

TỐI ƯU HÓA QUY TRÌNH CHIẾT POLYPHENOL TỪ THÂN CÂY AN XOA (*Helicteres Hirsuta* Lour.)

Đặng Thị Huyền, Nguyễn Thị Trúc Anh, Hoàng Thị Minh Thu, Vũ Thị Hồng Nhung,
Hà Hoàng Anh Vinh, Huỳnh Văn Chung*

Trường Đại học Y Dược Buôn Ma Thuột, 298 Hà Huy Tập, Đắk Lắk, Việt Nam

* Tác giả liên hệ Huỳnh Văn Chung <hvchung@bmu.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 04-05-2026; Hoàn thành phản biện: 16-06-2026; Ngày chấp nhận đăng: 16-06-2026)

Tóm tắt. Nghiên cứu này tối ưu hóa quy trình chiết polyphenol từ thân cây An xoa (*Helicteres hirsuta* Lour.) bằng phương pháp bề mặt đáp ứng. Các yếu tố ảnh hưởng chính, bao gồm nồng độ ethanol, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu, nhiệt độ và thời gian chiết, đã được khảo sát thông qua thí nghiệm đơn biến và thiết kế Box-Behnken. Kết quả cho thấy nồng độ ethanol, nhiệt độ và đặc biệt là thời gian chiết ảnh hưởng đáng kể lên hàm lượng polyphenol tổng (TPC). Mô hình hồi quy bậc hai có ý nghĩa thống kê cao ($p < 0,0001$) với khả năng dự đoán tốt (R^2 hiệu chỉnh = 0,9357). Điều kiện tối ưu được xác định gồm nồng độ ethanol 76,10%, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 19,36 mL/g, nhiệt độ 62,28 °C và thời gian chiết 89,50 phút cho giá trị TPC dự đoán đạt 45,10 mg GAE/g cao chiết. Kết quả thực nghiệm kiểm chứng phù hợp với giá trị dự đoán. Nghiên cứu góp phần làm rõ tiềm năng khai thác thân cây An xoa như một nguồn polyphenol có giá trị trong lĩnh vực dược liệu và thực phẩm chức năng.

Từ khóa: tối ưu hóa, polyphenol, *Helicteres hirsuta* Lour., thân cây An xoa

Optimisation of polyphenol extraction from An xoa stems (*Helicteres Hirsuta* Lour.)

Dang Thi Huyen, Nguyen Thi Truc Anh, Hoang Thi Minh Thu, Vu Thi Hong Nhung,
Ha Hoang Anh Vinh, Huynh Van Chung*

Buon Ma Thuot Medical University, 298 Ha Huy Tap St., Dak Lak, Vietnam

* Correspondence to Huynh Van Chung <hvchung@bmu.edu.vn>

(Received: 04 May 2026; Revised: 16 June 2026; Accepted: 16 June 2026)

Abstract. This study optimised the extraction process of polyphenols from the stems of *Helicteres hirsuta* Lour. with the Response Surface method. Key factors affecting the extraction efficiency, namely ethanol concentration, solvent-to-material ratio, temperature, and extraction time, were investigated through single-factor experiments and a Box-Behnken design. The results indicate that the total polyphenol content (TPC) was significantly influenced by ethanol concentration, temperature, and especially extraction time. A quadratic regression model was developed and found to be statistically significant ($p < 0.0001$) with good predictive ability (adjusted $R^2 = 0.9357$). The optimal conditions were determined as 76.10% ethanol, a 19.36 mL/g solvent-to-material ratio, an extraction temperature of 62.28 °C, and an extraction time of 89.50 minutes, yielding a predicted TPC of 45.10 mg GAE/g extract. The experimental validation showed good agreement with the predicted values, confirming the

reliability of the model. This study highlights the potential of *H. hirsuta* stems as a valuable source of polyphenols for pharmaceutical and functional food applications.

Keywords: optimisation, polyphenols, *Helicteres Hirsuta* Lour., stem of *Helicteres hirsuta*

1 Mở đầu

Polyphenol là nhóm hợp chất phổ biến trong thực vật, có vai trò quan trọng trong bảo vệ cây trước các tác nhân môi trường và đồng thời mang lại nhiều lợi ích sinh học cho con người. Các hợp chất polyphenol, đặc biệt là flavonoid và phenolic acid, đã được chứng minh có hoạt tính chống oxy hóa mạnh, góp phần giảm nguy cơ mắc các bệnh mạn tính như ung thư, tiểu đường và bệnh tim mạch [1–5]. Ngoài ra, polyphenol còn có nhiều tác dụng sinh học khác như kháng viêm, kháng khuẩn và bảo vệ tế bào, làm cho chúng trở thành đối tượng nghiên cứu quan trọng trong lĩnh vực dược liệu và thực phẩm chức năng [1].

Trong số các cây dược liệu giàu polyphenol, *Helicteres hirsuta* Lour. (cây An xoa) là loài thực vật thuộc họ Malvaceae, phân bố phổ biến tại các nước Đông Nam Á như Việt Nam, Lào và Campuchia. Cây An xoa từ lâu đã được sử dụng trong y học dân gian để điều trị nhiều bệnh lý như đau nhức, mất ngủ, suy nhược cơ thể và đặc biệt là các bệnh về gan [6]. Nhiều nghiên cứu hiện đại đã chứng minh các dịch chiết từ cây An xoa có hoạt tính chống oxy hóa, kháng ung thư và bảo vệ gan đáng kể, góp phần giải thích cơ sở khoa học cho các ứng dụng truyền thống của loài cây này [1, 7].

Các nghiên cứu gần đây tập trung chủ yếu vào thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các bộ phận như lá và rễ của cây An xoa. Kết quả cho thấy dịch chiết từ lá có hàm lượng polyphenol và flavonoid cao, có tương quan chặt chẽ với hoạt tính chống oxy hóa và khả năng bắt gốc tự do [1]. Một số nghiên cứu khác cũng khảo sát điều kiện chiết tối ưu cho flavonoid từ lá và rễ bằng methanol, với các yếu tố như nồng độ dung môi, thời gian chiết và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và

nhận thấy chúng có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất chiết [6]. Ngoài ra, các hợp chất phân lập từ cây An xoa còn cho thấy tiềm năng ức chế tế bào ung thư và bảo vệ tế bào gan trong các nghiên cứu *in vitro* [7, 8].

Tuy nhiên, phần lớn các nghiên cứu hiện nay tập trung vào lá và rễ, trong khi thân cây An xoa – một bộ phận chiếm sinh khối lớn và dễ thu hái – vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ. Một số công bố cho thấy thân cây cũng chứa một lượng polyphenol và flavonoid đáng kể, thậm chí có thể tương đương hoặc cao hơn ở một số bộ phận khác [1], nhưng các nghiên cứu về tối ưu hóa điều kiện chiết và đánh giá hàm lượng polyphenol từ thân còn rất hạn chế, đặc biệt trong bối cảnh nhu cầu khai thác nguồn nguyên liệu dược liệu bền vững ngày càng tăng.

Bên cạnh đó, hiệu quả chiết polyphenol phụ thuộc mạnh vào các yếu tố ảnh hưởng như nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, nhiệt độ và thời gian chiết. Việc tối ưu hóa các yếu tố này đóng vai trò quan trọng nhằm nâng cao hiệu suất thu hồi hợp chất có hoạt tính sinh học. Trong những năm gần đây, phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology), đặc biệt là thiết kế Box-Behnken, đã được ứng dụng rộng rãi để tối ưu hóa quy trình chiết các hợp chất tự nhiên nhờ khả năng đánh giá đồng thời nhiều yếu tố và xác định điều kiện tối ưu một cách hiệu quả.

Xuất phát từ những vấn đề trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm tối ưu hóa quy trình chiết polyphenol từ thân cây An xoa bằng phương pháp bề mặt đáp ứng. Kết quả nghiên cứu không chỉ góp phần bổ sung dữ liệu khoa học về thành phần hóa học của thân cây An xoa mà còn tạo cơ sở cho việc khai thác và ứng dụng

nguồn nguyên liệu này trong lĩnh vực dược phẩm và thực phẩm chức năng.

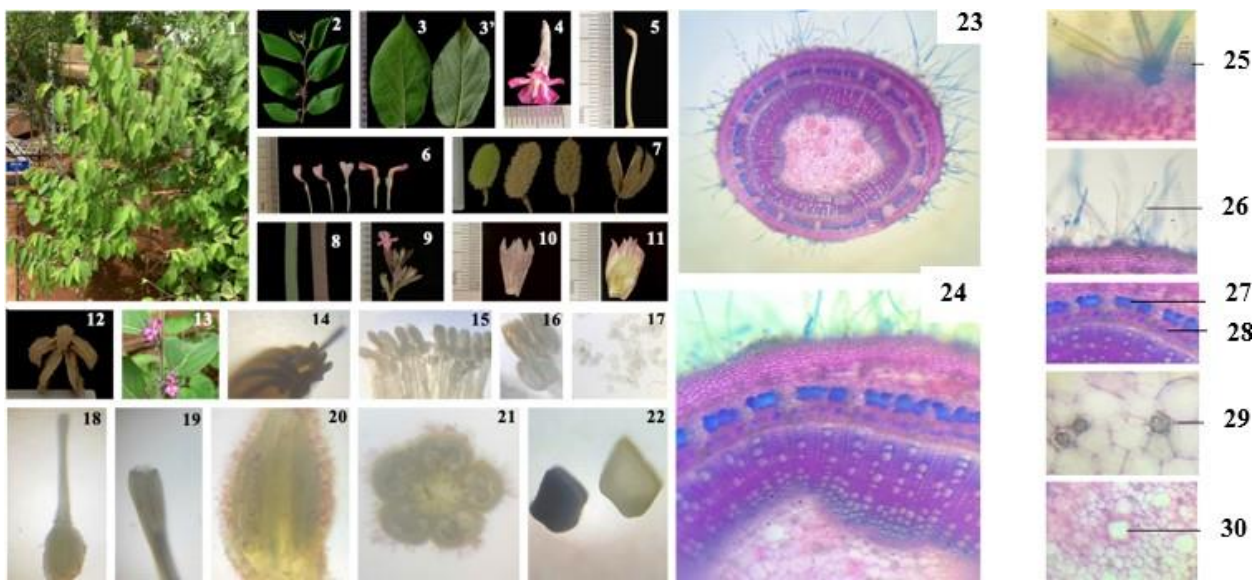
2 Đối tượng và phương pháp

2.1 Vật liệu

Thân cây An xoa được thu hái tại Đắk Lắk vào tháng 1 năm 2025. An xoa được xác định tên khoa học bằng phương pháp mô tả hình thái (Hình 1). Thân cây sau thu hái được cắt thành lát mỏng và sấy đến khô ở 60 °C tới khi độ ẩm hạ

xuống dưới 12% [9]. Mẫu thân khô được nghiền nhỏ thành dạng bột rồi rây với đường kính lỗ rây <0,5 mm đến 2 mm và được bảo quản trong các túi PE và hút chân không để sử dụng cho các khảo sát.

Hóa chất gồm nước cất 2 lần, acid gallic (Trung Quốc), methanol (Xilong, Trung Quốc), ethanol (Việt Nam) và natri carbonat (Xilong, Trung Quốc). Thuốc thử Folin-Ciocalteu của hãng Merck.



Hình 1. Các bộ phận của cây An xoa: 1.Toàn cây An xoa tại điểm thu mẫu; 2. Cành mang hoa; 3. Mặt trên lá ; 3'. Mặt dưới lá; 4. Hoa; 5. Trục nhị nhụy; 6. Tràng hoa; 7. Các giai đoạn phát triển của quả; 8. Bề mặt thân cây (non và trưởng thành); 9. Cụm hoa; 10. Mặt ngoài đài hoa; 11. Mặt trong đài hoa; 12. Quả nang; 13. Kiểu xếp cánh hoa; 14. Bộ nhị; 15. Vi phẫu nhị hoa (10 nhị); 16. Bao phấn; 17. Hạt phấn; 18. Bộ nhụy; 19. Đầu nhụy; 20. Bầu cắt dọc; 21. Bầu phần cắt ngang; 22. Hạt; 23. Tiết diện cắt ngang toàn vi phẫu; 24. Một phần của vi phẫu; 25. Lòng tiết 1 chân đầu đa bào; 26. Lòng che chở đa bào phân nhánh hình sao; 27. Bó sợi mô cứng; 28. Libe 2 kết tầng; 29. Tinh thể calci oxalate; 30. Túi tiết chất nhầy

2.2 Phương pháp

Khảo sát ảnh hưởng của một số đơn yếu tố đến hàm lượng polyphenol tổng

Quy trình chiết cao từ bột thân cây An xoa được thực hiện như sau: cân 50 g bột cho vào bình cầu nút mài dung tích 2000 mL; sau đó thêm dung môi chiết theo điều kiện khảo sát. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết gồm nồng độ ethanol, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (DM/NL), thời gian chiết và nhiệt độ chiết. Quá trình chiết được tiến hành trên bếp cách thủy với hệ thống sinh hàn hồi

lưu nhằm hạn chế sự bay hơi dung môi. Sau khi chiết, hỗn hợp được lọc bỏ bã để thu dịch chiết. Mẫu được chiết lặp lại 3 lần; các dịch chiết được gộp chung, sau đó loại dung môi bằng máy cô quay chân không và tiếp tục cô trên bếp cách thủy đến khi cao chiết đạt độ ẩm dưới 20%. [9].

Tại các thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng đơn biến, chỉ thay đổi các giá trị của yếu tố cần khảo sát và cố định các yếu tố còn lại (EtOH 80%, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 20 mL/g, nhiệt độ 70 °C, thời gian 90 phút). Các yếu tố được khảo sát là: nồng độ ethanol: 60, 70, 80 và 90%; tỷ lệ DM/NL:

16:1, 20:1, 22:1 và 24:1 (mL/g); nhiệt độ chiết: 45, 55, 65 và 75 °C; Thời gian chiết: 60, 90, 120 và 150 phút.

Tối ưu hóa quy trình chiết polyphenol từ thân An xoa

Sau khi tiến hành khảo sát đơn biến, chúng tôi chọn các yếu tố ảnh hưởng chính cùng khoảng giá trị khảo sát thích hợp để xây dựng mô hình tối ưu theo thiết kế Box-Behnken. Biến đáp ứng là hàm lượng polyphenol tổng của các công thức thí nghiệm; kết quả được trình bày trong Bảng 1. Dữ liệu thực nghiệm được xử lý bằng phần mềm Design Expert 13.0 nhằm xác định xu hướng biến thiên, mức độ ảnh hưởng cũng như mối quan hệ định lượng giữa các biến độc lập và biến đáp ứng. Trên cơ sở đó, điều kiện tối ưu được xác định nhằm đạt hàm lượng polyphenol cao nhất. Cuối cùng, thí nghiệm kiểm chứng được thực hiện để đánh giá độ chính xác của mô hình và xác nhận tính phù hợp của điều kiện tối ưu đã lựa chọn.

Bảng 1. Khai báo biến trong thử nghiệm tối ưu

Ký hiệu	Tên	Đơn vị	Mức thấp	Mức cao
A	Nồng độ EtOH	%	60	90
B	Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu	mL/g	16	24
C	Nhiệt độ	°C	45	75
D	Thời gian	Phút	60	150

Phương pháp định lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol tổng (TPC) được xác định theo phương pháp sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteu [10]. Cân khoảng 1 g cao chiết, hòa tan trong 20 mL methanol và lọc để thu dung dịch trong. Lấy 2 mL dung dịch mẫu cho vào ống Falcon, sau đó thêm 5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu 10%, lắc đều và để yên trong 5 phút. Tiếp theo, bổ sung 4 mL dung dịch natri cacbonat 7,5%, đậy kín và trộn đều. Hỗn hợp được giữ ở nhiệt độ phòng trong 45 phút, sau đó tiến hành đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 765 nm.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Kết quả sự ảnh hưởng của một số đơn yếu tố đến khối lượng cao chiết và hàm lượng polyphenol tổng

Ảnh hưởng của nồng độ ethanol

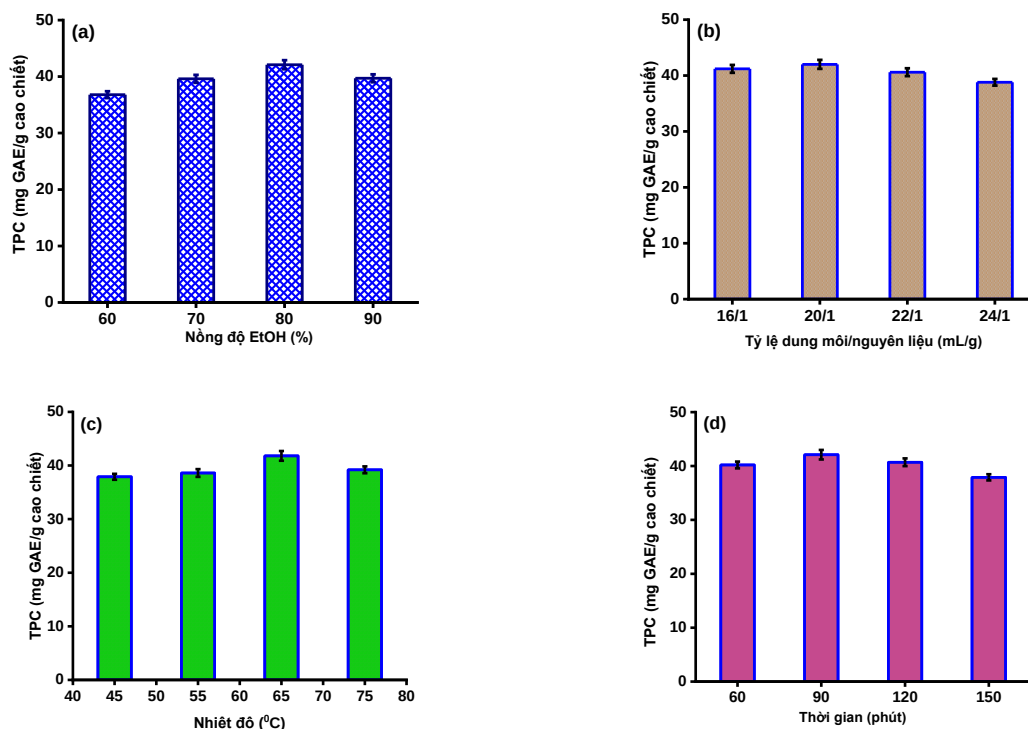
Để đánh giá ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến hàm lượng polyphenol tổng, chúng tôi tiến hành phân tích phương sai (ANOVA) một yếu tố. Kết quả cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hàm lượng polyphenol tổng giữa các nồng độ ethanol khảo sát. Cụ thể, $F_{\text{tính}} = 28,46 > F_{\text{bảng}} = 4,07$ với $p = 1,28 \times 10^{-4} < 0,05$. Do đó, có thể kết luận rằng nồng độ ethanol có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng polyphenol tổng trong dịch chiết [11]. Hình 2a cho thấy khi tăng nồng độ ethanol từ 60 lên 80%, giá trị TPC tăng dần từ 36,8 lên 42,1 mg GAE/g cao chiết. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ ethanol lên 90%, TPC giảm xuống còn 39,7 mg GAE/g. Xu hướng này có thể là do sự thay đổi độ phân cực của dung môi [12]. Polyphenol là nhóm hợp chất có độ phân cực trung bình đến cao, do đó dung môi hỗn hợp ethanol – nước thường cho hiệu quả chiết tốt hơn so với dung môi đơn lẻ. Ở nồng độ ethanol thấp (60–70%), hàm lượng nước cao làm tăng độ phân cực của dung môi, nhưng có thể hạn chế khả năng hòa tan một số hợp chất polyphenol ít phân cực. Khi tăng nồng độ ethanol lên khoảng 80%, sự cân bằng giữa ethanol và nước tạo điều kiện thuận lợi cho việc phá vỡ cấu trúc tế bào thực vật và tăng khả năng hòa tan polyphenol, từ đó làm tăng hiệu suất chiết. Ngược lại, ở nồng độ ethanol cao ($\geq 90\%$), độ phân cực của dung môi giảm đáng kể, dẫn đến giảm khả năng hòa tan các hợp chất polyphenol phân cực, đồng thời làm giảm hiệu quả khuếch tán của dung môi vào nguyên liệu [13]. Do đó, hàm lượng polyphenol thu được giảm. Từ kết quả này có thể coi nồng độ ethanol khoảng 80% là điều kiện thích hợp để tiếp tục khảo sát trong các thí nghiệm tiếp theo.

Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/nguyên liệu

Nhằm xác định mức độ ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi/nguyên liệu đến khả năng chiết polyphenol tổng, chúng tôi xử lý dữ liệu thực nghiệm bằng phân tích phương sai một yếu tố. Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng polyphenol

tổng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các tỉ lệ dung môi/nguyên liệu khảo sát. Cụ thể, $F_{\text{tính}} = 11,21 > F_{\text{bảng}} = 4,07$ với $p = 3,09 \times 10^{-3} < 0,05$. Kết quả này cho thấy rằng tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là yếu tố có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng polyphenol tổng trong dịch chiết [11]. Kết quả khảo sát ở Hình 2b cho thấy khi tăng tỷ lệ từ 16/1 lên 20/1 (mL/g), giá trị TPC tăng đáng kể từ 38,4 lên 42,1 mg GAE/g cao chiết. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng tỷ lệ dung môi lên 22/1 và 24/1, TPC không tăng thêm đáng kể (≈ 42 mg GAE/g) và thậm chí có xu hướng giảm nhẹ xuống 40,6 mg GAE/g ở tỷ lệ 24/1. Hiện tượng này có thể phụ thuộc vào quá trình khuếch tán và cân bằng hòa tan [14, 15]. Ở tỷ lệ dung môi thấp, lượng dung môi không đủ để hòa tan hoàn toàn các hợp chất

polyphenol, dẫn đến hiệu suất chiết thấp. Khi tăng tỷ lệ dung môi, gradient nồng độ giữa nguyên liệu và dung môi tăng lên, thúc đẩy quá trình khuếch tán và làm tăng hiệu suất chiết. Tuy nhiên, khi vượt quá một giá trị nhất định, sự gia tăng thể tích dung môi không còn làm tăng đáng kể khả năng hòa tan do hệ đã gần đạt trạng thái cân bằng, đồng thời làm giảm hiệu quả kinh tế của quá trình. Ngoài ra, việc sử dụng lượng dung môi quá lớn có thể dẫn đến hiện tượng pha loãng, làm giảm nồng độ polyphenol trong dịch chiết và không cải thiện đáng kể hiệu suất thu hồi. Do đó, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu khoảng 20/1 được xem là phù hợp để lựa chọn cho các thí nghiệm tối ưu hóa tiếp theo.



Hình 2. Kết quả khảo sát đơn biến: nồng độ EtOH (a); tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (b); nhiệt độ (c); thời gian (d)

Ảnh hưởng của nhiệt độ

Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến hàm lượng polyphenol tổng được đánh giá thông qua phân tích phương sai một yếu tố. Kết quả xử lý thống kê cho thấy sự thay đổi nhiệt độ chiết tạo ra sự khác biệt có ý nghĩa về hàm lượng polyphenol tổng giữa các mẫu khảo sát. Cụ thể, $F_{\text{tính}} = 16,88 > F_{\text{bảng}} = 4,07$ với $p = 8,04 \times 10^{-3} < 0,05$. Từ đó có thể nhận định rằng nhiệt độ chiết có tác động rõ rệt

đến hiệu quả thu nhận polyphenol tổng trong dịch chiết [11]. Kết quả trên Hình 2c cho thấy khi tăng nhiệt độ từ 45 °C lên 65 °C, giá trị TPC tăng từ 37,9 lên 41,8 mg GAE/g cao chiết. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nhiệt độ lên 75 °C, TPC giảm xuống còn 39,2 mg GAE/g. Sự gia tăng TPC khi tăng nhiệt độ trong khoảng 45–65 °C có thể là do nhiệt độ cao làm tăng độ hòa tan của các hợp chất polyphenol, đồng thời làm giảm độ nhớt của

dung môi, từ đó tăng cường khả năng khuếch tán và thẩm thấu của dung môi vào cấu trúc nguyên liệu. Ngoài ra, nhiệt còn góp phần phá vỡ thành tế bào thực vật, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình giải phóng các hợp chất polyphenol. Tuy nhiên, khi nhiệt độ vượt quá 65 °C, hàm lượng polyphenol thu được có xu hướng giảm. Nguyên nhân có thể do một số hợp chất polyphenol nhạy cảm với nhiệt, dễ bị phân hủy hoặc biến đổi cấu trúc ở nhiệt độ cao, dẫn đến giảm hiệu suất chiết. Đồng thời, nhiệt độ quá cao cũng có thể làm tăng quá trình oxy hóa các hợp chất này [16–18]. Từ kết quả khảo sát, có thể coi nhiệt độ khoảng 65 °C là điều kiện thích hợp để tiếp tục sử dụng trong các thí nghiệm tối ưu hóa tiếp theo.

Ảnh hưởng của thời gian

Sự ảnh hưởng của thời gian chiết đến hàm lượng polyphenol tổng được đánh giá bằng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố. Kết quả thống kê cho thấy hàm lượng polyphenol tổng thu được ở các mốc thời gian chiết khác nhau có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Cụ thể, $F_{\text{tính}} = 18,29 > F_{\text{bảng}} = 4,07$ với $p = 6,11 \times 10^{-4} < 0,05$. Điều này cho thấy thời gian chiết là một trong những yếu tố ảnh hưởng rõ rệt đến hiệu quả thu nhận polyphenol tổng trong dịch chiết [11]. Kết quả khảo sát thời gian chiết (Hình 2d) cho thấy khi tăng thời gian từ 60 lên 90 phút, giá trị TPC tăng

từ 40,2 lên 42,1 mg GAE/g cao chiết. Tuy nhiên, khi tiếp tục kéo dài thời gian chiết đến 120 và 150 phút, TPC có xu hướng giảm xuống lần lượt còn 40,7 và 37,9 mg GAE/g. Sự gia tăng TPC trong giai đoạn đầu có thể là do thời gian tiếp xúc giữa dung môi và nguyên liệu tăng lên, tạo điều kiện cho quá trình khuếch tán và hòa tan các hợp chất polyphenol diễn ra hiệu quả hơn. Khi thời gian chiết đạt đến khoảng 90 phút, hệ gần đạt trạng thái cân bằng và lượng polyphenol được chiết ra đạt mức tối đa. Tuy nhiên, việc kéo dài thời gian chiết vượt quá mức tối ưu không làm tăng hiệu suất mà còn có xu hướng làm giảm hàm lượng polyphenol thu được. Nguyên nhân có thể do sự phân hủy hoặc oxy hóa các hợp chất polyphenol trong điều kiện nhiệt độ và thời gian kéo dài, đồng thời có thể xảy ra hiện tượng tái hấp phụ hoặc tương tác ngược giữa các hợp chất với bã nguyên liệu [19]. Từ kết quả này, thời gian chiết khoảng 90 phút được xem là phù hợp để sử dụng trong các thí nghiệm tối ưu hóa tiếp theo.

3.2 Tối ưu hóa quy trình chiết

Phân tích ảnh hưởng của các thông số đầu vào tới TPC

Kết quả của các thử nghiệm tối ưu hoá các yếu tố ảnh hưởng được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả tối ưu hóa một số điều kiện chiết polyphenol

STT	Nồng độ EtOH (%)	Tỷ lệ DM/NL (mL/g)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	TPC (mg GAE/ g cao)
1	60	16	60	105	36,6
2	60	24	60	105	37,7
3	90	16	60	105	39,5
4	90	24	60	105	38,7
5	60	20	45	105	37,3
6	60	20	75	105	38,9
7	90	20	45	105	38,2
8	90	20	75	105	39,4
9	60	20	60	60	39,4
10	60	20	60	150	37,5

STT	Nồng độ EtOH (%)	Tỷ lệ DM/NL (mL/g)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	TPC (mg GAE/ g cao)
11	90	20	60	60	40,2
12	90	20	60	150	38,2
13	75	16	45	105	40,1
14	75	16	75	105	42,7
15	75	24	45	105	40,7
16	75	24	75	105	39,2
17	75	16	60	60	43,1
18	75	16	60	150	38,3
19	75	24	60	60	41,1
20	75	24	60	150	39,9
21	75	20	45	60	41,7
22	75	20	45	150	39,6
23	75	20	75	60	42,3
24	75	20	75	150	41,1
25	75	20	60	105	44,7
26	75	20	60	105	45,2
27	75	20	60	105	44,6

Kết quả ANOVA (Bảng 3) cho thấy mô hình hồi quy bậc hai có ý nghĩa thống kê rất cao với giá trị $F = 28,04$ và $p < 0,0001$, chứng tỏ mô hình phù hợp để mô tả mối quan hệ giữa các yếu tố ảnh hưởng và hàm lượng polyphenol tổng. Giá trị $CV\% = 1,47\%$ nhỏ cho thấy độ biến thiên thấp và độ lặp lại tốt của thí nghiệm.

Hệ số Adjusted $R^2 = 0,9357$ cho thấy mô hình giải thích được 93,57% sự biến thiên của dữ liệu, trong khi Predicted $R^2 = 0,8343$ không sai khác lớn, chứng tỏ khả năng dự đoán của mô hình là tốt. Giá trị Adeq Precision = 17,6012 lớn hơn 4 khẳng định tín hiệu của mô hình đủ mạnh để sử dụng trong tối ưu hóa. Kiểm định Lack of Fit có $p = 0,2231$ lớn hơn 0,05, cho thấy không có sự sai lệch đáng kể giữa mô hình và dữ liệu thực nghiệm.

Đối với các yếu tố ảnh hưởng, thời gian chiết (D) có ảnh hưởng mạnh nhất đến TPC với $F = 41,52$ và $p < 0,0001$. Tiếp theo là nồng độ ethanol (A) với $F = 11,02$ và $p = 0,0061$, và nhiệt độ (C) với $F = 8,58$ và $p = 0,0126$. Trong khi đó, tỷ lệ dung

môi/nguyên liệu (B) khi xét đơn biến không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,1688$.

Các tương tác BC và BD có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, cho thấy tỷ lệ dung môi có vai trò khi kết hợp với nhiệt độ và thời gian chiết. Ngược lại, các tương tác AB, AC, AD và CD không có ý nghĩa thống kê.

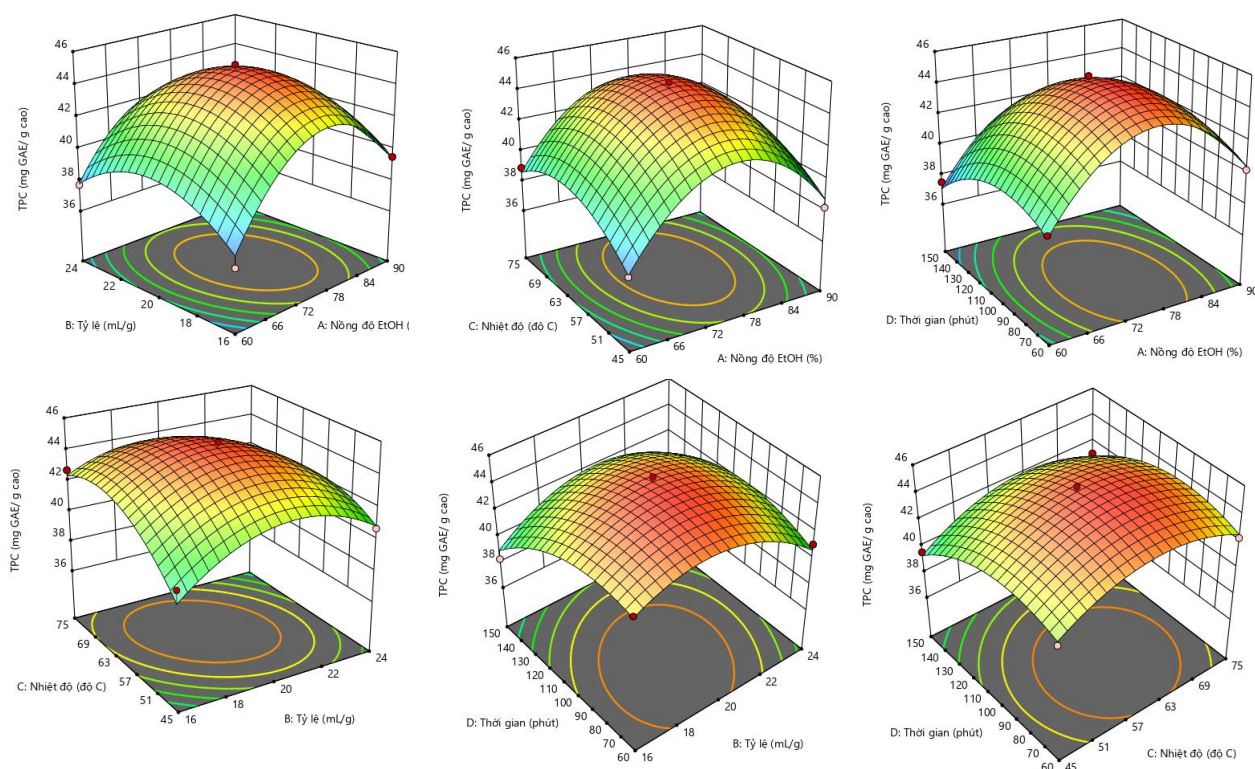
Các thành phần bậc hai A^2 , B^2 , C^2 và D^2 đều có $p < 0,0001$ với giá trị F lớn, đặc biệt $A^2 = 289,68$, cho thấy mối quan hệ giữa các yếu tố và TPC là phi tuyến và tồn tại điểm tối ưu trong miền khảo sát. Từ kết quả phân tích ANOVA có thể kết luận rằng mô hình hồi quy xây dựng là phù hợp và có độ tin cậy. Các yếu tố chính ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol tổng bao gồm thời gian chiết, nồng độ ethanol và nhiệt độ, trong khi tỷ lệ dung môi chủ yếu ảnh hưởng thông qua tương tác. Mối quan hệ phi tuyến giữa các yếu tố cho thấy sự tồn tại của điều kiện tối ưu, tạo cơ sở cho việc xác định điều kiện chiết thích hợp nhằm thu được hàm lượng polyphenol cao nhất.

Bảng 3. Kết quả phân tích ANOVA

Nguồn	Tổng bình phương	Bậc tự do	Giá trị F	Giá trị p	Các giá trị khác
Mô hình	137,28	14	28,04	<0,0001	CV = 1,47%
A-Nồng độ EtOH	3,85	1	11,02	0,0061	Adjusted R ² = 0,9357
B-Tỷ lệ DM/NL	0,75	1	2,14	0,1688	
C-Nhiệt độ	3	1	8,58	0,0126	
D-Thời gian	14,52	1	41,52	<0,0001	Predicted R ² = 0,8343
AB	0,9025	1	2,58	0,1342	
AC	0,04	1	0,1144	0,7411	
AD	0,0025	1	0,0071	0,934	Adeq Precision = 17,6012
BC	4,2	1	12,02	0,0047	
BD	3,24	1	9,26	0,0102	
CD	0,2025	1	0,579	0,4614	
A ²	101,31	1	289,68	<0,0001	
B ²	29,66	1	84,82	<0,0001	
C ²	19,42	1	55,54	<0,0001	
D ²	16,49	1	47,15	<0,0001	
Residual	4,2	12			
Lack of Fit	3,99	10	3,86	0,2231	
Pure Error	0,2067	2			
Cor Total	141,48	26			

Ghi chú: CV - Hệ số biến thiên; Adjusted R² - Hệ số R² đã hiệu chỉnh; Predicted R² - Hệ số R² dự đoán; Adequate Precision: Tỷ số tín hiệu trên nhiễu.

$$\text{TPC} = 44,83 + 0,5667A - 0,2500B + 0,5000C - 1,10D - 0,4750AB - 0,1000AC - 0,0250AD - 1,03BC + 0,9000BD + 0,2250CD - 4,36A^2 - 2,36B^2 - 1,91C^2 - 1,76D^2$$



Hình 3. Đường biểu diễn bề mặt đáp ứng của TPC và các yếu tố ảnh hưởng

Tối ưu hoá quy trình chiết polyphenol từ thân cây An xoa

Kết quả tối ưu hóa bằng phương pháp hàm kỳ vọng cho thấy điều kiện tối ưu của quá trình chiết polyphenol từ thân cây An xoa gồm nồng độ ethanol 76,10%, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 19,36 mL/g, nhiệt độ 62,28 °C và thời gian chiết 89,50 phút. Tại điều kiện này, giá trị TPC dự đoán đạt 45,10 mg GAE/g cao chiết, với chỉ số desirability đạt 0,989, cho thấy mức độ tối ưu tốt.

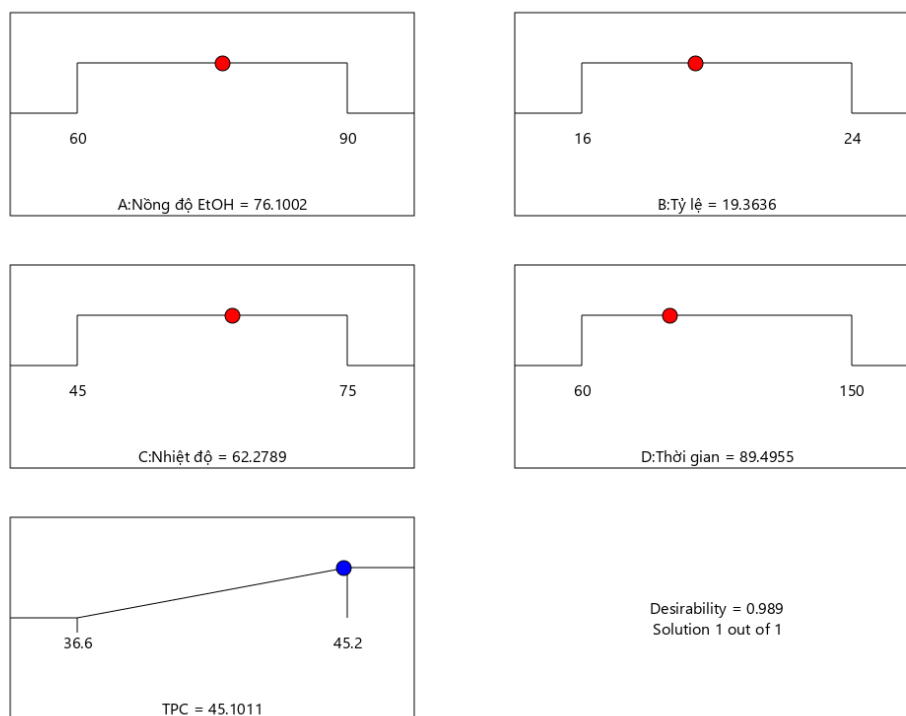
Phân tích đồ thị hàm kỳ vọng cho thấy các yếu tố ảnh hưởng đến TPC theo xu hướng phi tuyến rõ rệt. Đối với nồng độ ethanol, TPC tăng dần khi tăng nồng độ dung môi đến khoảng 76%, sau đó giảm nhẹ khi tiếp tục tăng, phản ánh sự cân bằng giữa độ phân cực của dung môi và khả năng hòa tan các hợp chất polyphenol. Nồng độ ethanol quá cao có thể làm giảm khả năng chiết các hợp chất có tính phân cực, trong khi nồng độ thấp lại không đủ hiệu quả để hòa tan các hợp chất kém phân cực.

Đối với tỷ lệ dung môi/nguyên liệu, giá trị tối ưu nằm trong khoảng 19–20 mL/g, cho thấy

khi lượng dung môi tăng, khả năng tiếp xúc và khuếch tán giữa dung môi và nguyên liệu được cải thiện, từ đó nâng cao hiệu quả chiết. Tuy nhiên, khi vượt quá giá trị này, hiệu quả tăng không đáng kể do hệ đạt trạng thái cân bằng. Điều này phù hợp với kết quả ANOVA khi yếu tố này không có ý nghĩa riêng lẻ nhưng có vai trò tương tác.

Nhiệt độ chiết tối ưu khoảng 62 °C cho thấy sự cân bằng giữa việc tăng tốc độ khuếch tán và nguy cơ phân hủy polyphenol ở nhiệt độ cao. Tương tự, thời gian chiết khoảng 89 phút là phù hợp để quá trình khuếch tán đạt hiệu quả cao nhất, trong khi kéo dài thời gian hơn nữa có thể làm giảm TPC do các phản ứng oxy hóa hoặc phân hủy xảy ra.

Giá trị desirability cao cùng với sự tương đồng với xu hướng khảo sát đơn biến cho thấy mô hình có độ tin cậy tốt và phản ánh đúng ảnh hưởng của các yếu tố. Như vậy, điều kiện tối ưu thu được là hợp lý, có tính khả thi và có thể áp dụng trong thực nghiệm nhằm nâng cao hiệu suất chiết polyphenol.



Hình 4. Hàm kỳ vọng và điều kiện tối ưu hoá

Xác nhận điều kiện tối ưu hoá quy trình chiết polyphenol từ thân cây An xoa

Thí nghiệm xác nhận được thực hiện tại điều kiện tối ưu gồm nồng độ ethanol 76,01% (làm tròn 76%), tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 19,36 mL/g (làm tròn 19,0 mL/g), nhiệt độ 62,28 °C (làm tròn 62 °C) và thời gian chiết 89,50 phút. Giá trị TPC dự đoán từ mô hình là 45,10 mg GAE/g cao chiết. Kết quả thực nghiệm được trình bày trong Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả xác nhận điều kiện tối ưu quy trình chiết polyphenol từ thân cây An xoa

TPC dự đoán	TPC thực nghiệm	TPC ± SD	Sai số (%)	$t_{\text{tính}}$	$t_{\text{bảng}}$
	43,75				
45,10	44,62	44,58 ± 1,31	1,16	1,127	4,303
	45,37				

Dựa vào Bảng 4 có thể thấy rằng kiểm định student có giá trị $t_{\text{tính}} = 1,127$ nhỏ hơn giá trị $t_{\text{bảng}} = 4,303$ ở mức ý nghĩa 95%, chứng tỏ không có sự

khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa giá trị thực nghiệm và giá trị dự đoán. Sai số tương đối giữa hai giá trị là nhỏ (<5%). Do đó, mô hình hồi quy được xem là có độ tin cậy và có khả năng dự đoán tốt trong phạm vi khảo sát.

4 Kết luận

Chúng tôi đã tối ưu hóa quá trình chiết polyphenol bằng phương pháp bề mặt đáp ứng. Kết quả ANOVA cho thấy mô hình có ý nghĩa thống kê cao ($p < 0,0001$) và khả năng dự đoán tốt ($R^2 = 0,9703$), trong đó nồng độ ethanol, nhiệt độ và thời gian chiết là các yếu tố ảnh hưởng chính. Điều kiện tối ưu được xác định gồm nồng độ ethanol 76,10%, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 19,36 mL/g, nhiệt độ 62,27 °C và thời gian chiết 89,50 phút, với giá trị TPC dự đoán đạt 45,10 mg GAE/g cao chiết (desirability = 0,989). Kết quả thực nghiệm phù hợp với giá trị dự đoán ($p > 0,05$), chứng tỏ mô hình có độ tin cậy.

Lời cảm ơn

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Y Dược Buôn Ma Thuột đã hỗ trợ, tạo điều kiện để hoàn thành nghiên cứu này.

Xung đột lợi ích

Các tác giả tuyên bố không có mâu thuẫn nào liên quan đến việc xuất bản bài báo này.

Tài liệu tham khảo

1. Pham HNT, Van Vuong Q, Bowyer M, Scarlett C, editors. Phytochemical profiles and potential health benefits of *Helicteres hirsuta* Lour. Proc 1st Int Electron Conf Food Sci Funct Foods; 2020.
2. Cutrim CS, Cortez MAS. A review on polyphenols: Classification, beneficial effects and their application in dairy products. International Journal Dairy Technology. 2018;71(3):564-78.
3. Erukainure OL, Mesaik AM, Muhammad A, Chukwuma CI, Manhas N, Singh P, et al. Flowers of *Clerodendrum volubile* exacerbate immunomodulation by suppressing phagocytic oxidative burst and modulation of COX-2 activity. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2016;83:1478-84.
4. Kammerer DR, Kammerer J, Valet R, Carle R. Recovery of polyphenols from the by-products of plant food processing and application as valuable food ingredients. Food Research International. 2014;65:2-12.
5. Sajadimajd S, Bahramsoltani R, Iranpanah A, Patra JK, Das G, Gouda S, et al. Advances on natural polyphenols as anticancer agents for skin cancer. Pharmacological research. 2020;151:104584.
6. Long D, Le V, Quang H, Han H, Hue T, Trang N. Bioactive Components of *Helicteres hirsuta* Collected in Thua Thien Hue. Indian Journal of Science and Technology. 2023;16(44):4114-22.
7. Pham NK, Bauerova K, Cuong NM. Studies on hepatoprotective effects of Vietnamese medicinal plants. Vietnam Journal of Science and Technology. 2023;61(5):725-50.
8. Le TH, Nguyen MN, Nguyen THC, Le LS, Ho XAV, Tran TM, et al. Hepatoprotective and Antioxidant Activities of Methanolic *Helicteres hirsuta* Leaf Extract. Chemistry & Biodiversity. 2025;22(12):e00878.
9. Bộ Y tế. Dược điển Việt Nam V. Hà Nội: Nhà xuất bản Y học; 2017.
10. Ministry of Science Technology. Determination of substances characteristic of green and black tea - Part 1: Content of total polyphenols in tea - Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent. Vietnam: Ministry of Science and Technology; 2013.
11. Miller JN, Miller JC. Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry. 6th ed. Harlow: Pearson Education; 2010.
12. Nacif de Abreu I, Mazzafera P. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. Plant Physiology and Biochemistry. 2005;43(3):241-8.
13. Ćujić N, Šavikin K, Janković T, Pljevljakušić D, Zdunić G, Ibrić S. Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. Food Chemistry. 2016;194:135-42.
14. Pinelo M, Rubilar M, Jerez M, Sineiro J, Núñez MJ. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. Journal of agricultural and food chemistry. 2005;53(6):2111-7.
15. Nguyen VT, Bowyer MC, Van Altena IA, Scarlett CJ. Optimisation of microwave-assisted extraction from *Phyllanthus amarus* for phenolic compounds-enriched extracts and antioxidant capacity. Chemical Papers. 2016;70(6):713-25.
16. Minh T, Koóng. Kỹ thuật sản xuất dược phẩm. Hà Nội: Nhà xuất bản Y học; 2007.
17. Al-Farsi MA, Lee CY. Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. Food Chemistry. 2008;108(3):977-85.
18. Wang J, Sun B, Cao Y, Tian Y, Li X. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. Food Chemistry. 2008;106(2):804-10.
19. Naczek M, Shahidi F. Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A. 2004;1054(1-2):95-111.