

SO SÁNH TRÍCH LY HỖ TRỢ NHIỆT, SIÊU ÂM VÀ ENZYME ĐỂ THU NHẬN POLYPHENOL VÀ FLAVONOID TỪ KIM TIỀN THẢO (*DESMODIUM STYRACIFOLIUM* (OSBECK) MERR.)

NGUYỄN THỊ PHƯƠNG ANH¹ - HỒ THỊ THÚY VI¹
- NGUYỄN THỊ HẢI HÒA¹ - HOÀNG THỊ NGỌC NHƠN^{1*}

¹Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

Ho Chi Minh City University of Industry and Trade

*Tác giả liên hệ - Email: nhonhtn@fst.edu.vn

Ngày nhận bài: 6/7/2026

Ngày sửa bài: 20/7/2026

Ngày duyệt đăng bài: 3/8/2026

Tóm tắt:

Nghiên cứu so sánh trích ly hỗ trợ nhiệt (HAE), siêu âm (UAE) và enzyme (EAE) trong thu nhận polyphenol và flavonoid từ Kim tiền thảo. HAE thích hợp với ethanol 60% (v/v), tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:25 (g/mL), 60°C và 90 phút, cho TPC $126,57 \pm 0,59$ mg GAE/g CK và TFC $59,21 \pm 0,91$ mg QE/g CK. Tiền xử lý siêu âm ở biên độ 30% trong 9 phút trước HAE cho giá trị cao nhất, lần lượt là $153,23 \pm 0,27$ mg GAE/g CK và $62,84 \pm 0,91$ mg QE/g CK. EAE với hỗn hợp pectinase-cellulase 1:1, nồng độ 0,6% trong 120 phút đạt TPC $129,40 \pm 1,06$ mg GAE/g CK và TFC $57,03 \pm 0,42$ mg QE/g CK. So với HAE, UAE làm tăng TPC 21,1% và TFC 6,1% ($p < 0,05$).

Từ khóa: kim tiền thảo, polyphenol, flavonoid, trích ly siêu âm, trích ly enzyme

Comparison of heat-, ultrasound-, and enzyme-assisted extraction of polyphenols and flavonoids from Kim tien thao (*Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr.)

Abstract:

This study compares heat-assisted extraction (HAE), ultrasound-assisted extraction (UAE), and enzyme-assisted extraction (EAE) for recovering polyphenols and flavonoids from Kim tien thao. Suitable HAE conditions were 60% ethanol, a 1:25 material-to-solvent ratio, 60°C, and 90 minutes, yielding 126.57 ± 0.59 mg GAE/g DW and 59.21 ± 0.91 mg QE/g DW. Ultrasound pretreatment at 30% amplitude for 9 minutes before HAE produced the highest values, reaching 153.23 ± 0.27 mg GAE/g DW and 62.84 ± 0.91 mg QE/g DW. EAE using a 1:1 pectinase–cellulase mixture at 0.6% for 120 minutes yielded 129.40 ± 1.06 mg GAE/g DW and 57.03 ± 0.42 mg QE/g DW. Compared with HAE, UAE increased TPC by 21.1% and TFC by 6.1%.

Keywords: Kim tien thao, polyphenols, flavonoids, ultrasound-assisted extraction, enzyme-assisted extraction

1. Đặt vấn đề

Kim tiền thảo (*Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr.) là dược liệu họ Fabaceae, chứa flavonoid, axit phenolic và các chất chuyển hóa thứ cấp có tiềm năng ứng dụng trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe (Opryshko và cộng sự, 2024). Việc lựa chọn kỹ thuật trích ly phù hợp giúp tăng thu hồi hoạt chất và hạn chế tổn thất trong quá trình xử lý.

Hiệu quả trích ly phụ thuộc vào dung môi, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, nhiệt độ, thời gian và mức độ phá vỡ mô. HAE tăng hòa tan và khuếch tán nhờ nhiệt. UAE tạo xâm thực âm và lực cắt để làm suy yếu cấu trúc tế bào theo Islam và cộng sự (2023) và Shen và cộng sự (2023). EAE sử dụng cellulase và pectinase để thủy phân polysaccharide thành tế bào trong điều kiện tương đối nhẹ (Vardakas và cộng sự, 2024).

Do chưa có nhiều nghiên cứu so sánh trực tiếp 3 phương pháp trên kim tiền thảo, nghiên cứu này khảo sát các yếu tố công nghệ, lựa chọn điều kiện thích hợp theo TPC và TFC, sau đó so sánh HAE, UAE và EAE.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Nguyên liệu

Kim tiền thảo được thu nhận tại Long An, loại tạp, rửa sạch, cắt đoạn 3-5 cm và sấy ở 60 °C đến độ ẩm dưới 10%. Mẫu khô được nghiền, rây đồng nhất và bảo quản kín ở 2-4 °C.

2.1.2. Hóa chất và thiết bị

Ethanol 99,5% (Chemsol, Việt Nam), methanol 99,5% (Xilong, Trung Quốc), Folin-Ciocalteu, natri carbonat, nhôm clorua, axit gallic và quercetin đạt cấp phân tích. Pectinase và cellulase được dùng cho EAE. Siêu âm được thực hiện bằng đầu dò VC 505 (Sonics & Materials, Hoa Kỳ), khoảng 20 kHz, chế độ xung 30 giây bật và 10 giây tắt.

2.2. Bố trí thí nghiệm

2.2.1. Trích ly hỗ trợ nhiệt

Bột mẫu 1,00 g được trích ly tĩnh trong bể điều nhiệt. Các yếu tố được khảo sát tuần tự gồm loại dung môi (nước, methanol, ethanol), ethanol 40-80% (v/v), tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:10-1:30 (g/mL), nhiệt độ 40-80 °C và thời gian 30-150 phút. Ở mỗi bước, điều kiện cho TPC và TFC cao được dùng cho khảo sát tiếp theo. Dịch trích được làm nguội và ly tâm 5.000 vòng/phút trong 10 phút. Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

2.2.2. Trích ly hỗ trợ siêu âm

Bột mẫu 1,00 g được phối trộn với ethanol 60% (v/v) theo tỷ lệ 1:25 (g/mL). Biên độ được khảo sát ở 20-40% trong 6 phút, sau đó thời gian được khảo sát ở 3-15 phút tại biên độ đã chọn. Mẫu tiếp tục được trích ly ở 60 °C trong 90 phút, làm nguội và ly tâm 5.000 vòng/phút trong 10 phút. Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

2.2.3. Trích ly hỗ trợ enzyme

Bột mẫu 1,00 g được phân tán trong ethanol 60% (v/v) theo tỷ lệ 1:25 (g/mL). Pectinase, cellulase và hỗn hợp 1:1 được so sánh ở nồng độ 0,2% trong 30 phút. Hỗn hợp được chọn được khảo sát ở 0,2-1,0%, sau đó thời gian xử lý được khảo sát ở 30-150 phút tại nồng độ phù hợp. Enzyme được bất hoạt bằng nhiệt, mẫu được ly tâm 5.000 vòng/phút trong 10 phút. Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

2.3. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

TPC được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu ở 765 nm và biểu thị bằng mg GAE/g CK (Raposo và cộng sự, 2024). TFC được xác định bằng phương pháp tạo phức $AlCl_3$ ở 510 nm và biểu thị bằng mg QE/g CK (Nicolescu và cộng sự, 2025). Các mẫu được phân tích trong cùng điều kiện.

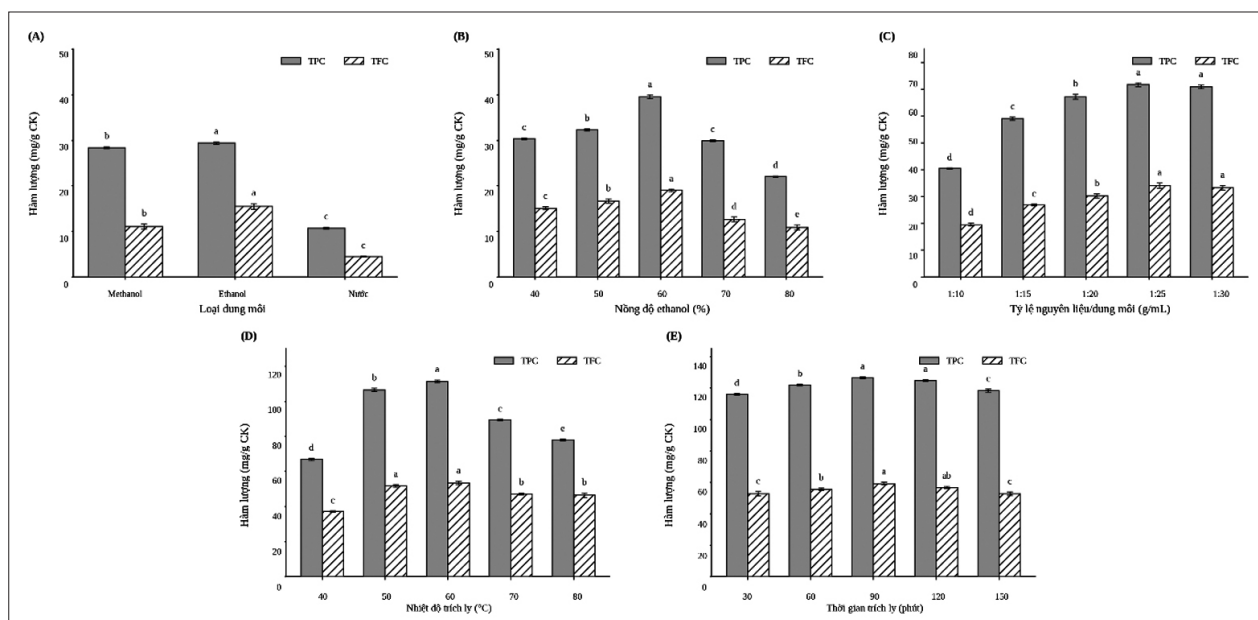
Kết quả được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. ANOVA một yếu tố và kiểm định Tukey được thực hiện bằng Minitab 19, với mức ý nghĩa $p < 0,05$. Các chữ cái khác nhau trên cột của cùng chỉ tiêu biểu thị khác biệt có ý nghĩa thống kê.

3. Kết quả và thảo luận kết quả nghiên cứu

3.1. Ảnh hưởng của điều kiện trích ly hỗ trợ nhiệt

Để xác định điều kiện nền cho quá trình thu nhận polyphenol và flavonoid, ảnh hưởng của loại dung môi, nồng độ ethanol, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, nhiệt độ và thời gian được tổng hợp trong Hình 1.

Hình 1. Ảnh hưởng của loại dung môi (A), nồng độ ethanol (B), tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (C), nhiệt độ (D) và thời gian (E) đến TPC và TFC.



Các điều kiện HAE ảnh hưởng có ý nghĩa đến TPC và TFC (Hình 1). Trong 3 dung môi, ethanol cho kết quả cao nhất với TPC $29,37 \pm 0,24$ mg GAE/g CK và TFC $15,53 \pm 0,61$ mg QE/g CK. Methanol cho TPC gần tương đương nhưng TFC thấp hơn, còn nước cho cả 2 chỉ tiêu thấp nhất. Vì vậy, ethanol được chọn cho các khảo sát tiếp theo. Kết quả lựa chọn dung môi phù hợp với nhận định của Bitwell và cộng sự (2023) về vai trò của độ phân cực trong thu nhận hợp chất thực vật.

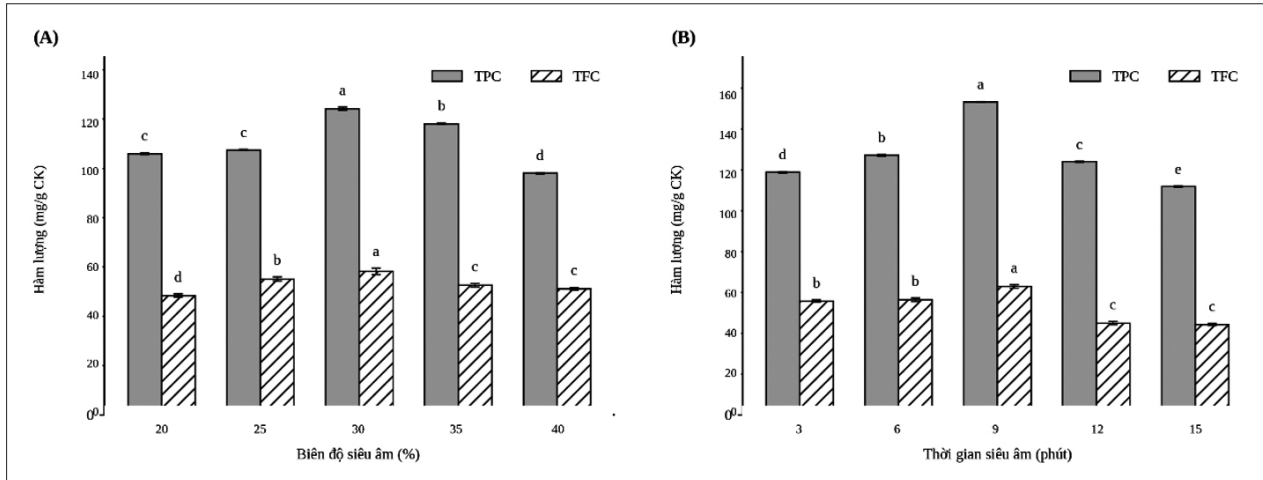
Ethanol 60% (v/v) cho TPC $39,55 \pm 0,43$ mg GAE/g CK và TFC $19,03 \pm 0,30$ mg QE/g CK, cao hơn các nồng độ còn lại. Khi tăng tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, TPC và TFC tăng đến tỷ lệ 1:25 (g/mL), lần lượt đạt $71,75 \pm 0,72$ mg GAE/g CK và $34,14 \pm 0,91$ mg QE/g CK. Tại tỷ lệ 1:30 (g/mL), TPC đạt $70,91 \pm 0,71$ mg GAE/g CK và TFC đạt $33,27 \pm 0,87$ mg QE/g CK. Cả 2 giá trị này không khác biệt có ý nghĩa so với tỷ lệ 1:25 với $p > 0,05$. Do đó, tỷ lệ 1:25 (g/mL) được chọn để giảm lượng dung môi sử dụng.

Tăng nhiệt độ từ 40 lên 6 °C làm TPC tăng từ $66,88 \pm 0,59$ lên $111,39 \pm 0,83$ mg GAE/g CK và TFC tăng từ $37,17 \pm 0,36$ lên $53,52 \pm 0,96$ mg QE/g CK. Khi nhiệt độ tăng đến 70 và 80°C, cả TPC và TFC đều giảm. Ở 6 °C, thời gian 90 phút cho TPC $126,57 \pm 0,59$ mg GAE/g CK và TFC $59,21 \pm 0,91$ mg QE/g CK. Kéo dài thời gian đến 120 hoặc 150 phút không làm 2 chỉ tiêu tăng thêm. Vì vậy, điều kiện HAE được chọn là ethanol 60% (v/v), tỷ lệ 1:25 (g/mL), 6 °C và 90 phút. Xu hướng đạt giá trị cao ở nhiệt độ trung bình cũng được Adeyi và cộng sự (2023) ghi nhận trên một nguyên liệu thực vật khác.

3.2. Ảnh hưởng của điều kiện trích ly hỗ trợ siêu âm

Trên cơ sở điều kiện trích ly nhiệt đã lựa chọn, ảnh hưởng của biên độ và thời gian siêu âm đến TPC và TFC được trình bày trong Hình 2.

Hình 2. Ảnh hưởng của biên độ (A) và thời gian siêu âm (B) đến TPC và TFC.



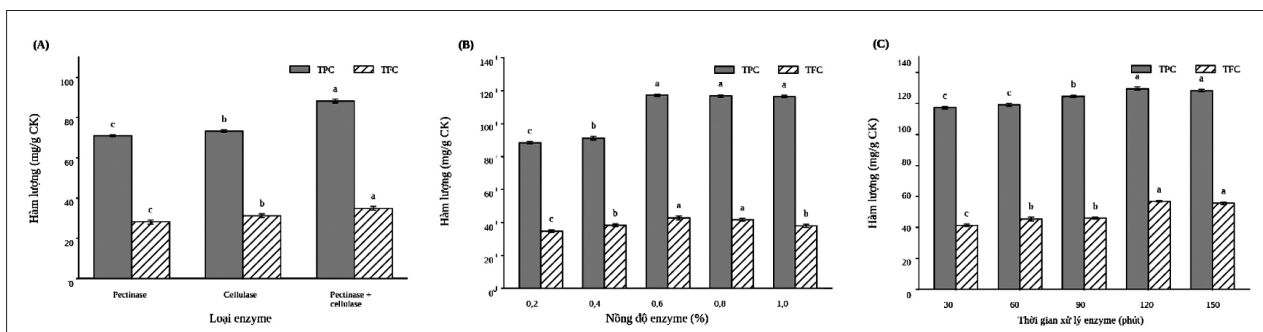
Biên độ siêu âm ảnh hưởng rõ đến TPC và TFC (Hình 2). Khi biên độ tăng từ 20 lên 30%, TPC tăng và đạt $124,21 \pm 0,59$ mg GAE/g CK, còn TFC đạt $58,24 \pm 1,31$ mg QE/g CK. Khi biên độ tăng lên 35 và 40%, cả TPC và TFC đều giảm. Do đó, biên độ 30% được chọn để khảo sát thời gian siêu âm. Islam và cộng sự (2023) và Shen và cộng sự (2023) cho thấy, năng lượng siêu âm quá cao có thể gây gia nhiệt cục bộ và thúc đẩy oxy hóa, làm giảm độ ổn định của một số hợp chất phenolic.

Ở biên độ 30%, thời gian 9 phút cho TPC và TFC cao nhất, lần lượt đạt $153,23 \pm 0,27$ mg GAE/g CK và $62,84 \pm 0,91$ mg QE/g CK. Khi kéo dài thời gian đến 12 hoặc 15 phút, 2 chỉ tiêu đều giảm. Kết quả tăng đến một mức tối ưu rồi giảm cũng được Bin Mokaizh và cộng sự (2024) ghi nhận trong nghiên cứu UAE trên dược liệu. Trong nghiên cứu này, UAE được sử dụng như bước tiền xử lý trước HAE ở 60 °C trong 90 phút. Vì vậy, điều kiện UAE được chọn là biên độ 30% trong 9 phút, sau đó tiếp tục trích ly nhiệt.

3.3. Ảnh hưởng của điều kiện trích ly hỗ trợ enzyme

Ảnh hưởng của loại enzyme, nồng độ và thời gian xử lý đến TPC và TFC được trình bày trong Hình 3.

Hình 3. Ảnh hưởng của loại enzyme (A), nồng độ enzyme (B) và thời gian xử lý (C) đến TPC và TFC



Loại enzyme ảnh hưởng có ý nghĩa đến TPC và TFC (Hình 3). Hỗn hợp pectinase-cellulase theo tỷ lệ 1:1 cho kết quả cao hơn pectinase hoặc cellulase riêng lẻ. TPC và TFC của hỗn hợp lần lượt đạt $88,19 \pm$

0,94 mg GAE/g CK và $34,82 \pm 0,99$ mg QE/g CK. Vì vậy, hỗn hợp pectinase-cellulase được chọn cho các khảo sát tiếp theo. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Vardakas và cộng sự (2024), trong đó hỗn hợp enzyme cho khả năng thu hồi hợp chất hoạt tính cao hơn từng chế phẩm riêng lẻ.

Khi nồng độ hỗn hợp enzyme tăng từ 0,2 lên 0,6%, TPC tăng từ $88,35 \pm 0,72$ lên $117,29 \pm 0,59$ mg GAE/g CK và TFC tăng từ $34,75 \pm 0,91$ lên $42,74 \pm 1,11$ mg QE/g CK. Nồng độ 0,8% và 1,0% không làm TPC tăng thêm. TFC giảm khi nồng độ enzyme tăng đến 1,0%. Do đó, nồng độ 0,6% được chọn để khảo sát thời gian xử lý.

Thời gian xử lý 120 phút cho TPC $129,40 \pm 1,06$ mg GAE/g CK và TFC $57,03 \pm 0,42$ mg QE/g CK. Kéo dài đến 150 phút không làm TPC hoặc TFC tăng có ý nghĩa. Điều kiện EAE được chọn là hỗn hợp pectinase-cellulase theo tỷ lệ 1:1, nồng độ 0,6% và thời gian 120 phút. So với HAE, EAE làm TPC tăng 2,2% nhưng TFC giảm 3,7%.

3.4. So sánh các phương pháp trích ly

TPC và TFC thu được tại điều kiện thích hợp của HAE, UAE và EAE được so sánh trong Hình 4.

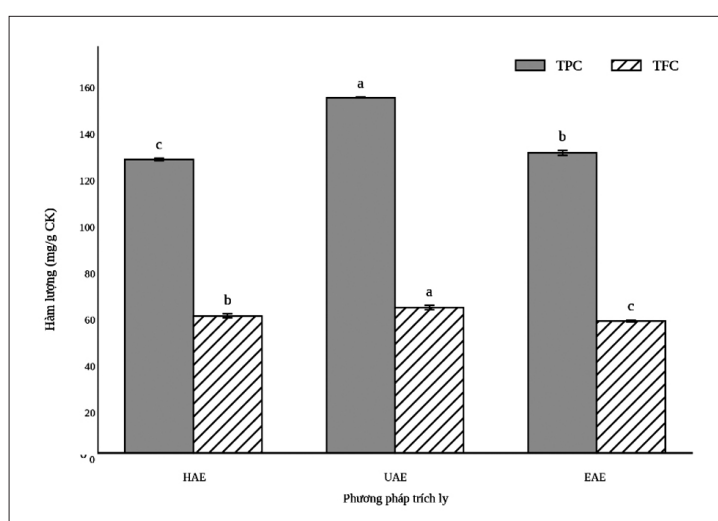
UAE cho TPC và TFC cao nhất, lần lượt đạt $153,23 \pm 0,27$ mg GAE/g CK và $62,84 \pm 0,91$ mg QE/g CK. EAE đạt $129,40 \pm 1,06$ mg GAE/g CK và $57,03 \pm 0,42$ mg QE/g CK, còn HAE đạt $126,57 \pm 0,59$ mg GAE/g CK và $59,21 \pm 0,91$ mg QE/g CK. So với HAE, UAE làm TPC tăng 21,1% và TFC tăng 6,1% ($p < 0,05$).

Sự khác biệt liên quan đến cơ chế tác động. HAE tăng hòa tan và khuếch tán nhờ nhiệt, UAE tạo xâm thực và lực cắt để phá vỡ mô, còn EAE thủy phân chọn lọc pectin và cellulose. Hiệu quả của từng kỹ thuật còn phụ thuộc nguyên liệu, dung môi, enzyme và trình tự xử lý (Phạm Văn Hưng và cộng sự, 2020). Vì điều kiện vận hành chưa hoàn toàn tương đương, kết quả chỉ phản ánh hiệu quả tương đối trong phạm vi khảo sát. Theo đó, tiền xử lý siêu âm phù hợp hơn với Kim tiền thảo trong nghiên cứu này.

4. Kết luận

Trong 3 phương pháp tạo ra khả năng thu hồi polyphenol và flavonoid khác nhau từ Kim tiền thảo. Điều kiện HAE thích hợp là ethanol 60% (v/v), tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:25 (g/mL), 60°C và 90 phút. TPC và TFC tương ứng đạt $126,57 \pm 0,59$ mg GAE/g CK và $59,21 \pm 0,91$ mg QE/g CK. Tiền xử lý siêu âm ở biên độ 30% trong 9 phút trước HAE cho kết quả cao nhất với TPC $153,23 \pm 0,27$ mg GAE/g CK và TFC $62,84 \pm 0,91$ mg QE/g CK. EAE thích hợp với hỗn hợp pectinase-cellulase theo tỷ lệ 1:1, nồng độ 0,6% trong 120 phút. TPC và TFC của EAE lần lượt đạt $129,40 \pm 1,06$ mg GAE/g CK và $57,03 \pm 0,42$ mg QE/g CK. So với HAE, UAE làm tăng đáng kể cả TPC và TFC. Kết quả cho thấy, tiền xử lý siêu âm là phương pháp phù hợp nhất trong phạm vi khảo sát. Nghiên cứu tiếp theo cần định danh các hợp chất chính, đánh giá hoạt tính sinh học, độ ổn định, nhu cầu năng lượng và khả năng mở rộng quy mô ■

Hình 4. So sánh TPC và TFC của HAE, UAE và EAE



TÀI LIỆU THAM KHẢO:

- Adeyi, O., Adeyi, A. J., Oke, E. O., Okolo, B. I., Olalere, O. A., Taiwo, A. E., Aremu, O. S., Qwebani-Ogunleye, T., Maphosa, Y., & Ogunsola, A. D. (2023). Heat-assisted extraction of phenolic-rich bioactive antioxidants from *Enantia chlorantha* stem bark: Multi-objective optimization, integrated process techno-economics and profitability risk assessment. *SN Applied Sciences*, 5, 153. <https://doi.org/10.1007/s42452-023-05372-1>.
- Bitwell, C., Indra, S. S., Luke, C., & Kakoma, M. K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African*, 19, e01585. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01585>.
- Islam, M., Malakar, S., Rao, M. V., Kumar, N., & Sahu, J. K. (2023). Recent advancement in ultrasound-assisted novel technologies for the extraction of bioactive compounds from herbal plants: A review. *Food Science and Biotechnology*, 32(13), 1763-1782. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01346-6>.
- Nicolescu, A., Bunea, C. I., & Mocan, A. (2025). Total flavonoid content revised: An overview of past, present, and future determinations in phytochemical analysis. *Analytical Biochemistry*, 700, 115794. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2025.115794>.
- Opryshko, V., Prokhach, A., Akimov, O., Riabushko, M., Kostenko, H., Kostenko, V., Mishchenko, A., Solovyova, N., & Kostenko, V. (2024). *Desmodium styracifolium*: Botanical and ethnopharmacological insights, phytochemical investigations, and prospects in pharmacology and pharmacotherapy. *Heliyon*, 10(3), e25058. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25058>.
- Pham Van Hung, Nguyen Hai Yen Nhi, Ling Yu Ting, & Nguyen Thi Lan Phi. (2020). Chemical composition and biological activities of extracts from pomelo peel by-products under enzyme and ultrasound-assisted extractions. *Journal of Chemistry*, 2020, Article 1043251. <https://doi.org/10.1155/2020/1043251>.
- Raposo, F., Borja, R., & Gutiérrez-González, J. A. (2024). A comprehensive and critical review of the unstandardized Folin-Ciocalteu assay to determine the total content of polyphenols: The conundrum of the experimental factors and method validation. *Talanta*, 272, 125771. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.125771>.
- Shen, L., Pang, S., Zhong, M., Sun, Y., Qayum, A., Liu, Y., Rashid, A., Xu, B., Liang, Q., Ma, H., & Ren, X. (2023). A comprehensive review of ultrasonic assisted extraction (UAE) for bioactive components: Principles, advantages, equipment, and combined technologies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 101, 106646. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106646>.
- Vardakas, A., Kechagias, A., Penov, N., & Giannakas, A. E. (2024). Optimization of enzymatic assisted extraction of bioactive compounds from *Olea europaea* leaves. *Biomass*, 4(3), 647-657. <https://doi.org/10.3390/biomass4030035>.