lộc và Nguyễn Thị Tuyết Xuân, (2016), ẢNH HƯỞNG CỦA DUNG MÔI ĐẾN KHẢ NĂNG TRÍCH LY MỘT SỐ HỢP CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC TỪ LÁ NHA ĐAM, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 46, 30-36

Nguyễn Văn Tặng, Trần Thanh Giang, Huỳnh Quốc Trung, Phan Thị Bích Trâm, Phạm Châu An và Trần Thị Mỹ Hạnh (2020), ẢNH HƯỞNG CỦA DUNG MÔI VÀ PHƯƠNG PHÁP TRÍCH LY ĐẾN KHẢ NĂNG CHIẾT TÁCH CÁC HỢP CHẤT PHENOLICS, SAPONINS VÀ ALKALOIDS TỪ VỎ QUẢ CA CAO (Theobroma cacao L.),Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 56, 71-78.

Nguyễn Trọng Tường, Huỳnh Duy Khang, Nguyễn Minh Quang Học, Trì Kim Ngọc và Huỳnh Ngọc Trung Dung (2020), XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG POLYPHENOL, FLAVONOID VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA CỦA CAO CHIẾT TỪ VẠN THỌ (TAGETES ERECTA L.) HOA VÀNG VÀ HOA CAM, Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô, 8, 188-198.

Bộ Y Tế (2017), Dược Điển Việt Nam V, Nhà Xuất Bản Y Học, Quyển 2, Phụ Lục 8.

**Tiếng Anh**

Birwal, P., Deshmukh, G., Saurabh, S.P., & Pragati, S. (2017). Plums: A brief introduction. Journal of Food, Nutrition and Population Health, 1(1), 1-5.

Łoś J, Wilska-Jeszka J, Pawlak M (2000) Polyphenolic compounds of plum (Prunus domestica). Pol J Food Nutr Sci 9/50(1):35–38

Areeb Inamdar, Vishal Sangawe, Nitin Adhapure (2022) Enzymes in rhizosphere engineering, Rhizosphere Engineering, 255-272

A.D. Seetaloo a, M.Z. Aumeeruddy a, R.R. Rengasamy Kannan b, M.F. Mahomoodally a (2019), Potential of traditionally consumed medicinal herbs, spices, and food plants to inhibit key digestive enzymes geared towards diabetes mellitus management — A systematic review, South African Journal of Botany, 3-24

Kwon,Emmanouil Apostolidis, Kalidas Shetty(2008), Inhibitory potential of wine and tea against α‐amylase and α‐glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes, Journal of Food Biochemistry,32(1),15-31.

Q. D. Le, M. C. Nguyen, and P. T. Nguyen (2016), Screening α-amylase and α-glucosidase inhibitor activities of traditional medical plants in diabetes treatment, Journal of Vietnam Agricultural Science and Technology, pp. 139-147, 2016.

Li, X.; Hu, Q.; Jiang, S.; Li, F.; Lin, J.; Han, L.; Hong, Y.; Lu, W.; Gao, Y.; Chen, D. Flos Chrysanthemi indici bảo vệ chống lại các tổn thương do hydroxyl gây ra cho DNA và MSC thông qua cơ chế chống oxy hóa. J. Saudi Chem. Soc. 2015, 19, 454–460.

P. Salehi, B. Asghari, M.A. Esmaeili, H. Dehghan, I. Ghazi (2013), Glucosidase and-amylase inhibitory effect and antioxidant activity of ten plant extracts traditionally used in Iran for diabetes, Journal of Medicinal Plant Research, 7, pp. 257-266

B.T. Trinh, D. Staerk, A.K. Jäger (2016), Screening for potential α-glucosidase and α-amylase inhibitory constituents from selected Vietnamese plants used to treat type 2 diabetes, Journal of Ethnopharmacology, 186, pp. 189-195

H.M.S. Shihabudeen, D.H. Priscilla, K. Thirumurugan (2011), Cinnamon extract inhibits α-glucosidase activity and dampens postprandial glucose excursion in diabetic rats, Nutrition and Metabolism, 8, p. 46

Z. Aumeeruddy-Elalfi, N. Lall, B. Fibrich, A.B. van Staden, M. Hosenally, M.F. Mahomoodally (2017), Selected essential oils inhibit key physiological enzymes and possess intracellular and extracellular antimelanogenic properties in vitro, Journal of Food and Drug Analysis, 26, pp. 232-243

Pourreza, N. (2013), Phenolic compounds as potential antioxidant. Jundishapur journal of natural pharmaceutical products, 8(4), 149-150.

Irena Maria Choma, Hanna Nikolaichuk (2022), Chapter 16 - TLC bioprofiling—A tool for quality evaluation of medicinal plants, [Evidence-Based Validation of Herbal Medicine](https://www.sciencedirect.com/book/9780323855426/evidence-based-validation-of-herbal-medicine), 407-422.

**Internet**

<https://macro.lsu.edu/HowTo/solvents/Dielectric%20Constant%20.htm>, Burdick & Jackson

<https://depts.washington.edu/eooptic/linkfiles/dielectric_chart%5B1%5D.pdf>

<https://macro.lsu.edu/HowTo/solvents/ethylacetate.htm>