

DOI:10.22144/ctu.jvn.2021.090

THÀNH PHẦN HOÁ HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG VI KHUẨN *Vibrio parahaemolyticus* CỦA CÁC CAO CHIẾT CÂY SỔ TRAI (*Dillenia ovata*)

Võ Thị Tú Anh*, Trần Chí Linh, Nguyễn Thị Nu, Nguyễn Thị Linh Nhi, Vương Thiên Quý và Đái Thị Xuân Trang

Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Võ Thị Tú Anh (email: vttanh@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 22/12/2020

Ngày nhận bài sửa: 16/01/2021

Ngày duyệt đăng: 25/06/2021

Title:

Chemical composition and antimicrobial activity against *Vibrio parahaemolyticus* of *Dillenia ovata* extracts

Từ khóa:

Kháng khuẩn, Sổ Trai, thành phần hoá học, *Vibrio parahaemolyticus*

Keywords:

Antimicrobial, chemical composition, *Dillenia ovata*, *Vibrio parahaemolyticus*

ABSTRACT

The present study was designed to evaluate the chemical composition, and the antibacterial activity of *Dillenia ovata* extracts. The chemical composition of the *Dillenia ovata* extracts was found to contain alkaloids, flavonoids, steroids, glycosides, saponins, tannins, and sesquiterpene lactones. The ethyl acetate extract of *Dillenia ovata* wood exhibited high levels of total flavonoids and polyphenols contents, which were $309,97 \pm 1,47$ mg QE/g extract, and $44,28 \pm 0,15$ mg GAE/g extract, respectively. Disc diffusion technique was used for in vitro antibacterial screening against *Vibrio parahaemolyticus*. Resazurin-based 96-well plate microdilution method was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of *Dillenia ovata* extracts. The ethyl acetate extract of *Dillenia ovata* leaves exhibited the strongest antibacterial activity against *Vibrio parahaemolyticus* with $320 < MIC \leq 640$ $\mu\text{g/mL}$, and $2560 < MBC \leq 5120$ $\mu\text{g/mL}$. The findings of the present study could provide an insight into the potential of *Dillenia ovata* for controlling *Vibrio parahaemolyticus*.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện để đánh giá thành phần hoá học và hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết Sổ Trai. Thành phần hóa học của các cao chiết cây Sổ Trai được tìm thấy có chứa alkaloid, flavonoid, steroid, glycoside, saponin, tannin và sesquiterpene lactones. Cao chiết ethyl acetate của lá Sổ Trai và ethyl acetate của gỗ Sổ Trai có hàm lượng flavonoid và polyphenol cao, lần lượt là $309,97 \pm 1,47$ mg QE/g cao chiết và $44,28 \pm 0,15$ mg GAE/g cao chiết. Phương pháp khuếch tán trên giếng thạch được sử dụng để đánh giá hoạt tính kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) được xác định thông qua sự thay đổi màu của resazurin trên đĩa 96 giếng. Kết quả cho thấy cao chiết ethyl acetate của lá Sổ Trai thể hiện hoạt tính kháng khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* mạnh nhất, với nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu lần lượt là $320 < MIC \leq 640$ $\mu\text{g/mL}$, và $2560 < MBC \leq 5120$ $\mu\text{g/mL}$. Nghiên cứu này cho thấy tiềm năng của cây Sổ Trai trong phòng và điều trị bệnh do *Vibrio parahaemolyticus* gây ra.

1. GIỚI THIỆU

Những năm 1950, vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* được công bố lần đầu tiên tại Nhật Bản. Dòng vi khuẩn này được nghiên cứu là tác nhân chính gây ngộ độc thực phẩm, trong đó việc nhiễm bệnh đều liên quan đến việc tiêu thụ hải sản sống hoặc chưa được nấu chín (Fujino et al., 1953). Từ năm 2009, vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được phát hiện là nguyên nhân gây ra bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (Acute hepatopancreatic necrosis disease – AHPND) hay hội chứng chết sớm (EMS), đây là căn bệnh dẫn đến tỷ lệ tử vong nghiêm trọng trên tôm (Tran et al., 2013). Sự bùng phát của *V. parahaemolyticus* xảy ra thường xuyên ở châu Á và một số quốc gia khác dẫn đến thiệt hại lớn trong ngành nuôi trồng thủy sản (Soto-Rodríguez et al., 2015; Tran et al., 2013). Môi trường sống tự nhiên của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* chủ yếu là vùng cửa sông hoặc biển càng làm gia tăng khả năng nhiễm trùng trên thủy sản do một số độc lực mà nó tạo ra (Letchumanan et al., 2014). Trong vài thập kỷ qua, việc lạm dụng thuốc kháng sinh trong phòng và trị bệnh càng làm gia tăng sự phát sinh của các dòng vi khuẩn kháng đa kháng sinh (Yusop et al., 2009). Vấn đề này làm tăng mối quan ngại về sự thất bại trong điều trị bền vững (Jun et al., 2012). Năm 2011, tính miễn cảm với kháng sinh trên vi khuẩn *V. parahaemolyticus* phân lập từ hàu và trai ở São Paulo, Brazil đã được khảo sát. Kết quả cho thấy hai loại kháng sinh bao gồm penicillin và aminoglycoside cho hiệu quả thấp trong điều trị nhiễm trùng *V. parahaemolyticus* (Rojas et al., 2011). Một số chiến lược nhằm kiểm soát mầm bệnh trong nuôi trồng thủy sản đã được thực hiện, chẳng hạn như thay nước và theo dõi thường xuyên tình trạng nước trong ao nuôi. Tuy nhiên, những biện pháp này vẫn chưa đủ để kiểm soát và loại bỏ các tác nhân vi khuẩn gây bệnh (Romero et al., 2012). Do đó, việc tìm ra các phương pháp thay thế kháng sinh trong kiểm soát và điều trị *V. parahaemolyticus* là cần thiết.

Hiện nay, ở nhiều nước đang phát triển, vật liệu thảo dược vẫn được sử dụng nhiều để điều trị các bệnh do vi khuẩn gây ra (Emiru et al., 2019). Các chất chiết xuất từ thực vật được coi là nguồn cung cấp các hợp chất tự nhiên có khả năng kháng khuẩn an toàn về mặt dinh dưỡng và dễ phân hủy (Berahou et al., 2007, Chika et al., 2007). Cây Sô Trai (*Dillenia ovata*) là một loài thân gỗ, sống lâu năm, thuộc họ Sô (Dilleniaceae), thường sinh trưởng tốt ở vùng rừng núi, xuất hiện ở các quốc gia Đông Nam Á. Từ lâu, cây Sô Trai đã được sử dụng rộng rãi

trong các bài thuốc dân gian với tác dụng điều trị tiêu chảy, kiết lỵ, nhiễm trùng, viêm khớp, tiêu đường và viêm gan (Dy, 2000). Một số nghiên cứu khoa học về đặc tính sinh học của cây Sô Trai đã được công bố (Swee et al., 2013; Soeurn et al., 2018). Cao chiết từ vỏ thân và lá của cây Sô Trai đã được chứng minh là có hoạt tính kháng vi khuẩn (*Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, và *Bacillus subtilis*), kháng nấm (*Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis*, *Candida lusitanae*, *Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger*, và *Aspergillus fumigatus*). Bên cạnh đó, thành phần hóa học trong cây Sô Trai đã được định tính là có chứa các hợp chất alkaloid, glycoside, coumarin, flavonoid, phenolic, sesin, saponin, steroid, tannin và terpenoid (Soeurn et al., 2018). Tuy nhiên, nghiên cứu về hoạt tính kháng khuẩn của Sô Trai vẫn còn giới hạn ở một số đối tượng vi khuẩn phổ biến, ngoài ra các thành phần hóa học cụ thể của loài thực vật này vẫn chưa được xác định. Từ nền tảng các hiểu biết cơ bản về cây Sô Trai kết hợp với mức ảnh hưởng của tác nhân vi khuẩn gây bệnh *V. parahaemolyticus*, chúng tôi thực hiện nghiên cứu về thành phần hóa học của cây Sô Trai được thu hái tại tỉnh An Giang, đồng thời các cao chiết từ cây Sô Trai đã được đánh giá hoạt tính kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Đây sẽ là một sự lựa chọn mới mẽ trong việc ứng dụng nguồn hợp chất thiên nhiên từ thực vật sẵn có ở địa phương trong việc phòng trị các bệnh nhiễm khuẩn, đóng góp cơ sở khoa học cho việc phát triển nguồn vật liệu tự nhiên là liệu pháp thay thế cho thuốc kháng sinh.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vật liệu: mẫu cây Sô Trai bao gồm vỏ thân, gỗ, trái và lá, được thu hái tại Thiên Cẩm Sơn, tỉnh An Giang vào tháng 6/2018 được định danh dựa vào đặc điểm hình thái. Mẫu được lưu trữ tại Phòng thí nghiệm Thực vật 2, Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên với ký hiệu là AG_Mi2018060400010. Chủng vi khuẩn được sử dụng trong thử nghiệm là *V. parahaemolyticus* ATCC® 17802TM.

Thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: cân điện tử (PA213 Ohaus, USA), tủ cấy (Việt Nam), nồi hấp khử trùng (SA-300VF, Đài Loan), máy lắc (GFL model 3005, Đức), máy đo quang phổ (Multiskan, Phần Lan), Micropipette (Nhật Bản), máy cô quay (Đài Loan), đĩa 96 giếng (Aptaca-Ý).

Hóa chất sử dụng trong thí nghiệm bao gồm: gallic acid (Xilong), NaNO₂ (Xilong), Na₂CO₃ (Xilong), NaOH (Xilong), Folin-Ciocalteu (Merck), K₂S₂O₈ (Merck), AlCl₃ (Xilong), methanol (Chemsol), ethanol (Cemaco), n-hexane (Chemsol), ethyl acetate (Chemsol), acetone (Chemsol), dimethyl sulfoxide (Merck), môi trường Luria-Bertani (Himadia), NaCl (Xilong).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Điều chế các cao chiết cây Sỗ Trai

Mẫu cây Sỗ Trai sau khi thu về được làm sạch và sấy khô ở khoảng nhiệt độ từ 40-45°C. Sau đó, mẫu được xay nhuyễn thành bột nguyên liệu và được cho vào túi vải và ngâm trong ethanol. Mẫu được ngâm trong ethanol 3 lần, mỗi lần ngâm 24 giờ. Sau đó, dịch chiết được lọc qua giấy lọc và cô quay thu hồi dung môi ở áp suất thấp ở nhiệt độ khoảng 55°C thu được cao chiết ethanol (cao tổng) của mẫu cây Sỗ Trai. Cao tổng được phân bố vào nước với sự hỗ trợ của sóng siêu âm, sau đó được tiến hành chiết lỏng-lỏng với các dung môi n-hexane và ethyl acetate, thu được các cao chiết tương ứng bao gồm cao n-hexane, cao ethyl acetate và cao chiết nước (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

2.2.2. Định tính thành phần hóa học trong các cao chiết cây Sỗ Trai

Các cao chiết cây Sỗ Trai đã được kiểm tra định tính về sự hiện diện của các thành phần hóa học như alkaloid, flavonoid, steroid, glycoside, saponin, tannin và sesquiterpene lactone theo mô tả của Biswas et al., (2012).

2.2.3. Định lượng thành phần hóa học trong các cao chiết cây Sỗ Trai

Phương pháp định lượng polyphenol

Tổng hàm lượng polyphenol được đo bằng phương pháp so màu Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999). Phản ứng gồm 250 µL cao chiết; 250 µL nước khử ion và 250 µL thuốc thử Folin-Ciocalteu (25%). Sau 8 phút, 250 µL dung dịch sodium carbonate 10% đã được thêm vào và lắc đều. Sau 30 phút ủ ở 40°C, độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng được đo bằng máy quang phổ ở bước sóng 765 nm. Hàm lượng polyphenol được xác định tương đương miligam gallic acid trên mỗi gram cao chiết (mg GAE/g cao chiết).

Phương pháp định lượng flavonoid

Tổng hàm lượng flavonoid được xác định theo quy trình được mô tả bởi Sultana et al. (2007) với một số sửa đổi. Hỗn hợp phản ứng gồm 200 µL cao

chiết; 200 µL nước khử ion và 200 µL NaNO₂ 5% được ủ trong 5 phút. Sau đó, 40 µL AlCl₃ (10%) đã được thêm vào hỗn hợp và ủ trong 6 phút. Sau khi ủ, 400 µL NaOH 1M đã được thêm vào. Thể tích cuối cùng được điều chỉnh thành 1000 µL bằng nước khử ion và trộn kỹ. Sau 15 phút, độ hấp thụ của hỗn hợp được đo bằng máy quang phổ ở bước sóng 510 nm. Hàm lượng flavonoid được xác định tương đương miligam quercetin trên mỗi gram cao chiết (mg QE/g cao chiết).

2.2.4. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn

Phương pháp xác định đường kính vòng kháng khuẩn

Khả năng kháng khuẩn của các cao chiết mẫu cây Sỗ Trai được xác định bằng phương pháp khuếch tán trên giếng thạch. Hoạt tính kháng khuẩn được đánh giá dựa trên sự hình thành vòng vô khuẩn xung quanh giếng thạch nhỏ cao chiết (Đái Thị Xuân Trang và ctv., 2018). Dịch vi khuẩn với mật số 10⁶ vi khuẩn/mL được trải đều trên bề mặt đĩa thạch Luria-Bertani (LB) với thể tích dịch vi khuẩn là 100 µL mỗi đĩa. Sau khi dịch vi khuẩn khô (khoảng 15 phút sau khi trải vi khuẩn), đĩa thạch được đục lỗ tạo thành giếng có đường kính 9 mm. Mỗi giếng thạch được nhỏ vào 50 µL dung dịch cao chiết ở các nồng độ 80, 160, 320, 640, 1280 và 2560 µg/mL. Đường kính vòng kháng khuẩn được đo bằng thước đo đơn vị mm sau 24 giờ ủ mẫu ở nhiệt độ 37°C.

Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC, minimum inhibitory concentration) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC, minimum bactericidal concentration)

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của các cao chiết cây Sỗ Trai được xác định dựa vào sự đổi màu của thuốc thử resazurin (Lương Thị Mỹ Ngân và ctv., 2016). Thí nghiệm được thực hiện trên đĩa 96 giếng, trong đó, mỗi giếng được cho vào hỗn hợp bao gồm 200 µL cao chiết thực vật ở các nồng độ cao chiết khác nhau và 10 µL dịch vi khuẩn với mật số 10⁶ vi khuẩn/mL. Sau 24 giờ ủ mẫu ở nhiệt độ 37°C, 40 µL thuốc thử resazurin 0,01% được thêm vào mỗi giếng. Sau 5 phút, các giếng có sự đổi màu của dung dịch resazurin từ màu xanh sang màu hồng cho thấy sự tăng trưởng của vi khuẩn trong giếng. Nồng độ MIC được xác định tại nồng độ không làm đổi màu thuốc thử resazurin. Đây là nồng độ thấp nhất trong dãy nồng độ thử nghiệm của các cao chiết thực vật có thể ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn.

Từ thí nghiệm trên đĩa 96 giếng với thuốc thử resazurin, nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của các cao chiết cây Sỗ Trai tiếp tục được xác định bằng phương pháp đếm sống nhỏ giọt. Trên các giếng thí

thử nghiệm không đổi màu của resazurin, 10 µL dịch thử nghiệm được nhỏ giọt lên bề mặt môi trường LB đặc. Sự sống sót của vi khuẩn được xác định sau 24 giờ ủ mẫu ở 37°C. Nồng độ MBC được xác định tại nồng độ mà không có khuẩn lạc nào xuất hiện trên môi trường thạch LB. Đây là nồng độ thấp nhất trong dãy nồng độ của các cao chiết thực vật có thể tiêu diệt toàn bộ vi khuẩn trong giếng (Lương Thị Mỹ Ngân và ctv., 2016).

2.2.5. 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 biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2016.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả định tính thành phần hóa học của các cao chiết

Quá trình chiết lỏng-lỏng của cao chiết ethanol gỗ Sô Trai không thu được cao chiết từ phân đoạn n-hexane. Các cao chiết cây Sô Trai thu được được định tính thành phần hoá học và được trình bày ở Bảng 1. Thành phần hóa học của các bộ phận khác nhau của cây Sô Trai bao gồm: alkaloid, flavonoid, steroid, glycoside, saponin, tannin và sesquiterpene lactones. Kết quả này tương tự với nghiên cứu về thành phần của cây Sô Trai thu thập ở Cambodia, trong đó, vỏ thân Sô Trai có chứa alkaloid, glycoside, coumarin, flavonoid, phenolic, sesin, saponin, steroid, tannin và terpenoid (Soeurn et al., 2018). Từ đây cho thấy sự tương đồng về thành phần hoá học của cây Sô Trai có thể liên quan đến sự tương đồng về mặt địa lý ở các địa điểm thu mẫu.

Bảng 1. Kết quả định tính thành phần hóa học trong các cao chiết cây Sô Trai

Cao chiết		Nhóm chức						
		Alk	Fla	Ste	Gly	Sap	Tan	Ses
EtOH	Vỏ thân	+	+	+	+	+	+	+
	Lá	+	+	+	+	+	+	-
	Gỗ	+	+	-	-	+	-	+
	Trái	+	+	+	+	+	+	-
Hx	Vỏ thân	+	+	-	-	+	+	-
	Lá	+	+	+	-	-	+	-
	Trái	+	+	+	-	+	+	-
Ea	Vỏ thân	+	+	-	+	+	+	+
	Lá	+	+	-	-	+	+	+
	Gỗ	+	+	+	+	-	+	+
	Trái	+	+	+	+	+	+	-
H ₂ O	Vỏ thân	+	+	-	+	+	+	+
	Lá	+	+	+	+	-	-	+
	Gỗ	+	+	-	-	-	+	+
	Trái	+	+	+	+	+	+	-

Ghi chú: (+) là có sự hiện diện. (-) là không sự hiện diện. EtOH: cao ethanol; Hx: cao n-hexane; Ea: ethyl acetate; H₂O: cao nước; Alk: alkaloid; Fla: flavonoid; Ste: steroid; Gly: glycoside; Sap: saponin; Tan: tannin; Ses: sesquiterpen- lacton.

3.2. Kết quả định lượng thành phần hóa học flavonoid và polyphenol của các cao cây Sô Trai

Hàm lượng flavonoid và polyphenol trong các chiết xuất cây Sô Trai được trình bày trong Bảng 2. Hàm lượng flavonoid trong các bộ phận cây và các dung môi khác nhau có sự khác biệt (p<0,05), dao

động từ 136,57±1,47 mg QE/g cao chiết đến 309,97±1,47 mg QE/g cao chiết. Hàm lượng flavonoid tổng số cao nhất thu được trong cao chiết ethyl acetate (309,97±1,47 mg QE/g cao chiết). Tổng hàm lượng polyphenol ở các cao chiết dao động trong phạm vi từ 7,01±0,18 mg GAE/g cao chiết đến 44,28±0,15 GAE/g cao chiết.

Bảng 2. Hàm lượng polyphenol và flavonoid trong các cao chiết cây Sô Trai

Cao chiết	Hàm lượng flavonoid (mg QE/g cao chiết)	Hàm lượng polyphenol (mg GAE/g cao chiết)	
Gỗ	EtOH	251,96 ^c ±2,94	35,37 ^b ±0,09
	Ea	309,97^a±1,47	44,28^a±0,15
	H ₂ O	156,77 ^f ±2,22	32,06 ^d ±0,21
Vỏ	EtOH	252,27 ^c ±2,00	34,33 ^c ±0,15
	Hx	217,02 ^d ±0,96	26,63 ^e ±0,54
	Ea	298,43 ^b ±1,47	43,51 ^a ±0,24
Lá	H ₂ O	265,42 ^c ±2,42	34,42 ^c ±0,16
	EtOH	155,80 ^{fg} ±1,47	14,59 ^{sh} ±0,15
	Hx	136,57^g±1,47	13,33 ^h ±0,30
Trái	Ea	233,37 ^d ±0,97	26,60 ^e ±0,15
	Nước	165,09 ^f ±1,93	7,01ⁱ±0,18
	EtOH	203,56 ^e ±1,92	18,22 ^f ±0,15
Trái	Hx	197,47 ^e ±2,00	15,54 ^g ±0,12
	Ea	198,43 ^e ±1,47	17,82 ^f ±0,60
	H ₂ O	187,85 ^e ±1,46	14,47 ^{sh} ±0,03

Ghi chú: Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, các giá trị trong cùng một cột có mẫu tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% ($p < 0,05$).

Trong nghiên cứu này, tổng hàm lượng flavonoid và polyphenol của các cao chiết từ dung môi *n*-hexane đều thấp hơn các cao chiết khác trong cùng bộ phận. Như vậy, sự phân cực của dung môi có thể có ảnh hưởng đến hiệu quả chiết xuất. Độ hòa tan của flavonoid và polyphenol có thể bị ảnh hưởng bởi vòng thơm, dạng glycosyl và liên kết chuỗi. Các flavonoid và polyphenol càng nhiều nhóm hydroxyl trong phân tử, độ phân cực càng mạnh thì dễ hòa tan trong dung môi phân cực cao (Hamid et al., 2016).

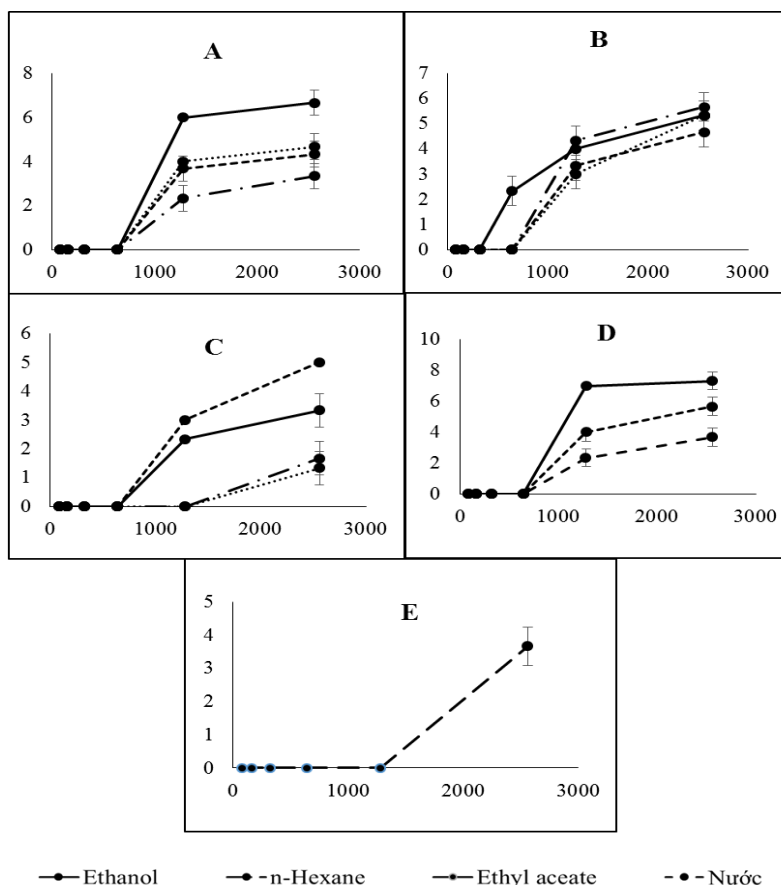
3.3. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết cây Sô Trai

Khả năng kháng vi khuẩn *V. paraheamolyticus* của các cao chiết cây Sô Trai được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán trên giếng thạch. Kháng sinh Vancomycin được thử nghiệm song song trong thí nghiệm. Đường kính vòng kháng khuẩn tạo thành từ các giếng chứa cao chiết của cây Sô Trai được biểu diễn thành các biểu đồ trình bày ở Hình 1.

Tất cả 15 loại cao chiết được ly trích với các dung môi khác nhau và bộ phận khác nhau của cây Sô Trai đều có khả năng tạo ra vòng kháng vi khuẩn *V. paraheamolyticus* từ nồng độ 1.280 µg/mL.

Riêng cao chiết ethyl acetate từ lá cho hiệu quả kháng vi khuẩn *V. paraheamolyticus* mạnh nhất, đường kính vòng kháng khuẩn tạo thành tại nồng độ cao chiết 640 µg/mL đạt 2,33±0,58 mm. Cao chiết *n*-hexane từ trái Sô Trai cho hiệu quả kháng vi khuẩn *V. paraheamolyticus* thấp nhất, tại nồng độ cao chiết là 2.560 µg/mL mới có sự xuất hiện của vòng kháng khuẩn (1,67±0,58 mm). Trong thí nghiệm này, kháng sinh Vancomycin thể hiện hoạt tính kháng khuẩn thấp hơn so với các cao chiết cây Sô Trai. Như vậy, việc dùng Vancomycin để điều trị vi khuẩn *V. paraheamolyticus* có thể không mang lại hiệu quả.

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của các cao chiết Sô Trai trên vi khuẩn *V. paraheamolyticus* cũng được xác định, kết quả trình bày ở Bảng 3 và Hình 2. Cao chiết ethyl acetate lá Sô Trai thể hiện hoạt động ức chế vi khuẩn mạnh hơn các cao chiết còn lại khi giá trị MIC dao động trong từ 320 đến 640 µg/mL. Trong khi đó, hoạt động diệt vi khuẩn *V. paraheamolyticus* của các cao chiết ethanol gỗ, ethyl acetate gỗ và ethyl acetate vỏ thân Sô Trai có phần mạnh hơn các cao chiết còn lại khi mà giá trị MBC dao động từ nồng độ 1280 đến 2560 µg/mL.



Hình 1. Đường kính vòng kháng khuẩn *V. parahaemolyticus* của các cao chiết cây Sỗ Trai

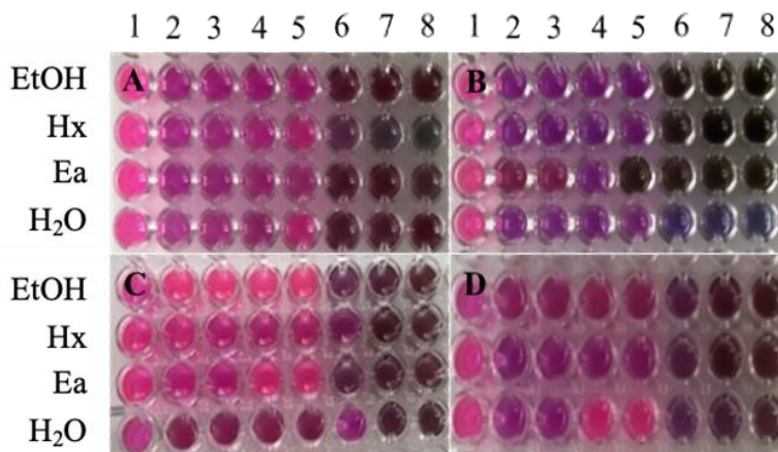
Ghi chú: (A) Các cao chiết vỏ thân Sỗ Trai; (B) Các cao chiết lá Sỗ Trai; (C) Các cao chiết trái Sỗ Trai; (D) Cao chiết gỗ Sỗ Trai; (E) Kháng sinh Vancomycin; Trục hoành: biểu thị nồng độ cao chiết (µg/mL), Trục tung: biểu thị đường kính vòng vô khuẩn (mm).

Bảng 3. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC)

Các cao chiết		Nồng độ ức chế tối thiểu MIC (µg/mL)	Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu MBC (µg/mL)
Gỗ	EtOH	640<MIC≤1280	1280<MBC≤2560
	Ea	640<MIC≤1280	1280<MBC≤2560
	H ₂ O	640<MIC≤1280	2560<MBC≤5120
Vỏ	EtOH	640<MIC≤1280	2560<MBC≤5120
	Hx	640<MIC≤1280	2560<MBC≤5120
	Ea	640<MIC≤1280	1280<MBC≤2560
	H ₂ O	640<MIC≤1280	2560<MBC≤5120
Lá	EtOH	640<MIC≤1280	2560<MBC≤5120
	Hx	640<MIC≤1280	2560<MBC≤5120
	Ea	320<MIC≤640	2560<MBC≤5120
	H ₂ O	640<MIC≤1280	≥5120
Trái	EtOH	640<MIC≤1280	2560<MBC≤5120
	Hx	1280<MIC≤2560	≥5120
	Ea	640<MIC≤1280	2560<MBC≤5120
	H ₂ O	1280<MIC≤2560	≥5120
Vancomycin		1280<MIC≤2560	≥5120

Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng polyphenol đóng vai trò quan trọng trong các hoạt động kháng khuẩn của các cao chiết thực vật và có mối quan hệ mật thiết với các hoạt tính sinh học của thực vật (Miao et al., 2016; Shah et al., 2018). Hoạt tính sinh học của các cao chiết không chỉ liên quan đến hàm lượng polyphenol mà còn liên quan đến thành phần polyphenol có trong cao chiết (Zhang et al., 2020). Do đó, các hoạt động kháng khuẩn của chiết xuất có thể bị ảnh hưởng bởi các thành phần trong hợp chất polyphenol. Trong nghiên cứu này, cao chiết ethyl acetate gỗ Sô Trai ($44,28 \pm 0,15$ GAE/g cao chiết) rất giàu polyphenol so với các cao chiết khác, nhưng tác dụng kháng khuẩn vẫn thấp hơn các cao chiết khác. Trong khi đó, cao chiết ethyl acetate lá Sô Trai ($26,60 \pm 0,15$ GAE/g cao chiết) có hàm lượng polyphenol thấp hơn cao chiết ethyl acetate gỗ Sô Trai 1,66 lần nhưng lại có khả năng ức chế vi khuẩn mạnh nhất. Kết quả này có thể do ảnh hưởng của các thành phần polyphenol trong cao chiết. Cơ chế kháng khuẩn của các hợp chất polyphenol và flavonoid có liên quan đến nhiều yếu tố khác, bao

gồm: nồng độ muối, dinh dưỡng của vi khuẩn, tính chất bề mặt tế bào của các vi khuẩn cũng như cấu trúc của các hợp chất hóa học (Papuc et al., 2017; Górnaiak et al., 2019). Về cơ bản, sự tương tác giữa polyphenol và vi khuẩn là không đặc hiệu, phụ thuộc vào nhóm hydro và tác dụng kỵ nước có thể có ảnh hưởng lớn đến màng tế bào và hình thành liên kết cộng hóa trị (Taguri et al., 2006). Màng tế bào đóng một vai trò quan trọng trong các quá trình vận chuyển, bảo vệ và sự thâm thấu. Quá trình sinh tổng hợp tế bào và sự phá vỡ của màng có thể dẫn đến cái chết của vi khuẩn (Taguri et al., 2006). Polyphenol trong trà có thể làm tăng tính thấm của màng và phá vỡ màng tế bào vi khuẩn (Yi et al., 2013). Pterostilbene trong nho Tân Cương có thể làm hỏng màng tế bào của vi khuẩn *S. aureus* và *E. coli* do gây ra sự khử phân cực của màng tế bào (Ren et al., 2019). Như vậy, dựa trên những nghiên cứu trước đây có thể giải thích rằng, khả năng kháng khuẩn của các cao chiết cây Sô Trai không chỉ phụ thuộc vào hàm lượng polyphenol và flavonoid mà còn phụ thuộc chính vào thành phần polyphenol, flavonoid có trong cao chiết.



Hình 2. Kết quả giá trị nồng độ ức chế tối thiểu MIC của các cao chiết cây Sô Trai

Ghi chú: (A) Các cao chiết vỏ thân Sô Trai; (B) Các cao chiết lá Sô Trai; (C) Các cao chiết trái Sô Trai; (D) Các cao chiết gỗ Sô Trai. Từ 1 đến 8 tương ứng với nồng độ cao chiết là 0, 80, 160, 320, 640, 1280, 2560, 5120 µg/mL.

4. KẾT LUẬN

Tóm lại, nghiên cứu này chỉ ra rằng thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết cây Sô Trai chịu ảnh hưởng đáng kể bởi các dung môi được dùng để chiết xuất. Trong số đó, các cao chiết ethyl acetate cho thấy hoạt động kháng khuẩn mạnh hơn hầu hết các cao chiết khác. Trong đó, cao chiết ethyl acetate lá Sô Trai cho hoạt tính kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* mạnh nhất, với đường kính vòng kháng khuẩn tạo thành tại nồng độ cao

chiết 640 µg/mL đạt $2,33 \pm 0,58$ mm, giá trị MIC và MBC lần lượt là $320 < \text{MBC} \leq 640$ µg/mL, và $2560 < \text{MBC} \leq 5120$. Kết quả nghiên cứu cho thấy cây Sô Trai rất có tiềm năng trong việc phòng và điều trị bệnh do vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Nghiên cứu làm cơ sở định hướng cho việc phát triển chế phẩm sinh học từ cây Sô Trai trong điều trị bệnh trên tôm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Berahou, A., Auhmani, A., Fdil, N., Benharref A., Jana M., & Gadhi C. A. (2007). Antibacterial

- activity of *Quercus ilex* bark's extracts. *Journal of Ethnopharmacol*, 112(3), 426-9.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.03.032>
- Biswas, S. K., Chowdhury, A., Raihan, S. Z., Muhiat M. A., Akbar M. A., & Mowla R. (2012). Phytochemical investigation with assessment of cytotoxicity and antibacterial activities of chloroform extract of the leaves of *Kalanchoe pinnata*. *American Journal of Plant Physiology*, 7(1), 41-46.
<https://doi.org/10.3923/ajpp.2012.41.46>
- Chika, C. O., Jude, N. O., Ifeanyi, C. O., & Anyanwu, N. B. (2007). Antibacterial activities and toxicological potentials of crude ethanolic extracts of *Euphorbia hirta*. *The Journal of American Science*, 3(3), 11-16.
- Dy, P.(2000). *Dictionary of plants used in Cambodia*. Imprimerie Olympic Hor Thim, Sangkat Olympic, Khan Chamcar Mon, Phnom Penh, Cambodia. 1-15.
- Đái Thị Xuân Trang, Trần Chí Linh, Nguyễn Thanh Nhị, Phan Kim Định, Trần Thanh Mến, & Nguyễn Trọng Tuấn. (2018). Khảo sát hoạt tính sinh học của cao chiết lá cây vọng cách (*Premna serratifolia* (L.)). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 54(9A): 46-52.
- Emiru, Y. K., Siraj, E. A., Teklehaimanot, T. T., & Amare, G. G. (2019). Antibacterial potential of *Aloe weloensis* (Aloeaceae) leaf latex against Gram-Positive and Gram-Negative bacteria strains. *International Journal of Microbiology*, 1-4.
- Fujino, T., Okuno, Y., Nakada, D., Aoyama, A., Fukai, K., Mukai, T., & Ueho, T. (1953). On the bacteriological examination of shirasu-food poisoning. *Medical Journal of Osaka University*, 4(2/3), 299-304.
- Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, 18(1), 241-272.
- Hamid, H.A., Mutazah, R., Yusoff, M. M., Karim, N. A. A., & Razis, A. F. A. (2016). Comparative analysis of antioxidant and antiproliferative activities of *Rhodomyrtus tomentosa* extracts prepared with various solvents. *Food and Chemical Toxicology*, 158, 451-457.
- Jun, J. W., Kim, J. H., Choresca, C. H., Sang, P., Han, J. E., Han, S. Y., Chai, J. Y., & Park, S. C. (2012). Isolation, Molecular Characterization, and Antibiotic Susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* in Korean Seafood. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9(3), 224-231. <https://doi.org/10.1089/fpd.2011.1018>
- Letchumanan, V., Chan, K. G., & Lee, L. H. (2014). *Vibrio parahaemolyticus*: A review on the pathogenesis, prevalence, and advance molecular identification techniques. *Frontiers in Microbiology*, 5, 750.
- Lương Thị Mỹ Ngân, Nguyễn Thị Thùy Linh, Nguyễn Ngọc Quý, Phạm Thị Ngọc Huyền, Trương Thị Huỳnh Hoa, Trần Trung Hiếu, & Phạm Thành Hồ. (2016). Nghiên cứu hoạt tính kháng *Staphylococcus aureus* và *Klebsiella pneumoniae* của cao chiết lá dâm bụt (*Hibiscus rosa-sinensis* L.). *Science & Technology Development*, 19(T5-2016), 84-94.
- Miao, J., Li, X., Fan, Y., Zhao, C., Mao, X., Chen, X., Huang, H., & Gao, W. (2016). Effect of different solvents on the chemical composition, antioxidant activity and alpha-glucosidase inhibitory activity of hawthorn extracts. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(5), 1244-1251.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.13076>
- 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.
- Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., Nicorescu, V., & Stefan, G. (2017). Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of eat and meat products: Classification, structures, sources, and action mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(6): 1243-1268.
- Ren, X. Y., An, P. P., Zhai, X., Wang, S., & Kong, Q. J. (2019). The antibacterial mechanism of pterostilbene derived from xinjiang wine grape: A novel apoptosis inducer in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 101, 100-106.
- Rojas, M. V. R., Matté, M. H., Dropa, M., Silva, M. L. Da, & Matté, G. R. (2011). Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from oysters and mussels in São Paulo, Brazil. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 53(4), 201-205.
- Romero, J., Gloria, C., & Navarrete, P. (2012). *Antibiotics in Aquaculture – Use, Abuse and Alternatives*. In Health and Environment in Aquaculture. InTech.
<https://doi.org/10.5772/28157>.
- Shah, S.R., Ukaegbu, C.I., Hamid, H.A., & Alara, O.R. (2018). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of the stems of *Flammulina velutipes* and *Hypsizygus tessellatus* (White and Brown Var.) extracted with different solvents. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 1947-1961.
- Singleton, V. L., Orthofer, R. M., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*, 299, 152-178.

- Soeurn, S., Srey, P., Lay, P., Heng, S. L., Sovan, C., Chea, S., & Keo, S. (2018). Phytochemical and Thin Layer Chromatography Analyses of *Dillenia ovata* Wall . ex Hook . f . & Thomson Barks Native to Cambodia. *Asian Journal of Pharmacognosy*, 2(2), 11-19.
- Soto-Rodriguez, S. A., Gomez-Gil, B., Lozano-Olvera, R., Betancourt-Lozano M., Morales-Covarrubias M. S. (2015). Field and experimental evidence of *Vibrio parahaemolyticus* as the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease of cultured shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Northwestern Mexico. *Applied And Environmental Microbiology*, 81(5), 1689-1699. <https://doi.org/10.1128/AEM.03610-14>
- Sultana, B., Anwar, F., & Przybylski, R. (2007). Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, and *Eugenia jambolana* Lam. trees. *Food Chemistry*, 104, 1106–1114.
- Swee, L., Erin, H., Mun, P. P., Ling, N., Ping, O. C., Jie, S., Ying, N. S., Buru, A. S., & Pichika, M. R. (2013). Evaluation of four extracts from *Dillenia ovata* stem bark and leaves for antibacterial and antifungal activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(3), 471-474.
- Taguri, T., Tanaka, T., & Kouno, I. (2006). Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(11), 2226-2235.
- Tran, L., Nunan, L., Redman, R. M., Mohnney L. L., Pantoja C. R., Fitzsimmons K., & Lightner D. V. (2013). Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*, 105(1), 45-55.
- Yi, S., Wang, W., Bai, F., Zhu J., Li J., Li X., Xu Y., Sun T., & He Y. (2013). Antimicrobial effect and membrane-active mechanism of tea polyphenols against *Serratia marcescens*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(2), 451-460.
- Yusop, Z., Alitheen, N., Rahim, R., Yeap, S., Marlina, Son, R., & Nishibuchi, M. (2009). Antibiotic resistance and plasmid profiling of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from cockles in Padang, Indonesia. *International Food Research Journal*, 16, 53-58.
- Zhang, L. L., Zhang, L. F., & Xu, J. G. (2020). Chemical composition, antibacterial activity and action mechanism of different extracts from hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge.). *Scientific Reports*, 10(1), 1-13.