

DOI:10.22144/ctu.jvn.2020.111

## HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA VÀ KHÁNG NẤM CỦA MỘT SỐ CAO CHIẾT THỰC VẬT THUỘC HỌ GỪNG (ZINGIBERACEAE) VÀ HỌ CỬ NÂU (DIOSCOREACEAE)

Đái Thị Xuân Trang<sup>1\*</sup>, Trần Chí Linh<sup>1</sup>, Lê Bích Hậu<sup>1</sup>, Phạm Khánh Nguyên Huân<sup>1</sup> và Phùng Thị Hằng<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Khoa Sư phạm, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Đái Thị Xuân Trang (email: [dtxtrang@ctu.edu.vn](mailto:dtxtrang@ctu.edu.vn))

### ABSTRACT

The antioxidant and antifungal activity of ethanol extracts of *Curcuma longa*, *Curcuma yunnanensis*, *Hedychium coronarium*, *Alpinia conchigera*, *Dioscorea bulbifera*, *Dioscorea membranacea*, *Dioscorea hispida* and *Dioscorea pentaphylla* were tested. The highest total polyphenol (44,87±0,14 mg GAE/g extract) and flavonoid (110,75±6,38 mg QE/g extract) content were observed in *Curcuma longa* extract. The correlation was observed between biological activities and the amount of polyphenol, flavonoid compounds. All extracts exhibited antioxidant activity in FRAP (ferric reducing-antioxidant power), ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) and RP (reducing power) assay. Poisoned food technique was used to determine the inhibition of mycelial growth, minimum inhibitory concentration, and minimum fungicidal concentration of the extracts on the test pathogens. The *C. longa* produced complete mycelial growth inhibition in *Corynespora cassiicola* pathogens at a concentration of 5,000 µg/mL after three days of incubation. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) of the *C. longa* on the test fungi were in the range of 2,500-5,000 µL/mL and >5000 µL/mL, respectively. These findings confirm the fungicidal properties of plants extract and their potential use in the management of economically important *C. cassiicola* and as possible alternatives to synthetic fungicides. *C. longa* used in this study could be potential sources of new antifungal and antioxidant.

### TÓM TẮT

Thí nghiệm đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa và kháng nấm của cao chiết ethanol từ nghệ vàng (*Curcuma longa*), nghệ xanh (*C. yunnanensis*), gừng vàng (*Hedychium coronarium*), riềng rừng (*Alpinia conchigera*), củ khoai (*Dioscorea bulbifera*), củ môn (*D. membranacea*), củ nân (*D. hispida*) và củ trâu (*D. pentaphylla*) đã được kiểm chứng. Tất cả các cao chiết đều có hoạt tính kháng oxy hóa trong các phép thử FRAP, trung hòa gốc tự do ABTS<sup>+</sup> và RP. Hàm lượng polyphenol và flavonoid lần lượt là 44,87±0,14 mg/g gallic acid và 110,75±6,38 mg/g quercetin tương đối cao trong nghệ vàng. Hoạt tính kháng nấm được khảo sát bằng kỹ thuật gây ngộ độc môi trường để xác định tỷ lệ ức chế sự tăng trưởng sợi nấm, nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt nấm tối thiểu (MFC) của các cao chiết. nghệ vàng ức chế tăng trưởng sợi nấm *Corynespora cassiicola* hoàn toàn ở nồng độ 5.000 µg/mL (99,31±1,20%) sau ba ngày ủ. MIC và MFC của nghệ vàng trên nấm thử nghiệm lần lượt nằm trong khoảng 2.500-5.000 µg/mL và >5.000 µg/mL. Những phát hiện này xác nhận tính chất diệt nấm của các cao chiết đặc biệt là nghệ vàng cũng như tiềm năng sử dụng trong việc phòng trừ, quản lý dịch hại do nấm *C. cassiicola* gây ra.

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 29/04/2020

Ngày nhận bài sửa: 12/06/2020

Ngày duyệt đăng: 28/10/2020

### Title:

Antifungal and antioxidant activity of some plant extracts of the family Zingiberaceae and Dioscoreaceae

### Từ khóa:

Họ Củ Nâu, họ Gừng, kháng nấm, kháng oxy hóa, MFC, MIC

### Keywords:

Antifungal, antioxidant, Dioscoreaceae, MFC, MIC, Zingiberaceae

Trích dẫn: Đái Thị Xuân Trang, Trần Chí Linh, Lê Bích Hậu, Phạm Khánh Nguyên Huân và Phùng Thị Hằng, 2020. Hoạt tính kháng oxy hóa và kháng nấm của một số cao chiết thực vật thuộc họ gừng (Zingiberaceae) và họ củ nân (Dioscoreaceae). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(5A): 52-59.

## 1 GIỚI THIỆU

Trong tế bào thực vật, các nhóm oxy phản ứng (reactive oxygen species-ROS) được sản xuất theo nhiều cách trong các khoang của ty thể, lục lạp, peroxisome, lưới nội chất, tế bào chất, màng tế bào và trong quá trình trao đổi chất bình thường bởi các yếu tố môi trường khác nhau như: hạn hán, độ mặn, kim loại nặng, rối loạn dinh dưỡng, bức xạ và các loại thuốc nông dược mà không được bảo vệ (Desikan *et al.*, 2005; Rao, 2006). Các nhóm ROS được tạo ra quá mức hay sự mất cân bằng giữa các nhóm ROS được sinh ra và các chất chống oxy hóa có thể gây hại cho tế bào, tấn công các đại phân tử sinh học như ADN, protein, lipid (Cassells and Curry, 2001; Desikan *et al.*, 2005). Stress oxy hóa là một trong những nguyên nhân chính gây đột biến tự nhiên trong bộ gene. Nấm bệnh gây thiệt hại nặng nề cho cây trồng trong quá trình canh tác và bảo quản sau thu hoạch trên toàn thế giới (Chen *et al.*, 2008). Trong đó, nấm *Corynespora cassiicola* là một loại nấm túi gây hại trên nhiều loại cây trồng: có thể nhiễm trên 500 loài thực vật, cây trồng khác nhau từ hoa màu đến cây công nghiệp như cao su (Dixon *et al.*, 2009). Chủng nấm *C. cassiicola* gây thiệt hại kinh tế rất lớn trên diện rộng ở cây cao su và gần đây trở thành một trong những tác nhân gây bệnh quan trọng trên hoa màu. Nhiều loại hóa chất độc hại đã được sử dụng để ngăn chặn và diệt nấm trong các môi trường khác nhau. Tuy nhiên, các loại nấm gây bệnh có sự đa dạng, phong phú và tần số đột biến cao, một số lượng lớn các loại nấm dễ dàng đề kháng các loại thuốc diệt nấm. Một số loại thuốc hóa học trừ nấm hiệu quả thường được sử dụng như: Anilinopyrimidine, Benzimidazoles, thuốc ức chế Demethylation (DMI), Dicarboximide, Phenylpyrrole, ức chế hô hấp Qo, và Strobilurin, đã bị mất hiệu quả trong việc chống lại các loại nấm gây bệnh (Yang *et al.*, 2008; Miyamoto *et al.*, 2010). Để giảm nguy cơ mắc bệnh, tăng năng suất cây trồng cũng như đảm bảo sự an toàn của thực phẩm và môi trường thì việc nghiên cứu, tìm ra một phương pháp mới an toàn hơn cần được quan tâm (Coloretti *et al.*, 2007). Thêm vào đó, việc sử dụng các hoạt chất sinh học để ngăn chặn sự tàn phá của nấm hại đã thu hút nhiều sự chú ý trong những thập niên gần đây nhằm giảm tác động tiêu cực của thuốc hóa học trừ nấm đối với môi trường (Prema *et al.*, 2008).

Họ Gừng (Zingiberaceae) và họ Củ nâu (Dioscoreaceae) là 2 họ thực vật phân bố nhiều ở Việt Nam và một số nước trên thế giới. Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy rằng các hợp chất được

chiết xuất từ các loài thực vật thuộc họ Gừng và họ Củ nâu có khả năng kháng viêm, kháng oxy hóa, kháng khuẩn và kháng nấm, như curcumin là thành phần chính trong nghệ vàng (*C. longa*) được sử dụng như một chất kháng viêm và kháng oxy hóa từ rất lâu (Simal and Dhawan, 1973, Reddy and Lokesh, 1994).

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Phương tiện

Các cao chiết thực vật thuộc họ Gừng (nghệ vàng (*Curcuma longa* L.), ngải vàng (*Hedychium coronarium*), riềng rừng (*Alpinia conchigera*), nghệ xanh (*Curcuma yunnanensis*)) và họ Củ nâu (dái khoai (*Dioscorea bulbifera* L.), từ mỏng (*Dioscorea membranacea*), củ nân (*Dioscorea hispida*), củ trâu (*Dioscorea pentaphylla* L.)) được cung cấp bởi Bộ môn Sinh học, Khoa Sư phạm, Trường Đại học Cần Thơ. Thân rễ của một số loài thực vật thuộc họ Gừng và củ của một số loài thực vật thuộc họ Củ Nâu được thu tại núi Cấm, tỉnh An Giang vào năm 2018 được sử dụng để ly trích cao chiết từ dung môi ethanol bằng phương pháp ngâm dâm theo mô tả của Nguyễn Kim Phi Phụng (2007). Chủng nấm *C. cassiicola* được phân lập từ lá cây Cao su do Viện Nghiên cứu dầu và cây có dầu, Thành phố Hồ Chí Minh cung cấp.

Thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: cân điện tử (PA213 Ohaus, USA), tủ sấy (BE 200, Memmert, Đức), máy ly tâm lạnh (Mikro12-24, Hettich, Đức), bể ủ (Memmert, Đức), tủ cây vô trùng (TTS V1000, Thien Truong Scientific, Việt Nam), nồi hấp khử trùng nhiệt ướt (Sturdy SA-300VF, Đài Loan), máy vortex (RS-VA10 Phoenix, Đức), máy đo quang phổ (Thermo Scientific Multiskan GO, Phần Lan), đĩa 96 giếng (Ý), máy đo pH (LAP 850, Đức) và một số thiết bị khác.

Hóa chất được sử dụng gồm: 2, 4, 6-tripirydyl-s-triazine (Sigma-Aldrich, Gemmany), 2,2,-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate (Roche, Gemmany), quercetin (Sigma-Aldrich, Gemmany), Trolox (Sigma-Aldrich, Gemmany), gallic acid (Xilong, Trung Quốc), Folin-ciocalteu (Merck KgaA, Gemmany), NaNO<sub>2</sub> (Xilong, Trung Quốc), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Xilong, Trung Quốc), NaOH (Merck KgaA, Gemmany), K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (Merck KgaA, Gemmany), AlCl<sub>3</sub> (Xilong, Trung Quốc), NaCl (Xilong, Trung Quốc), ethanol (Cemeco, Việt Nam), glucose (Xilong, Trung Quốc) và một số hóa chất khác.

## 2.2 Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1 Định lượng polyphenol và flavonoid

#### **Định lượng polyphenol toàn phần bằng thuốc thử Folin-Ciocalteu**

Hàm lượng polyphenol được xác định theo phương pháp của Singleton *et al.* (1999) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 250  $\mu$ L cao chiết pha trong 250  $\mu$ L nước và thêm 250  $\mu$ L thuốc thử Folin-Ciocalteu, lắc đều. Sau đó, thêm vào 250  $\mu$ L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10% rồi ủ 30 phút ở 40°C trong bể điều nhiệt. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm. Gallic acid được sử dụng như chất đối chứng dương để xây dựng phương trình đường chuẩn. Hàm lượng polyphenol trong các cao chiết thuộc họ Gừng và họ Củ Nâu được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn gallic acid.

#### **Phương pháp định lượng flavonoid**

Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định bằng phương pháp so màu  $\text{AlCl}_3$  của Bag *et al.* (2015) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 200  $\mu$ L dung dịch cao chiết được pha trong 200  $\mu$ L nước, lắc đều. Sau đó hỗn hợp phản ứng được thêm vào 40  $\mu$ L  $\text{NaNO}_2$  5%, để yên 5 phút, tiếp tục thêm 40  $\mu$ L  $\text{AlCl}_3$  10%, lắc đều. Hỗn hợp sau khi ủ 6 phút được thêm 400  $\mu$ L  $\text{NaOH}$  1M và nước cho đủ 1 mL. Hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 510 nm. Quercetin được sử dụng như chất đối chứng dương. Hàm lượng flavonoid toàn phần trong các cao chiết thuộc họ Gừng và họ Củ nâu được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn quercetin.

### 2.2.2 Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa

#### **Phương pháp FRAP (ferric reducing-antioxidant power)**

Tiềm năng kháng oxy hoá của các cao chiết trong nghiên cứu được xác định bằng cách sử dụng khả năng khử FRAP (Benzie *et al.*, 1996). Nguyên tắc của phương pháp này dựa trên việc giảm phức hợp ferric-tripyridyltriazine. Cao chiết ở các nồng độ khác nhau (10  $\mu$ L) được cho phản ứng với dung dịch FRAP (990  $\mu$ L) trong 5 phút trong điều kiện tối. Xác định độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng ở bước sóng 593 nm.

#### **Phương pháp RP (reducing power)**

Khả năng khử sắt của các cao chiết được thực hiện theo phương pháp của Oyaizu (1986). Hỗn hợp phản ứng lần lượt gồm 0,5 mL cao chiết, 0,5 mL đệm phosphate (0,2 M, pH=6,6) và 0,5 mL

$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  1%. Sau khi hỗn hợp phản ứng được ủ ở 50°C trong 20 phút, thêm 0,5 mL  $\text{CCl}_3\text{COOH}$  10% rồi ly tâm 3.000 vòng/phút trong 10 phút. Phần dịch sau khi ly tâm được rút 0,5 mL cho vào 0,5 mL nước và 0,1 mL  $\text{FeCl}_3$  0,1%. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 700 nm. Trolox được sử dụng như chất đối chứng dương.

#### **Phương pháp trung hòa gốc tự do ABTS<sup>+</sup> (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))**

Hoạt động loại bỏ gốc tự do được xác định bằng phương pháp khử màu  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  mô tả bởi Nenadis *et al.* (2004).  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  được tạo ra bởi phản ứng  $\text{ABTS}$  7 mM với 2,45 mM kali persulfate. Hỗn hợp để đứng trong bóng tối ở nhiệt độ phòng 12-16 giờ trước khi sử dụng. Sau đó, hỗn hợp được pha loãng và đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm là  $0,70 \pm 0,05$ . Các cao chiết được pha loãng thành các nồng độ khác nhau và ủ với 990  $\mu$ L  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  ở nhiệt độ phòng trong 6 phút. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm. Chất đối chứng dương được sử dụng là trolox.

Hoạt tính kháng oxy hóa ở tất cả các phương pháp của các cao chiết được đánh giá dựa vào giá trị  $\text{EC}_{50}$  (Effective concentration of 50%) nồng độ mà tại đó cao chiết trung hòa hoặc khử được 50% lượng gốc tự do theo mô tả của Piaru *et al.* (2012).

### 2.2.3 Khảo sát hoạt tính kháng nấm của các cao chiết họ Gừng và họ Củ nâu

Hoạt tính kháng nấm của các cao chiết họ Gừng và họ Củ nâu được thực hiện dựa theo phương pháp của Gakuubi *et al.* (2017) có hiệu chỉnh. Môi trường PDA (Potato D-glucose agar) được chuẩn bị và bổ sung các cao chiết khảo sát để đạt được nồng độ: 312,5; 625; 1250; 2500 và 5000  $\mu$ g/mL. Chủng nấm gây bệnh được chuẩn bị trước trên đĩa agar, sau đó được đục thành từng mảng nhỏ có đường kính 9 mm, dùng kẹp vô trùng gấp các mảng nấm đặt vào giữa các đĩa petri có chứa cao chiết. Đường kính sợi nấm được đo sau 3 ngày và 6 ngày ủ ở nhiệt độ phòng (25°C). Tỷ lệ ức chế sự phát triển của nấm thí nghiệm được tính toán bằng công thức của Philippe *et al.* (2012).

Hiệu suất ức chế sự phát triển của nấm (%) =  $(\text{ĐKĐC} - \text{ĐKTN}) / \text{ĐKĐC} \times 100$ . Trong đó: ĐKĐC: đường kính trung bình của tơ nấm phát triển ở mẫu đối chứng (mm), ĐKTN: đường kính trung bình của tơ nấm phát triển ở nghiệm thức thí nghiệm (mm). Nồng độ ức chế tối thiểu (minimum inhibitory concentration, MIC) và nồng độ diệt nấm tối thiểu

(minimum fungicidal concentration, MFC) được xác định theo mô tả của Euloge *et al.* (2012).

2.2.4 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được phân tích và xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab 16 (ANOVA-Fisher's). Các thí nghiệm được bố trí độc lập với ba lần lặp lại. Các biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013.

3 KẾT QUẢ

3.1 Kết quả định lượng polyphenol tổng và flavonoid toàn phần

Hàm lượng polyphenol và flavonoid trong các cao chiết đã được xác định dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính của chất chuẩn là gallic acid và quercetin. Kết quả được thể hiện lần lượt theo miligram đương lượng gallic acid trên gram cao chiết (mg GAE/g cao chiết) cho hàm lượng polyphenol và miligram đương lượng quercetin trên gram cao chiết (mg QE/g cao chiết) cho hàm lượng flavonoid. Kết quả cho thấy hàm lượng polyphenol cao nhất ở cao chiết nghệ vàng, tiếp đến là dái khoai (lần lượt là 44,87±0,14 và 30,16±0,68 mg GAE/g cao chiết), thấp nhất ở cao chiết ngải vàng (8,98±0,13 mg GAE/g cao chiết). Nhiều nghiên cứu khác cũng cho thấy nghệ vàng có vai trò quan trọng trong Y học ở Trung Quốc. Curcuminoid, một nhóm các hợp chất polyphenol có trong nghệ vàng, thể hiện một loạt các tác dụng có lợi trên sức khỏe của con người và có khả năng ngăn ngừa một số bệnh (Joe *et al.*, 2004). Hàm lượng flavonoid có trong các cao chiết tương đối cao, cụ thể cao nhất ở cao chiết

riêng rừng (230,21±1,84 mg QE/g cao chiết) và thấp nhất ở cao chiết từ mỏng (67,34±2,14 mg QE/g cao chiết). ngải vàng thuộc nhóm có hàm lượng polyphenol và flavonoid thấp nhất ở cả hai thí nghiệm.

**Bảng 1: Hàm lượng polyphenol và flavonoid trong các cao chiết họ Gừng và họ Củ nâu**

Cao chiết	Hàm lượng polyphenol (mg GAE/g cao chiết)	Hàm lượng flavonoid (mg QE/g cao chiết)
Nghệ vàng	44,87 <sup>a</sup> ±0,14	110,75 <sup>c</sup> ±6,38
Riêng rừng	27,71 <sup>c</sup> ±0,48	230,21 <sup>a</sup> ±1,84
Nghệ xanh	10,07 <sup>f</sup> ±0,18	144,98 <sup>b</sup> ±8,51
Ngải vàng	8,98 <sup>g</sup> ±0,13	69,81 <sup>e</sup> ±0,97
Dái khoai	30,16 <sup>b</sup> ±0,68	99,42 <sup>c</sup> ±3,23
Củ nân	13,64 <sup>e</sup> ±0,42	85,13 <sup>d</sup> ±4,15
Củ trâu	19,08 <sup>d</sup> ±0,21	74,21 <sup>de</sup> ±1,25
Từ mỏng	13,80 <sup>e</sup> ±0,27	67,34 <sup>e</sup> ±2,14

Ghi chú: Các giá trị có ký tự giống nhau thì không khác biệt về mặt thống kê ở mức thống kê 5%.

3.2 Kết quả khảo sát khả năng kháng oxy hoá của các cao chiết

Hiệu quả kháng oxy hóa của các cao chiết họ Gừng và họ Củ nâu theo 3 phương pháp kháng oxy hóa được so sánh với tinh chất trolox bằng cách sử dụng nồng độ (µg/mL) mà tại đó chất chuẩn hay cao chiết có giá trị EC<sub>50</sub> (effective concentration of 50%) được trình bày trong Bảng 2.

**Bảng 2: Giá trị EC<sub>50</sub> của các cao chiết họ Gừng và họ Củ nâu**

Cao chiết	Giá trị EC <sub>50</sub> (µg/mL)		
	ABTS <sup>+</sup>	RP	FRAP
Nghệ xanh	87,12 <sup>a</sup> ±0,59	138,74 <sup>c</sup> ±5,39	103,07 <sup>a</sup> ±1,22
Từ mỏng	74,01 <sup>b</sup> ±1,16	82,13 <sup>d</sup> ±5,79	96,59 <sup>b</sup> ±2,80
Ngải vàng	69,81 <sup>c</sup> ±1,96	181,15 <sup>a</sup> ±5,82	94,43 <sup>b</sup> ±0,51
Riêng rừng	53,21 <sup>d</sup> ±0,58	140,55 <sup>bc</sup> ±6,14	64,92 <sup>c</sup> ±0,79
Củ trâu	50,00 <sup>e</sup> ±0,16	24,92 <sup>e</sup> ±0,34	47,65 <sup>d</sup> ±0,95
Nghệ vàng	6,51 <sup>f</sup> ±0,05	30,19 <sup>e</sup> ±0,60	17,86 <sup>f</sup> ±0,19
Củ nân	7,47 <sup>f</sup> ±0,07	150,54 <sup>b</sup> ±2,48	100,97 <sup>a</sup> ±0,54
Dái khoai	7,86 <sup>f</sup> ±0,11	34,31 <sup>e</sup> ±0,13	23,46 <sup>e</sup> ±0,46
Trolox	3,31 <sup>g</sup> ±0,05	3,24 <sup>f</sup> ±0,23	1,11 <sup>g</sup> ±0,02

Ghi chú: Các giá trị có ký tự giống nhau thì không khác biệt về mặt thống kê ở mức thống kê 5%.

Trong cả 3 phương pháp được sử dụng, nghệ vàng luôn thuộc nhóm có giá trị EC<sub>50</sub> thấp nhất, đồng nghĩa với việc nghệ vàng có khả năng kháng oxy hóa mạnh. Giá trị EC<sub>50</sub> thấp tương đương với nghệ vàng cũng thấy được ở dái khoai trong thí

thí nghiệm ABTS<sup>+</sup> và RP, củ nân trong thí nghiệm ABTS<sup>+</sup>. Điểm khác biệt giữa các thí nghiệm đánh giá hiệu quả kháng oxy hóa cũng được tìm thấy ở Củ nân: khi đánh giá bằng phương pháp ABTS<sup>+</sup> củ nân có giá trị EC<sub>50</sub> trong nhóm thấp nhất (gấp 2,5

lần so với trolox), nhưng ở phương pháp RP và FRAP củ nân lại thể hiện khả năng kháng oxy hóa khá kém, thậm chí kém nhất trong các nghiệm thức ở thí nghiệm FRAP. Khả năng kháng oxy hóa của tất cả các cao chiết đều kém hơn chất chuẩn trolox.

Dựa trên các phương pháp kháng oxy hóa có thể nhận thấy rằng nghệ vàng có hoạt động trung hòa gốc tự do và khử có phần mạnh hơn các cao chiết còn lại. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa cho thấy mối tương quan giữa khả năng kháng oxy hóa và hàm lượng polyphenol đã được định lượng ở trên. Kết quả định lượng cho thấy cao chiết nghệ vàng có hàm lượng polyphenol cao nhất, thì hoạt tính kháng oxy hóa cũng cao khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) so với các cao chiết còn lại. Polyphenol sở hữu khả năng kháng oxy hóa bằng cách cho các nguyên tử hydro hoặc electron từ hydroxyl phenolic. Đây là cơ chế chính mà polyphenol làm sạch nhiều ROS (superoxide anion, hydroxyl) (Ciocoiu *et al.*, 2003). Ở Đông Á, thân rễ từ nghệ vàng được coi là có dược tính tự nhiên, kể cả kháng khuẩn, kháng viêm, hoạt động chống ung thư và giảm đau vì có chứa một số hợp chất thuộc nhóm moniterpenoid, sesquiterpenoid và curcuminoid (Fang *et al.*, 2003).

**3.3 Kết quả khả năng kháng nấm của các cao chiết họ Gừng và họ Củ Nâu**

Hiệu suất ức chế sự phát triển của chủng nấm bệnh *C. cassiicola* ở thời điểm 3 ngày ủ và 6 ngày ủ được trình bày trong Bảng 3 và Bảng 4. Các cao chiết thuộc họ Gừng và họ Củ nâu đều cho thấy khả

ức chế sự tăng trưởng sợi nấm *C. cassiicola* trong khoảng nồng độ khảo sát từ 312,5 đến 5.000 µg/mL sau thời gian ủ 3 và 6 ngày.

Bảng 3 cho thấy các cao chiết thuộc họ Gừng và họ Củ nâu có khả năng kháng nấm *C. cassiicola* tăng tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết. Dái khoai có khả năng ức chế kém nhất trong các cao khảo sát, ở nồng độ cao nhất 5.000 µg/mL chỉ ức chế được 43,06±4,81%. Trong khi đó, ở nồng độ này, các cao chiết còn lại có khả năng kháng nấm tốt, ức chế từ 77,78±2,41% đến 99,31±1,20% sự phát triển của sợi nấm. Đặc biệt, nghệ vàng thể hiện khả năng ức chế nấm kể cả ở nồng độ rất thấp, ở nồng độ 312,5 µg/mL đã có thể ức chế hơn 70%, còn ở nồng độ 1.250 µg/mL khả năng ức chế khoảng 90%. Ngoài ra, ở cao chiết nghệ xanh và ngải vàng có xu hướng ức chế nấm *C. cassiicola* tương đồng ở dãy nồng độ khảo sát. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của các cao chiết họ Gừng và họ Củ nâu đối với sợi nấm nằm trong khoảng nồng độ từ 2.500 đến 5.000 µg/mL. Trong đó, các cao chiết dái khoai, củ trâu, củ nân cho giá trị MIC ở mức cao nhất 5.000 µg/mL. Điều đó chứng tỏ rằng khả năng ức chế sợi nấm của ba loại cao chiết này thấp hơn so với các cao chiết còn lại. So với thuốc diệt nấm thương mại Ausetop, các cao chiết trong nghiên cứu này đều thể hiện hoạt tính kháng nấm kém hơn.

Khả năng kháng nấm *C. cassiicola* của các cao chiết sau 6 ngày được trình bày trong Bảng 4 và minh họa trong Hình 1.

**Bảng 3: Hiệu suất ức chế sự phát triển của chủng nấm bệnh *C. cassiicola* sau 3 ngày**

Cao chiết	Hiệu suất ức chế nấm ở từng nồng độ cao chiết khác nhau (µg/mL)				
	312,5	625	1250	2500	5000
Nghệ vàng	77,78 <sup>d</sup> ±2,41	84,72 <sup>cd</sup> ±2,41	91,67 <sup>bc</sup> ±4,17	94,44 <sup>ab</sup> ±2,41	99,31 <sup>a</sup> ±1,20
Riềng rừng	18,06 <sup>d</sup> ±2,41	26,39 <sup>d</sup> ±2,41	40,28 <sup>c</sup> ±2,41	65,28 <sup>b</sup> ±4,81	97,22 <sup>a</sup> ±4,81
Nghệ xanh	38,89 <sup>e</sup> ±2,41	56,94 <sup>d</sup> ± 2,41	69,44 <sup>c</sup> ±2,41	81,94 <sup>b</sup> ±2,41	93,06 <sup>a</sup> ±2,41
Ngải vàng	38,89 <sup>e</sup> ±2,41	55,56 <sup>d</sup> ±6,37	69,44 <sup>c</sup> ±2,41	81,94 <sup>b</sup> ±2,41	93,06 <sup>a</sup> ±2,41
Từ mỏng	55,56 <sup>d</sup> ±2,41	61,11 <sup>d</sup> ±6,36	72,22 <sup>c</sup> ±2,41	88,89 <sup>b</sup> ±2,41	98,61 <sup>a</sup> ±2,41
Dái khoai	15,28 <sup>c</sup> ±6,37	23,61 <sup>bc</sup> ±2,41	27,78 <sup>b</sup> ±2,41	30,56 <sup>b</sup> ±2,41	43,06 <sup>a</sup> ±4,81
Củ trâu	15,28 <sup>c</sup> ±2,41	31,94 <sup>d</sup> ±2,41	40,28 <sup>c</sup> ±2,41	51,39 <sup>b</sup> ±2,41	77,78 <sup>a</sup> ±2,41
Củ nân	9,72 <sup>c</sup> ±2,41	23,61 <sup>d</sup> ±2,41	36,11 <sup>c</sup> ±2,41	44,44 <sup>b</sup> ±2,41	84,72 <sup>a</sup> ±4,81
Ausetop	83,33 <sup>e</sup> ± 0,00	95,83 <sup>d</sup> ±0,00	100,00 <sup>c</sup> ±0,00	100,00 <sup>b</sup> ±0,00	100,00 <sup>a</sup> ±0,00

Ghi chú: Các giá trị có ký tự giống nhau thì không khác biệt về mặt thống kê ở mức thống kê 5%.

**Bảng 4: Hiệu suất ức chế sự phát triển của chủng nấm bệnh *C. cassiicola* sau 6 ngày**

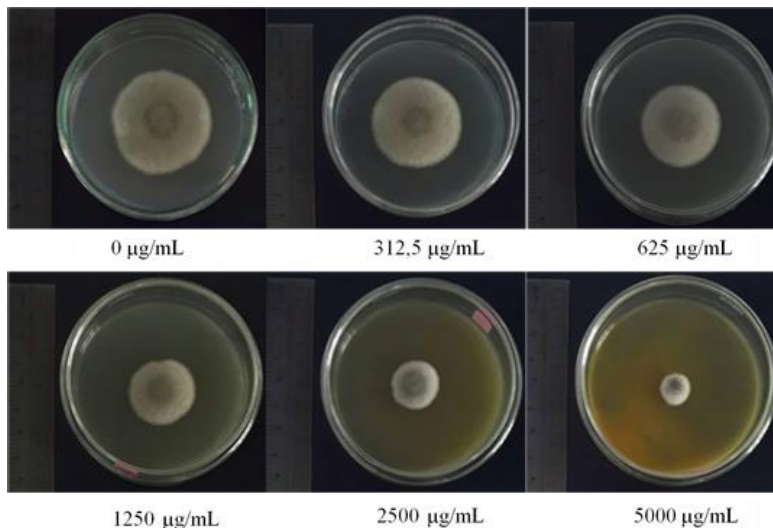
Cao chiết	Hiệu suất kháng nấm ở từng nồng độ cao chiết khác nhau (µg/mL)				
	312,5	625	1250	2500	5000
Nghệ vàng	47,22 <sup>c</sup> ±3,18	53,47 <sup>c</sup> ±1,20	72,22 <sup>b</sup> ±5,24	77,78 <sup>b</sup> ±1,20	86,11 <sup>a</sup> ±1,20
Riềng rừng	17,36 <sup>d</sup> ±1,20	26,39 <sup>c</sup> ±1,20	29,17 <sup>c</sup> ±0,00	50,69 <sup>b</sup> ±1,20	84,03 <sup>a</sup> ±1,20
Nghệ xanh	23,61 <sup>c</sup> ±2,41	38,89 <sup>d</sup> ±3,18	51,39 <sup>c</sup> ±1,20	65,97 <sup>b</sup> ±2,41	84,72 <sup>a</sup> ±1,20
Ngải vàng	21,53 <sup>c</sup> ±1,20	32,64 <sup>d</sup> ±2,41	53,47 <sup>c</sup> ±1,20	68,75 <sup>b</sup> ±3,61	86,81 <sup>a</sup> ±1,20
Từ mỏng	40,28 <sup>c</sup> ±7,89	50,69 <sup>c</sup> ±1,20	69,44 <sup>b</sup> ±1,20	74,31 <sup>b</sup> ±2,41	90,97 <sup>a</sup> ±2,41
Dái khoai	27,78 <sup>d</sup> ±1,20	29,17 <sup>d</sup> ±0,00	34,03 <sup>c</sup> ±2,41	38,19 <sup>b</sup> ±1,20	50,69 <sup>a</sup> ±1,20
Củ trâu	15,97 <sup>e</sup> ±1,20	21,53 <sup>d</sup> ±1,20	43,06 <sup>c</sup> ±1,20	47,22 <sup>b</sup> ±1,20	56,94 <sup>a</sup> ±1,20
Củ nân	15,97 <sup>e</sup> ±1,20	34,72 <sup>d</sup> ±1,20	43,06 <sup>c</sup> ±1,20	48,61 <sup>b</sup> ±1,20	61,11 <sup>a</sup> ±1,20
Ausetop	48,61 <sup>d</sup> ±1,20	66,67 <sup>c</sup> ±0,00	72,22 <sup>b</sup> ±1,20	100 <sup>a</sup> ±0,00	100 <sup>a</sup> ±0,00

Ghi chú: Các giá trị có ký tự giống nhau thì không khác biệt về mặt thống kê ở mức thống kê 5%.

Bảng 4 cho thấy khả năng kháng nấm của các cao chiết thuộc họ Gừng và họ Củ nân tương đối cao sau 6 ngày ủ bệnh và cũng theo xu hướng tăng tỷ lệ với nồng độ. Cụ thể, ở nồng độ 312,5 µg/mL, cao chiết nghệ vàng vẫn đạt hiệu suất kháng nấm cao nhất (47,22±3,18%) so với các cao chiết khác. Trong khi đó, ở cùng nồng độ, các cao chiết củ trâu và củ nân đều cho hiệu suất kháng nấm thấp nhất ở mức 15,97±1,20%. Ở nồng độ 5.000 µg/mL, cao chiết từ mỏng cho khả năng kháng nấm cao nhất đạt 90,97±2,41%, tiếp đến là các cao chiết nghệ vàng, riềng rừng, nghệ xanh và ngải vàng (đều trên 80%). Dái khoai vẫn cho hiệu suất kháng nấm thấp nhất so với các cao chiết ở hầu hết các nồng độ. Nhìn chung, các cao chiết cho hiệu suất kháng nấm tăng theo nồng độ và giảm theo thời gian ủ. Nghệ vàng đạt khả

năng kháng nấm cao nhất ở nồng độ 5.000 µg/mL sau 3 ngày ủ là 99,31±1,20% nhưng đến 6 ngày ủ giảm còn 86,11±1,20%. Trong khi đó, số liệu tương ứng đối với từ mỏng lần lượt là 98,61±2,41% và 90,97±2,41%.

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của các cao chiết họ Gừng và họ Củ nân đối với sợi nấm nằm trong khoảng nồng độ từ 2.500 đến 5.000 µg/mL. Trong đó, các cao chiết nghệ vàng, riềng rừng, nghệ xanh, ngải vàng, từ mỏng đều ở mức tương đối 2.500 µg/mL. Các cao chiết củ nân, dái khoai, củ trâu có giá trị MIC ở mức cao nhất 5.000 µg/mL. Hay nói cách khác hoạt tính kháng nấm *C. cassiicola* của các cao chiết củ nân, dái khoai, củ trâu thấp hơn các cao chiết còn lại. Qua khảo sát nhận thấy các cao chiết đều có giá trị MFC lớn hơn nồng độ 5.000 µg/mL.



**Hình 1: Khả năng kháng nấm *C. cassiicola* của cao chiết nghệ vàng sau 6 ngày ủ**

Trong khảo sát hoạt tính kháng nấm, cao chiết nghệ vàng vẫn thể hiện hoạt tính cao nhất. Kết quả

thực nghiệm cho thấy rằng khả năng kháng nấm của các cao chiết có mối quan hệ mật thiết với khả năng

kháng oxy hóa và hàm lượng polyphenol, điều này phù hợp với nhiều nghiên cứu trước. Thật vậy, nhiều nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh rằng hoạt tính kháng nấm có liên quan đến thành phần hóa học và hoạt tính kháng oxy hóa (Elad, 1991; Field *et al.*, 2006; Giordani *et al.*, 2008; Ahmad *et al.*, 2010; Rongai *et al.*, 2012). Các hợp chất có khả năng kháng oxy hóa làm giảm quá trình stress oxy hóa ở thực vật, giúp cho cây trồng tăng sức đề kháng với các mầm bệnh. Trong nghiên cứu của Poonam *et al.* (2017), cao chiết được ly trích từ dung môi methanol thân rễ của nghệ vàng có chứa alkaloid, flavonoid, quinone, saponin, terpenoid và carbohydrate. Thêm vào đó, một số flavonoid được phân lập từ cây thuốc có hoạt tính đáng chú ý kháng lại vi khuẩn và nấm (Ghani *et al.*, 2008). Hơn nữa, saponin là một loại glycoside đặc biệt được coi là chất kháng nấm hoạt động (Barile *et al.*, 2007).

#### 4 KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy các cao chiết thực vật họ Gừng và họ Củ nâu giàu polyphenol và flavonoid. Hoạt tính trung hòa và loại bỏ gốc tự do cao và hoạt động kháng oxy hoá cũng thể hiện ở các cao chiết có hàm lượng cao các chất hợp chất polyphenol và flavonoid. Khả năng kháng nấm của cao chiết cũng được thể hiện rõ, tỷ lệ thuận với nồng độ và giảm theo thời gian ủ. Trong các thí nghiệm, cao chiết nghệ vàng có hàm lượng polyphenol cao nhất và cũng cho thấy hoạt động kháng oxy hóa và kháng nấm mạnh hơn các cao chiết còn lại. Trên cơ sở các kết quả thu được, các cao chiết họ Gừng và họ Củ nâu có thể là những nguồn hợp chất tự nhiên có tính kháng nấm và kháng oxy hoá có giá trị, có thể ứng dụng trong cả ngành dược và thuốc bảo vệ thực vật. Đặc biệt là nghệ vàng bên cạnh sử dụng sản xuất các hợp chất kháng oxy hóa còn có thể trích xuất, tìm kiếm và đánh giá các hợp chất kháng nấm.

#### LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin trân trọng cảm ơn Viện Nghiên cứu dầu và cây có dầu, Tp. Hồ Chí Minh đã hỗ trợ chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ghani, S. B. A., Weaver, L., Zidan, Z. H., Ali, H. M., Keevil, C. W., and Brown, R. C., 2008. Microwave-assisted synthesis and antimicrobial activities of flavonoid derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 18(2): 518-522.

Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G., Sharma, S., 2010. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during

abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology*. 30(3): 161-175.

- Bag, G.C., Devi, P.G., Bhaigyabati, T., 2015. Assessment of total flavonoid content and antioxidant activity of methanolic rhizome extract of three *Hedychium* Species of Manipur Valley. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 30(1): 154-159.
- Barile, E.B., Bonanomi, G.B., Antignani, V., *et al.*, 2007. Saponins from *Allium minutiflorum* with antifungal activity. *Phytochemistry*. 68(5): 596-603.
- Benzie, I., Strain, J., 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power: The FRAP Assay". *Analytical Biochemistry*. 239(1): 70-76.
- Chen, H., Wang L., Su, C.X., Gong G.H., Wang P., 2008. Isolation and characterization of lipopeptide antibiotics produced by *Bacillus subtilis*. *Lett Appl Microbiol*. 47: 180-186.
- Ciocoiu, M., Badescu, L., Miron, A., Badescu, M., 2013. The Involvement of a polyphenol-rich extract of black chokeberry in oxidative stress on experimental arterial hypertension. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1-8.
- Coloretti, F., Carri, S., Armaforte, E., Chiavari, C., Grazia, L., 2007. Antifungal activity of *Lactobacilli* isolated from salami. *FEMS Microbiol Lett*. 271: 245-250.
- Desikan, R., Hancock, J., Neill, S., 2005. Reactive oxygen species as signaling molecules, in: Smirnov, N., *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*. Blackwell Pub. Ltd. 169-196.
- Dixon, L.J., Schlub, R.L., Pernezny, K., Datnoff, L.E., 2009. Host specialization and phylogenetic diversity of *Corynespora cassiicola*. *Phytopathology*. 9: 1015-1027
- Elad, Y., 1991. Multiple resistance to benzimidazoles dicarboximides and diethofencarb in field isolates of *Bobytis cinerea* in Israel. *Plant Pathology Journal*. 41: 41-46.
- Euloge, S. A., Kouton, S., Dahouenon-Ahoussi, E., Sohounhloue, D. C. K., & Soumanou, M. M., 2012. Antifungal activity of *Ocimum canum* essential oil against toxinogenic fungi isolated from peanut seeds in post-harvest in Benin. *International Research Journal of Biological Sciences*. 1(7): 20-26.
- Fang, J.-Y., Hung, C.-F., Chiu, H.-C., Wang, J.-J., and Chan, T.-F., 2003. Efficacy and irritancy of enhancers on the *in-vitro* and *in-vivo* percutaneous absorption of curcumin. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 55(5): 593-601.

- Field, B.F., Jordán, F.J., Osbourn, A.O., 2006. First encounters-deployment of defence-related natural products by plants. *New Phytologist*. 172(2): 193-207.
- Gakuubi, M.M., Maina, A.W., Wagacha, J.M., 2017. Antifungal activity of essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. against selected *Fusarium* spp. *International Journal of Microbiology*. 1-7.
- Joe, B., Vijaykumar, M., Lokesh, B.R., 2004. Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 44: 97-111.
- Miyamoto, T., Ishii, H., Stammer, G., *et al.*, 2010. Distribution and molecular characterization of *Corynespora cassiicola* isolates resistant to boscalid. *Plant Pathology*. 59(5): 873-881
- Nenadis, N., 2004. Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using the ABTS Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(15): 4669-4674.
- Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007. Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh. Tp. HCM. 80-147.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 307-315.
- Philippe, S., Souaibou, F., Guy, A., *et al.*, 2012. Chemical Composition and Antifungal activity of Essential oil of Fresh leaves of *Ocimum gratissimum* from Benin against six Mycotoxigenic Fungi isolated from traditional cheese *wagashi*. *International Research Journal of Biological Sciences*. 1(4): 22-27.
- Piaru, S.P., Mahmud, R., Abdul Majid, A.M.S., Mahmoud Nassar, Z.D., 2012. Antioxidant and antiangiogenic activities of the essential oils of *Myristica fragrans* and *Morinda citrifolia*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 5(4): 294-298.
- Chauhan, P., Keni, K., Patel, R., 2017. Investigation of phytochemical screening and antimicrobial activity of *Curcuma longa*. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*. 4(4): 153-163.
- Prema, P., Smila, D., Palavesam, A., Immanuel, G., 2008. Production and characterization of an antifungal compound (3-Phenylactic Acid) produced by *Lactobacillus plantarum* Strain. *Food Bioprocess Tech*. 3: 379-386.
- Giordani, R., Hadeif, Y.H., Kaloustian, J.K., 2008. Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79(3): 199-203.
- Rao, K.V.M., Raghavendra, A.S., Reddy, K.J., 2006. Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants. Springer-Netherlands. 114.
- Reddy, A.C.P., Lokesh, B.R., 1994. Studies on the inhibitory effects of curcumin and eugenol on the formation of reactive oxygen species and the oxidation of ferrous iron. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 137(1): 1-8.
- Rongai, D., Milano, F. Milano, Sciò, E. Sciò, 2012. Inhibitory effect of plant extracts on conidial germination of the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *American Journal of Plant Sciences*. 3(12): 1693-1698.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol*. 299: 152-178.
- Srimal, R.C., and Dhawan, B.N., 1973. Pharmacology of diferuloyl methane (curcumin), a non-steroidal anti-inflammatory agent. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 25(6): 447-452.
- Yang, L., Xie, J.T., Jiang, D.H., Fu, Y.P., Li, G.Q., 2008. Antifungal substances produced by *Penicillium oxalicum* strain PY-1-potential antibiotics against plant pathogenic fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 24: 909-915.