

ISSN 1859 - 4735



TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU

JOURNAL OF MEDICINAL MATERIALS

SỐ 3 - TẬP 31
6/2026

VIỆN DƯỢC LIỆU
NATIONAL INSTITUTE OF MEDICINAL MATERIALS

3B Quang Trung, phường Cửa Nam, thành phố Hà Nội - Việt Nam
TEL: (+84-24) 38247058 FAX: (+84-24) 39348740
Email: tapchiduoclieu@nimm.org.vn; tapchiduoclieu@gmail.com

TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU (Bản in và Bản điện tử)

BAN BIÊN TẬP (Nhiệm kỳ 2025-2030)

(Kèm theo Quyết định số 666/QĐ-VDL ngày 24/4/2025 của Viện trưởng Viện Dược liệu)

TỔNG BIÊN TẬP **PGS.TS. Đỗ Thị Hà**

I. Tiểu ban Dược liệu - Dược học cổ truyền

- **PGS.TSKH. Nguyễn Minh Khởi - Trưởng Ban**
- PGS.TS. Nguyễn Thượng Dong - Ủy viên
- GS.TS. Nguyễn Minh Đức - Ủy viên
- GS.TS. Trần Công Luận - Ủy viên
- GS.TS. Won Keun Oh - Ủy viên
- PGS.TS. Trần Hùng - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thị Bích Thu - Ủy viên
- PGS.TS. Phương Thiện Thương - Ủy viên
- PGS.TS. Phan Minh Giang - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Việt Dũng - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Quốc Huy - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thu Hằng - Ủy viên
- TS. Trần Minh Ngọc - Ủy viên
- TS. Nguyễn Văn Tài - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Đình Chi - Ủy viên
- TS. Nguyễn Tuấn Hiệp - Ủy viên.

II. Tiểu ban Dược lý - Dược lâm sàng

- **PGS.TS. Phạm Thị Nguyệt Hằng - Trưởng Ban**
- PGS.TSKH. Đỗ Trung Đàm - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Hương - Ủy viên
- GS.TS. William R. Folk - Ủy viên
- PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thùy Dương - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Văn Minh - Ủy viên
- TS. Trần Thị Hiền - Ủy viên.

III. Tiểu ban Nông Sinh

- **TS. Nguyễn Văn Khiêm - Trưởng Ban**
- TS. Phan Thúy Hiền - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Văn Tập - Ủy viên
- PGS.TS. Phạm Thanh Huyền - Ủy viên
- GS.TS. Trần Thế Bách - Ủy viên.

IV. Tiểu ban Thư ký - Trị sự

- **PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Trưởng Ban**
- TS. Lê Thị Xoan - Thư ký chuyên môn
- CN. Nguyễn Thị Minh Lộc - Thư ký trị sự.

Trang	NGHIÊN CỨU KHOA HỌC	Page	SCIENTIFIC RESEARCH
163	Thành phần hóa học và tác dụng ức chế sản sinh NO của phần trên mặt đất loài cúc mùi - Nguyễn Thị Hồng Anh, Nguyễn Thị Huế, Phan Thị Trang, Phạm Văn Công, Nguyễn Văn Tài	163	Chemical Constituents and NO Inhibitory Activity of the Aerial Parts of <i>Tridax procumbens</i> - Nguyen Thi Hong Anh, Nguyen Thi Hue, Phan Thi Trang, Pham Van Cong, Nguyen Van Tai
170	Xây dựng phương pháp xác định 11 chất cấm trộn trái phép trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe hỗ trợ giảm cân bằng sắc ký lỏng khối phổ phân giải cao - Nguyễn Quang Hưng, Trần Hồng Ngọc, Mạc Thị Thanh Hoa, Nguyễn Văn Khoa, Vũ Phương Hạnh, Trần Thúy Hạnh, Bùi Thế Kiên, Trần Cao Sơn, Nguyễn Thị Kiều Anh	170	Development of a Method for Determination of Eleven Illicit Adulterants in Weight-Loss Dietary Supplements by Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry - Nguyen Quang Hung, Tran Hong Ngoc, Mac Thi Thanh Hoa, Nguyen Van Khoa, Vu Phuong Hanh, Tran Thuy Hanh, Bui The Kien, Tran Cao Son, Nguyen Thi Kieu Anh
179	Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở vị thuốc nụ hộc sao vàng - Nguyễn Thị Hà Ly, Trần Huyền Trang, Lê Hồng Văn Anh, Phạm Thị Hiền, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Thanh Hương, Tạ Thị Thảo	179	Establishing In-house Standards for Processed <i>Syphnolobium japonicum</i> L. Buds - Nguyen Thi Ha Ly, Tran Huyen Trang, Le Hong Van Anh, Pham Thi Hien, Do Thi Ha, Nguyen Thanh Huong, Ta Thi Thao
187	Tối ưu hóa quy trình chiết siêu âm để chiết xuất polyphenol và triterpenoid từ lá cây insulin trồng ở Việt Nam bằng phương pháp bề mặt đáp ứng - Nguyễn Lâm Hồng, Trần Văn Sang, Vũ Minh Đức, Nguyễn Bá Trung, Nguyễn Hoàng Quân, Nguyễn Tiến Trung, Dương Minh Tân	187	Optimization of Ultrasonic Extraction Process for the Extraction of Polyphenols and Triterpenoids from Insulin Leaves (<i>Costus pictus</i> D. Don) Grown in Vietnam Using the Response Surface Method - Nguyen Lam Hong, Tran Van Sang, Vu Minh Duc, Nguyen Ba Trung, Nguyen Hoang Quan, Nguyen Tien Trung, Duong Minh Tan
197	Tác dụng an thần, giải lo âu, chống trầm cảm của cao chiết từ thân rễ sâm Lai Châu - Tô Trung Kiên, Trần Bá Luân, Ngô Quỳnh Như, Trương Quang Đạt, Nguyễn Trương Lễ Nghi, Trần Thị Thảo Trần, Lê Văn Minh, Nguyễn Hoàng Minh	197	Sleep-Prolonging, Anxiolytic and Antidepressant-Like Effects of the Extract from <i>Panax vietnamensis</i> var. <i>fuscifolius</i> K.Komatsu, S.Zhu & S.Q.Cai - To Trung Kien, Tran Ba Luu, Ngo Quynh Nhu, Truong Quang Dat, Nguyen Truong Le Nghi, Tran Thi Thao Tran, Le Van Minh, Nguyen Hoang Minh
203	Bảy lá một hoa ức chế ung thư vú thực nghiệm trên chuột bằng độc tế bào và apoptosis - Phạm Thị Nguyệt Hằng, Trần Thị Hồng Vân, Phạm Minh Hiếu, Phạm Anh Tùng, Phí Đình Uy, Nguyễn Văn Hiệp, Lê Thị Xoan, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Thị Ngọc Bích, Trần Đình Nghĩa, Hoàng Thị Tuyết Nhung	203	<i>Paripolyphylla</i> var. <i>chinensis</i> Smith Inhibits Experimental Breast Cancer in Mice via Cytotoxicity and Apoptosis - Pham Thi Nguyet Hang, Tran Thi Hong Van, Pham Minh Hieu, Pham Anh Tung, Phi Dinh Uy, Nguyen Van Hiep, Le Thi Xoan, Do Thi Ha, Nguyen Thi Ngoc Bich, Tran Dinh Nghia, Hoang Thi Tuyet Nhung
211	Nghiên cứu trên thực nghiệm tác dụng hạ đường huyết của cao chiết từ lá cây nọc xoài, họ Cúc - Nguyễn Đông Nhi, Trương Nhật Minh, Võ Thành Nhân, Trần Hoàng Khả Hán, Nguyễn Thị Thu Hương	211	Experimental Study on Hypoglycemic Effect of Leaf Extract from <i>Struchium sparganophorum</i> (L.) Kuntze (Asteraceae) - Nguyen Dong Nhi, Truong Nhat Minh, Vo Thanh Nhan, Tran Hoang Kha Han, Nguyen Thi Thu Huong
220	Đánh giá tiềm năng chống oxy hóa và độc tính tế bào HEPG2 của lá trà hoa đỏ - Nguyễn Thị Thu Hương, Trần Thanh Hào, Trần Hoàng Khả Hán, Nguyễn Trần Hoàng Anh, Lý Hải Triều	220	Evaluation of Antioxidant Potential and HepG2 Cytotoxicity of Red-Flowered <i>Camellia</i> (<i>Camellia longi</i> Orel & Lau) Leaves - Nguyen Thi Thu Huong, Tran Thanh Hao, Tran Hoang Kha Han, Nguyen Tran Hoang Anh, Ly Hai Trieu
232	Tác dụng ức chế vi khuẩn <i>Helicobacter pylori</i> của cao chiết và các diterpenoid từ khổ sâm - Vũ Thị Oanh, Lương Thùy Nhung, Trần Thị Minh Nguyệt, Phạm Bảo Yên, Nguyễn Khắc Tiếp, Phương Thiên Thương	232	Antibacterial Activity of Extracts and Isolated Compounds from <i>Croton tonkinensis</i> Gagnep. Against <i>Helicobacter pylori</i> - Vu Thi Oanh, Luong Thuy Nhung, Tran Thi Minh Nguyet, Pham Bao Yen, Nguyen Khac Tiep, Phuong Thien Thuong
239	Đánh giá đặc điểm hình thái, năng suất và chất lượng một số nguồn gen đậu mè thu thập tại Việt Nam - Trần Thị Trang, Trần Ngọc Thanh, Lô Đức Việt, Trần Thị Kim Dung, Nguyễn Thị Mai Phương, Đào Xuân Quang, Nhu Thu Nga, Nguyễn Đức Mạnh, Đào Việt Quốc, Nguyễn Văn Tài, Lê Thị Loan, Đặng Minh Tú	239	Evaluation of Morphological Characteristics, Yield, and Quality of <i>Mucuna pruriens</i> (L.) DC. Germplasm Collected in Vietnam - Tran Thi Trang, Tran Ngoc Thanh, Lo Duc Viet, Tran Thi Kim Dung, Nguyen Thi Mai Phuong, Dao Xuan Quang, Nhu Thu Nga, Nguyen Duc Manh, Dao Viet Quoc, Nguyen Van Tai, Le Thi Loan, Dang Minh Tu
246	Đánh giá đặc điểm nông sinh học và hàm lượng sinensetin của các mẫu giống rau mè tại Hà Nội - Nhu Thu Nga, Lô Đức Việt, Trần Thị Kim Dung, Trần Thị Trang, Nguyễn Thị Mai Phương, Trần Ngọc Thanh, Tô Minh Tú, Hoàng Thị Tuyết, Nguyễn Văn Hiếu, Trịnh Văn Vương, Nguyễn Đức Mạnh	246	Assessment of Agro-Biological Characteristics and Sinensetin Content of <i>Orthosiphon spiralis</i> (Lour.) Merr. in Hanoi - Nhu Thu Nga, Lo Duc Viet, Tran Thi Kim Dung, Tran Thi Trang, Nguyen Thi Mai Phuong, Tran Ngoc Thanh, To Minh Tu, Hoang Thi Tuyet, Nguyen Van Hieu, Trinh Van Vuong, Nguyen Duc Manh

**TỐI ƯU HÓA QUY TRÌNH CHIẾT SIÊU ÂM ĐỂ CHIẾT XUẤT
POLYPHENOL VÀ TRITERPENOID TỪ LÁ CÂY INSULIN
TRỒNG Ở VIỆT NAM BẰNG PHƯƠNG PHÁP BỀ MẶT ĐÁP ỨNG**

*Nguyễn Lâm Hồng¹, Trần Văn Sang², Vũ Minh Đức², Nguyễn Bá Trung³, Nguyễn Hoàng Quân²,
Nguyễn Tiến Trung⁴, Dương Minh Tân^{2,*}*

¹Trường Đại học Dược Hà Nội; ²Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương;

³Trường Y Dược – Đại học Đà Nẵng; ⁴Trường cao đẳng Dược Hà Nội

**Email: tan.vkn@gmail.com*

Nhận bài: 20/5/2026

Chấp nhận đăng: 10/6/2026

Tóm tắt

Để tối ưu hóa quy trình chiết xuất polyphenol và triterpenoid từ dược liệu, phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology, RSM) được sử dụng rộng rãi nhằm đánh giá đồng thời ảnh hưởng của nhiều yếu tố và tìm ra điều kiện tối ưu cho hệ thống chiết. Nghiên cứu thực hiện tối ưu hóa quy trình chiết xuất polyphenol, triterpenoid bằng siêu âm từ lá cây insulin (*Costus pictus* D. Don) trồng ở Việt Nam. Thí nghiệm được thiết kế theo mô hình Box-Behnken, sử dụng phương pháp RSM, thu được điều kiện chiết xuất tối ưu là dung môi ethanol 66% ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 90 phút, hàm lượng polyphenol và triterpenoid thực tế thu được lần lượt là $3,65 \pm 0,05$ mg GAE/g và $2,17 \pm 0,04$ mg OAE/g. Kết quả này cũng phù hợp với dự đoán của mô hình toán học đã khẳng định tính chính xác và khả năng ứng dụng thực tiễn của quy trình. Quy trình được tối ưu cũng góp phần định hướng nghiên cứu tiếp theo nhằm mở rộng và nâng cấp quy mô chiết siêu âm để điều chế cao giàu polyphenol và triterpenoid lên mức bán công nghiệp và công nghiệp.

Từ khóa: *Cây insulin; Costus pictus; Polyphenol; Triterpenoid; Bề mặt đáp ứng; Box-Behnken (BBD).*

Summary

Optimization of Ultrasonic Extraction Process for the Extraction of Polyphenols and Triterpenoids from Insulin Leaves (*Costus pictus* D. Don) Grown in Vietnam Using the Response Surface Method

Response Surface Methodology (RSM) is widely utilized in optimizing the extraction of bioactive compounds from medicinal plants to evaluate the simultaneous effects of multiple factors and determine the optimal operating conditions. This study aimed to optimize the ultrasound-assisted extraction (UAE) process for recovering polyphenols and triterpenoids from the insulin leaves (*Costus pictus* D. Don) cultivated in Vietnam. Based on RSM, a three-factor Box-Behnken design (BBD) was applied with three independent variables: ethanol concentration (50–100%), extraction temperature (40–80°C), and extraction time (30–90 min). The established optimal conditions were 66% ethanol, a temperature of 80°C, and a duration of 90 min. Under these conditions, the experimental yields of total polyphenols and triterpenoids were 3.65 ± 0.05 mg GAE/g and 2.17 ± 0.04 mg OAE/g, respectively. These experimental results were in close agreement with the model-predicted values, thereby validating the reliability and practical applicability of the extraction model. The optimized process provides a solid foundation for further scale-up studies at semi-industrial and industrial levels.

Keywords: *Costus pictus; Polyphenol; Triterpenoid; Response Surface Method; Box-Behnken (BBD).*

1. Đặt vấn đề

Cây insulin (*Costus pictus* D. Don) là loài thực vật thuộc họ Costaceae. Đây là cây thân thảo, lá to, mọng nước, có nguồn gốc từ châu Mỹ nhưng được trồng phổ biến ở Ấn Độ và một số nước Nam Á [1]. Các khảo sát hóa thực vật cho thấy lá *C. pictus* chứa nhiều nhóm chất có hoạt tính sinh học, như: polyphenol, flavonoid, triterpenoid, saponin, steroid, alkaloid và tannin; đây là các thành phần chính mang lại tác dụng dược lý của cây [1],[2],[3],[4]. Đặc biệt, polyphenol có hoạt tính chống oxy hóa, qua đó làm giảm stress oxy hóa, bảo vệ tế bào beta tụy và góp phần hạn chế tiến triển của tăng đường huyết mạn tính [1]. Bên cạnh

đó, nhóm triterpenoid, bao gồm cả các saponin có khung triterpen, được ghi nhận có tiềm năng điều hòa chuyển hóa glucose và lipid, đồng thời có thể hỗ trợ tăng nhạy cảm insulin, kháng viêm và cải thiện các rối loạn chuyển hóa liên quan [3],[4].

Hiện nay, *C. pictus* đã được sử dụng như một nguồn dược liệu chữa trị tiểu đường tại một số bang của Ấn Độ [5]. Ở Việt Nam, *C. pictus* gần đây cũng được trồng nhiều và đang được quan tâm hơn chính nhờ tiềm năng hỗ trợ kiểm soát đái tháo đường và cải thiện các rối loạn chuyển hóa liên quan này [2],[6]. Tuy nhiên, chưa có nhiều nghiên cứu tập trung vào điều kiện chiết xuất nhóm hoạt chất polyphenol và triterpenoid được

thực hiện. Vì vậy, nghiên cứu này nhằm khảo sát điều kiện chiết siêu âm và tối ưu hóa quy trình bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology - RSM) để hướng tới điều chế cao giàu polyphenol và triterpenoid bằng chiết siêu âm ở quy mô cao hơn.

2. Đối tượng, phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là lá cây insulin (*Costus pictus* D. Don) được thu hái vào 05/2026 ở Thạch Thất, Hà Nội và được định danh bởi Bộ môn Thực vật, Trường Đại học Dược Hà Nội (Phiếu giám định số 60/2025). Lá cây sau khi thu hái được rửa sạch, thái nhỏ, phơi khô (hàm ẩm 8,7 %) và được bảo quản trong túi hút chân không.

2.2. Thiết bị, dụng cụ, hóa chất, chất chuẩn

Chất chuẩn: Acid gallic (GAE, $C_7H_6O_5$) (Sigma-Aldrich; lot: 0000471083; 99,8%); acid oleanolic (OAE, $C_{30}H_{48}O_3$) (VKNTTW; SKS: E0124398; 97,3% (nguyên trạng)).

Hóa chất, dung môi được sử dụng phù hợp cho phân tích (PA), bao gồm: ethanol (Công ty Cổ phần Hóa Dược Việt Nam), thuốc thử Folin & Ciocalteu (Sigma - Aldrich), natri carbonat (Scharlau), vanillin (Trung Quốc), acid acetic băng (Scharlau), acid perchloric đặc (Merck) và nước RO (VKNTTW).

Các thiết bị, dụng cụ đã được hiệu chuẩn, đáp ứng yêu cầu của ISO/IEC 17025 và GLP, bao gồm: cân phân tích (Mettler, $d = 0,1$ mg; Mettler, $d = 0,001$ mg); Máy quang phổ hấp thụ UV-Vis (Shimadzu, UV-2600); máy lắc siêu âm Elmasonic S100H (150 W; 37 kHz); bể điều nhiệt Memmert; micropipet và các loại dụng cụ thủy tinh chính xác class A.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp chiết xuất:

Cân chính xác khoảng 1,0 g dược liệu vào bình định mức 100 mL, chiết siêu âm (150 W; 37 kHz) với các điều kiện chiết: nồng độ ethanol, thời gian, nhiệt độ chiết được thiết kế theo mô hình Box-Behnken (BBD) với 15 thí nghiệm (được mô tả ở Bảng 2). Sau quá trình chiết, tiến hành lọc bỏ bã, thu được dung dịch thử. Tiến hành xác định hàm lượng polyphenol toàn phần

và triterpenoid toàn phần theo mô tả phần 2.3.2 và 2.3.3.

2.3.2. Phương pháp định lượng polyphenol toàn phần:

Định lượng polyphenol toàn phần sử dụng phương pháp tạo phức với thuốc thử Folin – Ciocalteu và tiến hành đo hấp thụ UV-VIS, so sánh với chuẩn acid gallic [7].

Chuẩn bị dãy các mẫu chuẩn: Cân chính xác khoảng 1,38 mg acid gallic (GAE) chuẩn vào bình định mức 10 mL màu nâu, thêm nước để hòa tan và định mức bằng nước. Hút chính xác 5,0 mL dung dịch trên vào bình định mức 25 mL màu nâu, thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều (dung dịch có nồng độ gallic acid khoảng 0,025 mg/mL). Hút chính xác lần lượt 1,0 mL; 2,0 mL; 3,0 mL; 4,0 mL; 5,0 mL dung dịch chuẩn vào các bình định mức 25 mL riêng biệt màu nâu, thêm vào mỗi bình 2 mL thuốc thử Folin – Ciocalteu (TT), sau đó thêm lần lượt 10 mL, 9 mL, 8 mL, 7 mL, 6 mL nước RO vào các bình tương ứng, thêm dung dịch natri carbonat 29% (TT) đến vạch, lắc đều thu được các mẫu chuẩn.

Mẫu thử: được chuẩn bị bằng cách hút chính xác 5,0 mL dịch lọc vào ống chiết thủy tinh, thổi khí nitơ đến cạn. Hòa tan lại toàn bộ lượng cặn sau khi cô bằng 12 mL nước RO vào bình định mức 25 mL, thêm 2 mL thuốc thử Folin – Ciocalteu (TT), lắc đều, định mức bằng dung dịch Na_2CO_3 29% (TT), lắc đều.

Mẫu trắng được chuẩn bị tương tự mẫu thử, nhưng sử dụng 5,0 mL nước RO.

Tiến hành đo quang ở bước sóng 760 nm. Dựa vào độ hấp thụ của các mẫu thử và dãy các mẫu chuẩn, xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính, tính tổng lượng polyphenol theo mẫu khô kiệt, quy về acid gallic (mg GAE/g).

2.3.3. Phương pháp định lượng triterpenoid toàn phần:

Định lượng triterpenoid toàn phần sử dụng phương pháp tạo phản ứng với thuốc thử vanillin 5 %/ acid acetic băng thành phức được đo bằng quang phổ hấp thụ UV-VIS [8].

Chuẩn bị dãy các mẫu chuẩn: Cân chính xác khoảng 2,00 mg acid oleanolic chuẩn vào bình

định mức 10 mL, hòa tan và định mức bằng *dung dịch ethanol 90% (TT)*. Hút chính xác lần lượt 0,5 mL; 0,8 mL; 1,0 mL; 1,2 mL; 1,5 mL vào các bình định mức 5 mL riêng biệt, làm đầy vừa đủ bằng *dung dịch ethanol 90% (TT)*, lắc đều. Hút chính xác 2,0 mL các dung dịch trên vào các ống chiết thủy tinh riêng biệt, thổi khí nitơ đến cạn. Sau khi cô cạn, để nguội về nhiệt độ phòng rồi thêm chính xác 0,6 mL *dung dịch vanilin 5%/ acetic acid băng (TT)* và 2,0 mL *dung dịch perchloric acid đặc (TT)*. Tiến hành phản ứng bằng cách đun cách thủy ở 60°C trong 15 phút. Sau đó, để nguội về nhiệt độ phòng và bổ sung 7,4 mL *dung dịch acetic acid băng (TT)*, lắc đều.

Mẫu thử: được chuẩn bị bằng cách hút chính xác 1,0 mL dịch lọc vào ống chiết thủy tinh, thổi khí nitơ đến cạn. Sau đó thêm chính xác 0,6 mL *dung dịch vanilin 5%/ acetic acid băng (TT)* và 2,0 mL *dung dịch perchloric acid đặc (TT)*, lắc đều. Tiến hành phản ứng bằng cách đun cách thủy ở 60°C trong 15 phút. Sau đó, để nguội về nhiệt độ phòng và bổ sung 7,4 mL *dung dịch acetic acid băng (TT)*, lắc đều.

Mẫu trắng được tiến hành tương tự mẫu thử, nhưng sử dụng 1,0 mL nước RO.

Tiến hành đo quang ở bước sóng 550 nm. Dựa vào độ hấp thụ của các mẫu thử và dãy các mẫu

chuẩn, xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính, tính tổng lượng triterpenoid theo mẫu khô kiệt, quy về acid oleanolic (mg OAE/g).

2.3.4. Thiết kế thí nghiệm tối ưu hóa (RSM-BBD):

Thí nghiệm thiết kế theo mô hình Box-Behnken, sử dụng RSM bằng phần mềm JMP Pro 17 cho ra 15 thí nghiệm, trong đó có 3 thí nghiệm tại tâm với 3 biến độc lập: nhiệt độ chiết (X1), nồng độ ethanol (X2) và thời gian chiết (X3). Mức mã hóa các yếu tố được trình bày trong Bảng 1.

Mô hình toán học mô tả ảnh hưởng của các biến độc lập đối với hàm mục tiêu có dạng hàm đa thức bậc hai có dạng tổng quát như sau:

$$Y_i = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3$$

Phân tích ANOVA, R^2 và kiểm tra Lack of Fit được thực hiện bằng phần mềm JMP Pro 17 để đánh giá độ phù hợp mô hình. Điều kiện tối ưu được xác định dựa trên hàm kỳ vọng nhằm tối đa hóa đồng thời Y1 và Y2 trong phạm vi thực nghiệm.

Bảng 1. Mức mã hóa các biến độc lập trong thiết kế Box-Behnken

Yếu tố	Đơn vị	Mã hóa	Mức thấp (-1)	Mức giữa (0)	Mức cao (+1)
Nhiệt độ chiết	°C	X1	40	60	80
Nồng độ EtOH	%	X2	50	75	100
Thời gian chiết	phút	X3	30	60	90

Cơ sở lựa chọn biên của biến độc lập (Bảng 1) được thiết lập dựa trên nguyên lý hóa lý của hệ dung môi, đặc tính của các nhóm hoạt chất, kết hợp với các dữ liệu thực nghiệm đã công bố trên các đối tượng tương tự [9],[10],[11],[12],[13],[14]; nhằm bao quát các điều kiện chiết xuất chứa điểm tối ưu mà có thể bỏ qua bước sàng lọc đơn yếu tố. Về nồng độ dung môi, do hàm mục tiêu hướng tới việc chiết xuất đồng thời nhóm polyphenol (thích hợp dung môi phân cực

mạnh/trung bình) và triterpenoid (thích hợp dung môi kém phân cực hơn), dải nồng độ ethanol từ 50 – 100% được lựa chọn để đảm bảo vùng có thể hòa tan cho cả hai nhóm chất. Về nhiệt độ (40 – 80°C), giới hạn trên được thiết lập sát với nhiệt độ sôi của ethanol (~78,4°C) nhằm hạn chế sự bay hơi ô ạt gây mất an toàn và làm sai lệch nồng độ dung môi, đồng thời ngăn ngừa sự phân hủy bởi nhiệt (thermal degradation) của các polyphenol, triterpenoid nhạy cảm; trong khi giới

hạn dưới (40°C) nhằm đảm bảo hệ có đủ động năng khuếch tán. Đối với thời gian chiết (30 – 90 phút), các nghiên cứu động học cho thấy năng lượng sóng siêu âm kéo dài vượt quá 90 phút thường không làm tăng thêm hiệu suất do hệ đã bão hòa, mà ngược lại có thể sinh nhiệt cục bộ làm phá hủy cấu trúc hoạt chất và gây lãng phí năng lượng. Do đó, trong nghiên cứu này, hai hàm mục tiêu là hàm lượng polyphenol và triterpenoid toàn phần được lựa chọn để tối ưu quy trình chiết xuất nên lựa chọn các tham số điều kiện là nhiệt độ 40 – 80°C, thời gian chiết từ 30 – 90 phút, sử dụng dung môi chiết có nồng độ ethanol từ 50 – 100%.

3. Kết quả, bàn luận

3.1. Thiết kế thí nghiệm và kết quả thực nghiệm

Ma trận Box-Behnken và kết quả thực nghiệm được trình bày trong Bảng 2. Hàm lượng triterpenoid (Y1) dao động từ 1,17 đến 2,26 mg OAE/g, trong khi hàm lượng polyphenol (Y2) dao động từ 0,67 đến 3,68 mg GAE/g. Biên độ dao động rộng của cả hai hàm mục tiêu cho thấy các yếu tố khảo sát (các biến độc lập) có ảnh hưởng đáng kể. Điểm đáng chú ý là thí nghiệm 14 (X1 = 80°C, X2 = 75%, X3 = 90 phút) cho hàm lượng triterpenoid cao nhất (2,26 mg OAE/g), trong khi thí nghiệm 6 (X1 = 60°C, X2 = 50%, X3 = 90 phút) cho hàm lượng polyphenol cao nhất (3,68 mg GAE/g). Ba thí nghiệm tại tâm (thí nghiệm 7, 8, 9) cho kết quả lặp lại tốt (Y1: 1,81–1,92 mg OAE/g; Y2: 2,09–2,50 mg GAE/g), đảm bảo độ ổn định của quy trình thực nghiệm.

Bảng 2. Ma trận thực nghiệm Box-Behnken ba yếu tố của quy trình chiết xuất

STT	Biến được mã hóa	Các biến độc lập			Các hàm mục tiêu	
		X1 - Nhiệt độ (°C)	X2 - EtOH (%)	X3 - Thời gian (phút)	Y1 - Hàm lượng Triterpenoid (mg OAE/g)	Y2 - Hàm lượng Polyphenol (mg GAE/g)
1	--0	40	50	60	1,17	2,55
2	-0-	40	75	30	1,76	1,54
3	-0+	40	75	90	1,80	2,28
4	-+0	40	100	60	1,44	0,89
5	0--	60	50	30	1,25	2,61
6	0-+	60	50	90	1,33	3,68
7	000	60	75	60	1,90	2,09
8	000	60	75	60	1,81	2,50
9	000	60	75	60	1,92	2,26
10	0+-	60	100	30	1,65	0,67
11	0++	60	100	90	1,59	0,74
12	+ -0	80	50	60	1,56	3,49
13	+0-	80	75	30	1,96	2,37
14	+0+	80	75	90	2,26	3,39
15	++0	80	100	60	1,62	0,93

3.2. Phân tích mô hình hồi quy

Mô hình hồi quy bậc hai được xây dựng bằng phương pháp bình phương tối thiểu từ 15 thí

th nghiệm BBD sử dụng phần mềm JMP Pro 17. Kết quả đánh giá mô hình được tổng hợp trong Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả phân tích thống kê mô hình hồi quy BBD

Thông số	Y1 (Hàm lượng Triterpenoid)	Y2 (Hàm lượng Polyphenol)
R ²	0,9716	0,9782
R ² hiệu chỉnh	0,9205	0,9389
F-value (Mô hình)	19,02	24,91
p-value (Mô hình)	0,0024	0,0012
F-value (Lack of Fit)	2,66	1,71
p-value (Lack of Fit)	0,2848	0,3897

Kết quả phân tích ANOVA cho thấy cả hai phương trình hồi quy đều có ý nghĩa thống kê với p-value lần lượt là 0,0024 (Y1) và 0,0012 (Y2), nhỏ hơn nhiều so với ngưỡng 0,05. Hệ số R² = 0,9716 (Y1) và R² = 0,9782 (Y2) và hệ số R² hiệu chỉnh tương ứng là 0,9205 (Y1) và 0,9389 (Y2), chứng tỏ mô hình có khả năng dự đoán tốt dữ liệu thực nghiệm. Ngoài ra, sự không phù hợp (Lack of Fit) của mô hình có giá trị p-value cho 2 hàm mục tiêu lần lượt là 0,2848 (Y1) và 0,3897 (Y2), đều lớn hơn 0,05, chứng tỏ mô hình phù hợp với số liệu thực nghiệm. Các kết quả này tương đồng với những nghiên cứu tối ưu hóa

bằng RSM-BBD trên các dược liệu tương tự [15],[16].

Phương trình hồi quy bậc hai biểu diễn bằng biến mã hóa thu được như sau:

$$Y1 = 1,8767 + 0,1538X1 + 0,1238X2 + 0,0450X3 + 0,0304X1^2 - 0,4596X2^2 + 0,0379X3^2 - 0,0525X1X2 + 0,0650X1X3 - 0,0350X2X3 \quad (1)$$

$$Y2 = 2,2833 + 0,3650X1 - 1,1375X2 + 0,3625X3 + 0,0758X1^2 - 0,3942X2^2 + 0,0358X3^2 - 0,2250X1X2 + 0,0700X1X3 - 0,2500X2X3 \quad (2)$$

Trong đó biến mã hóa: X1 = (Nhiệt độ - 60)/20; X2 = (Nồng độ EtOH - 75)/25; X3 = (Thời gian - 60)/30

Bảng 4. Phân tích ý nghĩa thống kê các hệ số hồi quy của mô hình RSM-BBD

Số hạng	Y1 – Triterpenoid (mg OAE/g)				Y2 – Polyphenol (mg GAE/g)			
	Hệ số	SS	F	p	Hệ số	SS	F	p
Hệ số tự do (b0)	1,8767	–	–	<0,0001	2,2833	–	–	<0,0001
X1	0,1538	0,1891	27,57	0,0033	0,3650	1,0658	17,61	0,0085
X2	0,1238	0,1225	17,87	0,0083	-1,1375	10,3512	171,06	<0,0001
X3	0,0450	0,0162	2,36	0,1849	0,3625	1,0512	17,37	0,0088
X1 ²	0,0304	0,0034	0,50	0,5119	0,0758	0,0212	0,35	0,5794
X2 ²	-0,4596	0,7799	113,72	0,0001	-0,3942	0,5737	9,48	0,0275
X3 ²	0,0379	0,0053	0,77	0,4193	0,0358	0,0047	0,08	0,7908
X1X2	-0,0525	0,0110	1,61	0,2607	-0,2250	0,2025	3,35	0,1269
X1X3	0,0650	0,0169	2,47	0,1773	0,0700	0,0196	0,32	0,5939
X2X3	-0,0350	0,0049	0,71	0,4365	-0,2500	0,2500	4,13	0,0978

Ghi chú: mỗi số hạng có bậc tự do df = 1, do đó MS = SS. Phần dư (sai số): SS = 0,0343 (Y1) và 0,3026 (Y2), df = 5.

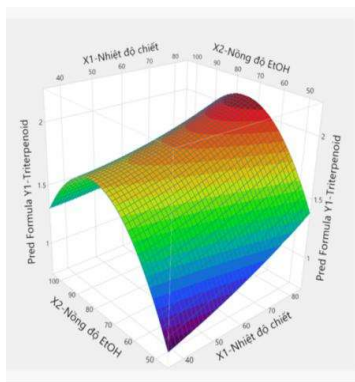
Phân tích ý nghĩa thống kê các hệ số hồi quy (Bảng 4) cho thấy: đối với Y1 (triterpenoid), các hệ số có ý nghĩa thống kê (p < 0,05) là X1 (p = 0,0033), X2 (p = 0,0083) và X2² (p = 0,0001). Đối với Y2 (polyphenol), các hệ số có ý nghĩa thống kê gồm X1 (p = 0,0085), X2 (p < 0,0001), X3 (p =

0,0088) và X2² (p = 0,0275). Kết quả này cho thấy nồng độ ethanol (X2) là yếu tố có ảnh hưởng phi tuyến mạnh nhất và có ý nghĩa thống kê đối với cả hai hàm mục tiêu. Nhiệt độ chiết (X1) ảnh hưởng tuyến tính có ý nghĩa thống kê đến cả Y1 và Y2, trong khi thời gian chiết (X3) chỉ có ý nghĩa thống

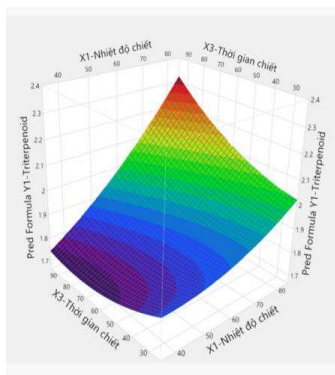
kê đối với Y2 nhưng không có ý nghĩa thống kê đối với Y1 ($p = 0,1849$).

3.3. Ảnh hưởng của các yếu tố qua đồ thị bề mặt đáp ứng

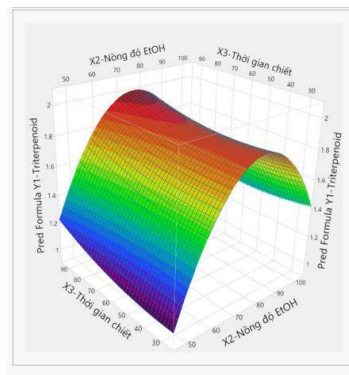
Đồ thị bề mặt đáp ứng 3D biểu diễn sự phụ thuộc của hàm lượng triterpenoid và polyphenol với từng cặp yếu tố ảnh hưởng (khi yếu tố thứ ba cố định tại mức giữa) được trình bày trong Hình 1 và Hình 2.



a)

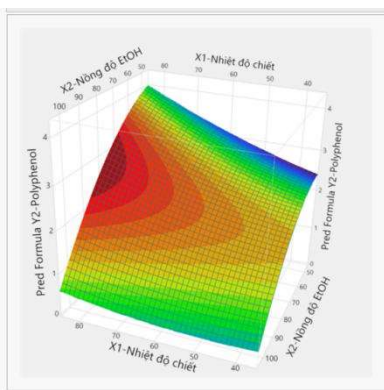


b)

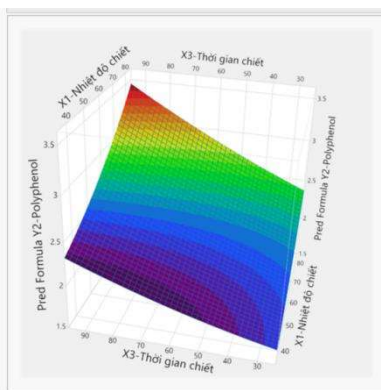


c)

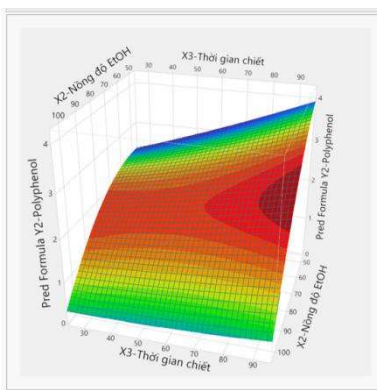
Hình 1. Đồ thị bề mặt đáp ứng 3D cho Y1-Triterpenoid: (a) ảnh hưởng X1 và X2; (b) X1 và X3; (c) X2 và X3



d)



e)



f)

Hình 2. Đồ thị bề mặt đáp ứng 3D cho Y2-Polyphenol: (d) ảnh hưởng X1 và X2; (e) X1 và X3; (f) X2 và X3

Đối với hàm lượng triterpenoid (Y1): Phân tích đồ thị bề mặt đáp ứng cho thấy nhiệt độ chiết (X1) có tác động tỷ lệ thuận và rõ rệt đến Y1. Khi nhiệt độ tăng từ 40°C lên 80°C, hàm lượng triterpenoid thu được gia tăng đáng kể. Điều này hoàn toàn phù hợp với cơ chế của phương pháp chiết siêu âm: nhiệt độ cao làm giảm độ nhớt của dung môi, tăng động năng phân tử, kết hợp với hiện tượng xâm thực (cavitation) giúp phá vỡ mạnh mẽ cấu trúc thành tế bào thực vật. Nhờ đó, các hợp chất kém phân cực như triterpenoid dễ dàng khuếch tán và giải phóng vào hệ dung môi [16]. Về yếu tố nồng độ ethanol (X2), sự ảnh

hưởng diễn ra theo xu hướng phi tuyến với hệ số bậc hai mang giá trị âm lớn ($b_{22} = -0,4596$), tạo nên bề mặt đáp ứng dạng lõm với đỉnh cực đại nằm trong khoảng nồng độ 75–80%. Cụ thể, ở nồng độ ethanol thấp, độ hòa tan của triterpenoid bị giới hạn; ngược lại, khi nồng độ ethanol quá cao (>85%), lượng nước trong hệ dung môi giảm đi sẽ làm giảm mức độ trương nở của tế bào thực vật, đồng thời làm suy giảm hiệu quả của quá trình xâm thực, dẫn đến giảm hiệu suất chiết [17].

Đối với hàm lượng polyphenol (Y2): Nồng độ ethanol (X2) là yếu tố chi phối mạnh mẽ nhất, thể hiện qua hệ số $b_2 = -1,1375$ (X2) và $b_{22} =$

-0,3942 (X_2^2) đều mang giá trị âm lớn. Sự gia tăng nồng độ ethanol từ 50% lên 100% làm hàm lượng polyphenol sụt giảm liên tục. Kết quả này phản ánh rõ đặc tính phân cực của nhóm polyphenol: dung môi có nồng độ ethanol thấp (tương đương 50%) sở hữu độ phân cực phù hợp nhất, tạo điều kiện tối ưu để hòa tan các hợp chất ưa nước [7],[18]. Bên cạnh đó, nhiệt độ (X_1) và thời gian chiết (X_3) đều có tác động làm tăng Y_2 có ý nghĩa thống kê (với hệ số tương ứng là 0,3650 và 0,3625). Đặc biệt, sự tương tác giữa nồng độ ethanol và thời gian chiết ($X_2 \times X_3$, b23

= -0,2500) chỉ ra rằng: khi chiết bằng hệ dung môi có nồng độ ethanol thấp, việc kéo dài thời gian chiết sẽ tạo điều kiện để các hoạt chất khuếch tán triệt để, từ đó gia tăng đáng kể hàm lượng polyphenol thu được.

3.4. Điều kiện chiết xuất tối ưu

Tối ưu hóa từng biến đầu ra riêng lẻ trong phạm vi thực nghiệm được thực hiện bằng phương pháp đạo hàm và giới hạn vùng (bounded optimization). Kết quả điều kiện tối ưu được tổng hợp trong Bảng 5.

Bảng 5. Điều kiện chiết xuất tối ưu dự đoán cho từng biến đầu ra từ mô hình RSM-BBD

Biến đầu ra	X1-Nhiệt độ (°C)	X2-EtOH (%)	X3-Thời gian (phút)	Giá trị dự đoán	Kỳ vọng
Y1 (Triterpenoid)	80	75,55	90	2,21 mg OAE/g	0,97
Y2 (Polyphenol)	80	50	90	4,41 mg GAE/g	0,99

Điều kiện tối ưu cho Y1 là nhiệt độ 80°C, ethanol 75,55%, thời gian 90 phút, với hàm lượng triterpenoid dự đoán 2,21 mg OAE/g. Trong khi đó, điều kiện tối ưu cho Y2 là nhiệt độ 80°C, ethanol 50 %, thời gian 90 phút, với hàm lượng polyphenol dự đoán 4,41 mg GAE/g. Điểm chung của hai điều kiện tối ưu là nhiệt độ 80°C và thời gian 90 phút, trong khi điểm khác biệt là nồng độ ethanol: 75,55% cho triterpenoid và 50% cho polyphenol. Sự khác biệt này phản ánh bản chất hóa học khác nhau giữa hai nhóm chất: triterpenoid là nhóm kém phân cực hơn nên cần

ethanol nồng độ cao hơn để hòa tan, còn polyphenol là nhóm phân cực, ưa dung môi có tỉ lệ nước cao hơn [17],[18].

Dựa trên các phương trình hồi quy mô tả ảnh hưởng của các thông số quá trình chiết (biến đầu vào) lên hàm lượng triterpenoid và polyphenol (biến đầu ra), bài toán tối ưu hóa thực hiện tối ưu hoá hàm kỳ vọng chung nhằm tìm ra các điều kiện chiết xuất giúp biến đầu ra đạt giá trị cực đại. Các điều kiện chiết xuất tối ưu và kết quả mô hình dự đoán được trình bày chi tiết tại Bảng 6.

Bảng 6. Điều kiện chiết xuất tối ưu dự đoán từ mô hình RSM-BBD

X1-Nhiệt độ (°C)	X2-EtOH (%)	X3-Thời gian (phút)	Hàm lượng triterpenoid (mg OAE/g)	Hàm lượng polyphenol (mg GAE/g)	Kỳ vọng
80	66,47	90	2,14	3,70	0,97

Theo kết quả của mô hình, điều kiện tối ưu cho quá trình chiết siêu âm polyphenol và triterpenoid từ lá cây insulin được xác định là nồng độ ethanol xấp xỉ 66,47% ở nhiệt độ 80°C trong 90 phút thu được hàm lượng triterpenoid là 2,14 mg OAE/g và polyphenol là 3,70 mg GAE/g. Điều kiện tối ưu này là kết quả của sự phối hợp giữa hiệu ứng xâm thực vật lý và động học hòa tan. Tác động của sóng siêu âm phá vỡ cấu trúc vách tế bào lá cây insulin, tạo điều kiện cho dung môi thâm nhập sâu vào nội bào. Hệ dung môi

ethanol 66,47% đóng vai trò là tỷ lệ tối ưu hóa đa mục tiêu nhờ cân bằng hằng số điện môi; trong đó nước thúc đẩy quá trình thẩm thấu và trương nở cấu trúc polymer thực vật, còn ethanol hòa tan đồng thời nhóm polyphenol (phân cực trung bình) và triterpenoid (phân cực kém). Mốc thời gian 90 phút là động học cần thiết để hệ thống hoàn thành pha khuếch tán nội mạc chậm, giúp giải phóng các cấu trúc triterpenoid hoặc saponin liên kết sâu trong nền mẫu thực vật. Hiệu suất tăng tuyến tính đến 90 phút cũng chứng minh các hoạt chất

mục tiêu có độ bền nhiệt và bền cơ học cao, không bị phân hủy bởi siêu âm ở 80°C trong suốt quá trình khảo sát. Tuy nhiên, điều kiện này cần được xác minh bằng thực nghiệm để kiểm chứng giá trị dự đoán. Việc kiểm chứng bằng thực nghiệm là bước thiết yếu để xác nhận độ tin cậy của mô hình RSM trong điều kiện chiết cụ thể của đối tượng nghiên cứu.

Đáng chú ý, điều kiện tối ưu xác định được nằm tại giới hạn trên của vùng khảo sát đối với nhiệt độ (80°C) và thời gian (90 phút). Phân tích đáp ứng bề mặt cho thấy hàm mục tiêu vẫn còn xu hướng tăng theo hai yếu tố này trong phạm vi khảo sát, nghĩa là cực đại thực sự của quá trình có thể nằm ngoài vùng đã khảo sát; trong khi đó, đối với nồng độ ethanol, hệ số bậc hai (X_2^2) có ý nghĩa thống kê với cả hai biến đầu ra cho thấy mô hình đã xác định được cực trị nội vùng của yếu tố này. Việc nhiệt độ và thời gian đạt tối ưu tại biên phản ánh bản chất của chiết siêu âm, trong đó nhiệt độ và thời gian cao hơn (trong giới hạn an toàn nhiệt của hoạt chất) thường làm tăng hiệu suất chiết nhờ giảm độ nhớt dung môi và tăng cường hiện tượng xâm thực. Tuy nhiên,

nhiệt độ quá cao (>80°C) có thể gây phân hủy nhiệt các hoạt chất polyphenol và triterpenoid, còn thời gian quá dài làm tăng chi phí năng lượng, khó kiểm soát nhiệt độ mà mức tăng hiệu suất không đáng kể, do đó, các nghiên cứu thường không chiết suất bằng siêu âm trong thời gian quá dài. Vì vậy, trong nghiên cứu tiếp theo, có thể trên quy mô pilot, ngoài việc khảo sát tỷ lệ được liệu/dung môi, nhóm nghiên cứu dự kiến mở rộng vùng khảo sát nhiệt độ và thời gian nhằm xác định chính xác hơn điểm cực đại, đồng thời cân nhắc giới hạn công nghệ và độ bền nhiệt của hoạt chất.

3.5. Kết quả kiểm chứng bằng thực nghiệm

Tiến hành lặp lại 3 lần quy trình chiết xuất cỡ mẫu 1 g lá cây *C. pictus* tại điều kiện tối ưu tương ứng cho từng biến đầu ra và đồng thời cả hai biến đầu ra như đã trình bày trong Bảng 5 và Bảng 6. Hàm lượng triterpenoid và polyphenol tương ứng với mỗi thực nghiệm được xác định và thu kết quả. Kết quả thực nghiệm kiểm chứng và kết quả dự đoán từ phần mềm được trình bày trong Bảng 7.

Bảng 7. Kết quả thực nghiệm kiểm chứng mô hình tối ưu hóa điều kiện chiết xuất polyphenol và triterpenoid từ lá cây *C. pictus* bằng phương pháp chiết siêu âm

Kiểm chứng điều kiện tối ưu	Tối ưu đơn biến		Tối ưu đa biến	
	Hàm lượng TTC (mg OAE/g)	Hàm lượng TPC (mg GAE/g)	Hàm lượng TTC (mg OAE/g)	Hàm lượng TPC (mg GAE/g)
Lần 1	2,28	4,52	2,14	3,64
Lần 2	2,23	4,43	2,21	3,61
Lần 3	2,24	4,46	2,16	3,70
Trung bình	2,25	4,47	2,17	3,65
RSD (%)	1,18	1,03	1,66	1,26
Giá trị dự đoán	2,21	4,41	2,14	3,70
Độ chính xác (%)	98,19	98,64	98,60	98,65
p-value	0,120	0,152	0,286	0,200

Độ lệch chuẩn tương đối (RSD) giữa 3 lần thực nghiệm độc lập tại mỗi điều kiện tối ưu đều rất thấp (RSD < 2%; dao động trong khoảng 1,03

– 1,66%), cho thấy quy trình chiết siêu âm polyphenol và triterpenoid từ lá cây insulin có độ lặp lại và độ ổn định cao.

Sử dụng phép kiểm T-Test để so sánh các kết quả thực nghiệm với kết quả dự đoán của từng biến số, kết quả như sau:

Đối với mô hình tối ưu đơn biến: Hàm lượng triterpenoid cho giá trị $p = 0,120 > 0,05$. Nên không có sự khác nhau giữa các giá trị thực nghiệm với giá trị dự đoán. Hàm lượng polyphenol có $p = 0,152 > 0,05$. Nên không có sự khác nhau giữa các giá trị thực nghiệm với giá trị dự đoán.

Đối với mô hình tối ưu đa biến: Hàm lượng triterpenoid có giá trị $p = 0,286 > 0,05$. Nên không có sự khác nhau giữa các giá trị thực nghiệm với giá trị dự đoán. Hàm lượng polyphenol có giá trị $p = 0,200 > 0,05$. Nên không có sự khác nhau giữa các giá trị thực nghiệm với giá trị dự đoán.

Như vậy, mô hình có khả năng dự đoán tốt với độ chính xác giữa giá trị dự đoán và giá trị thực nghiệm đều đạt $> 98,0\%$.

So sánh với các nghiên cứu đã công bố cho thấy kết quả thu được là phù hợp. Nguyễn Đào Thanh Hương và cs. (2022) khi khảo sát chiết xuất lá *C. pictus* trồng tại Việt Nam cũng ghi nhận dung môi ethanol nồng độ trung bình – thấp cho hiệu quả thu hồi polyphenol cao nhất [2], tương đồng với xu hướng hàm lượng polyphenol giảm khi tăng nồng độ ethanol quan sát được trong nghiên cứu này. Tuy triterpenoid chưa được công bố về quy trình chiết xuất từ lá cây insulin, nhưng khoảng nhiệt độ và thời gian tối ưu (80°C , 90 phút) cũng nằm trong miền đã được báo cáo cho chiết siêu âm polyphenol và triterpenoid từ nhiều dược liệu khác [9],[10],[11],[12],[13],[14]. Độ phù hợp cao của mô hình ($R^2 > 0,97$; Lack of Fit không có ý nghĩa thống kê) tương đồng với các nghiên cứu tối ưu hóa bằng RSM-BBD trên *Eclipta prostrata* và một số dược liệu khác [15],[16]. Tuy nhiên, do khác biệt về nguồn gốc dược liệu, phương pháp định lượng và đơn vị biểu thị hàm lượng, việc so

sánh trực tiếp giá trị tuyệt đối giữa các nghiên cứu cần được thực hiện thận trọng.

Mặc dù, đã nghiên cứu tối ưu quy trình chiết xuất 2 nhóm hoạt chất polyphenol và triterpenoid, nhưng nghiên cứu hiện tại mới dừng lại ở quy mô phòng thí nghiệm. Trong quá trình này, nghiên cứu chỉ tập trung vào kỹ thuật chiết siêu âm, một kỹ thuật chiết xuất hiện đại, với thời gian chiết ngắn và dần phổ biến ở quy mô phòng thí nghiệm cũng như quy mô bán công nghiệp. Bên cạnh đó, dung môi được sử dụng với tỷ lệ cao hơn nhiều so với dược liệu (100/1) nên chỉ thực hiện chiết siêu âm 1 lần. Yếu tố tỷ lệ dược liệu/dung môi sẽ được khảo sát khi nâng cấp quy mô công nghiệp với thiết bị được sử dụng có công suất lớn hơn (như thiết bị chiết siêu âm 200 L, có công suất 900 W), có thể tăng tỷ lệ dược liệu/dung môi. Hơn nữa, dung môi được sử dụng là ethanol, thân thiện, an toàn, phù hợp cho mục đích nghiên cứu phục vụ cho sản xuất điều chế cao giàu polyphenol và triterpenoid. Việc cố định tỷ lệ dung môi/dược liệu ở mức cao (100/1) trong nghiên cứu này nhằm bảo đảm dược liệu được ngập hoàn toàn và hiện tượng xâm thực siêu âm diễn ra đồng đều ở quy mô 1 g/mẻ, là điều kiện thường gặp ở quy mô phòng thí nghiệm; tỷ lệ này sẽ được tối ưu giảm về mức khả thi về kinh tế khi nâng cấp lên thiết bị công suất lớn.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã áp dụng thiết kế BBD kết hợp với kỹ thuật chiết xuất siêu âm để tối ưu hóa quy trình chiết polyphenol và triterpenoid từ lá cây insulin (*Costus pictus* D. Don) được trồng tại Thạch Thất, Hà Nội. Các điều kiện tối ưu được xác định là: dung môi ethanol 66%, nhiệt độ 80°C và thời gian chiết xuất 90 phút. Với điều kiện này, hàm lượng polyphenol và triterpenoid thu được thực tế lần lượt đạt $3,65 \pm 0,05$ mg GAE/g và $2,17 \pm 0,04$ mg OAE/g, có sự phù hợp rất tốt với giá trị dự đoán từ mô hình toán học. Sự

tương đồng cao này khẳng định độ tin cậy và tính khả thi của mô hình tối ưu.

Kết quả bước đầu này cung cấp cơ sở khoa học ban đầu, làm nền tảng quan trọng cho việc nghiên cứu mở rộng quy mô chiết xuất lên mức

200 L/mẻ và các quy mô công nghiệp tiếp theo. Việc nâng cấp quy mô sẽ tập trung vào việc đánh giá tỷ lệ được liệu/dung môi, tính ổn định của quy trình và chất lượng sản phẩm trên thiết bị pilot lớn.

Tài liệu tham khảo

1. Naik A., Krishnamurthy R., Pathak J. (2017). Antioxidant activity and phytochemical screening of *Costus pictus* D. Don leaf extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(6), 789–796.
2. Nguyễn Đào Thanh Hương, Hồ Thị Nguyệt, Trương Minh Ngọc (2022). Ảnh hưởng của một số điều kiện chiết xuất đến hàm lượng polyphenol và flavonoids thu được trong dịch chiết lá cây *Costus pictus* D. Don trồng tại Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*, 22(4), 55–63.
3. Selvakumarasamy S., Rengarajua B., Arumugamb S. A., Kulathooran R. (2021). *Costus pictus*—transition from a medicinal plant to functional food: A review. *Future Foods*, 4(1), 100068.
4. Prejeena V., Suresh S. N., Varsha V (2017). Phytochemical screening, antioxidant analysis and antiproliferative effect of *Costus pictus* D. Don leaf extracts. *International Journal of Recent Advances in Multidisciplinary Research*, 4(3), 2373–2378.
5. Shiny S. P., Saxena C. T., Gupta A (2013). Phytochemical investigation of the insulin plant “*Costus pictus*” D. Don. *International Journal Of Pharmaceutical And Bio-Medical Science*, 4, 97–104.
6. Trần Hồng Anh, Đỗ Thị Hồng Thịnh, Nguyễn Thị Liên, Lê Thanh Bình, Viên Thị Thanh Trúc, Hồ Thị Loan (2018), *Báo cáo tổng hợp đề tài cấp Bộ KHCN: Nghiên cứu nhân giống vô tính cây insulin Ấn Độ (Costus sp.) cho mục đích phòng trị bệnh tiểu đường*, Viện Ứng dụng Công nghệ.
7. Singleton V.L., Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
8. Zhang Q., Zhao X., Zhong Y., Gao Z., Liu W.,. (2010). Determination of total triterpenoids in *Ganoderma lucidum*. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 33(2), 257–259.
9. Nguyễn Thị Thu Hà, Nguyễn Thiện Thảo (2024). Các yếu tố ảnh hưởng đến quy trình chiết polyphenol tổng trong rau răm (*Polygonum odoratum* Lour) bằng phương pháp chiết siêu âm. *Tạp chí Công Thương*, 7, 356–361.
10. Ez zoubi, Y, Fadil M, Bousta D., El Ouali Lalami A., Lachkar M., Farah A.,. (2021). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Moroccan *Lavandula stoechas* L.: Optimization using response surface methodology. *Journal of Chemistry*, <https://doi.org/10.1155/2021/8830902>.
11. Nguyễn Hoàng Hiệp, Nguyễn Đức Cường, Phan Thị Thu Hằng, Nguyễn Trọng Điệp. (2016). Ảnh hưởng của thông số quy trình đến chiết xuất polyphenol từ lá chè xanh (*Camellia sinensis* L.) bằng phương pháp chiết siêu âm. *Tạp Chí Dược học Quân sự*, 68-73.
12. Lê Hải Đường, Bùi Gia Linh, Trần Thị Trang, Trương Thị Thu Thảo. (2024). Trích ly và khảo sát hàm lượng polyphenol, hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết ethanol từ hoa Hẹ (*Allium ramosum* L.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại Học Nguyễn Tất Thành*, 7(1), 66-72.
13. Lê Thị Thanh Thảo, Nguyễn Trọng Điệp, Nguyễn Hồng Vân, Võ Xuân Minh, Nguyễn Nữ Huyền My. (2019). Xây dựng quy trình chiết xuất saponin toàn phần từ lá đu đủ rừng bằng phương pháp chiết siêu âm. *Tạp chí - Dược học Quân sự*, 44(9), 17–22.
14. Hou M, Shi J., Lin C., Zhu L., Bian Z. (2024). Ultrasound-assisted extraction of triterpenoids from *Chaenomeles speciosa* leaves: Process optimization, adsorptive enrichment, chemical profiling, and protection against ulcerative colitis. *Ultrasonics Sonochemistry*, 111, doi: 10.1016/j.ultsonch.2024.107136.
15. Nguyen T. Q., Huynh P. T. N., Le T. T., Pham T. H.. Optimization of polyphenol extraction from *Eclipta prostrata* L. using response surface methodology. *Journal of Agriculture and Development*, 24(2), 84–96.
16. Chemat F., Rombaut N., Sicaire A. G., Meullemiestre A., Fabiano-Tixier A. S., Abert-Vian M.. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-560.
17. Naczki M., Shahidi F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(15), 1523–1542.
18. Wang L., Weller CL. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300-312.