

TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH THU NHẬN VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN CỦA SAPONIN TỪ CÂY KIM TIỀN THẢO *Desmodium styracifolium*

Nguyễn Ngọc Kim Hoàng, Lê Hồng Soan, Hoàng Thị Ngọc Nhon*

Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

*Email: nhonhtn@huit.edu.vn

Ngày nhận bài: 11/8/2025; Ngày nhận bài sửa: 07/10/2025; Ngày chấp nhận đăng: 26/11/2025

TÓM TẮT

Cây kim tiền thảo là một loài dược liệu chứa nhiều hợp chất sinh học giá trị, trong đó saponin là nhóm chất tự nhiên có hoạt tính phong phú và tiềm năng ứng dụng rộng rãi. Nghiên cứu này nhằm xác định thông số ảnh hưởng đến hiệu quả thu nhận saponin thông qua các phương pháp trích ly rắn – lỏng (SLE) và trích ly có hỗ trợ của vi sóng (MAE). Sau đó, quá trình tối ưu hóa điều kiện trích ly được thực hiện bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) đồng thời đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết giàu saponin. Kết quả thu nhận được ở phương pháp MAE cho hiệu quả cao hơn so với SLE nên tiến hành tối ưu hóa các điều kiện trích ly của MAE, tại điều kiện lần lượt là tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/21,47 (w/v), công suất vi sóng là 318,92 W trong thời gian vi sóng là 65,76 giây thu được hàm lượng 79,32 mg OAE/gCK. Dịch chiết giàu saponin từ *D. styracifolium* thể hiện khả năng kháng khuẩn đáng kể đối với *Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli*, được đánh giá bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. Khi tăng nồng độ từ 100 µg/mL đến 300 µg/mL, khả năng kháng khuẩn của saponin từ dịch trích tăng dần theo với đường kính lần lượt đạt $20,48 \pm 0,39$ mm, $22,92 \pm 0,06$ mm, $24,36 \pm 0,10$ mm đối với *S. aureus* và có vòng kháng là $16,33 \pm 0,28$ mm, $18,40 \pm 0,25$ mm, $19,94 \pm 0,32$ mm tương ứng với *E. coli*. Từ đó, các kết quả nghiên cứu sẽ làm cơ sở xác định tiềm năng ứng dụng của dịch chiết trong thực phẩm chức năng và dược phẩm.

Từ khóa: *Desmodium styracifolium*, kháng khuẩn, saponin, trích ly hỗ trợ vi sóng, trích ly rắn – lỏng.

1. MỞ ĐẦU

Kim tiền thảo (*Desmodium styracifolium*) thuộc họ Đậu (Fabaceae), được dùng phổ biến trong Đông y nhờ hàm lượng hoạt chất sinh học phong phú và đặc tính sinh lý cao, mang lại nhiều lợi ích như lợi tiểu, kháng khuẩn, kháng viêm, hỗ trợ điều trị sỏi thận (thuốc trị sỏi thận kim tiền thảo OPC), hạ huyết áp và giảm bệnh gan ứ mật [1, 2]. Thành phần hóa học chính của kim tiền thảo gồm flavonoid, polysaccharide, alkaloid, saponin [3]. Trong đó, saponin là nhóm hoạt chất nổi bật với nhiều công dụng như khả năng kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng viêm, hỗ trợ điều hòa cải thiện chức năng gan thận [4, 5]. Nhờ những đặc tính này, kim tiền thảo không chỉ có cơ sở khoa học để ứng dụng cải thiện các bệnh về hệ tiết niệu, gan mật và tiểu đường [6, 7], mà còn góp phần khẳng định tiềm năng của loại thảo dược này như nguồn nguyên liệu tự nhiên giàu saponin có giá trị sinh học cao.

Saponin hay saponosid là nhóm glycosid có mặt phổ biến trong thế giới thực vật, có đặc tính cấu trúc lưỡng cực gồm phần kỵ nước (aglycon) và phần ưa nước (chuỗi đường). Nhờ đó, saponin thể hiện đa dạng hoạt tính sinh học bao gồm khả năng ức chế vi sinh vật, kháng oxy hóa, chống viêm, kháng nấm, hạ đường huyết và điều hòa miễn dịch. Ở phạm vi thế giới, các nghiên cứu đã chứng minh saponin có tiềm năng khai thác trong các lĩnh vực y dược, thực phẩm chức năng và bảo quản thực phẩm. Cụ thể, saponin đã ghi nhận là có kim hãm sự sinh trưởng của *E. coli*, *S. aureus* và các vi sinh vật gây bệnh khác, đồng thời giảm sự oxy hóa lipid, bảo quản thực phẩm lâu hơn [8, 9]. Một số công bố gần đây còn chỉ ra vai trò của saponin trong hoạt động phòng ngừa ung thư và hỗ trợ điều hòa bệnh về tim mạch [4, 10]. Mặc dù giá trị sinh học của saponin đã được chứng minh rộng rãi nhưng chưa có nghiên cứu nào khai thác và ứng dụng từ *D. styracifolium* [11]. Do đó, việc tối ưu hóa quá trình thu nhận và đánh

giá khả năng kháng khuẩn của saponin từ loài cây này là cần thiết, trước xu hướng sử dụng thực vật tự nhiên thay thế cho kháng sinh.

Ở nước ta, *D. styracifolium* là loài cây bản địa, mọc khắp các khu vực vùng núi đồi, các trảng cỏ ven đường và thửa ruộng bỏ hoang, phổ biến ở phía Bắc và trung du như Hà Tây, Lạng Sơn, Ninh Bình, Hải Phòng [6]. Đây là loài cây sinh trưởng tốt trong môi trường nhiệt đới ẩm, dễ thu hái, từ lâu đã được đông y khai thác sử dụng. Những nghiên cứu hiện nay chỉ chủ yếu tập trung đánh giá khả năng lợi tiểu và hỗ trợ điều trị sỏi thận như trong nghiên cứu của H. Hirayama và cộng sự [12] hay khảo sát tổng hàm lượng flavonoid trong nghiên cứu của Minh Giang Phan [13], nhưng giá trị sinh học của saponin trong *D. styracifolium* chưa được khai thác toàn diện. Trong khi đó, phát triển nguồn saponin từ thực vật tự nhiên là xu hướng nghiên cứu tiềm năng được ứng dụng rộng rãi trong những năm gần đây. Để khai thác hiệu quả nguồn hoạt chất này, việc tối ưu hóa điều kiện chiết tách bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) được xem như một hướng nghiên cứu quan trọng, vì RSM vừa cho phép xây dựng mô hình thực nghiệm chính xác vừa giúp cải thiện hiệu quả thu hồi qua việc phân tích các yếu tố ảnh hưởng.

Việc thu nhận saponin từ *D. styracifolium* để ứng dụng vào thực tế là một nghiên cứu đầy tiềm năng không chỉ phát huy các giá trị sinh học của hoạt chất mà còn giúp tận dụng hiệu quả nguồn nguyên liệu thực vật tự nhiên, đặc biệt ý nghĩa khi việc tiến hành tách chiết và phân lập riêng saponin từ *D. styracifolium* còn nhiều hạn chế. Do đó, nghiên cứu này góp phần tìm ra điều kiện tối ưu để giúp thu được hàm lượng saponin cao nhất, tạo bước đầu cho các thí nghiệm ứng dụng hợp chất kháng khuẩn từ *D. styracifolium*. Nghiên cứu là tiền đề cho việc ứng dụng sâu hơn vào y học và bảo quản thực phẩm.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị

2.1.1. Nguyên liệu

Kim tiền thảo được trực tiếp hái ở xã Mỹ Thanh, tỉnh Tỉnh Tây Ninh. Sau đó, được chuyển đến phòng thí nghiệm cùng ngày để xử lý bụi bẩn và làm sạch. Nguyên liệu được sấy khô bằng tủ sấy ở nhiệt độ 60 °C [14], khi mẫu khô đạt độ ẩm 10% [15, 16] (độ ẩm của mẫu khô được phân tích bằng cân sấy ẩm hồng ngoại ở 105 °C). Sau khi sấy khô, được xay mịn bằng máy xay inox, tiếp tục sàng qua rây có kích thước 0,3 mm để tạo ra bột nguyên liệu đồng nhất. Bột được bảo quản trong túi PE dày, bảo quản ở nhiệt độ – 20 °C trong tủ lạnh đông [17], để lưu giữ mẫu cho các nghiên cứu khảo sát.

2.1.2. Hóa chất và thiết bị

Hóa chất: Nước cất, Ethanol (99,5%, Mỹ), Methanol (99,5%, Mỹ), chất chuẩn Acid oleanolic (98%), Vanillin (99,5%, Đức), Acid acetic (99,5%, Mỹ), ethyl acetate (99%, Mỹ).

Thiết bị: Cân phân tích Ohaus (Mỹ), Bể ổn nhiệt Memmert_WNB14 (Đức), Lò vi sóng Sharp 23 lít R-370VN-S (Trung Quốc), Máy ly tâm Hermale Z206A (Đức), Máy quang phổ UV- VIS Optima (Nhật).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát đơn yếu tố các điều kiện trích ly rắn-lỏng cho thiết kế tối ưu hóa đa yếu tố (RSM)

Các khảo sát đơn yếu tố tiến hành để xác định khoảng giá trị phù hợp từng yếu tố: loại dung môi (nước cất, EtOH 70%, MeOH 70%), nồng độ dung môi (50, 60, 70, 80, 90%), tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (1/10, 1/15, 1/20, 1/25, 1/30 w/v), nhiệt độ tách chiết (40, 50, 60, 70, 80 °C) và thời gian ngâm (30, 60, 90, 120, 150 phút). Mỗi thí nghiệm dùng 1 g nguyên liệu (tính theo khối lượng chất khô) và chỉ thay đổi một yếu tố, kết quả thu được sẽ làm yếu tố cố định cho các thí nghiệm tiếp theo. Kết quả từ các thí nghiệm này được dùng làm cơ sở để lựa chọn khoảng khảo sát cho thiết kế tối ưu hóa RSM. Sau đó mẫu được đem ly tâm trong thiết bị ly tâm (Hermale, Đức) 15 phút với tốc độ 5000 vòng để loại bã và thu dịch chiết. Xác định hàm lượng saponin bằng phương pháp đo quang UV-vis ở bước sóng 550 nm. Các khảo sát được lặp lại 3 lần.

2.2.2. Khảo sát đơn yếu tố các điều kiện hỗ trợ vi sóng cho thiết kế tối ưu hóa đa yếu tố (RSM)

Tiến hành khảo sát các đơn yếu tố sau để xác định khoảng giá trị thích hợp dùng cho thiết kế tối ưu hóa đa yếu tố (RSM): tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (1/10, 1/15, 1/20, 1/25, 1/30 w/v), công suất vi sóng (150, 300, 450, 650, 800 W) và thời gian xử lý nhiệt (30, 60, 90, 120, 150 giây), sử dụng thiết bị

vi sóng (Sharp, Trung Quốc). Mỗi thí nghiệm dùng 1g nguyên liệu (tính theo khối lượng chất khô) và chỉ thay đổi một yếu tố, kết quả thu được sẽ làm yếu tố cố định cho các thí nghiệm tiếp theo. Sau khi trích ly có sự hỗ trợ của vi sóng, mẫu được ly tâm trong thiết bị ly tâm (Hermale, Đức) 15 phút với tốc độ 5000 vòng để loại bã và thu dịch chiết. Xác định hàm lượng saponin bằng phương pháp đo quang UV-vis ở bước sóng 550 nm. Các khảo sát trong nghiên cứu này đều được lặp lại ba lần.

2.2.3. Tối ưu hóa quá trình trích ly có sự hỗ trợ của vi sóng

Thí nghiệm tối ưu hóa được thiết kế dựa trên mô hình Box-Behnken (BBD- Box-Behnken Design) và chọn kỹ thuật trích ly với ba biến số độc lập (tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, công suất, thời gian) và hàm mục tiêu là hàm lượng saponin. Mỗi biến số tiến hành tại 3 mức (-1, 0, +1) được trình bày. Các khảo sát được lặp lại 3 lần. Kiểm tra độ tin cậy của số liệu, phân tích ANOVA, lập phương trình hồi quy [18]:

Phương trình hồi quy có dạng:

$$Y = b_0 + \sum b_i X_i + \sum b_{ii} X_i^2 + \sum b_{ij} X_i X_j$$

Trong đó: Y: hàm mục tiêu, Bi: hệ số hồi quy, Xi: giá trị mã hóa của yếu tố thứ i, Xj: giá trị mã hóa của yếu tố thứ j.

2.2.4. Xác định hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch

Dịch chiết đã tối ưu hóa được tinh sạch sơ bộ để loại bỏ bớt các tạp chất, chất béo và sắc tố và cô quay chân không ở nhiệt độ 50 °C. Phần cặn khô hòa tan với ethanol 60%, sau đó được pha loãng xuống các nồng độ thử nghiệm. Đồng thời, ethanol được dùng làm mẫu đối chứng âm. Sau đó, hút 100 µL dịch khuẩn có mật độ tế bào khoảng $10^6 \div 10^8$ CFU/mL vào đĩa môi trường MHA và trải đều bằng que cấy trang, để khô 15 ÷ 30 phút. Mỗi đĩa được đặt các khoanh giấy lọc vô trùng với đường kính 6 mm chứa 20 µL mẫu hoặc chất đối chứng chuẩn ở các nồng độ khác nhau, sau đó úp ngược đĩa ở 37°C/24 giờ rồi đo đường kính kháng khuẩn để đánh giá hoạt tính. Các khảo sát với từng nồng độ lặp lại 3 lần. Chất làm đối chứng dương là chloramphenicol 200 ppm [19].

2.3. Phương pháp phân tích

Hàm lượng saponin tổng được xác định bằng phương pháp đo quang phổ UV – Vis của Zhaobao và cộng sự (2001) với một số sửa đổi [20]. Hút 0,3 mL dịch chiết vào ống nghiệm, thêm 0,3 mL vanillin pha trong acid acetic 5% và 1 mL HClO₄, ủ ở 70 °C trong 15 phút. Sau đó, ống nghiệm được làm mát đến nhiệt độ phòng. Cuối cùng, định mức tới vạch 10 ml ethyl acetate và đo độ hấp thụ 550 nm. Phương pháp này chỉ mang tính định lượng tương đối, chưa tách riêng từng cấu tử. Hàm lượng saponin của dịch chiết được tính dựa trên phương trình đường chuẩn ($y = 0,0014x + 0,0051$, giá trị $R^2 = 0,9903$) được xây dựng với chất chuẩn là acid oleanolic có dãy nồng độ 25, 50, 75, 100, 125 µg/ mL. Kết quả được thể hiện bằng miligram acid oleanolic tương đương mg OAE/gCK. Hàm lượng saponin tính theo công thức:

$$\text{Hàm lượng Saponin} = \frac{C.n.V.100}{M.(100 - h)}$$

Trong đó: C: tổng hàm lượng saponin theo oleanolic acid (mg/mL); V: thể tích dung môi dùng để trích ly (mL); M: khối lượng nguyên liệu trích ly (g); n: hệ số pha loãng; h: độ ẩm (%).

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

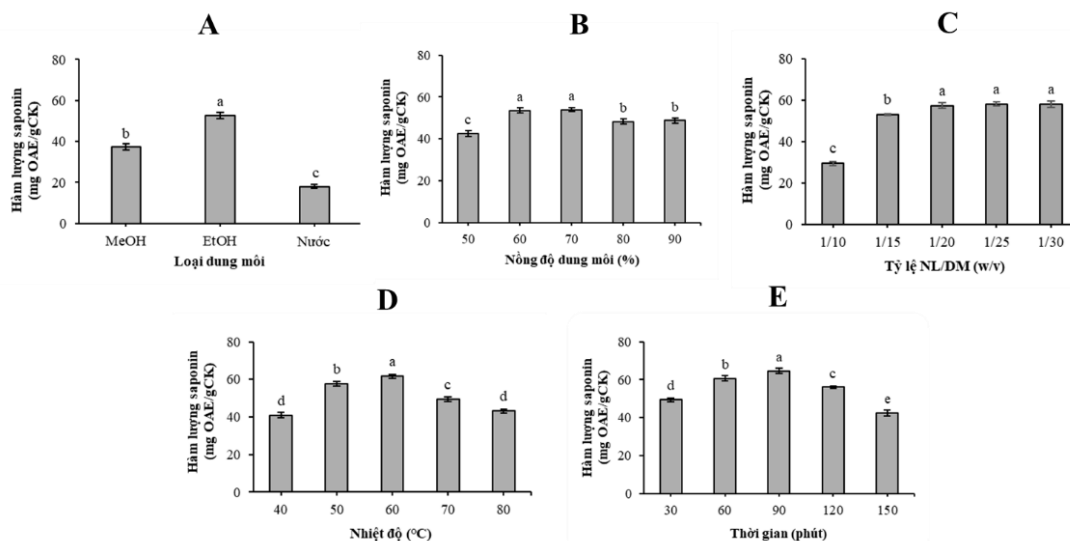
Tất cả các thí nghiệm đơn yếu tố được thực hiện tối thiểu ba lần. Kết quả được biểu thị dưới dạng $\bar{x} \pm SD$ và sử dụng phương pháp xử lý Anova ($p < 0,05$) trong phần mềm MiniTab 19 để đánh giá sự khác biệt giữa các mẫu. Mô hình tối ưu hóa được thực hiện trên phần mềm JMP 10. Các biểu đồ minh họa dữ liệu được xây dựng trên Microsoft Excel 2019.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Trích ly saponin bằng phương pháp rắn – lỏng (SLE)

Quá trình tách chiết saponin chịu sự tác động từ nhiều yếu tố như dung môi, nhiệt độ và thời gian trích ly. Chọn loại và nồng độ dung môi sử dụng ảnh hưởng đáng kể đến việc thu nhận saponin. Song đó, hiệu suất chiết xuất phụ thuộc vào sự tương thích giữa độ phân cực của dung môi và đặc tính hóa học của saponin, chênh lệch nồng độ nguyên liệu và dung môi thúc đẩy sự khuếch tán cấu tử [21]. Ngoài

ra, nhiệt độ và thời gian tách chiết còn ảnh chi phí và hiệu quả năng lượng [22]. Trong nghiên cứu này, khảo sát ba loại dung môi gồm nước, methanol (MeOH) và ethanol (EtOH). Trên cơ sở đó, ethanol được lựa chọn để khảo sát nồng độ dung môi (50%, 60%, 70%, 80% và 90%) và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (1/10, 1/15, 1/20, 1/25 và 1/30 w/v). Đồng thời, các mức nhiệt độ từ 50 °C đến 90 °C với bước nhảy 10 °C và thời gian trích ly (30, 60, 90, 120, 150 phút) cũng được khảo sát nhằm tối ưu hóa điều kiện thu nhận saponin. Các kết quả đánh giá được trình bày trong Hình 1.



Hình 1. Ảnh hưởng của loại dung môi (A), nồng độ dung môi (B), tỷ lệ NL/DM (C), nhiệt độ trích ly (D), thời gian trích ly (E) đến quá trình trích ly saponin từ *D. styracifolium*
 Dữ liệu được trình bày dưới dạng $\bar{x} \pm SD$. Các mức tỷ lệ được đánh dấu bằng các ký tự khác nhau (a–e) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Kết quả thu được từ khảo sát ở Hình 1. đã chỉ ra sự khác biệt giữa ba loại dung môi được khảo sát ($p < 0,05$). Ethanol là dung môi cho hiệu suất trích ly saponin cao nhất ($52,67 \pm 1,35$ mg OAE/gCK), tiếp theo là methanol ($37,36 \pm 0,20$ mg OAE/gCK) và cuối cùng là nước ($18,05 \pm 0,52$ mg OAE/gCK). Sự khác biệt này có thể do độ phân cực của dung môi. Với ethanol có độ phân cực mức trung bình, sẽ tan được với cả chất phân cực lẫn không phân cực như saponin [4]. Đồng thời, methanol được FDA xếp vào nhóm dung môi loại 2 với độc tính cao, cần được kiểm soát nghiêm ngặt trong dược phẩm. Trong khi ethanol thuộc nhóm loại 3 ít độc hơn và còn có khả năng hấp thụ vi sóng hiệu quả [21].

Qua kết quả trên khi nồng độ dung môi tăng từ 50% đến 70% thì hàm lượng saponin tăng và đạt $53,47 \pm 0,45$ mg OAE/gCK tại nồng độ ethanol 60% và $53,87 \pm 0,38$ mg OAE/gCK ở nồng độ 70%. Sau đó hàm lượng giảm đi đáng kể khi tăng nồng độ đến 90%. Sự gia tăng nồng độ dung môi giúp đẩy nhanh việc phá hủy màng tế bào của thực vật đồng thời làm tăng độ phân cực dung môi, thúc đẩy tốc độ hòa tan các hợp chất sinh học [22]. Nhưng khi nồng độ dung môi vượt ngưỡng tối ưu làm trương mô tế bào và gây biến tính một số hợp chất sinh học, làm giảm khả năng thẩm thấu nên hiệu suất trích ly giảm [23]. Hàm lượng saponin thu nhận được ở nồng độ 60% và 70%, không có sự khác biệt thống kê với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$ khi phân tích ANOVA. Do đó, nồng độ ethanol 60% được chọn cho khảo sát kế tiếp.

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của tỷ lệ NL/DM trong khoảng từ 1/10 (w/v) đến 1/20 (w/v), hàm lượng saponin thu được tăng từ $29,50 \pm 1,01$ mg OAE/gCK đến $57,44 \pm 1,28$ mg OAE/gCK, nhưng ở khoảng tỷ lệ 1/25 – 1/30 (w/v) hàm lượng xu hướng bão hòa và giảm nhẹ, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tỷ lệ nguyên liệu và dung môi càng nhiều, các hoạt chất sinh học càng có khả năng tiếp xúc trực tiếp với dung môi, làm nâng cao khả năng thẩm thấu giúp quá trình đạt hiệu quả cao [24]. Khi lượng dung môi quá mức tối ưu, dung môi sẽ kéo theo các cấu tử hòa tan thấm vào thành tế bào thực vật đi vào trong dịch trích. Tuy nhiên ở một tỷ lệ nhất định thì hàm lượng các chất hòa tan sẽ đạt trạng thái bão hòa nên sẽ ngừng tăng [25]. Vì vậy, tỉ lệ NL/DM thích hợp là 1/20 (w/v) để tối ưu hóa hiệu suất trích ly.

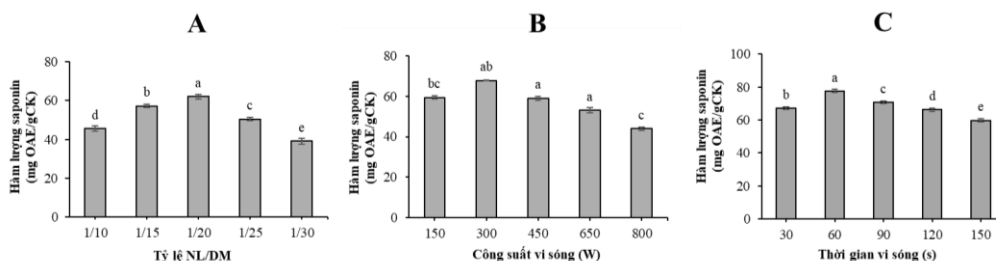
Kết quả thực nghiệm trên chỉ ra sự tương quan giữa nhiệt độ và hiệu suất trích ly có ý nghĩa ($p < 0,05$).

Khi nhiệt độ từ 40 °C đến 90 °C ghi nhận hàm lượng saponin tăng từ nhiệt độ 40 °C đến 60 °C (từ 40,94 ± 1,5 mg OAE/gCK đến 61,63 ± 1,12 mg OAE/gCK) và đạt giá trị cao nhất tại 60 °C. Hàm lượng biểu hiện xu hướng giảm từ mức 70 °C đến 90 °C (từ 49,30 ± 1,21 mg OAE/gCK xuống 43,13 ± 0,91 mg OAE/gCK). Theo tác giả Nguyễn Thị Hoàng Lan và cộng sự, nhiệt độ trích ly càng cao làm tăng khả năng trương nở nguyên liệu và tốc độ khuếch tán cấu tử hòa tan vào dung môi, đồng thời giảm độ nhớt của dung môi nâng cao hiệu quả trích ly [26]. Dù vậy, nếu nhiệt độ vượt quá mức tối ưu, các hợp chất nhạy cảm với nhiệt như saponin có thể bị biến đổi cấu trúc hay bị phân hủy khiến cho hiệu suất thu hồi giảm. Kết quả này tương thích với nghiên cứu của M. Yang và cộng sự [27]. Song đó, nhiệt độ cao không chỉ thúc đẩy sự phân hủy mà còn làm tăng nồng độ các chất tan trong dung môi gây bão hòa và giảm khả năng chiết tách các chất [28]. Do đó, nhiệt độ 60 °C được xác định là điều kiện tối ưu cho những khảo sát sau.

Kết quả thí nghiệm của khảo sát thời gian đến hàm lượng saponin tăng từ 30 phút (49,49 ± 1,03 mg OAE/gCK) và đạt cao nhất ở 90 phút (64,62 ± 1,38 mg OAE/gCK). Sau đó, hàm lượng saponin giảm dần từ 120 phút (56,06 ± 0,69 mg OAE/gCK) và 150 phút (42,53 ± 1,50 mg OAE/gCK). Điều này cho thấy thời gian dài, dung môi thẩm thấu sâu và phá vỡ cấu trúc tế bào để giải phóng chất. Đến một thời điểm, hàm lượng chất giảm bởi các phản ứng phân hủy hóa học như oxy hóa, thủy phân bắt đầu chiếm ưu thế, làm biến đổi cấu trúc các hợp chất sinh học [29]. Vì vậy, chọn thời gian 90 phút để tiến hành các thí nghiệm kế tiếp.

3.2. Trích ly saponin bằng phương pháp có hỗ trợ vi sóng (MAE)

Cả công suất vi sóng và thời gian vi sóng đều có ảnh hưởng nhất định đến khả năng chiết xuất giàu saponin từ *D. styracifolium*. Ảnh hưởng của công suất và thời gian vi sóng ở các mức khảo sát 150, 300, 450, 650, 800 W và 30, 60, 90, 120, 150 giây được thể hiện thông qua kết quả ở Hình 2.



Hình 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ NL/DM (A), công suất vi sóng (B), thời gian vi sóng (C) đến quá trình trích ly saponin từ *D. styracifolium*

Dữ liệu được trình bày dưới dạng $\bar{x} \pm SD$. Các mức tỷ lệ được đánh dấu bằng các ký tự khác nhau (a–e) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Cụ thể khi khảo sát các mức công suất với thời gian sử dụng cố định 30 s thì hàm lượng saponin cao nhất ở công suất 300 W đạt 67,87 ± 0,23 mg OAE/gCK. Tuy nhiên ở mức công suất 450 W đến 800 W hàm lượng thu nhận có chiều hướng giảm từ 59,05 ± 1,03 mg OAE/gCK giảm xuống còn 43,92 ± 0,69 mg OAE/gCK. Nguyên nhân được giải thích là ở mức công suất trung bình từ 300 đến 400 W, năng lượng vi sóng được hấp thụ và chuyển hóa một phần thành nhiệt năng, làm tăng nhiệt độ của dung môi, từ đó làm vỡ cấu trúc màng tế bào, giúp các hợp chất bên trong khuếch tán và hòa tan vào dung môi. Việc tăng nhiệt độ làm độ nhớt dung môi giảm, thúc đẩy sự giải phóng hoạt chất sinh học, đồng thời cải thiện quá trình thẩm thấu giữa nguyên liệu và dung môi, nhờ đó nâng cao hiệu quả trích ly [30]. Tuy nhiên, khi công suất vi sóng vượt quá giới hạn thích hợp, nhiệt độ tăng lên nhanh chóng dẫn đến dung môi bay hơi và phân hủy, gây biến tính hợp chất [31]. Mặt khác, thiết bị vi sóng ở mức công suất 300 W sẽ tối ưu hơn các công suất 450 W, 650 W vì giảm thiểu tác động đến tuổi thọ của thiết bị trong quá trình vận hành. Do đó, 300 W được xem là mức tối ưu để thực hiện các thí nghiệm kế tiếp.

Khi thời gian vi sóng tăng từ 30 giây đến 60 giây thì hàm lượng saponin tăng từ 67,01 ± 0,72 mg OAE/gCK lên 77,49 ± 1,02 mg OAE/gCK và giảm đi khi khảo sát thời gian ở mức 90 giây (70,72 ± 0,75 mg OAE/gCK), 120 giây (66,28 ± 1,00 mg OAE/gCK), 150 giây (59,71 ± 0,98 mg OAE/gCK). Vì thời gian vi sóng dài làm tăng nhiệt độ trong quá trình trích ly giúp phá vỡ thành tế bào và giải phóng saponin hiệu quả hơn. Nhưng saponin là hợp chất nhạy cảm với nhiệt độ cao nên thời gian vi sóng quá lâu sẽ dẫn đến hiện tượng oxy hóa, phân hủy hoạt chất, làm giảm hàm lượng thu nhận. Ngược lại trích ly ở thời gian ngắn thì quá trình giải phóng các hợp chất sinh học chưa được hoàn thiện. Nhận định này cũng được Liyun Wang et al. (2010) ghi nhận trong nghiên cứu ứng dụng vi sóng để trích ly polyphenol từ trà [32]. Từ kết

quả thực nghiệm phía trên, thông số tốt nhất của yếu tố thời gian được lựa chọn là 60 giây.

Sau các thí nghiệm đánh giá ban đầu, cả 2 phương pháp SLE và MAE cho thấy sự chênh lệch đáng kể về hiệu suất thu nhận saponin cũng như đặc tính kỹ thuật. Trong điều kiện tối ưu của phương pháp SLE (ethanol 60%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1/20 w/v, ở 60 °C trong 90 phút), hàm lượng saponin thu nhận đạt $64,62 \pm 1,38$ mg OAE/gCK. Trong khi đó, MAE chỉ với công suất 300 W trong 60 giây đã đạt mức $77,49 \pm 1,02$ mg OAE/gCK. Nhiều bằng chứng khoa học cho thấy MAE vượt trội hơn đáng kể so với SLE ($p < 0,05$), điển hình như nghiên cứu của *Vivekananda Mandal* với cây *Gymnema sylvestre* ghi nhận hiệu suất cao hơn 1,3 – 1,95 lần và giảm đáng kể dung môi và năng lượng tiêu thụ [33]. Hiệu quả này phản ánh cơ chế đặc trưng của vi sóng giúp phá vỡ nhanh chóng thành tế bào thực vật và thúc đẩy khuếch tán cấu tử hòa tan, giảm nguy cơ phân hủy hoạt chất [34]. Các nghiên cứu thực nghiệm đã cho thấy MAE vượt trội rõ rệt so với trích ly dung môi không chỉ về hiệu suất chiết tách mà còn về thời gian và hiệu quả về mặt kỹ thuật (nhiệt độ, năng lượng) [35]. Điều này tạo cơ sở vững chắc để triển khai tối ưu hóa MAE trong phần tiếp theo nhằm hoàn thiện quy trình chiết saponin từ *D. styracifolium*.

3.3. Tối ưu hóa bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM)

Từ các thí nghiệm khảo sát trên, kết quả thu nhận có sự chênh lệch đáng kể về hàm lượng saponin ở 2 phương pháp trích ly SLE và MAE lần lượt là $64,62 \pm 1,38$ mg OAE/gCK và $77,49 \pm 1,02$ mg OAE/gCK. Vì vậy, chọn phương pháp MAE để tiến hành tối ưu. Từ đó có thể thấy, trong quá trình vi sóng ba yếu tố tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, công suất vi sóng và thời gian vi sóng có tác động đến quá trình thu nhận saponin từ *D. styracifolium*. Điều kiện tách chiết và thu nhận hàm lượng saponin được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 1. Mã hóa các đơn yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng saponin từ *D. styracifolium* bằng phương pháp bề mặt đáp ứng theo mô hình BBD

Mức khảo sát	Các yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng saponin tổng		
	Tỷ lệ NL/DM (w/v)	Công suất (W)	Thời gian (s)
-1	1/15	150	30
0	1/20	300	60
1	1/25	450	90

Bảng 2. Thiết kế thực nghiệm theo mô hình Box-Behnken và kết quả tối ưu

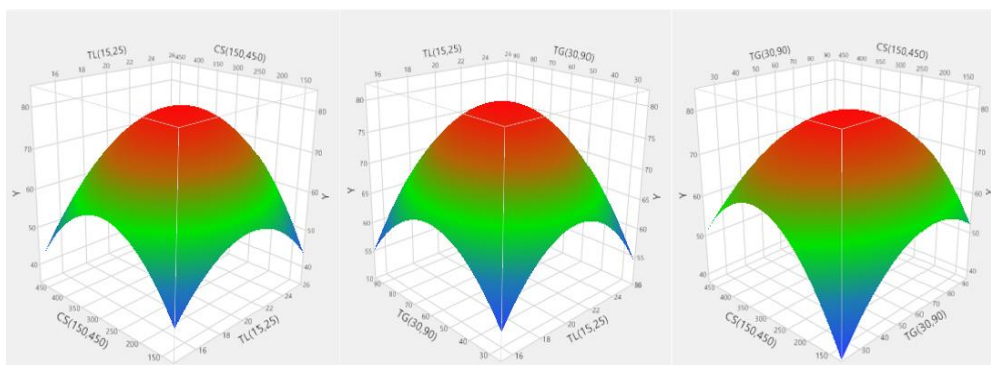
Số TT	Biến mã hóa			Biến thực			Hàm lượng saponin trung bình (mg OAE/gCK)
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃	
1	-1	-1	0	15	150	60	52,49 ± 0,68
2	-1	+1	0	15	450	60	51,30 ± 0,52
3	+1	-1	0	25	150	60	51,92 ± 0,43
4	+1	+1	0	25	450	60	64,60 ± 1,14
5	0	-1	-1	20	150	30	50,49 ± 1,24
6	0	-1	+1	20	150	90	58,85 ± 0,91
7	0	+1	-1	20	450	30	59,64 ± 1,03
8	0	+1	+1	20	450	90	60,04 ± 1,24
9	-1	0	-1	15	300	30	54,58 ± 0,90
10	+1	0	-1	25	300	30	62,61 ± 0,75
11	-1	0	+1	15	300	90	55,18 ± 0,26
12	+1	0	+1	25	300	90	72,56 ± 1,14
13	0	0	0	20	300	60	77,16 ± 0,69
14	0	0	0	20	300	60	76,36 ± 1,58
15	0	0	0	20	300	60	81,14 ± 1,60

Để xây dựng được phương trình hồi quy, các hệ số được xác định qua phân tích ANOVA (Bảng

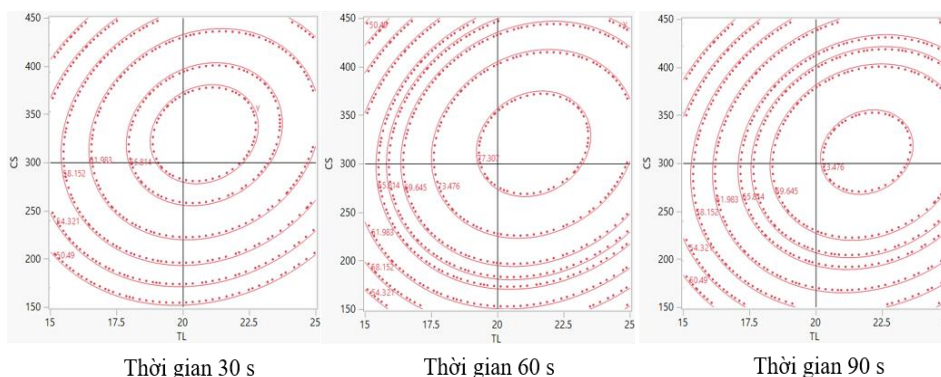
2) nhằm đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố đến hàm lượng saponin. Kết quả cho thấy, các hệ số b không có ý nghĩa (P value $> 0,05$) được loại bỏ và lập được phương trình hồi quy như sau:

$$Y = 78,22 + 4,77X_1 + 2,73X_2 + 2,41X_3 + 3,46X_1X_2 - 9,58X_1^2 - 13,56X_2^2 - 7,40X_3^2$$

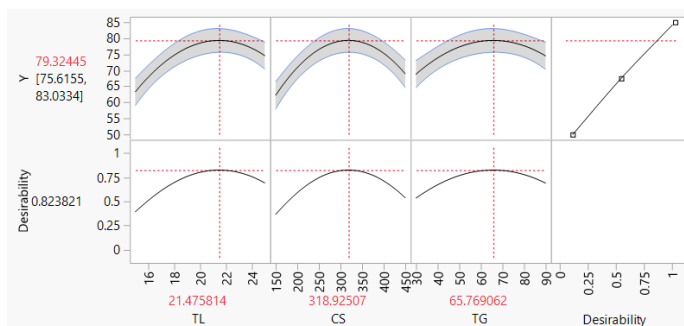
Phân tích ANOVA cho mô hình hồi quy có độ phù hợp cao và đáng tin cậy ($R^2 = 0,977$), chứng tỏ mô hình phản ánh tốt sự biến động của dữ liệu thực nghiệm. Giá trị $p < 0,05$ khẳng định phương trình có ý nghĩa thống kê ở mức tin cậy 95%. Trong khi đó, giá trị Lack of fit ($P = 0,5209$) xác nhận rằng mô hình không xuất hiện sai lệch có ý nghĩa và phù hợp với kết quả thực nghiệm. Từ phương trình hồi quy có thể nhận thấy, các biến X_1 , X_2 và X_3 đều ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu nhận saponin ($p < 0,05$). Các thông số nghiên cứu cho thấy vừa có ảnh hưởng đơn lẻ vừa có sự tương tác, mang lại hiệu quả tích cực đối với hàm mục tiêu. Từ thực nghiệm, khi tăng tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và công suất vi sóng đều góp phần làm tăng hiệu quả tách chiết, vượt giới hạn thời gian tối ưu này thì hiệu quả thu nhận giảm. Điều này thể hiện bản chất của quá trình trích ly trong thực tế. Mỗi quan hệ này được minh họa qua mô hình bề mặt đáp ứng Hình 3, đường đồng mức Hình 4 và điều kiện tối ưu thu nhận hàm lượng cao nhất ở Hình 5.



Hình 3. Mô hình bề mặt đáp ứng



Hình 4. Đồ thị minh họa đường đồng mức

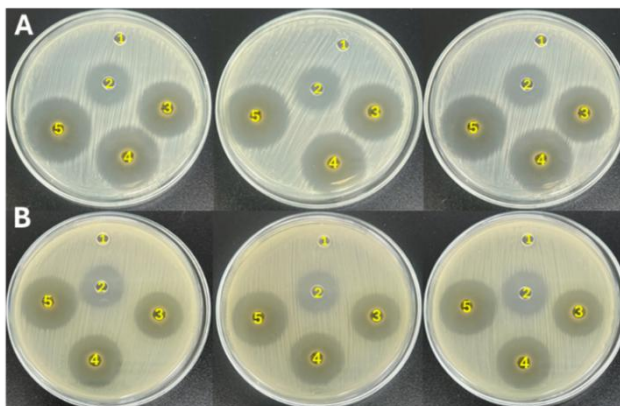


Hình 5. Điều kiện tối ưu thu nhận hàm lượng saponin trong trích ly có sự hỗ trợ của vi sóng

Khi kết hợp ba yếu tố ảnh hưởng, hàm lượng saponin thu nhận được cao nhất là 79,32 mg OAE/gCK với điều kiện trích ly lần lượt là tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/21,47 (w/v), công suất vi sóng là 318,92 W trong thời gian vi sóng là 65,76 giây. Không có sự khác biệt có nghĩa giữa giá trị dự đoán và kết quả thực nghiệm về hàm lượng saponin của *D. styracifolium* ở mức 0,05 khi so sánh với khảo sát trích ly có sự hỗ trợ của vi sóng kết quả thực tế là $77,49 \pm 1,02$ mg OAE/gCK. Hàm lượng saponin tối ưu từ *D. styracifolium* thấp hơn đáng kể so với *Trigonella foenum-graecum* L. của S. Akbari và cộng sự (195.89 ± 1.07 mg DE/g), bởi vì *T. foenum-graecum* L. vốn được biết đến là nguồn thực vật giàu saponin [36]. Tuy nhiên, hàm lượng này cao hơn so với một số dược liệu khác đã được nghiên cứu, chẳng hạn như Red Sage (*Salvia miltiorrhiza*) ($47,71 \pm 0,15$ mg/gCK), lá *Camellia fascicularis* (36,8 mg/gCK) hay saponin từ rễ *Polyscias fruticosa* (41,24 mg/gCK) trong công trình của Lê Hoàng Châu và cộng sự [37]. Điều này cho thấy *D. styracifolium* có thể được xem như một nguồn nguyên liệu có tiềm năng để khai thác saponin. Sự khác biệt về hàm lượng có thể bắt nguồn từ đặc tính riêng của từng loài, độ nhạy cảm với nhiệt của saponin cũng như cấu trúc tế bào ảnh hưởng đến khả năng giải phóng hoạt chất. Để nâng cao độ chính xác và làm rõ đặc tính hóa học từng saponin, các nghiên cứu tiếp theo nên sử dụng HPLC để định lượng, tinh sạch hợp chất và kết hợp phân tích cấu trúc chuyên sâu.

3.4. Xác định hoạt tính kháng khuẩn

Hiệu quả kháng khuẩn của saponin từ cao chiết *D. styracifolium* dựa trên đường kính vòng ức chế vi khuẩn phát triển được tạo ra trên đĩa petri như trình bày ở Hình 6.



Hình 6. Kết quả kháng khuẩn của chiết xuất giàu saponin từ *D. styracifolium*
 Chú thích: A) *S. aureus*; B) *E. coli*; (1): Đối chứng (-); (2): Đối chứng (+); (3) nồng độ 100 µg/mL;
 (4): nồng độ 200 µg/mL; (5): nồng độ 300 µg/mL.

Khả năng ức chế vi khuẩn của saponin từ cao chiết *D. styracifolium* được thực nghiệm thông qua phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch, với hai chủng vi khuẩn đại diện là *S. aureus* (Gram dương) và *E. coli* (Gram âm). Kết quả cho thấy, ở nồng độ 100 µg/mL, saponin tạo vòng ức chế đường kính $20,48 \pm 0,39$ mm đối với *S. aureus*, chứng tỏ khả năng ức chế tốt. Khi nồng độ tăng lên 200 và 300 µg/mL, đường kính vòng kháng tiếp tục mở rộng tương ứng $22,92 \pm 0,06$ mm và $24,36 \pm 0,10$ mm. Đối với *E. coli* vòng ức chế tăng từ $16,02 \pm 0,28$ mm, $18,40 \pm 0,25$ mm và $19,94 \pm 0,32$ mm ở cùng các mức nồng độ. Điều đó chỉ ra rằng, saponin có thể ức chế *S. aureus* tốt hơn *E. coli*, được lý giải bởi vi khuẩn Gram âm (*E. coli*) có lớp màng ngoài chứa lipopolysaccharide (LPS), đây chính là hàng rào cản trở sự xâm nhập của nhiều chất kháng khuẩn. Trong khi ở vi khuẩn Gram dương (*S. aureus*) không có màng ngoài và LPS, chỉ có lớp peptidoglycan dày nhưng lại dễ thấm hơn [38]. Do đó, kết quả thực nghiệm cho thấy *S. aureus* nhạy cảm hơn là phù hợp. Mặc dù hiệu quả ức chế trên *E. coli* thấp hơn, song cả hai chủng đều cho thấy xu hướng gia tăng tuyến tính theo nồng độ, phản ánh mối tương quan thuận giữa hàm lượng saponin và khả năng kháng khuẩn. Xu hướng này phù hợp với nghiên cứu trên saponin từ *Vitex doniana* và *Pentaclethra macrophylla* khi đường kính vòng ức chế tăng tỉ lệ thuận với hàm lượng chiết xuất [39].

Cơ chế kháng khuẩn của saponin có thể lý giải nhờ đặc tính lưỡng tính, phần ưa nước tương tác với môi trường ngoại bào, trong khi phần kỵ nước gắn vào lipid màng như phospholipid (Gram dương) hoặc sterol và LPS (Gram âm), gây mất ổn định màng, tăng tính thấm và dẫn đến rò rỉ ion nội bào – từ đó ức chế sự phát triển hoặc tiêu diệt vi khuẩn [40, 41]. Các nghiên cứu trước đây cũng ghi nhận xu hướng tương tự, như saponin từ *V. doniana* chỉ đạt vòng kháng khuẩn $13,0 \pm 1,41$ mm đối với *S. aureus*

[39], thấp hơn đáng kể so với saponin từ *D. styracifolium* ở cùng nồng độ. Đối với *E. coli*, chiết xuất từ lá và vỏ từ *Terminalia catappa* chỉ cho vòng ức chế 12-13 mm ở 300 µg/mL [42], trong khi saponin từ *D. styracifolium* cho thấy hiệu quả tốt hơn. Quy trình tối ưu hóa bằng MAE-RSM giúp thu được cao chiết *D. styracifolium* có hàm lượng saponin cao (79,32 mg OAE/gCK), và chính hàm lượng cao này là yếu tố làm cho hoạt tính kháng khuẩn mạnh mẽ được ghi nhận. Điều này làm rõ mối liên hệ nhân quả giữa hàm lượng hoạt chất và hiệu quả sinh học.

Ngoài ra, một nghiên cứu trên saponin từ *Melanthera elliptica* cho thấy khả năng cộng hưởng với tetracycline và vancomycin, giúp tăng hiệu quả ức chế trên các chủng đa kháng *S. aureus* và *E. coli* [43]. Khi so sánh với saponin từ các loài dược liệu khác, mức độ kháng khuẩn của saponin cho thấy sự khác biệt đáng kể. Điều này gợi ý rằng saponin từ *D. styracifolium* tuy không nổi trội về hàm lượng nhưng có thể sở hữu đặc tính cấu trúc riêng biệt, thể hiện qua tiềm năng ức chế đối với *S. aureus* và *E. coli*. Tuy nhiên, để khẳng định tiềm năng ứng dụng của chúng, cần tiến hành thêm các phương pháp khác, các nghiên cứu chuyên sâu về độc tính tế bào (cytotoxicity) và hoạt tính tan huyết (hemolytic activity), vì saponin vốn được biết đến với khả năng gây phá vỡ màng hồng cầu.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này cho thấy trong phương pháp chiết ngâm tĩnh điều kiện tối ưu thu được ở EtOH nồng độ 60%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1/20 (w/v), nhiệt độ 60 °C trong thời gian 90 phút là thích hợp. Đối với trích ly có hỗ trợ vi sóng, hiệu suất thu nhận saponin cao nhất đạt được tại công suất 300 W trong thời gian 60 giây. Quá trình thực hiện tối ưu phương pháp MAE thì hàm lượng saponin thu nhận được cao nhất là 79,32 mg OAE/gCK, không có sự khác biệt đáng kể giữa kết quả dự kiến và thực nghiệm khi so sánh với hàm lượng saponin từ khảo sát trích ly MAE ($77,49 \pm 1,02$ mg OAE/gCK). Chiết xuất giàu saponin từ *D. styracifolium* có khả năng ức chế vi khuẩn *S. aureus* tốt hơn *E. coli*. Đặc biệt, hiệu quả kháng khuẩn tăng tương ứng với sự gia tăng nồng độ mẫu. Những kết quả này không chỉ khẳng định *D. styracifolium* là nguồn nguyên liệu tiềm năng để thu nhận saponin có hoạt tính sinh học mà còn gợi mở khả năng ứng dụng vào lĩnh vực thực phẩm chức năng, phụ gia bảo quản và dược phẩm tự nhiên. Nghiên cứu cũng là cơ sở cho các nghiên cứu chuyên sâu hơn nhằm đánh giá toàn diện hơn về hoạt tính và tiềm năng ứng dụng của chiết xuất giàu saponin từ *D. styracifolium*.

Tuyên bố về đóng góp của các tác giả

Nguyễn Ngọc Kim Hoàng: Phân tích dữ liệu, thực hiện nghiên cứu; Lê Hồng Soan: Xây dựng ý tưởng nghiên cứu, thiết kế phương pháp nghiên cứu, phân tích dữ liệu, thực hiện nghiên cứu và viết bản thảo ban đầu; Hoàng Thị Ngọc Nhon: Giám sát nghiên cứu, đánh giá kết quả nghiên cứu, rà soát và chỉnh sửa bản thảo.

Tuyên bố về xung đột lợi ích

Các tác giả tuyên bố không có xung đột lợi ích liên quan đến việc thực hiện nghiên cứu và công bố bài báo này.

Tuyên bố về sử dụng trí tuệ nhân tạo (AI)

Trong quá trình thực hiện nghiên cứu và chuẩn bị bản thảo, các tác giả không sử dụng công cụ trí tuệ nhân tạo (AI) tạo sinh. Các tác giả hoàn toàn chịu trách nhiệm về tính chính xác, tính toàn vẹn và nội dung khoa học của bài báo.

Lời cảm ơn/Thông tin tài trợ

Nghiên cứu này do Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh bảo trợ và cấp kinh phí theo Hợp đồng số 150/HĐ-DCT ngày 15 tháng 7 năm 2024.

ORCID:

Nguyễn Ngọc Kim Hoàng: <https://orcid.org/0009-0006-2652-9887>

Lê Hồng Soan: <https://orcid.org/0009-0000-0109-6532>

Hoàng Thị Ngọc Nhon: <https://orcid.org/0000-0002-1531-9386>

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Thị Thu và Trần Thị Thanh Thảo "Thành phần loài của chi *Desmodium* trong họ đậu (Fabaceae) ở Vườn Quốc gia Yok Don", *Tay Nguyen Journal of Sciences*, vol. 16, no. 52, 2022.
- [2] Z. Zhang *et al.*, "*Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr. Extracts alleviate cholestatic liver disease by FXR pathway", *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 337, no. Pt 3, 118972, 2025, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118972>
- [3] Trần Lê Tuyết Châu *et al.*, "Điều chế hệ vi tự nhũ để cải thiện tính kém bền của schaftosid trong cao kim tiền thảo toàn phần", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, vol. 60, no. 9, 2018.

- [4] E. Moghimipour và S. Handali "Saponin: Properties, Methods of Evaluation and Applications", *Annual Research & Review in Biology*, vol. 5, no. 3, pp. 207-220, 2015, doi: <https://doi.org/10.9734/arrb/2015/11674>
- [5] Nguyễn Thị Nhật Linh *et al.*, "Ứng dụng elicitor vào sản xuất saponin trong nuôi cấy in vitro các loài thuộc chi Nhân sâm", *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, vol. 16, no. 2, pp. 211-221, 2018.
- [6] Nguyễn Văn Việt *et al.* "Nghiên cứu nhân giống cây Kim Tiền Thảo (*Desmodium styracifolium* (Osb.) Merr.) bằng phương pháp nuôi cấy in vitro", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ lâm nghiệp*, vol., no. 5, 010-016, 2019.
- [7] X. Ma *et al.*, "The genus *Desmodium* (Fabaceae)-traditional uses in Chinese medicine, phytochemistry and pharmacology", *Journal Ethnopharmacology*, vol. 138, no. 2, pp. 314-32, 2011, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.053>
- [8] Y. P. Timilsena *et al.*, "Perspectives on Saponins: Food Functionality and Applications", *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, no. 17, 2023, doi: <https://doi.org/10.3390/ijms241713538>
- [9] Y. Zhao *et al.*, "Antibacterial activity of tea saponin from *Camellia oleifera* shell by novel extraction method", *Industrial Crops and Products*, vol. 153, Art. no. 112604, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112604>
- [10] A. Amnay *et al.*, "Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Saponins Extracted from *Marrubium vulgare* L. Collected in Fez-Meknes Region in Morocco", *Tropical Journal of Natural Product Research*, vol. 7, no. 8, 2023, doi: <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v7i8.6>
- [11] P. Alina *et al.*, "Antimicrobial activity of saponin-containing plants: review", *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*, vol. 12, no. 2, pp. 121-127, 2023, doi: <https://doi.org/10.15406/jdvar.2023.12.00336>
- [12] H. Hirayama *et al.*, "Effect of *Desmodium styracifolium*-triterpenoid on calcium oxalate renal stones", *British Journal of Urology*, vol. 71, no. 2, pp. 143-7, 1993, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1464-410x.1993.tb15906.x>
- [13] Phan Minh Giang *et al.*, "Flavonoid compounds from *Desmodium styracifolium* of Vietnamese origin", *Chemistry of Natural Compounds*, vol. 46, no. 5, pp. 797-798, 2010, doi: <https://doi.org/10.1007/s10600-010-9746-7>
- [14] Nguyễn Thị Trang *et al.*, "Tính chất hóa lý, hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn của bột sấy phun dịch chiết vỏ quả măng cầu ta (*Annona squamosa* L.)", *Journal of Science Technology*, vol. 49, no. 1, 2021.
- [15] Nguyễn Tân Thành *et al.*, "Tối ưu hóa điều kiện trích ly saponin triterpenoid và flavonoid từ cây cà gai leo (*Solanum trilobatum* Linn) ở Nghệ An", *Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học*, vol. 27, no., 211-217, 2022.
- [16] Trần Thị Ánh Tuyết *et al.*, "Nghiên cứu và phát triển sản phẩm trà hoa súng", *The University of Danang - Journal of Science and Technology*, vol. 23, no. 1, pp. 42-47, 2025, doi: <https://doi.org/10.31130/ud-jst.2025.467>
- [17] Nguyễn Văn Tạng *et al.*, "Ảnh hưởng của dung môi và phương pháp trích ly đến khả năng chiết tách các hợp chất phenolics, saponins và alkaloids từ vỏ quả ca cao (*Theobroma cacao* L.)", *Can Tho University Journal of Science*, vol. 56, no. 4, pp. 71-78, 2020, doi: <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2020.084>
- [18] Nguyễn Thị Ly *et al.*, "Tối ưu hóa quá trình chiết tách chất màu từ bắp cải tím bằng dung môi ethanol có sự hỗ trợ của sóng siêu âm", *Tạp chí cơ khí Việt Nam*, vol. 10, no. 1, pp. 103-107, 2016.
- [19] Mai Ngọc Tuấn Anh *et al.*, "Chế tạo và khảo sát khả năng kháng khuẩn của vật liệu nano bạc với hình dạng và kích thước khác nhau", *Can Tho University Journal of Science*, vol. 56, số chuyên đề: Khoa học tự nhiên, no. 2, pp. 18-25, 2020, doi: <https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2020.107>
- [20] X. Zhaobao *et al.*, "Studied on corlorimetric determination of oleanolic acid in Chinese quince", *Natural Product Research Development*, vol. 13, no. 4, pp. 23-26, 2001.

- [21] Y. Q. Cai *et al.*, "Optimization of green deep eutectic solvent (DES) extraction of *Chenopodium quinoa* Willd. husks saponins by response surface methodology and their antioxidant activities", *RSC Advances*, vol. 13, no. 42, pp. 29408-29418, 2023, doi: <https://doi.org/10.1039/d3ra05949a>
- [22] J. M. Prado và M. A. Rostagno, "Natural product extraction: principles and applications". *Royal Society of Chemistry*, 2022.
- [23] I. S. Che Sulaiman *et al.*, "Effects of temperature, time, and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti-radical activity of *Clinacanthus nutans* Lindau leaves by response surface methodology", *Chemistry Central Journal*, vol. 11, Art. no. 54, 2017, doi: <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0285-1>
- [24] S.-q. Zhang *et al.*, "Extraction of bio-active components from *Rhodiola sachalinensis* under ultrahigh hydrostatic pressure", *Separation and Purification Technology*, vol. 57, no. 2, pp. 277-282, 2007, doi: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.04.022>
- [25] Š. S. Herodež *et al.*, "Solvent extraction study of antioxidants from *Balm* (*Melissa officinalis* L.) leaves", *Food Chemistry*, vol. 80, no. 2, pp. 275-282, 2003, doi: [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(02\)00382-5](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(02)00382-5)
- [26] Nguyễn Thị Hoàng Lan *et al.*, "Ảnh hưởng của một số điều kiện công nghệ đến hiệu suất trích ly dầu ngô," *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, vol. 14, no. 11, pp. 1825–1834, 2016. [Online]. Available: <https://vie.vjas.vn/index.php/vjasvn/article/view/325>
- [27] M. Yang *et al.*, "Enhancing Bioactive Saponin Content of *Raphanus sativus* Extract by Thermal Processing at Various Conditions", *Molecules*, vol. 27, no. 23, 2022, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules27238125>
- [28] X. Guan và H. Yao "Optimization of Viscozyme L-assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology", *Food Chemistry*, vol. 106, no. 1, pp. 345-351, 2008, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.041>
- [29] Nguyễn Nhật Minh Phương và Nguyễn Hữu Nhân "Khảo sát các điều kiện thích hợp cho quá trình trích ly chlorophyll bằng ethanol từ cây lá dứa (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) và ổn định các hợp chất chống oxy hóa trong sản phẩm khô", *Can Tho University Journal of Science*, vol. 58, no. 6, pp. 117-125, 2022, doi: <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2022.250>
- [30] F.-G. C. Ekezie *et al.*, "Acceleration of microwave-assisted extraction processes of food components by integrating technologies and applying emerging solvents: A review of latest developments", *Trends in Food Science & Technology*, vol. 67, pp. 160-172, 2017, doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.006>
- [31] L. N. T. An và H. T. N. Nhơn "Study on the impacts of ultrasonic assisted and microwave assisted extraction methods on the extraction of saponins from licorice soil (*Scoparia dulcis* L.)", *Tạp chí Công Thương*, no. 2, pp. 293-297, 2021. [Online]. Available: <https://scholar.dlu.edu.vn/thuvienso/handle/DLU123456789/150470>
- [32] L. Wang *et al.*, "Study on the microwave-assisted extraction of polyphenols from tea", *Frontiers of Chemical Engineering in China*, vol. 4, no. 3, pp. 307-313, 2010, doi: <https://doi.org/10.1007/s11705-009-0282-6>
- [33] V. Mandal *et al.*, "Microwave-assisted extraction of total bioactive saponin fraction from *Gymnema sylvestre* with reference to gymnemagenin: a potential biomarker", *Phytochem Anal*, vol. 20, no. 6, 491-7, 2009, doi: <https://doi.org/10.1002/pca.1151>
- [34] M. H. Haido *et al.*, "Optimization of Extraction Conditions of Bioactive Compounds From Kurdistan Species *Urtica dioica*", *Cureus*, vol. 16, no. 5, e61146, 2024. doi: <https://doi.org/10.7759/cureus.61146>
- [35] B. Dahmoune *et al.*, "Microwave assisted extraction of bioactive saponins from the starfish *Echinaster sepositus*: Optimization by response surface methodology and comparison with ultrasound and conventional solvent extraction", *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, vol. 163, Art. no. 108359, 2021. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2021.108359>
- [36] S. Akbari *et al.*, "Optimization of saponins, phenolics, and antioxidants extracted from fenugreek seeds using microwave-assisted extraction and response surface methodology as an optimizing

- tool", *Comptes Rendus. Chimie*, vol. 22, no. 11-12, pp. 714-727, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.crci.2019.07.007>
- [37] Lê Hoàng Châu *et al.*, "Optimization of Saponin Extract from Red Sage (*Salvia miltiorrhiza*) Roots Using Response Surface Methods and Its Antioxidant and Anticancer Activities", *Processes*, vol. 13, no. 7, 2025. doi: <https://doi.org/10.3390/pr13072225>
- [38] C. Maher và K. A. Hassan "The Gram-negative permeability barrier: tipping the balance of the in and the out", *mBio*, vol. 14, no. 6, e0120523, 2023. doi: <https://doi.org/10.1128/mbio.01205-23>
- [39] N. Akaniro-Ejim *et al.*, "Evaluation of Saponin Extract from *Vitex doniana* and *Pentaclethra macrophylla* for Antibacterial Activity", *Applied Sciences*, vol. 6, no. 6, 2016. doi: <https://doi.org/10.3390/app6060180>
- [40] Atina *et al.*, "Antibacterial Properties of Taro: Extraction, Antibacterial Testing Method, Modification and Application", *Science and Technology Indonesia*, vol. 10, no. 2, pp. 374-401, 2025. doi: <https://doi.org/10.26554/sti.2025.10.2.374-401>
- [41] S. L. Verstraeten *et al.*, "Lipid Membranes as Key Targets for the Pharmacological Actions of Ginsenosides", *Front Pharmacol*, vol. 11, Art. no. 576887, 2020. doi: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.576887>
- [42] D. Manimozhi *et al.*, "Effect of different extracts of stem bark of *Ficus* sp. on multidrug resistant pathogenic bacteria", *International journal of pharmaceutical sciences and research*, vol. 2012, no. 7, 2122, 2012. doi: [https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.3\(7\).2122-29](https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.3(7).2122-29)
- [43] C. N. Tagousop *et al.*, "Antimicrobial activities of saponins from *Melanthera elliptica* and their synergistic effects with antibiotics against pathogenic phenotypes", *Chemistry Central Journal*, vol. 12, Art. no. 97, 2018. doi: <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0466-6>

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION PROCESS AND EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SAPONINS FROM *Desmodium styracifolium*

Nguyễn Ngọc Kim Hoàng, Lê Hồng Soan, Hoàng Thị Ngọc Nhon*

Ho Chi Minh City University of Industry and Trade

*Email: nhonhtn@huit.edu.vn

Desmodium styracifolium is a medicinal plant containing a high level of valuable bioactive compounds, particularly saponins — a class of natural substances with diverse biological activities and wide application potential. This study investigated the influence of key parameters on saponin extraction efficiency using Solid–Liquid Extraction (SLE) and Microwave-Assisted Extraction (MAE). The extraction conditions were then optimized using Response Surface Methodology (RSM), and the antibacterial activity of the saponin-rich extract was evaluated. The MAE method exhibited higher efficiency than SLE; therefore, optimization focused on MAE conditions, including a material-to-solvent ratio of 1:21.47 (w/v), microwave power of 318.92 W, and irradiation time of 65.76 seconds, yielding 79.32 mg OAE/g DW of saponins. The saponin-rich extract from *D. styracifolium* showed significant antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, as determined by the agar diffusion method. Increasing the extract concentration from 100 µg/mL to 300 µg/mL resulted in inhibition zones of 20.48 ± 0.39 mm, 22.92 ± 0.06 mm, and 24.36 ± 0.10 mm for *S. aureus*, and 16.33 ± 0.28 mm, 18.40 ± 0.25 mm, and 19.94 ± 0.32 mm for *E. coli*. These results indicate the potential application of *D. styracifolium* saponin extract in the development of functional food and pharmaceutical products.

Keywords: Antibacterial activity, *Desmodium styracifolium*, Microwave-Assisted Extraction, Solid–Liquid Extraction, saponin.