

- Christain P. Kubicek and Gary E. Harman, 2002. *Trichoderma & Gliocladium*. Volume 1. Basic biology, taxonomy and genetic. Page 3-31.
- Parmar HJ, Hassan MM, Bodar NP, 2015. *In vitro* antagonism between phytopathogenic fungi *Sclerotium rolfsii* and *Trichoderma* strains. *Int. J. Appl. Sci. Biotechnol.*, 3 (1): 16-19. *Article Google Scholar*.
- Ruano-Rossa.D., L. de Moral-Navarrete & C. J. Lopez-Herrera, 2010. Selection of *Trichoderma* spp. Isolates antagonistic to *Rosellinia necatrix*. *Spanish Journal of Agricultural research*, 8 (4): 1084-1097; ISSN:1695-971-X; eISSN: 2171-9292. *Article Google Scholar*.
- Srijana Bastakoli, Shiva Benbase, Shrinkhala Manandhar & Charu Ariyal, 2017. *Trichoderma* species as Biocontrol Agent against Soil borne fungal pathogen. *Nepal Journal of Biotechnology*, 5 (1): 39-45. *Article Google Scholar*.
- Yasser S. A. Mazrou, Abeer H. Makhlof, Mona M. Elseehy, Mohamed F. Awad & Mohamed M. Hassan, 2020. Antagonistic activity and molecular characterization of biological control agent *Trichoderma harzianum* from Saudi Arabia - *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30 (4): số trang, *Article number: 4 (2020)*. *Article Google Scholar*.

Selection of *Trichoderma* spp. isolated from tea growing soil for prevention of *Rosellinia* sp. and *Lasiodiplodia theobromae* in *in vitro*

Tran Dang Viet, Nguyen Van Thiep, Nguyen Thi Thu Ha, Nguyen Thi Kim Oanh, Pham Huy Quang

Abstract

Seventeen bulk strains of *Trichoderma* spp., having inhibition ability to *Rosellinia* sp., and *Lasiodiplodia theobromae* causing tea root rot disease were isolated from tea growing soil in Phu Tho; Yen Bai; Tuyen Quang and Lai Chau. Three out of 17 strains including *T. viride* (var. PT1117, and var. YB717) and *T. harzianum* (var. PT1217) belonging to *Trichoderma* spp. had the highest effectiveness. The crude extract of *T. viride* (var. PT1217) by using ethanol had more antagonistic efficiency to *Rosellinia* sp., and *Lasiodiplodia theobromae* than crude extract by using hexan or ethyl acetate in vitro. The crude extract by using ethanol had the highest efficiency of 69.68 - 70% after 1 day and 63.86 - 67.70% after 2 days. The crude extract by using hexan had efficiency of 30 - 43.15% after 1 day and 16.48 - 18.07% after 2 days. The crude extract by using ethyl acetate had efficiency of 47.5 - 56.75% after 1 day and 36.04 - 36.14% after 2 days. These three strains of *Trichoderma* spp. are considered as antagonistic potentials against fungal tea root rot disease.

Keywords: Tea root rot disease, biocontrol, *Trichoderma* spp.

Ngày nhận bài: 8/10/2020

Ngày phản biện: 16/10/2020

Người phản biện: PGS. TS. Lê Như Kiều

Ngày duyệt đăng: 22/10/2020

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA VÀ ỨC CHẾ TYROSINASE TỪ CAO CHIẾT METHANOL LÁ CÂY DỨA VÙNG TẮC CẬU, KIÊN GIANG

Nguyễn Thị Thu Hậu¹, Trần Nhân Dũng², Nguyễn Minh Chơn², Nguyễn Đức Độ², Huỳnh Văn Bá³, Võ Thị Yến Linh¹, Lê Thị Thu Đoan¹, Nguyễn Thị Trúc Anh¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu hiệu suất ly trích cao lá Dứa được thực hiện bằng dung môi methanol 99%, tỷ lệ phối trộn giữa mẫu lá trên đỉnh (LĐ) và lá ở thân (LT) với dung môi là 1 : 4, kết hợp đánh sóng siêu âm với công suất là 120 Watt trong 72 giờ. Sau đó tiến hành chiết lỏng - lỏng cao lá ở đỉnh bằng dãy dung môi hexane : chloroform : butanol. Kết quả, hàm lượng polyphenol tổng ở mẫu LĐ là (290,285 ± 0,286 mg/g) cao hơn nghiệm thức LT (198,952 ± 1,649 mg/g). Khả năng kháng oxy hóa DPPH, khử ion Cu²⁺ thì nghiệm thức LĐ (41,13 µg/mL, 416,97 µg/mL) cao hơn nghiệm thức LT (189,65 µg/mL và 739 µg/mL). Kết quả nghiên cứu cho thấy việc tận dụng phế phẩm từ lá Dứa có khả năng kháng oxy hóa và ức chế tyrosinase là nguồn nguyên liệu tiềm năng trong lĩnh vực sản xuất dược liệu và mỹ phẩm.

Từ khóa: Cây dứa (*Ananas comosus*), cao chiết, kháng oxy hóa, polyphenol, tyrosinase

¹Trường Đại học Kiên Giang, ²Trường Đại học Cần Thơ; ³Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong cơ thể của sinh vật (kể cả con người) luôn sản sinh ra các gốc tự do chứa một hoặc nhiều hơn các điện tử độc thân, dễ phản ứng dẫn đến sự hình thành các gốc tự do mới phá huỷ các bào quan và cấu trúc bên trong tế bào là nguyên nhân của đột biến, xuất hiện các bệnh hiểm nghèo và thoái hóa tế bào (Ali Ghasemzadeh *et al.*, 2012). Những bất lợi của sự thoái hóa tế bào có thể được ngăn ngừa bằng cách bổ sung các chất kháng oxy hóa từ thực phẩm, dược liệu (Conforti *et al.*, 2008).

Tyrosin được chuyển thành melanin với sự xúc tác của tyrosinase. Tyrosinase là enzyme chính trong đường sinh tổng hợp melanin để hình thành các hạt sắc tố melanosomes, là nguyên nhân của hàng loạt các loại bệnh như: nám, tàn nhang, Parkinson (Kong *et al.*, 2000). Do đó, tyrosinase và các chất ức chế tyrosinase được nghiên cứu. Tuy nhiên, những hoạt chất ức chế tyrosinase được tổng hợp bằng phương pháp hóa học lại chưa thật sự an toàn và hiệu quả. Chính vì thế, vấn đề tìm kiếm các hợp chất ức chế tyrosinase từ thiên nhiên được nghiên cứu để ứng dụng vào lĩnh vực y học, công nghiệp thực phẩm, xử lý môi trường và mỹ phẩm (Zolghadri *et al.*, 2019).

Dứa có tên khoa học là *Ananas comosus* là loại trái cây có giá trị dinh dưỡng cao. Dứa Tắc Cậu thuộc tỉnh Kiên Giang từ lâu đã là đặc sản nổi tiếng và là cây nằm trong danh sách được bảo tồn gen của tỉnh Kiên Giang. Mục tiêu của nghiên cứu này là bước đầu định lượng polyphenol, đánh giá khả năng kháng oxy hóa và ức chế tyrosinase từ cao methanol lá cây Dứa nhằm tìm ra nguồn nguyên liệu mới sử dụng trong ngành dược liệu và mỹ phẩm.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu nghiên cứu: Lá ở đỉnh và lá ở thân Dứa (*Ananas Comosus*) được thu hái ở vùng Tắc Cậu, Kiên Giang. Mẫu được Bộ môn Khoa học cây trồng của trường Đại học Kiên Giang định danh dựa vào đặc điểm hình thái theo Phạm Hoàng Hộ (1993).

Hóa chất: Acid ascorbic (99%, Merck, Đức); acid gallic (99%, Nhật Bản), acid kojic (99%, Nhật Bản), methanol 99% (Việt Nam), DPPH (2,2- Diphenyl-1picrylhydrazyl (free radical), 95%), (Alfa Aesar, Nhật Bản), Folin-Ciocalteu (Merck, Đức), Na_2CO_3 99,8%; acid clohydric (36% HCl), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, sodium acetat buffer (pH=5,5), tyrosinase (Sigma, Mỹ).

Trang thiết bị: Máy đánh sóng siêu âm (Shimadzu - Nhật), tủ sấy (Menmert - Đức), máy đo OD (shimadzu - Nhật), máy đo pH (Trans Instruments - Nhật), máy votex (Velp - Ý).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu mẫu

Thu lá ở đỉnh của cây Dứa 3 - 5 năm tuổi cùng lúc với thời gian thu hoạch trái chín (Hình 1a), lá ở thân Dứa thu từ tầng thứ 7 (tính từ đỉnh cây trở xuống) (Hình 1b) được thu tại vị trí GPS (Vĩ độ: 9,45361 B; Kinh độ: 109,08195 Đ). Thời gian thu mẫu từ 6 - 8 h sáng.



Hình 1. Lá ở đỉnh (a), lá ở thân (b) của cây Dứa (*Ananas comosus*) vùng Tắc Cậu Kiên Giang

2.2.2. Phương pháp điều chế cao (trích ly)

Mẫu lá ở đỉnh (LĐ) và lá ở thân (LT) của cây Dứa Tắc Cậu được thu nhận, rửa để khô tự nhiên, cắt nhỏ. 1000 (g) mẫu được ngâm với methanol 99% (w/w) (MeOH), bằng phương pháp ngâm chiết với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:4 (w/v), nhiệt độ trích ly là nhiệt độ phòng kết hợp đánh sóng siêu âm với công suất là 120 Walt trong 72h. Sau đó, lọc dịch chiết, cô quay chân không thu hồi dung môi dưới áp suất thấp và nhiệt độ 47°C.

2.2.3. Khảo sát hàm lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol được xác định dựa trên phương pháp sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteu, đo quang phổ ở bước sóng 765 nm. Chất chuẩn được sử dụng là acid gallic ở 5 nồng độ 0,01; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5 mg/mL. Nồng độ cao chiết sử dụng là 0,1 mg/mL. Hàm lượng polyphenol tổng được tính dựa trên phương trình đường chuẩn $y = ax + b$ của chất chuẩn là acid gallic. Hàm lượng polyphenol tổng: $C = C \times Vm$.

Trong đó: C: hàm lượng polyphenol tổng (mg GAE/g chiết xuất); c: giá trị x từ đường chuẩn với acid gallic/ acid ascorbic ($\mu\text{g/mL}$); V: thể tích dịch chiết (mL); m: khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

2.2.4. Phương pháp khảo sát khả năng kháng oxy hóa của cao chiết

- Khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng DPPH:

Thí nghiệm sử dụng DPPH nồng độ 0,1 mM pha trong methanol, sodium acetat buffer (pH = 5,5). Hòa tan cao chiết với nồng độ từ 0,1 - 0,5 mg/mL, acid ascorbic nồng độ 0,01 - 0,05 mg/mL (dùng làm đường chuẩn). Đo độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm. Mẫu đối chứng được thực hiện tương tự nhưng thay thế cao chiết bằng MeOH. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Khả năng ức chế DPPH được tính theo công thức sau:

$$\text{Phần trăm ức chế DPPH} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

Trong đó: A_0 : độ hấp thụ của mẫu đối chứng; A : độ hấp thụ của mẫu.

- Khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng năng lực khử Cu^{2+} :

Thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của Maclean và cộng tác viên (2019), có hiệu chỉnh. Acid ascorbic có nồng độ từ (150 - 400 $\mu\text{g/mL}$) được sử dụng là chất chuẩn để so sánh với các nghiệm thức cao. Đo bước sóng ở độ hấp thụ 450 nm, thí nghiệm được lặp lại 3 lần (MacLean, *et al.*, 2019). Khả năng khử ion Cu^{2+} được tính theo công thức:

$$\text{Khả năng khử } \text{Cu}^{2+} (\%) = \frac{A_s - A_0}{A_s} \times 100$$

Trong đó: A_s là đo độ hấp thụ của mẫu cao hoặc acid ascorbic; A_0 là độ hấp thụ của mẫu trắng (mẫu không chứa cao chiết hoặc acid ascorbic).

2.2.5. Phương pháp khảo sát khả năng ức chế tyrosinase in vitro

Thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của Chintong và cộng tác viên (2019), có hiệu chỉnh. Acid kojic nồng độ từ 2; 4; 6; 8; 10 và 12 $\mu\text{g/mL}$. Cao lá ở thân và lá ở đỉnh pha theo dãy nồng độ 31,25; 62,5; 125; 250; 500 $\mu\text{g/mL}$. Enzyme tyrosinase và L-Dopa pha loãng để đạt các nồng độ là 250 U/mL và 1 mg/mL. Tổng thể tích phản ứng là 1mL, trong đó, 25 μL tyrosinase được ủ với 200 μL cao chiết ở 37°C trong 15 phút. Cuối cùng, thêm vào 50 μL L-Dopa ủ 37°C trong 15 phút. Hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thụ quang phổ ngay ở bước sóng 475 nm. Khả năng ức chế tyrosinase được tính theo công thức:

$$(\%) \text{ ức chế} = \frac{(A - B) - (C - D)}{(A - B)} \times 100$$

Trong đó: A : enzyme và cơ chất; B : cơ chất, không có cao chiết và enzyme; C : enzyme, cơ chất và cao chiết; D : cao chiết và cơ chất nhưng không có enzyme (Chintong *et al.*, 2019).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu từ 13/5/2020 đến 15/9/2020.

Địa điểm nghiên cứu: Phòng Công nghệ sinh học, Trường Đại học Kiên Giang và phòng Công nghệ sinh học và các sản phẩm tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả định lượng hàm lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol của 2 nghiệm thức được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn acid gallic, bằng cách thế giá trị OD của mẫu vào phương trình đường chuẩn.

Bảng 1. Hàm lượng polyphenol tổng trong cao chiết lá Dứa Tắc Cậy, Kiên Giang

Tên nghiệm thức	Hàm lượng polyphenol (mg GAE/g chiết xuất)
LĐ	290,285 ± 0,286
LT	198,952 ± 1,649

Bảng 2 cho thấy, hàm lượng polyphenol tổng trong mẫu lá ở đỉnh cây Dứa cao hơn trong mẫu lá ở thân Dứa. Kết quả nghiên cứu so với nghiên cứu trước đây của Nguyễn Khoa Hạ Mai và cộng tác viên (2014), tổng hàm lượng polyphenol ở 90 cây thuốc ở An Giang thì hàm lượng polyphenol trong lá ở đỉnh chỉ thấp hơn lá dâu tằm (300 mg GAE/g) nhưng cao hơn 89 cây còn lại. Mặt khác, hàm lượng polyphenol tổng trong mẫu lá ở thân cây Dứa chỉ thấp hơn 7 cây nhưng vẫn cao hơn 83 cây trong tổng số 90 cây thuốc của tỉnh An Giang.

3.2. Kết quả khảo sát khả năng kháng oxy hóa

Hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết lá cây Dứa được đánh giá qua khả năng khử gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Phương trình hồi quy tuyến tính của phần trăm ức chế theo nồng độ ($\mu\text{g/mL}$), hệ số tương quan (r^2) và giá trị IC_{50} của cao chiết ở mẫu lá ở đỉnh và lá ở thân so với acid ascorbic được thể hiện qua bảng 3.

Qua kết quả của bảng 2 cho thấy, khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH của mẫu cao chiết lá Dứa khá cao. Cụ thể, cao methanol lá ở đỉnh cây Dứa có giá trị $\text{IC}_{50} = 41,13 \mu\text{g/mL}$ cho khả năng kháng oxy hóa cao hơn mẫu đối chứng là acid ascorbic ($\text{IC}_{50} = 62,41 \mu\text{g/mL}$). So với nghiên cứu của Vrianty và cộng tác viên (2019), trên lá ở đỉnh Dứa, thì ở nồng độ 50 $\mu\text{g/mL}$ cho khả năng kháng oxy hóa là 46,44% thì mẫu lá ở đỉnh cây Dứa vùng Tắc Cậy, tỉnh Kiên Giang, Việt Nam cho kết

quả cao hơn cây Dứa ở Indonesia (Vrianty *et al.*, 2019). Đồng thời cả hai mẫu lá ở đỉnh và lá ở thân đều cho khả năng kháng oxy hóa cao hơn rất nhiều cây như cây huỳnh anh, vi tảo, lá dâu tằm,... (Huỳnh

Duy Phúc, 2020; Trần Phạm Tuệ Hưng và *ctv.*, 2014; Vrianty, *et al.*, 2019). Hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết lá cây Dứa còn được đánh giá qua khả năng khử ion Cu²⁺ kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 2. Phương trình hồi quy tuyến tính, hệ số tương quan và chỉ số IC₅₀ của cao chiết lá và acid ascorbic thử nghiệm bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH

Mẫu	Lần lặp	Phương trình	R ²	IC50 (µg/mL)	Giá trị Trung bình IC ₅₀ (µg/mL)
LĐ	1	y = 0,1915x + 42,126	0,9567	41,117	41,13 ± 0,46 ^c
	2	y = 0,1911x + 42,225	0,9813	40,685	
	3	y = 0,1904x + 42,080	0,9751	41,596	
LT	1	y = 0,0744x + 36,395	0,9702	182,863	189,65 ± 6,15 ^a
	2	y = 0,0779x + 35,101	0,9684	191,258	
	3	y = 0,0773x + 34,934	0,9644	194,838	
Acid ascorbic	1	y = 0,4201x + 23,853	0,9702	62,239	62,41 ± 0,36 ^b
	2	y = 0,4091x + 24,297	0,9684	62,828	
	3	y = 0,4146x + 23,807	0,9644	63,176	

Ghi chú: *Phương trình đường chuẩn, hệ số tương quan (R²) giá trị IC₅₀ đã được tính toán, giá trị trung bình IC₅₀ đã xử lý thống kê, các số trung bình theo sau bởi một chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 0,05%.

Kết quả khử ion Cu²⁺ cho thấy, mẫu lá ở đỉnh có khả năng kháng oxy hóa cao hơn mẫu lá ở thân đồng thời cả hai mẫu đều có khả năng kháng oxy hóa thấp hơn mẫu đối chứng là acid ascorbic. Mẫu lá ở đỉnh

và lá ở thân cây Dứa có khả năng khử ion Cu²⁺ thấp hơn so với cao thô cũng như các cao phân đoạn của lá cây Bình bát nước (Tăng Hoàng Tỷ, 2020).

Bảng 3. Phương trình hồi quy tuyến tính, hệ số tương quan và chỉ số IC₅₀ của cao chiết lá và acid ascorbic thử nghiệm bằng phương pháp khử ion Cu²⁺

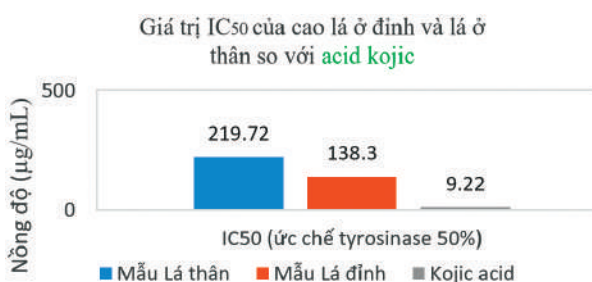
Mẫu	Lần lặp	Phương trình	R ²	IC50 (µg/mL)	Giá trị trung bình IC ₅₀ (µg/mL)
LĐ	1	y = 0,0980x + 9,122	0,9727	417,124	416,97 ± 0,17 ^b
	2	y = 0,0963x + 9,842	0,9744	417,006	
	3	y = 0,0932x + 11,155	0,9767	416,792	
LT	1	y = 0,0519x + 11,510	0,9888	741,619	739,88 ± 4,48 ^a
	2	y = 0,0508x + 12,673	0,9909	734,784	
	3	y = 0,0515x + 11,724	0,9876	743,223	
Acid ascorbic	1	y = 0,1730x + 2,5806	0,9637	274,101	263,37 ± 12,85 ^c
	2	y = 0,1960x - 2,2107	0,9878	266,381	
	3	y = 0,1570x + 10,887	0,9746	249,127	

Ghi chú: *Phương trình đường chuẩn, hệ số tương quan (R²) giá trị IC₅₀ đã được tính toán, giá trị trung bình IC₅₀ đã xử lý thống kê, các số trung bình theo sau bởi một chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 0,05%.

3.3. Kết quả ức chế tyrosinase của cao lá ở đỉnh và lá ở thân cây Dứa

Khi tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời dẫn đến việc làm gia tăng sự hình thành gốc tự do và hoạt độ tyrosinase hình thành melanin là nguyên nhân gây ra các bệnh như: rối loạn sắc tố da, ung thư

da, lão hóa cũng như mất trí nhớ. Kết quả cho thấy, mẫu lá ở đỉnh có khả năng ức chế tyrosinase cao hơn mẫu lá ở thân nhưng cả hai mẫu lá cây Dứa đều cho kết quả ức chế tyrosinase thấp hơn so với acid kojic (Hình 2).



Hình 2. Biểu đồ về sự ức chế so sánh hoạt động của tyrosinase của cao lá Dứa vùng Tắc Cậy, Kiên Giang với mẫu đối chứng acid kojic

Kết quả khảo sát khả năng ức chế tyrosinase của cao LĐ và LT thể hiện qua giá trị IC_{50} (nồng độ, cao chiết ức chế 50% hoạt động của tyrosinase) của cao chiết ở mẫu lá ở đỉnh và lá ở thân so với Acid kojic được thể hiện qua bảng 4.

Bảng 4. Khả năng ức chế tyrosinase của cao lá Dứa Tắc Cậy, Kiên Giang

Tên nghiệm thức	IC_{50} ức chế tyrosinase (µg/mL)
LĐ	138,30 ± 14,66 ^b
LT	219,72 ± 16,85 ^a
Acid kojic	9,22 ± 0,74 ^c

Chú ý: Giá trị IC_{50} là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Ở mỗi nghiệm thức, các số có ít nhất một chữ cái theo sau thì khác biệt không có ý nghĩa với mức ý nghĩa 1% qua kiểm định Tukey.

Huỳnh Duy Phúc (2020) đã nghiên cứu khả năng ức chế tyrosinase từ các phân đoạn cao chiết từ vi tảo *H. Pluvialis* kết quả thu được ở cao phân đoạn số 4 có khả năng ức chế tyrosinase cao nhất với giá trị IC_{50} là 215,67 µg/mL. Vrianty và cộng tác viên (2019), đã nghiên cứu khả năng ức chế tyrosinase trên lá ở đỉnh cây Dứa ở nước Indonesia, kết quả ở nồng độ 100 µg/mL ức chế 60,52% hoạt động của tyrosinase.

IV. KẾT LUẬN

Cao chiết lá ở thân và lá ở đỉnh cây Dứa Tắc Cậy, Kiên Giang đều có khả năng kháng oxy hóa và ức chế tyrosinase cao. Hàm lượng polyphenol tổng ở các nghiệm thức cao chiết LĐ đạt 290,285 ± 0,286 mg GAE/g, nghiệm thức LT đạt 198,952 ± 1,649 mg GAE/g.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Phạm Hoàng Hộ, 1999. Cây Cỏ Việt Nam. Nhà xuất bản Trẻ, Tập 1, trang 423.

Trần Phạm Tuệ Hưng, Nguyễn Thị Mỹ Hạnh, Quách Ngô Diễm Phương, 2014. Nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn, kháng oxy hóa, ức chế tyrosinase của cao ethanol chiết xuất từ cây huỳnh anh (*Allamanda Neriifolia*). *Science & Technology Development*, 3 (17): 62-69.

Nguyễn Khoa Hạ Mai, Nguyễn Xuân Hải, Nguyễn Trung Nhân, Nguyễn Thị Thanh Mai, 2014. Tổng hàm lượng polyphenol của một số cây thuốc an giang. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*, 17 (2): 5-9.

Huỳnh Duy Phúc, 2020. *Khảo sát khả năng kháng vi khuẩn (Propionibacterium Acnes), kháng oxy hóa và ức chế enzyme tyrosinase từ cao chiết vi tảo (Haematococcus Pluvialis)*. Luận văn tốt nghiệp cao học ngành Công nghệ sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.

Tăng Hoàng Tỷ, 2020. *Khảo sát hàm lượng anthocyanin và khả năng kháng oxy hóa bằng các phương pháp khử NO^3 , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mo^{6+} của cao phân đoạn sắc ký cột silicagel từ lá bình bát nước (Annona Glabra L.)*. Luận văn tốt nghiệp đại học ngành Công nghệ sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.

Ali Ghasemzadeh, Maryam Azarifar, Omid Soroodi Hawa Z. E. Jaafar, 2012. Flavonoid compounds and their antioxidant activity in extract of some tropical plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6 (13): 2639-2643.

Conforti F, Sosa S, Marrelli M, Menichini F, Statti G.A, Uzunov D, Tubaro A, Menichini F Loggia R.D, 2008. *In vivo* anti-inflammatory and *in vitro* antioxidant activities of mediterranean dietary plants. *J. Ethnopharmacol*, 116 (1): 144-151.

Chintong Sutasinee, Wipaporn Phatvej, Ubon Rerk-Am, Yaowapha Waiprib Wanwimol Klaypradit, 2019. *In vitro* antioxidant, antityrosinase, and cytotoxic activities of astaxanthin from shrimp waste. *Antioxidants*, 8 (5): 128.

Kong Kwang-Hoon, Min-Pyo Hong, Sang-Sook Choi, Yong-Tae Kim, Sung-Hye Cho, 2000. Purification and characterization of a highly stable tyrosinase from thermomicrobium roseum. *Biotechnology Applied Biochemistry*, 31: 113-118.

MacLean Louise, Dariusz Karcz, Hollie Jenkins, Siobhán McClean, Michael Devereux, Orla Howe, Marcos D Pereira, Nóra V May, Éva A Enyedy Bernadette S Creaven, 2019. Copper (II) complexes of coumarin-derived schiff base ligands: pro-or antioxidant activity in mcf-7 cells? *Journal of Inorganic Biochemistry*, 197: 110702.

Vrianty Dela, Rismawati Laila Qodariah, Wahyu Widowati, Ade Putra Fratama Sinaga, Dewi

Fibrina, Edy Fachrial, I Nyoman Ehrich Lister, 2019. Comparison of antioxidant and anti-tyrosinase activities of pineapple (ananas comosus) core extract and luteolin compound. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 30 (4): 240-246.

Zolghadri Samaneh, Asieh Bahrami, Mahmud Tareq Hassan Khan, J Munoz-Munoz, Francisco Garcia-Molina, F Garcia-Canovas, Ali Akbar Saboury, 2019. A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition Medicinal Chemistry*, 34 (1): 279-309.

Investigation of antioxidant activity and tyrosinase inhibition of methanol extract from pineapple leaves at Tac Cau, Kien Giang province

Nguyen Thi Thu Hau, Tran Nhan Dung, Nguyen Minh Chon, Nguyen Duc Do, Huynh Van Ba, Vo Thi Yen Linh, Le Thi Thu Doan, Nguyen Thi Truc Anh

Abstract

Study of extraction efficiency of Pineapple leaves was carried out in methanol solution 99%; the mixing ratio between samples (top leaf sample (LD) and leaf in stem (LT)) with solution was 1 : 4, combined with ultrasonic wave of 120 W for 72 hours. Then carried out liquid - liquid methanol extraction of pineapple top leaves by following solutions : hexane : chloroform : butanol. The results showed that the total polyphenol content of treatment LD was (290.285 ± 0.286 mg/g) higher than that of LT treatment (198.952 ± 1.649 mg/g). The antioxidant activity of DPPH, deionized Cu²⁺ treatments of LD was (41.13 µg/mL, 416.97 µg/mL) higher than that of LT (189.65 µg/mL and 739 µg/mL). The results of the study showed that the pineapple by-products from pineapple leaves with antioxidant activity and tyrosinase inhibition can be used as a potential source of raw materials in the pharmaceutical and cosmetic production.

Keywords: Pineapple (*Ananas comosus*), extract, antioxidant activity, polyphenol, tyrosinase

Ngày nhận bài: 01/10/2020

Ngày phản biện: 15/10/2020

Người phản biện: PGS. TS. Dương Xuân Chử

Ngày duyệt đăng: 22/10/2020

PHÂN LẬP VÀ KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA *Trichoderma* sp. LÊN SỰ SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA MỘT SỐ VI NẤM GÂY BỆNH TRÊN QUẢ DÂU TÂY TRONG ĐIỀU KIỆN *IN VITRO*

Võ Hoài Hiếu¹, Trần Kim Diệp¹, Nguyễn Hồng Minh², Đinh Ngọc Mai², Phan Ngọc Diễm Quỳnh¹, Hồ Sỹ Quang¹, Nguyễn Thị Tâm¹, Nguyễn Võ Duy Tuấn¹

TÓM TẮT

Chín chủng *Trichoderma* sp. được phân lập từ các mẫu đất canh tác dâu tây tại Tp. Đà Lạt có hình thái đặc trưng và khả năng đối kháng, ức chế sự sinh trưởng và phát triển đối với nấm ký sinh gây bệnh trên quả dâu tây trong điều kiện *in vitro*. Trong đó: Chủng Tri1 đối kháng tốt nhất với *Botrytis* sp. (68,78%), *Fusarium* sp. (86,82%) và *Mucor* sp. (70,20%); Chủng Tri2, Tri3 lần lượt đối kháng tốt nhất với *Rhizopus* sp. (62,12%) và *Penicillium* sp. (79,30%); Chủng Tri4 đối kháng tốt nhất với *Aspergillus* sp. (93,89%) và *Colletotrichum* sp. (93,39%). Kết quả khảo sát bốn chủng *Trichoderma* sp. này cho thấy tỷ lệ nảy mầm cao, tốc độ phát triển hệ sợi nhanh trên môi trường YM-Agar và đều có hoạt tính enzyme chitinase.

Từ khóa: Dâu tây, đối kháng, *Trichoderma* sp., vi nấm gây bệnh

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dâu tây là một loại nông sản đặc thù tại Đà Lạt, mang lại hiệu quả kinh tế cao do hàm lượng chất dinh dưỡng phong phú và hương vị đặc trưng. Tuy nhiên, trong quá trình canh tác, thu hoạch, vận

chuyển và bảo quản, loại quả mọng này dễ dàng xuất hiện các tổn thương vật lý, tạo điều kiện thuận lợi cho một số loại vi nấm ký sinh xâm nhập, tấn công gây hiện tượng thối quả, làm giảm năng suất và chất lượng (Husaini and Neri, 2017). Để khắc phục hiện

¹ Trường Đại học Yersin Đà Lạt; ² Trường Đại học Phenikaa