



# Nghiên cứu định lượng Mangostin trong vỏ quả Mãng cụt (*Pericarpium Garcinia mangostanae*) bằng phương pháp quang phổ UV-VIS.

QUANTITATIVE RESEARCHES OF MANGOSTIN IN MANGOSTEEN (*PERICARPIUM GARCINIAE MANGOSTANAE*) FRUIT RIND BY (UV- VIS) SPECTROPHOTOMETRY.

Lương Thị Lan, Bùi Khánh Chi, Lê Thị Thu Hà, Trần Thị Thu Hiền  
Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng mangostin trong vỏ quả Mãng cụt (*Pericarpium Garcinia mangostanae*) bằng quang phổ UV – Vis.

**Phương pháp nghiên cứu:** Định lượng mangostin bằng phương pháp UV-Vis dựa vào khả năng hấp thụ ánh sáng tử ngoại của mangostin và tiến hành thẩm định phương pháp theo tiêu chuẩn AOAC năm 2016.

**Kết quả nghiên cứu:** Xác định được hàm lượng mangostin trong vỏ Mãng cụt là  $9,82 \pm 0,23\%$  trong điều kiện chiết xuất tối ưu là: dung môi là ethanol, chiết bằng phương pháp siêu âm ở  $60^{\circ}\text{C}$ , trong thời gian 60 phút, tỷ lệ dược liệu/dung môi: 1/20 (g/ml), chiết 3 lần và tiến hành loại tạp tanin bằng gelatin tỷ lệ 7,5g/l. Tiến hành thẩm định phương pháp đã đáp ứng được các yêu cầu của một phương pháp phân tích: trong khoảng nồng độ đã khảo sát (2, 4, 8, 16, 20  $\mu\text{g/ml}$ ) có  $R^2 = 0,9992$ ;  $\text{LOD} = 0,1187 \mu\text{g/ml}$ ;  $\text{LOQ} = 0,3955 \mu\text{g/ml}$ ;  $\text{RSD} < 2,7\%$  và độ thu hồi trong khoảng 97 – 103%.

**Từ khóa:** Mangostin, Mãng cụt, UV-Vis

## SUMMARY

**Objectives:** To validate a quantitative analysis procedure of mangostin in mangosteen fruit rind using UV-Vis methods.

**Research method:** Mangostin quantification by UV-VIS method based on mangostin's ability to absorb ultraviolet light and conduct method appraisal according to AOAC standards in 2016.

**Results:** Determining the mangostin content in mangosteen shells is  $9.82 \pm 0.23\%$  under optimal extract conditions: Ethanol solvent, extracted by ultrasound method at  $60^{\circ}\text{C}$ , during the time 60 minutes, the ratio of material-solvent: 1/20 (g/ml), extracted 3 times and proceeded with tannin map with gelatin ratio of 7.5g/l. Conducting the appraisal of the method that meets the requirements of an analytical method: In the surveyed concentration range (2, 4, 8, 16, 20  $\mu\text{g/ml}$ ),  $R^2 = 0.9992$ ;  $\text{LOD} = 0.1187 \mu\text{g/ml}$ ;  $\text{LOQ} = 0.3955 \mu\text{g/ml}$ ;  $\text{RSD} < 2.7\%$  and the recall in the range of 97 - 103%.

**Keywords:** mangostin, mangosteen, UV-Vis.

Ngày nhận bài: 03/10/2022  
Ngày phản biện: 06/10/2022  
Ngày chấp nhận đăng: 31/10/2022



**ĐẶT VẤN ĐỀ**

Các nghiên cứu gần đây cho thấy vỏ quả Mãng cụt có nhiều tác dụng dược lý: chống khối u, chống viêm, chống oxy hóa, kháng khuẩn... Các tác dụng trên được cho là có liên quan đến thành phần hóa học trong vỏ quả mà nổi bật nhất là các mangostin, bao gồm:  $\alpha$ -mangostin,  $\beta$ -mangostin và  $\gamma$ -mangostin [1], [2].

Tuy nhiên, hiện nay Dược điển Việt Nam V chưa có tiêu chuẩn định lượng mangostin trong vỏ quả Mãng cụt. Do vậy, nghiên cứu được tiến hành nhằm xây dựng tiêu chuẩn định lượng mangostin trong Mãng cụt cũng như đánh giá chất lượng nguyên liệu, sản phẩm từ Mãng cụt phục vụ cho ngành dược phẩm.

**Đối tượng, phương pháp nghiên cứu**

**Đối tượng, hóa chất và thiết bị**

- Đối tượng: Vỏ quả Mãng cụt chín được thu tại Đồng Bằng Sông Cửu Long vào tháng 6 năm 2021. Mẫu được phơi khô bảo quản trong điều kiện nhiệt độ 20°C tại phòng thí nghiệm Dược liệu - Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam.

- Thiết bị và hóa chất:

+ Cao định chuẩn Mangoselect có hàm lượng  $\gamma$ -mangostin 1,77%,  $\alpha$ -mangostin 17,70%) do công ty Fytexia (Pháp).

+ Ethanol, methanol và các hóa chất khác đều đạt yêu cầu Dược điển.

+ Máy quang phổ UV – VIS Hitachi U-3900

+ Máy siêu âm Ultrasonic cleaner – MRC.

+ Các dụng cụ khác như: cân phân tích, máy đo độ ẩm, hệ thống chiết Soxhlet....

**Phương pháp nghiên cứu:**

Xây dựng phương pháp định lượng.

Mangostin là một trong các nhóm hoạt chất chính với hàm lượng lớn trong vỏ quả Mãng cụt. Và cũng là chất chuẩn phổ biến để định lượng bằng phương pháp đo quang. Do vậy, nghiên cứu sử dụng cao định chuẩn Mangoselect để định lượng mangostin trong vỏ quả Mãng cụt.

- Khảo sát bước sóng cực đại hấp thụ:

Dung dịch chất chuẩn: Hòa tan cao định chuẩn vào ethanol thành dung dịch có nồng độ 10  $\mu\text{g/ml}$ . Tiến hành quét phổ hấp thụ của dung dịch trong vùng từ 200nm đến 700nm.

- Khảo sát quy trình xử lý mẫu: thực hiện các thí nghiệm đơn biến, đánh giá kết quả dựa vào tỉ lệ đáp ứng phân tích (độ hấp thụ) và khối lượng A/m. Nghiên cứu tiến hành các khảo sát: dung môi chiết xuất, phương pháp chiết, nhiệt độ chiết, thời gian chiết, số lần chiết, tỉ lệ dược liệu/dung môi chiết và loại tạp trong dịch chiết.

Tiến hành thẩm định phương pháp phân tích theo tiêu chuẩn AOAC năm 2016 [3].

- Khoảng tuyến tính: Xây dựng phương trình hồi quy ( $y = ax + b$ ) biểu diễn sự phụ thuộc tuyến tính giữa nồng độ và độ hấp thụ. Với hệ số tương quan tuyến tính  $R^2 \geq 0,995$

- Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ): Pha loãng nồng độ đến mức tín hiệu nhỏ nhất còn có thể phát hiện bằng quang phổ UV-Vis. Ghi lại nồng độ thấp nhất có thể phát hiện  $C_{\min}$ .

$$LOD = \frac{3 \times C_{\min}}{a}; LOQ = \frac{10 \times C_{\min}}{a}$$

- Độ chính xác: Thực hiện đồng thời 6 mẫu, xác định kết quả định lượng theo đường chuẩn đã xây dựng (Yêu cầu: Với mức hàm lượng 0,1-10%, RSD  $\leq 2,7\%$ ).

- Độ đúng: Thêm một lượng chính xác chuẩn vào mẫu thử đã xác định hàm lượng sao cho tổng nồng độ nằm trong khoảng tuyến tính đã khảo sát. Đo mật độ quang, từ kết quả định lượng tính được tỉ lệ phần trăm tìm lại được. (Yêu cầu: Hàm lượng mẫu 0,1-10%, lượng chất tìm lại nằm trong khoảng 97 – 103%)

- Hàm lượng mangostin được tính theo công thức:  $F\% = \frac{C.V.100}{m.(100\%-A\%)k}$

(Trong đó: F là hàm lượng polyphenol trong mẫu (%); A là độ ẩm của dược liệu (%); M là khối lượng mẫu đem định lượng ( $\mu\text{g}$ ); C là nồng độ mangostin trong dung dịch thử ( $\mu\text{g/ml}$ ); V là thể tích dung dịch

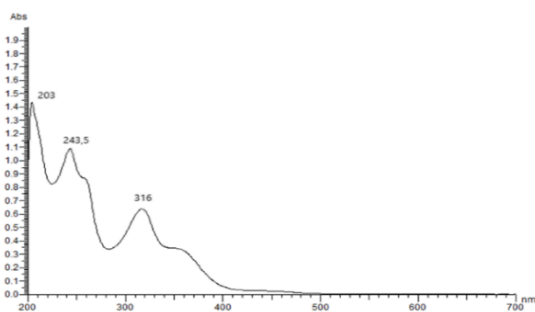


thử (ml); k là hệ số pha loãng).

### Kết quả

#### ***Xây dựng phương pháp định lượng mangostin trong vỏ Mãng cụt.***

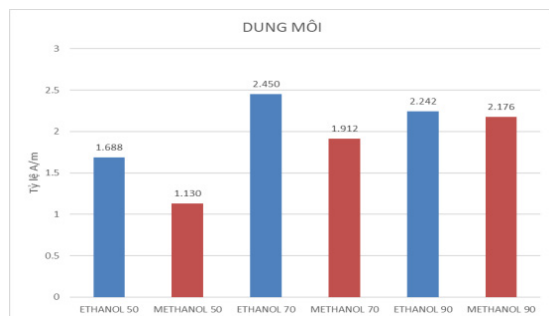
- *Khảo sát bước sóng cực đại hấp thụ*



Hình 1. Phổ hấp thụ của chất chuẩn mangostin

*Nhận xét:* Dung dịch chuẩn mangostin có đỉnh hấp thụ tại 203 nm, 243,5 nm, 316 nm. Bước sóng từ 203-243,5nm là vùng hấp thụ của nhiều tạp chất trong dịch chiết, gây ra nhiều sai số cho quá trình định lượng. Vì vậy, xác định được độ hấp thụ cực đại của mangostin ở bước sóng 316 nm.

- *Khảo sát dung môi chiết xuất*



Hình 2. Ảnh hưởng của dung môi chiết đến tỉ lệ A/m

*Nhận xét:* Tỉ lệ A/m cho thấy dung môi ethanol 70% thu được lượng mangostin cao nhất.

- *Khảo sát phương pháp chiết xuất*

Bảng 1. Ảnh hưởng của phương pháp chiết đến tỉ lệ A/m

Phương pháp	Cách thủy	Hồi lưu	Siêu âm
Tỷ lệ A/m	2,499	2,557	2,646

*Nhận xét:* Căn cứ vào tỉ lệ A/m cho thấy phương pháp chiết siêu âm thu được lượng mangostin cao nhất.

- *Nhiệt độ chiết xuất:*

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến tỉ lệ A/m

Nhiệt độ	Nhiệt độ phòng	40°C	60°C	70°C
Tỷ lệ A/m	2.222	2.467	2.749	2.646

*Nhận xét:* Căn cứ vào tỉ lệ A/m cho thấy nhiệt độ 60°C thu được lượng mangostin cao nhất.

- *Khảo sát thời gian chiết xuất*

Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian chiết đến tỉ lệ A/m

Thời gian (phút)	15	30	60	90
Tỷ lệ A/m	2.448	2.639	2.673	2.594

*Nhận xét:* Tỉ lệ A/m cho thấy thời gian 60 phút thu được lượng mangostin cao nhất.

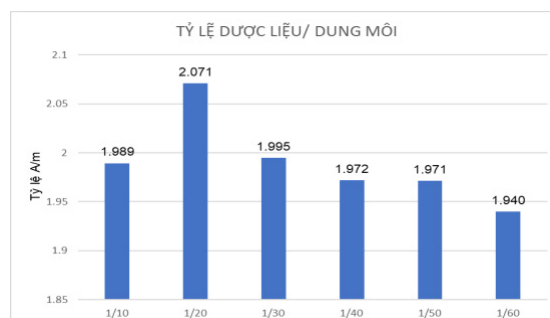
- *Khảo sát số lần chiết xuất*

Bảng 4. Ảnh hưởng của số lần chiết đến tỉ lệ A/m

Số lần chiết	1	2	3
Tỷ lệ A/m	2.631	2.729	2.802

*Nhận xét:* Tỉ lệ A/m cho thấy chiết 3 lần thu được lượng mangostin cao nhất.

- *Khảo sát tỉ lệ dược liệu/ dung môi*

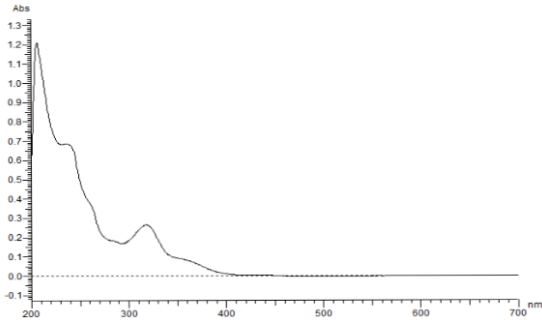


Hình 7. Ảnh hưởng của tỷ lệ dược liệu/ dung môi

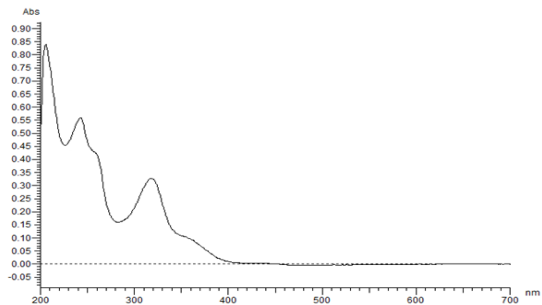


*Nhận xét:* Tỷ lệ A/m cho thấy lượng mangostin cao nhất ở tỷ lệ 1/20 (g/ml)

- Loại tạp tanin trong dịch chiết



Hình 8. Phổ hấp thụ của dịch chiết chưa được loại tạp



Hình 9. Phổ hấp thụ của dịch chiết được loại tạp bằng 1,5 ml dung dịch gelatin 10%.

*Nhận xét:* Phổ hấp thụ dung dịch thay đổi phụ thuộc vào lượng gelatin thêm vào. Khi loại tạp bằng 1,5ml gelatin 10% cho phổ hấp thụ tương thích nhất với phổ hấp thụ của chất chuẩn.

- Quy trình định lượng

Cân chính xác 1g bột vỏ Mãng cụt, tiến hành chiết xuất với điều kiện: 20ml ethanol 70%, chiết siêu âm ở 60°C trong thời gian 60 phút và chiết 3 lần. Lọc lấy dịch chiết, loại tạp bằng dung dịch 1,5ml gelatin 10% làm ấm ở 40°C. Tiến hành đo quang tại bước sóng 316nm.

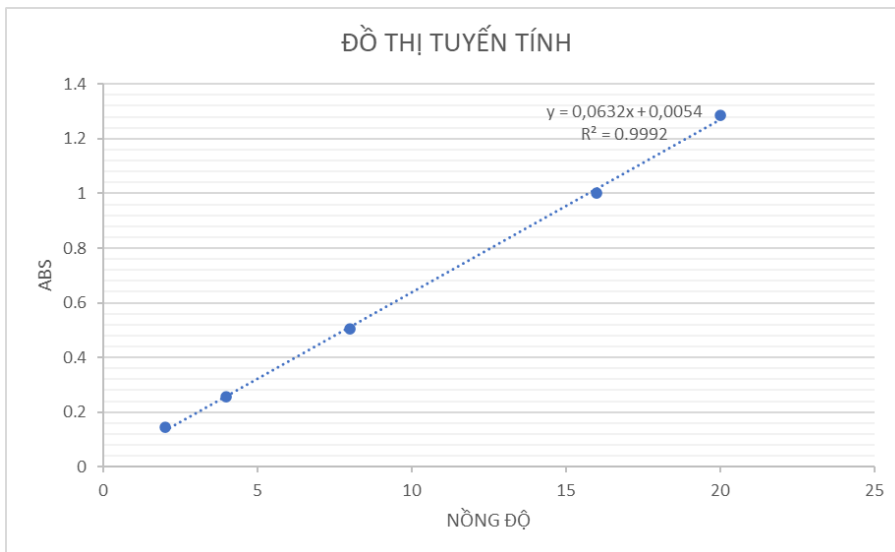
**Thảm định phương pháp định lượng**

- Khoảng tuyến tính và phương trình đường chuẩn.

Hòa tan cao định chuẩn bằng ethanol, thu được các dung dịch ở các nồng độ 20, 16, 8, 4, và 2 µg/ml. Đo phổ hấp thụ của các dung dịch chuẩn ở bước sóng 316nm. Kết quả thu được thể hiện tại bảng 5 và hình 10.

Bảng 5. Độ hấp thụ của dung dịch chuẩn α-mangostin

C (µg/ml)	20	16	8	4	2
A	1,286	1,000	0,503	0,255	0,144



Hình 6 Đồ thị biểu diễn tương quan tuyến tính giữa nồng độ mangostin và độ hấp thụ



*Nhận xét:* Độ hấp thụ và nồng độ mangostin có tương quan tuyến tính chặt với hệ số tương quan  $R^2 = 0,9992$  và phương trình hồi quy tuyến tính  $Y = 0.0632x + 0.0054$

- LOD và LOQ

Bảng 6. Kết quả tính LOD và LOQ

Giá trị	$\alpha$ -mangostin
a (độ dốc)	0,0632
$C_{\min}$	0,0025( $\mu\text{g/ml}$ )
LOD	0,1187( $\mu\text{g/ml}$ )
LOQ	0,3955( $\mu\text{g/ml}$ )

- Độ chính xác

Độ lặp lại

Tiến hành chiết 6 mẫu độc lập, đo UV – Vis 3 lần tại bước sóng 316nm và lấy giá trị trung bình.

Bảng 7. Khảo sát độ lặp lại của mẫu thử

STT	Độ hấp thụ	Nồng độ ( $\mu\text{g/ml}$ )	Hàm lượng (%)
1	0,300	4,710	9,86
2	0,301	4,714	9,85
3	0,285	4,477	9,40
4	0,309	4,856	10,11
5	0,299	4,695	9,82
6	0,300	4,710	9,84
Trung bình			<b>9,82</b>
RSD			<b>2,3652</b>

*Nhận xét:* 6 mẫu chiết xuất đều có RSD = 0,23% ( $\leq 2,7\%$ ), đạt yêu cầu AOAC với hàm lượng mẫu 0,1-10%.

+ Độ lặp lại trong ngày ( $n = 3$ )

Bảng 8. Khảo sát độ lặp lại trong ngày của mẫu thử

STT	Độ hấp thụ	Nồng độ ( $\mu\text{g/ml}$ )	Hàm lượng (%)
1	0,309	4,856	10,11
2	0,299	4,695	9,82
3	0,300	4,710	9,84
Trung bình			<b>9,93</b>
RSD			<b>1,64</b>

+ Độ lặp lại trong ngày ( $n = 3$ )

Bảng 9. Khảo sát độ lặp lại khác ngày của mẫu thử

STT	Độ hấp thụ	Nồng độ ( $\mu\text{g/ml}$ )	Hàm lượng (%)
1	0,285	4,477	9,49
2	0,295	4,639	9,81
3	0,299	4,695	9,82
Trung bình			<b>9,71</b>
RSD			<b>1,94</b>

*Nhận xét:* Độ lệch chuẩn RSD  $\leq 2,7\%$ , đạt yêu cầu AOAC với hàm lượng mẫu 0,1-10%. Như vậy, phương pháp có độ chính xác cao và đạt yêu cầu phân tích.

- Độ đúng

Bảng 10. Kết quả khảo sát độ thu hồi của mẫu thử

STT	Ban đầu ( $\mu\text{g/ml}$ )	Lượng thêm vào ( $\mu\text{g/ml}$ )	Lượng tìm lại ( $\mu\text{g/ml}$ )	Độ thu hồi (%)
1	4,110	3,2	7,294	99,50
		4,0	8,111	100,03
		4,8	9,022	102,33
2	4,707	3,2	7,992	102,66
		4,0	8,730	100,58
		4,8	9,457	98,96
3	4,360	3,2	7,552	99,75
		4,0	8,388	100,70
		4,8	9,207	100,98
Trung bình				<b>100,48</b>
RSD				<b>0,64</b>

*Nhận xét:* Tỷ lệ phần trăm tìm lại trung bình của phương pháp nằm trong khoảng 97% - 103%, RSD = 0,64%  $< 2\%$ , đạt yêu cầu AOAC với hàm lượng mẫu 0,1-10%.

## BÀN LUẬN, KẾT LUẬN

**Phương pháp định lượng mangostin trong vỏ quả Mãng cụt**

Nghiên cứu lựa chọn định lượng mangostin



trong vỏ quả Mãng cụt bằng phương pháp đo quang. Đây là phương pháp đơn giản, dễ thực hiện, giá thành không cao. Tuy vậy, phương pháp vẫn được chứng minh phù hợp với việc phân tích các chất có hàm lượng nhỏ. Kết quả nghiên cứu thu được hàm lượng mangostin là  $9,82 \pm 0,23\%$  tương đương với nghiên cứu của W.Pothitirat anhd W. Gristanapan thực hiện thu được hàm lượng  $\alpha$ -mangostin trong dịch chiết ethanol 95% nằm trong khoảng  $8,36 \pm 0,17\%$  đến  $10,04 \pm 0,33\%$  khi định lượng bằng phương pháp HPLC [4].

Lựa chọn dung môi chiết xuất, năm 2016 Abdalrahim F. A. Aisha và cộng sự [5] đã thực hiện thu được toluen là dung môi chiết xuất thu được hàm lượng thu được hàm lượng xanthon cao nhất, tiếp đó là ethanol và cuối cùng là methanol. Tuy nhiên, do toluen là chất khá nguy hiểm và hàm lượng xanthon trong toluen và methanol không chênh lệch quá lớn. Nên nghiên cứu chọn ethanol 70% - “dung môi xanh” trong chiết xuất, thân thiện với môi trường và rẻ tiền làm dung môi chiết xuất.

Nghiên cứu cũng tiến hành phương pháp loại tạp tanin, chất gây nhiễu sai số trong quá trình định lượng mà các nghiên cứu trước đó chưa làm.

### Thẩm định phương pháp

Kết quả thẩm định cho thấy phương pháp đã đáp ứng được các yêu cầu của một phương pháp phân tích.

Kết quả thẩm định cho thấy phương pháp đã đáp ứng được các yêu cầu của một phương

pháp phân tích.

- Độ tuyến tính: Trong khoảng nồng độ đã khảo sát (2- 20  $\mu\text{g/ml}$ ) có  $R^2=0,9992$  chứng tỏ sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ của mangostin và độ hấp thụ khá chặt chẽ.

- Giới hạn phát hiện (LOD= 0,1187  $\mu\text{g/ml}$ ) và giới hạn định lượng (LOQ= 0,3955  $\mu\text{g/ml}$ ) khá thấp vì vậy có thể dùng để đánh giá sự có mặt và hàm lượng mangostin ở nồng độ rất nhỏ trong sản phẩm từ vỏ Mãng cụt.

- Độ chính xác: được kiểm tra đạt yêu cầu AOAC với  $RSD < 2,7\%$ , với độ lặp lại trong ngày và khác ngày đều có  $RSD < 2\%$ .

- Độ đúng: được kiểm tra với tỉ lệ tìm lại trung bình=100,48% trong khoảng nồng độ tuyến tính, đạt yêu cầu AOAC.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Viện Dược liệu (2016), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
2. Ovalle-Magallanes B., Eugenio-Pérez D., and Pedraza-Chaverri J. (2017). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.): A comprehensive update. *Food and Chemical Toxicology*, 109, 102–122.
3. A. International, (2016), "AOAC official methods of analysis, Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements."
4. Pothitirat W. and Gristanapan W. (2009). HPLC quantitative analysis method for the determination of  $\alpha$ -mangostin in mangosteen fruit rind extract. *Thai Journal of Agricultural Science*, 42(1), 7–12.
5. Aisha A.F.A., Abu-Salah K.M., Ismail Z., et al. (2013). Determination of total xanthones in *Garcinia mangostana* fruit rind extracts by ultraviolet (UV) spectrophotometry. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7, 29–35.