

DOI:10.22144/ctujos.2026.110

TỐI ƯU QUY TRÌNH TRÍCH LY POLYPHENOL VÀ FLAVONOID CÓ HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA TỪ LOÀI NẤP ẨM HOA ĐÔI (*Nepenthes mirabilis*)

Võ Thành Khang¹, Tạ Bích Như¹, Tạ Thanh Hồng¹, Nguyễn Quốc Châu Thanh^{1,2} và Phạm Quốc Nhiên^{2*}

¹Phòng thí nghiệm Hóa dược, Tòa nhà Công nghệ cao, Đại học Cần Thơ, Việt Nam

²Bộ môn Hóa học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Đại học Cần Thơ, Việt Nam

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): pqnhiem@ctu.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 29/07/2025

Sửa bài (Revised): 11/08/2025

Duyệt đăng (Accepted): 17/04/2026

Title: Optimization of the extraction process of total polyphenols and flavonoids content associated with antioxidant activity from *Nepenthes mirabilis*

Author(s): Vo Thanh Khang¹, Ta Bích Như¹, Tạ Thanh Hồng¹, Nguyễn Quốc Châu Thanh^{1,2} and Phạm Quốc Nhiên^{2*}

Affiliation(s): ¹Medicinal Chemistry Laboratory, High-Tech Building, Can Tho University, Viet Nam; ²Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Can Tho University, Viet Nam

TÓM TẮT

Nắp ẩm hoa đôi (*Nepenthes mirabilis*) là loài dược liệu với hoạt tính sinh học đa dạng, đặc biệt là tiềm năng kháng oxy hóa. Trong nghiên cứu này, phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) theo mô hình Box-Behnken (BBD) đã được áp dụng nhằm tối ưu hóa quy trình trích ly cao chiết giàu polyphenol và flavonoid có hoạt tính kháng oxy hóa. Kết quả nghiên cứu cho thấy, quy trình trích ly cao chiết với sự hỗ trợ của sóng siêu âm bằng dung môi ethanol sau hai lần chiết đã đạt được hiệu quả tối ưu. Cụ thể, tỷ lệ dung môi/bột dược liệu là 29,57 mL/g, nồng độ ethanol là 79,08%, nhiệt độ trích ly là 61,67°C và thời gian trích ly là 29,49 phút. Kết quả thực nghiệm dưới với điều kiện này cho thấy, giá trị IC₅₀ trung hòa gốc tự do DPPH là 24,12 ± 0,89 µg/mL, hàm lượng polyphenol và flavonoid lần lượt là 559,06 ± 2,43 mgGAE/g cao chiết và 611,73 ± 1,97 mgQE/g cao chiết.

Từ khóa: Flavonoid, kháng oxy hóa, nắp ẩm hoa đôi, polyphenol, tối ưu hóa

ABSTRACT

Nepenthes mirabilis is a medicinal species with diverse biological activities, particularly its antioxidant potential. In this study, the Response Surface Methodology (RSM) using the Box-Behnken Design (BBD) was applied to optimize the extraction process of total polyphenol and flavonoid content associated with antioxidant activity. Optimal extraction conditions were achieved after two cycles, with a solvent-to-material ratio of 29.57 mL/g, an ethanol concentration of 79.08%, an extraction temperature of 61.67 °C, and an extraction time of 29.49 minutes. Under these conditions, the extract exhibited DPPH free radical scavenging activity with IC₅₀ value of 24.12 ± 0.89 µg/mL, consistent with the polyphenol and flavonoid contents of 559.06 ± 2.43 mgGAE/g and 611.73 ± 1.97 mgQE/g of extract, respectively.

Keywords: Antioxidant, flavonoid, nepenthes mirabilis, optimization, polyphenol

1. GIỚI THIỆU

Trong những năm gần đây, stress oxy hóa đã dần trở thành một trong những nguyên nhân chính gây ra nhiều bệnh lý mãn tính, bao gồm các bệnh lý tim mạch, tiểu đường, ung thư và các bệnh lý thần kinh. Quá trình này xảy ra khi có sự mất cân bằng giữa các gốc tự do và các chất chống oxy hóa trong cơ thể, khiến các gốc tự do tấn công, phá hủy các tế bào, DNA và protein (Jomova et al., 2025). Điều này không chỉ gây tổn thương tế bào mà còn thúc đẩy quá trình lão hóa và suy giảm chức năng của các cơ quan (Liguori et al., 2018). Kết quả các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng, với sự gia tăng ô nhiễm môi trường, chế độ ăn uống không lành mạnh và căng thẳng trong cuộc sống hiện đại, nguy cơ gặp phải tình trạng stress oxy hóa ngày càng cao (Goshtasbi et al., 2025; Vincenzo et al., 2023). Trước thực trạng này, việc tìm kiếm các nguồn dược liệu tự nhiên có khả năng chống oxy hóa mạnh đã trở thành một xu hướng đáng chú ý trong nghiên cứu và ứng dụng y học (Jomova et al., 2025; Kopustinskiene et al., 2020). Những dược liệu có nguồn gốc tự nhiên, đặc biệt là từ các loài thực vật, đang ngày càng được quan tâm như một giải pháp tiềm năng để cải thiện sức khỏe con người một cách xanh và sạch (Aware et al., 2022).

Nắp ấm hoa đôi (*Nepenthes mirabilis*) là một loài dược liệu nổi bật không chỉ nhờ vào khả năng sinh trưởng khác biệt mà còn vì hoạt tính sinh hóa đa dạng của nó, đặc biệt là tiềm năng kháng oxy hóa đáng mong đợi (Thanh et al., 2015; Thao et al., 2016). Kết quả các nghiên cứu đã chỉ ra rằng loài này chứa nhiều hoạt chất sinh học, bao gồm nhiều polyphenol và flavonoid, vốn nổi bật với đặc tính kháng oxy hóa, giúp bảo vệ cơ thể khỏi tác hại của các gốc tự do. Ngoài ra, loài này cũng chứa nhiều hợp chất có tiềm năng dược lý cao, có khả năng kháng viêm, kháng khuẩn và bảo vệ tế bào (Thanh et al., 2015; Thao et al., 2016). Tuy nhiên, hàm lượng các nhóm hợp chất có hoạt tính này trong chiết xuất của loài nắp ấm hoa đôi, đặc biệt là polyphenol và flavonoid lại chịu ảnh hưởng lớn bởi nhiều yếu tố, bao gồm nguồn nguyên liệu, phương pháp trích ly và điều kiện trích ly (Brglez et al., 2016). Chính vì vậy, việc xác định chính xác các yếu tố này tạo cơ sở vững chắc cho các nghiên cứu tiếp theo về tiềm năng hóa dược đáng chú ý của loài nắp ấm hoa đôi.

Để tối ưu khả năng trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học dược liệu, các điều kiện trích ly đóng vai trò vô cùng quan trọng. Các yếu tố như dung môi, nhiệt độ, thời gian trích ly và tỷ lệ bột dược liệu

cần được điều chỉnh sao cho hiệu quả trích ly đạt mức tối ưu, nhằm thu được các hợp chất sinh học có hoạt tính tiềm năng. Trong đó, việc áp dụng mô hình thiết kế thí nghiệm như Box-Behnken Design (BBD) đã được chứng minh là một phương pháp hiệu quả để tối ưu hóa quy trình trích ly. Mô hình BBD giúp tối thiểu hóa số lượng thí nghiệm cần thiết mà vẫn đảm bảo kết quả đáng tin cậy (Shao et al., 2024). Trong nghiên cứu này, mô hình BBD được áp dụng kết hợp với sự hỗ trợ của sóng siêu âm vào việc tối ưu quy trình trích ly cao chiết từ cây nắp ấm hoa đôi, một loài cây có tiềm năng chống oxy hóa rất cao nhưng chưa được khai thác nhiều trong các nghiên cứu hiện tại. Việc tối ưu hóa quá trình trích ly không chỉ giúp tăng cường hiệu quả chiết xuất các hợp chất sinh học có giá trị mà còn nâng cao khả năng ứng dụng của loài này trong các sản phẩm dược liệu, mỹ phẩm và thực phẩm chức năng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất

Các hóa chất và thuốc thử chính được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: ethanol (Chemsol, Việt Nam), thuốc thử Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Mỹ), gallic acid (Sigma-Aldrich, Mỹ), quercetin (Sigma-Aldrich, Mỹ), DPPH (Sigma-Aldrich, Mỹ). Một số hóa chất khác của Xilong, Trung Quốc.

2.2. Thu hái và xử lý mẫu

Cây nắp ấm hoa đôi tươi được thu hái vào tháng 1 năm 2023 tại đảo Phú Quốc, An Giang, Việt Nam và cây đã được định danh bởi TS. Nguyễn Thị Kim Huệ, Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Đại học Cần Thơ. Nguyên liệu tươi sau khi thu hái được sấy khô ở nhiệt độ 55°C trong 48 giờ (tủ sấy IKA, 2450 W), sau đó được nghiền thành bột (máy nghiền bột đa năng Xichu, 4500 W) và bảo quản ở nhiệt độ dưới 4°C. Độ ẩm của dược liệu được xác định theo phương pháp quy định trong Dược điển Việt Nam V (Bộ Y tế, 2017), với kết quả đo được là $8,08 \pm 0,39\%$.

2.3. Định lượng polyphenol toàn phần

Thuốc thử Folin-Ciocalteu được dùng để xác định hàm lượng polyphenol tổng. Cách tiến hành như sau: 200 μ L cao chiết (hoặc gallic acid) được pha với 200 μ L nước cất và 200 μ L thuốc thử Folin-Ciocalteu, lắc đều và ổn định trong 5 phút. Sau đó, 200 μ L dung dịch Na_2CO_3 10% được thêm vào, lắc đều và ủ ở 40°C trong 30 phút. Độ hấp thụ quang ở bước sóng 765 nm được đo bằng máy quang phổ vi phiên BioTek Epoch (Mỹ). Hàm lượng polyphenol được tính theo hàm lượng tương đương gallic acid (mgGAE/g) (Chandra et al., 2014).

2.4. Định lượng flavonoid toàn phần

Dựa trên nguyên tắc đo màu phức của $AlCl_3$ với flavonoid, quy trình thực hiện được xác định như sau: 200 μ L cao chiết (hoặc quercetin) được thêm vào 200 μ L nước cất và 40 μ L dung dịch $NaNO_2$ 5%, lắc đều và để yên 5 phút. Tiếp theo, 40 μ L dung dịch $AlCl_3$ 10% được thêm vào, lắc đều và để yên trong 6 phút. Sau đó, 400 μ L dung dịch $NaOH$ 1 M và 120 μ L nước cất được thêm vào, lắc đều. Việc đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 510 nm được thực hiện bằng máy quang phổ vi phần BioTek Epoch (Mỹ). Hàm lượng flavonoid được tính theo hàm lượng tương đương quercetin (mgQE/g) (Chandra et al., 2014)

2.5. Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH

Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH được thực hiện theo quy trình sau: 0,1 mL dung dịch DPPH nồng độ 3×10^{-3} M được trộn với 0,1 mL dịch chiết ở các nồng độ khác nhau và để trong bóng tối trong 30 phút. Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH được xác định thông qua việc theo dõi sự giảm độ hấp thụ quang tại bước sóng 517 nm bằng máy quang phổ vi phần BioTek Epoch (Mỹ) (Hussen & Endalew, 2023).

2.6. Đánh giá tác động của các yếu tố đơn

Cao chiết nắp ấm hoa đôi được trích ly kết hợp với sóng siêu âm có tần số 50 kHz, có tích hợp bể điều nhiệt (Lab Companion, UCP-10, 490 W). Khối lượng bột dược liệu được sử dụng là 1 gram. Dung môi trích ly được chọn là ethanol, do tính an toàn và phù hợp với xu hướng hóa học xanh. Số lần trích ly được cố định là hai lần. Các yếu tố đơn ảnh hưởng đến quá trình trích ly được khảo sát lần lượt theo thứ tự bao gồm tỷ lệ dung môi/bột dược liệu, nồng độ dung môi, thời gian và nhiệt độ trích ly. Việc thử nghiệm khảo sát tỷ lệ dung môi/bột dược liệu được thực hiện ở điều kiện như sau: nồng độ dung môi 100%, thời gian trích ly 20 phút và nhiệt độ trích ly 30°C, trong đó, tỷ lệ dung môi/bột dược liệu được điều chỉnh để xác định điều kiện tối ưu của yếu tố này. Điều kiện tối ưu này được áp dụng cho khảo sát yếu tố đơn tiếp theo. Dịch sau khi chiết được lọc và cô đặc dưới áp suất 150 - 200 mbar, ở nhiệt độ 50°C, bằng hệ thống cô quay chân không Buchi R300 và đông khô bằng máy đông khô Fistek, model BFD4.5/-50. Hàm lượng polyphenol và flavonoid trong cao trích ly được xác định, đồng thời hoạt tính kháng oxy hóa cũng được đánh giá thông qua khả năng trung hòa gốc tự do DPPH (Khang và ctv., 2024).

2.7. Thiết kế mô hình Box-behnken

Các điều kiện cụ thể được mã hóa và đưa vào phần mềm Design Expert 12.0. Số nghiệm thức xung quanh là 24 nghiệm thức. Số nghiệm thức trung tâm lặp lại 5 lần và được lựa chọn dựa trên các kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đơn. Kết quả đánh giá dựa trên hàm lượng polyphenol, flavonoid và giá trị IC_{50} của hoạt động trung hòa gốc tự do DPPH. Các nghiệm thức trong mô hình được thực hiện với 3 lần lặp lại (Khang và ctv., 2024).

2.8. Phân tích thống kê dữ liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại ba lần. Phương pháp phân tích phương sai một chiều (ANOVA) trong phần mềm Prism phiên bản 9.0 (GraphPad Software Inc., Mỹ) được sử dụng để xử lý thống kê.

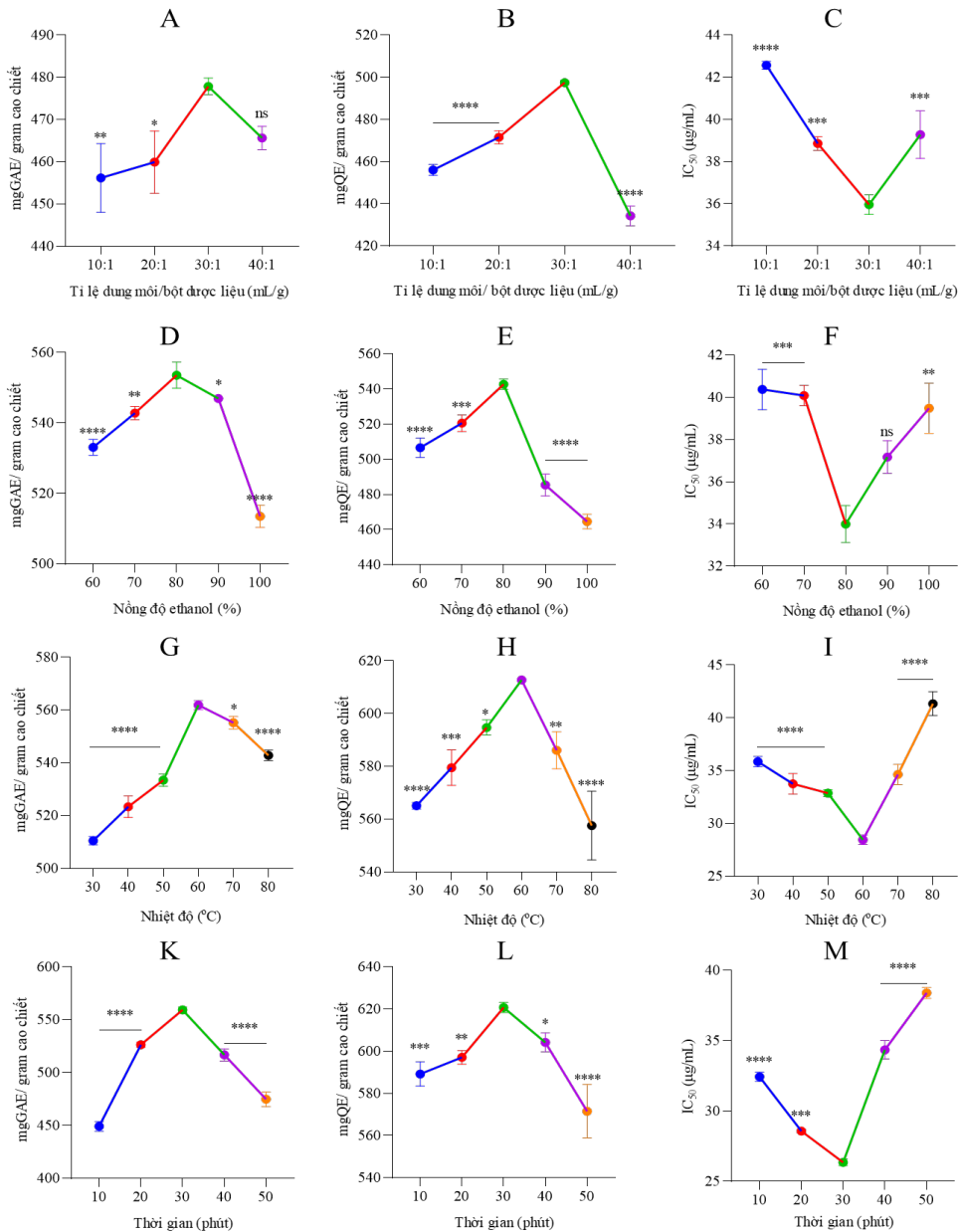
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tác động của tỷ lệ dung môi/bột dược liệu

Tỷ lệ dung môi/bột dược liệu có ảnh hưởng trực tiếp đến cả quá trình trích ly các hợp chất polyphenol, flavonoid và hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết nắp ấm hoa đôi. Cụ thể, kết quả cho thấy sự biến động rõ rệt trong hàm lượng polyphenol, flavonoid, cũng như giá trị IC_{50} của thử nghiệm trung hòa gốc tự do DPPH (Hình 1A, Hình 1B và Hình 1C). Tại tỷ lệ dung môi/bột dược liệu 30:1 mL/g, hàm lượng polyphenol và flavonoid đạt mức cao nhất, lần lượt là $477,87 \pm 1,99$ mgGAE/g cao chiết và $497,49 \pm 0,92$ mgQE/g cao chiết. Đồng thời, kết quả đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa cũng cho thấy giá trị $IC_{50} = 35,96 \pm 0,47$ μ g/mL. Hiện tượng này có thể được giải thích bởi sự khác biệt giữa nồng độ chất tan và dung môi trong một khối lượng mẫu nhất định, từ đó ảnh hưởng đến quá trình chuyển hợp chất từ pha rắn vào pha lỏng để đạt được trạng thái cân bằng, làm tăng hàm lượng các chất được trích ly (Samuagam et al., 2013). Tuy nhiên, khi tỷ lệ dung môi/bột dược liệu được tăng lên 40:1, hàm lượng polyphenol và flavonoid bắt đầu giảm dần, đồng thời giá trị IC_{50} của hoạt tính trung hòa DPPH tăng lên, làm giảm hoạt tính kháng oxy hóa. Điều này có thể do sự chênh lệch giữa các hợp chất có hoạt tính mạnh và yếu được trích ly khi thể tích dung môi tăng. Cụ thể, với tỷ lệ dung môi/bột dược liệu cao, dung môi không chỉ hòa tan các hợp chất có hoạt tính mạnh mà còn dễ dàng trích ly những hợp chất có tác dụng yếu, điều này có thể làm giảm đi nồng độ của các hợp chất có hiệu quả kháng oxy hóa cao. Kết quả này cũng tương đồng với kết quả của một nghiên cứu khác trên cây hoàn ngọc đỏ (*Strobilanthes schomburgkii*), khi tỉ lệ dung môi/bột

được liệu và hoạt tính sinh học tỉ lệ thuận với nhau đến một tỉ lệ nhất định, sau đó hoạt tính chiết xuất giảm dần (Khang và ctv., 2024). Vì vậy, tỷ lệ dung

môi/bột dược liệu 30:1 được xác định là tỷ lệ tối ưu cho quá trình trích ly trong các khảo sát tiếp theo.



Hình 1. Tác động của các yếu tố đơn đến hiệu quả trích ly polyphenol và flavonoid có hoạt tính kháng oxy hóa từ loài nắp ấm hoa đỏ

Ghi chú: Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi/bột dược liệu đến hàm lượng polyphenol (A), flavonoid (B) và hoạt tính trung hòa gốc tự do DPPH (C). Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hàm lượng polyphenol (D), flavonoid (E) và hoạt tính trung hòa gốc tự do DPPH (F). Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hàm lượng polyphenol (G), flavonoid (H) và hoạt tính trung hòa gốc tự do DPPH (I). Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hàm lượng polyphenol (K), flavonoid (L) và hoạt tính trung hòa gốc tự do DPPH (M). Các kết quả được biểu thị dưới dạng trung bình ± SD (n = 3) với ****: p < 0,0001, ***: p < 0,001, **: p < 0,01, *: p < 0,05 cho thấy sự khác biệt về mặt thống kê so với điều kiện tối ưu; ns: p > 0,05 cho thấy không có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê.

3.2. Tác động của nồng độ dung môi

Trong quá trình trích ly, nồng độ dung môi đóng vai trò quan trọng trong việc hòa tan các hợp chất có hoạt tính sinh học; sự thay đổi nồng độ dung môi có thể làm thay đổi mức độ trích ly các hợp chất này. Ở nồng độ dung môi ethanol 80%, hàm lượng polyphenol và flavonoid đạt mức cao nhất, lần lượt là $553,57 \pm 3,69$ mgGAE/g cao chiết và $542,76 \pm 2,92$ mgQE/g cao chiết. Đồng thời, kết quả đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa cũng cho thấy giá trị $IC_{50} = 33,99 \pm 0,87$ μ g/mL (Hình 1D, Hình 1E và Hình 1F). Việc tăng nồng độ dung môi ethanol trong quá trình trích ly có thể thúc đẩy khả năng hòa tan các hợp chất kém phân cực, giúp cải thiện hiệu quả trích ly các chất có tính chất hóa học đặc thù. Ngược lại, khi nồng độ dung môi ethanol quá thấp, khả năng hòa tan bị hạn chế, dẫn đến việc không thể trích ly tối đa các hợp chất polyphenol và flavonoid có trong bột dược liệu. Điều này làm giảm hiệu quả trích ly, khiến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học cao không được phân tán đầy đủ (Lee et al., 2024). Ở một nghiên cứu khác trên cây cây núc nác (*Oroxylum indicum* L.), kết quả tương tự về khả năng hòa tan các hợp chất cũng được ghi nhận, khi nồng độ ethanol 70% là tối ưu trong nghiên cứu (Anh và ctv., 2022). Do đó, nồng độ dung môi ethanol 80% đã được xác định là tỷ lệ tối ưu cho quá trình trích ly trong các nghiên cứu tiếp theo, điều này đảm bảo hiệu quả trích ly cao nhất mà không làm giảm chất lượng của các hợp chất sinh học có giá trị.

3.3. Tác động của nhiệt độ

Nhiệt độ trích ly có ảnh hưởng đáng kể đến hoạt tính của cao chiết nắp ấm hoa đôi, chủ yếu nhờ vào việc tăng cường khả năng khuếch tán, sự chuyển động và va chạm của các phân tử trong dung môi, cũng như khả năng hòa tan của các hợp chất khi nhiệt độ tăng, đặc biệt là khi được hỗ trợ bởi sóng siêu âm. Hơn nữa, nhiệt độ cao cũng thúc đẩy quá trình phá vỡ màng tế bào, từ đó làm tăng cường khả năng thâm thấu của dung môi vào bên trong tế bào. Cụ thể, khi nhiệt độ được nâng từ 30°C lên 50°C, hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính của cao chiết tăng dần (Hình 1G, Hình 1H và Hình 1I). Giá trị IC_{50} đạt mức thấp nhất tại nhiệt độ 60°C với $IC_{50} = 28,45 \pm 0,45$ μ g/mL, giá trị hàm lượng polyphenol, flavonoid lần lượt là $561,87 \pm 1,68$ mgGAE/g cao chiết và $612,75 \pm 0,37$ mgQE/g cao chiết. Tuy nhiên, khi nhiệt độ tiếp tục tăng lên 70°C và 80°C, hoạt tính lại có xu hướng giảm dần, với giá trị IC_{50} tăng lên, hàm lượng polyphenol và flavonoid giảm. Hiện tượng này có thể giải thích bởi sự phân hủy của các hợp chất có hoạt tính tại nhiệt độ quá

cao (ElGamal et al., 2023). Ở một nghiên cứu về tối ưu hóa quy trình chiết xuất lá sa kê (*Artocarpus altilis*), kết quả cho thấy nhiệt độ cao hơn 70°C cũng làm phân hủy đáng kể các polyphenol và flavonoid (Lan & Linh, 2022). Do đó, nhiệt độ 60°C được chọn là điều kiện tối ưu để khảo sát các yếu tố tiếp theo trong quá trình trích ly.

3.4. Tác động của thời gian chiết

Thời gian là một yếu tố then chốt cần được khảo sát trong quá trình trích ly, bởi nó không chỉ ảnh hưởng đến hiệu quả chiết xuất các hợp chất có hoạt tính sinh học mà còn giúp tối ưu hóa chi phí và năng suất. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng, khi thời gian trích ly được kéo dài từ 10 phút đến 30 phút, hoạt tính kháng oxy hóa tăng dần, với giá trị IC_{50} đạt mức tốt nhất là $26,36 \pm 0,23$ μ g/mL (Hình 1K, Hình 1L và Hình 1M), hàm lượng polyphenol và flavonoid lần lượt là $559,45 \pm 2,60$ mgGAE/g cao chiết và $620,78 \pm 2,43$ mgQE/g cao chiết. Trong suốt giai đoạn này, quá trình tương tác giữa pha rắn và pha lỏng diễn ra chủ yếu nhờ vào sự khuếch tán các hợp chất từ bột dược liệu vào dung môi, tiến đến trạng thái cân bằng. Đây là giai đoạn chủ yếu mà phần lớn các hợp chất có hoạt tính được trích ly ra. Tuy nhiên, khi thời gian trích ly tiếp tục được kéo dài, hàm lượng các hợp chất trong dung dịch tăng lên, điều này đã làm thay đổi nồng độ của dung dịch thử nghiệm, dẫn đến sự giảm sút hiệu quả hoạt tính. Cụ thể, khi thời gian trích ly được kéo dài đến 50 phút, sự gia tăng hàm lượng chất trích ly đã không còn tỷ lệ thuận với hoạt tính kháng oxy hóa, mà thay vào đó gây ra sự giảm dần của hoạt tính. Mặc khác, sau thời gian này, hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính kháng oxy hóa giảm đáng kể do thời gian tiếp xúc với sóng siêu âm kéo dài (Prawira-Atmaja & Puangpraphant, 2025). Trong một nghiên cứu khác về tối ưu khả năng kháng viêm của cao chiết, khi thời gian chiết dưới tác động của sóng siêu âm vượt quá 15 phút, các hợp chất có hoạt tính bắt đầu giảm dần (Khang và ctv., 2024). Từ những phân tích trên, có thể kết luận rằng thời gian 30 phút là khoảng thời gian tối ưu cho quá trình trích ly trong nghiên cứu này, mang lại hiệu quả cao nhất trong việc chiết xuất các hợp chất có hoạt tính sinh học.

3.5. Kết quả thiết kế mô hình Box-behnken

Dựa trên các yếu tố tác động đến quá trình trích ly các hợp chất polyphenol và flavonoid có hoạt tính kháng oxy hóa từ bột dược liệu cây nắp ấm hoa đôi có hỗ trợ sóng siêu âm bằng phương pháp bề mặt đáp ứng đã được áp dụng theo mô hình Box-Behnken, với bốn yếu tố A, B, C và D tương ứng với các yếu tố: tỷ lệ dung môi/bột dược liệu, nồng

độ ethanol, nhiệt độ trích ly và thời gian trích ly. Các giá trị của bốn yếu tố này được chọn sao cho chúng dao động quanh điểm trung tâm cố định của từng yếu tố đơn, mã hóa vào phần mềm Design Expert 12.0 theo các mức mức thấp, trung bình và cao (Bảng 1), từ đó quy trình tối ưu hóa quá trình trích ly được đã xây dựng (Anh và ctv., 2022; Khang và ctv., 2024). Mô hình nghiên cứu này được thiết kế với ba nhóm đáp ứng bề mặt độc lập, bao gồm: hàm lượng polyphenol (mô hình ký hiệu là TPC), flavonoid (mô hình ký hiệu là TFC) và hoạt tính kháng oxy hóa dựa trên phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH (mô hình ký hiệu là IC₅₀). Sau đó, ảnh hưởng của các yếu tố đơn được xác định đồng thời trên cả ba mô hình này và đưa ra điều kiện để cả ba mô hình đạt kết quả tối ưu nhất.

Kết quả thực nghiệm thu được từ các nghiệm thức được đề xuất bởi phần mềm Design Expert 12.0, bao gồm 5 nghiệm thức trung tâm và 24 nghiệm thức xung quanh (các nghiệm thức này được chia thành 3 nhóm lặp lại ba lần thành 87 nghiệm thức độc lập để tránh sai số do các yếu tố ngoại lai) (Khang và ctv., 2024). Cụ thể, hàm lượng polyphenol, flavonoid thấp nhất là 453,46 ± 2,08 mgGAE/g cao chiết và 404,27 ± 1,10 mgQE/g cao chiết, song song đó giá trị IC₅₀ cao nhất được ghi nhận là 35,26 ± 0,95 µg/mL. Đặc biệt, hàm lượng polyphenol, flavonoid cao nhất và giá trị IC₅₀ của hoạt tính trung hòa gốc tự do DPPH đạt mức thấp tập trung chủ yếu ở 5 nghiệm thức trung tâm, với các điều kiện A: 30 mL/g, B: 80%, C: 60°C, D: 30 phút. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức này và các nghiệm thức còn lại thể hiện rõ rệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 1. Giá trị mã hóa các điều kiện của các yếu tố vào phần mềm Design Expert 12.0.

Yếu tố	Mức thấp (-1)	Mức trung bình (0)	Mức cao (+1)
A	20	30	40
B	70	80	90
C	50	60	70
D	20	30	40

Phần mềm Design Expert 12.0 đã cung cấp kết quả phân tích ANOVA và được sử dụng để đánh giá mô hình tối ưu hóa như trình bày trong Bảng 2. Mức độ không phù hợp với giá trị p -value của Lack of fit là 0,1163 (TPC), 0,8064 (TFC), 0,4297 (IC₅₀) của cả ba mô hình dự đoán không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), điều này chỉ ra rằng sai số của mô hình là

không đáng kể (Anh và ctv., 2022). Hệ số xác định $R^2 = 0,9952$ (TPC), 0,9703 (TFC), 0,9675 (IC₅₀) của mô hình dự đoán cao hơn 0,95, điều này chứng minh sự phù hợp cao của mô hình với dữ liệu thực nghiệm và khả năng dự đoán mạnh mẽ cũng được chỉ ra qua Predicted R^2 gần với Adjusted R^2 (Bảng 3) (Pyne & Paria, 2022). Giá trị Lack of fit với $p > 0,05$ và $R^2 > 0,8$ khẳng định rằng mô hình có tính ứng dụng thực tế tốt và ý nghĩa thực nghiệm cao, đồng thời củng cố độ tin cậy của phương trình hồi quy tuyến tính trong việc dự đoán hàm lượng TPC, TFC và giá trị IC₅₀ của hoạt động trung hòa gốc tự do DPPH (Khang và ctv., 2024). Mặt khác, các mô hình có F-value lớn và p -value < 0,0001, điều này chứng tỏ mô hình có sự tương quan tốt với phân tích phương sai và có ý nghĩa thống kê rõ rệt (Yến và ctv., 2022).

Phương trình hồi quy có dạng hàm bậc hai của hàm lượng polyphenol (mô hình TPC), phụ thuộc vào các yếu tố độc lập như tỷ lệ dung môi/bột dược liệu, nồng độ ethanol, nhiệt độ và thời gian trích ly; đồng thời, hàm lượng polyphenol còn chịu sự tác động của các tương tác giữa các yếu tố như tỷ lệ dung môi/bột dược liệu với nhiệt độ, tỷ lệ dung môi/bột dược liệu với nhiệt độ trích ly và nồng độ ethanol với nhiệt độ trích ly (p -value < 0,0001). Kết quả gần như tương đồng cũng được ghi nhận ở phương trình hồi quy có dạng hàm bậc hai của hoạt tính kháng oxy hóa dựa trên phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH (mô hình ký hiệu là IC₅₀). Tuy nhiên, ở phương trình hồi quy có dạng hàm bậc hai của hàm lượng flavonoid (mô hình TPC), không phụ thuộc vào các yếu tố độc lập mà chỉ chịu sự tác động của các tương tác giữa các yếu tố như tỷ lệ dung môi/bột dược liệu với thời gian, nhiệt độ với thời gian trích ly (p -value < 0,0001). Bên cạnh đó, các hệ số bình phương của các yếu tố cũng thể hiện ý nghĩa thống kê cao, cho thấy rằng các yếu tố này có thể tạo ra tác động phi tuyến tính đối với kết quả trích ly. Điều này có nghĩa là mối quan hệ giữa các yếu tố và kết quả không phải lúc nào cũng theo dạng tuyến tính, mà có thể xuất hiện các điểm tối ưu hoặc cực trị. Hiện tượng này đóng vai trò quan trọng trong việc tối ưu hóa quy trình trích ly, vì nó không chỉ giúp hiểu rõ ảnh hưởng riêng biệt của từng yếu tố mà còn làm rõ các vai trò của các yếu tố này khi chúng tương tác với nhau. Kết quả một nghiên cứu khác trên cây hồng sim (*Rhodomyrtus tomentosa*) cũng ghi nhận kết quả tương tác phức tạp của các yếu tố đơn đến quy trình chiết polyphenol (Yến và ctv., 2022).

Bảng 2. Phân tích ANOVA của các yếu tố dựa trên kết quả thực nghiệm trên mô hình Box-Behnken bởi phần mềm Design Expert 12.0.

Source	F-value			p-value		
	TPC	TFC	IC ₅₀	TPC	TFC	IC ₅₀
Model	1.040,37	163,56	149,00	<0,0001	<0,0001	<0,0001
A-Tỉ lệ dung môi/bột dược liệu	34,31	0,3777	134,40	<0,0001	0,5408	<0,0001
B-Nồng độ ethanol	145,21	0,0043	300,44	<0,0001	0,9478	<0,0001
C-Nhiệt độ	331,34	3,77	284,58	<0,0001	0,0563	<0,0001
D-Thời gian	201,81	6,36	68,39	<0,0001	0,0139	<0,0001
AB	35,43	7,63	20,85	<0,0001	0,0073	<0,0001
AC	185,91	0,2433	60,19	<0,0001	0,6234	<0,0001
AD	0,3039	80,28	1,25	0,5832	<0,0001	0,2668
BC	535,73	10,00	129,48	<0,0001	0,0023	<0,0001
BD	3,62	2,38	116,59	0,0611	0,1275	<0,0001
CD	1,30	177,73	15,08	0,2587	<0,0001	0,0002
A ²	4.910,50	788,69	140,87	<0,0001	<0,0001	<0,0001
B ²	4.758,05	1.064,51	860,85	<0,0001	<0,0001	<0,0001
C ²	5.443,19	849,12	0,1850	<0,0001	<0,0001	0,6685
D ²	5.391,93	323,99	40,02	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Lack of Fit	1,87	0,7157	1,14	0,1163	0,8064	0,4297

Phương pháp phân tích hồi quy đối với các số liệu thực nghiệm được thực hiện thông qua phần mềm Design Expert 12.0, với 87 nghiệm thức được xây dựng dựa trên mô hình Box-Behnken. Kết quả thu được từ mô hình đa thức bậc hai dự đoán các giá trị tối ưu với mối quan hệ giữa các yếu tố khảo sát được mô tả như sau:

$$TPC = 562,10 + 2,57A - 5,28B + 7,98C + 6,22D - 4,52AB - 10,35AC + 0,4183AD - 17,56BC - 1,44BD - 0,86CD - 41,76A^2 - 41,10B^2 - 43,96C^2 - 43,76D^2.$$

$$TFC = 614,77 + 1,36A + 0,15B + 4,31C + 5,60D + 10,62AB - 1,90AC + 34,44AD - 12,15BC + 5,93BD - 51,24CD - 84,77A^2 - 98,48B^2 - 87,95C^2 - 54,33D^2.$$

$$IC_{50} = 26,00 + 1,18A + 1,77B - 1,72C + 0,84D + 0,81AB - 1,37AC - 0,20AD - 2,01BC - 1,91BD + 0,69CD + 1,65A^2 + 4,07B^2 - 0,06C^2 + 0,88D^2.$$

Bảng 3. Hệ số xác định của các mô hình hồi quy

	TPC	TFC	IC ₅₀
R ²	0,9952	0,9703	0,9675
Adjusted R ²	0,9943	0,9644	0,9610
Predicted R ²	0,9929	0,9545	0,9499

Mô hình bề mặt đáp ứng (RSM) là một phương pháp thống kê mạnh mẽ được sử dụng để tối ưu hóa quy trình trích ly (Veza et al., 2023). Các biểu đồ đường quanh (contour plot) và biểu đồ bề mặt 3 chiều (3D surface plot) trong RSM là công cụ trực quan giúp đánh giá mối quan hệ giữa các yếu tố và

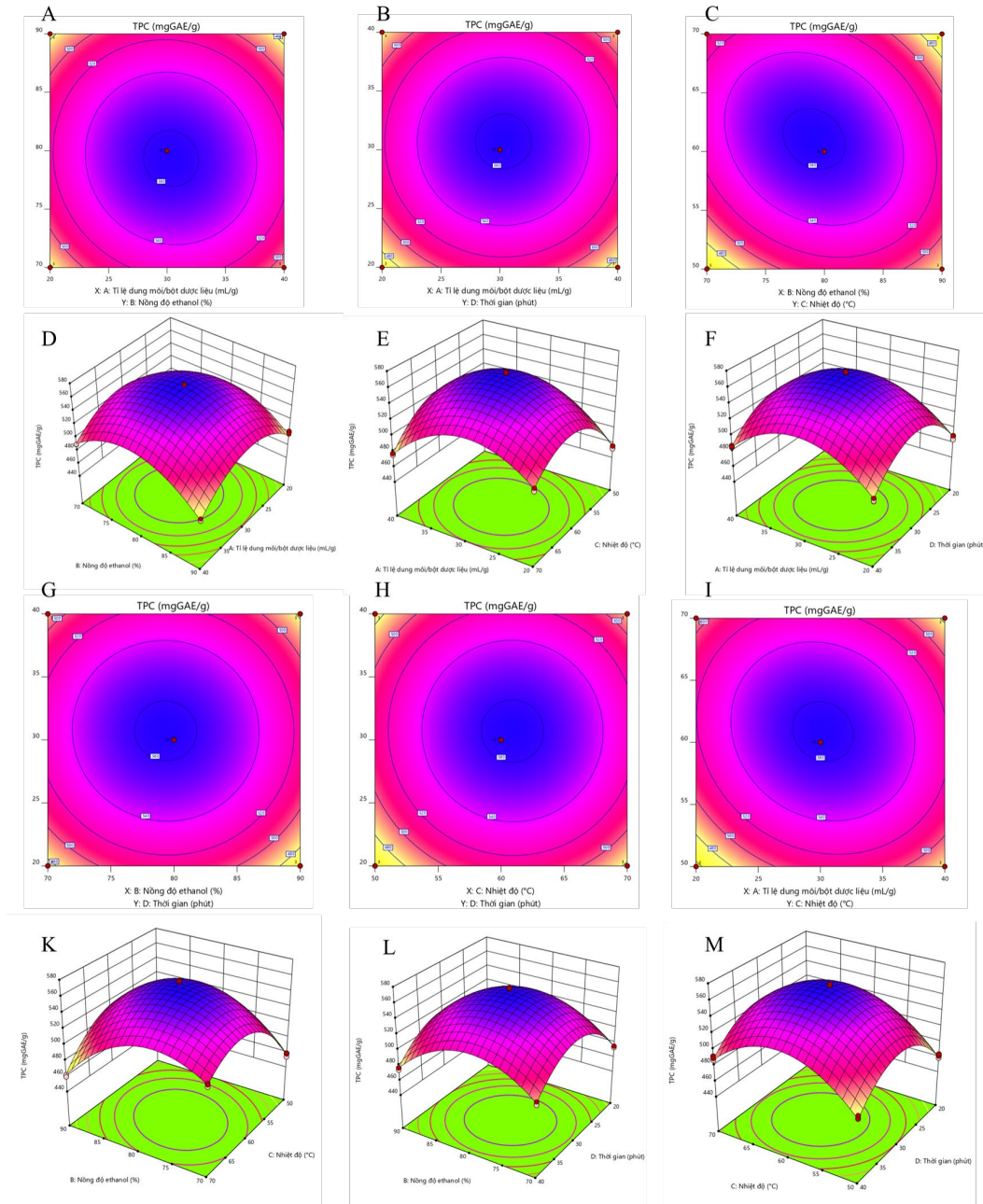
kết quả trích ly (Yến và ctv., 2022). Cụ thể, các biểu đồ contour thể hiện mối quan hệ giữa hai yếu tố đầu vào và kết quả trích ly. Biểu đồ này giúp xác định điểm tối ưu của các yếu tố để đạt được mục tiêu tối đa. Đồng thời, các biểu đồ bề mặt 3 chiều (3D surface plot) cung cấp cái nhìn sâu sắc hơn về sự tương tác ba chiều giữa ba yếu tố và kết quả trích ly. Những bề mặt có giao động lớn trong các biểu đồ này cho thấy sự tương tác giữa các yếu tố, giúp nhận diện các điều kiện tối ưu cho quá trình trích ly.

Màu sắc trên bề mặt biểu đồ bề mặt 3 chiều (3D surface plot) có sự chuyển đổi cho thấy sự gia tăng giá trị của trục Z (đại diện cho các mục tiêu tối ưu như hàm lượng polyphenol, flavonoid và khả năng trung hòa gốc tự do DPPH). Cụ thể, trong Hình 2, sự biến đổi hàm lượng polyphenol được thể hiện rõ qua sự thay đổi màu sắc của bề mặt đáp ứng, từ vàng sáng hồng và cuối cùng chuyển sang xanh dương khi hàm lượng polyphenol tăng dần. Tương tự, trong Hình 3, màu sắc của bề mặt đáp ứng chuyển từ hồng sang đỏ và sau đó sang vàng khi hàm lượng flavonoid tăng. Đối với Hình 4, sự thay đổi màu sắc bề mặt đáp ứng từ vàng sang đỏ và cuối cùng là tím cho thấy giá trị IC₅₀ thấp nhất, thể hiện hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH tối ưu nhất trong quá trình trích ly.

Có thể thấy, sự thay đổi các yếu tố đơn có tác động phi tuyến tính đến kết quả trích ly, với các điểm tối ưu hoặc cực trị xuất hiện trong không gian thiết kế. Điều này cung cấp cơ sở khoa học để tối ưu hóa các yếu tố đầu vào trong mô hình, từ đó nâng cao hiệu quả trích ly. Thêm nữa, kết quả cũng cho

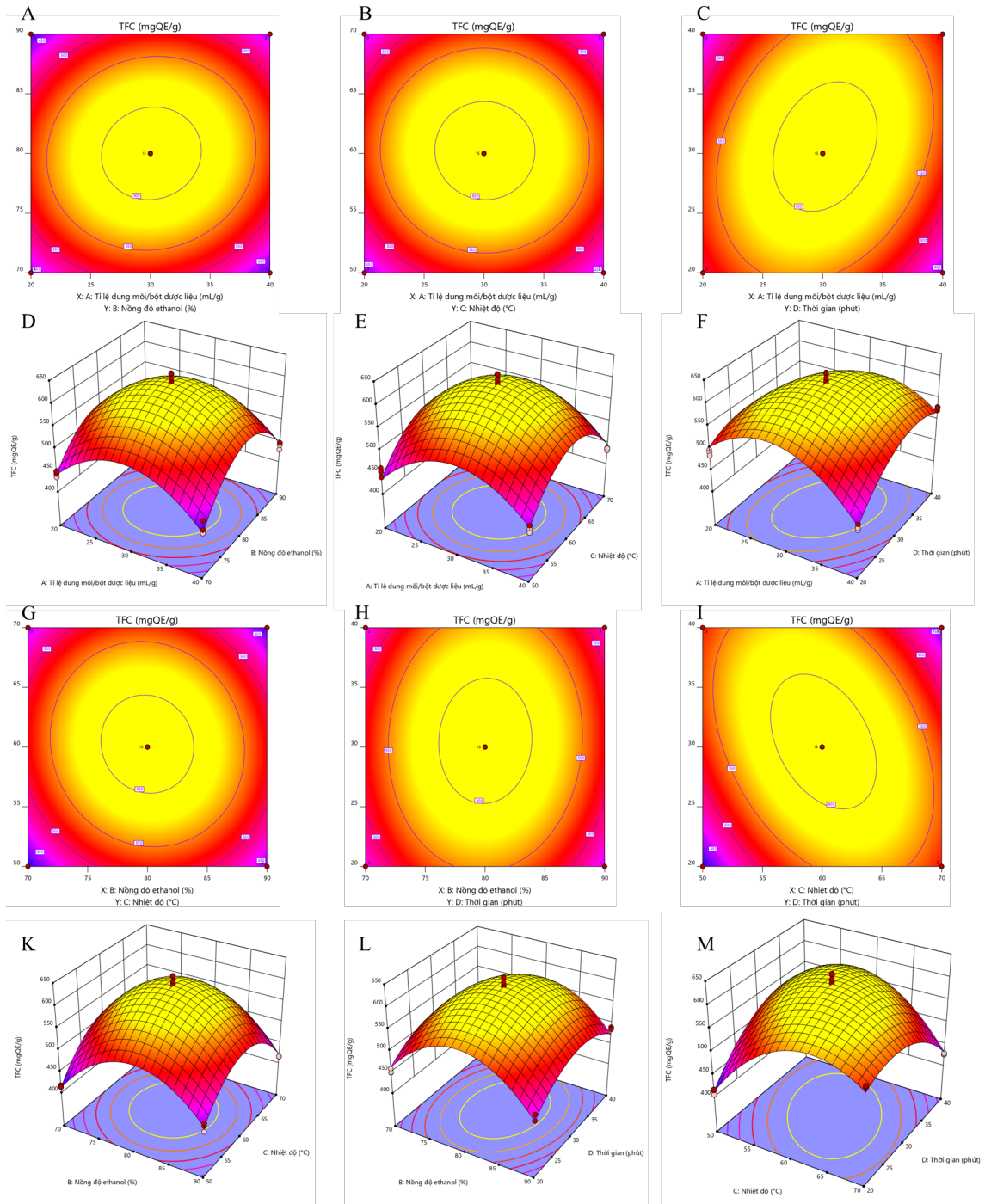
thấy phương pháp chiết xuất có hỗ trợ sóng siêu âm thể hiện sự phụ thuộc phức tạp và rõ rệt hơn giữa các thông số. Các biểu đồ bề mặt cũng chỉ ra rằng

việc tối ưu hóa các thông số này có thể làm tăng hiệu suất chiết flavonoid và polyphenol, cũng như cải thiện khả năng trung hòa gốc tự do DPPH.



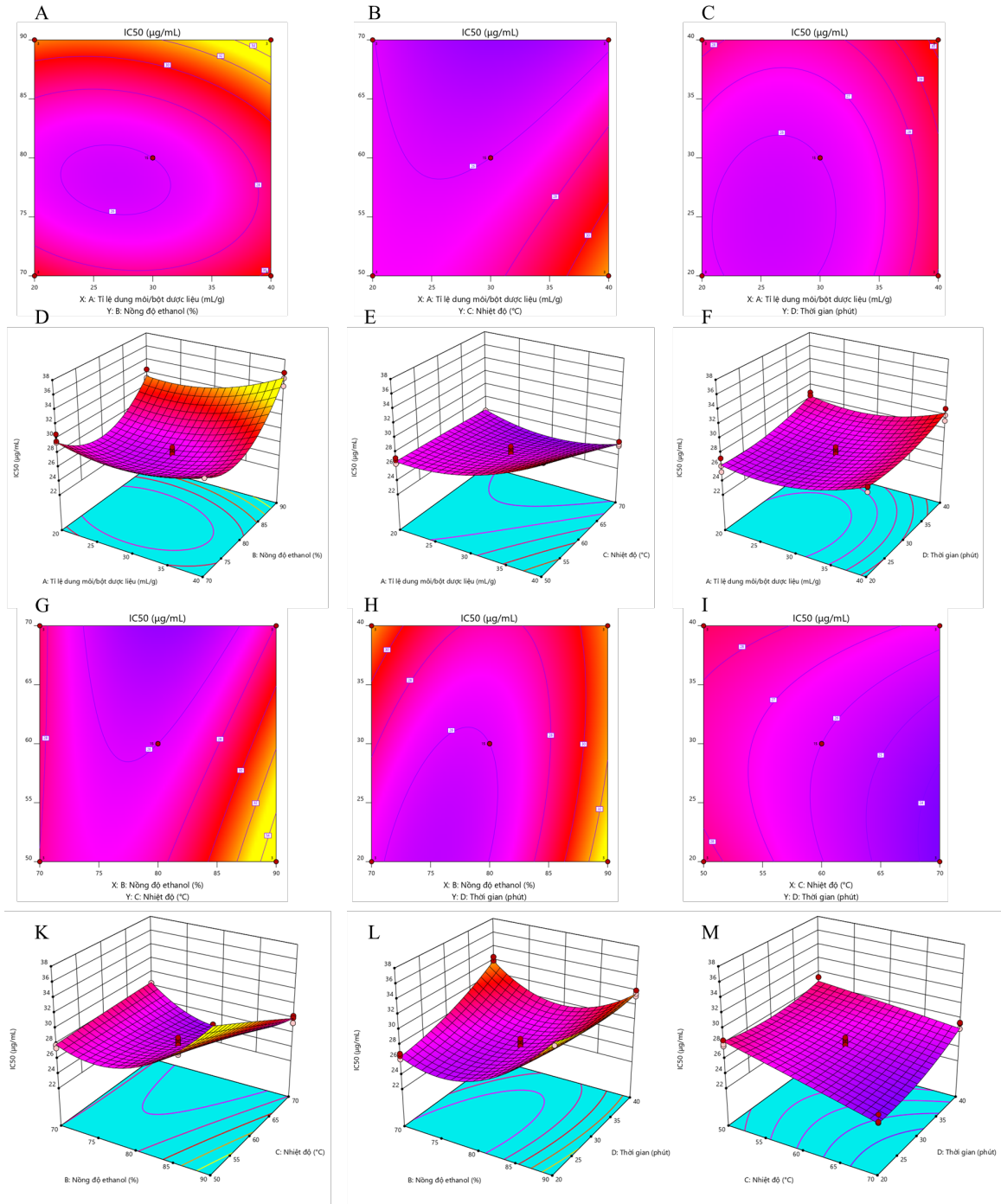
Hình 2. Mô hình bề mặt đáp ứng (RSM) của quy trình trích ly polyphenol từ loài nắp ấm hoa đôi

Ghi chú: Biểu đồ contour (A) và 3D surface plot (D) của tỉ lệ dung môi/bột dược liệu tương tác với nồng độ ethanol. Biểu đồ contour (B) và 3D surface plot (E) của tỉ lệ dung môi/bột dược liệu tương tác với thời gian trích ly. Biểu đồ contour (C) và 3D surface plot (F) của nồng độ ethanol tương tác với nhiệt độ trích ly. Biểu đồ contour (G) và 3D surface plot (K) của nồng độ ethanol tương tác với thời gian trích ly. Biểu đồ contour (H) và 3D surface plot (L) của nhiệt độ trích ly tương tác với thời gian trích ly. Biểu đồ contour (I) và 3D surface plot (M) của tỉ lệ dung môi/bột dược liệu tương tác với nhiệt độ trích ly.



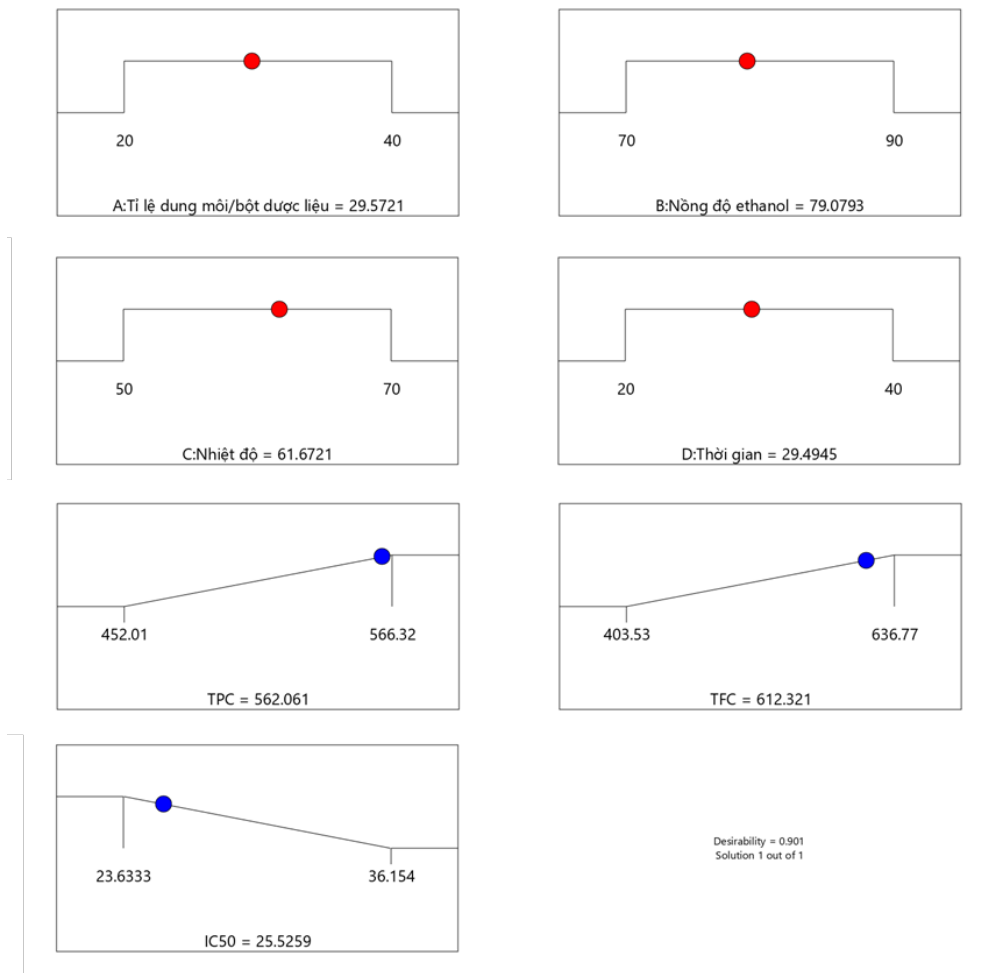
Hình 3. Mô hình bề mặt đáp ứng (RSM) của quy trình trích ly flavonoid từ loài nắp ấm hoa đôi

Ghi chú: Biểu đồ contour (A) và 3D surface plot (D) của tỉ lệ dung môi/bột dược liệu tương tác với nồng độ ethanol. Biểu đồ contour (B) và 3D surface plot (E) của tỉ lệ dung môi/bột dược liệu tương tác với nhiệt độ trích ly. Biểu đồ contour (C) và 3D surface plot (F) của tỉ lệ dung môi/bột dược liệu tương tác với thời gian trích ly. Biểu đồ contour (G) và 3D surface plot (K) của nồng độ ethanol tương tác với nhiệt độ trích ly. Biểu đồ contour (H) và 3D surface plot (L) của nồng độ ethanol tương tác với thời gian trích ly. Biểu đồ contour (I) và 3D surface plot (M) của nhiệt độ trích ly tương tác với thời gian trích ly.



Hình 4. Mô hình bề mặt đáp ứng (RSM) của quy trình trích ly cao chiết có khả năng trung hòa gốc tự do DPPH từ loài nắp ấm hoa dôi

Ghi chú: Biểu đồ contour (A) và 3D surface plot (D) của tỉ lệ dung môi/bột dược liệu tương tác với nồng độ ethanol. Biểu đồ contour (B) và 3D surface plot (E) của tỉ lệ dung môi/bột dược liệu tương tác với nhiệt độ trích ly. Biểu đồ contour (C) và 3D surface plot (F) của tỉ lệ dung môi/bột dược liệu tương tác với thời gian trích ly. Biểu đồ contour (G) và 3D surface plot (K) của nồng độ ethanol tương tác với nhiệt độ trích ly. Biểu đồ contour (H) và 3D surface plot (L) của nồng độ ethanol tương tác với thời gian trích ly. Biểu đồ contour (I) và 3D surface plot (M) của nhiệt độ trích ly tương tác với thời gian trích ly.



Hình 5. Hàm kỳ vọng trong mô hình bề mặt đáp ứng

Hàm kỳ vọng được xây dựng dựa trên các hệ số hồi quy trong mô hình bề mặt đáp ứng. Mô hình này dựa trên các nghiệm thức thực nghiệm, với các hệ số xác định độ ảnh hưởng của từng yếu tố và sự tương tác giữa chúng (Hình 5). Dựa trên các kết quả từ phần mềm Design Expert, phương án tối ưu cho quá trình trích ly cao chiết giàu polyphenol và flavonoid có hoạt tính kháng oxy hóa từ loài nắp ấm hoa đôi được xác định như sau: tỷ lệ dung môi/bột dược liệu là 29,57 mL/g, nồng độ ethanol là 79,08%, nhiệt độ trích ly là 61,67°C và thời gian trích ly là 29,49 phút. Với những điều kiện này, giá trị IC₅₀ trung hòa gốc tự do DPPH dự đoán là 25,53 µg/mL, hàm lượng polyphenol và flavonoid lần lượt là 562,06 mgGAE/g cao chiết và 612,32 mgQE/g cao chiết. Kết quả thực nghiệm cho thấy giá trị IC₅₀ trung hòa gốc tự do DPPH là 24,12 ± 0,89 µg/mL, hàm lượng polyphenol và flavonoid lần lượt là 559,06 ± 2,43 mgGAE/g cao chiết và 611,73 ± 1,97 mgQE/g cao chiết (kết quả được biểu thị dưới dạng

trung bình ± SD (n = 3) với $p > 0,05$ cho thấy không sự khác biệt về mặt thống kê so với kết quả dự đoán của mô hình). Bên cạnh đó, việc với một nghiên cứu khác trên loài này cho thấy khi phương pháp ngâm dầm, một phương pháp truyền thống trong trích ly dược liệu được dùng để chiết xuất cao chiết, hàm lượng polyphenol và flavonoid lần lượt là 538,20 ± 8,05 mgGAE/g cao chiết và 367,08 ± 7,22 mgQE/g cao chiết, thấp hơn đáng kể so với cao chiết sau quá trình tối ưu hóa (Thanh và ctv., 2025). Điều này có thể cho thấy quy trình trích ly tối ưu được đề xuất không chỉ có hiệu quả cao hơn mà còn có tiềm năng ứng dụng quy mô công nghiệp, giúp tiết kiệm chi phí, giảm thời gian trích ly và nâng cao hiệu quả sản xuất.

4. KẾT LUẬN

Nắp ấm hoa đôi (*Nepenthes mirabilis*) là loài dược liệu với hoạt tính sinh hóa đa dạng, đặc biệt là tiềm năng kháng oxy hóa. Trong nghiên cứu này,

phương pháp tối ưu hóa bề mặt đáp ứng (RSM) theo thiết kế Box-Behnken đã được ứng dụng nhằm tối ưu quy trình trích ly cao chiết giàu polyphenol và flavonoid có hoạt tính kháng oxy hóa. Kết quả cho thấy quy trình trích ly hai lần bằng ethanol có hỗ trợ siêu âm cho hiệu suất chiết xuất tối ưu với các điều kiện chiết: tỷ lệ dung môi/bột dược liệu là 29,57 mL/g, nồng độ ethanol là 79,08%, nhiệt độ trích ly là 61,67°C và thời gian trích ly là 29,49 phút. Với những điều kiện này, giá trị IC₅₀ trung hòa gốc tự do DPPH dự đoán là 25,53 µg/mL, hàm lượng polyphenol và flavonoid lần lượt là 562,06 mgGAE/g cao chiết và 612,32 mgQE/g cao chiết. Kết quả thực nghiệm dưới với điều kiện này cho

thấy, giá trị IC₅₀ trung hòa gốc tự do DPPH là 24,12 ± 0,89 µg/mL, hàm lượng polyphenol và flavonoid lần lượt là 559,06 ± 2,43 mgGAE/g cao chiết và 611,73 ± 1,97 mgQE/g cao chiết. Kết quả này cho thấy mô hình tối ưu được xây dựng có độ tin cậy cao và có thể ứng dụng trong phát triển chế phẩm chiết xuất giàu hoạt chất kháng oxy hóa từ nắp ấm hoa đời.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được tài trợ bởi Đại học Cần Thơ, mã số: CTCS2024-01-02.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anh, V. T. T., Linh, T. C., Kha, Đ. M., & Trang, Đ. T. X. (2022). Tối ưu hóa quy trình chiết xuất cao chiết giàu polyphenol và flavonoid có hoạt tính kháng vi khuẩn *Vibrio* spp. từ lá cây núc nác (*Oroxylum indicum* L.). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 58(CĐ Khoa học tự nhiên), 102-113. <https://doi.org/10.22144/CTU.JVN.2022.126>
- Aware, C. B., Patil, D. N., Suryawanshi, S. S., Mali, P. R., Rane, M. R., Gurav, R. G., & Jadhav, J. P. (2022). Natural bioactive products as promising therapeutics: A review of natural product-based drug development. *South African Journal of Botany*, 151, 512–528. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.05.028>
- Bộ Y tế. (2017). *Dược điển Việt Nam V*. <https://dav.gov.vn/quyet-dinh-ban-hanh-duoc-dien-viet-nam-v-n1696.html>
- Brglez, M. E., Knez, H. M., Škerget, M., Knez, Ž., & Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules*, 21(7), 901. <https://doi.org/10.3390/molecules21070901>
- Chandra, S., Khan, S., Avula, B., Lata, H., Yang, M. H., Elsohly, M. A., & Khan, I. A. (2014). Assessment of Total Phenolic and Flavonoid Content, Antioxidant Properties, and Yield of Aeroponically and Conventionally Grown Leafy Vegetables and Fruit Crops: A Comparative Study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1, 253875. <https://doi.org/10.1155/2014/253875>
- ElGamal, R., Song, C., Rayan, A. M., Liu, C., Al-Rejaie, S., & ElMasry, G. (2023). Thermal Degradation of Bioactive Compounds during Drying Process of Horticultural and Agronomic Products: A Comprehensive Overview. *Agronomy*, 13(6), 1580. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY13061580>
- Goshtasbi, H., Hashemzadeh, N., Fathi, M., Movafeghi, A., Barar, J., & Omid, Y. (2025). Mitigating oxidative stress toxicities of environmental pollutants by antioxidant nanoformulations. *Nano TransMed*, 4, 100087. <https://doi.org/10.1016/J.NTM.2025.100087>
- Hussen, E. M., & Endalew, S. A. (2023). *In vitro* antioxidant and free-radical scavenging activities of polar leaf extracts of *Vernonia amygdalina*. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12906-023-03923-y>
- Jomova, K., Alomar, S. Y., Valko, R., Liska, J., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2025). Flavonoids and their role in oxidative stress, inflammation, and human diseases. *Chemico-Biological Interactions*, 413, 111489. <https://doi.org/10.1016/J.CBI.2025.111489>
- Khang, V. T., Thanh, N. Q. C., Hồng, T. T., Khiêm, N. H., & Giao, Đ. H. (2024). Tối ưu hóa quy trình ly trích cao chiết Hoàn ngọc đỏ (*Strobilanthes schomburgkii*) theo hướng kháng viêm. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 60(3), 96-104. <https://doi.org/10.22144/CTUJOS.2024.295>
- Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A., & Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as Anticancer Agents. *Nutrients*, 12(2), 457. <https://doi.org/10.3390/NU12020457>
- Lan, N. T. A., & Linh, T. C. (2022). Tối ưu hóa quy trình chiết xuất polyphenol và flavonoid từ lá cây Sa kê (*Artocarpus altilis*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Thái Nguyên*, 227(10), 47–55. <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5924>
- Lee, J. E., Jayakody, J. T. M., Kim, J. H., Jeong, J. W., Choi, K. M., Kim, T. S., Seo, C., Azimi, I., Hyun, J. M., & Ryu, B. M. (2024). The Influence of Solvent Choice on the Extraction of Bioactive Compounds from Asteraceae: A Comparative Review. *Foods*, 13(19), 3151. <https://doi.org/10.3390/FOODS13193151/S1>

- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*, *13*, 757. <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>
- Prawira-Atmaja, M. I., & Puangpraphant, S. (2025). Effects of ultrasound-assisted bath, probe, and extraction time on bioactive compounds and antioxidant activity in white tea (*Camellia sinensis*) extracts from purple- and green-leaf cultivars. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *24*(3), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s44447-025-00014-x>
- Pyne, S., & Paria, K. (2022). Optimization of extraction process parameters of caffeic acid from microalgae by supercritical carbon dioxide green technology. *BMC Chemistry*, *16*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13065-022-00824-y>
- Samuagam, L., Sia, C. M., Akowuah, G. A., Okechukwu, P. N., & Yim, H. S. (2013). The effect of extraction conditions on total phenolic content and free radical scavenging capacity of selected tropical fruits' peel. *Health and the Environmental Journal*, *4*(2), 80–102.
- Shao, W., Zha, W., Zhou, X., & Xu, T. (2024). Experimental Study Based on Box–Behnken Design and Response Surface Methodology for Optimization Proportioning of Activated Lithium Slag Composite Cement-Based Cementitious Materials. *Materials*, *17*(11), 2651. <https://doi.org/10.3390/MA17112651>
- Thanh, N. P., Luyen, B. T. T., Koo, J. E., Kim, S., Koh, Y. S., Thanh, N. V., Cuong, N. X., Kiem, P. V., Minh, C. V., & Kim, Y. H. (2016). *In vitro* anti-inflammatory components isolated from the carnivorous plant *Nepenthes mirabilis* (Lour.) Rafarin. *Pharmaceutical Biology*, *54*(4), 588–594. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1067234>
- Thanh, N. V., Thao, N. P., Huong, P. T. T., Lee, S. H., Jang, H. D., Cuong, N. X., Nam, N. H., Kiem, P. V., Kim, Y. H., & Minh, C. V. (2015). Two new naphthalene glucosides and other bioactive compounds from the carnivorous plant *Nepenthes mirabilis*. *Archives of Pharmacal Research*, *38*(10), 1774–1782. <https://doi.org/10.1007/s12272-015-0576-9>
- Thanh, N. Q. C., Tuệ, T. G., Huỳnh, T. T. D., Thanh, V. N., Khiêm, N. H., Khang, V. T., & Hồng, T. T. (2025). Nghiên cứu tiềm năng kháng ung thư của cao chiết nắp ấm hoa đôi (*Nepenthes mirabilis*). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, *61*(3), 99–107. <https://doi.org/10.22144/CTUJOS.2025.083>
- Veza, I., Spraggon, M., Fattah, I. M. R., & Idris, M. (2023). Response surface methodology (RSM) for optimizing engine performance and emissions fueled with biofuel: Review of RSM for sustainability energy transition. *Results in Engineering*, *18*, 101213. <https://doi.org/10.1016/J.RINENG.2023.101213>
- Vincenzo, S. Di, Ferrante, G., Ferraro, M., Cascio, C., Malizia, V., Licari, A., La Grutta, S., & Pace, E. (2023). Oxidative Stress, Environmental Pollution, and Lifestyle as Determinants of Asthma in Children. *Biology*, *12*(1), 133. <https://doi.org/10.3390/BIOLOGY12010133>
- Yến, H. K., Tuấn, N. T., Mến, T. T., Trân, T. T. T., Lâm, T. H., Tuyền, L. B., Cảnh, H. V. Q., Như, L. H., & Khang, T. V. (2022). Nghiên cứu quy trình chiết tách polyphenol có hoạt tính chống oxy hóa từ lá hồng sim (*Rhodomyrtus tomentosa*)-Phú Quốc. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, *58*(CĐ Khoa học tự nhiên), 18-27. <https://doi.org/10.22144/CTU.JVN.2022.116>