Nghiên cứu

Chiết xuất rutin và quercetin từ Hoa hòe (*Sophora japonica* L.) bằng dung môi sâu eutectic siêu phân tử

Lê Trọng Nhân[1], Trần Thị Thùy Linh[1], Nguyễn Thế Hùng[2], Nguyễn Thị Hoài[1,*]

[1]Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

[2]Trường Đại học Dược Hà Nội

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Hoài; Email: nthoai@hueuni.edu.vn

Ngày nhận bài (Received): 12/11/2025; **Ngày duyệt đăng** (Accepted): 29/12/2025; **Ngày xuất bản** (Published): 30/03/2026
DOI:10.34071/jmp.2026.1.777

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Các dung môi sâu eutectic siêu phân tử (SUPRADES) cho thấy tiềm năng trong việc chiết xuất hoạt chất từ dược liệu.

Mục tiêu: Nghiên cứu sử dụng SUPRADES để chiết xuất rutin và quercetin từ Hoa hòe.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Các SUPRADES khác nhau đã được sàng lọc. Quá trình chiết xuất được tối ưu hóa bằng phương pháp bề mặt đáp ứng. Hoạt tính chống oxy hoá dựa vào khả năng ức chế DPPH của các dịch chiết Hoa hòe được so sánh. Chỉ số xanh của phương pháp được tính toán.

Kết quả: SUPRADES bằng cách kết hợp choline chloride/acetic acid và β-cyclodextrin là dung môi xanh tiềm năng nhất. Kết quả hiệu suất rutin và quercetin thu được ở điều kiện tối ưu đạt 35,21%, cao gấp 2,16 lần so với methanol. Hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết dung môi xanh cao gấp 2,11 lần so với dịch chiết methanol. Chỉ số xanh của phương pháp được đề xuất đạt 0,79.

Kết luận: Những kết quả này góp phần thúc đẩy phát triển chiến lược chiết xuất xanh các flavonoid từ Hoa hòe, đồng thời làm nổi bật tiềm năng của SUPRADES như một lựa chọn thay thế an toàn, hiệu quả và bền vững với môi trường cho các dung môi hữu cơ truyền thống

Từ khóa: *SUPRADES, Hoa hòe, rutin, quercetin, β-cyclodextrin.*

Extraction of Rutin and Quercetin from *Sophora japonica* L. Using Supramolecular Deep Eutectic Solvents

Le Trong Nhan[1], Tran Thi Thuy Linh[1], Nguyen The Hung[2], Nguyen Thi Hoai[1,*]

[1] University of Medicine and Pharmacy, Hue University

[2] Hanoi University of Pharmacy

Abstract

Background: Supramolecular deep eutectic solvents (SUPRADES) have recently emerged as promising green solvents for the extraction of bioactive compounds from medicinal plants.

Objectives: This study aims to develop a green extraction strategy for isolating rutin and quercetin from *Sophora japonica* using SUPRADES.

Materials and method: Various SUPRADES systems were screened and evaluated for their extraction performance. The extraction conditions were optimized using response surface methodology. The antioxidant activity of extracts was evaluated and compared based on their ability to scavenge DPPH radicals. The antioxidant activities of the resulting extracts were assessed and compared. The greenness of the proposed method was quantitatively evaluated using the AGREEprep metric.

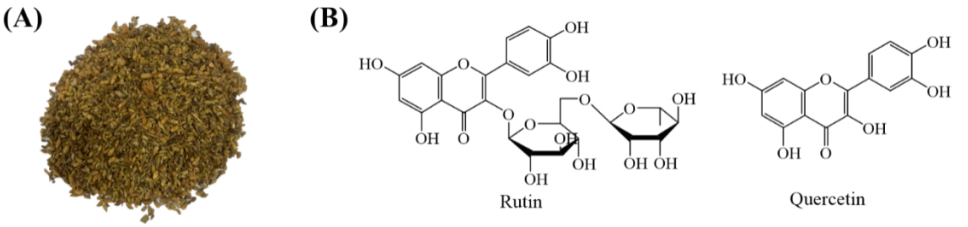
Results: A SUPRADES composed of choline chloride/acetic acid and β-cyclodextrin was identified as the most effective and environmentally friendly solvent. Under optimal conditions, the total extraction yield of rutin and quercetin reached 35.21%, which was 2.16 times higher than that obtained with methanol. The antioxidant capacity of the SUPRADES extract was 2.11 times greater than that of the methanolic extract. The greenness score of the proposed method reached 0.79, indicating excellent environmental performance.

Conclusion: These findings contribute to the development of a green extraction approach for flavonoids from *Sophora japonica*, and demonstrate the potential of SUPRADES as a safe, efficient, and eco-friendly alternative to conventional organic solvents.

Keywords: *SUPRADES, Sophora japonica, rutin, quercetin, β-cyclodextrin.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ VÀ MỤC TIÊU

Hoa hòe (**Hình 1A**) còn gọi là hòe hoa, thuộc họ Fabaceae, là nụ hoa chưa nở của cây hòe (*Sophora japonica* L.). Hoa hòe được sử dụng phổ biến trong y học cổ truyền Trung Quốc, Hàn Quốc và Việt Nam. Theo Đông y, Hoa hòe có vị đắng, tính hơi hàn, quy vào các kinh can và đại tràng, có tác dụng thanh nhiệt lương huyết, chỉ huyết và hạ huyết áp. Trong thực hành lâm sàng, Hoa hòe thường được sử dụng để điều trị các chứng xuất huyết, cao huyết áp, trĩ và bệnh lý về mạch máu. Các nghiên cứu hiện đại đã xác nhận rằng Hoa hòe là nguồn giàu flavonoid tự nhiên, đặc biệt là rutin (RUT) và quercetin (QUE) (**Hình 1B**), hai hợp chất có hoạt tính sinh học nổi bật [1,2].



Hình 1. Hoa hòe (A) và cấu trúc hóa học của rutin, quercetin (B)

RUT, một glycoside của QUE, có tác dụng chống oxy hóa mạnh, bảo vệ thành mạch, chống viêm và hỗ trợ hạ huyết áp. Trong khi đó, QUE, dạng aglycone của RUT, được biết đến với các tác dụng chống oxy hóa, kháng viêm, kháng ung thư và bảo vệ thần kinh. Các thành phần hoạt tính trong Hoa hòe phân bố chủ yếu trong nụ hoa, hàm lượng RUT và QUE có thể dao động từ 12,4 – 32,1% và 0,1 – 12,7% khối lượng khô tùy theo nguồn gốc, điều kiện sinh trưởng, thời điểm thu hái và phương pháp chiết xuất. Ngoài ra, Hoa hòe còn chứa các flavonoid khác như isorhamnetin, genistein, kaempferol, cùng các hợp chất polysaccharide và alkaloid với hàm lượng thấp hơn [3].

Trong những năm gần đây, nhiều phương pháp chiết xuất đã được ứng dụng nhằm thu nhận RUT và QUE từ Hoa hòe, với mục tiêu nâng cao hiệu suất chiết và giảm thiểu tác động môi trường. Các phương pháp truyền thống như ngâm chiết hoặc đun hồi lưu bằng ethanol và dung dịch kiềm loãng có thể thu được RUT và QUE, tuy nhiên thường yêu cầu thời gian dài và nhiệt độ cao, dễ gây phân hủy hợp chất. Các kỹ thuật hiện đại như chiết siêu âm, chiết vi sóng, chiết hồng ngoại, chiết tăng áp và chiết siêu tới hạn đã được chứng minh là hiệu quả hơn nhờ rút ngắn thời gian, cải thiện độ chọn lọc và nâng cao hiệu suất chiết xuất. Gần đây, một số dung môi xanh như chất lỏng ion, dung môi sâu eutectic (DES), đang được quan tâm như một giải pháp thay thế xanh cho dung môi hữu cơ truyền thống [1,3]. Dù đã có những bước tiến quan trọng nhằm thay thế các dung môi hữu cơ độc hại trong quá trình chiết xuất các thành phần hoạt tính, tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào sử dụng SUPRADES để chiết xuất RUT và QUE từ Hoa hòe.

Dung môi sâu eutectic siêu phân tử (Supramolecular deep eutectic solvents-SUPRADES) là một nhánh mới của DES được phát triển từ năm 2020, nhằm nâng cao hiệu quả và tính chọn lọc trong các quy trình chiết tách xanh. SUPRADES thường được cấu tạo từ các cyclodextrin, đóng vai trò là chất nhận liên kết hydrogen, kết hợp với các chất cho liên kết hydrogen có nguồn gốc sinh học như DES, acid levulinic, acid lactic, các dung môi gốc sinh học (BioS). Nhờ sự kết hợp giữa đặc tính của DES và khả năng hình thành phức bao của cyclodextrin, SUPRADES thể hiện hiệu quả vượt trội trong việc hòa tan và tương tác với các phân tử mục tiêu thông qua cơ chế kết hợp giữa mạng lưới liên kết hydrogen và tương tác chủ khách không cộng hóa trị. Bên cạnh tính thân thiện với môi trường, độc tính thấp và khả năng phân hủy sinh học, SUPRADES còn cho thấy khả năng ứng dụng rộng rãi trong chiết xuất hợp chất thiên nhiên, hấp phụ các chất ô nhiễm hữu cơ bay hơi, và phát triển vật liệu kết dính sinh học. Những đặc tính nổi bật này cho thấy SUPRADES là hệ dung môi đầy tiềm năng hướng đến các ứng dụng trong hóa học xanh và công nghệ bền vững [4,5].

Nghiên cứu này sử dụng SUPRADES để chiết xuất bền vững RUT và QUE từ Hoa hòe. Các SUPRADES khác nhau đã được sàng lọc ban đầu, sau đó phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) đã được áp dụng để tối ưu hóa quy trình chiết xuất. Hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết thu được bằng SUPRADES và dung môi hữu cơ được so sánh. Cuối cùng, chỉ số xanh của nghiên cứu đã được tính toán để đánh giá đầy đủ tính xanh của quy trình chiết xuất. Theo hiểu biết tốt nhất của chúng tôi, đây là báo cáo khoa học đầu tiên trong việc sử dụng SUPRADES để chiết xuất RUT và QUE từ Hoa hòe.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và hóa chất

Hoa hòe được thu mua tại Thừa Thiên Huế vào tháng 8 năm 2024. Sau đó mẫu được rửa sạch, sấy khô, xay thành bột và được đồng nhất với kích thước 0,71 mm. Mẫu được bảo quản trong điều kiện tránh ánh sáng và thoáng mát để tiến hành các thí nghiệm.

Các chất chuẩn, bao gồm rutin trihydrate (≥94 %, HPLC, số lô 250249-75-3), quercetin (≥95%, HPLC, số lô 117-39-5) được mua tại Sigma-Aldrich Co. (Missouri, Mỹ). Các hóa chất bao gồm, beta-cyclodextrin (β-CD), choline chlodride, ethylene glycol, propylene glycol, glycerol, lactic acid, acetic acid, urea, gama-valerolactone, ethyl lactate, pentane-1,2-diol, hexane-1,2-diol, methanol, trifluoroacetic acid, trolox, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) được mua tại Macklin Inc. (Quảng Châu, Trung Quốc), Xilong Scientific (Quảng Đông, Trung Quốc) và Sigma-Aldrich Co. (Missouri, Mỹ).

Quá trình điều chế SUPRADES được chuẩn bị bằng máy khuấy từ gia nhiệt (Labnet, Mỹ). Chiết xuất siêu âm được thực hiện trong bể siêu âm S 100 H (Elma, Đức) với tần số siêu âm 37 kHz, công suất siêu âm hiệu dụng 150 W. Phân tách dịch chiết và bã dược liệu được thực hiện bằng máy ty tâm (Zhengji, Trung Quốc). Định lượng RUT và QUE được thực hiện bằng HPLC pha đảo (Agilent 1260 Infinity II, Agilent Technologies, Hoa Kỳ). Độ hấp thụ quang được đo bằng máy quang phổ UV-VIS (Jasco V-730, Nhật Bản). Chỉ số xanh được tính toán bằng công cụ AGREEprep.

2.2. Chuẩn bị SUPRADES

Đầu tiên, các DES của choline chloride với ethylene glycol, propylene glycol, glycerol, lactic acid, acetic acid, urea theo tỉ lệ mol cụ thể được đun nóng và khuấy đều liên tục [6]. Các SUPRADES được chuẩn bị bằng cách thêm β-CD (chất nhận liên kết hydrogen) với các chất cho liên kết hydrogen như DES, BioS, sau đó được bổ sung nước (**Bảng 1**) và khuấy trộn trong vòng 60 phút ở 50°C đến khi thu được chất lỏng đồng nhất và trong suốt [7]. Các SUPRADES được bảo quản trong các lọ kín tối màu để thực hiện các thí nghiệm chiết xuất. Các dung môi được sử dụng làm dung môi đối chứng bao gồm nước, methanol 100% và methanol 50%.

Bảng 1. Thành phần hóa học của các SUPRADES

STT	DES/BioS	Nồng độ β-CD (%)	Hàm lượng nước (%)
SUPRADES 1	Choline chloride-ethylene glycol (1:2)	5	20
SUPRADES 2	Choline chloride-propylene glycol (1:2)	5	20
SUPRADES 3	Choline chloride-glycerol (1:2)	5	20
SUPRADES 4	Choline chloride-lactic acid (1:2)	5	20
SUPRADES 5	Choline chloride-acetic acid (1:2)	5	20
SUPRADES 6	Choline chloride-urea (1:2)	5	20
SUPRADES 7	Gama-valerolactone	5	20
SUPRADES 8	Ethyl lactate	5	20
SUPRADES 9	Pentane-1,2-diol	5	20
SUPRADES 10	Hexane-1,2-diol	5	20

2.3. Chiết xuất RUT và QUE

Quá trình chiết xuất cho việc lựa chọn SUPRADES tốt nhất được thực hiện dưới sự hỗ trợ siêu âm. Các điều kiện được áp dụng cho tất cả các SUPRADES, bao gồm: tỉ lệ lỏng-rắn là 20 mL/g, thời gian chiết xuất là 30 phút và nhiệt độ chiết xuất là 50°C. Sau chiết xuất, dịch chiết thu thập và nồng độ của RUT, QUE được định lượng bằng HPLC.

2.4. Định lượng RUT và QUE

Nồng độ của RUT và QUE trong các dung dịch mẫu được phân tích bằng hệ thống HPLC pha đảo. Quá trình phân tách được thực hiện bằng cột sắc ký Eclipse XBD-C18 (đường kính trong 4,6 × 250 mm, kích thước hạt 5 µm, Agilent Technologies, Hoa Kỳ), sử dụng pha động chứa methanol, dung dịch acetic acid 2%, acetonitrile (tỷ lệ tương ứng là 25: 60: 15, v/v). Tốc độ dòng và bước sóng cực đại hấp phụ lần lượt là 0,5 mL/phút và 257 nm [1].

2.5. Tối ưu hóa quy trình chiết xuất

Quá trình chiết xuất được tối ưu hóa bằng RSM, trong đó 29 thí nghiệm được thiết lập dựa trên thiết kế Box-Behnken (BBD). Các yếu tố, bao gồm nồng độ β-CD (2, 6, 10%), tỉ lệ lỏng-rắn (20, 35, 50 mL/g), thời gian chiết xuất (10, 30, 50 phút), nhiệt độ chiết xuất (30, 50, 70°C), tương ứng với các mức mã hóa -1, 0, +1, được lựa chọn là biến độc lập. Hiệu suất chiết xuất tổng của RUT và QUE (T-RQ) là biến phụ thuộc. Hiệu suất chiết RUT và QUE được tính bằng công

thức: $m_{RUT\ hoặc\ QUE}/m_{dược\ liệu}$.100%; hiệu suất chiết T-RQ được tính bằng công thức: $m_{RUT\ và\ QUE}/m_{dược\ liệu}$.100%.

2.6. Hoạt tính chống oxy hóa

Khả năng chống oxy hóa của mẫu thử được đánh giá thông qua phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH. Đầu tiên, dung dịch mẫu được chuẩn bị bằng cách hòa tan mẫu thử trong methanol. Đồng thời, DPPH được hòa tan trong methanol để tạo thành dung dịch có nồng độ 0,135 µM. Sau đó, 2 mL dung dịch DPPH được trộn đều với 2 mL dung dịch mẫu thử, hỗn hợp được lắc đều bằng máy vortex và ủ ở nhiệt độ phòng trong vòng 30 phút trong điều kiện không có ánh sáng. Độ hấp thụ của hỗn hợp xác định ở bước sóng 517 nm. Methanol được sử dụng làm mẫu trắng và Trolox được sử dụng làm đối chứng dương [8].

2.7. Đánh giá chỉ số xanh

Tính an toàn và mức độ thân thiện với môi trường của phương pháp chiết đã được đánh giá thông qua công cụ AGREEprep. Đây là một công cụ đã được sử dụng phổ biến để xác định điểm số của các chỉ số xanh (greenness index), từ đó đánh giá tính bền vững và hiệu quả của quy trình chuẩn bị mẫu [9]. Hệ thống tiêu chí đánh giá được phát triển dựa trên mười nguyên tắc của quy trình chuẩn bị mẫu xanh (Green Sample Preparation – GSP). Mức độ đáp ứng của mỗi tiêu chí được xác định theo thang đo từ 0 đến 1, trong đó 0 biểu thị không đáp ứng và được thể hiện bằng màu đỏ và 1 là đáp ứng hoàn toàn, thể hiện bằng màu xanh.

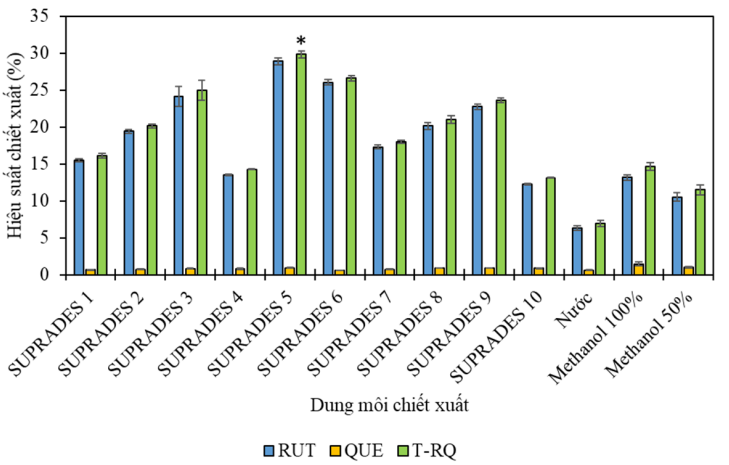
2.8. Phân tích dữ liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại ít nhất ba lần. Phân tích phương sai ANOVA được thực hiện bằng phần mềm IBM SPSS Statistics (phiên bản 20.0, IBM Corp., New York, Hoa Kỳ), sau đó LSD test được áp dụng để so sánh sự khác biệt có ý nghĩa thống kê của các giá trị trung bình ở mức tin cậy 95% ($p < 0,05$). Phần mềm Design-Expert (phiên bản 13.0, Stat-Ease Inc., Minnesota, Hoa Kỳ) được áp dụng để xác định các thông số của tối ưu hóa quy trình chiết xuất.

3. KẾT QUẢ

3.1. Sàng lọc dung môi

Đầu tiên, khả năng chiết xuất của các SUPRADES được so sánh để lựa chọn SUPRADES tối ưu. Trong thí nghiệm sàng lọc dung môi, các điều kiện chiết xuất được áp dụng nhất quán đối với tất cả các dung môi. Hiệu suất chiết xuất T-RQ được sử dụng để so sánh khả năng chiết xuất giữa các SUPRADES.



Hình 2. Hiệu suất chiết xuất rutin và quercetin từ Hoa hòe bằng SUPRADES, nước và methanol.

Chú thích: (*) Hiệu suất chiết xuất tổng rutin và quercetin của SUPRADES 5 khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các dung môi còn lại (p < 0,05).

Kết quả được trình bày ở **Hình 2** cho thấy hiệu suất chiết xuất RUT, QUE và T-RQ của các SUPRADES lần lượt là 13,50 - 18,92%, 0,58 - 0,94% và 14,28 - 29,86%. Trong đó SUPRADES 5 cho hiệu suất chiết xuất các flavonoid này tốt nhất, lần lượt đạt 28,92%, 0,94% và 29,86% tương ứng lần lượt với với RUT, QUE và T-RQ. So sánh kết quả thu được từ dung môi đối chứng, hiệu suất chiết xuất của nước lần lượt là 6,32%, 0,62% và 6,94%; methanol 100% lần lượt là 13,17%, 1,45% và 14,63%. Như vậy, SUPRADES 5 cho hiệu suất chiết xuất T-RQ gấp 4,3 lần nước và 2,0 lần methanol 100%.

3.2. Tối ưu hóa quy trình chiết xuất

Ảnh hưởng của hàm lượng nước trong SUPRADES được đánh giá ở các nồng độ khác nhau (10, 20, 30, 40, 50%). Kết quả cho thấy khi nồng độ nước trong SUPRADES tăng từ 10% lên 20% thì hiệu suất chiết xuất T-RQ tăng từ 20,43% lên 29,91%; tiếp tục tăng nồng độ nước lên 50% thì hiệu suất chiết xuất giảm còn 10,33%. Như vậy, SUPRADES chứa 20% nước sẽ cho hiệu suất chiết xuất tối ưu.

Bảng 2. Kết quả hiệu suất chiết xuất RUT và QUE từ Hoa hòe bằng SUPRADES liên quan đến BBD

STT	A	B	C	D	Hiệu suất chiết xuất (%)		
					RUT	QUE	T-RQ
1	10	35	10	50	18,33	0,76	19,09
2	6	50	30	70	24,45	1,10	25,55
3	2	35	30	30	21,05	0,83	21,87
4	10	35	30	70	20,93	0,94	21,87
5	6	35	30	50	29,87	0,92	30,79
6	6	20	30	70	31,85	1,12	32,97
7	10	20	30	50	25,82	0,96	26,78
8	10	35	30	30	24,82	1,16	25,98
9	2	20	30	50	30,32	1,03	31,35
10	2	35	30	70	31,20	1,06	32,26
11	2	35	50	50	20,02	0,77	20,79
12	6	35	30	50	27,83	1,01	28,84
13	6	20	50	50	26,95	0,99	27,93
14	6	35	50	70	26,93	1,02	27,95
15	6	35	50	30	19,34	0,81	20,15
16	6	50	30	30	26,07	0,95	27,02
17	6	35	30	50	28,03	0,94	28,97
18	10	35	50	50	18,20	0,68	18,87
19	6	50	50	50	20,83	1,00	21,83
20	6	20	10	50	27,40	0,97	28,37
21	2	35	10	50	20,31	0,77	21,08
22	2	50	30	50	21,49	0,99	22,48
23	6	35	10	30	23,47	0,95	24,41
24	6	35	30	50	28,14	1,00	29,14
25	6	20	30	30	29,57	0,98	30,55
26	6	50	10	50	20,36	0,94	21,30
27	6	35	30	50	27,95	0,92	28,86
28	6	35	10	70	22,46	0,90	23,36
29	10	50	30	50	22,11	1,02	23,13

Chú thích: A: nồng độ β-CD (%), B: tỉ lệ lỏng-rắn (mL/g), C: thời gian chiết xuất (phút); D: nhiệt độ chiết xuất (°C); RUT: rutin; QUE: quercetin; T-RQ: tổng rutin và quercetin.

Ảnh hưởng của các yếu tố, bao gồm nồng độ β-CD (A), tỉ lệ lỏng-rắn (B), thời gian chiết xuất (C) và nhiệt độ chiết xuất (D) đến hiệu suất chiết xuất RUT và QUE được tối ưu hóa bằng RSM. **Bảng 2** trình bày kết quả của các thí nghiệm trong BBD và **Bảng 3** trình bày kết quả phân tích thống kê của quá trình tối ưu hóa. Giá trị Fisher F-test và giá trị không tương thích (lack of fit) của mô hình lần lượt là 41,67 ($p < 0,0001$) và 0,4368 (>0,05) cho thấy mô hình tối ưu hóa được thiết lập có ý nghĩa thông kê cao và sự không tương thích không đáng kể. Tất cả các giá trị R^2 thu được từ mô hình đều lớn hơn 0,8, cho thấy sự phù hợp chặc chẽ giữa kết quả thực nghiệm và dự đoán. Các biến (A, B, D), cặp tương tác (AB, AD, CD), giá trị bậc hai (A^2, C^2) ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất chiết xuất với giá trị $p < 0,05$. Ảnh hưởng của các yếu tố

đến hiệu suất chiết xuất tăng lần lượt theo thứ tự: tỉ lệ lỏng-rắn, nồng độ β-CD, nhiệt độ chiết xuất và thời gian chiết xuất; được thể hiện thông qua các giá trị *p* lần lượt là < 0,0001, 0,0005, 0,0006 và 0,9780. Phương trình hồi quy mô tả sự phụ thuộc của hiệu suất chiết xuất T-RQ vào các biến độc lập như sau:

$$y = 9{,}78515 + 4.08387A - 0{,}311097B + 0{,}464506C + 0{,}350254D + 0{,}021735AB + 0{,}000237AC - 0{,}045321AD + 0{,}000799BC - 0{,}003251BD + 0{,}005536CD - 0{,}239993A^2 + 0{,}001653B^2 - 0{,}012852C^2 - 0{,}000724D^2.$$

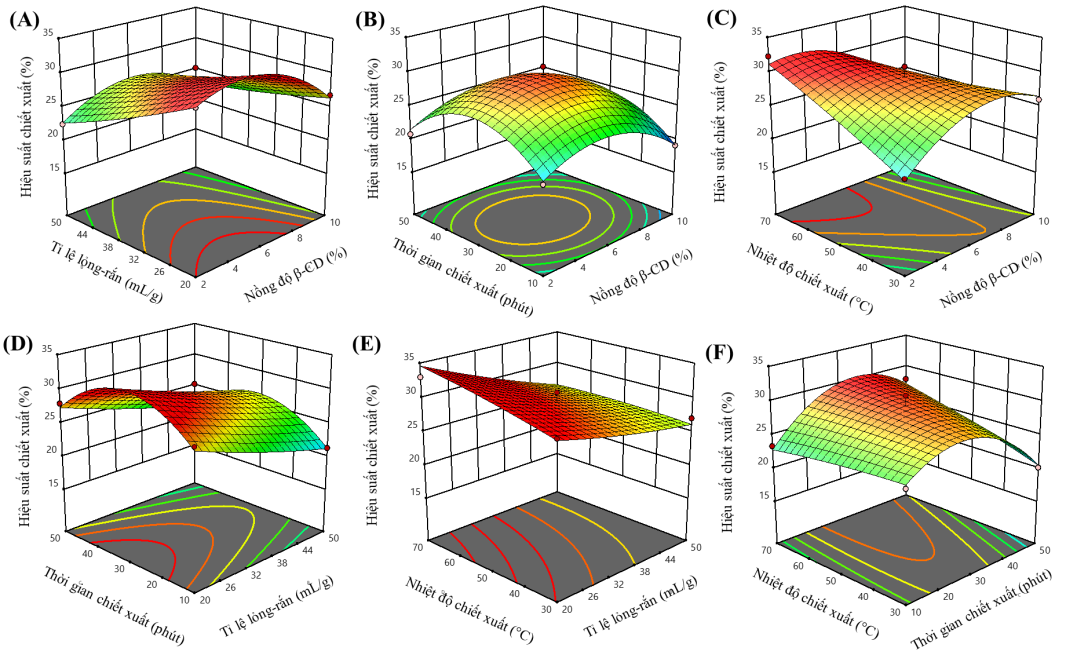
Trong đó: y là hiệu suất chiết xuất T-RQ (%), A là nồng độ β-CD (%), B là tỉ lệ lỏng-rắn (mL/g), C là thời gian chiết xuất (phút) và D là nhiệt độ chiết xuất (°C).

Bảng 3. Kết quả phân tích phương sai ANOVA của quá trình chiết xuất RUT và QUE từ Hoa hòe bằng SUPRADES

Nguồn (Source)	Tổng bình phương (Sum of Squares)	Độ bậc tự do (df)	Trung bình bình phương (Mean Square)	Giá trị F (F-value)	Giá trị p (p-value)	
Mô hình (Model)	482,48	14	34,46	41,67	< 0,0001	significant
A	16,62	1	16,62	20,10	0,0005	
B	111,85	1	111,85	135,23	< 0,0001	
C	0,0007	1	0,0007	0,0008	0,9780	
D	16,28	1	16,28	19,68	0,0006	
AB	6,80	1	6,80	8,23	0,0124	
AC	0,0014	1	0,0014	0,0017	0,9673	
AD	52,58	1	52,58	63,57	< 0,0001	
BC	0,2301	1	0,2301	0,2782	0,6062	
BD	3,80	1	3,80	4,60	0,0500	
CD	19,62	1	19,62	23,72	0,0002	
A^2	95,64	1	95,64	115,64	< 0,0001	
B^2	0,8974	1	0,8974	1,09	0,3152	
C^2	171,41	1	171,41	207,25	< 0,0001	
D^2	0,5440	1	0,5440	0,6577	0,4310	
Số dư (Residual)	11,58	14	0,8271			
Không phù hợp (Lack of Fit)	8,83	10	0,8826	1,28	0,4368	not significant
Sai số thuần (Pure Error)	2,75	4	0,6883			
Cor Total	494,06	28				
	R^2 = 0,9766	R^2 adj = 0,9531		R^2 pred = 0,8884		

Chú thích: A: nồng độ β-CD (%), B: tỉ lệ lỏng-rắn (mL/g), C: thời gian chiết xuất (phút); D: nhiệt độ chiết xuất (°C).

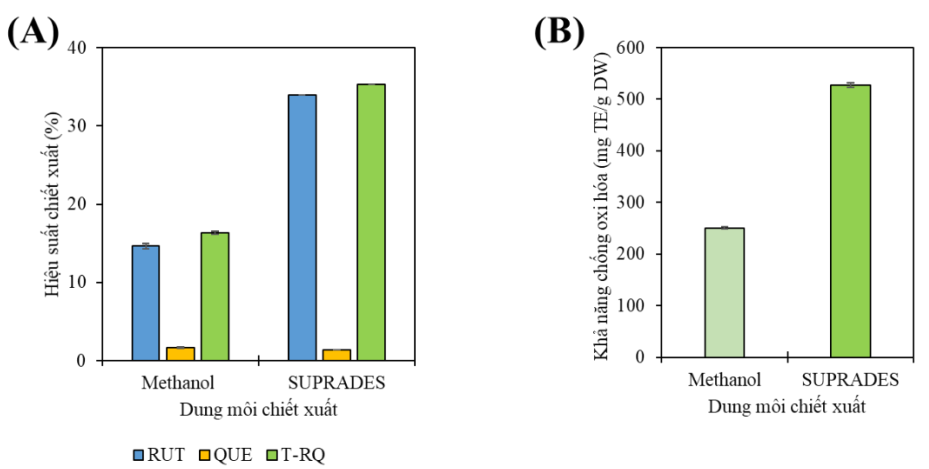
Bề mặt đáp ứng mô tả ảnh hưởng của các biến độc lập đến hiệu suất chiết xuất, cũng như tương tác đồng thời giữa các biến độc lập được trình bày ở **Hình 3**. Các bề mặt đáp ứng có độ nghiêng khác nhau cho thấy sự ảnh hưởng khác nhau đến hiệu suất chiết xuất. Điều kiện tối ưu cho quá trình chiết xuất được xác định bao gồm: nồng độ β-CD là 3,88%, tỉ lệ lỏng-rắn là 23,03 mL/g, thời gian chiết xuất là 32,62 phút và nhiệt độ chiết xuất là 66°C. Hiệu suất chiết xuất thu được trong điều kiện tối ưu đạt 35,21 ± 0,02%.



Hình 3. Bề mặt đáp ứng của quá trình chiết xuất RUT và QUE từ Hoa hòe bằng SUPRADES

3.3. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa

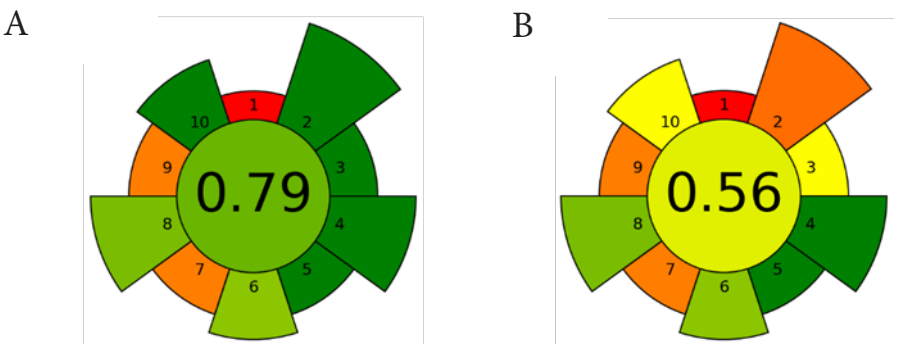
Trong nghiên cứu này, SUPRADES đã cho thấy tiềm năng trong quá trình chiết xuất RUT và QUE từ Hoa hòe. Hoạt tính chống oxy hóa thông qua ức chế DPPH của dịch chiết thu được từ Hoa hòe khi chiết bằng SUPRADES và methanol được so sánh (**Hình 4B**). Khả năng chống oxy hóa của dịch chiết được biểu thị bằng miligam tương đương Trolox trên mỗi gam trọng lượng khô của dược liệu (mg TE/g DW). Kết quả cho thấy, trong điều kiện tối ưu, khả năng chống oxy hóa của dịch chiết Hoa hòe thu được khi chiết bằng SUPRADES cao hơn với khi chiết bằng methanol, tương ứng lần lượt là 527,55 và 250,57 mg TE/g DW. Kết quả này được giải thích do SUPRADES đã tăng cường hiệu suất chiết RUT và QUE từ Hoa hòe, làm tăng nồng độ của các flavonoid này trong dịch chiết. Ngoài ra, khả năng chống oxy hóa mạnh mẽ của RUT và QUE đã đóng góp chủ yếu vào hoạt tính chung của dịch chiết thu được.



Hình 4. So sánh hiệu suất chiết xuất (A) và hoạt tính chống oxy hóa (B) của quá trình chiết xuất RUT và QUE từ Hoa hòe bằng methanol và SUPRADES

3.4. Đánh giá chỉ số xanh của phương pháp

Chỉ số xanh của phương pháp chiết xuất đã được đánh giá bằng công cụ AGREEprep, một công cụ chuyên dụng nhằm định lượng mức độ thân thiện với môi trường và tính an toàn trong quá trình chuẩn bị mẫu. Chỉ số này được xây dựng dựa trên 10 tiêu chí đại diện cho các nguyên tắc cốt lõi của chuẩn bị mẫu xanh, bao gồm loại dung môi, vật liệu và thuốc thử được sử dụng; lượng chất thải phát sinh; mức tiêu thụ năng lượng; năng suất xử lý mẫu; cũng như kích thước mẫu. Việc lượng hóa đồng thời các yếu tố này cho phép đánh giá toàn diện tác động môi trường và hiệu quả thực tiễn của quy trình, từ đó xác định những khía cạnh cần cải thiện nhằm tăng cường tính bền vững. Mỗi tiêu chí được chấm theo thang điểm từ 0 đến 1, với điểm số cao hơn thể hiện mức độ "xanh" cao hơn. Kết quả được minh họa trực quan bằng hệ thống mã màu, trong đó màu xanh lá biểu thị sự tối ưu, trong khi màu đỏ phản ánh những hạn chế cần được cải thiện [9]. Chỉ số xanh trong quy trình chiết xuất RUT và QUE từ Hoa hòe bằng SUPRADES và methanol được đánh giá và so sánh, có giá trị lần lượt là 0,79 đối với SUPRADES và 0,56 đối với methanol (**Hình 5**).



Hình 5: So sánh chỉ số xanh của quá trình chiết xuất RUT và QUE từ Hoa hòe bằng SUPRADES (A) và methanol (B)

4. BÀN LUẬN

Hiệu suất chiết xuất của một hệ dung môi phụ thuộc vào nhiều yếu tố như độ phân cực, độ nhớt, cũng như khả năng hình thành các tương tác phi cộng hóa trị với hợp chất mục tiêu. Các liên kết hydrogen, tương tác van der Waals và tương tác giữa dung môi với ma trận thực vật đóng vai trò then chốt trong việc giải phóng và hòa tan các hoạt chất sinh học từ dược liệu [6]. Trong nghiên cứu này, hệ SUPRADES được thiết kế từ choline chloride/acetic acid kết hợp với β-CD đã cho thấy hiệu quả vượt trội trong việc chiết xuất RUT và QUE từ Hoa hòe.

Kết quả so sánh hiệu suất chiết xuất RUT và QUE từ Hoa hòe bằng SUPRADES và methanol cho thấy hệ dung môi SUPRADES mang lại hiệu suất chiết T-RQ cao gấp 2,16 lần so với methanol trong cùng điều kiện tối ưu (**Hình 4A**). Hiệu quả này có thể được lý giải bởi sự kết hợp đồng thời của nhiều dạng tương tác phân tử trong hệ SUPRADES. Cụ thể, β-CD đóng vai trò như một tác nhân bao gắn siêu phân tử (host), có khả năng hình thành phức bao với các phân tử flavonoid như RUT và QUE (guest), từ đó làm tăng độ tan, giảm hiện tượng kết tụ và ổn định cấu trúc của hợp chất trong môi trường chiết. Đồng thời, hệ DES nền choline chloride/acetic acid có khả năng hình thành mạng lưới liên kết hydrogen mạnh với nhóm hydroxyl của flavonoid, hỗ trợ quá trình hòa tan và khuếch tán. Ngoài ra, sự hiện diện đồng thời của các thành phần phân cực và kém phân cực trong SUPRADES góp phần cải thiện khả năng tương thích với cả môi trường tế bào và cấu trúc lipid–protein của thành tế bào thực vật, tăng cường khả năng thẩm thấu qua thành tế bào thực vật và giải phóng hoạt chất [4,5].

Bên cạnh hiệu suất chiết xuất cao, hệ dung môi SUPRADES còn thể hiện ưu thế rõ rệt về mặt hoạt tính sinh học. Kết quả so sánh khả năng chống oxy hóa thông qua phương pháp DPPH giữa dịch chiết từ Hoa hòe thu được bằng SUPRADES và methanol (**Hình 4B**) cho thấy giá trị hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết SUPRADES đạt 527,55 mg TE/g DW, cao gấp đôi so với dịch chiết methanol (250,57 mg TE/g DW). Sự khác biệt đáng kể này có thể được lý giải bởi khả năng chiết xuất vượt trội của SUPRADES đối với các hợp chất flavonoid như RUT và QUE, những chất đã được chứng minh có khả năng trung hòa gốc tự do mạnh. Bên cạnh đó, hệ dung môi SUPRADES với cấu trúc siêu phân tử giúp tăng cường độ tan, ổn định các hợp chất hoạt tính trong môi trường chiết và đồng thời hạn chế sự phân hủy oxy hóa trong quá

trình xử lý, từ đó góp phần bảo toàn và nâng cao hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết. Kết quả này cho thấy SUPRADES không chỉ là một dung môi chiết xuất hiệu quả mà còn có tiềm năng ứng dụng thực tiễn trong việc thu nhận các dịch chiết giàu hoạt tính sinh học [4,5].

Kết quả đánh giá chỉ số xanh bằng công cụ AGREEprep cho thấy phương pháp chiết xuất sử dụng SUPRADES đạt giá trị 0,79, cao hơn đáng kể so với giá trị 0,56 của phương pháp sử dụng methanol (**Hình 5**). Điều này phản ánh tính thân thiện với môi trường và mức độ an toàn cao hơn của hệ dung môi SUPRADES trong toàn bộ quá trình chuẩn bị mẫu. Sự khác biệt về chỉ số xanh giữa hai hệ dung môi chủ yếu đến từ việc SUPRADES được cấu tạo từ các thành phần có nguồn gốc sinh học, không bay hơi, ít độc hại và có khả năng phân hủy sinh học cao, trong khi methanol là một dung môi hữu cơ dễ bay hơi, độc tính cao và có nguy cơ ảnh hưởng đến sức khỏe người vận hành cũng như môi trường. Việc đạt chỉ số xanh cao hơn củng cố tính bền vững của quy trình, cho thấy tiềm năng mở rộng ứng dụng SUPRADES trong các quy trình chiết xuất xanh, an toàn và hiệu quả, phù hợp với định hướng phát triển của ngành công nghiệp dược liệu và thực phẩm chức năng theo nguyên tắc hóa học xanh.

Tóm lại, một quy trình bền vững bằng cách sử dụng SUPRADES đã được phát triển để chiết xuất RUT và QUE từ Hoa hè. Mặc dù nghiên cứu bước đầu cho thấy hiệu quả rõ rệt, song các nghiên cứu sâu hơn cần được tiến hành, chẳng hạn như phục hồi RUT và QUE từ dịch chiết, xác định tương tác giữa SUPRADES và hoạt chất để làm rõ cơ chế chi phối quá trình chiết xuất, điều này sẽ cung cấp cơ sở khoa học toàn diện cho những bước tiến tiếp theo ở quy mô lớn hơn trong chiết xuất.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã chứng minh tiềm năng ứng dụng SUPRADES trong chiết xuất các hợp chất flavonoid từ dược liệu Hoa hòe. Hệ SUPRADES được cấu tạo từ choline chloride/acetic acid và β-CD không chỉ cho hiệu suất chiết xuất RUT và QUE cao hơn đáng kể so với methanol (tăng 2,16 lần), mà còn cho thấy hoạt tính chống oxy hóa vượt trội (cao hơn 2,11 lần). Đồng thời, chỉ số xanh của quy trình chiết bằng SUPRADES đạt giá trị 0,79, phản ánh mức độ thân thiện với môi trường và tính bền vững cao của phương pháp. Các kết quả thu được góp phần khẳng định SUPRADES là hệ dung môi xanh hiệu quả, an toàn và có thể thay thế các dung môi hữu cơ truyền thống trong chiết xuất hợp chất tự nhiên, qua đó mở ra triển vọng ứng dụng trong lĩnh vực thực phẩm chức năng, dược phẩm có nguồn gốc thực vật và các sản phẩm chăm sóc sức khỏe theo hướng phát triển bền vững.

Lời cảm ơn: *Nghiên cứu được sự hỗ trợ của đề tài khoa học cấp Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế, mã số: 16/24. Công trình được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí Nhóm nghiên cứu mạnh Đại học Huế (Mã số NCM.DHH.2023.01).*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Le NT, Nguyen TPD, Ho DV, Phung HT, Nguyen HT. Green solvents-based rutin extraction from *Sophora japonica* L. J Appl Res Med Aromat Plants 2023;36:100508.

2. Liu Y, Huang W, Ji S, Wang J, Luo J, Lu B. *Sophora japonica* flowers and their main phytochemical, rutin, regulate chemically induced murine colitis in association with targeting the NF-κB signaling pathway and gut microbiota. Food Chem 2022;393:133395.

3. Guo N, Chen Z, Cao S-Q, Shang F-D. *Sophora japonica* L. bioactives: Chemistry, sources, and processing techniques. Food Front 2024;5:1166–87.

4. Janicka P, Kaykhaii M, Płotka-Wasylka J, Gębicki J. Supramolecular deep eutectic solvents and their applications. Green Chem 2022;24:5035–45.

5. Zhang J, Yao L, Li S, Li S, Wu Y, Li Z, et al. Green materials with promising applications: cyclodextrin-based deep eutectic supramolecular polymers. Green Chem 2023;25:4180–95.

6. Le NT, Nguyen LT, Thi Nguyen NA, Nguyen HT. Unlocking the potential of bio-based solvents for sustainable triterpenoid extraction: a case study on betulinic acid from *Tetracera scandens* (L.) Merr. Sep Purif Technol 2025;370:133196.

7. Pietrangeli G, Della Posta S, D'Alessandro E, Giannitelli SM, Trombetta M, Maggi C, et al. Sustainable Supramolecular Deep Eutectic Solvents based extraction for bioactive phenolic compounds recovery from olive pomace. Adv Sample Prep 2025;13:100166.

8. Olayinka Taiwo Asekun, Sunday O. Okoh, Oluwole Familoni AJA. Chemical Profiles and Antioxidant Activity of Essential Oils Extracted from the Leaf and Stem of *Parkia biglobosa* (Jacq) Benth. Res J Med Plant 2013;7:82–91.

9. Wojnowski W, Tobiszewski M, Pena-Pereira F, Psillakis E. AGREEprep – Analytical greenness metric for sample preparation. TrAC Trends Anal Chem 2022;149:116553.

10. Li H, Liu Y, Guo S, Shi M, Qin S, Zeng C. Extraction of Ursolic Acid from Apple Peel with Hydrophobic Deep Eutectic Solvents: Comparison between Response Surface Methodology and Artificial Neural Networks. Foods 2023;12:310.

11. Silva NHCS, Morais ES, Freire CSR, Freire MG, Silvestre AJD. Extraction of high value triterpenic acids from *Eucalyptus globulus* biomass using hydrophobic deep eutectic solvents. Molecules 2020;25:1–11.

12. Huang L, Guo Y, Jin T, Yan K, Liu X, He S, et al. Extraction of triterpene acids from loquat leaves via a novel hydrophobic deep eutectic solvent screened by

COSMO-SAC model. J Clean Prod 2023;427:139274.

13. Le NT, Van Nguyen H, Le GQ, Hoang THX, Nguyen KV, Ho DV, et al. Eco-friendly extraction and recovery of triterpenoids from persimmon leaves (*Diospyros kaki* L.f.) using ultrasound-assisted deep eutectic solvents and macroporous resins. Anal Methods 2025;17:1567–78.

14. Le NT, Ho HTT, Duong TD, Le TT, Nguyen QP, Nguyen TNT, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction and purification of flavonoids from *Sophora japonica* L. with macroporous resins. Sep Sci Technol 2024;59:419–35.

15. Petrochenko AA, Orlova A, Frolova N, Serebryakov EB, Soboleva A, Flisyuk E V., et al. Natural Deep Eutectic Solvents for the Extraction of Triterpene Saponins from *Aralia elata* var. *mandshurica* (Rupr. & Maxim.) J. Wen. Molecules 2023;28:3614.

16. Wang L, Cao S, Guo G, Hu Y, Li J, Fang X, et al. Simultaneous extraction of total polyphenols and triterpenes from leaves of *Celtis sinensis* by deep eutectic solvent hybrid system combined with response surface methodology. New J Chem 2022;46:22581–92.

17. Wang Y, Guo L, Liu C, Zhang Y, Li S. Total Triterpenoid Extraction from *Inonotus obliquus* Using Ionic Liquids and Separation of Potential Lactate Dehydrogenase Inhibitors via Ultrafiltration High-Speed Countercurrent Chromatography. Molecules 2021;26:2467.