

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUY TRÌNH CHIẾT FLAVONOID TỪ (*ENHALUS ACOROIDES* (L.F.) ROYLE)

INVESTIGATION OF FACTORS INFLUENCING FLAVONOID EXTRACTION
FROM *ENHALUS ACOROIDES* (L.F.) ROYLE

Nguyễn Quang Tùng¹, Trịnh Thị Hương¹, Tống Duy Anh,
Trịnh Thị Thu Hương², Đoàn Lan Phương^{2,*}

DOI: <https://doi.org/10.57001/huih5804.2026.178>

TÓM TẮT

Enhalus acoroides (L.f.) Royle là loài cỏ biển nhiệt đới thuộc họ Hydrocharitaceae, được quan tâm như một nguồn tiềm năng các hợp chất flavonoid có hoạt tính sinh học phục vụ cho lĩnh vực dược phẩm và mỹ phẩm. Trong nghiên cứu này, quá trình chiết xuất flavonoid toàn phần từ loài cỏ biển *E. acoroides* được khảo sát và tối ưu hóa một cách hệ thống. Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định bằng phương pháp đo quang tạo phức với $AlCl_3$ và biểu thị theo quercetin tương đương (QE). Ảnh hưởng của các yếu tố như dung môi chiết, nồng độ ethanol, nhiệt độ chiết, thời gian chiết, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và số lần chiết đến hàm lượng flavonoid được khảo sát ban đầu bằng phương pháp đơn biến. Trên cơ sở đó, phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) theo thiết kế thí nghiệm Box-Behnken được áp dụng để tối ưu hóa các thông số chiết quan trọng. Kết quả cho thấy ethanol là dung môi chiết thích hợp hơn so với nước, trong đó ethanol 50% (v/v) cho hiệu suất thu hồi flavonoid cao nhất. Nhiệt độ và thời gian chiết có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng flavonoid, trong khi điều kiện chiết quá cao làm giảm hiệu suất, có thể do sự phân hủy nhiệt của các hợp chất flavonoid. Phân tích RSM cho thấy nồng độ ethanol, nhiệt độ chiết và thời gian chiết đều có ảnh hưởng tuyến tính và phi tuyến có ý nghĩa thống kê đến hàm lượng flavonoid toàn phần ($p < 0,05$). Điều kiện chiết tối ưu được xác định là ethanol khoảng 50%, nhiệt độ chiết 60°C và thời gian chiết 90 phút. Trong các điều kiện này, hàm lượng flavonoid thực nghiệm thu được phù hợp tốt với giá trị dự đoán của mô hình. Quy trình chiết tối ưu được xây dựng trong nghiên cứu này là cơ sở khoa học cho các nghiên cứu hóa học tiếp theo và góp phần định hướng khai thác *E. acoroides* như một nguồn flavonoid tự nhiên phục vụ phát triển dược phẩm và mỹ phẩm.

Từ khóa: *Enhalus acoroides*; cỏ biển; flavonoid; tối ưu hóa chiết xuất; phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM); thiết kế Box-Behnken; quercetin tương đương.

ABSTRACT

Enhalus acoroides (L.f.) Royle is a tropical sea grass that belongs to the Hydrocharitaceae family and is of interest as a potential source of biologically active flavonoid compounds that are useful to the pharmaceutical and cosmetic industries. This work was concerned with the extraction technique of total flavonoids of seagrass species *E. acoroides*. The total flavonoids were determined by the $AlCl_3$ complexation technique and expressed in quercetin equivalents (QE). The effect of extraction solvents, ethanol concentration, extraction temperature, extraction time, material/solvent ratio, and number of extractions on flavonoid content was studied initially by univariate methods. The results showed that ethanol was a better solvent for extraction than water, and 50% (v/v) ethanol showed the highest efficiency in recovering flavonoids. The factors influencing the concentration of the flavonoids are temperature and time of extraction. The yield drops in the case of very high extraction conditions, perhaps as a result of the thermal destruction of molecules of flavonoids. The results of the RSM analysis showed that ethanol concentration, extraction temperature, and extraction duration had significant linear and nonlinear influences on the total flavonoid content ($p < 0.05$). The optimal parameters for extraction were 50% ethanol, 60°C extraction temperature, and 90 min extraction time. The experimentally measured flavonoid content was close to the values predicted by the model under these conditions. The optimized extraction process presented in this work provides a scientific basis for further chemical investigations and contributes to the utilization of *E. acoroides* as a natural resource of flavonoids for medicinal and cosmetic purposes.

Keywords: *Enhalus acoroides*; seagrass; flavonoids; extraction optimization; response surface methodology (RSM); Box-Behnken design; quercetin equivalents.

¹Đại học Công nghiệp Hà Nội

²Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

*Email: doanlanphuong75@gmail.com

Ngày nhận bài: 28/3/2026

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 12/6/2026

Ngày chấp nhận đăng: 29/6/2026

1. GIỚI THIỆU

Các hợp chất tự nhiên được phân lập từ các sinh vật biển đã và đang thu hút sự chú ý của rất nhiều các nhà sinh vật học và hóa học trên toàn thế giới. Nguồn tài nguyên từ các động thực vật biển được khai thác để xác định thành phần hóa học và hoạt tính sinh học còn rất hạn chế. Tuy nhiên, chúng ta có thể thấy được tiềm năng rất lớn của nó như chất bổ sung dinh dưỡng, dược phẩm, mỹ phẩm, hóa chất nông nghiệp, đầu dò phân tử, enzym [1].... Flavonoid là chất chuyển hóa thứ cấp có trọng lượng phân tử thấp không chỉ được tìm thấy ở thực vật trên cạn mà còn được tìm thấy ở các nguồn sinh vật biển [2]. Các flavonoid từ sinh vật biển được phát hiện đầu tiên vào năm 1966 có gần 100 hợp chất flavonoid đã được phân lập [3]. Theo các nghiên cứu gần đây, các flavonoid từ nguồn sinh vật biển thể hiện nhiều hoạt tính sinh học có lợi, và do đó các sản phẩm tự nhiên này đã thu hút nhiều sự chú ý.

Trong 50 năm qua, các báo cáo về việc phân lập flavonoid biển ngày càng tăng, đặc biệt là flavone (68 hợp chất) và flavonol (23 hợp chất). Mặt khác, các flavonoid thuộc các nhóm khác khá hiếm, chỉ phân lập được hai flavan-3-ol, hai dihydrochalcone, một flavanone và một isoflavone. Mặc dù có sự đặc trưng về cấu trúc của các flavonoid biển, chúng vẫn được phân lập từ một số họ khác, đặc biệt là họ Hydrocharitaceae, họ Zosteraceae, họ Rhodomelaceae, Juncaceae và Tamaricaceae. Các flavonoid phân lập từ các sinh vật biển đã và đang thu hút các nhà khoa học vì chúng có những hoạt tính độc đáo và đầy triển vọng. Trên thực tế, một số flavonoid đã được báo cáo là không chỉ có các hoạt động dược lý (chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng u, chống đông máu và chống đái tháo đường), mà còn có các hoạt tính chống hà và chống ăn mòn, chứng tỏ tiềm năng của chúng như là hợp chất dẫn đầu cho ngành dược phẩm và hóa chất. Trong số các flavonoid biển, một số hợp chất khá phổ biến trong giới thực vật, cũng được phân lập từ các nguồn thực vật trên cạn apigenin, luteolin, quercetin, kaempferol, catechin và glycoside của chúng [4]. Các hoạt tính sinh học của các flavonoid này đã được một số nhà nghiên cứu xem xét rộng rãi gần đây. Điển hình, một số báo cáo chỉ ra rằng apigenin, luteolin, quercetin, kaempferol và catechin có hoạt động bảo vệ thần kinh, chống viêm, chống oxy hóa và chống ung thư cho thấy ứng dụng tiềm năng của chúng trong sản xuất thuốc. Ngoài những hoạt tính trên, apigenin, luteolin quercetin và kaempferol đã được báo cáo là có tác dụng có lợi đối với hệ tim mạch, cũng như đối với bệnh tiểu đường loại II, phòng ngừa và điều trị bệnh gan [5, 6]. Các flavonoid có nguồn gốc tự

nhiên, chẳng hạn như kaempferol, luteolin, quercetin và catechin cũng đã được báo cáo là có hiệu quả chống lại một loạt vi khuẩn và vi rút gây bệnh [7-9].

Hầu hết các flavonoid đã được phân lập từ cỏ biển (51%) và Halophyte (28%). Tuy nhiên, việc phân lập các hợp chất tự nhiên này cũng đã được báo cáo từ các nguồn sinh vật biển khác, chẳng hạn như tảo, động vật thân mềm, nấm, san hô và vi khuẩn...

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu cỏ lá dừa *Enhalus acoroides* (L.f.) Royle thu thập vào tháng 2/2023 tại Vịnh Vân Phong, tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam. Mẫu được định danh bởi PGS.TS. Đàm Đức Tiến, Viện Công nghệ năng lượng & Môi trường - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Tiêu bản được lưu giữ tại Viện Hoá học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 1. Mẫu cỏ lá dừa *Enhalus acoroides* (L.f.) Royle

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp định lượng flavonoid toàn phần

Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định bằng phương pháp đo quang phổ UV-Vis dựa trên phản ứng tạo phức giữa flavonoid và $AlCl_3$. Phương pháp này phù hợp cho mục tiêu so sánh sự thay đổi hàm lượng flavonoid trong các cao chiết thu được dưới những điều kiện chiết khác nhau. Mặc dù có thể chịu ảnh hưởng của một số hợp chất không phải flavonoid cũng tham gia phản ứng tạo màu, sai số này được xem là chấp nhận được khi so sánh các mẫu có cùng nguồn gốc nguyên liệu và quy trình xử lý tương đồng. Chất chuẩn quercetin được sử dụng để xây dựng đường chuẩn. Cân chính xác 10 mg quercetin chuẩn, hòa tan trong ethanol 96% và định mức đến 10mL để thu được dung dịch gốc. Từ dung dịch này, pha loãng để thu được dãy dung dịch chuẩn có nồng độ lần lượt là 20, 40, 60, 80 và 100 μ g/mL. Mỗi dung dịch chuẩn (4mL) được cho phản ứng lần lượt với 0,3mL dung dịch $NaNO_2$ 5% (5 phút), 0,3mL dung dịch $AlCl_3$ 10% (6

phút), sau đó thêm 2mL dung dịch NaOH 1M và định mức đến 10mL bằng ethanol 96%. Mẫu trắng được chuẩn bị tương tự nhưng không chứa quercetin. Độ hấp thụ được đo tại bước sóng 510nm. Kết quả cho thấy mối tương quan tuyến tính tốt giữa độ hấp thụ và nồng độ quercetin trong khoảng 20 - 100µg/mL với phương trình hồi quy $y = 0,0033x + 0,0026$ và $R^2 = 0,999$. Do đó, phương pháp được sử dụng để định lượng flavonoid toàn phần, kết quả biểu thị theo mg quercetin tương đương (QE).

2.2.2. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được thực hiện 3 lần, kết quả thu được là giá trị trung bình của các lần đo. Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS 16. One - way ANOVA, Tukey HSD's test được sử dụng để so sánh sự khác biệt giữa các giá trị trung bình. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được xác định khi $P < 0,05$. Kết quả cho thấy phần lớn flavonoid được thu hồi trong hai đến ba lần chiết đầu tiên. Từ lần chiết thứ tư trở đi, hàm lượng flavonoid thu được giảm mạnh và không đáng kể. Vì vậy, 3 lần chiết/mẻ được xem là hợp lý để đảm bảo hiệu suất và tiết kiệm chi phí.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các điều kiện chiết bao gồm: dung môi ethanol 50% (v/v), nhiệt độ chiết 60°C, thời gian chiết 90 phút, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1/25 (g/mL) và số lần chiết 3 lần. Quy trình này cho hiệu suất thu hồi flavonoid cao và ổn định, phù hợp cho cả nghiên cứu khoa học và định hướng ứng dụng trong phát triển nguyên liệu tự nhiên giàu flavonoid.

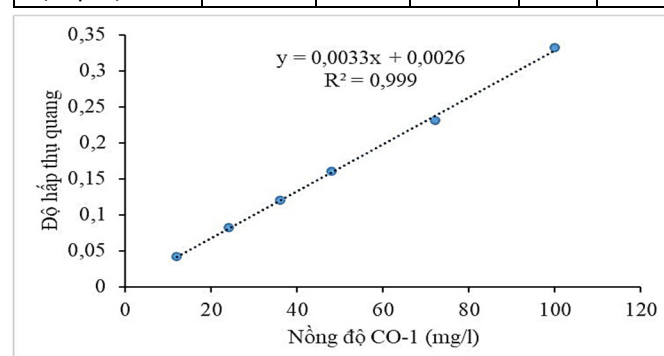
3.1. Phương pháp định lượng flavonoid

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp định lượng flavonoid toàn phần bằng phương pháp đo quang. Phương pháp này có ưu điểm là đơn giản và nhanh chóng, phù hợp với mục đích chính của nghiên cứu là khảo sát sự thay đổi của hàm lượng của tất cả các flavonoid trong cao chiết cỏ lá dừa theo các điều kiện chiết xuất. Nhược điểm chính của phương pháp này là có thể gây ra sai số hệ thống, khi một số hợp chất khác không phải flavonoid cũng cho phản ứng tạo màu. Tuy nhiên, sai số này có thể chấp nhận được nếu khi so sánh các cao của cùng dược liệu trong điều kiện chiết tương đồng. Phương pháp này tiến hành như sau: Xây dựng đường chuẩn: cân chính xác 10mg quercetin chuẩn hòa tan vào bình định mức 10ml EtOH 96%, rồi dung máy siêu âm cho đồng nhất. Lần lượt hút 0,5ml; 1ml; 1,5ml; 2ml; 2,5ml dung dịch cho bình định mức 10ml đánh số thứ tự 1, 2, 3, 4, 5. Thêm EtOH 96% đến vạch, lắc đều để dung dịch đồng nhất. Tiếp theo, hút 4ml từ bình 1, 2, 3, 4, 5 cho vào bình định mức 10ml đánh số thứ tự 1', 2', 3', 4', 5'.

Thêm 0,3ml dung dịch NaNO₂ 5% lần lượt các bình 1', 2', 3', 4', 5' chờ trong 5 phút. Thêm tiếp 0,3ml dung dịch AlCl₃ 10% và để phản ứng trong 6 phút. Cuối cùng, thêm 2ml NaOH 1M và thêm dung dịch EtOH 96% đến vừa đủ 10ml, lắc đều. Mẫu trắng được pha song song với mẫu chuẩn. Hút 4ml dung dịch EtOH 96% cho vào bình định mức 10ml. Sau đó, thêm 0,3ml dung dịch NaNO₂ 5% chờ trong 5 phút. Thêm tiếp 0,3ml dung dịch AlCl₃ 10% và để phản ứng trong 6 phút. Cuối cùng, thêm 2ml dung dịch NaOH 1M và thêm dung dịch EtOH 96% đến vừa đủ 10ml, lắc đều. Tiến hành xác định độ hấp thụ của mẫu trắng và mẫu thử bằng máy đo quang ở bước sóng 510nm. Từ đó, xây dựng đường chuẩn quercetin. Thí nghiệm với mẫu nguyên liệu (1mg/ml): Thực hiện tiến trình thí nghiệm tương tự như với quercetin. Xây dựng đường chuẩn quercetin: Để xác định khoảng tuyến tính, chất chuẩn quercetin được pha thành dãy dung dịch chuẩn có nồng độ 20; 40; 60; 80; 100µg/ml. Kết quả được trình bày ở bảng 1 và hình 1.

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

Nồng độ (mg/ml)	20	40	60	80	100
Độ hấp thụ	0,075	0,140	0,216	0,278	0,336



Hình 2. Đồ thị biểu thị mối tương quan giữa độ hấp thụ với nồng độ quercetin

Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định bằng phương pháp tạo phức với AlCl₃ và đo quang ở bước sóng 510nm. Quercetin được sử dụng làm chất chuẩn để xây dựng đường chuẩn trong khoảng nồng độ từ 20 - 100µg/mL. Kết quả cho thấy độ hấp thụ quang và nồng độ quercetin có mối tương quan tuyến tính chặt chẽ theo phương trình:

$$y = 0,0033x + 0,0026 \text{ với hệ số tương quan } R^2 = 0,999$$

Giá trị R^2 cao chứng tỏ phương pháp có độ tuyến tính tốt và phù hợp để xác định hàm lượng flavonoid toàn phần trong các mẫu nghiên cứu.

Kết quả bảng 1 và hình 2 cho thấy độ hấp thụ và nồng độ dung dịch quercetin có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ trong khoảng nồng độ từ 20 đến 100µg/ml theo phương trình $y = 0,0033x + 0,0026$, với $R^2 = 0,999$. Do đó,

phương pháp quang phổ được sử dụng để định lượng flavonoid toàn phần tại bước sóng 510nm.

3.2. Khảo sát dung môi chiết

Theo Azahar và cộng sự [3] thì nồng độ dung môi là yếu tố quan trọng nhất trong quá trình chiết các hợp chất thứ cấp nói chung và các hợp chất flavonoid nói riêng. Trong thí nghiệm này chúng tôi sử dụng dung môi là methanol, ethanol và nước. Tiến hành thí nghiệm ở nhiệt độ 50°C với tỉ lệ dược liệu/dung môi 1/10 (g/ml), thời gian chiết là 1 giờ, số lần chiết là 1. Kết quả cho thấy, hàm lượng flavonoid thu được từ 2 loại dung môi ethanol và methanol là xấp xỉ bằng nhau 40 và 42mg QE/gDW trong khi ở nước là 26mg QE/gDW. Kết quả khảo sát dung môi được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Sự ảnh hưởng của dung môi đến hàm lượng flavonoid trong cỏ lá dứa

STT	Dung môi	Hàm lượng flavonoid tổng số (mg QE/gDW)
1	Metanol	42,93 ± 0,34 ^a
2	Ehanol	40,27 ± 1,56 ^a
3	Nước	26,75 ± 1,39 ^b

Giá trị trình bày dưới dạng trung bình ± SD (n = 3). Các chữ cái khác nhau trong cùng cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

Sự khác biệt này có thể được giải thích bởi flavonoid là nhóm hợp chất polyphenol có độ phân cực trung bình, do đó hòa tan tốt hơn trong các dung môi hữu cơ phân cực như methanol và ethanol so với nước. Ngoài ra, các dung môi hữu cơ có khả năng thẩm thấu tốt vào cấu trúc tế bào thực vật, góp phần tăng cường quá trình giải phóng flavonoid vào môi trường chiết. Mặc dù methanol cho hàm lượng flavonoid cao hơn ethanol, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Hơn nữa, methanol có độc tính cao và không thích hợp cho các ứng dụng trong dược phẩm, thực phẩm và mỹ phẩm. Ngược lại, ethanol là dung môi an toàn, dễ thu hồi, có giá thành hợp lý và được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp chiết xuất dược liệu. Do đó, ethanol được lựa chọn làm dung môi cho các thí nghiệm tiếp theo. Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu trước đây cho thấy ethanol là dung môi hiệu quả để chiết flavonoid từ thực vật và các nguồn sinh vật biển nhờ khả năng hòa tan tốt các hợp chất phenolic có hoạt tính sinh học.

3.3. Khảo sát nồng độ dung môi

Sau khi lựa chọn được ethanol là dung môi thích hợp, ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến hiệu suất chiết flavonoid được khảo sát ở các nồng độ 40%, 50%, 60%, 70% và 96%. Các thí nghiệm được thực hiện trong cùng

điều kiện: nhiệt độ chiết 50°C, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:10 (g/mL), thời gian chiết 60 phút và một lần chiết. Kết quả khảo sát dung môi được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hàm lượng flavonoid tổng số

STT	Nồng độ cồn	Hàm lượng flavonoid tổng số (mg QE/gDW)
1	40%	40,72 ± 0,84 ^d
2	50%	67,98 ± 0,71 ^a
3	60%	58,10 ± 1,82 ^b
4	70%	46,64 ± 1,25 ^c
5	96%	42,10 ± 1,07 ^{cd}

Số liệu được trình bày dưới dạng M ± SD, với n = 3. Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức p < 0,05.

Kết quả bảng 3 cho thấy, nồng độ ethanol có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất chiết flavonoid từ cỏ lá dứa (*Enhalus acoroides*). Hàm lượng flavonoid toàn phần tăng từ 40,72 ± 0,84mg QE/gDW ở nồng độ ethanol 40% lên giá trị cao nhất 67,98 ± 0,71mg QE/gDW ở nồng độ ethanol 50%. Khi tiếp tục tăng nồng độ ethanol lên 60%, 70% và 96%, hàm lượng flavonoid giảm dần. Sự khác biệt này có thể được giải thích bởi flavonoid là nhóm hợp chất có độ phân cực trung bình. Hỗn hợp ethanol - nước ở nồng độ thích hợp giúp tăng khả năng trương nở của mô thực vật, tạo điều kiện cho dung môi thâm nhập vào tế bào và hòa tan các hợp chất flavonoid hiệu quả hơn. Ngoài ra, sự hiện diện của nước còn góp phần phá vỡ các tương tác giữa flavonoid và thành phần cấu trúc tế bào, từ đó nâng cao hiệu suất chiết. Khi nồng độ ethanol tăng quá cao, độ phân cực của dung môi giảm, làm hạn chế khả năng hòa tan các flavonoid phân cực và flavonoid glycoside. Do đó, hàm lượng flavonoid thu được giảm đáng kể ở các nồng độ ethanol từ 60% trở lên. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Azahar và cộng sự [3], trong đó hỗn hợp ethanol - nước ở nồng độ trung bình cho hiệu quả chiết flavonoid cao hơn so với ethanol tuyệt đối. Tương tự, Guan và cộng sự [4] khi nghiên cứu các hợp chất phenolic và flavonoid từ cỏ biển *Zostera marina* cũng ghi nhận rằng hệ dung môi ethanol - nước cho hiệu suất chiết cao hơn nhờ sự cân bằng thích hợp về độ phân cực. Từ các kết quả thu được, ethanol 40-60% được lựa chọn là nồng độ dung môi thích hợp cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.4. Khảo sát nhiệt độ chiết

Nhiệt độ là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hiệu quả chiết các hợp chất tự nhiên. Việc tăng nhiệt độ có thể làm giảm độ nhớt của dung môi, tăng khả năng hòa tan của hoạt chất, đồng thời thúc đẩy

quá trình khuếch tán và truyền khối giữa nguyên liệu và môi trường chiết. Tuy nhiên, nhiệt độ quá cao có thể làm phân hủy hoặc biến đổi cấu trúc của một số hợp chất có hoạt tính sinh học, trong đó có flavonoid. Sau khi xác định được ethanol 50% là dung môi thích hợp, ảnh hưởng của nhiệt độ chiết được khảo sát ở các mức 50, 60, 70 và 80°C. Các thí nghiệm được thực hiện trong cùng điều kiện: tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:10 (g/mL), thời gian chiết 60 phút và một lần chiết. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng flavonoid tổng số trong cỏ lá dứa

STT	Nhiệt độ	Hàm lượng flavonoid tổng số (mg QE/gDW)
1	50°	60,72 ± 0,53 ^b
2	60°	78,99 ± 1,38 ^a
3	70°	59,10 ± 1,94 ^b
4	80°	46,64 ± 0,88 ^c

Giá trị được biểu thị dưới dạng trung bình ± SD (n = 3). Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$.

Kết quả cho thấy nhiệt độ chiết có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng flavonoid toàn phần thu được từ *Enhalus acoroides*. Khi nhiệt độ tăng từ 50°C lên 60°C, hàm lượng flavonoid tăng từ 60,72 ± 0,53 lên 78,99 ± 1,38mg QE/gDW và đạt giá trị cao nhất tại 60°C. Sự gia tăng này có thể được giải thích bởi nhiệt độ cao làm tăng khả năng hòa tan của flavonoid, đồng thời thúc đẩy sự phá vỡ cấu trúc tế bào thực vật, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình khuếch tán hoạt chất vào dung môi. Tuy nhiên, khi nhiệt độ tiếp tục tăng lên 70°C và 80°C, hàm lượng flavonoid giảm đáng kể xuống còn 59,10 ± 1,94 và 46,64 ± 0,88mg QE/gDW. Hiện tượng này cho thấy mặc dù nhiệt độ cao có thể làm tăng tốc độ truyền khối, nhưng đồng thời cũng làm gia tăng nguy cơ phân hủy hoặc oxy hóa các hợp chất flavonoid nhạy cảm với nhiệt. Ngoài ra, nhiệt độ cao có thể làm tăng sự hòa tan của các tạp chất khác trong nguyên liệu, dẫn đến giảm hàm lượng flavonoid toàn phần xác định được trong dịch chiết. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với báo cáo của Azahar và cộng sự [14], trong đó nhiệt độ chiết ở mức trung bình (50 - 60°C) cho hiệu quả thu hồi flavonoid cao hơn so với các mức nhiệt độ cao hơn. Theo các tác giả, nhiệt độ làm tăng động năng của các phân tử và thúc đẩy sự giải phóng các hợp chất phenolic từ mô thực vật, tuy nhiên khi vượt quá ngưỡng tối ưu sẽ gây phân hủy hoạt chất. Xu hướng tương tự cũng được ghi nhận trên nhiều loài cỏ biển khác. Hawas [6] khi nghiên cứu *Thalassia hemprichii* và Qi và cộng sự [9] khi nghiên cứu các hợp chất phenolic từ họ Hydrocharitaceae đều cho thấy các hợp chất flavonoid

được chiết hiệu quả nhất ở khoảng nhiệt độ từ 50 - 70°C. Nhiệt độ quá cao có thể làm giảm hàm lượng flavonoid do sự phân hủy nhiệt hoặc oxy hóa các nhóm hydroxyl phenolic. Từ các kết quả thu được, nhiệt độ 50 - 60°C được lựa chọn là điều kiện thích hợp cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.5. Ảnh hưởng của thời gian chiết

Bên cạnh nhiệt độ, thời gian chiết cũng là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hiệu quả thu hồi flavonoid từ nguyên liệu thực vật. Thời gian tiếp xúc giữa dung môi và nguyên liệu càng dài thì quá trình khuếch tán các hợp chất flavonoid từ tế bào thực vật vào môi trường chiết càng diễn ra thuận lợi. Tuy nhiên, việc kéo dài thời gian chiết quá mức không phải lúc nào cũng làm tăng hiệu suất thu hồi hoạt chất. Sau khi xác định được dung môi ethanol 50% và nhiệt độ chiết thích hợp là 60°C, ảnh hưởng của thời gian chiết được khảo sát ở các mức 30, 60 và 90 phút. Các điều kiện thí nghiệm khác được giữ cố định. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng flavonoid tổng số

STT	Thời gian chiết	Hàm lượng flavonoid tổng số (mg QE/gDW)
1	30	40,72 ± 1,12 ^c
2	60	58,10 ± 1,45 ^b
3	90	78,99 ± 1,38 ^a
4	≥120	Không tăng đáng kể

Giá trị được biểu thị dưới dạng trung bình ± SD (n = 3). Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$.

Kết quả cho thấy thời gian chiết có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng flavonoid toàn phần thu được từ *Enhalus acoroides*. Hàm lượng flavonoid tăng dần từ 40,72 ± 1,12mg QE/gDW ở thời gian chiết 30 phút lên 58,10 ± 1,45mg QE/gDW ở 60 phút và đạt giá trị cao nhất 78,99 ± 1,38mg QE/gDW sau 90 phút chiết. Sự gia tăng này phản ánh quá trình khuếch tán liên tục của các hợp chất flavonoid từ mô thực vật vào dung môi trong suốt thời gian chiết. Tuy nhiên, khi kéo dài thời gian chiết lên trên 120 phút, hàm lượng flavonoid thu được không tăng đáng kể. Điều này cho thấy hệ thống đã tiến gần đến trạng thái cân bằng khuếch tán, khi nồng độ flavonoid trong nguyên liệu và trong dung môi đạt trạng thái tương đối ổn định. Ngoài ra, thời gian gia nhiệt kéo dài có thể làm gia tăng các phản ứng oxy hóa hoặc phân hủy một phần các hợp chất flavonoid, dẫn đến hiệu suất thu hồi không tiếp tục tăng. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Azahar và cộng sự [14], trong đó hiệu suất chiết flavonoid tăng đáng kể trong giai đoạn đầu của quá trình

chiết nhưng đạt trạng thái ổn định sau một khoảng thời gian nhất định. Tương tự, Dai và Mumper [2, 8] cũng cho rằng thời gian chiết kéo dài quá mức không những không cải thiện hiệu quả thu hồi các hợp chất phenolic mà còn có thể làm suy giảm chất lượng dịch chiết do sự phân hủy của các hoạt chất nhạy cảm với nhiệt. Đối với các loài cỏ biển, các nghiên cứu trên *Zostera marina*, *Thalassia hemprichii* và *Halophila stipulacea* cũng ghi nhận rằng thời gian chiết trung bình từ 60 - 120 phút thường đủ để thu hồi phần lớn các hợp chất flavonoid và polyphenol [4-8]. Việc kéo dài thời gian chiết chỉ làm tăng chi phí sản xuất, tiêu hao năng lượng và có thể ảnh hưởng đến độ ổn định của hoạt chất.

Từ các kết quả thu được, thời gian chiết 90 phút được lựa chọn là điều kiện thích hợp cho các thí nghiệm tiếp theo nhằm đảm bảo hiệu quả thu hồi flavonoid cao đồng thời duy trì tính kinh tế của quy trình chiết xuất.

3.6. Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi

Sau khi xác định được các điều kiện chiết thích hợp gồm dung môi ethanol 50%, nhiệt độ chiết 60 °C và thời gian chiết 90 phút, ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi đến hiệu quả thu hồi flavonoid được tiếp tục khảo sát ở các tỉ lệ 1:10, 1:15, 1:20, 1:25 và 1:30 (g/mL). Kết quả được trình bày ở bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/ dung môi đến hàm lượng flavonoid tổng số trong cỏ lá dừa

STT	Tỉ lệ nguyên liệu/dung môi	Hàm lượng flavonoid tổng số (mg QE/gDW)
1	1/10	40,72 ± 0,26 ^c
2	1/15	58,10 ± 0,94 ^b
3	1/20	66,14 ± 1,59 ^{ab}
4	1/25	78,99 ± 0,77 ^a
5	1/30	65,35 ± 0,91 ^{ab}

Giá trị được biểu thị dưới dạng trung bình ± SD (n = 3). Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$.

Kết quả cho thấy tỉ lệ nguyên liệu/dung môi có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng flavonoid toàn phần thu được từ *Enhalus acoroides*. Khi tăng lượng dung môi từ tỉ lệ 1:10 lên 1:25 (g/mL), hàm lượng flavonoid tăng từ 40,72 ± 0,26 lên 78,99 ± 0,77 mg QE/gDW. Điều này có thể được giải thích bởi quá trình chiết là quá trình truyền khối dựa trên sự chênh lệch nồng độ giữa nguyên liệu và dung môi. Khi lượng dung môi tăng, động lực khuếch tán tăng lên, tạo điều kiện thuận lợi cho sự hòa tan và khuếch tán flavonoid vào môi trường chiết. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng tỉ lệ dung môi lên 1:30 (g/mL), hàm lượng flavonoid

không tăng thêm mà có xu hướng giảm nhẹ. Phân tích thống kê cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa các tỉ lệ 1:20, 1:25 và 1:30 ($p > 0,05$), cho thấy quá trình chiết đã tiến gần đến trạng thái cân bằng trong khoảng khảo sát này. Khi đó, việc tăng thêm lượng dung môi không mang lại hiệu quả cải thiện đáng kể về khả năng thu hồi flavonoid. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây về chiết xuất flavonoid và polyphenol từ thực vật, trong đó hiệu suất chiết tăng theo lượng dung môi cho đến khi đạt trạng thái cân bằng truyền khối. Azahar và cộng sự [14] cũng ghi nhận rằng việc tăng tỉ lệ dung môi chỉ có tác dụng đến một giới hạn nhất định, sau đó hiệu quả chiết không cải thiện đáng kể. Tương tự, các nghiên cứu trên cỏ biển *Zostera marina*, *Thalassia hemprichii* và *Halophila stipulacea* cho thấy tỉ lệ nguyên liệu/dung môi từ 1:20 đến 1:30 thường đủ để thu hồi phần lớn các hợp chất phenolic và flavonoid. Việc sử dụng lượng dung môi quá lớn không những không làm tăng hiệu suất chiết mà còn làm gia tăng chi phí sản xuất, năng lượng cô đặc và lượng dung môi cần thu hồi. Xét cả hiệu quả thu hồi flavonoid và tính kinh tế của quy trình, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi 1:25 (g/mL) được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.7. Khảo sát số lần chiết/mẻ

Số lần chiết là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến khả năng thu hồi hoạt chất từ nguyên liệu thực vật. Trong quá trình chiết xuất, các hợp chất flavonoid hòa tan vào dung môi và khuếch tán từ bên trong tế bào ra môi trường chiết. Quá trình này tiếp tục diễn ra cho đến khi đạt trạng thái cân bằng nồng độ giữa nguyên liệu và dung môi. Do đó, việc xác định số lần chiết thích hợp là cần thiết nhằm đảm bảo thu hồi tối đa flavonoid đồng thời tiết kiệm dung môi, thời gian và chi phí sản xuất. Sau khi xác định được các điều kiện chiết thích hợp gồm ethanol 50%, nhiệt độ 60°C, thời gian chiết 90 phút và tỉ lệ nguyên liệu/dung môi 1:25 (g/mL), ảnh hưởng của số lần chiết được khảo sát từ 1 đến 4 lần chiết/mẻ. Kết quả được trình bày ở bảng 7.

Bảng 7. Ảnh hưởng của số lần chiết đến hàm lượng flavonoid tổng số trong cỏ lá dừa

STT	Số lần chiết/mẻ	Hàm lượng flavonoid tổng số (mg QE/gDW)
1	1	70,72 ± 0,27 ^a
2	2	72,93 ± 0,69 ^a
3	3	58,70 ± 1,53 ^b
4	4	40,62 ± 0,44 ^c

Giá trị được biểu thị dưới dạng trung bình ± SD (n = 3). Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$.

Kết quả cho thấy số lần chiết có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng flavonoid thu được. Hàm lượng flavonoid đạt $70,72 \pm 0,27\text{mg QE/gDW}$ ở lần chiết thứ nhất và tăng nhẹ lên $72,93 \pm 0,69\text{mg QE/gDW}$ ở lần chiết thứ hai. Tuy nhiên, sự khác biệt giữa hai lần chiết này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Từ lần chiết thứ ba trở đi, hàm lượng flavonoid giảm đáng kể và chỉ còn $40,62 \pm 0,44\text{mg QE/gDW}$ ở lần chiết thứ tư. Kết quả cho thấy phần lớn flavonoid đã được thu hồi trong hai lần chiết đầu tiên. Việc tiếp tục chiết thêm giúp thu hồi một lượng nhỏ flavonoid còn lại trong nguyên liệu, tuy nhiên hiệu quả giảm dần theo số lần chiết. Xu hướng này phù hợp với bản chất của quá trình truyền khối, khi nồng độ flavonoid trong nguyên liệu giảm dần sau mỗi lần chiết, làm giảm động lực khuếch tán vào dung môi. Các nghiên cứu trên thực vật và cỏ biển cũng cho thấy phần lớn các hợp chất phenolic và flavonoid thường được thu hồi trong 2 - 3 lần chiết đầu tiên, trong khi các lần chiết tiếp theo chỉ mang lại lượng hoạt chất không đáng kể nhưng làm gia tăng chi phí dung môi, năng lượng và thời gian xử lý. Do đó, xét trên cả hiệu quả thu hồi flavonoid và tính kinh tế của quy trình, số lần chiết thích hợp được lựa chọn là 3 lần/mẻ.

3.8. Tối ưu hóa quá trình chiết flavonoid bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM)

Trên cơ sở kết quả khảo sát đơn yếu tố, ba yếu tố có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng flavonoid toàn phần từ cỏ lá dừa (*Enhalus acoroides* (L.f.) Royle), bao gồm nhiệt độ chiết (A), tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (B) và nồng độ ethanol (C), được lựa chọn để tối ưu hóa bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology, RSM). Thiết kế Box-Behnken với ba yếu tố ở ba mức khảo sát được sử dụng nhằm đánh giá ảnh hưởng riêng rẽ và tương tác giữa các yếu tố đến hàm lượng flavonoid toàn phần.

Bảng 8. Ma trận thực nghiệm Box-Behnken ba yếu tố, nhiệt độ chiết, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và nồng độ ethanol

Biến	Yếu tố khảo sát	Mức thấp (-1)	Mức trung tâm (0)	Mức cao (+1)
A	Nhiệt độ chiết (°C)	30	60	90
B	Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (g/mL)	10	20	25
C	Nồng độ ethanol (%)	40	50	60

Các khoảng khảo sát của các biến được lựa chọn trên cơ sở kết quả khảo sát đơn yếu tố và tham khảo các nghiên cứu trước đây về chiết xuất flavonoid từ thực vật nhằm bảo đảm bao quát được vùng tối ưu của quá trình chiết. Các số liệu thực nghiệm được xử lý bằng phần mềm Design-Expert 7.0 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA). Phân tích

phương sai (ANOVA) được sử dụng để đánh giá mức độ phù hợp của mô hình hồi quy và mức độ ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến hàm lượng flavonoid toàn phần.

Phương pháp bề mặt chỉ tiêu theo thiết kế thí nghiệm của Box- Behnken với ba biến ba cấp độ được sử dụng. Các số liệu thu được từ quá trình chiết được xử lý trên phần mềm Design - Expert 7.0 (Stat-Ease. Inc. Minneapolis. USA) ANOVA được dùng để đánh giá kết quả thu được. Tiến hành giải bài toán tối ưu theo phương pháp "hàm mong đợi". Sử dụng phần mềm Design-Expert 7.0 để tiến hành tối ưu hóa nhằm xác định được giá trị của ba yếu tố mà tại đó hàm lượng flavonoid là cao nhất.

Áp dụng phương pháp phân tích hồi quy các số liệu thực nghiệm thu được mô hình đa thức bậc hai thể hiện hàm lượng flavonoid tổng số:

$$Y = + 715,01 - 18,44 \cdot A + 19,35 \cdot B - 19,15 \cdot C + 29,81 \cdot A \cdot B - 34,11 \cdot A \cdot C - 4,81 \cdot B \cdot C - 38,60 \cdot A^2 - 44,13 \cdot B^2 - 193,68 \cdot C^2$$

Trong đó, Y là hàm lượng flavonoid trong dịch chiết thu được các giá trị A, B, C lần lượt là các giá trị của các yếu tố, nhiệt độ tách chiết, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi nồng độ dung môi.

Phân tích ANOVA được sử dụng để đánh giá mô hình. Kết quả phân tích ANOVA được thể hiện qua bảng 9.

Bảng 9. Phân tích phương sai ANOVA của mô hình tách chiết dịch chiết

Thông số	SS	DF	MS	Chuẩn F	Giá trị P
Mô hình	1,987E+005	9	22081,33	50,77	< 0,0001
A	2720,67	1	2720,67	6,26	0,0409
B	2996,53	1	2996,53	6,89	0,0342
C	2934,56	1	2934,56	6,75	0,0355
AB	3555,71	1	3555,71	8,18	0,0244
AC	4653,26	1	4653,26	10,70	0,0137
BC	92,64	1	92,64	0,21	0,6584
A ²	6273,52	1	6273,52	14,43	0,0067
B ²	8199,86	1	8199,86	18,86	0,0034
C ²	1,579E+005	1	1,579E+005	363,19	< 0,0001
Residual	3044,22	7	434,89		
Lack of Fit	2441,70	3	813,90	5,4	0,0684
Sai số	602,52	4	150,63		
SS tổng	2,018E+005	16			

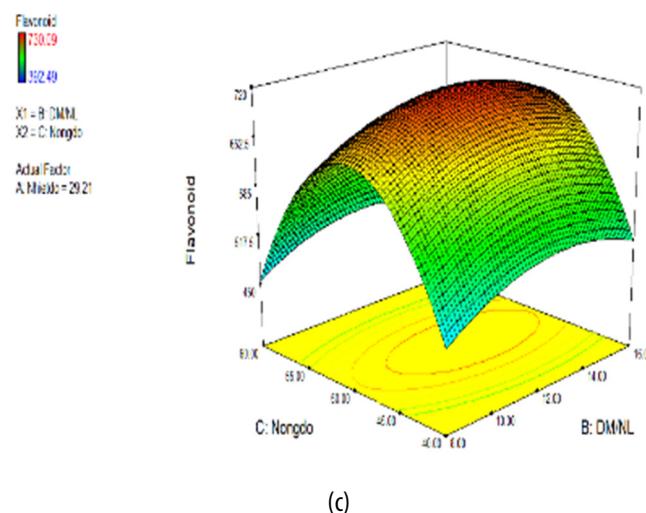
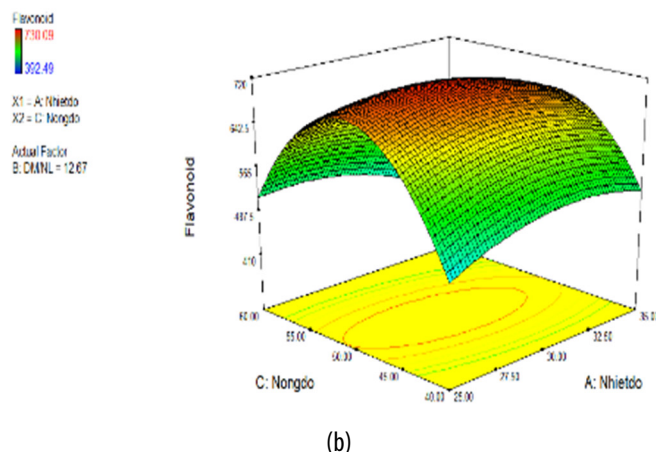
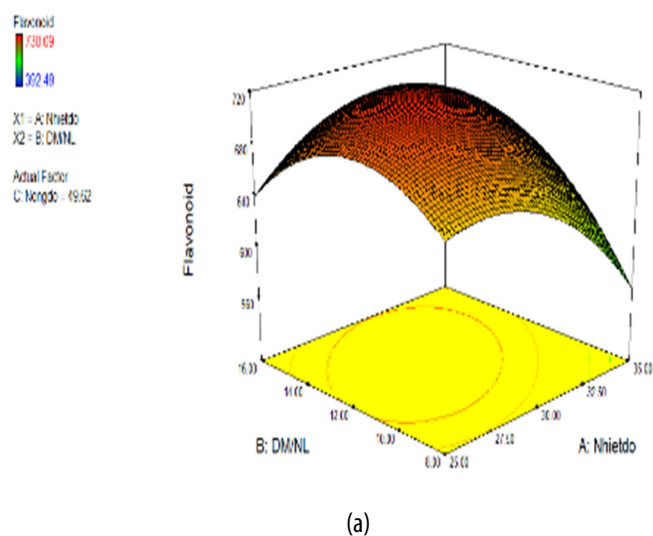
SS: Tổng phương sai; **DF:** Bậc tự do; **MS:** Trung bình phương sai; **Chuẩn F:** Chuẩn Fisher; **Residual:** Phần dư; **"Lack of Fit":** Chuẩn đánh giá độ không tương thích của mô hình với thực nghiệm

Kết quả phân tích ANOVA cho thấy mô hình hồi quy có ý nghĩa thống kê rất cao với giá trị $F = 50,77$ và $P < 0,0001$. Giá trị Lack of Fit bằng $0,0684 (> 0,05)$ chứng tỏ mô hình phù hợp với dữ liệu thực nghiệm và không có sự sai khác đáng kể giữa giá trị thực nghiệm và giá trị dự đoán. Hệ số xác định của mô hình đạt $R^2 = 0,9846$, cho thấy 98,46% sự biến thiên của hàm lượng flavonoid toàn phần được giải thích bởi mô hình hồi quy.

Các yếu tố tuyến tính A, B và C đều ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến hàm lượng flavonoid toàn phần ($P < 0,05$). Trong đó, ảnh hưởng bậc hai của nồng độ ethanol (C^2) là mạnh nhất ($P < 0,0001$), cho thấy nồng độ dung môi đóng vai trò quan trọng trong quá trình chiết flavonoid từ cỏ lá dứa. Bên cạnh đó, các tương tác AB và AC có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$), trong khi tương tác BC không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Các đồ thị bề mặt đáp ứng và đường đồng mức (hình 3) cho thấy sự tương tác giữa các yếu tố khảo sát ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng flavonoid toàn phần. Hàm lượng flavonoid tăng khi các yếu tố khảo sát tăng đến một giới hạn nhất định, sau đó giảm do ảnh hưởng bất lợi của nhiệt độ cao hoặc sự thay đổi độ phân cực của hệ dung môi.

Kết quả tối ưu hóa bằng phương pháp hàm mong đợi (desirability function) cho thấy điều kiện chiết thích hợp để thu nhận flavonoid từ cỏ lá dứa nằm trong vùng khảo sát gồm nồng độ ethanol khoảng 50%, nhiệt độ chiết khoảng 60°C và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi khoảng 1:25 (g/mL). Kết quả kiểm chứng thực nghiệm cho thấy hàm lượng flavonoid toàn phần thu được sai khác không đáng kể so với giá trị dự đoán của mô hình, chứng tỏ mô hình có độ tin cậy và khả năng ứng dụng trong dự đoán hiệu suất chiết flavonoid từ *Enhalus acoroides*.



Hình 3. Bề mặt đáp ứng hàm lượng flavonoid

(a) Mô hình tương tác giữa nhiệt độ tách chiết và tỉ lệ DM/NL (Nồng độ dung môi được giữ ở mức tối ưu); (b) Mô hình tương tác nhiệt độ chiết và nồng độ dung môi (tỉ lệ DM/NL được giữ ở mức tối ưu); (c) Mô hình tương tác tỉ lệ DM/NL và nồng độ dung môi (nhiệt độ chiết được giữ ở mức tối ưu)

$$R^2 = 1 - \frac{SS_{Residual}}{SS_{Total}}$$

$$R^2 = 1 - \frac{3044,22}{201800}$$

$$R^2 = 0,9849 \approx 98,49\%$$

$$Adj - R^2 = 1 - \frac{MS_{Residual}}{SS_{Total}/(n - 1)}$$

Với $n = 17$

$$Adj - R^2 \approx 0,9654 \approx 96,54\%$$

Hệ số xác định của mô hình đạt $R^2 = 0,9846$, cho thấy 98,46% sự biến thiên của hàm lượng flavonoid được giải thích bởi mô hình hồi quy.

Bề mặt đáp ứng và đường đồng mức (hình 3) cho thấy sự tương tác giữa các yếu tố khảo sát ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng flavonoid toàn phần. Hàm lượng flavonoid tăng khi nồng độ ethanol và nhiệt độ chiết tăng

đến một giới hạn nhất định, sau đó giảm khi các yếu tố này tiếp tục tăng, phản ánh sự tồn tại của vùng tối ưu trong phạm vi khảo sát.

Sử dụng phương pháp hàm mong đợi (desirability function) trên phần mềm Design-Expert 7.0 để tối ưu hóa đồng thời các yếu tố khảo sát. Kết quả cho thấy điều kiện tối ưu của quá trình chiết flavonoid từ cỏ lá dừa gồm: nồng độ ethanol khoảng 50%, nhiệt độ chiết khoảng 60°C và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi khoảng 1:25 (g/mL). Dưới các điều kiện này, hàm lượng flavonoid toàn phần đạt giá trị cao nhất trong phạm vi khảo sát.

Kết quả thực nghiệm kiểm chứng tại điều kiện tối ưu cho giá trị hàm lượng flavonoid toàn phần sai khác không đáng kể so với giá trị dự đoán của mô hình, chứng tỏ mô hình hồi quy xây dựng có độ tin cậy cao và có thể được sử dụng để dự đoán hiệu suất chiết flavonoid từ *Enhalus acoroides*.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã khảo sát ảnh hưởng của dung môi, nồng độ ethanol, nhiệt độ chiết, thời gian chiết, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và số lần chiết đến quá trình thu hồi flavonoid từ cỏ lá dừa (*Enhalus acoroides*). Trên cơ sở kết quả khảo sát đơn yếu tố, các biến quan trọng được tối ưu hóa bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) theo thiết kế Box-Behnken.

Mô hình hồi quy thu được có ý nghĩa thống kê cao ($P < 0,0001$; $R^2 = 0,9846$), cho thấy khả năng dự đoán tốt hàm lượng flavonoid toàn phần. Điều kiện chiết tối ưu được xác định gồm ethanol 50%, nhiệt độ 60°C, thời gian 90 phút, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:25 (g/mL) và 3 lần chiết. Dưới các điều kiện này, hàm lượng flavonoid toàn phần đạt giá trị cao nhất.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã cấp kinh phí cho đề tài: Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học cỏ lá dừa *Enhalus acoroides* (L.f.) Royle theo định hướng kháng khuẩn và chống oxy hóa ứng dụng trong mỹ phẩm, mã số VAST06.03/24-25.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Kumar S., Pandey A.K., "Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview," *Scientific World Journal*, 162750, 2013.
- [2]. Dai J., Mumper R.J., "Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties," *Molecules*, 15(10), 7313-7352, 2010.

- [3]. Azahar N.F., Gani S.S.A., Mokhtar N.F., "Optimization of Phenolics and Flavonoids Extraction Conditions of Curcuma zedoaria Leaves Using Response Surface Methodology," *Chemistry Central Journal*, 11, 96, 2017.

- [4]. Guan C., Parrot D., Wiese J., Sönnichsen F.D., Saha M., Tasdemir D., Weinberger F., "Identification of Rosmarinic Acid and Sulfated Flavonoids as Inhibitors of Microfouling on the Surface of Eelgrass *Zostera marina*," *Biofouling*, 33(10), 867-880, 2017.

- [5]. Enerstvedt K.H., Jordheim M., Andersen Ø.M., *Isolation and Identification of Flavonoids Found in Zostera marina Collected in Norwegian Coastal Waters*. University of Bergen, Norway, 2016.

- [6]. Hawas U.W., "A New 8-Hydroxy Flavone O-Xyloside Sulfate and Antibacterial Activity from the Egyptian Seagrass *Thalassia hemprichii*," *Chemistry of Natural Compounds*, 50(4), 629-632, 2014.

- [7]. Bitam F., Ciavatta M.L., Carbone M., Manzo E., Mollo E., Gavagnin M., "Chemical Analysis of Flavonoid Constituents of the Seagrass *Halophila stipulacea*: First Finding of Malonylated Derivatives in Marine Phanerogams," *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(4), 686-690, 2010.

- [8]. Qi S., Huang L., He F., Zhang S., Dong J., "Phytochemical and Chemotaxonomic Investigation of Seagrass *Thalassia hemprichii* (Hydrocharitaceae)," *Biochemical Systematics and Ecology*, 43, 128-131, 2012.

- [9]. Qi S.H., Zhang S., Qian P.Y., Wang B.G., "Antifeedant, Antibacterial and Antilaval Compounds from the South China Sea Seagrass *Enhalus acoroides*," *Botanica Marina*, 51(5), 441-447, 2008.

- [10]. Harborne J.B., Williams C.A., "Advances in Flavonoid Research Since 1992," *Phytochemistry*, 55(6), 481-504, 2000.

- [11]. Stalikas C.D., "Extraction, Separation, and Detection Methods for Phenolic Acids and Flavonoids," *Journal of Separation Science*, 30(18), 3268-3295, 2007.

- [12]. Khoddami A., Wilkes M.A., Roberts T.H., "Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds," *Molecules*, 18(2), 2328-2375, 2013.

- [13]. Naczek M., Shahidi F., "Extraction and Analysis of Phenolics in Food," *Journal of Chromatography A*, 1054, 95-111, 2004.

- [14]. Dent M., Dragovic-Uzelac V., Penic M., Bosiljkov T., Levaj B., "The Effect of Extraction Solvents, Temperature and Time on the Composition and Mass Fraction of Polyphenols of Dalmatian Wild Sage," *Food Technology and Biotechnology*, 51(1), 84-91, 2013.

AUTHORS INFORMATION

Nguyen Quang Tung¹, Trinh Thi Huong¹, Tong Duy Anh¹,
Trinh Thi Thu Huong², Doan Lan Phuong²

¹Hanoi University of Industry, Vietnam

²Institute of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam