

CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Ảnh hưởng của thời gian ly trích lên hàm lượng flavonoid, phenolic tổng số và hoạt tính kháng oxy hóa từ cây khổ sâm (*Croton tonkinensis* Gagnep.) và cây ngũ trảo (*Vitex negundo* L.)

Trần Hữu Hậu¹, Trịnh Ngọc Ái^{*2}, Nghị Khắc Nhu², Trần Thị Kim Nhu², Trần Thị Thùy Dương², Huỳnh Hải Long¹ và Lê Thị Phương Thảo¹

¹Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Đại học Trà Vinh, Việt Nam

²Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Trà Vinh, Việt Nam

*Corresponding author:

Trịnh Ngọc Ái - Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Trà Vinh, Việt Nam.

Email: ngocai@tvu.edu.vn

Received: 10/04/2026. Revised: 30/04/2026. Accepted: 14/05/2026. DOI: 10.53901/tjs.2026.v01.issue02.art04

Tóm tắt

Nghiên cứu được thực hiện trên cao chiết ethanol của lá cây Ngũ trảo (*Vitex negundo* L.) và cây Khổ sâm (*Croton tonkinensis* Gagnep.) được trồng tại trại thực nghiệm, Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Trà Vinh. Mục tiêu nghiên cứu là đánh giá ảnh hưởng của thời gian siêu âm lên hàm lượng flavonoid (TFC), phenolic (TPC) và đặc tính kháng oxy hóa thông qua đánh giá chỉ số IC₅₀ (phương pháp DPPH). Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian siêu âm ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến hàm lượng TFC, TPC và hoạt tính DPPH, đồng thời thể hiện sự khác biệt rõ rệt giữa 2 loài thực vật. Ở cây Ngũ trảo, TFC (50 mgQE.g⁻¹), TPC (36,15 mgGAE.g⁻¹) và hoạt tính kháng oxy (IC₅₀ = 1,33 mg.mL⁻¹) cao nhất tại thời gian siêu âm 5 phút. Ngược lại, cây Khổ sâm, hàm lượng TFC (25 mgQE.g⁻¹) và TPC (20,13 mgGAE.g⁻¹) tăng dần theo thời gian siêu âm (15-30 phút), sau đó giảm nhẹ khi tiếp tục gia tăng thời gian. Hoạt tính kháng oxy thấp nhất (IC₅₀ = 1,57 mg.mL⁻¹) khi gia tăng thời gian lên 45 phút. Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa phụ thuộc vào độ bền và đặc điểm cấu trúc của các hợp chất dưới tác động của sóng siêu âm. Nghiên cứu này cung cấp cơ sở khoa học cho việc tối ưu hóa quy trình chiết xuất nhằm nâng cao hiệu suất thu nhận và hoạt tính sinh học của các hợp chất polyphenol từ nguồn nguyên liệu thực vật.

Từ khóa: cây Ngũ trảo; cây Khổ sâm; hàm lượng flavonoid; hàm lượng phenolic; hoạt tính DPPH.

Giới thiệu

Việt Nam nằm trong vùng có khí hậu nhiệt đới gió mùa với thảm thực vật đa dạng và phong phú với hơn 5.000 loài cây thuộc được dùng trong phòng bệnh và chữa bệnh từ xa xưa [1]. Theo thống kê của Bộ Y tế, nhu cầu sử dụng dược liệu cần khoảng 60.000 - 80.000 tấn/năm phục vụ cho y học cổ truyền, nguyên liệu ngành công nghiệp dược hoặc xuất khẩu. Hiện nay, các sản phẩm như thực phẩm chức năng và dược phẩm có nguồn gốc từ cây dược liệu ngày càng được ứng dụng rộng rãi, góp phần cải thiện chất lượng cuộc sống thông qua hỗ trợ giảm rối loạn chức năng, hạn chế sử dụng kháng sinh tổng hợp và nâng cao tuổi thọ [2]. Các hợp chất thứ cấp, đặc biệt là nhóm phenolic (axit phenolic, flavonoid, tannin, stilbene, anthocyanin), đóng vai trò cốt lõi như những tác nhân quét gốc tự do tự nhiên, giúp ngăn ngừa các bệnh lý mãn tính như ung thư, tiểu đường, tim mạch và các tình trạng thoái hóa [2-5].

Trong số các nguồn dược liệu bản địa, cây Ngũ trảo (*Vitex negundo* L.) và cây Khổ sâm (*Croton tonkinensis* Gagnep.) là hai đối tượng có giá trị dược lý đặc biệt. Ngũ trảo được biết đến với các đặc tính dược lý đa dạng bao gồm hoạt tính giảm đau, chống viêm, chống thấp khớp, chống khối u, diệt côn trùng, kháng khuẩn, và chống oxy hóa. Trong khi đó cây Khổ sâm cho lá là loài đặc hữu của Việt Nam, thường được sử dụng làm thuốc chữa sốt rét, mẩn ngứa, lở loét, đau bụng đi ngoài (ly cấp tính), ăn không tiêu, viêm loét tá tràng, đau dạ dày [6]. Các nghiên cứu trước đây đã xác định thành phần hóa học chính của hai loài này bao gồm flavonoid, lignan, terpenoid, và tinh dầu dễ bay hơi [7, 8]. Quá trình thu hồi các hợp chất có hoạt tính sinh học từ thực vật phụ thuộc lớn vào phương pháp chiết xuất. Trong những năm gần đây, kỹ thuật chiết hỗ trợ siêu âm (Ultrasound-assisted Extraction - UAE) nổi lên như một giải pháp thay thế hiệu quả cho các phương pháp truyền thống nhờ khả năng rút ngắn thời gian và tối ưu hóa hiệu suất [9, 10]. Ly trích có

hỗ trợ siêu âm được xem là kỹ thuật trích ly nhanh và hiệu quả cho tiến trình chiết xuất các chất trong thực vật [11]. Sóng siêu âm làm tăng tỷ lệ khuếch tán để cho phép dung môi thâm nhập nhanh hơn vào tế bào [12]. Nghiên cứu của H. H. Lê và cs. [13] chỉ ra cao chiết toàn phần thu hồi bằng phương pháp ly trích hỗ trợ siêu âm có hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số là cao nhất (hàm lượng TPC là $276,38 \pm 11,88$ mgGAE/g, hàm lượng TFC là $72,53 \pm 6,43$ mgQE/g) với hoạt tính chống oxy hóa là cao nhất (giá trị IC₅₀ là 114,46 μ g/ml) và hoạt tính kháng khuẩn (đường kính vòng kháng khuẩn ở các vi khuẩn *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. typhi* lần lượt là $16,8 \pm 0,5$ mm; $13,5 \pm 0,4$ mm; $13,3 \pm 0,4$ mm) là mạnh nhất so với phương pháp ngâm dầm và phương pháp đun hồi lưu. Ngoài kỹ thuật chiết, các yếu tố khác như loại dung môi, nồng độ dung môi và thời gian chiết cũng đóng vai trò quyết định đến chất lượng dịch chiết [14]. Nghiên cứu của T. P. T. Phan và cs. [15] cho thấy thời gian chiết xuất kéo dài đến 11 giờ làm giảm hàm lượng carotenoid, nhưng không có tác động đến hàm lượng các chất chống oxy hóa của dầu hạt chè. Nhằm góp phần làm giàu dữ liệu khoa học và tối ưu hóa quy trình khai thác dược liệu nội địa, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu khảo sát và so sánh ảnh hưởng của thời gian chiết xuất đến hàm lượng phenolic, flavonoid và hoạt tính kháng oxy hóa (DPPH) từ cây Ngũ trảo và cây Khổ sâm cho lá.

Vật liệu và Phương pháp

Vật liệu

Mẫu lá của Khổ sâm cho lá (*Croton tonkinensis* Gagnep.) và Ngũ trảo (*Vitex negundo* L.) được trồng và thu hoạch tại trại thực nghiệm Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Trà Vinh (Hình 1). Mẫu được xử lý sơ bộ được phơi khô đến độ ẩm không đổi. Sau đó mẫu khi được nghiền mịn, bảo quản trong túi zip để phục vụ cho các nghiên cứu ly trích.



Hình 1: Mẫu dùng trong nghiên cứu: (A) Ngũ trảo; (B) Khổ sâm cho lá.

Phương pháp

Ảnh hưởng của thời gian ly trích lên quá trình ly trích dung dịch

Cần 10 g bột cho vào 50 mL dung môi ethanol (99,7% - VN chemsol). Hỗn hợp sau khi chuẩn bị

được đặt trong hệ thống siêu âm (Branson[®] 5800, Branson Ultrasonics), mẫu được tiến hành đánh siêu âm tại các khoản thời gian khác nhau (5, 15, 30 và 45 phút) ở nhiệt độ 45 °C, công suất siêu âm 160 W, tần số 40 KHz. Mẫu sau khi đánh siêu âm để yên 5 phút, sau đó tiến hành lọc và thu nhận dịch chiết bằng giấy lọc Whatman. Quá trình ly trích được lặp lại 3 lần (Bảng 1). Dung môi được loại bỏ bằng hệ thống cô quay (Wiggins Strike 285) để thu nhận cao. Quá trình cô quay được kiểm soát các yếu tố về nhiệt độ (45 °C), áp suất (200 mbar), số vòng (90 rpm), nhiệt độ bộ phận sinh hàn (15 °C). Mẫu cao chiết được bảo quản trong lọ thủy tinh 10 mL ở 4 °C trước khi tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 1: Ảnh hưởng của thời gian chiết xuất lên quá trình chiết xuất mẫu dược liệu trong dung môi ethanol.

Nghiệm thức	Mẫu dược liệu	Thời gian	Nghiệm thức	Mẫu dược liệu	Thời gian
ET1	lá Khổ sâm	5 phút	ET5	lá Ngũ trảo	5 phút
ET2	lá Khổ sâm	15 phút	ET6	lá Ngũ trảo	15 phút
ET3	lá Khổ sâm	30 phút	ET7	lá Ngũ trảo	30 phút
ET4	lá Khổ sâm	45 phút	ET8	lá Ngũ trảo	45 phút

Xác định hàm lượng flavonoid tổng số (TFC)

Hàm lượng flavonoid được xác định bằng phương pháp quang phổ với thuốc thử Aluminum Chloride (AlCl₃) theo phương pháp của T. V. A. Le và cs. [16].

Chuẩn bị đường chuẩn: Quercetin được sử dụng như chất đối chứng dương, 1 mg quercetin được hòa tan trong 1 mL nước siêu tinh khiết và được pha loãng ở các nồng độ khác nhau (0,18; 0,09; 0,045; 0,0225 và 0,01125 mg.mL⁻¹). Hút 240 μ L dung dịch chuẩn ở mỗi nồng độ vào eppendorf, thêm vào 40 μ L dung dịch NaNO₂ 5%, hỗn hợp dung dịch được ủ trong 6 phút tại nhiệt độ 27 °C. Sau đó thêm thêm 40 μ L dung dịch AlCl₃ 10%, tiếp tục ủ trong 6 phút tại nhiệt độ 27 °C. Tiếp theo thêm 400 μ L NaOH 1M và 280 μ L ethanol 30% và để yên trong 30 phút. Cuối cùng, hỗn hợp dung dịch được đo quang phổ UV-Vis tại bước sóng 510 nm bằng máy đọc đĩa đa năng SpectraMax[®] iD3 (SpectraMax[®] iD3 Multi-Mode Microplate Reader). Sử dụng dữ liệu kết quả đo quang phổ xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính ($y = ax + b$) biểu diễn mối tương quan giữa độ hấp thụ và nồng độ Quercetin. Trục hoành biểu thị dãy nồng độ Quercetin và trục tung biểu thị độ hấp thụ.

Xác định hàm lượng flavonoid tổng số: Phương pháp xác định hàm lượng flavonoid tổng số của dịch chiết được thực hiện tương tự như phương pháp chuẩn bị đường chuẩn Quercetin. Hàm lượng flavonoid tổng số (TFC) được xác định dựa trên đường chuẩn Quercetin và được biểu thị bằng mg đương lượng Quercetin trên 1 gram cao chiết (mgQE/g).

Tổng hàm lượng flavonoids (TFC) được xác định bằng công thức:

$$\text{TFC} = \frac{\text{Nồng độ của Quercetin (mg/mL)}}{\text{Nồng độ của dung dịch cao chiết (g/mL)}}$$

Xác định hàm lượng phenolic tổng số (TPC)

Hàm lượng phenolic tổng số có trong dịch chiết được xác định theo phương pháp thuốc thử Folin - Ciocalteu (FC) [17] có sửa đổi.

Chuẩn bị đường chuẩn Gallic acid: 1 mg chuẩn Gallic acid (Oxford Lab Fine Chem LLP) được hòa tan vào 1 mL methanol 80% và được pha loãng ở các nồng độ khác nhau (0,04; 0,02; 0,01; 0,005 và 0,0025 mg.mL⁻¹). Hút 40 μ L dung dịch chuẩn ở mỗi nồng độ vào eppendorf, thêm 480 μ L dung dịch thuốc thử Folin-Ciocalteu vào hỗn hợp dung dịch, ủ trong 1 phút tại nhiệt độ 40 °C. Sau đó thêm thêm 480 μ L dung dịch Na₂CO₃ 6%, tiếp tục ủ tại nhiệt độ 40 °C trong 15 phút. Cuối cùng, hỗn hợp dung dịch được đo quang phổ UV-Vis tại bước sóng 765 nm bằng máy đọc đĩa đa năng SpectraMax[®] iD3 (SpectraMax[®] iD3 Multi-Mode Microplate Reader). Sử dụng dữ liệu kết quả đo quang phổ xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính ($y = ax + b$) biểu diễn mối tương quan giữa độ hấp thụ và nồng độ Gallic acid. Trục hoành biểu thị dãy nồng độ Gallic acid và trục tung biểu thị độ hấp thụ.

Xác định hàm lượng phenolic tổng số: Phương pháp xác định hàm lượng phenolic tổng số của dịch chiết được thực hiện tương tự như phương pháp chuẩn bị đường chuẩn. Hàm lượng phenolic tổng số (TPC) được xác định dựa trên đường chuẩn Gallic acid và được biểu thị bằng mg đương lượng Gallic acid trên 1 gam cao chiết (mgGAE/g).

Hàm lượng phenolic tổng số (TPC) được xác định bằng công thức:

$$\text{TPC} = \frac{\text{Nồng độ của Gallic acid (mg/mL)}}{\text{Nồng độ của dung dịch cao chiết (g/mL)}}$$

Hoạt tính kháng oxy hóa (DPPH)

Hoạt tính loại bỏ gốc tự do của các dịch chiết được đo dựa trên phương pháp của T. V. A. Le và cs. [16].

Chuẩn bị đường chuẩn Ascorbic acid: 2 mg chuẩn Ascorbic acid (Xilong Scientific) được hòa tan vào 1 mL nước siêu tinh khiết và được pha loãng ở các nồng độ khác nhau (0,025; 0,0125; 0,00625; 0,003125 và 0,0015625 mg.mL⁻¹). Hút 40 μ L dung dịch chuẩn ở mỗi nồng độ vào eppendorf, thêm vào 760 μ L dung dịch DPPH 0,25 mM, hỗn hợp dung dịch được ủ trong 20 phút tại nhiệt độ phòng, trong điều kiện tối. Sau đó, hỗn hợp dung dịch được đo quang phổ UV-VIS tại bước sóng 517 nm bằng máy đọc đĩa đa năng SpectraMax[®] iD3 (SpectraMax[®] iD3 Multi-Mode Microplate Reader).

Xác định hoạt tính kháng oxy hóa (DPPH): Các nồng độ khác nhau của dịch chiết được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch gốc với methanol. Phương pháp xác định hoạt tính kháng oxy hóa (DPPH) của dịch chiết được thực hiện tương tự như phương pháp chuẩn bị đường chuẩn. Độ hấp thụ được đo và vẽ đồ thị theo đường cong hiệu chuẩn của phần trăm ức chế (I%) để xác định IC₅₀ dựa trên mật độ quang học của mẫu đối chứng và dịch chiết. Phần trăm ức chế (I%) được tính theo công thức:

$$I\% = \frac{(\text{OD}_c - \text{OD}_s)}{\text{OD}_c} \times 100$$

Trong đó: OD_c là độ hấp thụ của mẫu đối chứng, OD_s là độ hấp thụ của mẫu cao chiết xuất.

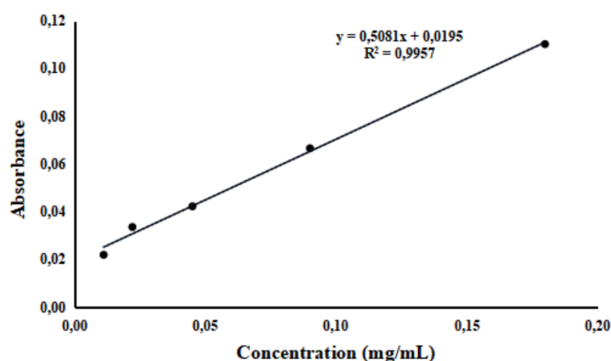
Phân tích dữ liệu

Số liệu thực nghiệm được thu thập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2019, sau đó phân tích phương sai một yếu tố ANOVA bằng phần mềm Stagraphic ở mức ý nghĩa 5%. Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình của 3 lần lặp lại \pm độ lệch chuẩn (Mean \pm SD). Các chữ số khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê.

Kết quả

Ảnh hưởng của thời gian ly trích lên hàm lượng flavonoid tổng số (TFC)

Xây dựng đường chuẩn Quercetin



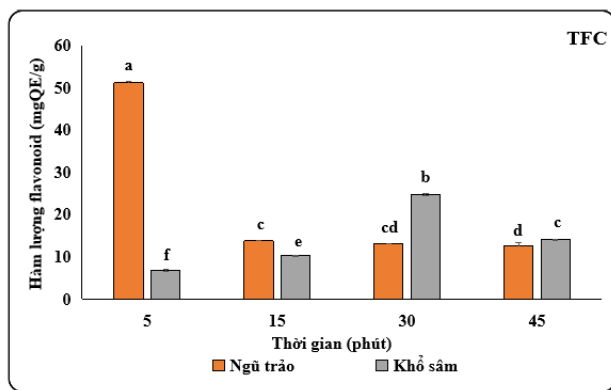
Hình 2: Sơ đồ thể hiện mối tương quan giữa các nồng độ Quercetin khác nhau.

Dung dịch chuẩn Quercetin được pha loãng trong 1 mL nước siêu tinh khiết và được pha loãng ở các nồng độ khác nhau (0,18; 0,09; 0,045; 0,0225 và 0,01125 mg.mL⁻¹). Các nồng độ tạo phức hợp với NaNO₂ 5%, AlCl₃ 10%, NaOH 1M và ethanol 30%. Kết quả tạo phức màu được đo ở bước sóng 510 nm trên máy đo quang phổ UV-Vis bằng máy đọc đĩa đa năng SpectraMax[®] iD3 (SpectraMax[®] iD3 Multi-Mode Microplate Reader) thể hiện ở Hình 2. Kết quả cho thấy giá trị mật độ quang thu được từ các nồng độ Quercetin khác nhau thể hiện mối tương quan cao ($R^2 = 0,9957$) và phương trình hồi quy tuyến tính thu được

từ các nồng độ này là $y = 0,5081x + 0,0195$). Điều này chứng tỏ nồng độ Quercetin phù hợp để định lượng tổng hàm lượng flavonoid trong các mẫu nghiên cứu (Hình 2).

Ảnh hưởng của thời gian ly trích lên hàm lượng flavonoid tổng số (TFC)

Kết quả Hình 3 cho thấy thời gian siêu âm ảnh hưởng đáng kể đến tổng hàm lượng flavonoid của cây Ngũ thảo và cây Khổ sâm cho lá. Sự khác biệt về tổng hàm lượng flavonoid giữa các thời gian ly trích có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Ở cây Ngũ thảo, tổng hàm lượng flavonoid tỷ lệ nghịch với thời gian ly trích, TFC đạt giá trị cao nhất tại thời điểm 5 phút ly trích (50 mgQE.g^{-1}), giá trị này giảm dần khi gia tăng thời gian ly trích lên 15, 30 và 45 phút. Ngược lại, ở cây Khổ sâm, TFC tỷ lệ thuận với thời gian ly trích, đạt giá trị cao nhất (25 mgQE.g^{-1}) tại thời điểm 30 phút, sau đó giảm 1,8 lần khi tăng thời gian ly trích lên 45 phút. Điều này cho thấy, mỗi loại cây cần thời gian ly trích khác nhau để thu được hàm lượng TFC tối đa.

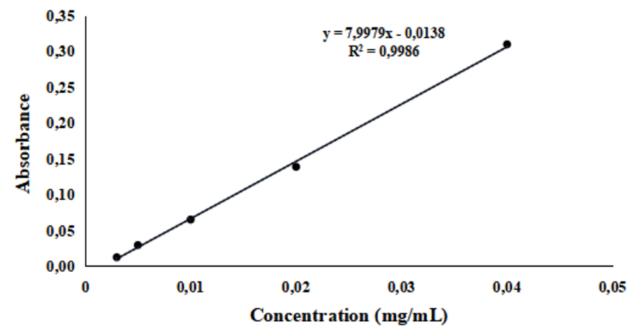


Hình 3: Ảnh hưởng của thời gian ly trích lên hàm lượng flavonoid của cây Ngũ thảo và cây khổ sâm.

Ảnh hưởng của thời gian ly trích lên hàm lượng phenolic tổng số (TPC)

Xây dựng đường chuẩn Gallic acid

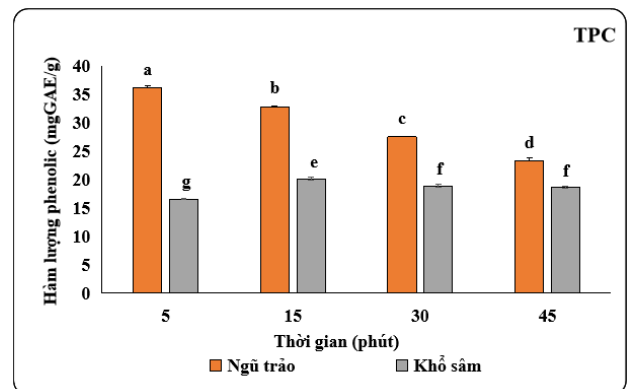
Dung dịch chuẩn Gallic acid được pha loãng trong 1 mL methanol và được pha loãng ở các nồng độ khác nhau (0,04; 0,02; 0,01; 0,005 và 0,0025 mg.mL^{-1}). Các nồng độ dung dịch phản ứng với thuốc thử FC, phản ứng với Na_2CO_3 6%. Kết quả tạo phức màu được đo ở bước sóng 765 nm trên máy đo quang phổ UV-Vis bằng máy đọc đĩa đa năng SpectraMax® iD3 (SpectraMax® iD3 Multi-Mode Microplate Reader) thể hiện ở Hình 4. Kết quả cho thấy giá trị mật độ quang thu được từ các nồng độ Gallic acid khác nhau thể hiện mối tương quan cao ($R^2 = 0,9986$) và phương trình hồi quy tuyến tính thu được từ các nồng độ này là $y = 7,9979x + 0,0138$. Điều này chứng tỏ nồng độ Gallic acid phù hợp để định lượng tổng hàm lượng flavonoid trong các mẫu nghiên cứu.



Hình 4: Sơ đồ thể hiện mối tương quan giữa các nồng độ Galic acid khác nhau.

Ảnh hưởng của thời gian ly trích lên hàm lượng phenolic tổng số (TPC)

Thời gian chiết xuất ảnh hưởng đến tổng hàm lượng phenolic ở cả hai cây Ngũ thảo và Khổ sâm (Hình 5). Sự khác biệt về TPC giữa các thời gian ly trích là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Đối với cây Ngũ thảo, hàm lượng TPC đạt cao nhất tại thời điểm 5 phút ly trích ($36,15 \text{ mgGAE.g}^{-1}$), sau đó giảm dần khi tăng thời gian ly trích lên 45 phút ($23,32 \text{ mgGAE.g}^{-1}$). Ngược lại, hàm lượng TPC ở cây Khổ sâm có xu hướng tăng từ 5-15 phút ly trích ($20,13 \text{ mgGAE.g}^{-1}$), sau đó giảm nhẹ ở thời điểm 30 và 45 phút. Điều này phản ánh sự khác biệt về đặc tính giải phóng và độ bền của hợp chất phenolic giữa hai loài thực vật.



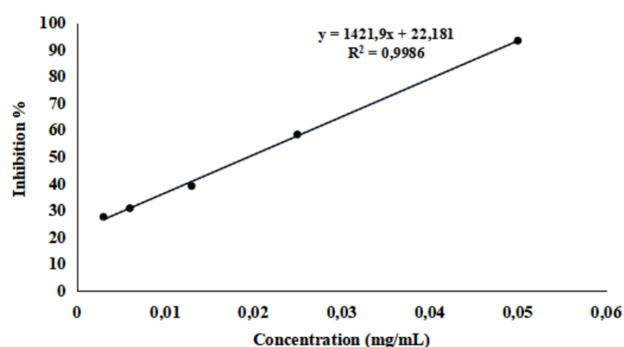
Hình 5: Ảnh hưởng của thời gian ly trích lên hàm lượng phenolic của cây Ngũ thảo và cây khổ sâm.

Ảnh hưởng của thời gian ly trích lên hoạt tính kháng oxy hóa (DPPH)

Xây dựng đường chuẩn Ascorbic acid

Dung dịch chuẩn Ascorbic acid được pha loãng trong 1 mL nước siêu tinh khiết và được pha loãng ở các nồng độ khác nhau (0,025; 0,0125; 0,00625; 0,003125 và 0,0015625 mg.mL^{-1}). Các nồng độ dung dịch phản ứng với dung dịch DPPH 0,25 mM. Kết quả được đo ở bước sóng 517 nm trên máy đo quang phổ UV-Vis bằng máy đọc đĩa đa năng SpectraMax® iD3 (SpectraMax® iD3 Multi-Mode Microplate Reader) thể hiện ở Hình 6. Kết quả cho thấy giá trị mật độ quang thu được từ các nồng độ Gallic acid khác nhau thể hiện mối

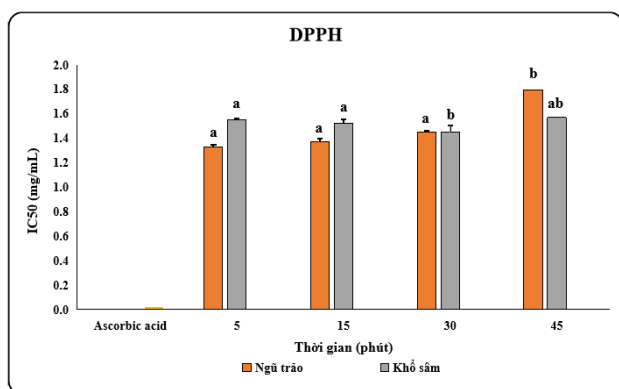
trương quan cao ($R^2 = 0,9986$) và phương trình hồi quy tuyến tính thu được từ các nồng độ này là $y = 1421,9x + 22,181$). Điều này chứng tỏ nồng độ Ascorbic acid phù hợp để xác định hoạt tính DPPH trong các mẫu nghiên cứu.



Hình 6: Sơ đồ thể hiện mối tương quan giữa các nồng độ Ascorbic acid khác nhau.

Ảnh hưởng của thời gian ly trích lên hoạt tính DPPH

Việc đánh giá hoạt tính loại bỏ gốc tự do DPPH được đo bằng giá trị IC_{50} ($mg \cdot mL^{-1}$) thể hiện trong Hình 7, kết quả cho thấy giá trị IC_{50} thay đổi theo thời gian ly trích. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Ascorbic acid là đối chứng dương, thể hiện tiềm năng chống oxy hóa mạnh mẽ với giá trị IC_{50} thấp là $0,02$ (Hình 7). Ở cả hai loài, giá trị IC_{50} dao động từ $1,33$ đến $1,79$ và có xu hướng tăng khi kéo dài thời gian siêu âm. Điều này cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa giảm theo thời gian siêu âm. Ở cây Ngũ thảo, giá trị IC_{50} thấp nhất tại thời điểm 5 phút ($1,33 \text{ mg} \cdot mL^{-1}$) sau đó tăng dần và đạt giá trị cao nhất tại 45 phút ($1,79 \text{ mg} \cdot mL^{-1}$). Tương tự, ở cây Khổ sâm, giá trị IC_{50} tăng từ $1,45 \text{ mg} \cdot mL^{-1}$ tại 5 phút lên $1,57 \text{ mg} \cdot mL^{-1}$ tại thời điểm 45 phút. Tóm lại, thời gian siêu âm ngắn (5 phút) cho hiệu quả kháng oxy hóa cao nhất ở cả hai loài.



Hình 7: Ảnh hưởng của thời gian ly trích lên hoạt tính DPPH của cây Ngũ thảo và cây khổ sâm.

Thảo luận

Polyphenol là các hợp chất tự nhiên được tổng hợp chủ yếu bởi thực vật và có các đặc điểm hóa học

liên quan đến các chất phenolic [18]. Flavonoid và axit phenolic là hai loại polyphenol chính, cả hai đều có nhiều hoạt động sinh học và đóng vai trò quan trọng trong việc chống lại nhiều bệnh tật [19]. Các hợp chất này có thể được chiết xuất từ thực vật bằng nhiều phương pháp và thời gian khác nhau. Nghiên cứu trước chỉ ra thời gian chiết xuất cũng ảnh hưởng mạnh mẽ đến hiệu quả và thiết kế tối ưu của quá trình chiết xuất nhằm giảm thiểu chi phí năng lượng của quá trình [20]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã so sánh hiệu quả thời gian chiết xuất khác nhau, trong việc thu được TFC, TPC và DPPH từ chiết xuất ethanol của lá cây Ngũ thảo và cây Khổ sâm.

Kết quả nghiên cứu cho thấy tổng hàm lượng TFC cao nhất $50 \text{ mgQE} \cdot g^{-1}$ ở cây Ngũ thảo với thời gian ly trích 5 phút. Nghiên cứu trước đã chứng minh hàm lượng TFC có tương quan đến thời gian ly trích [21]. Trong trường hợp chiết xuất bằng siêu âm từ quả black chokeberry, hiệu suất chiết xuất tăng nhanh trong 15 phút đầu tiên và sau đó tiếp tục tăng chậm hơn trong 4 giờ tiếp theo [22]. Hiện tượng hàm lượng TFC giảm nhanh khi kéo dài thời gian siêu âm có thể giải thích do trong giai đoạn đầu, thời gian tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi ngăn, các hợp chất flavonoid từ nguyên liệu được giải phóng và hòa tan nhanh chóng vào dung môi, tuy nhiên, dưới tác động của cường độ sóng siêu âm trong thời gian dài đã làm cho một số flavonoid nhạy cảm với sóng siêu âm bị phân hủy làm mất tính chất của nó. Ngoài ra, xảy ra quá trình oxy hóa hoặc phân hủy các hợp chất flavonoid do tiếp xúc với ánh sáng, oxy hoặc nhiệt độ cao trong thời gian dài [23, 24].

Trong trường hợp của cây Khổ sâm, hàm lượng TFC tăng nhẹ tại thời điểm 5-30 phút ($25 \text{ mgQE} \cdot g^{-1}$), sau đó giảm 1,8 lần khi kéo dài thời gian ly trích lên 45 phút. Kết quả tương tự được tìm thấy trong nghiên cứu của T. L. Đặng và cs. [23], hàm lượng TFC dao động nhẹ trong thời gian 30-90 phút, sau đó giảm đến thời điểm 150 phút khi tiến hành ly trích mẫu hạt sen bằng phương pháp siêu âm. Nghiên cứu của H. V. Annegowda và cs. [25] cho rằng khi kéo dài thời gian ly trích lên 60 phút sẽ làm giảm hàm lượng TFC ở cây Java cardamom (*A. compactum* Sol. Ex Maton). Điều này có thể giải thích do bước siêu âm kéo dài trong quá trình chiết có thể dẫn đến giảm tốc độ khuếch tán, giảm diện tích khuếch tán và tăng khoảng cách khuếch tán, dẫn đến giảm nồng độ polyphenol [25]. Mặt khác, nguyên liệu được ngâm trong dung môi một thời gian dài sẽ trương nở làm bít lỗ thông của màng tế bào, cản trở khả năng thẩm thấu của dung môi vào nguyên liệu nên hiệu suất chiết flavonoid toàn phần giảm.

Các hợp chất phenolic là chất chống oxy hóa tự nhiên hòa tan trong nước, thường có vòng thơm mang một hoặc nhiều nhóm hydroxyl. Chúng thường nằm trong không bào của tế bào thực vật và có thể kết hợp với đường để tạo thành glycoside [26]. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy hàm lượng TPC ở cây Ngũ thảo cao nhất ($36,15 \text{ mgGAE} \cdot g^{-1}$) có thời gian ly trích ngắn nhất (5 phút) và giảm dần khi kéo dài thời gian

ly trích. Ngược lại, hàm lượng TPC ở cây Khổ sâm cao nhất được xác định tại thời điểm 15 phút và giảm dần khi kéo dài thời gian lên 45 phút. Nghiên cứu của K. K. Chew và cs. [14] đã chứng minh rằng thời gian chiết xuất có ảnh hưởng đến hiệu suất ly trích các hợp chất phenolic trong cây Râu mèo. Hàm lượng TPC ổn định trong 240 phút đầu nhưng sau đó giảm dần khi tăng thời gian. Điều này có thể được giải thích rằng khi đạt đến trạng thái cân bằng giữa nồng độ hoạt chất trong nguyên liệu và dung môi chiết, việc kéo dài thời gian sẽ không làm tăng hiệu suất ly trích. Ngược lại, việc duy trì thời gian chiết dài có thể dẫn đến sự sụt giảm TPC do quá trình oxy hóa các hợp chất phenolic do tiếp xúc với ánh sáng và oxy. Nghiên cứu của T. P. T. Phan và cs. [15] cũng chỉ ra hàm lượng TPC trong dầu hạt chè (TSO) tăng trong khoảng thời gian 5-9 giờ, sau đó giảm dần khi kéo dài thời gian đến 11 giờ. Khi tăng số lần trích ly, hàm lượng TPC không tăng hoặc tăng rất ít do đạt đến trạng thái cân bằng giữa nồng độ hoạt chất trong nguyên liệu và dung môi.

DPPH là một gốc tự do nitơ ổn định, dễ dàng bị khử thành dạng hydrazine (DPPH-H) bằng cách nhận một nguyên tử hydro từ các chất chống oxy hóa. Thử nghiệm quét gốc tự do DPPH là phương pháp phổ biến và được sử dụng rộng rãi nhất để đánh giá khả năng chống oxy hóa của các hợp chất tinh khiết, dịch chiết thực vật,... [27]. Trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng oxy hóa có mối quan hệ chặt chẽ với thời gian siêu âm và có xu hướng tương đồng với sự biến đổi của hàm lượng hợp chất phenolic và flavonoid. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra hoạt tính kháng oxy giảm dần theo thời gian siêu âm ở cả hai loài Ngũ trảo và Khổ sâm. Thời gian siêu âm tối ưu để duy trì hoạt tính kháng oxy hóa là 5 phút cho cây Ngũ trảo ($IC_{50} = 1,33 \text{ mg.mL}^{-1}$) và 30 phút cho cây Khổ sâm ($IC_{50} = 1,45 \text{ mg.mL}^{-1}$). Kết quả tương tự được tìm thấy trong nghiên cứu của T. P. T. Phan và cs. [15], hoạt tính kháng oxy hóa tốt nhất của dầu hạt mè ở thời gian 7-9 giờ, sau đó giảm dần khi kéo dài thời gian đến 11 giờ. Hàm lượng phenolic và flavonoid trong nguyên liệu càng cao thì hoạt tính chống oxy hóa càng cao, do đó giá trị IC_{50} thu được càng thấp. Hàm lượng hợp chất phenolic cao hơn dẫn đến tăng khả năng phản ứng của các hợp chất trong việc khử các gốc tự do, do đó chúng ổn định hơn và di chuyển các electron không ghép đôi. Nhóm OH mà các hợp chất phenolic sở hữu ảnh hưởng rất lớn đến khả năng bắt giữ các gốc tự do [27, 28]. Theo S. R. Dewi và cs. [28] để ổn định các hợp chất gốc tự do, flavonoid sẽ cho hydro hoặc electron cho các hợp chất gốc tự do, do đó hàm lượng flavonoid càng cao thì hoạt tính chống oxy hóa càng tăng.

Kết luận

Kết quả nghiên cứu đã chứng minh thời gian siêu âm là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hàm lượng TFC, TPC và hoạt tính kháng oxy hóa (DPPH) ở cây Ngũ trảo và cây Khổ sâm. Ở cây Ngũ trảo, thời gian

siêu âm 5 phút được xem là tối ưu cho quá trình thu nhận hàm lượng TPC, TFC và hoạt tính DPPH. Ngược lại, cây Khổ sâm cần có thời gian siêu âm lâu hơn (15-30 phút) để đạt giá trị TFC, TPC và hoạt tính DPPH. Kết quả này cung cấp cơ sở khoa học cho việc tối ưu hóa quy trình chiết xuất các hợp chất tự nhiên từ thực vật, góp phần nâng cao giá trị ứng dụng của các nguồn dược liệu trong lĩnh vực dược phẩm và thực phẩm chức năng.

Lời cảm ơn và tài trợ

Kết quả nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Trà Vinh thông qua hợp đồng số 12/2026/HĐ.HĐKH & ĐT-ĐHTV.

Xung đột lợi ích

Không có xung đột lợi ích nào được công bố

Tài liệu

- [1] Sở Công thương tỉnh Lâm Đồng, "Báo cáo nghiên cứu ngành hàng dược liệu," Sở Công thương tỉnh Lâm Đồng, Lâm Đồng, Vietnam, Tech. Rep., 2021.
- [2] L. M. Nollet and J. A. Gutierrez-Urbe, Eds., *Phenolic Compounds in Food: Characterization and Analysis*. New York, NY, USA: CRC Press, 2018, doi: [10.1201/9781315120157](https://doi.org/10.1201/9781315120157).
- [3] D. K. Ojha and A. P. Jain, "Phytochemical screening, estimation of total phenolic, flavanoid content and estimation of antioxidant activity of hydroalcoholic extract of *Vitex Negundo*, *Vitex Trifolia* and *Vitex Parviflora*," *J. Adv. Sci. Res.*, vol. 12, no. 4, pp. 268–271, 2021, doi: [10.55218/JASR.202112436](https://doi.org/10.55218/JASR.202112436).
- [4] N. L. Etkin, Ed., *Plants and Indigenous Medicine and Diet: Biobehavioral Approaches*. New York, NY, USA: Routledge, 2019, [Online].
- [5] R. R. Watson and V. R. Preedy, Eds., *Fruits, Vegetables, and Herbs: Bioactive Foods in Health Promotion*. New York, NY, USA: Academic Press, 2016, doi: [10.1016/C2015-0-01705-1](https://doi.org/10.1016/C2015-0-01705-1).
- [6] H. A. Trinh, M. H. Cao, A. S. Ho *et al.*, "Research about anticancer of CT-1 extracted from *Croton tonkinensis* Gagnep. on nude mice," *J. Mil. Pharm. Med.*, vol. 9, pp. 19–24, 2014.
- [7] C. J. Zheng, H. Q. Li, S. C. Ren *et al.*, "Phytochemical and pharmacological profile of *Vitex negundo*," *Phytother. Res.*, vol. 29, no. 5, pp. 633–647, 2025, doi: [10.1002/ptr.5303](https://doi.org/10.1002/ptr.5303).
- [8] C. Chandramu, R. D. Manohar, D. G. Krupadanam, and R. V. Dashavantha, "Isolation, characterization and biological activity of betulinic acid and ursolic acid from *Vitex negundo* L.," *Phytother. Res.*, vol. 17, no. 2, pp. 129–134, 2003, doi: [10.1002/ptr.1088](https://doi.org/10.1002/ptr.1088).

- [9] N. V. Tang, T. T. Giang, T. T. M. Hanh, P. C. An, P. T. B. Tram, and H. Q. Trung, "Effects of extraction solvents and methods on total phenolic, saponin and alkaloid contents from cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.)," *Can Tho Univ. J. Sci.*, vol. 56, no. 4, pp. 71–78, Aug. 2020, doi: [10.22144/ctu.jvn.2020.084](https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2020.084).
- [10] M. T. Nguyen, T. N. H. Le, V. T. Ngo *et al.*, "Optimization of extraction methods for quercetin from shallot skin," *J. Vietnam Agric. Sci. Technol.*, vol. 12, no. 97, pp. 57–62, 2018.
- [11] E. Kiassos, S. Mylonaki, D. P. Makris, and P. Kefalas, "Implementation of response surface methodology to optimise extraction of onion (*Allium cepa*) solid waste phenolics," *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 10, no. 2, pp. 246–252, 2009, doi: [10.1016/j.ifset.2008.10.004](https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.10.004).
- [12] Y. Yang and F. Zhang, "Ultrasound-assisted extraction of rutin and quercetin from *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb." *Ultrason. Sonochem.*, vol. 15, no. 4, pp. 308–313, 2008, doi: [10.1016/j.ultsonch.2007.05.001](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2007.05.001).
- [13] H. H. Le, T. A. Le, N. H. Nghiem, and K. C. Pham, "Extraction and evaluation of chemical composition, bioactivity of *Litsea Cubeba* fruit extracts," *TNU J. Sci. Technol.*, vol. 228, no. 13, pp. 222–231, 2023, doi: [10.34238/tnu-jst.8283](https://doi.org/10.34238/tnu-jst.8283).
- [14] K. K. Chew, M. Z. Khoo, S. Y. Ng *et al.*, "Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts," *Int. Food Res. J.*, vol. 18, no. 4, pp. 1427–1435, 2011.
- [15] T. P. T. Phan, T. K. Giang, and H. S. Vu, "Effect of process parameters on the antioxidant activity of Vietnamese tea (*Camellia sinensis* O. Kuntze) seed oil," *Vietnam J. Sci. Technol. B*, vol. 63, no. 6, pp. 63–67, 2021, doi: [10.31276/VJST.63\(6\).63-67](https://doi.org/10.31276/VJST.63(6).63-67).
- [16] T. V. A. Le, N. T. A. Tran, P. A. Duong *et al.*, "Influence of the elicitors on the accumulation of secondary metabolites and antioxidant activities in the *Polyscias fruticosa* (L.) Harms in vitro roots," *Acad. J. Biol.*, vol. 46, no. 4, pp. 91–102, 2024, doi: [10.15625/2615-9023/20779](https://doi.org/10.15625/2615-9023/20779).
- [17] V. L. Singleton, R. Orthofer, and R. M. Lamuela-Raventós, "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent," *Methods Enzymol.*, vol. 299, pp. 152–178, 1999, doi: [10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
- [18] R. K. Singla, A. K. Dubey, A. Garg *et al.*, "Natural polyphenols: Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures," *J. AOAC Int.*, vol. 102, no. 5, pp. 1397–1400, 2019, doi: [10.5740/jaoacint.19-0133](https://doi.org/10.5740/jaoacint.19-0133).
- [19] M. Abbas, F. Saeed, F. M. Anjum *et al.*, "Natural polyphenols: An overview," *Int. J. Food Prop.*, vol. 20, no. 8, pp. 1689–1699, 2017, doi: [10.1080/10942912.2016.1220393](https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1220393).
- [20] G. Spigno, L. Tramelli, and D. M. De Faveri, "Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics," *J. Food Eng.*, vol. 81, no. 1, pp. 200–208, 2007, doi: [10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021).
- [21] N. Čujić, K. Šavikin, T. Janković *et al.*, "Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique," *Food Chem.*, vol. 194, no. 1, pp. 135–142, 2016, doi: [10.1016/j.foodchem.2015.08.008](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.008).
- [22] L. G. D'Alessandro, K. Kria, I. Nikov, and K. Dimitrov, "Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry," *Sep. Purif. Technol.*, vol. 93, pp. 42–47, 2021, doi: [10.1016/j.seppur.2012.03.024](https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.03.024).
- [23] T. L. Dang, T. K. H. Hoang, T. T. T. Le *et al.*, "Effects of a number of factors on the procedure extraction total flavonoid from Lotus seeds by bath Ultrasound-Assisted method," in *Proc. Nat. Conf. Biotechnol. 2020*, 2020, pp. 232–237.
- [24] B. T. Nguyen, M. N. Truong, T. H. Le *et al.*, "Optimising certain factors influencing the process of extracting polyphenolic compounds from areca nuts (*Areca catechu* L.) using response surface methodology," *Vietnam J. Sci. Technol. B*, vol. 65, no. 10DB, pp. 48–53, 2023, doi: [10.31276/VJST.65\(10DB\).48-53](https://doi.org/10.31276/VJST.65(10DB).48-53).
- [25] H. V. Annegowda, L. N. Anwar, M. N. Mordi *et al.*, "Influence of sonication on the phenolic content and antioxidant activity of *Terminalia Catappa* L. leaves," *Pharmacogn. Res.*, vol. 2, no. 6, pp. 368–373, 2010, doi: [10.4103/0974-8490.75457](https://doi.org/10.4103/0974-8490.75457).
- [26] A. L. Waterhouse, "Determination of total phenolics," in *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York, NY, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2002, vol. 1, pp. I1.1.1–I1.1.8.
- [27] I. Gulcin and S. H. Alwasel, "DPPH radical scavenging assay," *Processes*, vol. 11, no. 8, p. 2248, 2023, doi: [10.3390/pr11082248](https://doi.org/10.3390/pr11082248).
- [28] S. R. Dewi, N. Ulya, and B. D. Argo, "Kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak *Pleurotus ostreatus*," *J. Rona Tek. Pertan.*, vol. 11, no. 1, pp. 1–10, 2018, doi: [10.17969/rtp.v11i1.9571](https://doi.org/10.17969/rtp.v11i1.9571).