TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY POLYPHENOL, FLAVONOID TỪ VỎ ẤU BẰNG PHƯƠNG PHÁP BỀ MẶT ĐÁP ỨNG

Cao Thúy Liễu[1, 2], Dương Hiền Bửu[1], Đào Phúc Hậu[1], Lê Minh Chiến[1, 5], Lê Uyển Nhi[1], Lưu Thái Danh[3], Đỗ Thị Tuyết Nhung[4], Trần Chí Nhân[1, *]

[1] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ

[2] Trung tâm Kiểm nghiệm thành phố Cần Thơ, Sở Y tế thành phố Cần Thơ

[3] Trường Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ

[4] Trường Đại học Kỹ thuật - Công nghệ Cần Thơ

[5] Trung tâm Chất lượng, Chế biến và Phát triển thị trường vùng 6

[*]Email: tcnhan@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Vỏ ấu là nguồn cung cấp dồi dào các hợp chất sinh học. Tuy nhiên, lượng lớn vỏ bị loại bỏ, gây tác động tiêu cực đến môi trường. Mặc dù có tiềm năng lớn, điều kiện trích ly các hợp chất này bằng phương pháp Soxhlet nhằm tối ưu hiệu suất thu hồi (Y), hàm lượng phenolic tổng số (TPC) và flavonoid tổng số (TFC) chưa được công bố đối với các giống ấu được trồng tại Việt Nam. Thiết kế Central Composite Design được sử dụng với 3 nhân tố: Khối lượng nguyên liệu (50-100 g), thời gian trích ly (50-150 phút) và nồng độ ethanol (70-90%). Bề mặt đáp ứng (RSM) cho thấy sự tương tác giữa khối lượng nguyên liệu, thời gian và nồng độ ethanol tác động đáng kể đến các đáp ứng. Kết quả tối ưu đồng thời cho thấy, Y, TPC và TFC lần lượt đạt 19,20±0,51%, 606,54±9,41 mg GAE/g và 129,01±0,76 mg QE/g tại điều kiện 88,3 g nguyên liệu, nồng độ ethanol 88,8% và 79,3 phút. Nghiên cứu góp phần nâng cao giá trị sử dụng của nguồn phụ phẩm từ vỏ ấu, mở ra hướng ứng dụng thực tiễn to lớn trong sản xuất thực phẩm chức năng tự nhiên, phát triển kinh tế tuần hoàn từ phụ phẩm nông nghiệp và tạo cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo.

Từ khóa: *Bề mặt đáp ứng, cao chiết, flavonoid, polyphenol, trích ly Soxhlet, vỏ ấu.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây ấu (*Trapa natans*) có nguồn gốc từ khu vực châu Á ôn đới và nhiệt đới, phân bố rộng rãi tại các quốc gia như Trung Quốc, Ấn Độ, Nhật Bản, Thái Lan, Indonesia và Việt Nam [1]. Ở Việt Nam, ấu được trồng nhiều ở khu vực thuộc Đồng bằng sông Cửu Long như thành phố Cần Thơ, các tỉnh Vĩnh Long và Đồng Tháp, nơi có điều kiện sinh trưởng thích hợp. Theo nhiều nghiên cứu, củ ấu là nguồn thực phẩm cung cấp giá trị dinh dưỡng khá cao như: Protein (4,40%), chất xơ (2,05%), chất béo (0,65%) và khoáng chất (Na, K, Ca, Mg, P và Fe), đặc biệt là tinh bột chiếm 49% tính trên khối lượng chất khô [2, 3]; điều này cho thấy tiềm năng trong chế biến các sản phẩm từ củ ấu. Tuy nhiên, vỏ ấu chiếm khoảng 20% (w/w) khối lượng củ [4], đây được xem là phụ phẩm trong ngành công nghiệp chế biến. Việc tồn đọng phụ phẩm nông nghiệp trong quá trình chế biến gây thiệt hại đáng kể cho nền kinh tế nông nghiệp và đồng thời gây các vấn đề ô nhiễm môi trường như biến đổi khí hậu và phát thải khí nhà kính… [5]. Trong khi đó, vỏ ấu là nguồn cung cấp các hợp chất có giá trị sinh học đáng kể.

Kết quả nghiên cứu của Cravotto và cs (2022) [6] ghi nhận hàm lượng các hợp chất phenolic trong vỏ ngoài và vỏ trong của củ ấu dao động từ 2,7-5,2% (w/w), trong khi lượng polysaccharide khoảng 36% (w/w). Hơn nữa, kỹ thuật sắc ký lỏng ghép khối phổ hai lần tứ cực thời gian bay (LC-QTOF-MS/MS) ghi nhận cao chiết vỏ ấu có sự hiện diện của khoảng 46 hợp chất phenolic và tannin, flavonoid, glycoside, alkaloid, saponin, steroid; đồng thời, gallotannin và ellagitannin là những thành phần nổi bật, mở ra tiềm năng sử dụng vỏ củ ấu trong ngành thực phẩm chức năng [7]. Bên cạnh đó, nghiên cứu

nhận định rằng, các hợp chất trích ly từ vỏ ấu có khả năng cải thiện tình trạng đái tháo đường type 2 ở mô hình chuột nhờ tác động lên tuyến tụy và gan, thông qua cơ chế điều hòa stress oxy hóa [8]. Điều này khẳng định, vỏ củ ấu là một nguồn tài nguyên giá trị, có tiềm năng khai thác và ứng dụng cao. Mặc dù tiềm năng sinh học của vỏ ấu đã được khẳng định, nhưng các nghiên cứu chủ yếu chỉ dừng lại ở việc định danh cấu trúc hoặc đánh giá hoạt tính sinh học dựa trên các cao chiết.

Trích ly là một kỹ thuật quan trọng để thu nhận các hợp chất có giá trị sinh học từ nguyên liệu thực vật. Hiện nay, có rất nhiều phương pháp đã được áp dụng bao gồm: Ngâm dầm, đun hồi lưu, trích ly soxhlet, hỗ trợ siêu âm, hỗ trợ vi sóng và chất lỏng siêu tới hạn [9]. Trong đó, soxhlet là phương pháp được sử dụng rộng rãi nhất để trích ly các hợp chất phenolic trong nguyên liệu thực vật, do tiết kiệm được dung môi và thời gian, dễ thực hiện, hiệu suất thu hồi cao [10, 11]. Hơn nữa, soxhlet hạn chế được các phân hủy do quá trình xử lý nhiệt, với hệ thống kín dung môi được ngưng tụ và tuần hoàn liên tục, hạn chế thất thoát dung môi và đảm bảo hiệu quả trích ly [12]. Bên cạnh đó, hiệu suất thu hồi và hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học phụ thuộc ít nhiều vào các điều kiện trích ly như loại và nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, nhiệt độ và thời gian trích ly [9]. Hơn nữa, phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM) là công cụ hiệu quả trong việc tối ưu hóa các thông số công nghệ, giúp giảm số lượng thí nghiệm, tiết kiệm chi phí và công lao động, đồng thời xác định các điều kiện tối ưu để đạt được giá trị đáp ứng mong muốn [13]. Trên cơ sở đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tối ưu hóa các điều kiện trích ly bằng phương pháp Soxhlet thông qua phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM). Mục tiêu của nghiên cứu là xác định giá trị tối ưu của hiệu suất thu hồi, hàm lượng polyphenol (TPC) và flavonoid (TFC) tổng số, từ đó tạo tiền đề công nghệ vững chắc để nâng cao giá trị khai thác nguồn phụ phẩm vỏ ấu.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Vỏ ấu được thu gom tại xã Lấp Vò, tỉnh Đồng Tháp. Quả được thu hoạch ở độ chín kỹ thuật (30 ngày sau khi đậu trái), đây là giai đoạn quả đã phát triển tương đối ổn định về kích thước và hình thái. Sau đó, mẫu được đóng gói trong bao bì sơ cấp bằng túi polypropylene (PP) và bao bì thứ cấp bằng thùng carton ba lớp, rồi được vận chuyển đến phòng thí nghiệm trong thời gian không quá 24 giờ. Vỏ ấu được rửa sạch bằng nước thủy cục, loại bỏ tạp chất, để ráo và sấy khô ở 50±2ºC trong thiết bị sấy đối lưu (UM500, Memmert, Đức) đến độ ẩm dưới 10% [14]. Cuối cùng, mẫu được nghiền bằng thiết bị chuyên dụng (SHD 5112, Sunhouse, Trung Quốc) và rây qua lưới 1 mm để thu bột đồng nhất; bột được bảo quản ở nhiệt độ -20±2ºC để chuẩn bị cho quá trình trích ly tiếp theo.

2.2. Quy trình trích ly cao chiết từ vỏ củ ấu

Quá trình trích ly được thực hiện bằng hệ thống soxhlet và được gia nhiệt (DH.WHM12015, DaiHan, Hàn Quốc). Bột vỏ ấu được chứa trong túi lọc vải không dệt và đặt trong buồng chiết. Tiến hành trích ly với 700 ml dung môi ethanol - nước, quá trình hóa hơi và ngưng tụ sẽ thẩm thấu liên tục qua lớp nguyên liệu. Các điều kiện trích ly được khảo sát theo thiết kế thí nghiệm bao gồm: Khối lượng nguyên liệu (50-100 g), nồng độ ethanol (70-90%) và thời gian trích ly (50-150 phút). Sau đó, dịch chiết được lọc để loại bỏ cặn không hòa tan, sau đó được cô quay chân không (VR 300, Yamato, Nhật Bản) nhằm loại bỏ phần lớn dung môi ethanol - nước. Dịch chiết cô đặc tiếp tục được cấp đông ở nhiệt độ -20±2°C trong 24 giờ và sấy thăng hoa (ModulyoD Freeze Dryer, Thermo, Hoa Kỳ) trong 72 giờ để thu nhận cao chiết dạng bột có độ ẩm dưới 4%. Cao chiết được bảo quản trong lọ thủy tinh màu hổ phách, đậy kín và lưu giữ ở 4°C cho đến khi tiến hành các phân tích tiếp theo.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Thiết kế hỗn hợp trung tâm (Central Composite Design - CCD) là một công cụ tối ưu hóa của RSM để khảo sát tác động của các biến độc lập đến hiệu suất và hợp chất sinh học của cao chiết vỏ củ ấu. Theo đó, 3 biến trích ly được xem xét bao gồm: Khối lượng nguyên liệu, thời gian trích ly và nồng độ ethanol đã được khảo sát bằng thí nghiệm đơn (số liệu không được trình bày) nhằm xác định phạm vi và giá trị trung tâm của các nhân tố (Bảng 1).

Bảng 1. Mức độ và giá trị tương ứng của các biến độc lập

Biến độc lập	Giá trị của các cấp độ mã hóa				
	-α	-1	0	1	+α
A: Khối lượng nguyên liệu (g)	32,9552	50	75	100	117,045
B: Thời gian trích ly (phút)	15,9104	50	100	150	184,09
C: Nồng độ ethanol (%)	63,1821	70	80	90	96,8179
Đáp ứng					
Y_1: Hiệu suất thu hồi (%)					
Y_2: Hàm lượng polyphenol tổng (TPC, mg GAE/g)					
Y_3: Hàm lượng flavonoid tổng (TFC, mg QE/g)					

Phần mềm Design Expert 13.0.5 được sử dụng để thiết lập mô hình toán học. Với tổng số 20 nghiệm thức, trong đó có 6 nghiệm thức trung tâm (Bảng 2).

Bảng 2. Bố trí thí nghiệm theo mô hình CCD và kết quả các hàm mục tiêu

Nghiệm thức	Nhân tố			Đáp ứng		
	A (g)	B (phút)	C (%)	Y_1 (%)	Y_2 (µg GAE/mg)	Y_3 (µg QE/mg)
1	75	15,9104	80	9,27	432,91±15,05	85,70±0,14
2	100	50	90	8,35	542,70±4,2	109,59±0,52
3	117,045	100	80	5,39	585,10±2,91	89,79±0,87
4	75	100	96,8179	7,83	386,42±9,69	57,73±0,89
5	75	100	80	18,96	552,38±8,43	118,75±0,00
6	100	150	70	4,58	474,46±4,66	41,27±0,14
7	50	150	70	10,70	297,51±13,42	68,25±0,57
8	75	100	80	18,99	551,74±22,41	127,29±0,14
9	100	50	70	6,93	512,78±11,34	75,68±2,11
10	75	100	80	18,67	574,13±13,61	119,25±3,78
11	50	50	90	7,47	275,99±3,73	35,20±0,43
12	75	100	80	19,16	594,58±12,92	128,65±0,14
13	75	100	63,182	8,26	445,18±23,68	92,63±0,14
14	50	50	70	11,78	321,41±5,81	67,63±0,52
15	75	100	80	19,91	583,38±31,88	124,57±0,62
16	50	150	90	9,21	257,26±15,41	26,41±0,14
17	100	150	90	5,25	355,20±6,27	33,84±0,14
18	75	184,09	80	7,24	409,02±30,77	37,06±0,38
19	75	100	80	19,91	601,46±8,18	119,62±0,94
20	32,9552	100	80	9,38	195,48±6,8	48,32±0,38

Ghi chú: Số liệu là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại.

2.4. Phương pháp phân tích

2.4.1. Xác định hiệu suất thu hồi cao chiết

Hiệu suất thu hồi cao chiết được xác định theo nghiên cứu của Huỳnh Thị Phương Thảo và cs (2024) [15]:

$$H\ (\%) = \frac{\text{Khối lượng cao chiết}}{\text{Khối lượng mẫu khô}} \times 100 \qquad (1)$$

2.4.2. Xác định hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số trong cao chiết vỏ ấu

TPC được xác định theo phương pháp của Huỳnh Thị Phương Thảo và cs (2024) [15]. Theo đó, 10 mg cao chiết được pha với CH_3OH 90% để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 100 µg/mL. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng gồm 500 µL dung dịch cao chiết được trộn với 500 µL nước cất và 500 µL thuốc thử Folin-Ciocalteu 1 N và được lắc đều đến khi đồng nhất. Sau đó, thêm 500 µL Na_2CO_3 7,5% và ủ 30 phút ở 40ºC trong bể điều nhiệt. Tiếp đó, hỗn hợp được đo độ hấp thu quang phổ ở bước sóng 765 nm bằng máy đo quang phổ (BioTek Epoch Microplate Spectrophotometer, Agilent, Hoa Kỳ). Mẫu trắng là mẫu sử dụng tất cả các thuốc thử, ngoại trừ dung dịch chuẩn và dịch chiết thực vật,

được thay bằng CH_3OH 90% với thể tích tương ứng. Đường chuẩn axit gallic được xây dựng bằng cách sử dụng các dung dịch pha loãng trong dãy nồng độ 0-100 trong CH_3OH 90% từ dung dịch gốc acid gallic 100 µg/mL.

TFC được xác định bằng phương pháp so màu $AlCl_3$ của Huỳnh Thị Phương Thảo và cs (2024) [15]. Theo đó, 10 mg cao chiết được pha với CH_3OH 90% để được dung dịch có nồng độ khoảng 100 µg/mL. Hỗn hợp phản ứng gồm 400 µL dung dịch cao chiết pha trong 400 µL nước cất rồi lắc đều. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được thêm vào 80 µL $NaNO_2$ 5%, để yên 5 phút và tiếp tục thêm 80 µL $AlCl_3$ 10%, lắc đều. Hỗn hợp phản ứng sau khi ủ trong 6 phút ở nhiệt độ phòng, tiếp tục thêm 800 µL NaOH 1 M và 240 µL nước cất, tiến hành đo độ hấp thu quang phổ ở bước sóng 510 nm bằng thiết bị đo quang phổ (BioTek Epoch Microplate Spectrophotometer, Agilent, Hoa Kỳ). Mẫu trắng là mẫu sử dụng tất cả các thuốc thử, ngoại trừ dung dịch chuẩn và dịch chiết thực vật, được thay bằng CH_3OH 90% với thể tích tương ứng. Đường chuẩn quercetin được xây dựng bằng cách sử dụng các dung dịch pha loãng trong dãy nồng độ 0-100 µg/mL trong CH_3OH 90% từ dung dịch gốc quercetin 100 µg/mL.

Dựa trên các giá trị độ hấp thụ đo được, TPC và TFC được tính toán bằng cách sử dụng các phương trình đường chuẩn theo công thức:

$$P = \frac{C_x \times V \times DF}{m} \quad (2)$$

Trong đó: P là TPC (µg GAE/mg) hoặc TFC (µg QE/mg); C_x là nồng độ acid gallic/quercetin xác định từ đường chuẩn (µg/mL); n là độ pha loãng của mẫu thử; V là thể tích dịch chiết; m là khối lượng mẫu (g).

2.5. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Phần mềm Design Expert (phiên bản 13.0.5, Stat-Ease, Inc., Hoa Kỳ) được sử dụng để thiết lập mô hình toán học mô tả sự thay đổi của các hàm mục tiêu theo giá trị thực tế của các nhân tố khảo sát. Dữ liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm thống kê Statgraphics Centurion (phiên bản 19.1, Statgraphics Technologies, Inc., Virginia). Sự khác biệt giữa các giá trị thực tế và giá trị dự đoán trung bình được đánh giá bằng kiểm định t ở mức ý nghĩa 5%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tối ưu hóa đều kiện trích ly đến hiệu suất thu hồi cao chiết

3.1.1. Mô hình toán học và ANOVA

Hiệu suất thu hồi cao chiết từ nguyên liệu thực vật phụ thuộc vào nhiều yếu tố như khối lượng nguyên liệu, thời gian trích ly và điều kiện trích ly. Kết quả ANOVA (Bảng 3) cho thấy, mô hình bậc hai có ý nghĩa thống kê với p-value = 0,0001 (p<0,0001), sự không phù hợp không có ý nghĩa (p=0,0833>0,05) và hệ số R hiệu chỉnh (Adjusted R^2)=97,88%, chứng tỏ mô hình có thể dự đoán chính xác hiệu suất thu hồi ở các điều kiện khác nhau [13].

$Y_1 = 19,24 - 1,52A - 0,6007B - 0,7637AB + 0,9862AC - 4,03A^2 - 3,62B^2 - 3,79C^2$ (3)

Trong đó : Y_1 là hiệu suất thu hồi; A, B và C là khối lượng nguyên liệu, thời gian trích ly và nồng độ ethanol, tương ứng.

Bảng 3. Các tham số của phương trình hồi quy mô tả sự thay đổi của các hàm mục tiêu

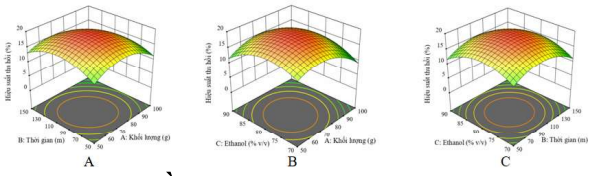
Nguồn	df	F-value	p-value
Mô hình	9	98,48	<0,0001**
A	1	47,80	<0,0001**
B	1	7,46	0,0211*
C	1	2,18	0,1706
AB	1	7,07	0,024*
AC	1	11,79	0,0064*
BC	1	0,8113	0,3889
A^2	1	353,80	<0,0001**
B^2	1	301,81	<0,0001**
C^2	1	313,98	<0,0001**
Sai số dư	10		
Độ không phù hợp	5	3,83	0,0833
Sai số thuần	5		
Tổng hiệu chỉnh	19		

*Ghi chú: R^2 = 0,9888, hệ số R^2 hiệu chỉnh = 0,9788, hệ số biến thiên = 26,7027% và tỷ số tín hiệu trên nhiễu = 7,15. *: Khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05); **: Khác biệt rất có ý nghĩa thống kê (p<0,0001).*

Khối lượng nguyên liệu (A) và thời gian trích ly (B) ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi với giá trị p-value lần lượt là <0,0001 và 0,0211; nguyên nhân có thể do sự thay đổi diện tích tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi, đồng thời quá trình khuếch tán các hợp chất hoạt tính sinh học phụ thuộc vào khả năng hòa tan của dung môi và thời gian tiếp xúc trong quá trình trích ly [9]. Kết

quả nghiên cứu của Cacace và Mazza (2003) [16] ghi nhận tương tự, tỷ lệ dung môi/chất rắn ảnh hưởng đáng kể đến quá trình trích ly. Trong đó, nồng độ ethanol ảnh hưởng không đáng kể đến hiệu suất thu hồi cao chiết (p>0,05). Tuy nhiên, nghiên cứu của Alara và cs (2018) [10] ghi nhận rằng, nồng độ ethanol ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi phenolic từ lá cây mật gấu (*Vernonia amygdalina*). Bên cạnh đó, sự tương tác giữa AB và AC ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi cao chiết (p = 0,024 và 0,0064, tương ứng). Các hệ số bậc hai (A^2, B^2, C^2) cho thấy mối quan hệ phi tuyến giữa các nhân tố và hiệu suất thu hồi (p<0,0001). Đồng thời, các hệ số bậc hai của A^2, B^2 và C^2 đều âm (phương trình 3), cho thấy bề mặt đáp ứng có dạng parabol úp và tồn tại một vùng tối ưu thay vì xu hướng tăng tuyến tính [17].

3.1.2. Ảnh hưởng điều kiện trích ly đến hiệu suất thu hồi cao chiết



Hình 1. Bề mặt đáp ứng cho ảnh hưởng của điều kiện trích ly đến hiệu suất thu nhận cao chiết

Bên cạnh đó, hệ số của phương trình cho thấy xu hướng ảnh hưởng của nhân tố khảo sát đến đáp ứng. Theo đó, phương trình (3) cho thấy, cả A và B đều tác động âm đến hiệu suất thu hồi cao chiết; nghĩa là khi tăng A hoặc B vượt quá vùng tối ưu, hiệu suất thu hồi cao chiết có xu hướng giảm (Hình 1). Tuy nhiên, hệ số tương tác AB mang giá trị âm (-0,7637), cho thấy sự kết hợp giữa A và B làm giảm đáp ứng. Theo đó, hình 1A cho thấy hiệu suất thu hồi cao chiết tăng dần khi đồng thời tăng khối lượng nguyên liệu từ 50 g đến khoảng 80 g và thời gian trích ly từ 50 phút đến khoảng 100 phút, sau đó giảm khi hai yếu tố này tiếp tục tăng. Hiện tượng này là do ở giai đoạn đầu, sự gia tăng khối lượng nguyên liệu và thời gian trích ly làm tăng khả năng tiếp xúc giữa dung môi và nguyên liệu, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình khuếch tán các hợp chất sinh học vào dung môi. Tuy nhiên, khi thời gian trích ly kéo dài và lượng nguyên liệu tiếp tục tăng, tốc độ khuếch tán giảm dần do hệ thống tiến gần đến trạng thái cân bằng, đồng thời một số hợp chất phenolic nhạy nhiệt có thể bị phân hủy hoặc oxy hóa, dẫn đến hiệu suất thu hồi giảm [18]. Tương tự, kết quả nghiên cứu của Sulaiman và cs (2017) [19] ghi nhận, hiệu suất thu hồi phenolic từ cây bìm bịp (*Clinacanthus nutans*) giảm khi thời gian xử lý được kéo dài trong điều kiện gia nhiệt.

Ngược lại, phương trình (3) cho thấy sự tương tác AC có hệ số dương (+0,9862), phản ánh tác động hiệp đồng giữa hai yếu tố này làm tăng hiệu suất thu hồi. Cụ thể, hình 1B cho thấy hiệu suất thu hồi tăng khi nồng độ ethanol tăng từ khoảng 70% đến 80-85% đồng thời khối lượng nguyên liệu tăng từ 50 g đến khoảng 80 g. Tuy nhiên, tồn tại điểm cực đại nên khi tiếp tục tăng nồng độ ethanol và khối lượng nguyên liệu, hiệu suất thu hồi có xu hướng giảm. Điều này cho thấy sự tồn tại của nồng độ ethanol tối ưu, tại đó độ phân cực của dung môi phù hợp để hòa tan các hợp chất phenolic. Tương tự, kết quả nghiên cứu của Spigno và cs (2007) [20] ghi nhận, hiệu suất thu hồi giảm khi nồng độ ethanol tăng vượt giá trị tối ưu. Hình 1C cho thấy, các đường đồng mức có dạng gần tròn và bề mặt đáp ứng tương đối đối xứng, chứng tỏ sự tương tác giữa thời gian trích ly và nồng độ ethanol không có ý nghĩa thống kê đối với hiệu suất thu hồi, phù hợp với kết quả phân tích ANOVA (Bảng 3). Các hệ số bậc hai A^2 (-4,03), B^2 (-3,62) và C^2 (-3,79) đều âm, phù hợp với bề mặt đáp ứng dạng lõm và sự xuất hiện của điểm cực đại (Hình 1). Điều này cho thấy, trong khoảng khảo sát, hai yếu tố này chủ yếu ảnh hưởng độc lập đến hiệu suất thu hồi. Theo định luật khuếch tán thứ hai của Fick, tốc độ khuếch tán chất tan giảm dần khi chênh lệch nồng độ giữa nguyên liệu và dung môi giảm và hệ thống tiến tới trạng thái cân bằng sau một khoảng thời gian nhất định [21]. Việc kéo dài thời gian trích ly sau khi đạt trạng thái cân bằng không làm tăng đáng kể hiệu suất thu hồi.

3.2. Tối ưu hóa điều kiện trích ly đến TPC trong cao chiết vỏ ấu

3.2.1. Mô hình toán học và ANOVA

Kết quả ANOVA cho thấy, mô hình bậc hai phù hợp để dự đoán TPC, với giá trị p-value và mức độ không phù hợp của mô hình lần lượt là <0,0001 và 0,0823 (Bảng 4). Đồng thời, giá trị hệ số R hiệu chỉnh (Adjusted R^2) = 0,9358 gần bằng giá trị R^2 = 0,9662, cho thấy mô hình giải thích tốt sự biến thiên của đáp ứng. Kết quả này tương

tự kết quả nghiên cứu của Sulaiman và cs (2017) [19], khi tối ưu hóa quá trình trích ly phenolic từ cây bìm bịp (*Clinacanthus nutans*) đạt R^2 = 0,9612 và p-value <0,0001. Các yếu tố A, B và C đều ảnh hưởng đáng kể đến TPC (p<0,05), trong đó khối lượng nguyên liệu ảnh hưởng rất đáng kể (p<0,0001) với F = 132,13 (Bảng 4). Nghiên cứu của Pinelo và cs (2005) [22] ghi nhận, tỷ lệ dung môi/chất rắn ảnh hưởng đáng kể đến khả năng thu hồi polyphenol từ bã nho. Ngoài ra, nghiên cứu của Dai và Mumper (2010) [23] cho thấy, ethanol ở nồng độ 50-80% thường cho hiệu quả thu hồi polyphenolic cao hơn ethanol tuyệt đối do khả năng hòa tan tốt hơn các hợp chất phân cực và bán phân cực. Tuy nhiên, sự tương tác giữa các biến khảo sát ảnh hưởng không đáng kể đến TPC của cao chiết (p-value của AB, AC và BC > 0,05). Kết quả nghiên cứu của Liyana-Pathirana và Shahidi (2005) [24] cho thấy, khi tối ưu hóa quá trình trích ly phenolic từ lúa mì, các yếu tố riêng lẻ ảnh hưởng đáng kể đến TPC, trong khi tương tác giữa một số cặp biến không có ý nghĩa thống kê (p>0,05). Trong đó, mô hình vẫn tồn tại mối quan hệ phi tuyến tính và vùng giá trị tối ưu cho quá trình trích ly TPC với giá trị p-value của các hệ số bậc hai (A^2, B^2 và C^2) đều nhỏ hơn 0,0001 (Bảng 4 và phương trình (4)). Điều này cho thấy tồn tại một vùng tối ưu thay vì xu hướng tăng tuyến tính [17].

$$Y_2 = 576,9 + 101,65A - 22,6B - 22,9C - 69,81A^2 - 58,96B^2 - 60,79C^2 \quad (4)$$

Trong đó: Y_2 là TPC; A, B và C là khối lượng nguyên liệu, thời gian trích ly và nồng độ ethanol, tương ứng.

Bảng 4. Các tham số của phương trình hồi quy mô tả sự thay đổi của các hàm mục tiêu

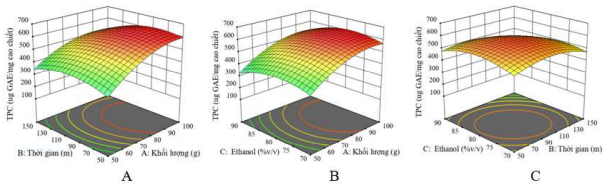
Nguồn	TPC			TFC		
	df	F-value	p-value	df	F-value	p-value
Mô hình	9	31,78	<0,0001**	9	47,65	<0,0001**
A	1	132,13	<0,0001**	1	23,05	0,0007**
B	1	6,53	0,0286*	1	52,47	<0,0001**
C	1	5,14	0,0468*	1	14,86	0,0032*
AB	1	3,93	0,0756	1	23,26	0,0007**
AC	1	0,0016	0,9691	1	22,70	0,0008**
BC	1	2,43	0,1503	1	5,76	0,0373*
A^2	1	65,76	<0,0001**	1	111,22	<0,0001**
B^2	1	46,92	<0,0001**	1	142,18	<0,0001**
C^2	1	49,87	<0,0001**	1	89,23	<0,0001**
Sai số dư	10			10		
Độ không phù hợp	5	3,86	0,0823	5	4,80	0,0551
Sai số thuần	5			5		
Tổng hiệu chỉnh	19			19		

*Ghi chú: Với TPC (R^2 = 0,9662, hệ số R^2 hiệu chỉnh = 0,9358, hệ số biến thiên = 7,3036% và tỷ số tín hiệu trên nhiễu = 15,9426) và TFC (R^2 = 0,9772, hệ số R^2 hiệu chỉnh = 0,9567, hệ số biến thiên = 9,3% và tỷ số tín hiệu trên nhiễm = 19,1448). *: Khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05); **: Khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,0001).*

3.2.2. Ảnh hưởng điều kiện trích ly đến TPC

Phương trình hồi quy (4) ghi nhận hệ số A (+101,65) dương, cho thấy việc tăng khối lượng nguyên liệu góp phần làm tăng TPC; trong khi đó, các hệ số B (-22,6) và C (-22,9) âm, TPC có xu hướng giảm khi thời gian trích ly và nồng độ ethanol tăng vượt vùng tối ưu. Hình 2A cho thấy, TPC có xu hướng tăng khi khối lượng nguyên liệu tăng từ 50 g đến khoảng 80 g và thời gian trích ly tăng đến khoảng 100 phút, sau đó giảm khi hai yếu tố tiếp tục tăng. Nguyên nhân, ở giai đoạn đầu quá trình khuếch tán các hợp chất phenolic từ nguyên liệu vào dung môi diễn ra thuận lợi hơn. Tuy nhiên, khi thời gian trích ly kéo dài, một phần các hợp chất phenolic có thể bị oxy hóa hoặc phân hủy dưới tác động của nhiệt, làm giảm hàm lượng TPC. Kết quả này tương tự kết quả nghiên cứu của Dahmoune và cs (2015)

[25], trong đó TPC tăng đến giá trị cực đại rồi giảm khi kéo dài thời gian trích ly.



Hình 2. Bề mặt đáp ứng cho ảnh hưởng của điều kiện trích ly đến TPC

Hình 2B cho thấy, TPC tăng khi nồng độ ethanol tăng đến khoảng 80-85% và khối lượng nguyên liệu tăng đến khoảng 80 g, sau đó giảm khi hai yếu tố tiếp tục tăng [25]. Nguyên nhân là nồng độ ethanol trung bình tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình hòa tan các hợp chất phenolic, trong khi nồng độ ethanol quá cao làm giảm độ phân cực của dung môi, từ đó làm giảm khả năng hòa tan các hợp chất này. Xu hướng này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Pinelo và cs (2005) [22]. Ở hình 2C, TPC chỉ thay đổi nhẹ khi đồng thời thay đổi thời gian trích ly và nồng độ ethanol. Theo định luật khuếch tán thứ hai của Fick, tốc độ khuếch tán chất tan giảm dần khi hệ thống tiến đến trạng thái cân bằng, vì vậy việc kéo dài thời gian trích ly không làm tăng đáng kể lượng phenolic thu được [21]. Kết quả phân tích ANOVA (Bảng 4) cho thấy, các tương tác giữa khối lượng nguyên liệu và thời gian trích ly (AB), khối lượng nguyên liệu và nồng độ ethanol (AC), cũng như thời gian trích ly và nồng độ ethanol (BC) đều không có ý nghĩa thống kê (p>0,05). Điều này cho thấy, sự thay đổi của TPC chủ yếu chịu ảnh hưởng của từng yếu tố riêng lẻ hơn là sự tương tác giữa các yếu tố khảo sát.

3.3. Tối ưu hóa điều kiện trích ly đến TFC trong cao chiết vỏ ấu

3.3.1. Mô hình toán học và ANOVA

Kết quả ANOVA cho thấy, mô hình bậc hai có ý nghĩa thống kê với p-value <0,0001, sự không phù hợp không có ý nghĩa (p = 0,1003 > 0,05) và hệ số R^2 hiệu chỉnh = 96,79%, cho thấy mô hình có thể dự đoán chính xác TFC ở các điều kiện khác nhau [13]. Bảng 4 cho thấy, khối lượng nguyên liệu, thời gian trích ly và nồng độ ethanol đều ảnh hưởng đáng kể đến TFC với giá trị p-value <0,0001. Tuy nhiên, B là nhân tố tác động lớn nhất đến TFC (F-value = 52,47). Giá trị F-value của nhân tố càng lớn thì nhân tố đó quan trọng nhất [26]. Bên cạnh đó, sự tương tác giữa AB, AC và BC cũng ảnh hưởng đáng kể đến TFC (p-value = 0,0007, p-value <0,0008 và p-value = 0,0373, tương ứng). Các hệ số bậc hai (A^2, B^2, C^2) cho thấy mối quan hệ phi tuyến giữa các nhân tố và TFC (p<0,0001). Tương tự như TPC, TFC cũng tồn tại một vùng tối ưu thay vì xu hướng tăng tuyến tính [17]. Hơn nữa, các hệ số bậc hai A^2 (-20,77), B^2 (-23,48) và C^2 (-18,60) đều âm, cho thấy dạng bề mặt đáp ứng lõm và sự xuất hiện của điểm cực đại (Hình 3).

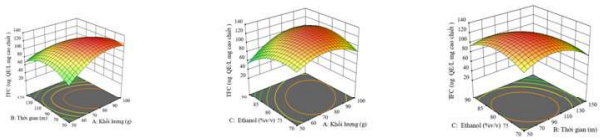
$$Y_3 = 123,28 + 9,71A - 14,65B - 7,8C - 12,75AB + 12,59AC - 6,34BC - 20,77A^2 - 23,48B^2 - 18,6C^2 \quad (5)$$

Trong đó: Y_3 là TFC và A, B và C là khối lượng nguyên liệu, thời gian trích ly và nồng độ ethanol, tương ứng.

3.3.2. Ảnh hưởng điều kiện trích ly đến TFC

Tương tự TPC, phương trình hồi quy (5) có hệ số A (+9,71) dương, cho thấy việc tăng khối lượng nguyên liệu góp phần làm tăng TFC; trong khi, các hệ số B (-14,65) và C (-7,80) âm, TFC có xu hướng giảm khi thời gian trích ly và nồng độ ethanol tăng vượt vùng tối ưu. Hơn nữa, các hệ số tương tác AB (-12,75) và BC (-6,34) âm, phản ánh sự kết hợp giữa các yếu tố này làm giảm TFC và ngược lại ở AC (+12,59). Theo đó, hình 3A cho thấy, TFC tăng từ khoảng 60 µg QE/mg lên gần 120 µg QE/mg cao chiết khi đồng thời tăng khối lượng nguyên liệu từ 50 g đến khoảng 80 g và thời gian trích ly từ 50 phút đến khoảng 100-110 phút. Tuy nhiên, khi hai yếu tố này tiếp tục tăng, TFC giảm có xu hướng giảm (70-80 µg QE/mg cao chiết). Điều này cho thấy, việc tăng khối lượng nguyên liệu và thời gian trích ly trong giai đoạn đầu giúp tăng khả năng khuếch tán, tuy nhiên khi thời gian gia nhiệt kéo dài dẫn đến một phần hợp chất bị oxy hóa hoặc phân hủy [26]. Hình 3B cho thấy, TFC tăng từ khoảng 50 µg QE/mg lên khoảng 125 µg QE/mg cao chiết khi nồng độ ethanol tăng từ 70% đến khoảng 80-82% và khối lượng nguyên liệu tăng từ 50 g đến khoảng 80 g. Tuy nhiên, khi nồng độ ethanol và khối lượng nguyên liệu tiếp tục tăng, TFC giảm xuống còn khoảng 80-90 µg QE/mg cao chiết. Điều này phản ánh sự tồn tại của nồng độ ethanol tối ưu, tại đó độ phân cực của dung môi phù hợp để hòa tan các hợp chất flavonoid. Khi nồng độ ethanol quá cao, khả năng hòa tan các hợp chất flavonoid giảm, dẫn đến TFC giảm. Kết quả này

tương đồng với kết quả nghiên cứu của Alara và cs (2018) [10].



A B C

Hình 3. Bề mặt đáp ứng cho ảnh hưởng của điều kiện trích ly đến TFC

Hình 3C cho thấy, TFC đạt giá trị cao nhất, khoảng 115-120 µg QE/mg cao chiết, tại thời gian trích ly khoảng 90-110 phút và nồng độ ethanol khoảng 75-80%. Khi thời gian trích ly kéo dài đến 130-150 phút kết hợp với nồng độ ethanol trên 85%, TFC giảm xuống khoảng 70-80 µg QE/mg cao chiết. Điều này có thể do thời gian gia nhiệt kéo dài làm một phần flavonoid bị phân hủy hoặc oxy hóa [27]. Kết quả phân tích ANOVA (Bảng 4) cũng xác nhận rằng, các tương tác AB, AC và BC đều có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$), chứng tỏ TFC chịu ảnh hưởng không chỉ bởi từng yếu tố riêng lẻ mà còn bởi sự tương tác giữa các yếu tố khảo sát.

3.4. Tối ưu hóa đa mục tiêu

Kết quả dự đoán từ các phương trình (3), (4), (5) cho thấy, điều kiện để hiệu suất thu nhận, TPC và TFC của cao chiết đạt cực đại khi vỏ ấu được trích ly ở 80,27 g trong 88,83 phút, với nồng độ ethanol 79,27% (Bảng 5). Tại đó, giá trị Y_1, Y_2 và Y_3 dự đoán lần lượt đạt 18,72%, 599,2 µg GAE/mg và 127,28 µg QE/mg. Khi áp dụng trong điều kiện thực tế (A = 80,3 g, B = 88,8 phút và C = 79,3%), kết quả cho thấy các đáp ứng Y_1, Y_2 và Y_3 lần lượt đạt 19,2±0,51%, 606,54±9,41 µg GAE/mg và 129,01±0,76 µg QE/mg, tương đồng với giá trị dự đoán của mô hình và được chứng minh thông qua kiểm định t-test ($p>0,05$). Kết quả này cho thấy, quá trình tối ưu hóa giúp nâng cao hiệu suất thu nhận và hàm lượng hợp chất có hoạt tính sinh học so với các nghiên cứu sử dụng điều kiện trích ly thông thường không tối ưu. Cụ thể, nghiên cứu của Alara và cs (2018) [10], khi trích ly lá cây mật gấu (*Vernonia amygdalina*) bằng phương pháp soxhlet thông thường chỉ ghi nhận TPC đạt khoảng 41,82 mg GAE/g và TFC đạt 7,31 mg QE/g trong điều kiện ethanol thích hợp. Trong đó, giá trị TPC và TFC cao hơn, cho thấy việc ứng dụng mô hình bậc hai trong RSM có thể cải thiện đáng kể hiệu quả trích ly và khả năng dự đoán chính xác các đáp ứng của quá trình.

Bảng 5. Giá trị dự đoán và thực tế của các mục tiêu ở điều kiện tối ưu

Mục tiêu	Giá trị dự đoán (μ_1)	Giá trị thực tế (μ_2)	Giá trị p
Y1 (%)	18,72	19,20±0,51	0,24
Y2 (µg GAE/mg)	599,2	606,54±9,41	0,31
Y3 (µg QE/mg)	127,28	129,01±0,76	0,06

Ghi chú: $H_o = \mu_1 - \mu_2 = 0$; $H = \mu_1 - \mu_2 \neq 0$; giá trị p được kiểm định bằng kiểm định t ($p>0,05$).

4. KẾT LUẬN

Vỏ ấu là nguồn nguyên liệu tự nhiên giàu hợp chất sinh học, có tiềm năng ứng dụng. Nghiên cứu cho thấy, quá trình trích ly phụ thuộc vào nhiều yếu tố như khối lượng nguyên liệu, thời gian trích ly và nồng độ dung môi. Các yếu tố này ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng khuếch tán, hòa tan và thu nhận các hợp chất hoạt tính sinh học. Quá trình trích ly cao chiết bằng phương pháp soxhlet kết hợp phân tích tối ưu hóa đã xây dựng được mô hình hồi quy bậc hai có ý nghĩa thống kê cao và phù hợp với dữ liệu thực nghiệm. Vỏ ấu được trích ly ở 80,3 g nguyên liệu trong dung môi ethanol ở nồng độ 79,3% và được trích ly trong 88,8 phút, đạt hiệu suất thu hồi cao chiết 19,20%, đồng thời TPC và TFC trong cao chiết duy trì ở mức cao (606,54 mg GAE/g và 129,01 mg QE/g). Việc tối ưu hóa đồng thời các yếu tố đã góp phần nâng cao khả năng thu nhận các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa từ nguồn phụ phẩm nông nghiệp này.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Bộ Giáo dục và Đào tạo với mã số đề tài B2026-TCT-07.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Büttner, R. (2001). Mansfeld's encyclopedia of agricultural and horticultural crops: (Except ornamentals) (Vol. 1). Springer Science & Business Media.

[2]. Alfasane, M. A., Khondker, M. & Rahman, M. M. (2011). Biochemical composition of the fruits of water chestnut (*Trapa bispinosa*

Roxb.). *Dhaka University Journal of Biological Sciences, 20*(1), 95-98.

[3]. Adkar, P., Dongare, A., Ambavade, S. & Bhaskar, V. H. (2014). *Trapa bispinosa* Roxb.: A review on nutritional and pharmacological aspects. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences, 1,* 959830.

[4]. Zeng, F., Chen, W., He, P., Zhan, Q., Wang, Q., Wu, H. & Zhang, M. (2020). Structural characterization of polysaccharides with potential antioxidant and immunomodulatory activities from Chinese water chestnut peels. *Carbohydrate Polymers, 246*, 116551.

[5]. Chen, Y. C. (2017). Evaluation of greenhouse gas emissions from waste management approaches in the islands. *Waste Management & Research, 35*(7), 691-699.

[6]. Cravotto, C., Grillo, G., Binello, A., Gallina, L., Olivares-Vicente, M., Herranz-López, M., Micol, V., Barrajón-Catalán, E. & Cravotto, G. (2022). Bioactive antioxidant compounds from chestnut peels through semi-industrial subcritical water extraction. *Antioxidants, 11*(5), 988.

[7]. Iwaoka, Y., Suzuki, S., Kato, N., Hayakawa, C., Kawabe, S., Ganeko, N., Uemura, T. & Ito, H. (2021). Characterization and identification of bioactive polyphenols in the *Trapa bispinosa* Roxb. Pericarp Extract. *Molecules, 26*(19), 5802.

[8]. Wang, L., Yin, D., Fan, Y., Min, T., Yi, Y. & Wang, H. (2022). Molecular mechanism of the anti-gastric cancer activity of 1, 2, 3, 6-tetra-O-galloyl-β-D-glucose isolated from *Trapa bispinosa* Roxb. shell *in vitro*. *Plos one, 17*(6), e0269013.

[9]. Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N. & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, *117*(4), 426-436.

[10]. Alara, O. R., Abdurahman, N. H. & Olalere, O. A. (2018). Optimization of microwave-assisted extraction of flavonoids and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using response surface methodology. *Food and Bioproducts processing*, *107*, 36-48.

[11]. Özcan, M. M., Al-Juhaimi, F. Y., Ahmed, I. A. M., Osman, M. A. & Gassem, M. A. (2019). Effect of soxhlet and cold press extractions on the physico-chemical characteristics of roasted and non-roasted chia seed oils. *Journal of Food Measurement and Characterization, 13*(1), 648-655.

[12]. Alara, O. R., Abdurahman, N. H. & Ukaegbu, C. I. (2018). Soxhlet extraction of phenolic compounds from *Vernonia cinerea* leaves and its antioxidant activity. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic plants*, *11*, 12-17.

[13]. Myers, R. H. & Montgomery, D. C. (1996). Response Surface Methodology. *IIE Transactions,* 28(12), 1031 - 1032.

[14]. Ramires, H. C., Platt, G. M., de Sousa, M. H. & de Moura, N. F. (2026). Influence of drying on the total phenolic compounds of Juçara Pulp (*Euterpe edulis*). *Processes, 14*(6), 937.

[15]. Huỳnh Thị Phương Thảo, Hà Thanh Toàn, Trần Chí Nhân, Châu Trùng Dương và Lưu Thái Danh (2024). Ảnh hưởng của phương pháp trích ly đến hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết từ vỏ quả của bốn giống cam. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ* (Chuyên đề Khoa học tự nhiên - Hóa Sinh)*, 60*, 520-529.

[16]. Cacace, J. E. & Mazza, G. (2003). Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol. *Journal of food science, 68*(1), 240-248.

[17]. Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S. & Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta, 76*(5), 965-977.

[18]. Antony, A. & Farid, M. (2022). Effect of temperatures on polyphenols during extraction. *Applied Sciences, 12*(4), 2107.

[19]. Sulaiman, I. S., Basri, M., Fard Masoumi, H. R., Chee, W. J., Ashari, S. E. & Ismail, M. (2017). Effects of temperature, time, and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti-radical activity of *Clinacanthus nutans* Lindau leaves by response surface methodology. *Chemistry Central Journal, 11*(1), 54.

[20]. Spigno, G., Tramelli, L. & De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature

and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of food engineering, 81*(1), 200-208.

[21]. Silva, L. V., Nelson, D. L., Drummond, M. F. B., Dufossé, L. & Glória, M. B. A. (2005). Comparison of hydrodistillation methods for the deodorization of turmeric. *Food Research International, 38*(8-9), 1087-1096.

[22]. Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sineiro, J. & Núñez, M. J. (2005). Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *Journal of Agricultural and Food chemistry, 53*(6), 2111-2117.

[23]. Dai, J. & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules, 15*(10), 7313-7352.

[24]. Liyana-Pathirana, C. & Shahidi, F. (2005). Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food chemistry, 93*(1), 47-56.

[25]. Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H. & Madani, K. (2015). Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. *Food chemistry*, *166*, 585-595.

[26]. Bao, L., Zheng, M., Zhou, Q., Gao, P., Xu, Y. & Jiang, H. (2022). Multi-objective optimization of partition temperature of steel sheet by NSGA-II using response surface methodology. *Case Studies in Thermal Engineering*, *31*, 101818.

[27]. Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž. & Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules, 21*(7), 901.

OPTIMIZATION OF POLYPHENOL AND FLAVONOID EXTRACTION CONDITIONS FROM WATER CALTROP PEEL USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

Cao Thuy Lieu[1, 2], Duong Hien Buu[1], Dao Phuc Hau[1], Le Minh Chien[1, 5], Le Uyen Nhi[1], Luu Thai Danh[3], Do Thi Tuyet Nhung[4], Tran Chi Nhan[1]

[1]*Institute of Biotechnology and Food Technology, Can Tho University*

[2]*Center for Testing of Can Tho city, Health Department of Can Tho city*

[3]*College of Agriculture, Can Tho University*

[4]*Can Tho University of Technology*

[5]*National Authority for Agro - Forestry - Fishery Quality, Processing and Market Development - Center 6*

Abstract

Water caltrop peel is an abundant source of bioactive compounds. However, a large amount of the peel is discarded, resulting in negative environmental impacts. Despite its considerable potential, the Soxhlet extraction conditions for optimizing extraction yield (Y), total phenolic content (TPC), and total flavonoid content (TFC) have not yet been reported for water caltrop cultivars grown in Vietnam. A Central Composite Design (CCD) was employed with three independent variables: Material mass (50-100 g), extraction time (50-150 min) and ethanol concentration (70-90%). RSM analysis revealed that the interactions among material mass, extraction time and ethanol concentration significantly affected the response variables. Simultaneous optimization indicated that the optimal extraction conditions were 88.3 g of material, 88.8% ethanol concentration and an extraction time of 79.3 min, under which the extraction yield, TPC and TFC reached 19.20±0.51%, 606.54±9.41 mg GAE/g and 129.01±0.76 mg QE/g, respectively. These findings contribute to enhancing the value and utilization of water caltrop peel by-product, opening up opportunities for its practical application in the production of natural functional foods and providing a scientific basis for future research.

Keywords: *Response surface methodology, extract, flavonoids, polyphenols, Soxhlet extraction, water caltrop peel.*

Ngày nhận bài: 31/5/2026

Ngày chuyển phản biện: 8/6/2026

Ngày thông qua phản biện: 20/7/2026

Ngày duyệt đăng: 27/7/2026