

Tối ưu hóa quy trình chiết xuất cao Dền gai (*Amaranthus spinosus* L., *Amaranthaceae*) hướng ức chế enzym α -glucosidase

Lư Bích Ngọc Giàu¹, Thành Trần Tiến², Trần Ngọc Hà², Phan Thiện Vy^{2*}

¹Phòng Khoa học Công nghệ, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Thành phố Hồ Chí Minh

²Khoa Dược, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Thành phố Hồ Chí Minh

*ptvy@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tối ưu hóa quy trình chiết xuất cao Dền gai (*Amaranthus spinosus* L., *Amaranthaceae*) bằng phương pháp chiết xuất hỗ trợ siêu âm (UAE), hướng đến nâng cao hiệu suất thu hồi và khả năng ức chế enzym α -glucosidase. Thiết kế thí nghiệm được xây dựng theo mô hình Box-Behnken với ba yếu tố khảo sát gồm nồng độ ethanol (50-90 %), thời gian siêu âm (10-30 phút) và nhiệt độ chiết (40-60 °C). Dữ liệu được phân tích bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) trên phần mềm Design-Expert 13. Mô hình hồi quy bậc hai cho thấy dung môi là yếu tố ảnh hưởng mạnh nhất đến cả hai biến đáp ứng, trong khi thời gian và nhiệt độ có tác động thấp hơn. Điều kiện tối ưu được xác định gồm ethanol 65,43 %, nhiệt độ 60 °C và thời gian siêu âm 30 phút, với hàm lượng chất chiết dự đoán 10,21 % và mức ức chế α -glucosidase dự đoán 27,12 %. Kết quả thực nghiệm xác nhận hàm lượng chất chiết đạt 10,64-12,91 %, cao hơn giá trị dự đoán, chứng minh tính phù hợp của mô hình tối ưu hóa. Cao chiết tối ưu thể hiện hoạt tính ức chế α -glucosidase với mức ức chế cao nhất 96,03 % tại 32 000 μ g/mL và giá trị IC_{50} là 15 818,80 μ g/mL. Những kết quả này cho thấy Dền gai có tiềm năng trong nghiên cứu phát triển các sản phẩm hỗ trợ kiểm soát đường huyết có nguồn gốc từ thực vật.

Nhận 24/10/2025

Được duyệt 01/12/2025

Công bố 05/12/2025

Từ khóa

Amaranthus spinosus, α -glucosidase, UAE, Box-Behnken, tối ưu hóa

© 2025 Journal of Science and Technology - NTTU

1. Đặt vấn đề

Tăng đường huyết sau ăn (*postprandial hyperglycaemia*) được xác định là một trong những yếu tố nguy cơ chính dẫn đến các biến chứng mạn tính của bệnh đái tháo đường type 2 (ĐTĐ-T2), bao gồm bệnh lý tim mạch, suy thận, tổn thương thần kinh ngoại biên và các rối loạn mạch máu nhỏ. Theo Báo cáo của Liên đoàn Đái tháo đường Quốc tế (International Diabetes Federation - IDF, 2024), hiện có khoảng 589 triệu người trưởng thành (20-79 tuổi) đang sống chung với bệnh đái tháo đường trên toàn cầu, tương đương 11,1 % dân số trong nhóm tuổi này. Dự báo đến năm 2045, con số này có thể vượt 700 triệu người nếu không có biện pháp can thiệp hiệu quả [1]. Đồng thời, Tổ chức Y tế Thế giới nhấn mạnh rằng việc kiểm soát đường huyết sau ăn là một trong những chiến lược chủ đạo nhằm phòng ngừa biến chứng mạch máu ở bệnh nhân ĐTĐ-T2 [2].

Enzym α -glucosidase đóng vai trò xúc tác trong quá trình thủy phân liên kết α -1,4-glucosidic của các

oligosaccharid và disaccharid tại bờ bàn chải ruột non, giúp giải phóng glucose và hấp thu vào máu. Do đó, ức chế hoạt động của α -glucosidase là một trong những cơ chế được sử dụng trong kiểm soát tăng đường huyết sau ăn. Các thuốc tổng hợp như acarbose, miglitol và voglibose đã được áp dụng trong lâm sàng, tuy nhiên thường gây ra các tác dụng không mong muốn như đầy hơi, tiêu chảy và khó dung nạp kéo dài [3]. Điều này thúc đẩy nhu cầu nghiên cứu các hợp chất có nguồn gốc tự nhiên với khả năng ức chế α -glucosidase hiệu quả và an toàn hơn.

Chi *Amaranthus* (họ *Amaranthaceae*) là nhóm thực vật thân thảo phân bố rộng rãi tại vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Trong đó, *Amaranthus spinosus* L. (Dền gai - DG) là loài được sử dụng phổ biến trong y học dân gian tại Việt Nam với các công dụng như lợi tiểu, hạ đường huyết, kháng viêm và chống oxy hóa. Các nghiên cứu hóa học đã xác định trong DG chứa nhiều hợp chất sinh học như flavonoid (quercetin, rutin), polyphenol, saponin và



betacyanin [4]. Một số công trình nghiên cứu được thực hiện trước đây đã ghi nhận những hoạt chất từ DG có hiệu quả kháng khuẩn [5], kháng viêm, giảm đau [6], chống cholesterol máu [7], chống oxy hóa và đặc biệt gây ấn tượng với khả năng hạ đường huyết thông qua ức chế enzym α -glucosidase [8].

Mặc dù một số công trình trong nước đã bước đầu chứng minh hoạt tính ức chế α -glucosidase và khả năng chống oxy hóa của cao DG, song hiện nay vẫn còn thiếu các nghiên cứu có hệ thống về tối ưu hóa quy trình chiết xuất - yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu suất thu hồi hoạt chất và duy trì hoạt tính sinh học. Việc thiết lập quy trình chiết phù hợp nhằm đạt hiệu suất cao, ổn định hàm lượng hợp chất phenolic và flavonoid, đồng thời bảo toàn khả năng ức chế enzym là yêu cầu cần thiết để ứng dụng nguồn dược liệu này trong sản xuất thực phẩm chức năng và chế phẩm sinh học hỗ trợ điều hòa đường huyết.

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tối ưu hóa quy trình chiết xuất hỗ trợ siêu âm (Ultrasound-Assisted Extraction – UAE) đối với nguyên liệu DG, sử dụng mô hình Box-Behnken Design kết hợp Response Surface Methodology (RSM) để đánh giá đồng thời ba yếu tố chính gồm nồng độ ethanol, thời gian siêu âm và nhiệt độ chiết. Mục tiêu là xác định điều kiện chiết xuất tối ưu để thu được cao chiết có hiệu suất và hoạt tính ức chế α -glucosidase cao nhất, qua đó cung cấp cơ sở khoa học cho phát triển sản phẩm dược liệu và thực phẩm chức năng có nguồn gốc tự nhiên.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu thực vật

Mẫu DG (*Amaranthus spinosus* L., họ Amaranthaceae) được thu hái vào tháng 5 năm 2025 tại huyện Thuận Bắc, tỉnh Ninh Thuận, Việt Nam (tọa độ 11°36' N, 108°57' E). Mẫu được rửa sạch, loại bỏ tạp chất và phơi sấy ở 50 ± 2 °C cho đến khi đạt độ ẩm dưới 10 %. Sau đó, mẫu được nghiền bằng cối sứ, rây qua lưới 355 μ m và bảo quản trong túi kín hút ẩm ở 4 °C cho đến khi sử dụng.

Việc định danh thực vật được thực hiện tại Bộ môn Dược liệu, Khoa Dược, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành. Mẫu đối chiếu (voucher specimen No. NTT-Aspin-0225) được lưu tại phòng tiêu bản của bộ môn.

2.2. Hóa chất và thiết bị (Chemicals and instruments)

Các hóa chất sử dụng có độ tinh khiết phân tích (AR grade) gồm: ethanol (Merck, Germany), enzym α -glucosidase từ *Saccharomyces cerevisiae* (Sigma-Aldrich, USA), p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (pNPG, Sigma-Aldrich), acarbose (Bayer AG, Germany),

thuốc thử Folin-Ciocalteu, Na_2CO_3 , NaNO_2 , AlCl_3 , NaOH, acid gallic và quercetin (Sigma-Aldrich, USA).

Thiết bị chính gồm: bể siêu âm Elma S180 (37 kHz, Elma GmbH, Germany), máy cô quay chân không Büchi R-300 (Switzerland), máy quang phổ UV-Vis Shimadzu UV-1800 (Japan), tủ sấy Memmert UN110 và cân phân tích Sartorius Entris224-1S (Germany).

2.3. Tối ưu hóa chiết xuất hỗ trợ siêu âm (UAE optimization)

2.3.1. Yếu tố – biến số

Ba yếu tố khảo sát: nhiệt độ chiết (40, 50 và 60) °C thời gian siêu âm (10, 20 và 30) phút, nồng độ ethanol (50, 70 và 90) %. Hai biến đáp ứng: hàm lượng chất chiết và khả năng ức chế α -glucosidase.

2.3.2. Xác định hàm lượng chất chiết được

Cân 10,0 g bột dược liệu, thêm 100 mL ethanol (tỷ lệ 1:10, khối lượng/thể tích), siêu âm theo mô hình, lọc giấy. Định mức lên 100 mL, hút chính xác 2 mL cho vào chén sấy đã cân bì (m_1), cô cách thủy, sấy 105 °C/3 giờ, làm nguội trong bình hút ẩm đến khối lượng không đổi (m_2) [9].

Hàm lượng chất chiết được (%) tính theo công thức:

$$H(\%) = \frac{m_2 - m_1}{10} \times 100 \times \text{độ pha loãng}$$

2.3.3. Lý do lựa chọn khoảng khảo sát cho các yếu tố chiết xuất

Khoảng khảo sát của ba yếu tố (nồng độ ethanol, thời gian siêu âm và nhiệt độ chiết) được lựa chọn dựa trên kết quả khảo sát sơ bộ và tham khảo các nghiên cứu trước về chiết xuất polyphenol bằng phương pháp UAE.

Nồng độ ethanol (50-90 %) được chọn nhằm bao phủ phổ phân cực thích hợp để hòa tan polyphenol và flavonoid. Ethanol dưới 50 % làm tăng lượng nước, kéo theo nhiều tạp chất tan, trong khi ethanol trên 90 % giảm khả năng hòa tan các hợp chất phenolic. Các nghiên cứu trên *Amaranthus* và dược liệu giàu polyphenol thường ghi nhận khoảng tối ưu 50-80 %.

Thời gian siêu âm (10-30 phút) được chọn dựa trên khảo sát sơ bộ cho thấy thời gian dưới 10 phút không đủ phá vỡ mô thực vật, còn trên 30 phút không làm tăng hiệu quả chiết nhưng có nguy cơ gây phân hủy hoạt chất nhạy nhiệt.

Nhiệt độ (40-60 °C) được lựa chọn vì polyphenol dễ bị phân hủy ở nhiệt độ cao. Nhiệt độ dưới 40 °C làm giảm tốc độ khuếch tán, còn nhiệt độ trên 60 °C có thể gây biến tính hoạt chất.

2.4. Thử nghiệm ức chế α -glucosidase



2.4.1. Chuẩn bị mẫu – dung dịch đệm

- Đệm phosphat pH = 6,8: hòa tan 2,72 g KH_2PO_4 vào 50 mL nước khử ion; hòa tan 2,4 g NaOH vào 23,65 mL nước khử ion; trộn hai dung dịch, thêm nước đến 200 mL, điều chỉnh pH = 6,8 bằng HCl 10 %.
- Mẫu cao: pha loãng trong đệm pH = 6,8/DMSO 5 %, tạo dãy 2000-32000 $\mu\text{g/mL}$.
- Acarbose (chứng dương): pha đệm pH = 6,8/DMSO 5 % thành dãy 15,625-500 $\mu\text{g/mL}$.
- α -glucosidase: 0,2 U/mL trong đệm pH = 6,8, bảo quản lạnh.
- pNPG: 4 mM trong đệm pH = 6,8, bảo quản lạnh.

2.4.2. Quy trình thử nghiệm [10]

- Trộn 40 μL enzyme (0,2 U/mL) + 40 μL mẫu/chuẩn ở nồng độ khảo sát; ủ 20 phút/37 °C.
- Thêm 40 μL pNPG 4 mM; ủ 20 phút/37 °C.
- Dừng phản ứng bằng 130 μL Na_2CO_3 0,2 M.
- Đo hấp thu A ở 405 nm.

Mức độ ức chế enzyme α -glucosidase (%) được tính theo công thức:

$$I(\%) = \left(1 - \frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}}\right) \times 100$$

Trong đó:

A: độ hấp thu được đo tại bước sóng 405 nm

I (%): tỷ lệ (%) enzyme α -glucosidase bị ức chế

Acontrol: độ hấp thu trung bình của giếng chứng (enzyme + cơ chất + dung môi, không có mẫu thử).

Asample: độ hấp thu trung bình của giếng chứa enzyme + cơ chất + mẫu cao DG.

Ablank: độ hấp thu trung bình của giếng trắng (cơ chất + dung môi, không có enzyme), dùng để hiệu chỉnh nền.

Để đảm bảo tính nhất quán và độ nhạy của phép đo, nồng độ mẫu thử được thiết lập khác nhau ở hai giai đoạn nghiên cứu. Trong giai đoạn khảo sát đơn yếu tố, nồng độ mẫu thử 1 000 $\mu\text{g/mL}$ được sử dụng nhằm quan sát xu hướng ảnh hưởng của từng yếu tố một cách sơ bộ. Ở giai đoạn tối ưu hóa theo thiết kế Box-Behnken, nồng độ mẫu thử được tăng lên 2 000 $\mu\text{g/mL}$ để tăng tín hiệu hấp thu và giảm sai số dao động khi đánh giá hoạt tính ức chế enzyme. Việc áp dụng hai mức nồng độ khác nhau là phù hợp với mục đích từng giai đoạn và không ảnh hưởng đến tính nhất quán của kết quả nghiên cứu.

2.5. Thiết kế thí nghiệm (Box-Behnken design – BBD)

2.5.1. Cấu trúc thiết kế và mô hình

Ba yếu tố: thời gian (X_1 : 10/20/3) phút, nhiệt độ (X_2 : 40/50/60) °C, ethanol (X_3 : 50/70/90) %.

Số thí nghiệm theo BBD:

$$N = 2 \times k \times (k - 1) + c = 2 \times 3 \times (3 - 1) + 3 = 15$$

Giá trị tổng hàm lượng cao chiết có hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase (Y), mô hình toán được biểu diễn bằng phương trình hồi quy bậc hai [11, 12].

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad [12]$$

2.5.2. Ma trận thí nghiệm

Bảng 1. Ma trận các biến độc lập và các mức

STT	Biến	Ký hiệu	Mức		
1	Thời gian (phút)	X_1	10	20	30
2	Nhiệt độ (°C)	X_2	40	50	60
3	Ethanol (%)	X_3	50	70	90

Bảng 2. Thiết kế 15 mô hình BBD

STT	Dung môi (EtOH %)	Thời gian siêu âm (phút)	Nhiệt độ (°C)
1	50	10	50
2	90	10	50
3	50	30	50
4	90	30	50
5	50	20	40
6	90	20	40
7	50	20	60
8	90	20	60
9	70	10	40
10	70	30	40
11	70	10	60
12	70	30	60
13	70	20	50
14	70	20	50
15	70	20	50

2.5.3. ANOVA và độ phù hợp mô hình

Trong phân tích phương sai (ANOVA), mức độ phù hợp của mô hình được đánh giá dựa vào phân tích sự biến thiên trong tập dữ liệu. Các thông số được xem xét bao gồm: tổng bình phương toàn bộ (SStot), tổng bình phương của sai số (SSE), tổng bình phương của độ lệch chuẩn (SSres), tổng bình phương do sai lệch phù hợp (SSlof), và trung bình bình phương sai số (MSE) (bảng 3). Trong đó, bình phương độ lệch chuẩn được xác định theo công thức:

$$d_i^2 = (y_{ij} - \bar{y})^2$$

2.6. Xử lý và phân tích số liệu (Statistical analysis)

Tất cả các thí nghiệm được thực hiện ít nhất ba lần độc lập. Kết quả được biểu diễn dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD). Phân tích phương sai một yếu tố (one-way ANOVA) và kiểm định Tukey HSD được thực hiện bằng phần mềm IBM SPSS Statistics 25 (IBM Corp., USA). Khác biệt được coi là có ý nghĩa thống kê khi $p <$



0,05 (Zar, 2014).

3. Kết quả

3.1. Xác định các yếu tố và biến số

Ba yếu tố được khảo sát gồm nồng độ ethanol, thời gian siêu âm và nhiệt độ chiết. Kết quả trong Bảng 3-5 cho thấy cả ba yếu tố đều ảnh hưởng đến hai biến đáp ứng, nhưng mức độ tác động khác nhau.

Bảng 3. Kết quả khảo sát dung môi (ethanol %)

Ethanol (%)	Thời gian (phút)	Nhiệt độ (°C)	Hàm lượng chất chiết được (%)	Khả năng ức chế enzym α -glucosidase (%)
50	20	27	10,80	13,16
70	20	27	7,30	19,49
90	20	27	2,10	18,93

Nồng độ dung môi là yếu tố chi phối mạnh nhất. Ethanol 50 % cho hàm lượng chất chiết cao nhất, trong khi ethanol 70 % lại tạo ra hoạt tính ức chế α -glucosidase lớn hơn. Điều này phản ánh tính chọn lọc của dung môi đối với các nhóm polyphenol và flavonoid, vốn là thành phần đóng góp chính vào hoạt tính sinh học.

Bảng 4. Kết quả khảo sát thời gian (phút)

Thời gian (phút)	Dung môi (ethanol %)	Nhiệt độ (°C)	Hàm lượng chất chiết được (%)	Khả năng ức chế enzym α -glucosidase (%)
10	70	27	7,75	17,98
20	70	27	7,89	19,05
30	70	27	9,05	22,79

Thời gian siêu âm cho thấy xu hướng tăng tương ứng với thời gian xử lý. Thời gian 30 phút tạo ra hàm lượng chất chiết và hoạt tính ức chế cao hơn hai mức còn lại. Điều này phù hợp với cơ chế phá vỡ cấu trúc tế bào và tăng cường khả năng giải phóng hoạt chất dưới tác động của sóng siêu âm.

Bảng 5. Kết quả khảo sát nhiệt độ (°C)

Nhiệt độ (°C)	Dung môi (ethanol %)	Thời gian (phút)	Hàm lượng chất chiết được (%)	Khả năng ức chế enzym α -glucosidase (%)
40	70	30	9,24	20,20
50	70	30	10,19	18,96
60	70	30	10,35	21,64

Nhiệt độ chiết ảnh hưởng ít hơn so với dung môi và thời gian, nhưng vẫn thể hiện sự khác biệt giữa các mức khảo sát. Nhiệt độ 60 °C cho hoạt tính ức chế α -glucosidase cao hơn, cho thấy sự hỗ trợ của nhiệt trong hòa tan polyphenol nhạy nhiệt ở mức vừa phải.

Kết luận: tổng hợp các kết quả cho thấy cả ba yếu tố (dung môi, thời gian và nhiệt độ) đều ảnh hưởng đến hai biến đáp ứng, trong đó dung môi là yếu tố chi phối mạnh nhất.

3.2. Thí nghiệm theo 15 mô hình Design-Expert

Mười lăm mô hình được xây dựng theo thiết kế Box-Behnken nhằm đánh giá đồng thời ảnh hưởng của ba yếu tố chiết xuất đến hàm lượng chất chiết và khả năng ức chế α -glucosidase. Kết quả thể hiện tại Bảng 6 cho thấy sự phân hóa rõ rệt giữa các mô hình thí nghiệm.

Ở nhóm mẫu chứa ethanol 70 %, hoạt tính ức chế α -glucosidase đạt trên 20 %, cao hơn đáng kể so với ethanol 50 % và 90 %. Trong khi đó, ethanol 50 % và 70 % cho hàm lượng chất chiết cao hơn ethanol 90 %, phản ánh khả năng hòa tan hoạt chất giảm khi nồng độ ethanol tăng quá cao. Ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ thể hiện rõ nhưng không vượt trội so với dung môi. Điều này phù hợp với kết quả phân tích ANOVA sau đó, khi nồng độ ethanol và thành phần bình phương của biến dung môi (A^2) được xác định là yếu tố quan trọng nhất trong cả hai biến đáp ứng.

Nhìn chung, tập dữ liệu từ 15 mô hình cung cấp cơ sở đầy đủ để xây dựng phương trình hồi quy bậc hai và thực hiện tối ưu hóa bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM).

3.3. Phân tích dữ liệu

Từ kết quả thực hiện thí nghiệm theo 15 mô hình, tiến hành nhập dữ liệu đã thu thập được vào Design-Expert, các dữ liệu được phần mềm phân tích và cho ra kết quả tối ưu hóa (Bảng 7).

Bảng 6. Kết quả hàm lượng chất chiết được (%) và hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase (%) 15 mô hình

EtOH (%)	Thời gian (phút)	Nhiệt độ (°C)	Hàm lượng chất chiết được (%)	Ức chế α -glucosidase (%)
50	10	50	10,02	11,09
90	10	50	2,66	17,74
50	30	50	9,88	13,79
90	30	50	3,34	11,16
50	20	40	10,77	12,66
90	20	40	3,09	16,48
50	20	60	9,20	15,96
90	20	60	2,67	14,34
70	10	40	8,52	26,06
70	30	40	8,21	24,82
70	10	60	7,22	27,11
70	30	60	10,24	27,89
70	20	50	7,97	23,78
70	20	50	8,63	25,07
70	20	50	8,82	29,75



Bảng 7. Phân tích mô hình tối ưu phù hợp cho 2 biến phụ thuộc

Dạng mô hình	Giá trị P	Sai số thiếu phù hợp của giá trị P	R ² hiệu chỉnh	R ² dự đoán	
Hàm lượng chất chiết được (%)					
Tuyến tính	0,0002	0,0819	0,7790	0,6589	
Tương tác 2 nhân tố	0,7006	0,0652	0,7430	0,3475	
Bậc 2	0,0075	0,2917	0,9555	0,7906	Được đề xuất
Bậc 3	0,2917		0,9771		
Hoạt tính ức chế enzym- α glucosidase (%)					
Tuyến tính	0,9779	0,1367	-0,2509	-0,8805	
Tương tác 2 nhân tố	0,9351	0,0980	-0,6359	-3,0348	
Bậc 2	0,0006	0,9523	0,8981	0,8524	Được đề xuất
Bậc 3	0,9523		0,7788		

Dựa vào kết quả trên cả hai biến phụ thuộc được đề xuất sử dụng mô hình bậc 2 để thực hiện tối ưu hóa.

Phân tích Anova cho mô hình bậc 2:

a. Hàm lượng chất chiết được (%)

Bảng 8. Phân tích Anova của biến phụ thuộc: hàm lượng chất chiết được (%)

	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị P	
Mô hình	119,44	9	13,27	34,40	0,0006	Có ý nghĩa
A -Dung môi	98,77	1	98,77	256,05	< 0,0001	
B-Nhiệt độ	0,1963	1	0,1963	0,5088	0,5076	
C-Thời gian	1,32	1	1,32	3,42	0,1238	
AB	0,3302	1	0,3302	0,8561	0,3973	
AC	0,1682	1	0,1682	0,4361	0,5382	
BC	2,76	1	2,76	7,15	0,0441	
A ²	15,63	1	15,63	40,51	0,0014	
B ²	0,0004	1	0,0004	0,0010	0,9759	
C ²	0,0136	1	0,0136	0,0353	0,8584	
Sai số dư	1,93	5	0,3858			
Sai số thiếu phù hợp	1,53	3	0,5108	2,58	0,2917	Không có ý nghĩa
Sai số thuần	0,3962	2	0,1981			
Tổng hiệu chỉnh	121,37	14				

Phương trình hồi quy theo biến mã hóa:

$$\text{Hàm lượng chất chiết được (\%)} = + 8,48 - 3,51A - 0,1566B + 0,4059C + 0,2873AB + 0,2051AC + 0,8304BC - 2,06A^2 + 0,0103B^2 + 0,0607C^2$$

Mô hình bậc hai được đề xuất vì:

- + Giá trị P = 0,0006 (rất nhỏ) nên mô hình có ý nghĩa thống kê.
- + Giá trị F của mô hình = 34,40 ngụ ý rằng mô hình có ý nghĩa. Chỉ có 0,06 % khả năng giá trị F lớn như vậy có thể xảy ra do nhiều.
- + Sai số thiếu phù hợp của giá trị P = 0,2917 (> 0,05) nên sai lệch mô hình không đáng kể từ đó cho thấy mô hình phù hợp.

Bảng 9. Hệ số R² của hàm lượng chất chiết được (%)

Hệ số R ²	0,9841	Hệ số R ² dự đoán	0,7906
Hệ số R ² điều chỉnh	0,9555	Độ chính xác	15,8385

Các hệ số R² điều chỉnh = 0,9555 và R² dự đoán = 0,7906 có sự khác biệt < 0,2 nên mô hình có sự phân tích và dự đoán hợp lý. Độ chính xác thích hợp thể hiện tỷ lệ giữa “tín hiệu” và “nhiều” = 15,8385. Tín hiệu này > 4 nên kết luận được tín hiệu mạnh và mô hình đáng tin cậy được xem là phù hợp. Tất cả các biến đều thỏa mãn yêu cầu này.

Bảng 10. Bảng yếu tố ảnh hưởng hàm lượng chất chiết được (%)

Yếu tố	Ý nghĩa	Giá trị P
A (Dung môi)	Có ảnh hưởng rất lớn	< 0,0001



Yếu tố	Ý nghĩa	Giá trị P
BC (Tương tác thời gian * nhiệt độ)	Ảnh hưởng vừa phải	0,0441
A ² (Bình phương dung môi)	Ảnh hưởng phi tuyến lớn	< 0,0001
B (Thời gian)	Không có ảnh hưởng	0,5076 > 0,05
C (Nhiệt độ)	Không có ảnh hưởng	0,1238 > 0,05

Hàm lượng chất chiết được (%) phụ thuộc chủ yếu vào dung môi và bình phương dung môi (A²). Yếu tố thời gian và nhiệt độ hầu như không ảnh hưởng, chỉ có yếu tố tương tác giữa thời gian và nhiệt độ là có ảnh hưởng vừa phải.

b. Khả năng ức chế enzyme α -glucosidase (%)

Bảng 11. Phân tích Anova của biến phụ thuộc: hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase (%)

	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị P	
Mô hình	600,67	9	66,74	14,71	0,0043	Có ý nghĩa
A-Dung môi	4,83	1	4,83	1,07	0,3492	
B-Nhiệt Độ	3,48	1	3,48	0,7673	0,4211	
C-Thời gian	2,36	1	2,36	0,5210	0,5028	
AB	7,37	1	7,37	1,63	0,2583	
AC	21,56	1	21,56	4,75	0,0811	
BC	1,01	1	1,01	0,2232	0,6565	
A ²	548,07	1	548,07	120,84	0,0001	
B ²	2,62	1	2,62	0,5778	0,4815	
C ²	1,21	1	1,21	0,2660	0,6280	
Sai số dư	22,68	5	4,54			
Sai số thiếu phù hợp	2,98	3	0,9938	0,1009	0,9523	Không có ý nghĩa
Sai số thuần	19,70	2	9,85			
Tổng hiệu chỉnh	623,35	14				

Phương trình hồi quy theo biến mã hóa

$$\text{Hoạt tính ức chế enzyme } \alpha\text{-glucosidase (\%)} = + 26,20 + 0,7774A + 0,6596B - 0,5435C - 1,36AB - 2,32AC + 0,5030BC - 12,18A^2 + 0,8425B^2 - 0,5716C^2$$

Mô hình bậc hai được chọn vì:

- + Giá trị P = 0,0043 (rất nhỏ) nên có ý nghĩa thống kê.
- + Giá trị F của mô hình = 14,71 ngụ ý rằng mô hình có ý nghĩa. Chỉ có 0,43 % khả năng giá trị F lớn như vậy có thể xảy ra do nhiều.
- + Sai số thiếu phù hợp của giá trị P = 0,9523 (> 0,05) nên sai lệch mô hình không đáng kể từ đó cho thấy mô hình phù hợp.

Bảng 12. Hệ số R² của hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase (%)

Hệ số R ²	0,9636	Hệ số R ² dự đoán	0,8524
Hệ số R ² điều chỉnh	0,8981	Độ chính xác	9,3631

Các hệ số R² điều chỉnh và R² dự đoán có sự khác biệt < 0,2 nên mô hình có sự phân tích và dự đoán hợp lý. Độ chính xác thích hợp thể hiện tỷ lệ giữa “tín hiệu” và “nhiều” = 9,3631. Tín hiệu này > 4 nên kết luận được tín

hiệu mạnh và mô hình đáng tin cậy được xem là phù hợp. Tất cả các biến đều thỏa mãn yêu cầu này.

Phân tích phương sai (ANOVA) cho thấy mô hình hồi quy bậc hai phù hợp cho cả hai biến đáp ứng (p < 0,01). Trong các yếu tố khảo sát, nồng độ ethanol (A) và đặc biệt là thành phần bình phương của dung môi (A²) là các yếu tố có ảnh hưởng mạnh nhất đến hàm lượng chất chiết và hoạt tính ức chế α -glucosidase. Ngược lại, thời gian siêu âm (C) và nhiệt độ chiết (B) chỉ tạo ra biến thiên nhỏ và không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Ảnh hưởng nổi bật của A² phản ánh tính phi tuyến trong quá trình hòa tan polyphenol. Sự thay đổi nồng độ ethanol làm thay đổi độ phân cực dung môi theo dạng parabol, giúp polyphenol hòa tan tốt nhất ở vùng nồng độ trung gian (khoảng 60-70 %). Ở nồng độ ethanol quá thấp hoặc quá cao, khả năng hòa tan polyphenol giảm mạnh, dẫn đến sự suy giảm cả hàm lượng chất chiết và hoạt tính ức chế enzyme. Do đó, sự chi phối của A² là phù hợp với đặc tính hóa lý của hệ thống.

Bảng 13. Bảng yếu tố ảnh hưởng hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase (%)

Yếu tố	Ý nghĩa	Giá trị P
A (Dung môi)	Không có ý nghĩa	0,3492
A ² (Bình phương Dung môi)	Có ảnh hưởng quan trọng	0,0001
B	Không có ý nghĩa	P (0,4211) > 0,1
C	Không có ý nghĩa	P (0,5028) > 0,1
Các yếu tố tương tác	Không có ý nghĩa	P > 0,1

Từ mô hình hồi quy và phân tích hàm mong đợi (desirability function), phần mềm Design-Expert xác định được các điều kiện chiết tối ưu như sau.

Bảng 14. Các mô hình tối ưu hóa

STT	Dung môi (ethanol %)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	Hàm lượng chất chiết được (%)	Hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase (%)	Mức độ mong muốn	
1	65,43	60,00	30,00	10,21	27,12	0,885	Được chọn
2	65,58	60,00	30,00	10,19	27,14	0,885	
3	65,28	60,00	29,99	10,23	27,10	0,885	
4	65,84	60,00	30,00	10,17	27,17	0,885	
5	65,37	60,00	29,90	10,20	27,12	0,885	
6	66,09	60,00	30,00	10,14	27,19	0,885	
7	64,58	60,00	30,00	10,29	26,98	0,884	
8	65,31	59,91	30,00	10,22	27,07	0,884	
9	64,87	59,66	30,00	10,25	26,93	0,880	
10	65,44	59,19	30,00	10,16	26,87	0,875	
11	65,07	60,00	25,82	9,71	27,22	0,867	
12	69,20	40,00	10,00	9,28	26,66	0,828	
13	69,05	40,00	10,00	9,31	26,62	0,828	
14	69,52	40,00	10,00	9,22	26,74	0,828	
15	68,89	40,00	10,00	9,34	26,57	0,828	
16	69,24	40,00	10,10	9,27	26,67	0,828	
17	69,29	40,00	10,20	9,26	26,69	0,828	
18	68,85	40,00	10,22	9,34	26,57	0,827	
19	70,00	40,00	10,00	9,13	26,86	0,827	
20	69,51	40,00	10,40	9,20	26,75	0,827	
21	69,05	40,11	10,00	9,30	26,60	0,827	
22	67,75	40,00	10,00	9,55	26,20	0,825	
23	70,08	40,00	10,90	9,06	26,88	0,825	
24	68,52	40,00	13,02	9,25	26,49	0,821	
25	71,50	40,00	10,00	8,82	27,12	0,820	

Do các kết quả chạy Design-Expert cho kết quả dung môi ở khoảng giữa, chỉ có thời gian và nhiệt độ tuy ở tiệm cận mức trên nhưng theo phân tích của Design-Expert 2 yếu tố này ảnh hưởng không đáng kể, nên không cần mở rộng khoảng chạy tối ưu. Vậy nên mẫu cao chiết tối ưu sẽ có thông số như sau:

- + Dung môi (ethanol %): 65,425
- + Nhiệt độ (°C): 60
- + Thời gian (phút): 30
- + Hàm lượng chất chiết được (%): 10,210 (dự kiến)

+ Hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase (%): 27,116 (dự kiến)

+ Mức độ mong muốn (desirability): 0,885

3.4. Thí nghiệm thử hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase theo điều kiện chiết cao tối ưu

3.4.1. Hàm lượng chất chiết được của mẫu cao tối ưu



Bảng 15. Hàm lượng chất chiết được (%) theo điều kiện chiết tối ưu

Mẫu	Dung môi (ethanol %)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	Hàm lượng chất chiết được (%)	Trung bình	Độ lệch chuẩn (%)
1	65	60	30	10,64	11,53	1,21
2	65	60	30	11,05		
3	65	60	30	12,91		

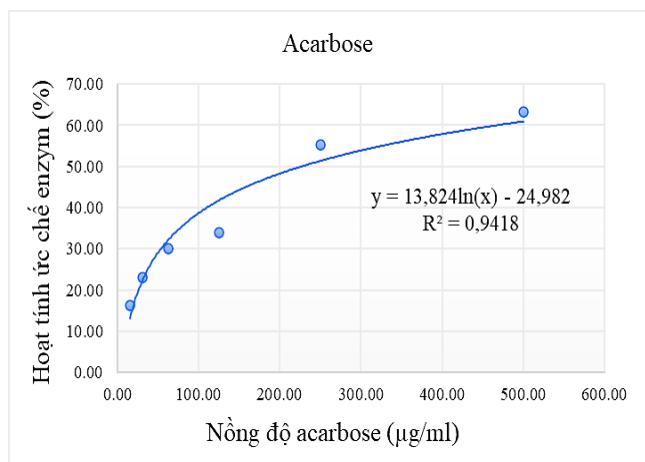
Nhận xét: hàm lượng chất chiết được của mẫu cao DG cho thấy kết quả tốt, có sự tương đương và vượt mong đợi với tính toán dự tính của Design-expert. (Bảng 15)

3.4.2. Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của mẫu cao chiết tối ưu

Hoạt tính ức chế hoạt động enzyme α -glucosidase ở cao DG với acarbose là chứng dương được trình bày bên dưới (Bảng 16) với nồng độ enzyme α -glucosidase thử nghiệm = 0,2 U/mL.

Bảng 16. Hoạt tính ức chế α -glucosidase của cao chiết và acarbose

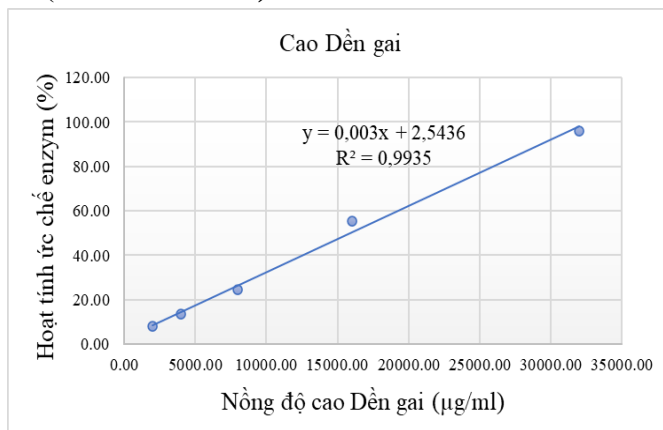
Mẫu	Nồng độ (µg/mL)	I (%)	Mẫu	Nồng độ (µg/mL)	I (%)
Cao Dền gai	32 000	96,03	Acarbose	500	63,22
	16 000	55,41		250	55,36
	8 000	24,69		125	33,84
	4 000	13,05		62,5	30,12
	2 000	8,07		31,25	23,00



Hình 1. Phương trình hồi quy hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của acarbose

Kết quả ghi nhận cho thấy I (%) của chứng dương acarbose tỷ lệ thuận với nồng độ I (%) tăng dần khi nồng độ tăng), điều đó khẳng định rằng hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase phụ thuộc vào nồng độ của cao. Khả năng ức chế enzyme α -glucosidase cao nhất của cao DG là 96,03 % ở nồng độ 32 000 µg/mL còn với chứng dương là 62,22 % ở nồng độ 500 µg/mL.

Dựa vào phần trăm hoạt tính ức chế enzyme và nồng độ mẫu thử nghiệm, xây dựng phương trình đường cong logarithmic cho chứng dương acarbose và đường thẳng có dạng $y = ax + b$ cho mẫu cao tối ưu được trình bày ở (Hình 1 và Hình 2).

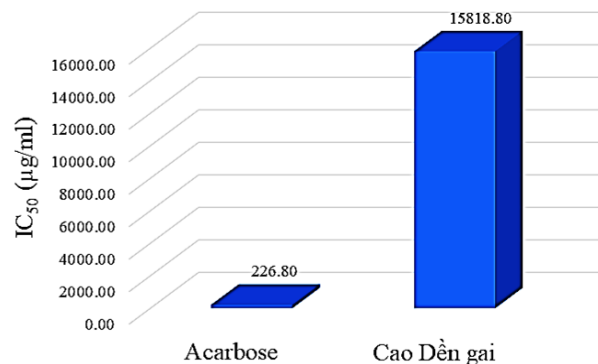


Hình 2. Phương trình hồi quy hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase cao DG

Xác định giá trị IC_{50} bằng cách thay $y = 50$ vào từng phương trình ta có kết quả (Hình 3):

Acarbose: $y = 13,824\ln(x) - 24,982$, $x = 226,80$ (µg/mL)

Cao DG: $y = 0,003x + 2,5436$, $x = 15818,80$ (µg/mL)



Hình 3. Kết quả IC_{50} của chứng dương và mẫu thử

Từ kết quả này cho thấy cao DG có giá trị $IC_{50} = 15818,80$ µg/mL so với chứng dương acarbose $IC_{50} = 226,80$ µg/mL có hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase yếu hơn.

4. Bàn luận

Kết quả khảo sát ba yếu tố chiết xuất gồm nồng độ ethanol, thời gian siêu âm và nhiệt độ cho thấy cả ba yếu tố đều ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi và hoạt tính ức chế α -glucosidase của cao DG. Dung môi là yếu tố chi phối mạnh nhất, phù hợp với đặc tính hòa tan của nhóm polyphenol và flavonoid, các hợp chất được xem là thành phần chính tạo nên hoạt tính sinh học của *Amaranthus spinosus*. Xu hướng tối ưu hóa ở vùng nồng độ ethanol trung bình (khoảng 60-70 %) cũng tương đồng

với kết quả của Girija et al. (2011), trong đó chiết polyphenol từ *Amaranthus* spp. bằng dung môi ethanol 60-70 % cho hàm lượng hoạt chất cao nhất. Sharma et al. (2021) khi đánh giá hoạt tính kháng enzym tiêu hóa của các loài *Amaranthus* cũng ghi nhận rằng dung môi ethanol 50-70 % tạo ra dịch chiết có hoạt tính ức chế α -glucosidase nổi bật hơn so với các dung môi phân cực mạnh hoặc yếu hơn.

Về hoạt tính sinh học, cao chiết tối ưu thể hiện khả năng ức chế α -glucosidase phụ thuộc liều, đạt mức ức chế cao nhất 96,03 % tại 32 000 $\mu\text{g/mL}$. Giá trị IC_{50} xác định là 15 818,80 $\mu\text{g/mL}$ cao hơn đáng kể so với acarbose (226,80 $\mu\text{g/mL}$) nhưng phù hợp với đặc tính của cao thô tự nhiên. Đồng thời, xét đến sự khác biệt về phương pháp chiết, bộ phận sử dụng của cây và hàm lượng polyphenol, giá trị IC_{50} của nghiên cứu này hoàn toàn phù hợp và nằm trong khoảng dao động đã được báo cáo trong nhiều công bố trong và ngoài nước.

Mặc dù IC_{50} của cao DG còn tương đối cao, điều này phản ánh đặc điểm hòa tan hỗn hợp nhiều chất tự nhiên trong cao thô, trong đó chỉ một phần nhỏ là các hợp chất có hoạt tính mạnh. Tuy nhiên, giá trị này vẫn có ý nghĩa thực tiễn ở giai đoạn nghiên cứu tiền công thức, bởi: (i) dịch chiết thô thường là nguyên liệu đầu vào để tiến hành phân đoạn và tinh sạch; (ii) nhiều hợp chất polyphenol/flavonoid trong *Amaranthus spinosus* đã được chứng minh sở hữu hoạt tính ức chế enzym mạnh hơn khi ở dạng phân đoạn giàu hoạt chất và (iii) mức ức chế >90 % tại nồng độ cao

cho thấy dịch chiết chứa các hợp chất có tiềm năng sinh học đáng khai thác. Do đó, hoạt tính của cao DG có thể được cải thiện đáng kể nếu tiến hành phân lập, tinh sạch hoặc chuẩn hóa thành phần.

5. Kết luận và kiến nghị

Kết quả nghiên cứu khẳng định cả ba yếu tố chiết xuất gồm nồng độ dung môi ethanol, nhiệt độ và thời gian siêu âm đều ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng chất chiết cũng như khả năng ức chế enzym α -glucosidase của cao DG. Thông qua mô hình Box-Behnken và phương pháp bề mặt đáp ứng, điều kiện chiết tối ưu được xác định là ethanol 65,43 %, thời gian siêu âm 30 phút và nhiệt độ 60 °C. Tại điều kiện này, hàm lượng chất chiết dự đoán đạt 10,21 %, trong khi giá trị thực nghiệm ghi nhận lần lượt 10,64 %, 11,05 % và 12,91 %, cho thấy hiệu suất chiết thực tế cao hơn so với dự đoán của mô hình, đồng thời phản ánh tính phù hợp và độ tin cậy của quy trình tối ưu. Trên cơ sở kết quả thu được, nghiên cứu kiến nghị tiếp tục triển khai các hướng phát triển như: (i) phân đoạn và tinh sạch các hợp chất hoạt tính nhằm cải thiện hiệu lực ức chế enzym; (ii) đánh giá sâu hơn cơ chế tác động sinh học và (iii) khảo sát tiềm năng ứng dụng trong các dạng chế phẩm hoặc sản phẩm hỗ trợ kiểm soát đường huyết có nguồn gốc từ dược liệu DG.

Lời cảm ơn

Chúng tôi xin cảm ơn Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Thành phố Hồ Chí Minh đã tài trợ cho nghiên cứu này trong khuôn khổ đề tài thuộc mã số 2025.01.217

Tài liệu tham khảo

1. International Diabetes Federation. (2024). *IDF Diabetes Atlas* (11th ed.). Brussels, Belgium. <https://diabetesatlas.org/resources/idf-diabetes-atlas-2025/> Accessed: Nov. 13, 2025.
2. Phan, M. T., Nguyen, T. V. V. L. T., Dinh, T. T. H., & Nguyen, T. N. (2023). Quality of life among outpatients with diabetes mellitus at Son Tra Hospital, Da Nang: A cross-sectional study. *Journal of Nursing Science*, 6(3), 140-49. <https://doi.org/10.51298/vmj.v550i1.13869>
3. Liu, Z., & Ma, S. (2017). Recent advances in synthetic α -glucosidase inhibitors. *ChemMedChem*, 12(11), 819–829. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201700201>
4. Sharma, I., Kasture, P., Umrao, A., Rao, J., & Rao, G. (2021). Phytochemical analysis of *Amaranthus spinosus* Linn.: An in vitro analysis. *Journal of Emerging Investigators*, 2, 1-7. <https://doi.org/10.59720/20-117>
5. Nasir, R., Alhassan, H. S., Abubakar, A., & Ibrahim, Y. (2020). Phytochemical analysis and antimicrobial activity of leaf extract of *Amaranthus spinosus*. <http://hdl.handle.net/123456789/5817>
6. Zeashan, H., Amresh, G., Rao, C. V., & Singh, S. (2009). Antinociceptive activity of *Amaranthus spinosus* in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 122(3), 492-496. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.02.012>
7. Girija, K., Lakshman, K., Udaya, C., Sachi, G. S., & Divya, T. (2011). Anti-diabetic and anti-cholesterolemic activity of methanol extracts of three species of *Amaranthus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), 133-138. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60012-2](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60012-2)
8. Giao, L. B. N., Vy, P. T., Ngan, N. P. T., & Giang, P. T. H. (2024). Evaluation of antioxidant and α -glucosidase



- inhibitory activities of *Amaranthus spinosus* L. (Amaranthaceae). *Journal of Science and Technology*, 7(1), 9. <https://doi.org/10.55401/4kcg3g22>
9. Bộ Y tế. (2017). *Dược điển Việt Nam V* (Tập 2). Phụ lục 12.15: Căn khô của các chất chiết trong dược liệu (p. PL-280).
10. Dong, H.-Q., Li, M., Zhu, F., Liu, F.-L., & Huang, J.-B. (2012). Inhibitory potential of trilobatin from *Lithocarpus polystachyus* Rehd against α -glucosidase and α -amylase linked to type 2 diabetes. *Food Chemistry*, 130(2), 261-266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.033>
11. Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escalera, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965-977. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>
12. Podder, S., & Mukherjee, S. (2024). Response surface methodology (RSM) as a tool in pharmaceutical formulation development. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 17(11), 18-25. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2024v17i11.52149>

Optimization of the Extraction Process of *Amaranthus spinosus* L. (Amaranthaceae) Extract Targeting α -Glucosidase Inhibition

Lu Bich Ngoc Giau^{1*}, Thanh Tran Tien², Tran Ngoc Ha², Phan Thien Vy^{2*}

¹Department of Science and Technology, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City

²Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City

*ptvy@ntt.edu.vn

Abstract This study aimed to optimize the extraction of *Amaranthus spinosus* L. (Amaranthaceae) using ultrasound-assisted extraction (UAE) to improve both extraction yield and α -glucosidase inhibitory activity. A Box-Behnken design was employed to investigate the effects of ethanol concentration (50-90 %), ultrasound duration (10-30 min), and extraction temperature (40-60 °C). Response surface methodology (RSM) was used to analyze the experimental data. The quadratic model identified ethanol concentration as the most influential factor for both responses, whereas extraction time and temperature had comparatively weaker effects. The optimal extraction conditions were determined as 65.43 % ethanol, 60 °C, and 30 minutes of ultrasound treatment. Under these conditions, the model predicted an extraction yield of 10.21 % and an α -glucosidase inhibition level of 27.12 %. Experimental validation showed yields ranging from 10.64 % to 12.91 %, confirming the reliability of the optimization model. The optimized extract exhibited a maximum α -glucosidase inhibition of 96.03 % at 32 000 μ g/mL, with an IC₅₀ value of 15 818.80 μ g/mL. These findings demonstrate the potential of *A. spinosus* as a natural source for developing plant-based products that support postprandial blood glucose regulation.

Keywords *Amaranthus spinosus*; α -glucosidase; ultrasound-assisted extraction (UAE); Box-Behnken design; optimization