

Tối ưu hóa điều kiện chiết xuất polyphenol toàn phần từ rau càng cua (*Peperomia pellucida*) bằng phương pháp đáp ứng bề mặt

Nguyễn Thị Bạch Tuyết*, Hoàng Thị Phương Liên

Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, 300A Nguyễn Tất Thành, phường Xóm Chiếu, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/7/2024; ngày chuyển phản biện 12/7/2024; ngày nhận phản biện 5/8/2024; ngày chấp nhận đăng 9/8/2024

Tóm tắt:

Rau càng cua (*Peperomia pellucida*) là một dược liệu tiềm năng với thành phần nổi bật là hợp chất polyphenol. Thành phần này có khả năng chống oxy hoá, điều trị các bệnh viêm, chống loét dạ dày, ung thư. Nghiên cứu được thực hiện nhằm tối ưu hóa điều kiện chiết xuất hợp chất polyphenol từ rau càng cua (RCC) và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa *in vitro*, sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt với sự hỗ trợ của phần mềm Design Expert. Nghiên cứu tiến hành tối ưu hoá 4 yếu tố: nồng độ ethanol, tỷ lệ dược liệu/dung môi, thời gian siêu âm, số lần siêu âm. Bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm, nghiên cứu đã xây dựng được phương trình hồi quy mô tả mối quan hệ giữa hàm lượng hợp chất polyphenol và các biến tối ưu, với hệ số hồi quy R^2 là 0,8414 và giá trị $p < 0,0001$. Đồng thời dự đoán hàm lượng hợp chất polyphenol tối đa đạt được là 9,765 mg GAE/g chất khô ở các giá trị yếu tố: nồng độ ethanol 36%, tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/12,93 g/ml, thời gian siêu âm là 26,53 phút, số lần chiết là 3 lần. Hoạt tính chống oxy hoá với giá trị IC_{50} trung bình là 382,91 $\mu\text{g/ml}$.

Từ khóa: đáp ứng bề mặt, polyphenol, rau càng cua, tối ưu hoá.

Chỉ số phân loại: 2.4, 2.8, 3.4

Optimisation of the extraction conditions of polyphenol compounds from *Peperomia pellucida* and evaluation of *in vitro* antioxidant activity

Thi Bach Tuyet Nguyen*, Thi Phuong Lien Hoang

Nguyen Tat Thanh University, 300A Nguyen Tat Thanh Street, Xom Chieu Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 10 July 2024; revised 5 August 2024; accepted 9 August 2024

Abstract:

Peperomia pellucida is a potential medicinal herb, with polyphenol compounds being its prominent ingredient. This ingredient has been shown to possess antioxidant properties, and to exhibit inflammatory, anti-ulcers, and anti-cancer activities. To obtain the extract with the highest polyphenol content, this study was conducted to optimise extraction parameters affecting polyphenol compounds from *Peperomia pellucida* and evaluate its antioxidant activity. Based on the response surface methodology according to Design Expert 11.0 software, this research was conducted to optimise the four independent variables, such as ethanol concentration, material-solvent ratio, ultrasonic time, and number of ultrasonics. The response surface methodology model described the relationship between the reasonable polyphenol content and the priority level of variables, with a recovery coefficient R^2 of 0.8414 and $p < 0.0001$. The model predicted the maximum polyphenol content achieved was 9.765 mg GAE/g dry matter at the factor values: ethanol concentration of 36%, material-solvent ratio of 1/12.93 g/ml, time of 26.53 mins, and number of ultrasound extractions of 3. Antioxidant activity with an average IC_{50} value of 382.91 $\mu\text{g/ml}$.

Keywords: optimisation, *Peperomia pellucida*, polyphenol, response surface methodology.

Classification numbers: 2.4, 2.8, 3.4

*Tác giả liên hệ: Email: nbtuyet@ntt.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, việc sử dụng thuốc và các sản phẩm từ dược liệu để bảo vệ sức khỏe ngày càng gia tăng. Bởi vì dược liệu thường khá an toàn và chứa nhiều thành phần có hoạt tính sinh học cao.

Rau càng cua (*Peperomia pellucida*) là một loại rau thuộc họ Hồ tiêu (Piperaceae), được sử dụng rộng rãi trong dân gian trong chống oxy hoá, kháng khuẩn, kháng nấm [1], kháng viêm [2], hạ đường huyết [3]... Một số nghiên cứu trên RCC cho thấy, chúng chứa steroid, terpenoid, alkaloid, saponin, phenol [4]. Trong đó, thành phần polyphenol được cho là đóng góp quan trọng vào các tác động dược lý của RCC. Một số hợp chất được phân lập bao gồm apiole, methyl 10-octadecenoate, phytol, dihydroxi-3-5-dimethoxy flavone-7-O-β-rhamnose [5, 6].

Với mong muốn thu cao thủ có hàm lượng polyphenol cao nhất, nghiên cứu cần phải tối ưu hoá các điều kiện chiết xuất. Thông thường, các nhà nghiên cứu sử dụng phương pháp cổ điển kết hợp với sóng siêu âm để tối ưu hợp chất polyphenol trong dược liệu. Tuy nhiên, phương pháp truyền thống không thể hiện được rõ ràng sự tương quan giữa các yếu tố với nhau và tổng số thí nghiệm tăng nhiều khi số lượng biến gia tăng. Để giải quyết vấn đề nêu trên, phương pháp đáp ứng bề mặt đã ra đời để đánh giá sự tương tác giữa các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả quá trình, đồng thời đưa ra sự dự đoán về giá trị tối ưu của các yếu tố [7]. Từ những vấn đề nêu trên, nghiên cứu thực hiện tối ưu hoá điều kiện chiết xuất hợp chất polyphenol từ RCC bằng phương pháp đáp ứng bề mặt.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

2.1.1. Nguyên vật liệu

Cây RCC (bao gồm cả thân, lá, rễ và hoa) được thu hái tại Ấp 3, xã Qui Đức, huyện Bình Chánh, TP. Hồ Chí Minh (trước sáp nhập) vào tháng 6/2023 (hình 1A). Dược liệu sau khi thu hái được rửa sạch, cắt nhỏ và sấy ở nhiệt độ 60-70°C bằng tủ sấy Binder (Đức) đến khô (hình 1B). Sau đó, dược liệu khô được nghiền và rây qua rây số 32 để thu được bột mịn đồng nhất (hình 1C) và bảo quản trong túi kín.



Hình 1. Hình ảnh rau càng cua được sử dụng trong nghiên cứu.

2.1.2. Thiết bị, hoá chất

Hóa chất: DPPH (Sigma Aldrich), Quercetin (Sigma Aldrich), Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich), Gallic acid monohydrate (Himedia), Methanol (Sigma Aldrich) DMSO (Sigma Aldrich).

Thiết bị: Bể siêu âm Elmasonic S180H, Máy Elisa - BioTek, cân phân tích, cân kỹ thuật, falcon 15 ml, falcon 50 ml, eppendorf 2 ml, micropipet 1.000 µl, micropipet 100 µl, micropipet 10 µl.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tối ưu hóa điều kiện chiết xuất rau càng cua giàu polyphenol

Sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt với mô hình kiểu trực quay tâm trong phần mềm Design Expert 11.0, thí nghiệm tiến hành cài đặt 4 thông số độc lập, bao gồm: tỷ lệ dược liệu/dung môi (A (g/ml): 1/5; 1/10; 1/15), độ cồn (B: 30, 60, 90%), thời gian siêu âm (C: 10, 20, 30 phút), số lần siêu âm (D: 1, 2, 3 lần). Nghiên cứu sử dụng hàm mục tiêu là hàm lượng polyphenol toàn phần TPP (mg GAE/g dược liệu khô). Các mức biến độc lập được cài đặt ở bảng 1.

Bảng 1. Ma trận bố trí thí nghiệm mã hóa các biến độc lập.

Biến độc lập	Đơn vị	Ký hiệu	Mức độ		
			-1	0	1
Tỷ lệ dược liệu/dung môi	g/ml	A	1/5	1/10	1/15
Độ cồn	%	B	30	60	90
Thời gian siêu âm	Phút	C	10	20	30
Số lần chiết	Số lần	D	1	2	3

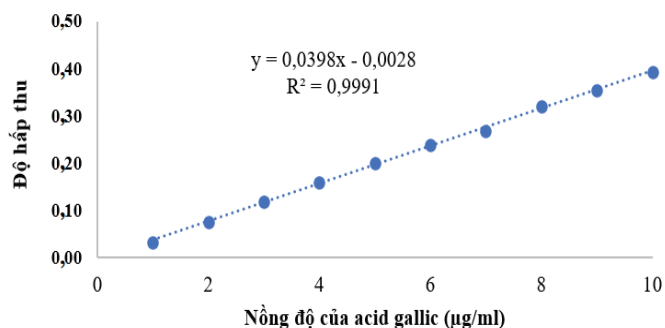
Dựa vào phương trình hồi quy đa biến trong phần mềm Design Expert, tương tác của 4 yếu tố ảnh hưởng với hàm mục tiêu là polyphenol ước tính cao nhất để xác định các thông số tối ưu. Sau đó, nghiên cứu tiếp tục chiết cao RCC với các thông số tối ưu để xác định hàm lượng polyphenol toàn phần và đánh giá hoạt tính chống oxy hoá.

Quá trình chiết xuất cao RCC: Mẫu 5 g bột thô RCC được làm ẩm bằng một lượng vừa đủ dung môi, được chiết xuất bằng phương pháp chiết hỗ trợ bằng siêu âm trên bể siêu âm Elmasonic S180H công suất 200 W. Các thông số nồng độ ethanol, tỷ lệ dung môi/dược liệu, thời gian siêu âm và số lần chiết được thay đổi như trong phần mềm. Toàn bộ dịch chiết được gộp chung, lọc, cô cách thủy và cô đặc đến khi khối lượng không đổi và tính hiệu suất chiết (H).

Hiệu suất (H) = (khối lượng cao)/[khối lượng dược liệu đã dùng × (100 - độ ẩm)%] × 100%

Định lượng polyphenol tổng toàn phần: Tiến hành pha loãng các mẫu ethanol RCC với nồng độ 1000 µg/ml. Sau đó, hút lần lượt 50 µl cao thủ RCC, 250 µl thuốc thử Folin-Ciocalteu 10%, vortex đồng nhất và để yên phản ứng trong 5 phút. Tiếp tục, hỗn hợp được thêm vào 200 µl Na₂CO₃ 7,5% rồi ủ trong bóng tối 60 phút. Độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm trên máy đọc đĩa 96 giếng. Gallic acid được sử dụng như chất chuẩn. Hàm lượng polyphenol được biểu diễn theo microgam đương lượng acid gallic trong 1 g dược liệu khô (mg GAE/g dược liệu khô) [8].

Phương trình đường chuẩn acid gallic $y=0,0398x-0,0028$; $R^2=0,9991$ (hình 2). trong đó x là nồng độ của acid gallic ($\mu\text{g/ml}$), y là độ hấp thu đo ở bước sóng 765 nm.



Hình 2. Phương trình đường chuẩn acid gallic.

2.2.2. Hoạt tính kháng oxy hoá của cao rau càng cua bằng phương pháp DPPH

Mẫu RCC giàu polyphenol được pha trong dung môi thích hợp đạt nồng độ 1.000 $\mu\text{g/ml}$. Tiếp tục pha loãng thành các mẫu cao RCC có nồng độ 100-500 $\mu\text{g/ml}$. Hút 100 μl cao thử RCC ở nồng độ khác nhau và 100 μl DPPH 0,2 mM cho vào bình nhựa 96 giếng. Ủ 30 phút trong bóng tối và đo độ hấp thu ở bước sóng 517 nm. Thực hiện 3 lần và lấy giá trị trung bình. Thực hiện song song với mẫu chứng (DPPH), mẫu trắng (nước cất, MeOH), mẫu so màu (cao thử, không có DPPH). Sử dụng mẫu đối chiếu là quercetin pha trong methanol.

Hoạt tính chống oxy hoá được tính theo công thức:

$$\text{HTCO (\%)} = \left(1 - \frac{OD_{\text{thử}} - OD_{\text{màu}}}{OD_{\text{chứng}} - OD_{\text{trắng}}}\right) \times 100\%$$

Thông qua kết quả thu được, xây dựng mối tương quan giữa hoạt tính chống oxy hoá và nồng độ của mẫu cao thử và từ đó xác định giá trị IC_{50} [9].

2.2.3. Phương pháp tính toán thống kê

Kết quả được xử lý thống kê theo phép kiểm ANOVA bằng phần mềm SPSS 20.0. Sử dụng phần mềm Design Expert 11.0 để sử dụng phân tích phương sai, tính toán hệ số hồi quy tương quan và đề xuất giải pháp tối ưu. Dùng trắc nghiệm T- student để so sánh kết quả thực nghiệm với kết quả dự đoán. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được xử lý ở mức $\alpha=0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Thiết kế và xây dựng phương trình hồi quy đa biến

Kế thừa các kết quả khảo sát đơn yếu tố, để xác định được miền biến thiên của các yếu tố thực nghiệm tương ứng các biến sẽ sử dụng trong tối ưu hóa bằng phương pháp đáp ứng bề mặt.

Dữ liệu hàm lượng polyphenol toàn phần (mg GAE/g được liệu khô) của 29 nghiệm thức được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Hàm lượng polyphenol của 29 nghiệm thức từ rau càng cua.

Nghiệm thức	A (g/ml)	B (%)	C (phút)	D (lần)	TPP (mg GAE/g được liệu khô)	Nghiệm thức	A (g/ml)	B (%)	C (phút)	D (lần)	TPP (mg GAE/g được liệu khô)
1	5	30	20	2	5,26	16	10	90	30	2	4,57
2	15	30	20	2	6,82	17	5	60	10	2	3,01
3	5	90	20	2	1,61	18	15	60	10	2	7,62
4	15	90	20	2	2,10	19	5	60	30	2	2,78
5	10	60	10	1	2,29	20	15	60	30	2	7,87
6	10	60	30	1	3,90	21	10	30	20	1	4,25
7	10	60	10	3	9,84	22	10	90	20	1	2,92
8	10	60	30	3	8,78	23	10	30	20	3	8,51
9	5	60	20	1	2,47	24	10	90	20	3	4,44
10	15	60	20	1	3,76	25	10	60	20	2	6,57
11	5	60	20	3	7,64	26	10	60	20	2	5,71
12	15	60	20	3	8,16	27	10	60	20	2	5,31
13	10	30	10	2	6,68	28	10	60	20	2	6,50
14	10	90	10	2	2,33	29	10	60	20	2	6,66
15	10	30	30	2	8,21						

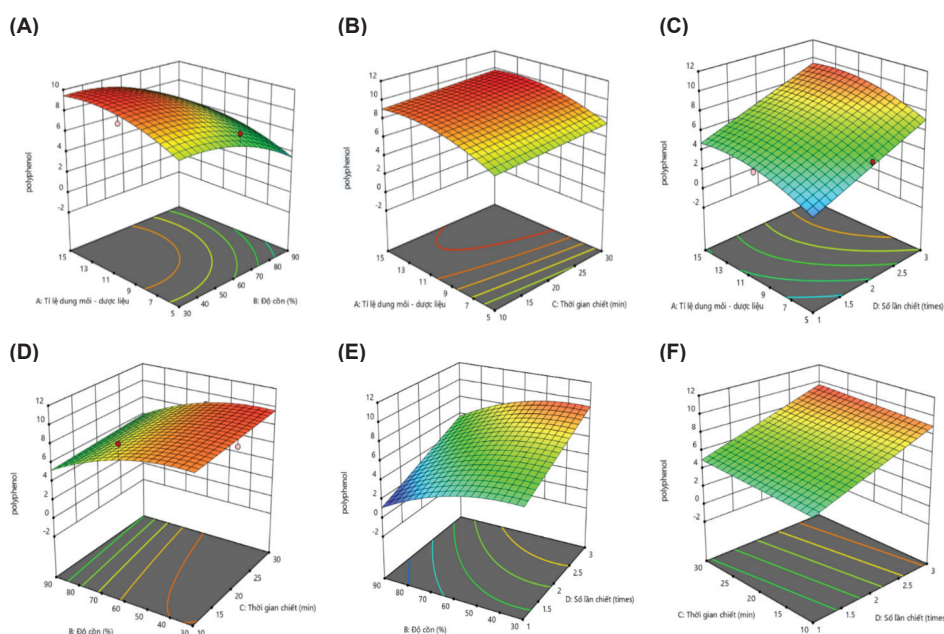
Từ số liệu thực nghiệm và từ phần mềm Design expert, phương trình hồi quy dạng bậc 2 thể hiện hàm lượng polyphenol được thiết lập như sau:

$$Y \text{ polyphenol} = -6,14097 + 0,998540 \times A + 0,091442 \times B + 0,036269 \times C + 2,31658 \times D - 0,038631 \times A^2 - 0,001266 \times B^2$$

Bảng 3. Phân tích các hệ số tương quan của các yếu tố đến hàm lượng polyphenol.

Nguồn	Tổng bình phương	Hệ số đf	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị P
Mô hình	134,46	8	16,81	13,26	<0,0001
A	15,31	1	15,31	12,08	0,0024
B	39,42	1	39,42	31,11	<0,0001
C	1,58	1	1,58	1,25	0,2776
D	64,40	1	64,40	50,81	<0,0001
A ²	5,62	1	5,62	4,44	0,0480
B ²	7,91	1	7,91	6,24	0,0213
C ²	0,1833	1	0,1833	0,1446	0,7078
D ²	0,0168	1	0,0168	0,0133	0,9095
Phần dư	25,53	20	1,27		
Sai số do mô hình không phù hợp (Lack of fit)	23,90	16	1,49	4,13	0,0897
Sai số thuần	1,45	4	0,3616		
Tổng hiệu chỉnh	159,81	28	R ² =0,8414		

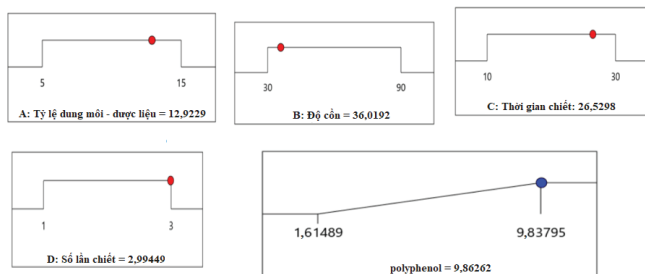
Bảng 3 cho thấy, giá trị F-value bằng 13,26 và giá trị $p < 0,0001$ chứng tỏ mô hình phương trình dạng bậc 2 có tính tương quan khá tốt với phân tích phương sai ANOVA, có ý nghĩa thống kê. Ngoài ra, giá trị Lack of fit của mô hình bằng $0,0897 > 0,05$, khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy, mô hình này phù hợp và có thể dự đoán chính xác hàm mục tiêu (hàm lượng polyphenol). Phương trình đa biến bậc 2 được đề xuất có giá trị R^2 bằng 0,8414. Xét về tính tương quan R^2 , theo X. Guan và cs (2008) [10], một mô hình hồi quy đa biến theo phương pháp RSM được xem là tốt khi hệ số R^2 tối thiểu là 0,8. Hơn nữa, giá trị của hệ số



Hình 3. Đồ thị 3D biểu diễn sự ảnh hưởng của 2 yếu tố đến hàm lượng polyphenol. (A) Tương tác giữa tỷ lệ dung môi - dược liệu và độ cồn; (B) Tương tác giữa tỷ lệ dung môi - dược liệu và thời gian chiết; (C) Tương tác giữa tỷ lệ dung môi - dược liệu và số lần chiết; (D) Tương tác giữa độ cồn và thời gian chiết; (E) Tương tác giữa độ cồn và số lần chiết; (F) Tương tác giữa thời gian chiết và số lần chiết.

biến thiên của polyphenol CV=0,6493% cũng cho thấy, mô hình có độ chính xác và độ tin cậy cao (dưới 10%). Một số nghiên cứu đã chứng minh giá trị Lack of fit với $p > 0,05$, $R^2 > 0,8$ và $CV < 10\%$ thì mô hình dự đoán có tính áp dụng và thực nghiệm rất cao [11-13]. Các hệ số trong phương trình hồi quy đều có khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), ngoại trừ hệ số C, C2, D2. Như vậy, nồng độ ethanol, tỷ lệ dung môi, số lần chiết có ảnh hưởng lớn tới hàm lượng polyphenol.

Dựa vào phương trình đa biến bậc 2 ta thấy, khi sử dụng hợp lý tỷ lệ dung môi (A), độ cồn (B), thời gian siêu âm (C), số lần chiết (D) thì sẽ mang lại tác động tích cực, có nghĩa là làm tăng hàm lượng polyphenol. Ngược lại, nếu quá lạm dụng các yếu tố như tỷ lệ dung môi (A2), độ cồn (B2) thì sự tương tác mang lại sự tiêu cực, nghĩa là làm suy giảm hàm lượng polyphenol chiết tách từ rau càng cua. Các biểu đồ bề mặt đáp ứng 3D được tạo ra bằng cách cố định một yếu tố ở mức 0, đồng thời thay đổi 2 yếu tố khác trong phạm vi thăm dò. Các biểu đồ 3D mô tả sự thay đổi các yếu tố được thể hiện ở hình 3.



Hình 4. Hàm kỳ vọng và điều kiện tối ưu hàm lượng polyphenol.

3.2. Đánh giá hiệu quả tối ưu hoá điều kiện chiết xuất

Sử dụng phần mềm Design expert 11.0, nghiên cứu đã xác định được các thông số tối ưu như sau (hình 4): Tỷ lệ dược liệu/dung môi=1/12,9229; Độ cồn: 36,019%; thời gian siêu âm: 26,5298 phút; số lần chiết: 2,99499 lần; hàm lượng polyphenol dự đoán: 9,863 mg/g.

Để kiểm tra tính tương thích của kết quả phương trình hồi quy từ phần mềm đối với thực nghiệm, nghiên cứu tiến hành thực hiện lại quá trình chiết xuất với điều kiện tối ưu đã lựa chọn, bao gồm: 1/12,93 g/ml; nồng độ ethanol 36%; thời gian siêu âm 26,53 phút; số lần chiết là 3. Thí nghiệm được thực hiện 3 lần và kết quả trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả thực nghiệm và giá trị dự đoán.

Tên mẫu	Hàm lượng polyphenol/g dược liệu khô (mg/g)	Kết quả dự đoán	% sai lệch so với giá trị dự đoán
RCC ₁	9,765	9,863	0,997
RCC ₂	9,642	9,863	2,236
RCC ₃	9,755	9,863	1,092
Trung bình	9,721	9,863	1,439

RCC: rau càng cua.

Hàm lượng polyphenol toàn phần trong 3 mẫu RCC thực nghiệm đạt trung bình là 9,721 mg GAE/g dược liệu khô so với giá trị dự đoán 9,863 mg GAE/g dược liệu khô (bảng 5). Sự khác biệt giữa hàm lượng polyphenol thực nghiệm và dự đoán bằng phần mềm không có ý nghĩa thống kê (phép kiểm T-student). Hơn nữa, phần trăm sai lệch của giá trị thực so với giá trị dự đoán thấp dưới 5% và mô hình tối ưu có độ lặp lại tốt. Do đó, mô hình tối ưu trong nghiên cứu này được chấp nhận.

Bảng 5. Hiệu quả chống oxy hoá của cao rau càng cua tối ưu và quercetin.

Nồng độ (µg/ml)	HTCO (%)			Nồng độ (µg/ml)	HTCO của quercetin (%)
	RCC ₁	RCC ₂	RCC ₃		
100	16,07	18,75	18,50	1	16,70
200	21,06	32,34	32,34	2	32,02
300	31,65	42,31	42,31	3	48,97
400	41,37	52,21	52,21	4	65,61
500	61,37	60,62	61,00	5	78,01

HTCO: hoạt tính chống oxy hóa; RCC: rau càng cua.

Cao RCC của nghiên cứu thu được có hàm lượng polyphenol toàn phần cao hơn vượt trội so với nghiên cứu của I. Ahmad và cs (2017) [4]. Nghiên cứu này đã tối ưu hoá cao RCC với các dung môi khác nhau và thu được hàm lượng lần lượt 16,147 (ethyl acetate), 33,577 (1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate), 15,734 (1-ethyl-3-methylimidazolium bromide) và 13,750 µg GAE/g (1-butyl-3 methylimidazolium bromide).

3.3. Đánh giá hoạt tính chống oxy hoá của rau càng cua tối ưu

Ba mẫu RCC₁, RCC₂, RCC₃ tối ưu tiếp tục được đánh giá hoạt tính chống oxy hoá thông qua thử nghiệm khử gốc tự do DPPH so với mẫu đối chiếu quercetin và được thể hiện ở bảng 5. Kết quả cho thấy, hoạt tính chống oxy hóa của cao RCC tỷ lệ thuận với nồng độ. Nồng độ cao càng cao, hoạt tính chống oxy hoá càng cao và ngược lại. Khi nồng độ cao RCC tăng từ 100 µg/ml tới 500 µg/ml thì hiệu quả loại bỏ gốc tự do cũng tăng dần lần lượt là RCC₁ từ 16,07 tới 61,37%; RCC₂ từ 18,75 tới 60,62%; RCC₃ từ 18,50 tới 61,00%.

Từ đồ thị biểu diễn sự tương quan giữa hoạt tính chống oxy hoá và nồng độ của các mẫu thử, sử dụng phần mềm Excel suy ra được phương trình tuyến tính dạng y=ax+b. Thay y=0% vào phương trình tính được kết quả IC₅₀ ở bảng 6.

Bảng 6. Giá trị IC₅₀ của các cao thử.

Mẫu	Phương trình hồi quy tuyến tính	R ²	IC ₅₀ (µg/ml)
Quercetin	y=15,62x+1,4019	0,9975	3,11
Cao RCC ₁	y=0,1014x+11,153	0,9991	383,11
Cao RCC ₂	y=0,1038x+10,293	0,9898	382,53
Cao RCC ₃	y=0,1049x+9,8131	0,9924	383,10
Giá trị trung bình mẫu RCC			382,91

RCC: rau càng cua.

Từ các phương trình hồi quy tuyến tính được thiết lập, để tài xác định giá trị IC₅₀ trung bình của 3 mẫu RCC là 382,91 µg/ml. Cao tối ưu RCC cũng thể hiện hoạt tính chống oxy hoá mạnh hơn rất nhiều so với các nghiên cứu trước đây. N.S. Zaharin và cs (2020) [14] cũng đánh giá hoạt tính chống oxy hoá của cao RCC với giá trị IC₅₀ là 5,57 mg/ml. M.T. Tran và cs (2022) [15] đã đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết *P. pellucida* với giá trị EC₅₀ là 730,34 µg/ml. Điều này có thể giải thích do nguồn dược liệu thu hái khác nhau, quá trình chiết xuất khác nhau cũng như nghiên cứu có sử dụng thêm biện pháp hỗ trợ siêu âm để có thể chiết xuất được nhiều hợp chất polyphenol.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng được mô hình toán học mô tả ảnh hưởng của 4 nhân tố chiết (nồng độ ethanol, tỷ lệ dược liệu/dung môi, thời gian siêu âm, số lần siêu âm) đến hàm lượng polyphenol toàn phần. Các thông số được lựa chọn tối ưu bao gồm: nồng độ ethanol 36%, tỷ lệ dung môi 1/12,93 g/ml, thời gian siêu âm 26,53 phút, 3 lần siêu âm. Với các thông số này, hàm lượng polyphenol toàn phần cao nhất đạt được là 9,765 mg GAE/g dược liệu khô và thể hiện hoạt tính chống oxy hoá với giá trị IC₅₀ trung bình 382,91 µg/ml.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] N.N.T. Nguyen, D.L. Vo, D.K. Dang, et al. (2023), "Research on preparation, antibacterial activities and antioxidant activities of *Peperomia pellucida* (L.) Kunth ethanol extract", *Cantho Journal of Medicine and Pharmacy*, **56**, pp.174-181 (in Vietnamese).
- [2] F.A. Blank, E. Maria, A. Robeto, et al. (2004), "Anti-inflammatory and analgesic activity of *Peperomia pellucida* (L.) HBK (Piperaceae)", *Journal of Ethnopharmacology*, **91(2-3)**, pp.215-218, DOI: 10.1016/j.jep.2003.12.030.
- [3] H. Sheik, S. Sikder, S. Paul, et al. (2013), "Hypoglycemic, anti-inflammatory and analgesic activity of *Peperomia pellucida* (L.) HBK (Piperaceae)", *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **4(1)**, pp.458-463, DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.4(1).458-63.
- [4] I. Ahmad, A. Yanuar, K. Mulia, et al. (2017), "Optimization of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of polyphenolic content from *Peperomia pellucida* (L.) Kunth using response surface methodology", *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **7(7)**, pp.660-665, DOI: 10.1016/j.apjtb.2017.06.010.
- [5] O.U. Igwe, N.M. Mgbemena (2014), "Chemical investigation and antibacterial activity of the leaves of *Peperomia pellucida* L. HBK (Piperaceae)", *Asian Journal of Chemical Pharmaceutical Research*, **2(1)**, pp.78-86.
- [6] A. Kurniawan, F.C. Saputri, Rissyelly, et al. (2016), "Isolation of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity of quercetin from *Peperomia pellucida*", *International Journal of PharmaTech Research*, **9(7)**, pp.115-121.
- [7] X. Zhang, C. Gu, B. Ahmad, et al. (2017), "Optimisation of extract method for *Cynomorium songaricum* Rupr. by response surface methodology", *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, DOI: 10.1155/2017/6153802.
- [8] H.N.T. Pham, V.T. Nguyen, Q.V. Vuong, et al. (2016), "Bioactive compound yield and antioxidant capacity of *Helicteres hirsuta* Lour. stem as affected by various solvents and drying methods", *Journal of Food Processing and Preservation*, **41(1)**, DOI: 10.1111/jfpp.12879.
- [9] S.B. Kedare, R.P. Singh (2011), "Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay", *Journal of Food Science and Technology*, **48(4)**, pp.412-422, DOI: 10.1007/s13197-011-0251-1.
- [10] X. Guan, H. Yao (2008), "Optimization of viscozyme L-assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology", *Food Chemistry*, **106(1)**, pp.345-351, DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.05.041.
- [11] J. Lai, H. Wang, D. Wang, et al. (2014), "Ultrasonic extraction of antioxidants from Chinese sumac (*Rhus typhina* L.) fruit using response surface methodology and their characterization", *Molecules*, **19(7)**, pp.9019-9032, DOI: 10.3390/molecules19079019.
- [12] L. Zhang, Y. Jiang, X. Pang, et al. (2019), "Simultaneous optimization of ultrasound-assisted extraction for flavonoids and antioxidant activity of *Angelica keiskei* using response surface methodology (RSM)", *Molecules*, **24(19)**, DOI: 10.3390/molecules24193461.
- [13] H. Cui, T. Lu, M. Wang, et al. (2019), "Flavonoids from *Morus alba* L. leaves: Optimization of extraction by response surface methodology and comprehensive evaluation of their antioxidant, antimicrobial, and inhibition of α-amylase activities through analytical hierarchy process", *Molecules*, **24(13)**, DOI: 10.3390/molecules24132398.
- [14] N.S. Zaharin, S.A. Wakid (2020), "Antioxidant activity and toxicity studies of *Vernonia cinerea*, *Peperomia pellucida* and the combination of *Vernonia cinerea* and *Peperomia pellucida*", *Journal of Academia*, **8(1)**, pp.24-28.
- [15] M.T. Tran, T.K.T. La, T.K.A. Nguyen, et al. (2022), "Antioxidant and *in vitro* antidiabetic activities of *Peperomia pellucida* (L.) Kunth extract", *Veterinary Integrative Sciences*, **20(3)**, pp.683-693, DOI: 10.12982/VIS.2022.052.