

Optimization of polyphenol extraction from *Eclipta prostrata* L. by response surface methodology

Thai Q. Nguyen, Vy N. T. Duong, Tra P. Tran, Tien N. K. Su, & Lan T. N. Nguyen*

Faculty of Chemical Engineering and Food Technology, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: August 04, 2024

Revised: September 26, 2024

Accepted: September 30, 2024

Keywords

Eclipta prostrata L.

Extraction

Optimization

Polyphenol

Response surface methodology

*Corresponding author

Nguyen Thi Ngoc Lan

Email:

ntngoclan@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

Eclipta prostrata L. is a medicinal herb used in many folk remedies in Asian countries because it contains valuable components such as alkaloids, polyphenols, steroids, saponins, triterpenes, etc. In particular, polyphenol compounds extracted from this plant show antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial activities, etc. This study focused on investigating the factors affecting the extraction of polyphenol from *Eclipta prostrata*. The highest total polyphenol content was obtained using 50% ethanol at 60°C for 90 min with a solvent:material ratio of 40:1 mL/g. Since, the extraction conditions were optimized by response surface methodology according to central composite design. The results showed that the polyphenol content obtained was 55.92 mg GAE/g dw with a solvent:material ratio of 43:1 mL/g at 64°C for 97 min. In addition, the antioxidant activity of the extract from *Eclipta prostrata* was also determined with an IC₅₀ value of 78 µg/mL through the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging method.

Cited as: Nguyen, T. Q., Duong, V. T. N., Tran, T. P., Su, T. K. N., & Nguyen, L. N. T. (2025). Optimization of polyphenol extraction from *Eclipta prostrata* L. by response surface methodology. *The Journal of Agriculture and Development* 24(2), 84-96.

Tối ưu hóa quy trình trích ly polyphenol từ cây cỏ mực *Eclipta prostrata* L. bằng phương pháp bề mặt đáp ứng

Nguyễn Quốc Thái, Dương Ngọc Trúc Vy, Trần Phương Trà, Sử Nguyễn Kim Tiên & Nguyễn Thị Ngọc Lan*
Khoa Công Nghệ Hóa Học và Thực Phẩm, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 04/08/2024

Ngày chỉnh sửa: 26/09/2024

Ngày chấp nhận: 30/09/2024

Từ khóa

Bề mặt đáp ứng (RSM)

Eclipta prostrata L.

Polyphenol

Tối ưu hóa

Trích ly

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Thị Ngọc Lan

Email:

ntngoclan@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Cỏ mực (*Eclipta prostrata* L.) là loại thảo dược được sử dụng trong nhiều bài thuốc dân gian ở các nước châu Á nhờ có chứa những thành phần hóa học có giá trị như alkaloid, polyphenol, steroid, saponin, triterpene,... Trong đó, các hợp chất polyphenol được chiết xuất từ loại cây này cho thấy có khả năng kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn,... Nghiên cứu này tập trung khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly polyphenol từ cây cỏ mực, hàm lượng polyphenol tổng số thu được tốt nhất khi sử dụng dung môi ethanol 50% ở 60°C trong 90 phút với tỉ lệ dung môi:nguyên liệu 40:1 mL/g. Từ đó, điều kiện trích ly được tối ưu hóa bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (response surface methodology) theo thiết kế phức hợp trung tâm (central composite design). Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng polyphenol cao nhất thu được là 55,92 mg GAE/g vật chất khô với tỉ lệ dung môi:nguyên liệu là 43:1 mL/g ở 64°C trong 97 phút. Ngoài ra, hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết từ cây cỏ mực cũng được xác định với giá trị IC_{50} là 78 μ g/mL thông qua phương pháp bắt gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

1. Đặt Vấn Đề

Cây cỏ mực (*Eclipta prostrata* L.) hay còn được gọi là cỏ nhọ nổi, hạn liên thảo thuộc họ Cúc (Asteraceae). Đây là loại cây được sử dụng phổ biến trong nhiều bài thuốc y học cổ truyền để giúp tăng cường trí nhớ, chức năng nhận thức cũng như điều trị nhiều bệnh khác nhau như: bệnh gan, thận, rối loạn hô hấp, bệnh ngoài da, sốt, tiểu đường, tăng huyết áp và chấn thương (Kim & ctv., 2010; Feng & ctv., 2019). Ngoài công dụng dân gian, nhiều nghiên cứu trên thế giới cũng đã cho thấy các chiết xuất từ cây cỏ mực cũng có khả năng kháng viêm (Arunachalam & ctv., 2009), kháng oxy hóa (Chan & ctv., 2014;

Singh & ctv., 2019; Rashid & ctv., 2022), kháng khuẩn (Bakht & ctv., 2011) và kháng ung thư (Yadav & ctv., 2017). Cây cỏ mực cũng hỗ trợ điều trị tiểu đường nhờ tác dụng ổn định đường huyết (Kaur & ctv., 2021), có khả năng kích thích mọc tóc (Datta & ctv., 2009) và bảo vệ thần kinh giúp ngăn ngừa sự suy thoái của tế bào thần kinh, hỗ trợ sức khỏe não bộ và trí nhớ (Guenné & ctv., 2020).

Nhiều loại chất hóa học đã được chiết xuất và xác định từ *E. prostrata* bao gồm: glycoside, alkaloid, flavonoid, coumestan, lipid, steroid, saponin, phytosterol, polyacetylene, triterpene và các hợp chất khác (Timalsina & ctv., 2021).

Trong đó, polyphenol được xem như là thành phần chính và có tác động đáng kể đến các hoạt tính sinh học của loại cây này (Dalal & ctv., 2010; Lee & ctv., 2010; Pukumpuang & ctv., 2014). Polyphenol là hợp chất chuyển hóa thứ cấp có cấu trúc từ đơn giản đến phức tạp (Velderrain-Rodríguez & ctv., 2014). Nhờ sở hữu hoạt tính sinh học đa dạng, đặc biệt là khả năng kháng oxy hóa, chúng được ứng dụng trong nhiều ngành công nghiệp khác nhau như dược phẩm, thực phẩm, mỹ phẩm, bao bì và dệt may (Albuquerque & ctv., 2020).

Với tiềm năng đa dạng về dược lý cũng như khả năng ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực nên việc chiết tách các hợp chất có hoạt tính sinh học, cụ thể là polyphenol từ cỏ mực là cần thiết. Trước đây, hàm lượng polyphenol cũng như hoạt tính sinh học của cao chiết cỏ mực đã từng được nghiên cứu nhưng quy trình trích ly nhóm hợp chất này chưa được tối ưu hóa. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát các yếu tố có ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol, từ đó tối ưu hóa quy trình bằng phương pháp bề mặt đáp ứng.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu

2.1.1. Cỏ mực

Cỏ mực khô được thu mua ở Thảo Mộc Tuệ Minh (số 24, đường 75, Tân Phong, Quận 7, TP.HCM). Nguyên liệu sau đó được nghiền và rây qua rây có kích thước 1,25 mm để thu bột mịn (ẩm độ 10,4% (w/w)) và được bảo quản trong túi hút chân không.

Bảng 1. Ma trận mã hóa các thông số ảnh hưởng đến quá trình trích ly polyphenol

Thông số	Mã hóa		
	-1	0	+1
X_1 (Tỉ lệ dung môi:nguyên liệu, mL/g)	30	40	50
X_2 (Nhiệt độ, °C)	50	2	70
X_3 (Thời gian, phút)	60	90	120

2.1.2. Hóa chất

Các hóa chất được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm ethanol 96% (Việt Nam), chất chuẩn gallic acid (Merck, Đức), thuốc thử Folin - Ciocalteu (Merck, Đức), 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (TCI, Nhật Bản), Na_2CO_3 (Xilong, Trung Quốc), methanol (Xilong, Trung Quốc). Tất cả hóa chất sử dụng đều đạt tiêu chuẩn phân tích.

2.2. Bố trí thí nghiệm

2.2.1. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quy trình trích ly polyphenol

Cân 1 g bột cỏ mực vào cốc 100 mL và tiến hành trích ly ở các điều kiện khảo sát bao gồm: loại dung môi (nước, ethanol 30 - 90%), tỉ lệ dung môi:nguyên liệu (20:1 - 60:1 mL/g), nhiệt độ (50 - 80°C) và thời gian (30 - 150 phút). Sau khi kết thúc, tiến hành lọc bỏ bã và xác định hàm lượng polyphenol tổng số (total polyphenol content-TPC) (2.3.2).

2.2.2. Tối ưu hóa điều kiện trích ly polyphenol

Từ kết quả của thí nghiệm khảo sát sơ bộ (2.2.1), 3 thông số quan trọng của quá trình trích ly được nghiên cứu bao gồm: tỉ lệ dung môi:nguyên liệu (X_1), nhiệt độ (X_2) và thời gian (X_3). Điều kiện tối ưu được xác định bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (response surface methodology-RSM) và thiết kế theo mô hình CCD (central composite design) với 16 thí nghiệm với 2 thí nghiệm lặp lại tại tâm. Ma trận mã hóa các thông số được trình bày ở Bảng 1.

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Xác định ẩm độ

Độ ẩm của mẫu được xác định theo phương pháp sấy hồng ngoại tại 105°C sử dụng máy đo độ ẩm chuyên dụng (OHAUS - MT4, Mỹ).

2.3.2. Xác định hàm lượng polyphenol

Hàm lượng polyphenol tổng trong dịch chiết được xác định dựa trên phương pháp Folin-Ciocalteu ở điều kiện tránh sáng (Dibacto & ctv., 2021). Lấy 0,5 mL dịch chiết đã pha loãng ở nồng độ thích hợp trộn với 2,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% (w/w). Lắc đều và ủ hỗn hợp ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Sau đó, thêm 2,0 mL dung dịch Na_2CO_3 7,5% (w/w), lắc đều hỗn hợp và ủ ở nhiệt độ phòng trong tối 30 phút trước khi đo quang ở bước sóng 765 nm bằng máy quang phổ UV-Vis (Azzota SM1200, Mỹ). Hàm lượng polyphenol tổng được tính theo mg đương lượng gallic acid (mgGAE) có trong 1 g vật chất khô (vck) đem định lượng, theo công thức:

$$P = \frac{C_x \cdot n \cdot V \cdot 100}{m \cdot (100 - W) \cdot 1000}$$

Trong đó:

P: hàm lượng polyphenol tổng (mg GAE/g vck)

C_x : Nồng độ gallic acid xác định từ đường chuẩn ($\mu\text{g/mL}$)

n: Độ pha loãng của mẫu thử

V: Thể tích dịch chiết (mL)

W: Độ ẩm mẫu (%)

m: khối lượng mẫu (g)

2.3.3. Xác định hoạt tính kháng oxy hóa

Khả năng kháng oxy hóa được xác định theo phương pháp của De Torre & ctv. (2019) có

hiệu chỉnh. Dung dịch DPPH 10^{-5} M, cao chiết cỏ mực ở các nồng độ từ 20 - 100 mg/mL, đối chứng dương Vitamin C được pha loãng bằng methanol. Hỗn hợp gồm 0,5 mL DPPH và 0,5 mL dịch chiết cỏ mực được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, sau đó tiến hành đo độ hấp thu quang ở bước sóng 517 nm. Đối với mẫu đối chứng thì thay dịch chiết bằng methanol. Nồng độ ức chế gốc tự do (IC) được tính toán theo công thức:

$$IC = \frac{A_c - A_t}{A_c} \times 100$$

Trong đó:

IC: Nồng độ ức chế gốc tự do (%)

A_c : Độ hấp thu mẫu đối chứng

A_t : Độ hấp thu mẫu dịch chiết

2.3.4. Xác định thành phần hóa học của cao chiết

Hệ thống sắc ký siêu hiệu năng UHPLC-DAD-MSQ (Thermo, Mỹ) sử dụng cột Phenomenex Ultracarb ODS (30) (150 x 4,6; 3 μm) được dùng để xác định thành phần hóa học của cao chiết cỏ mực. Tổng thời gian thực hiện là 27 phút, ban đầu hệ dung môi sử dụng là formic acid (0,1%): acetonitrile 98:2 được giữ trong 20 phút, sau đó thay đổi thành 100% acetonitrile và giữ trong 7 phút với tốc độ dòng của pha động là 1 mL/phút.

2.4. Xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần để tính giá trị trung bình. Số liệu được phân tích ANOVA bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics Technologies, Inc., Mỹ). Số liệu tối ưu được thiết kế và phân tích bằng phần mềm JMP Pro 14 (SAS Institute, Mỹ).

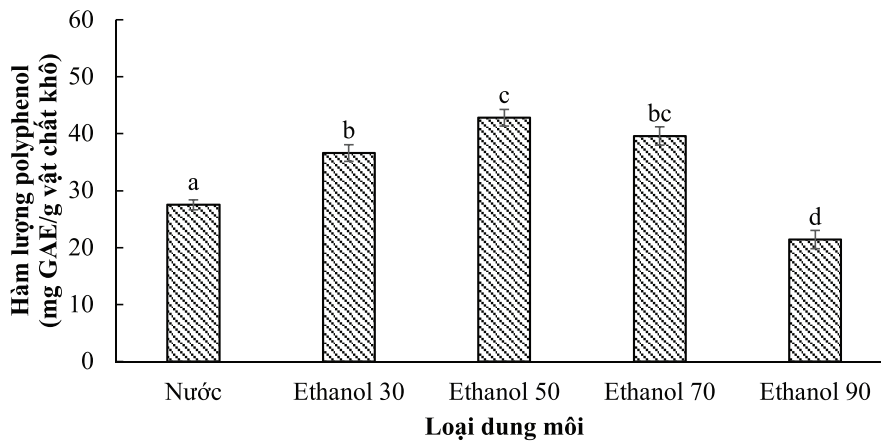
3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly polyphenol

3.1.1. Ảnh hưởng của loại dung môi

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng ethanol hoặc hỗn hợp ethanol-nước có khả năng hòa tan tốt các hợp chất polyphenol (Naczek & Shahidi, 2006). Do đó, nhiều loại dung môi khác nhau đã được khảo sát bao gồm nước, ethanol với các nồng độ từ 30% đến 90% (Hình 1). Độ hòa tan của các hợp chất polyphenol phụ thuộc vào cấu trúc của nó cũng như độ phân cực của

dung môi, đặc biệt là các dung môi có độ phân cực cao (Alara & ctv., 2021). Tuy nhiên, khi sử dụng nước là dung môi, một lượng lớn protein, polysaccharide và các chất vô cơ khác có thể cũng sẽ được chiết khỏi nguyên liệu (Tabart & ctv., 2007), còn khi lượng ethanol tăng lên, nó có thể hòa tan thêm một số hợp chất kém phân cực và làm cản trở quá trình hòa tan (Wang & ctv., 2008). Kết quả cho thấy, ethanol ở nồng độ 50% cho hàm lượng TPC cao nhất (42,80 mg GAE/g vck) và giảm dần khi tiếp tục tăng nồng độ lên 70% và 90%. Vì vậy, ethanol 50% được chọn làm dung môi thích hợp và cố định cho các khảo sát tiếp theo.

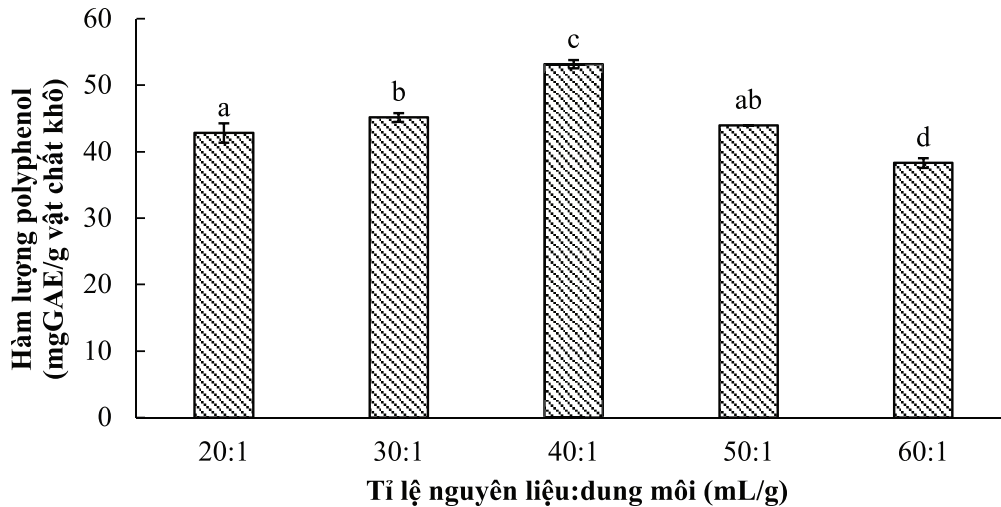


Hình 1. Ảnh hưởng của loại dung môi đến hàm lượng polyphenol. a, b, c, d: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

3.1.2. Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi:nguyên liệu

Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi:nguyên liệu đến quá trình trích ly polyphenol từ cỏ mực được trình bày ở Hình 2. Khi tăng tỉ lệ dung môi:nguyên liệu 20:1 đến 40:1, hàm lượng TPC tăng dần và đạt cao nhất ở tỉ lệ 40:1 (53,16 mg GAE/g vck). Khả năng hòa tan của một chất phụ thuộc vào bề mặt tiếp xúc, khi lượng dung môi ít, chưa đủ để tiếp xúc với nguyên liệu nên hàm lượng TPC chiết ra chưa nhiều. Thể tích dung môi càng tăng thì sự chênh lệch nồng độ càng lớn dẫn đến hàm lượng hoạt chất thu được tăng

lên (Nguyen & ctv., 2021). Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng tỉ lệ lên 50:1 và 60:1, hàm lượng TPC giảm dần, tương ứng 43,97 mg GAE/g vck và 38,29 mg GAE/g vck. Hàm lượng polyphenol của nguyên liệu là cố định, chỉ hòa tan trong một thể tích dung môi nhất định. Sau khi đạt trạng thái bão hòa, hàm lượng hoạt chất sẽ không còn tăng nữa, thay vào đó nó có thể giảm và gây lãng phí dung môi (Duong & ctv., 2014). Vì vậy, tỉ lệ dung môi:nguyên liệu 40:1 (g/mL) được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

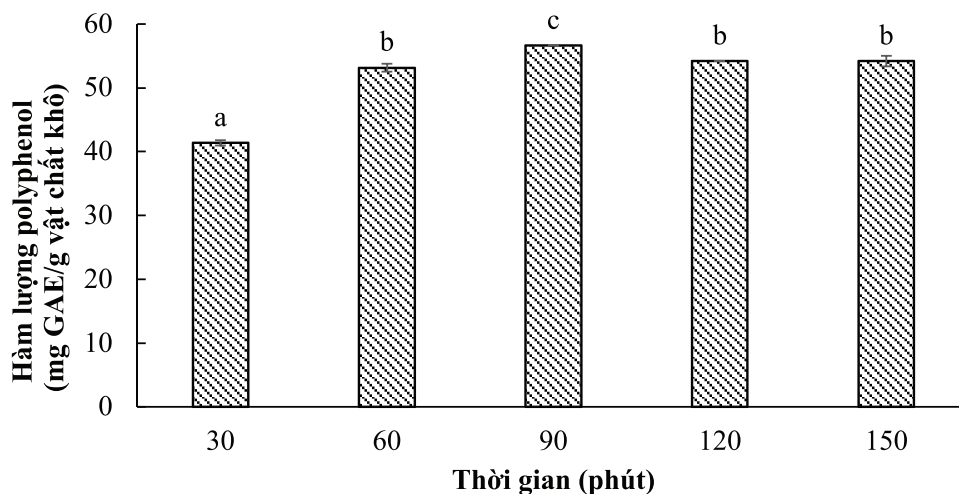


Hình 2. Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi:nguyên liệu đến hàm lượng polyphenol. a, b, c, d: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

3.1.3. Ảnh hưởng của thời gian trích ly

Sự thay đổi hàm lượng TPC được trình bày ở Hình 3 khi thời gian trích ly được khảo sát từ 30 phút đến 150 phút. Khi tăng thời gian từ 30 phút đến 90 phút thì hàm lượng TPC tăng từ 41,38 mg GAE/g vck đến 55,67 mg GAE/g vck. Sau đó, hàm lượng TPC có xu hướng giảm nhẹ từ 120 phút đến 150 phút và không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với mẫu 90 phút. Điều này có thể được giải thích bởi định luật thứ 2 của

Fick về sự khuếch tán, khi thời gian chiết tăng thì hàm lượng các chất trong nguyên liệu khuếch tán từ tế bào ra ngoài càng nhiều (Mokrani & ctv., 2016). Tuy nhiên, hiệu quả chiết các chất có hoạt tính sinh học sẽ không tăng sau khoảng thời gian nhất định. Nếu tiếp tục kéo dài thời gian, hoạt chất này có thể bị oxy hóa bởi các yếu tố bất lợi từ môi trường (nhiệt độ, ánh sáng, oxy) (Nacz & Shahidi, 2006). Từ đó, 90 phút được chọn là thời gian thích hợp để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

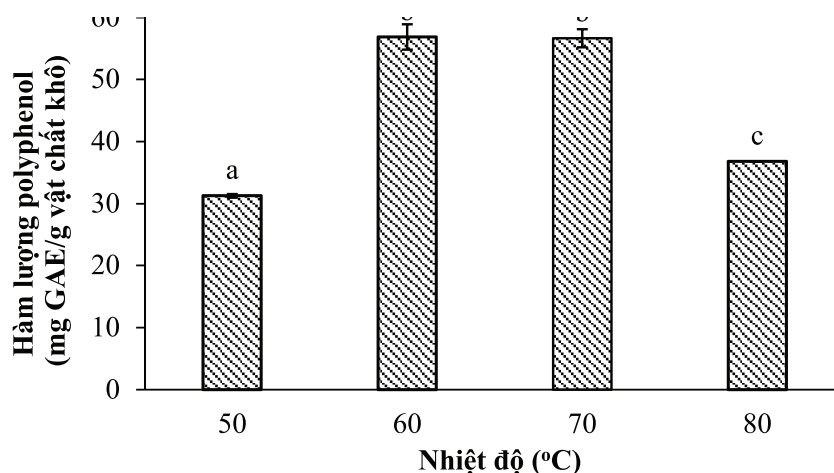


Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hàm lượng polyphenol. a, b, c: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

3.1.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Bên cạnh việc lựa chọn loại dung môi, tỉ lệ dung môi:nguyên liệu và thời gian chiết phù hợp, thì nhiệt độ cũng là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất các hợp chất phenolic. Nhiệt độ được khảo sát trong khoảng 50 - 80°C và kết quả thí nghiệm được thể hiện qua Hình 4. Hàm lượng TPC tăng từ 31,25 mg GAE/g vck lên 56,87 mg GAE/g vck khi tăng nhiệt độ từ 50°C lên 60°C, nhưng sau đó giảm nhẹ ở 70°C (56,67 mg GAE/g vck) và thấp nhất ở 80°C (36,83 mg GAE/g vck). Điều này được giải thích là do khi nhiệt độ tăng, các cấu tử

trong hỗn hợp sẽ chuyển động hỗn loạn do tăng vận tốc chuyển động, làm cho quá trình khuếch tán trở nên dễ dàng hơn, đồng thời giảm độ nhớt của dung môi và tăng diện tích bề mặt tiếp xúc, qua đó sẽ làm tăng hiệu quả chiết các hợp chất polyphenol (Al-Farsi & Lee, 2008; Wang & ctv., 2008). Tuy nhiên, các hợp chất này có thể bị phân hủy ở nhiệt độ cao trong thời gian dài (Mokrani & ctv., 2016). Hàm lượng TPC thu được ở 60°C và 70°C không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê. Do đó, để tiết kiệm năng lượng, nhiệt độ phù hợp để trích ly polyphenol từ cỏ mực là 60°C.



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng polyphenol. a, b, c: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

3.2. Tối ưu hóa các điều kiện trích ly polyphenol

Dựa trên các kết quả thu được từ thí nghiệm khảo sát sơ bộ, các thông số bao gồm tỉ lệ dung môi:nguyên liệu (X_1), nhiệt độ (X_2) và thời gian

(X_3) được chọn là các biến độc lập cho quá trình tối ưu hóa. Các thí nghiệm được bố trí theo mô hình CCD bằng phương pháp RSM và kết quả hàm lượng TPC được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Mô hình thiết kế và kết quả thí nghiệm tối ưu hóa

STT	Tỉ lệ dung môi:nguyên liệu (X_1 , mL/g)	Nhiệt độ (X_2 , °C)	Thời gian (X_3 , phút)	Hàm lượng TPC (mg GAE/g vck)
1	40	60	60	51,77 ± 0,6
2	30	50	60	38,57 ± 0,8
3	40	50	90	42,70 ± 0,4
4	40	60	90	55,67 ± 1,2
5	30	60	90	49,99 ± 1,4
6	40	70	90	52,95 ± 0,6
7	40	60	120	53,14 ± 0,9
8	30	50	120	44,82 ± 0,4
9	30	70	60	45,60 ± 0,7
10	50	50	120	41,50 ± 1,1
11	40	60	90	54,88 ± 1,1
12	50	70	120	51,20 ± 0,7
13	50	50	60	38,29 ± 0,6
14	30	70	120	44,67 ± 0,4
15	50	70	60	50,69 ± 1,7
16	50	60	90	52,45 ± 0,9

TPC: total polyphenol content.

Theo kết quả phân tích ANOVA (Bảng 3), giá trị F của mô hình được xác định là 31,67, đã chứng minh mô hình này có ý nghĩa cao với xác suất xuất hiện nhiễu chỉ khoảng 0,02%. Với các giá trị $P < 0,05$, cho thấy quá trình trích ly hợp chất polyphenol từ cỏ mực chịu ảnh hưởng bậc một của tỉ lệ dung môi:nguyên liệu (X_1), nhiệt độ (X_2), thời gian (X_3), bậc hai của X_1 và X_2 ; tương tác giữa X_1 và X_2 , X_2 và X_3 . Sự không phù hợp

(lack of fit) của mô hình có giá trị F là 6,31 ($P = 0,2929$), chứng tỏ mô hình hoàn toàn tương thích với thực nghiệm. Ngoài ra, hệ số hồi quy (R^2) tính được là 0,9794, có nghĩa là 97,94% số liệu thực nghiệm phù hợp với dự đoán của mô hình. Đồng thời, mô hình còn mô tả mối quan hệ giữa hàm lượng TPC (Y) và các điều kiện trích ly theo phương trình sau:

$$Y = 54,32 + 1,05 X_1 + 3,92 X_2 + 1,04 X_3 + 1,90 X_1 X_2 - 1,23 X_2 X_3 - 2,62 X_1^2 - 6,02 X_2^2$$

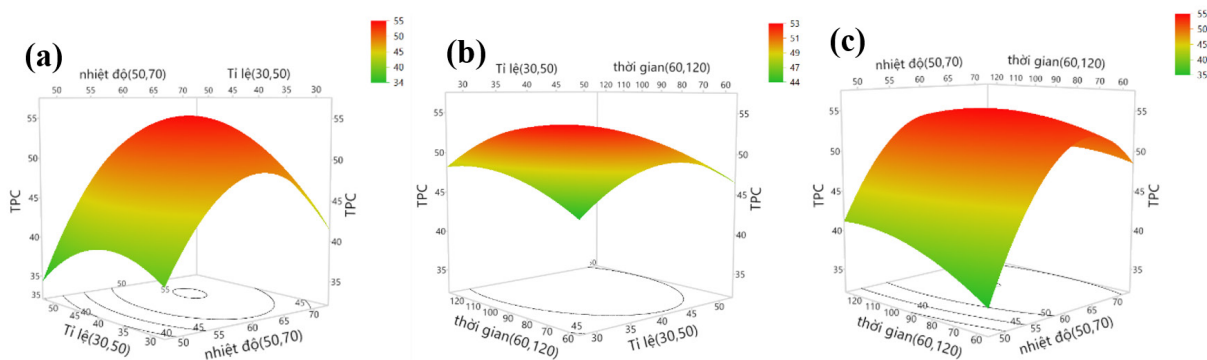
Bảng 3. Phân tích thống kê ANOVA cho hàm lượng polyphenol tổng số

Nguồn	Tổng bình phương	Bậc tự do	Giá trị F	Giá trị P
Mô hình	482,80	9	31,67	0,0002*
X_1	10,97	1	6,47	0,00438*
X_2	153,95	1	90,87	<0,001*
X_3	10,85	1	6,41	0,0446*
X_1X_2	28,96	1	17,09	0,0061*
X_1X_3	0,31	1	0,19	0,6817
X_2X_3	12,20	1	7,20	0,0364*
X_1^2	18,05	1	10,65	0,0172*
X_2^2	95,43	1	56,33	0,0003*
X_3^2	5,06	1	2,99	0,1347
Sự không tương thích (Lack of fit)	9,85	5	6,3149	0,2929

*Có ý nghĩa ($P < 0,05$).

Mặt khác, ảnh hưởng của các yếu tố này đến hàm lượng TPC được thể hiện qua bề mặt đáp ứng 3D và đường đồng mức 2D (Hình 5) với vùng màu đỏ biểu thị cho hàm lượng cao nhất, trong khi vùng màu xanh lá cây biểu thị kết quả

thấp hơn. Qua các biểu đồ cho thấy hàm lượng polyphenol bắt đầu tăng đến các giá trị trung tâm, sau đó có xu hướng giảm dần hoặc tiệm cận ngang khi tiếp tục tăng tỉ lệ dung môi:nguyên liệu, nhiệt độ và thời gian trích ly.



Hình 5. Bề mặt đáp ứng 3D và đường đồng mức 2D biểu diễn ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi:nguyên liệu và nhiệt độ (a), tỉ lệ dung môi:nguyên liệu và thời gian (b), nhiệt độ và thời gian (c).

Theo kết quả của mô hình, điều kiện tối ưu cho quá trình trích ly polyphenol từ vỏ mướp được xác định là tỉ lệ dung môi:nguyên liệu 43:1 mL/g ở nhiệt độ 64°C trong 97 phút với hàm lượng TPC thu được là 55,29 mg GAE/g vck. Để đánh giá độ chính xác của mô hình, các thí nghiệm thực tế đã được tiến hành tại điều kiện tối ưu. So với dự đoán của mô hình, hàm lượng thực tế thu được từ thí nghiệm kiểm chứng là 55,92 ± 0,14 mg GAE/g vck. Với sai số nhỏ hơn 5%, điều đó có nghĩa là hàm lượng đo được phù hợp với giá trị dự đoán của phương trình hồi quy bậc hai.

Bảng 4. Thành phần polyphenol có trong cao chiết vỏ mướp

STT	Thời gian lưu	m/z	Hợp chất
1	6,01	148	Coniferylaldehyde
2	7,66	178	Caffeic acid
3	10,21	167	Vanillic acid
4	11,39	138	Salicylic acid
5	13,32	448	Quercetin-3-O-β-D-glucoside
6	17,34	285	Luteolin
7	17,60	286	Kaempferol
8	19,70	313	Wedelolactone
9	22,89	301	Quercetin

Theo nghiên cứu của Phan & ctv. (2023), Wedelolactone được xem là hoạt chất chính có trong cây vỏ mướp trồng tại vùng Tây Nguyên (Việt Nam), tiếp theo là salicylic acid cũng chiếm hàm lượng đáng kể. Từ kết quả phân tích cho thấy có sự hiện diện của hai hợp chất này ở thời gian lưu lần lượt là 19,70 phút và 11,39 phút. Mặt khác,

3.3. Thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết

Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng thành phần hóa học của vỏ mướp có chứa hợp chất polyphenol. Trong nghiên cứu này, phương pháp UHPLC kết hợp khối phổ đã được sử dụng để xác định các thành phần hóa học trong cao chiết thu được tại điều kiện trích ly tối ưu. Kết quả cho thấy có khoảng 9 loại hợp chất thuộc nhóm polyphenol được tìm thấy và được liệt kê trong Bảng 4.

cao chiết ethanol còn chứa các hoạt chất thuộc nhóm polyphenol khác như: coniferylaldehyde, caffeic acid, vanillic acid, luteolin, kaempferol, quercetin, quercetin-3-O-β-D-glucoside phù hợp với các nghiên cứu đã công bố trước đây (Timalsina & ctv., 2021; Phan & ctv., 2023; Myo & ctv., 2024).

Do chứa nhiều hợp chất polyphenol, khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH của cao chiết đã được khảo sát. Kết quả cho thấy, với nồng độ $78 \pm 0,7 \mu\text{g/mL}$, cao chiết cỏ mực có khả năng ức chế được 50% gốc tự do, tuy nhiên vẫn thấp hơn so với chất đối chứng dương là Vitamin C ($2,7 \mu\text{g/mL}$). Mặc dù vậy, hoạt tính kháng oxy hóa của nghiên cứu này cao hơn so với hoạt tính của cao chiết cỏ mực Ấn Độ ($\text{IC}_{50} = 366,46 \mu\text{g/mL}$) (Sinha & ctv., 2016) và Thái Lan ($\text{IC}_{50} = 213 \mu\text{g/mL}$) (Pukumpuang & ctv., 2014).

4. Kết Luận

Nghiên cứu cho thấy quá trình trích ly polyphenol từ cỏ mực có hiệu quả khi sử dụng dung môi chiết là ethanol 50%. Bên cạnh đó, các yếu tố khác có ảnh hưởng đến hàm lượng TPC như tỉ lệ dung môi:nguyên liệu, nhiệt độ và thời gian cũng được tối ưu hóa theo mô hình CCD bằng phương pháp bề mặt đáp ứng. Giá trị tối ưu của các thông số được xác định là tỉ lệ dung môi:nguyên liệu là 43:1 (mL/g), nhiệt độ 64°C và thời gian 97 phút. Tại điều kiện tối ưu, hàm lượng TPC thu được là $55,92 \text{ mg GAE/g vck}$. Ngoài ra, qua kết quả phân tích cho thấy cao chiết có chứa nhiều hợp chất polyphenol và có tiềm năng kháng oxy hóa với IC_{50} là $78 \mu\text{g/mL}$.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan nghiên cứu do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí bởi đề tài khoa học và công nghệ sinh viên Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM, mã số: CS-SV23-HHTP-02.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Al-Farsi, M. A., & Lee, C. Y. (2008). Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry* 108(3), 977-985. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.009>.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science* 4(Part A), 200-214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>.
- Albuquerque, B. R., Heleno, S. A., Oliveira, M. B. P. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2021). Phenolic compounds: Current industrial applications, limitations and future challenges. *Food and Function* 12(1), 14-29. <https://doi.org/10.1039/D0FO02324H>.
- Arunachalam, G., Subramanian, N., Pazhani, G. P., & Ravichandran, V. (2009). Anti-inflammatory activity of methanolic extract of *Eclipta prostrata* L. (Asteraceae). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 3(3), 97-100.
- Bakht, J., Islam, A., Ali, H., Tayyab, M., & Shafi, M. (2011). Antimicrobial potentials of *Eclipta alba* by disc diffusion method. *African Journal of Biotechnology* 10(39), 7658-7667.
- Chan, C. F., Huang, W. Y., Guo, H. Y., & Wang, B. R. (2014). Potent antioxidative and UVB protective effect of water extract of *Eclipta prostrata* L. *The Scientific World Journal* 2014(1-4), 759039. <https://doi.org/10.1155/2014/759039>.
- Dalal, S., & Kataria, S. K. (2010). Phytochemical screening of ethanolic extract and antibacterial activity of *Eclipta prostrata*. *Asian Journal of Chemistry* 22(9), 7336-7342.
- Datta, K., Singh, A. T., Mukherjee, A., Bhat, B., Ramesh, B., & Burman, A. C. (2009). *Eclipta alba* extract with potential for hair growth promoting activity. *Journal of Ethnopharmacology* 124(3), 450-456. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.05.023>.
- De Torre, M. P., Cavero, R. Y., Calvo, M. I., & Vizmanos, J. L. (2019). A simple and a reliable method to quantify antioxidant activity in

- vivo. *Antioxidants (Basel)* 8(5), 142. <https://doi.org/10.3390/antiox8050142>.
- Dibacto, R. E. K., Tchuente, B. R. T., Nguedjo, M. W., Tientcheu, Y. M. T., Nyobe, E. C., Edoun, F. L. E., Kamini, M. F. G., Dibanda, R. F., & Medoua, G. N. (2021). Total polyphenol and flavonoid content and antioxidant capacity of some varieties of *Persea americana* peels consumed in Cameroon. *The Scientific World Journal* 2021, 8882594. <https://doi.org/10.1155/2021/8882594>.
- Duong, L. T. P., Phan, T. T. B., & Ha, T. H. (2014). Effect of extraction process on polyphenol content and antioxidant capacity from soybeans. *CTU Journal of Science* 2014(1), 8-15.
- Feng, L., Zhai, Y. Y., Xu, J., Yao, W. F., Cao, Y. D., Cheng, F. F., Bao, B. H., & Zhang, L. (2019). A review on traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Eclipta prostrata* (L.) L. *Journal of Ethnopharmacology* 245, 112109. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112109>.
- Guenné, S., Ouattara, N., Ouédraogo, N., Ciobica, A., Hilou, A., & Kiendrebeogo, M. (2020). Phytochemistry and neuroprotective effects of *Eclipta alba* (L.) Hassk. *Journal of Complementary and Integrative Medicine* 17(1), 1-7. <https://doi.org/10.1515/jcim-2019-0026>.
- Kaur, N., Kumar, V., Nayak, S. K., Wadhwa, P., Kaur, P., & Sahu, S. K. (2021). Alpha-amylase as molecular target for treatment of diabetes mellitus: A comprehensive review. *Chemical Biology and Drug Design* 98(4), 539-560. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13909>.
- Kim, D. I., Lee, S. H., Hong, J. H., Lillehoj, H. S., Park, H. J., Rhie, S. G., & Lee, G. S. (2010). The butanol fraction of *Eclipta prostrata* (Linn) increases the formation of brain acetylcholine and decreases oxidative stress in the brain and serum of cesarean-derived rats. *Nutrition Research* 30(8), 579-584. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2010.08.001>.
- Lee, K. Y., Ha, N. R., Kim, T. B., Kim, Y. C., & Sung, S. H. (2010). Characterization of triterpenoids, flavonoids and phenolic acids in *Eclipta prostrata* by high-performance liquid chromatography/diode-array detector/electrospray ionization with multi-stage tandem mass spectroscopy. *Natural Product Sciences* 16(3), 164-168.
- Mokrani, A., & Madani, K. (2016). Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Separation and Purification Technology* 162(13), 68-76. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.01.043>.
- Myo, H., Liana, D., & Phanumartwiwath, A. (2024). Unlocking therapeutic potential: comprehensive extraction, profiling, and pharmacological evaluation of bioactive compounds from *Eclipta alba* (L.) Hassk. for dermatological applications. *Plants* 13(1), 33. <https://doi.org/10.3390/plants13010033>.
- Naczki, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41(5), 1523-1542. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.04.002>.
- Nguyen, P. T. T., Thai, A. N., Dang, L. T. Y., Nguyen, D. T. L., Le, T. T. N., Tran, N. T., & Nguyen, T. T. (2021). Optimization of microwave-assisted extraction conditions for phenolic and flavonoid compounds from freeze-dried *Docynia indica* fruits. *Vietnam Journal of Agricultural Science* 19(6), 726-736.
- Phan, P. T. K., Wang, S. L., Nguyen, V. Q., Phan, Q. T., Nguyen, T. T., Tran, T. T. T., Nguyen, D. A., Nguyen, B. V., & Doan, D. M. (2023). Assessment of the chemical profile and potential medical effects of a Flavonoid-rich extract of *Eclipta prostrata* L. collected in the central Highlands of Vietnam. *Pharmaceuticals* 16(10), 1476. <https://doi.org/10.3390/ph16101476>.
- Pukumpuang, W., Chansakaow, S., & Tragoolpua, Y. (2014). Antioxidant activity, phenolic compound content and phytochemical

- constituents of *Eclipta prostrata* (Linn.) Linn. *Chiang Mai Journal of Science* 41(413), 568-576.
- Rashid, M. H. O., Das, J. R., Akter, A., Uddin, J., Parvin, N., Laboni, F. R., Sarker, M. M. R., & Karim, N. (2022). Possible role of phenolics and flavonoids in antioxidant, cytotoxic and thrombolytic activities of *Eclipta prostrata* L. *Bangladesh Pharmaceutical Journal* 25(2), 164-174. <http://dx.doi.org/10.3329/bpj.v25i2.60967>.
- Singh, L., Antil, R., Kumar, D., & Dahiya, P. (2019). Phytochemical analysis and In-vitro assays for antimicrobial and antioxidant activity of Bhringraj herb *Eclipta prostrata* (L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 8(3), 4527-4533.
- Sinha, S., & Raghuwanshi, R. (2016). Phytochemical screening and antioxidant potential of *Eclipta prostrata* (L.) L-A valuable herb. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 8(3), 255-260.
- Tabart, J., Kevers, C., Sipel, A., Pincemail, J., Defraigne, J. O., & Dommes, J. (2007). Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and of stability during storage. *Food Chemistry* 105(3), 1268-1275. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.005>.
- Timalsina, D., & Devkota, H. P. (2021). *Eclipta prostrata* (L.) L. (Asteraceae): Ethnomedicinal uses, chemical constituents, and biological activities. *Biomolecules* 11(11), 1738. <https://doi.org/10.3390/biom11111738>.
- Velderrain-Rodríguez, G. R., Palafox-Carlos, H., Wall-Medrano, A., Ayala-Zavala, J. F., Chen, C. Y. O., Robles-Sánchez, M., Astiazaran-García, H., Alvarez-Parrilla, E., & González-Aguilar, G. A. (2014). Phenolic compounds: Their journey after intake. *Food and Function* 5(2), 189-197. <https://doi.org/10.1039/c3fo60361j>.
- Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Li, X. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry* 106(2), 804-810. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.062>.
- Yadav, N. K., Arya, R. K., Dev, K., Sharma, C., Hossain, Z., Meena, S., Arya, K. R., Gayen, J. R., Datta, D., & Singh, R. K. (2017). Alcoholic extract of *Eclipta alba* shows in vitro antioxidant and anticancer activity without exhibiting toxicological effects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017(18), 1-18. <https://doi.org/10.1155/2017/9094641>.