

# ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC YẾU TỐ CÔNG NGHỆ CHÍNH ĐẾN KHẢ NĂNG TRÍCH LY 1- DEOXYNOJIRIMYCIN (DNJ) TỪ LÁ DÂU TẦM VIỆT NAM

Hoàng Thị Lệ Hằng<sup>1</sup>, Nguyễn Minh Châu<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Diệu Thúy<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định các thông số kỹ thuật tối ưu của quá trình trích ly nhằm thu được hiệu suất trích ly DNJ cao nhất từ giống dâu Quế hiện đang được trồng phổ biến tại Việt Nam. Hợp chất DNJ được trích ly từ lá dâu tằm, giống Quế được trồng tại tỉnh Thái Bình, Việt Nam bằng dung môi ethanol 30% được axit hóa bằng axit axetic (với nồng độ 1%). Nghiên cứu quá trình trích ly ở các điều kiện nhiệt độ, thời gian và các tỷ lệ lá dâu khô/dung môi khác nhau nhằm xác định các thông số kỹ thuật tối ưu cho quá trình trích ly DNJ. Kết quả nghiên cứu cho thấy khả năng trích ly DNJ từ lá dâu tằm đạt hiệu quả cao nhất khi quá trình trích ly được tiến hành ở các điều kiện tối ưu sau: Tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu 15/1 trong thời gian trích ly 26 giờ ở nhiệt độ ở 43°C. Các điều kiện này sẽ cho hiệu suất trích ly DNJ đạt 80%.

**Từ khóa:** DNJ, dâu tằm, tối ưu hóa, trích ly, dung môi trích ly.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hợp chất 1- deoxynojirimycin (DNJ) là một alkaloid có hoạt tính sinh học, có chức năng chế ngự sự tăng đường huyết, hỗ trợ điều trị và phòng ngừa bệnh tiểu đường. Hiện nay, việc nghiên cứu tách chiết DNJ từ lá dâu tằm và sử dụng trong chế biến thực phẩm chức năng đã được tiến hành ở nhiều nước có truyền thống trồng dâu nuôi tằm như Nhật Bản, Trung Quốc [8, 10]. Theo đó, một số sản phẩm từ lá dâu tằm với tác dụng hỗ trợ điều trị bệnh tiểu đường như trà túi lọc, viên thực phẩm chức năng đã có mặt trên thị trường ở các nước này.

Bên cạnh đó, Việt Nam cũng là nước có truyền thống trồng dâu lâu đời với sản lượng tương đối lớn. Vì vậy, việc nghiên cứu tách chiết hoạt chất DNJ từ lá dâu tằm ứng dụng trong chế biến thực phẩm chức năng dùng cho người bị bệnh tiểu đường có tiềm năng rất lớn cả về nguyên liệu và khả năng ứng dụng thực tiễn. Mặc dù vậy, cho đến nay vẫn còn rất ít kết quả nghiên cứu được công bố trong lĩnh vực này [3].

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Vật liệu

Lá dâu thuộc giống dâu Quế, có độ già bánh tẻ (lá thứ 5 -12) được thu hái vào vụ hè tại tỉnh Thái Bình. Thí nghiệm được bố trí tại phòng thí nghiệm Bộ môn Bảo quản Chế biến - Viện Nghiên cứu Rau quả (Hà Nội).

### 2. Phương pháp nghiên cứu

- Định lượng alkaloid toàn phần trong thực vật theo Dược điển Việt Nam [1].

- Xác định DNJ trong lá dâu bằng phương pháp tạo dẫn xuất với 9-fluorenylmethyl cloroformat (FMOC trên hệ thống HPLC pha ngược). CL: Chương trình chạy của HPLC: Pha động trong 20 phút, sau đó rửa cột bằng metanol trong 10 phút và sau đó lại tráng cột bằng pha động trong 15 phút với thành phần pha động gồm hỗn hợp nước (bổ sung 0,2% axit formic) và metanol (bổ sung 0,2% axit formic) theo tỷ lệ 6:4 (v/v). Tốc độ chảy: 0,5 ml/phút, loại cột: YMC Pack ODS (C-18), kích thước hạt là 3 μm. Bộ phận phát hiện (detector): Huỳnh quang với bước sóng Ex 254/Em 322 nm.

- Để xác định các giá trị tối ưu của các yếu tố ảnh hưởng ( $X_i$ ) để đạt được quá trình trích ly đạt hiệu quả nhất (hàm mục tiêu  $Y_i$  – khối lượng DNJ đạt cực đại), các thí nghiệm được bố trí theo ma trận Doehlert với các khoảng biến đổi của các yếu tố như sau:

Chỉ tiêu	Mức dưới	Mức giữa	Mức trên
Tỷ lệ dung môi / nguyên liệu	12/1	14/1	16/1
Nhiệt độ trích ly (°C)	30	40	50
Thời gian trích ly (giờ)	18	24	30

Quá trình tính toán và kết quả được xử lý bằng máy tính theo chương trình NEMROD (New Efficient Methodology For Research Using Optimal Design).

- Kiểm tra giả thiết thống kê theo ANOVA bằng phần mềm SAS 9.0.

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu Rau quả

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

#### 1. Nghiên cứu xác định miền ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng trích ly DNJ

Tiến hành khảo sát khả năng trích ly DNJ và alcaloit từ lá dâu tằm ở các khoảng nhiệt độ khác nhau của dung môi ethanol 30% đã được axit hóa 1% axit. Từ kết quả nêu trong bảng 1 thấy rằng hiệu suất trích ly alcaloit và DNJ tăng tỷ lệ thuận với nhiệt độ trích ly, điều này phù hợp với các kết quả nghiên cứu của Viện Công nghệ Thực phẩm (Báo cáo tổng kết 2007 [5]). Tuy nhiên mức độ tăng có khác biệt ở các ngưỡng nhiệt độ. Ở ngưỡng nhiệt độ từ 30-50°C mức độ tăng của hiệu suất trích ly alcaloit và DNJ giữa các mẫu chênh lệch nhau rất nhiều. Ngược lại, ở các ngưỡng nhiệt độ cao hơn (60-70°C) thì mức độ chênh lệch của các giá trị này không đáng kể và thậm chí

còn có xu hướng giảm nhẹ. Điều này có thể do ảnh hưởng của lượng pectin hòa tan từ lá dâu vào dịch chiết tăng lên gây khó khăn cho quá trình trích ly alcaloit và DNJ. Tỷ lệ DNJ /alcaloit có trong dịch trích ly lá dâu nhìn chung lại giảm dần theo chiều tăng của nhiệt độ trích ly, nhưng mức độ giảm không nhiều. Điều này là do ở nhiệt độ cao, một lượng lớn alcaloit khác như sáp, nhựa, chlorophyl được chiết ra nhiều hơn so với khi ở nhiệt độ thấp. Cũng theo kết quả thu được cho thấy với mục đích thu nhận DNJ thì việc trích ly ở các ngưỡng nhiệt độ thấp sẽ cho dịch trích ly có tỷ lệ DNJ cao hơn.

Hơn nữa, khi trích ly ở các nhiệt độ thấp sẽ ít tốn năng lượng nên hiệu quả kinh tế sẽ cao hơn. Từ các nhận xét trên, đã lựa chọn miền nghiên cứu ảnh hưởng của yếu tố nhiệt độ từ 30 - 50°C.

**Bảng 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng trích ly DNJ và alcaloit từ lá dâu tằm**

Nhiệt độ trích ly (°C)	Khối lượng alcaloit (%)	Hiệu suất trích ly alcaloit (%)	Khối lượng DNJ (g)	Hiệu suất trích ly DNJ (%)	Tỷ lệ DNJ/alcaloit
30	0,209	65,3	0,142 <sup>c</sup>	61,7	68,0
40	0,238	76,3	0,160 <sup>b</sup>	69,6	67,2
50	0,252	78,8	0,168 <sup>a</sup>	73,0	66,7
60	0,254	79,5	0,168 <sup>a</sup>	73,0	66,1
70	0,247	77,1	0,167 <sup>a</sup>	72,8	67,6

*Ghi chú : Trong cùng một hàng, các kết quả có chung ít nhất một chữ cái thì không khác nhau có nghĩa ở mức  $p < 0,05$ .*

#### 2. Nghiên cứu xác định miền ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi đến khả năng trích ly DNJ

Theo lý thuyết, hiệu suất trích ly DNJ tỷ lệ thuận với tỷ lệ dung môi/nguyên liệu. Tuy nhiên trong thực tế để trích ly thêm được một lượng DNJ nhất định cần phải sử dụng thêm một lượng dung môi khá lớn cùng với hệ thống thiết bị có dung tích rất lớn, do đó

sẽ làm cho hiệu quả quá trình sản xuất thấp, đồng thời tăng chi phí và giá thành sản phẩm.

Chính vì vậy, để xác định được tỷ lệ dung môi/nguyên liệu thích hợp đảm bảo hiệu quả kinh tế cho quá trình sản xuất thực tế đã tiến hành khảo sát quá trình trích ly ở các tỷ lệ dung môi khác nhau.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu / dung môi đến khả năng trích ly DNJ và alcaloit từ lá dâu tằm**

Tỷ lệ ng. liệu /dung môi	Khối lượng alcaloit (g)	H. suất trích ly alcaloit(%)	Khối lượng DNJ (g)	H. suất trích ly DNJ (%)	Tỷ lệ DNJ/alcaloit
1/8	0,160	50,1	0,102 <sup>d</sup>	44,3	63,8
1/10	0,172	53,7	0,110 <sup>c</sup>	47,8	64
1/12	0,209	65,3	0,142 <sup>b</sup>	61,7	68,0
1/14	0,228	71,1	0,155 <sup>b</sup>	67,4	67,8
1/16	0,241	75,3	0,165 <sup>a</sup>	71,7	68,5
1/18	0,242	76,0	0,167 <sup>a</sup>	72,6	69,0

*Ghi chú : Trong cùng một hàng, các kết quả có chung ít nhất một chữ cái thì không khác nhau có nghĩa ở mức  $p < 0,05$ .*

Kết quả được trình bày ở bảng 2 cho thấy khả năng trích ly alcaloit và DNJ tăng khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi giảm. Trong đó, với các mẫu có tỷ lệ lá dâu/dung môi trong khoảng 1/12 - 1/16 có khả

năng trích ly tăng đáng kể so với các mẫu được trích ly ở tỷ lệ nguyên liệu/dung môi từ 1/8- 1/10, nhưng khi tỷ lệ này giảm đến 1/18 thì khả năng trích ly (được thể hiện ở khối lượng DNJ và alcaloit thu được

trong dịch chiết) tăng không đáng kể so với mẫu ngay trước đó (tỷ lệ 1/16). Ngoài ra, ở tỷ lệ 1/18 tuy khả năng trích ly tăng không đáng kể trong khi phải tốn thêm một lượng dung môi và năng lượng để cô đặc dịch sau trích ly. Cũng từ các kết quả thu được cho thấy, tỷ lệ DNJ/alcaloit tăng tỷ lệ nghịch so với tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi. Điều đó cho thấy khi lượng dung môi tăng sẽ không những làm tăng hiệu suất trích ly alcaloit và DNJ mà còn tăng độ tinh sạch của dịch DNJ. Từ các nhận xét trên đã lựa chọn miền nghiên cứu ảnh hưởng của yếu tố tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến trích ly DNJ từ 1/12 - 1/16.

**3. Nghiên cứu xác định miền ảnh hưởng của thời gian đến khả năng trích ly DNJ**

Kết quả ở bảng 3 cho thấy khả năng trích ly (thể

hiện qua hiệu suất trích ly alcaloit và DNJ) tỉ lệ thuận với thời gian trích ly. Tuy nhiên, khả năng trích ly của các mẫu có thời gian trích ly trong khoảng từ 6-18 giờ không cao và khác nhau không đáng kể. Trong khi đó, các mẫu được trích ly ở thời gian 24 giờ và 30 giờ cho hiệu suất cao hơn nhiều. Nhưng khi tiếp tục kéo dài thời gian trích ly (đối với mẫu có thời gian trích ly 36 giờ) thì hiệu suất trích ly tuy có tăng nhưng mức tăng không đáng kể. Các nhận xét trên cho thấy khoảng thời gian ảnh hưởng lớn đến khả năng trích ly alcaloit và DNJ từ lá dâu tằm là 18 - 30 giờ.

Trong nghiên cứu này đã chọn miền ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu suất trích ly alcaloit và DNJ là 18 - 30 giờ.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian đến khả năng trích ly DNJ và alcaloit từ lá dâu tằm**

Thời gian (giờ)	Khối lượng alcaloit (g)	Hiệu suất trích ly alcaloit (%)	Khối lượng DNJ (g)	Hiệu suất trích ly DNJ (%)	Tỷ lệ DNJ/alcaloit
6	0,136	42,5	0,081 <sup>c</sup>	35,5	59,7
12	0,167	52,2	0,105 <sup>d</sup>	45,7	63,3
18	0,193	60,3	0,124 <sup>c</sup>	54,0	64,4
24	0,209	65,3	0,142 <sup>b</sup>	61,7	68,0
30	0,225	74,9	0,151 <sup>a</sup>	65,6	67,1
36	0,226	75,1	0,153 <sup>a</sup>	66,5	68,0

*Ghi chú : Trong cùng một hàng, các kết quả có chung ít nhất một chữ cái thì không khác nhau có nghĩa ở mức p<0,05*

**4. Tối ưu hóa điều kiện trích ly DNJ từ lá dâu tằm**

**Bảng 4. Kết quả các thí nghiệm được bố trí theo ma trận Doehlert**

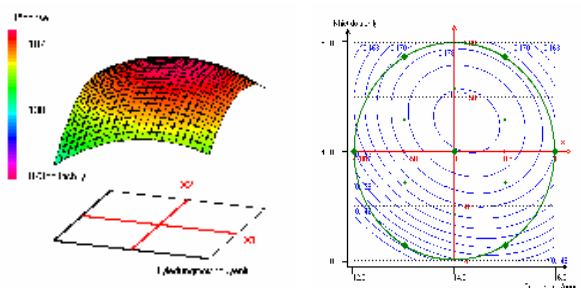
TT	Biến mã hóa			Biến số thực			Kết quả Khối lượng DNJ (g)
	X1	X2	X3	Tỷ lệ DM / NL	Nhiệt độ trích ly	Th.gian trích ly (h)	
1	1	0	0	16	40	24	0,170
2	-1	0	0	12	40	24	0,167
3	0,5	0,866	0	15	48,7	24	0,175
4	-0,5	-0,866	0	13	31,3	24	0,150
5	0,5	-0,866	0	15	31,3	24	0,162
6	-0,5	0,866	0	13	48,7	24	0,173
7	0,5	0,288	0,816	15	42,9	28,9	0,183
8	-0,5	-0,288	-0,816	13	37,1	19,1	0,145
9	0,5	-0,288	-0,816	15	37,1	19,1	0,153
10	0	0,577	-0,816	14	45,8	19,1	0,175
11	-0,5	0,288	0,816	13	42,9	28,9	0,167
12	0	-0,577	0,816	14	34,2	28,9	0,170
13	0	0	0	14	40	24	0,185
14	0	0	0	14	40	24	0,184
15	0	0	0	14	40	24	0,185

Tiến hành các thí nghiệm với các điểm thí nghiệm theo ma trận Doehlert với các biến  $X_i$  được xác định trong các khoảng giới hạn và kết quả đã được trình bày ở phần III.2. Các thí nghiệm tối ưu hóa được tiến hành với 15 điểm thí nghiệm và thu được các số liệu thực nghiệm (Bảng 4).

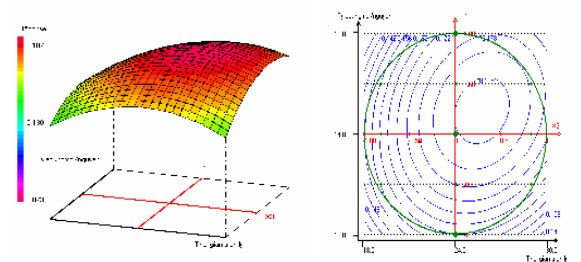
Mỗi thí nghiệm được tiến hành 3 lần với sai số của  $Y$  là 5%. Sau khi xử lý các kết quả thực nghiệm trên máy tính bằng chương trình NEMROD đã xác định được giá trị của độ lệch chuẩn tương đối nhỏ (0,00006) và hệ số tương quan (0,947)  $\geq 0,7$  chứng tỏ phương trình hồi quy thực nghiệm có độ tin cậy cao. Hệ số  $f$  - hệ số gia tăng là số đo tuyệt đối thể hiện tính thích ứng của mô hình trên toàn miền đã chọn có giá trị từ 1,0-1,2 chứng tỏ ma trận đã chọn là hoàn toàn thích ứng.

Từ đó đã xác định được các phương trình hồi quy thực nghiệm đối với đại lượng  $Y$  - khối lượng DNJ thu được trong quá trình trích ly như sau:  $Y = 0,1847 + 0,0055X_1 + 0,0123X_2 + 0,0096X_3 - 0,0162X_1^2 - 0,0208X_2^2 - 0,0195X_3^2 - 0,0058X_1X_2 + 0,0069X_1X_3 - 0,0165X_2X_3$ .

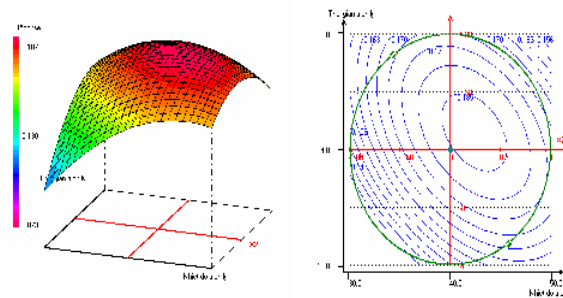
Để tìm vùng tối ưu cho quá trình, đã vẽ bề mặt đáp ứng của khối lượng DNJ thu được ( $Y$ ) bằng chương trình Matlab theo các biến  $X_i$ .



Hình 1. Bề mặt đáp ứng và đường đồng cấp khối lượng DNJ theo tỷ lệ dung môi / nguyên liệu và nhiệt độ trích ly



Hình 2. Bề mặt đáp ứng và đường đồng cấp khối lượng DNJ theo tỷ lệ dung môi / nguyên liệu và thời gian trích ly



Hình 3. Bề mặt đáp ứng và đường đồng cấp khối lượng DNJ theo nhiệt độ và thời gian trích ly

Các bề mặt đáp ứng trên thể hiện sự tác động tương tác của hai yếu tố đồng thời vào khối lượng DNJ được trích ly. Từ các hình 1, 2 và 3 đã nhận thấy sự tác động của nhiệt độ và thời gian, thời gian và tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu và của tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu và nhiệt độ đến trích ly DNJ là rất lớn.

Khối lượng DNJ cao nhất ứng với khoảng  $X_1 = -0,2-0,5$  và  $X_2 = 0-0,6$ , tức là ở khoảng tỷ lệ dung môi/nguyên liệu từ 13,5/1 -15/1 và nhiệt độ trích ly từ 40 -46 $^{\circ}$ C.

Khối lượng DNJ cao nhất ứng với khoảng  $X_1 = -0,05-0,55$  và  $X_3 = 0-0,6$  tức là ở khoảng tỷ lệ dung môi/nguyên liệu từ 14/1 -15/1 và thời gian trích ly là 24 -27giờ.

Khối lượng DNJ cao nhất ứng với khoảng  $X_2 = -0,1 -0,55$  và  $X_3 = -0,2-0,5$ , tức là ở nhiệt độ trích ly từ 40 - 46 $^{\circ}$ C và thời gian từ 23 -26 giờ.

Từ đây đã tiến hành giải bài toán tối ưu hóa để tìm ra điểm tối ưu với hàm mong đợi là khối lượng DNJ =0,185 g. Kết quả thu được được trình bày ở bảng 5 và bảng 6.

Bảng 5. Điểm tối ưu của các hàm đáp ứng

Biến	Giá trị mã hóa	Tên biến	Giá trị biến thực
$X_1$	0,396798	Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu	14,8
$X_2$	0,330602	Nhiệt độ trích ly	43,3
$X_3$	0,395673	Thời gian trích ly	26,4

Bảng 6. Giá trị tối ưu của các hàm đáp ứng và hàm mong đợi

Hàm mục tiêu	Giá trị hàm mục tiêu	% hàm mong đợi	Hệ số trọng lượng
Y - Hàm lượng DNJ	0,185	100,00	1
Mong đợi		100,00	

Qua kết quả trên đã nhận thấy hàm mong đợi thỏa mãn 100% sự kỳ vọng. Từ các vùng tối ưu thu được ở trên kết hợp với hiệu quả kinh tế trong quá trình sản xuất đã lựa chọn được các yếu tố công nghệ tối ưu phù hợp với điều kiện sản xuất thực tế là: Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi =15/1; thời gian trích ly =26 giờ; nhiệt độ trích ly = 43°C. Tương ứng khi đó hàm lượng DNJ thu được là 0,185 g. Từ các số liệu trên đã tiến hành làm thí nghiệm kiểm chứng ở các điều kiện đã xác định; kết quả thu được khối lượng DNJ là 0,184 g (số liệu rất gần với tính toán).

#### **IV. KẾT LUẬN**

- Các yếu tố công nghệ (nhiệt độ, thời gian, tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi) có ảnh hưởng lớn đến khả năng trích ly DNJ từ lá dâu tằm.

- Khả năng trích ly DNJ từ lá dâu tằm đạt hiệu quả cao nhất là khi trích ly ở điều kiện: tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu 15/1 trong thời gian trích ly 26 giờ ở nhiệt độ ở 43°C, khi đó hiệu suất trích ly DNJ đạt 80%.

#### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Bộ Y tế, 2002. Dược điển Việt Nam, Hà Nội: Dâu (lá).
2. Lê Văn Đăng, 2005. Chuyên đề một số hợp chất thiên nhiên. NXB Đại học Quốc gia Tp.HCM.
3. Nguyễn Quang Trung, 2007. Đánh giá tác dụng bột chiết lá dâu trên các chỉ số lipid và trạng thái chống oxy hóa trong máu ở chuột nhắt trắng gây rối loạn lipid máu và đái tháo đường thực nghiệm. Tạp chí Y học Thực hành. Số 10.
4. Nguyễn Minh Châu, 2011. Nghiên cứu quy

trình công nghệ sản xuất bột lá dâu tằm có chứa hàm lượng hoạt chất chức năng DNJ (1-deoxynojirimycin). Luận văn thạc sỹ khoa học, 49-53.

5. Viện Công nghiệp Thực phẩm, 2007. *Nghiên cứu công nghệ sản xuất bột lá dâu tằm giàu 1-Deoxynojirimycin*. Báo cáo tổng kết đề tài 2007.
6. Bondada Andalulua N. Ch., 2003. Antioxidant role of mulberry leaves in streptozotocin-diabetic rats. Elsevier, Clinica Chimica Acta.
7. Cockram C. S., T. Van Binh, Gaela G., 2007. Diabetes prevention and control in Viet Nam: Demonstration project in two provinces, Global Report.
8. Kimura T., Nagakawa K., Kubota H., Kojima Y. Goto, Y., 2007. Food grade mulberry powder enriched with 1-Deoxynojirimycin suppresses the elevation of postprandial blood glucose in humans. Journal of Agricultural and Food chemistry. 55, 5869-5874.
9. Nuengchamnong N., Ingkaninan K., Kaewruang W., Wongareonwanakij S., Hongthongdaeng B., 2007. Quantitative determination of 1-deoxynojirimycin in mulberry leaves using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 44, 853–858.
10. Venkatesh Kumar R., Seema C., 2008. Mulberry: Life enhancer. Journal of Medicinal Plants Research, 2(10), 271-278.
11. [http://vi.wikipedia.org/wiki/%C4%90%C3%A1i\\_th%C3%A1o\\_%C4%91%C6%B0%E1%BB%9Dng](http://vi.wikipedia.org/wiki/%C4%90%C3%A1i_th%C3%A1o_%C4%91%C6%B0%E1%BB%9Dng)

### **INFLUENCE OF MAIN TECHNOLOGICAL FACTORS UPON 1-DEOXYNOJIRIMYCIN (DNJ) EXTRACTION FROM VIETNAMESE MULBERRY LEAVES**

**Hoang Thi Le Hang, Nguyen Minh Chau, Nguyen Thi Dieu Thuy**

#### **Summary**

The objective of this study was to determine the optimal technical parameters to obtain the highest DNJ extraction performance from the mulberry Que crop is widely grown in Vietnam. DNJ compounds were extracted from the mulberry leaves, Que crop is grown in Thai Binh province, Vietnam with 30% ethanol solvent was acidified with acetic acid (with the concentration is 1%). Research in the process of extraction temperature, time and the rate of dried mulberry leaves per various solvents to determine the optimal technical parameters for the DNJ extraction process. Research results show the most effectively potential for extracting DNJ from mulberry leaves is when the extraction is conducted in the following optimal conditions: The rate of solvent/material 15/1, in the extracted time: 26 hours and a temperature at 43°C. With these conditions the DNJ extraction efficiency will be reached 80%.

**Keywords:** *DNJ, extraction, mulberry leaves, optimalization, extraction solvent.*

**Người phản biện:** PGS.TS. Nguyễn Duy Lâm