

Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng quá trình chiết xuất lá cây Đơn lá đỏ (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.)

EXAMINING SOME FACTORS AFFECTING THE EXTRACTION PROCESS OF EXCOECARIA COCHINCHINENSIS LOUR.

Phùng Thanh Long, Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Quốc Huy
Vũ Đức Lợi, Lê Thị Linh Nhi
Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam

TÓM TẮT

Mục tiêu: Khảo sát và xây dựng quy trình chiết xuất lá cây Đơn lá đỏ nhằm thu được cao có hàm lượng flavonoid cao nhất, phục vụ sản xuất chế phẩm từ cây Đơn lá đỏ.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Lá cây Đơn lá đỏ được thực hiện các thí nghiệm đơn biến đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố dung môi, nhiệt độ chiết, tỷ lệ dược liệu/ dung môi, số lần chiết, kích thước bột dược liệu đến hàm lượng flavonoid toàn phần; định lượng flavonoid toàn phần bằng quang phổ UV-Vis theo phương pháp tạo màu với $AlCl_3$ với chất chuẩn là kaempferol; sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt chỉ tiêu theo thiết kế thí nghiệm của Box - Behnken với ba yếu tố, ba cấp độ để lựa chọn điều kiện chiết tối ưu.

Kết quả: Quy trình chiết xuất tối ưu được xác định với các điều kiện: dung môi ethanol 70%, tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/14, nhiệt độ chiết 80°C, thời gian chiết 3 giờ và số lần chiết 3 lần cho cao có hàm lượng là 1,02%.

Kết luận: Quy trình chiết xuất lá cây Đơn lá đỏ đã được tối ưu hóa, giúp thu được hàm lượng flavonoid cao, tạo tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng trong dược phẩm.

Từ khóa: Đơn lá đỏ, *Excoecaria cochinchinensis*, chiết xuất, flavonoid, phương pháp đáp ứng bề mặt.

ABSTRACT

Objective: To investigate and develop an extraction process from *Excoecaria cochinchinensis* Lour. leaves to obtain the highest flavonoid content for application in traditional medicine.

Subjects and methods: The leaves of *Excoecaria cochinchinensis* were subjected to single-variable experiments to evaluate the effects of solvent type, extraction temperature, material-to-solvent ratio, number of extraction cycles, and particle size of the material on the total flavonoid content. The total flavonoid content was quantified using UV-Vis spectroscopy with the aluminum chloride ($AlCl_3$) colorimetric method, employing kaempferol as the standard. The response surface methodology, based on the Box-Behnken experimental design with three factors and three levels, was applied to determine the optimal extraction conditions.

Results: The optimal extraction process was determined under the following conditions: 70% ethanol as the solvent, a material-to-solvent ratio of 1/14, an extraction temperature of 80°C, an extraction time of 3 hours, and three extraction cycles. Under these conditions, the extract yielded a flavonoid content of 1,02%.

Conclusion: The extraction process from *Excoecaria cochinchinensis* has been optimized, yielding a high flavonoid content and laying the foundation for pharmaceutical applications.

Keywords: *Excoecaria cochinchinensis*, extract, flavonoid, Response Surface Methodology (RSM).

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Đơn lá đỏ (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.) còn có tên gọi khác là Đơn mặt trời, đơn đỏ, đơn lá liễu thuộc họ Thầu dầu (Euphorbiaceae), được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền để chữa mẩn ngứa, mụn nhọt, tiêu chảy [1]. Thành phần hóa học của dược liệu này bao gồm flavonoid, coumarin, anthranoid, tanin. Đặc biệt nhóm

flavonoid với các chất như kaempferol, quercetin... là những hoạt chất có tác dụng chống oxy hóa, chống viêm và kháng khuẩn [2],[3],[4],[5]. Tuy nhiên, cho đến nay chưa có nghiên cứu về quy trình chiết xuất cao đơn lá đỏ theo hướng tối ưu hóa hàm lượng flavonoid, dẫn đến khó khăn trong việc sản xuất các chế phẩm có chất lượng cao từ dược liệu này. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này



với mục tiêu: Khảo sát và xây dựng quy trình chiết xuất lá cây Đơn lá đỏ nhằm thu được cao có hàm lượng flavonoid cao nhất, phục vụ sản xuất chế phẩm từ cây Đơn lá đỏ.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Lá cây Đơn lá đỏ thu hái tại Phú Xuyên - Hà Nội vào tháng 5 năm 2024, được giám định tên khoa học là *Excoecaria cochinchinensis* Lour., họ Thầu dầu (Euphorbiaceae) bởi PGS. TS. Nguyễn Thế Cường (Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật – Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam). Mẫu được sấy khô tới độ ẩm dưới 5% và bảo quản tại trong túi PE.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được triển khai tại Bộ môn Thực vật – Dược liệu, Học viện Y – Dược học cổ truyền Việt Nam từ tháng 11/2024 đến tháng 4/2025.

Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng:

Khảo sát bằng dung môi ethanol 30%; 60%; 90%. Nhiệt độ chiết là 60°C, 70°C, 80°C trong thời gian 3 giờ, với tỷ lệ dược liệu/dung môi (DL/DM) lần lượt là 1/10; 1/12; 1/15 (g/ml). Số lần chiết lần lượt là 1 lần, 2 lần, 3 lần với các kích thước dược liệu (cỡ rây 0,500mm; 0,250mm; 0,125mm). Phương pháp chiết xuất cố định là chiết hồi lưu. Cao sau khi cô xong được đem đi sấy khô và cân để xác định khối lượng cao thu được. Sau khi tiến hành khảo sát đơn yếu tố, lựa chọn 3 yếu tố là các yếu tố ảnh hưởng lớn nhất đến hàm lượng flavonoid toàn phần và khối lượng cao để đánh giá khả năng ảnh hưởng, sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt chỉ tiêu theo thiết kế thí nghiệm của Box - Behnken với ba yếu tố, ba cấp độ [6].

Phương pháp cô cao:

Dịch chiết thu được sau mỗi lần chiết được lọc, gộp lại và đem cô ở áp suất giảm bằng máy cô quay chân không, nhiệt độ cô duy trì ở khoảng 50–60°C nhằm tránh phân hủy các hợp chất nhạy cảm với nhiệt như flavonoid.

Nhiệt độ sấy cao:

Sau khi cô đặc thành cao mềm, cao được chuyển sang giai đoạn làm khô bằng tủ sấy đối lưu nhiệt, đặt ở nhiệt độ cao khoảng 50–60°C cho đến khi thu được cao khô có hàm ẩm dưới 5%, đảm bảo thuận lợi cho việc bảo quản và định lượng chính xác. Đối với đơn lá đỏ, do lượng đường trong cao tương đối ít nên việc tạo cao khô khá dễ dàng.

Phương pháp định lượng flavonoid toàn phần:

Xác định hàm lượng flavonoid toàn phần bằng phương pháp UV-Vis theo chuẩn Kaempferol. Hỗn hợp phản ứng gồm 1 ml dịch chiết (hòa tan 0,1g cao thành 10ml), 1 ml $AlCl_3$ 5% và 8 ml Ethanol được lắc đều. Tiến hành đo độ hấp thụ tại bước sóng 420nm. Tiến hành xác định hàm lượng flavonoid trong cao dược liệu theo phương pháp tạo màu với $AlCl_3$ [7].

Hàm lượng flavonoid toàn phần được tính theo công thức:

$$F(\%) = \frac{C \cdot V \cdot k \cdot 100}{m \cdot 10^6 \cdot (1 - A\%)}$$

Trong đó:

F: Hàm lượng flavonoid toàn phần trong mẫu (%)

A: Độ ẩm của dược liệu (%)

m: Khối lượng mẫu đem định lượng (g)

C: Nồng độ flavonoid toàn phần trong dung dịch thử tính theo Kaempferol (mg/ml)

V: Thể tích dung dịch sau phản ứng (ml)

k: Hệ số pha loãng

Hóa chất, thiết bị sử dụng:

Hóa chất: Kaempferol, xuất xứ Trung Quốc, độ tinh khiết > 99 %; Ethanol tuyệt đối, xuất xứ Trung Quốc, tiêu chuẩn nhà sản xuất; $AlCl_3$, xuất xứ Trung Quốc, tiêu chuẩn nhà sản xuất.

Thiết bị: Máy quang phổ UV – Vis U – 3900; Cân phân tích A&D GH – 202; Cân xác định độ ẩm Precisa XM 60; Hệ thống chiết hồi lưu; Máy cô quay chân không Buchi Rotavapor R-300.

Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

Sử dụng phần mềm Design - Expert 13.0 để thiết kế thí nghiệm tối ưu, phân tích ANOVA và xử lý số liệu tối ưu hóa. Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2019, kết quả nghiên cứu thể hiện bằng tỷ lệ %, $M \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

Đạo đức trong nghiên cứu

Đề tài cam kết đảm bảo tính trung thực trong việc thu thập, ghi chép, xử lý và phân tích số liệu để đánh giá, kết luận một cách khách quan nhất, đúng với thực tế.

KẾT QUẢ

Xây dựng đường chuẩn Kaempferol

Để xác định khoảng tuyến tính, chất chuẩn Kaempferol được pha thành dãy dung dịch chuẩn có nồng độ 3,9µg/ml; 5,2µg/ml; 6,5µg/ml; 7,8µg/ml; 9,1µg/ml; 10,4µg/ml; 11,7µg/ml.

Bảng 1. Độ hấp thụ của Kaempferol phụ thuộc nồng độ

Nồng độ (µg/ml)	3,9	5,2	6,5	7,8	9,1	10,4	11,7
Độ hấp thụ	0,531	0,702	0,844	1,035	1,217	1,396	1,525

Độ hấp thụ và nồng độ dung dịch Kaempferol có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ trong khoảng nồng độ theo phương trình $y = 0,1303x + 0,0194$ với $R^2 = 0,9981$.



Ảnh hưởng của thời gian chiết

Tiếp tục khảo sát với các điều kiện: chiết hồi lưu dưới dạng bột mịn, EtOH 90%, tỷ lệ DL/DM: 1/10, nhiệt độ 80°C, số lần chiết là 3.

Bảng 2. Khảo sát dung môi chiết xuất

Điều kiện	Khối lượng dược liệu (g)	Khối lượng cao (g)	Hàm lượng flavonoid (%)
1 giờ	5,0075 ± 0,001	0,9204 ± 0,035	0,82 ± 0,02
2 giờ	5,0027 ± 0,001	1,0124 ± 0,024	1,15 ± 0,02
3 giờ	5,0048 ± 0,001	1,0957 ± 0,055	1,2 ± 0,02
4 giờ	5,0025 ± 0,001	1,1075 ± 0,005	1,19 ± 0,02

(Số liệu được trình bày dưới dạng $M \pm SD$, với $n = 3$)

Khi tăng thời gian chiết từ 1 giờ lên 3 giờ, khối lượng cao thu được và hàm lượng flavonoid đều tăng rõ rệt. Tuy nhiên, khi tăng thời gian chiết từ 3 giờ lên 4 giờ, hàm lượng flavonoid có xu hướng giảm nhẹ, cho thấy quá trình chiết đã gần đạt trạng thái bão hòa.

Do đó, thời gian chiết 3 giờ được lựa chọn là tối ưu,

vừa tiết kiệm thời gian, vừa tiết kiệm chi phí và đảm bảo hiệu quả.

Ảnh hưởng của nồng độ dung môi

Tiếp tục khảo sát với các điều kiện: Chiết hồi lưu dưới dạng bột mịn, tỷ lệ DL/DM: 1/10, nhiệt độ 80°C, thời gian chiết là 3 giờ, số lần chiết là 3.

Bảng 3. Khảo sát dung môi chiết xuất

Điều kiện	Khối lượng dược liệu (g)	Khối lượng cao (g)	Hàm lượng flavonoid (%)
EtOH 30%	5,002 ± 0,001	1,0997 ± 0,018	0,59 ± 0,02
EtOH 60%	5,0017 ± 0,001	1,0273 ± 0,016	0,68 ± 0,02
EtOH 90%	5,0008 ± 0,001	0,9433 ± 0,021	0,65 ± 0,02

(Số liệu được trình bày dưới dạng $M \pm SD$, với $n = 3$)

Dung môi ethanol (EtOH) 60% thu được lượng flavonoid lớn nhất.

Ảnh hưởng của tỷ lệ DL/DM

Tiếp tục khảo sát với các điều kiện: Chiết hồi lưu dưới dạng bột mịn, EtOH 60%, nhiệt độ 80°C, thời gian chiết là 3 giờ, số lần chiết là 3.

Bảng 4. Khảo sát tỷ lệ DL/DM chiết xuất

Điều kiện	Khối lượng dược liệu (g)	Khối lượng cao (g)	Hàm lượng flavonoid (%)
1/10	5,0019 ± 0,0021	1,077 ± 0,015	0,52 ± 0,02
1/12	5,0038 ± 0,0025	1,220 ± 0,018	0,61 ± 0,03
1/15	5,0046 ± 0,0028	1,470 ± 0,020	0,59 ± 0,02

(Số liệu được trình bày dưới dạng $M \pm SD$, với $n = 3$)

Lượng dung môi càng lớn so với lượng dược liệu thì khối lượng cao càng lớn. Nhưng hàm lượng flavonoid lại cao nhất ở tỷ lệ DL/DM là 1/12 nên để tiết kiệm chi phí khi sử dụng, để tài lựa chọn tỷ lệ 1/12 là tối ưu nhất.

Ảnh hưởng của nhiệt độ

Tiếp tục khảo sát với các điều kiện: Chiết hồi lưu dưới dạng bột mịn, EtOH 60%, tỷ lệ DL/DM: 1/12, thời gian chiết là 3 giờ, số lần chiết là 3.

Bảng 5. Khảo sát nhiệt độ chiết xuất

Điều kiện	Khối lượng dược liệu (g)	Khối lượng cao (g)	Hàm lượng flavonoid (%)
60°C	5,0005 ± 0,0005	1,239 ± 0,017	0,40 ± 0,02
70°C	5,0015 ± 0,0005	1,362 ± 0,023	0,63 ± 0,025
80°C	5,0019 ± 0,0005	1,457 ± 0,016	0,64 ± 0,02

(Số liệu được trình bày dưới dạng $M \pm SD$, với $n = 3$)



Khối lượng cao và hàm lượng flavonoid thu được cao nhất đều ở nhiệt độ 80°C.

Ảnh hưởng của kích thước dược liệu

Tiến hành chiết với các điều kiện: Chiết hồi lưu, nồng độ EtOH 60%, tỷ lệ DL/DM: 1/12, nhiệt độ 80°C, thời gian chiết là 3 giờ, số lần chiết là 3.

Bảng 6. Khảo sát kích thước dược liệu

Điều kiện	Khối lượng dược liệu (g)	Khối lượng cao (g)	Hàm lượng flavonoid (%)
Bột thô (0,500mm)	5,0017 ± 0,0003	1,232 ± 0,013	0,49 ± 0,02
Bột nửa thô (0,250mm)	5,0023 ± 0,0004	1,367 ± 0,018	0,53 ± 0,02
Bột mịn (0,125mm)	5,0015 ± 0,0003	1,417 ± 0,016	0,6 ± 0,02

(Số liệu được trình bày dưới dạng $M \pm SD$, với $n = 3$)

Dược liệu có kích thước càng nhỏ thì khối lượng cao và hàm lượng flavonoid thu được càng lớn nên cỡ rây 0,125 mm được lựa chọn.

Ảnh hưởng của số lần chiết

Tiếp tục khảo sát với các điều kiện: Chiết hồi lưu dưới dạng bột mịn, EtOH 60%, tỷ lệ DL/DM: 1/12, thời gian chiết là 3 giờ.

Bảng 7. Khảo sát số lần chiết

Điều kiện	Khối lượng dược liệu (g)	Khối lượng cao (g)	Hàm lượng flavonoid (%)
1 lần	5,0039 ± 0,0003	1,2733 ± 0,005	0,67 ± 0,02
2 lần	5,0044 ± 0,0002	1,5321 ± 0,007	0,81 ± 0,03
3 lần	5,0031 ± 0,0002	1,5466 ± 0,006	1,13 ± 0,03

(Số liệu được trình bày dưới dạng $M \pm SD$, với $n = 3$)

Khi chiết cao Đơn lá đỏ bằng dung môi EtOH ta thấy càng chiết nhiều lần thì khối lượng cao và hàm lượng flavonoid thu được càng nhiều. Tuy nhiên, việc chiết nhiều lần thu được thêm khối lượng cao và hàm lượng

flavonoid không đáng kể trong khi chi phí thời gian, dung môi và công sức tăng lên đáng kể. Vì vậy, để đảm bảo hiệu quả kinh tế và tính thực tiễn, số lần chiết là 3 lần được lựa chọn.

Tối ưu hóa quá trình chiết xuất lá cây Đơn lá đỏ

Ma trận thí nghiệm với 3 yếu tố theo mô hình BBD:

	Std	Run	Factor 1 A:Nồng độ DM o	Factor 2 B:Tỷ lệ DL/DM g/ml	Factor 3 C:Nhiệt độ oC	Response 1 khối lượng cao g	Response 2 hàm lượng fla %
	6	1	1	0	-1	1.0726	0.97
	2	2	1	-1	0	1.1044	1.07
	1	3	-1	-1	0	1.4473	0.69
	12	4	0	1	1	1.6165	0.85
	3	5	-1	1	0	1.3639	0.78
	10	6	0	1	-1	1.5626	0.63
	9	7	0	-1	-1	1.5937	0.62
	11	8	0	-1	1	1.1316	0.96
	13	9	0	0	0	1.4983	0.88
	4	10	1	1	0	1.144	1.11
	7	11	-1	0	1	1.4394	0.87
	5	12	-1	0	-1	1.5215	0.59
	15	13	0	0	0	1.4983	0.88
	14	14	0	0	0	1.4983	0.88
	8	15	1	0	1	1.1384	1.08

Hình 1. Ma trận 15 thí nghiệm theo mô hình BBD



Những yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất bao gồm nồng độ dung môi, tỷ lệ DL/DM và nhiệt độ. Sử dụng phần mềm Design-Expert 13.0 để tiến hành tối ưu hóa nhằm xác định được giá trị của ba yếu tố mà tại đó khối lượng cao và hàm lượng flavonoid là cao nhất. Áp dụng phương pháp phân tích hồi quy các số liệu thực nghiệm, thu được mô hình đa thức bậc hai thể

hiện khối lượng cao và hàm lượng flavonoid như sau:
Khối lượng cao = $1,50 - 0,1641A + 0,0512B - 0,0531C + 0,0308AB + 0,0370AC + 0,1290BC - 0,2083A^2 - 0,0251B^2 + 0,0029C^2$ (Bảng 7).
Hàm lượng flavonoid = $0,8800 + 0,1625A + 0,0038B + 0,1188C - 0,0125AB - 0,0425AC - 0,0300BC + 0,0725A^2 - 0,0400B^2 - 0,0750C^2$ (Bảng 8).

Bảng 8. Kết quả phân tích ANOVA tối ưu quá trình tổng hợp các yếu tố ảnh hưởng tới khối lượng cao

Yếu tố	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình Bình phương	Giá trị F	Giá trị p Prob > F	Ghi chú
Mô hình	0,4966	9	0,0552	5,06	0,0445	Có ý nghĩa thống kê
A- nồng độ EtOH	0,2154	1	0,2154	19,75	0,0067	
B- Tỷ lệ DL/DM	0,0210	1	0,0210	1,93	0,2238	
C- Nhiệt độ	0,0225	1	0,0225	2,07	0,2068	
AB	0,0038	1	0,0038	0,3468	0,5815	
AC	0,0055	1	0,0055	0,5015	0,5105	
BC	0,0666	1	0,0666	6,10	0,0565	
A ²	0,1601	1	0,1601	14,69	0,0122	
B ²	0,0023	1	0,0023	0,2140	0,6631	
C ²	0,0000	1	0,0000	0,0029	0,9590	
Phần dư	0,0545	5	0,0109			
Sự không tương thích	0,0545	3	0,0182			
Sai số thuần	0,0000	2	0,0000			
Tổng tương quan	0 5512	14				

Mô hình có ý nghĩa thống kê với giá trị p-value là 0,0445, nhỏ hơn mức ý nghĩa 0,05. Điều này chứng tỏ mô hình phù hợp và có khả năng dự đoán biến đáp ứng một cách đáng kể.

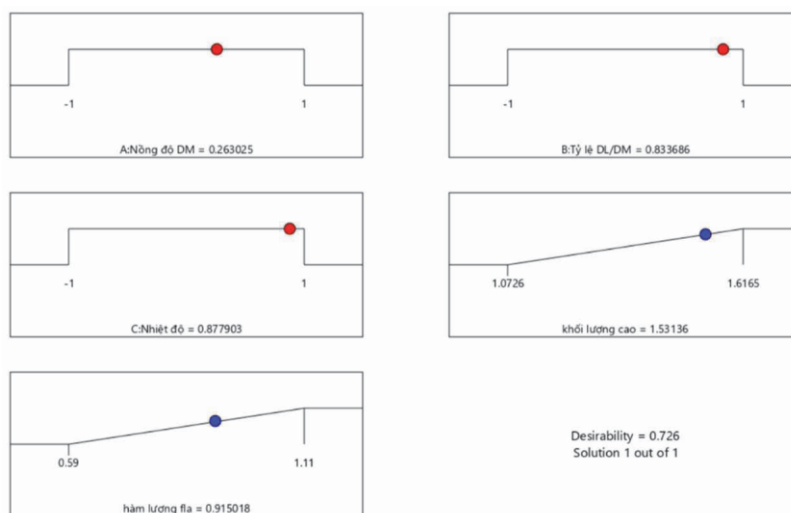
Bảng 9. Kết quả phân tích ANOVA tối ưu quá trình tổng hợp các yếu tố ảnh hưởng tới hàm lượng flavonoid toàn phần

Yếu tố	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình Bình phương	Giá trị F	Giá trị p Prob > F	Ghi chú
Mô hình	0,3851	9	0,0428	17,79	0,0028	Có ý nghĩa thống kê
A- nồng độ EtOH	0,2113	1	0,2113	87,84	0,0002	
B- Tỷ lệ DL/DM	0,0001	1	0,0001	0,068	0,8373	
C- Nhiệt độ	0,1128	1	0,1128	46,91	0,0010	
AB	0,0006	1	0,0006	0,2599	0,6139	
AC	0,0027	1	0,0027	1,10	0,1436	
BC	0,0036	1	0,0036	1,50	0,2757	
A ²	0,0194	1	0,0194	8,07	0,0323	
B ²	0,0059	1	0,0059	2,46	0,1778	
C ²	0,0208	1	0,0208	8,64	0,0233	
Phần dư	0,0120	5	0,0024			
Sự không tương thích	0,0102	3	0,0040			
Sai số thuần	0,0002	2	0,0000			
Tổng tương quan	0,3971	14				

Mô hình tổng thể có ý nghĩa thống kê với p-value = 0,0028, chứng tỏ mô hình phù hợp với dữ liệu.



Tối ưu hóa bằng hàm tham vọng:



Hình 2. Điều kiện tối ưu khối lượng cao và hàm lượng flavonoid toàn phần cao nhất

Kết quả tối ưu được phần mềm dự đoán: Nồng độ EtOH là 67,89%, tỉ lệ DL/DM là 347/5000 g/ml, nhiệt độ là 78,78°C, tương ứng với: khối lượng cao là 1,5314g và hàm lượng flavonoid là 0,92%. Với các dữ liệu thu được, đồng thời cân nhắc đến nồng độ cồn, tỷ lệ DL/DM và nhiệt độ chiết xuất phù hợp, an toàn trong ứng dụng sản xuất trên

thực tế, mức tối ưu của các yếu tố khảo sát được đề tài lựa chọn lần lượt là: nồng độ EtOH là 70%, tỷ lệ DL/DM là 1/14, nhiệt độ 80°C.

Đánh giá độ ổn định của quy trình:

Tiến hành chiết xuất cao 3 lần độc lập theo quy trình đã lựa chọn và lấy giá trị trung bình.

Bảng 10. Kết quả đánh giá độ ổn định của quy trình chiết xuất cao khô từ lá cây Đơn lá đỏ

Mẫu	Khối lượng dược liệu (g)	Khối lượng cao (g)	Hàm ẩm cao (%)	Hàm lượng flavonoid (%)
1	5,0032	1,5766	1,13	1,03
2	5,0025	1,6221	1,23	1,01
3	5,0015	1,5873	1,08	1,02
Trung bình		1,5953 ± 0,0238		1,02 ± 0,01

Quy trình chiết xuất cao với các điều kiện: chiết hồi lưu, bột mịn (0,125mm), chiết 3 lần, EtOH 70%, tỷ lệ DL/DM 1/14, nhiệt độ 80°C đưa ra kết quả có hiệu suất trung bình 31,9% và hàm lượng 1,02%. Sự chênh lệch giữa các chỉ số trên của cả 6 mẫu là không đáng kể, phương pháp chiết xuất có độ ổn định tương đối cao.

BÀN LUẬN

Nhằm xây dựng quy trình chiết xuất lá Đơn lá đỏ tối ưu, nghiên cứu đã tiến hành khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết nhằm thu nhận cao khô với hàm lượng flavonoid cao nhất. Flavonoid là các hợp chất có độ phân cực trung bình, do đó, việc sử dụng các dung môi hữu cơ ít phân cực như chloroform hoặc ethyl acetat tuy có thể nâng cao hiệu suất chiết nhưng lại tiềm ẩn nguy cơ độc hại đối với sức khỏe con người và môi trường, đồng

thời làm tăng chi phí sản xuất. Vì vậy, ethanol, một dung môi an toàn, hiệu quả và thân thiện môi trường, được lựa chọn để khảo sát. Các yếu tố khác như tỷ lệ dược liệu/dung môi (DL/DM), nhiệt độ chiết, kích thước dược liệu và số lần chiết cũng được đánh giá do có thể ảnh hưởng đến hiệu quả chiết xuất. Việc sử dụng mô hình Box-Behnken giúp xác định ảnh hưởng tương tác giữa các yếu tố như nồng độ Ethanol, nhiệt độ và tỷ lệ DL/DM đến khối lượng cao và hàm lượng flavonoid toàn phần trong cao. Dựa trên phần mềm Design Expert 13.0 để xây dựng mô hình tối ưu, kết quả phân tích cho thấy khối lượng cao thu được và hàm lượng flavonoid có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) đối với ba yếu tố: nồng độ ethanol, tỷ lệ DL/DM và nhiệt độ chiết.

Hiện nay, các nghiên cứu về tối ưu hóa quy trình chiết xuất từ dược liệu còn hạn chế, đặc biệt là chi *Excoecaria*

chưa có nghiên cứu. Khi so sánh với nghiên cứu trước đây, mô hình Box-behnken cũng được áp dụng để góp phần nâng cao giá trị khoa học và thực tiễn [6],[8]. Quan trọng hơn, nghiên cứu này sử dụng chất chuẩn Kaempferol để xác định hàm lượng flavonoid toàn phần trong cao bằng phương pháp UV-Vis và cung cấp số liệu định lượng rõ ràng. Đây là một lợi thế lớn so với các nghiên cứu trước, vì có độ chọn lọc và chính xác cao hơn so với phương pháp cân trước đó. Phương pháp cân thường mắc sai số do lẫn nhiều tạp chất, ít được sử dụng trong các chuyên luận dược điển [4],[8]. Kết quả nghiên cứu cho thấy việc kết hợp phương pháp chiết xuất truyền thống với hỗ trợ của phần mềm thiết kế thí nghiệm không chỉ góp phần tối ưu hóa quy trình mà còn giúp giảm chi phí, công sức và rút ngắn thời gian thực hiện. Đây là tiền đề quan trọng cho việc tạo ra cao chiết giàu flavonoid từ lá Đơn lá đỏ, phục vụ cho các nghiên cứu và ứng dụng tiếp theo.

KẾT LUẬN

Quy trình chiết xuất lá Đơn lá đỏ đã được xây dựng bằng phương pháp chiết hồi lưu, sử dụng dược liệu có kích thước qua rây 0,125 mm, dung môi ethanol 70%, tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1:14, ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 3 giờ và lặp lại 2 lần với thông số tương tự.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Võ Văn Chi.** *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 2012, Tập 1, tr.962.
2. **Nguyễn Thái An, Phạm Xuân Sinh, Cao Văn Thu, Nguyễn Thị Anh Thư.** Sơ bộ thăm dò một số tác dụng sinh học của lá cây Đơn lá đỏ. *Tạp chí Dược liệu*, 1999, 4, tr.20-21.
3. **Nguyễn Thái An, Phạm Xuân Sinh.** Bước đầu nghiên cứu thành phần hóa học của dược liệu Đơn lá đỏ (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.). *Tạp chí Dược liệu*, 1999, 4, tr.9.
4. **Nguyễn Thái An.** Nghiên cứu dược liệu đơn lá đỏ (*Excoecaria cochinchinensis* Lour. var. *cochinchinensis*), Luận án tiến sĩ Trường Đại học Dược Hà Nội, 2003.
5. **Giang P.M., Son P.T., Matsunami K., et al.** New Megastigmane Glucosides from *Excoecaria cochinchinensis* L. var. *cochinchinensis*. *Chem Pharm Bull*, 2005, 53(12), pp.1600–1603.
6. **Võ Thị Tú Anh, Trần Chí Linh, Đỗ Minh Kha, Đái Thị Xuân Trang.** Tối ưu hóa quy trình chiết xuất cao chiết giàu polyphenol và flavonoid có hoạt tính kháng vi khuẩn *Vibrio* spp. từ lá cây núc nác (*Oroxylum indicum* L.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 2022, 58(2), tr.102-113.
7. **Nguyễn Khánh Thùy Linh, Nguyễn Thị Ngọc Trâm.** Xây dựng phương pháp định lượng flavonoid toàn phần trong dịch chiết lá với (*Cleistocalyx operculatus*) bằng quang phổ UV-Vis. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*, 2022, 4, tr.5-17
8. **Lưu Hồng Sơn, Phạm Thị Vinh, Đinh Thị Kim Hoa, Phạm Thị Phương, Nguyễn Văn Duy, Trần Văn Chí, Tạ Thị Lượng.** Tối ưu hóa quá trình tách chiết flavonoid từ chè dây Cao Bằng. *Tạp chí Khoa học và công nghệ*, 2017, 171 (11), tr.15-19.