

HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA VÀ KHÁNG KHUẨN CỦA DỊCH LÊN MEN TỪ NGHỆ TRẮNG (*Curcuma aromatica* Salisb.)

Giang Cẩm Tú¹, Phạm Hoàng Ngọc Linh², Lê Thanh Khang^{3*}

¹Viện Kỹ thuật Công nghệ cao NTT, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Viện Ứng dụng Công nghệ và Phát triển bền vững, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

³Trường Đại học Quy Nhơn

TÓM TẮT

Nghệ trắng (*Curcuma Aromatica* Salisb.) là một loại dược liệu quý với nhiều công dụng đã được chứng minh, bao gồm các hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kháng viêm, kháng ung thư... Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn của dịch lên men củ nghệ trắng thu hái từ tự nhiên ở tỉnh Quảng Nam. Dịch lên men nghệ trắng từ công thức dân gian có hoạt tính kháng oxy hóa nhờ khả năng ức chế các gốc tự do (IC₅₀). Ngoài ra, dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian còn có hoạt tính kháng khuẩn mạnh đối với ba dòng vi khuẩn gây bệnh: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* ATCC 14028 và *Streptococcus pyogenes* ATCC sau 24 giờ nuôi cấy. Vòng vô khuẩn sau 15 ngày lên men nghệ trắng theo công thức dân gian với các dòng vi khuẩn thử nghiệm *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* ATCC 14028 và *Streptococcus pyogenes* ATCC lần lượt đạt 14, 10 và 11,7 mm. Kết quả bước đầu cho thấy nghệ trắng là nguồn nguyên liệu tiềm năng để phát triển các sản phẩm từ dược liệu ở Việt Nam.

Từ khóa: *Curcuma aromatica* Salisb., dịch lên men, kháng khuẩn, kháng oxy hóa

MỞ ĐẦU

Quá trình oxy hóa tế bào là quá trình cần thiết của cơ thể sống và giúp cung cấp năng lượng cho các hoạt động của tế bào. Khi chất dinh dưỡng bị oxy hóa, các electron được chuyển sang oxy, tạo thành chuỗi vận chuyển điện tử cho phép hình thành ATP. Sự chuyển điện tử tạo ra các gốc tự do chứa oxy (ROS) hoặc các gốc tự do chứa nitơ (RNS). ROS đóng vai trò bảo vệ chống lại sự xâm nhập của các vi sinh vật ngoại sinh. Khi quá trình oxy hóa tế bào xảy ra ở nồng độ cao sẽ tạo thành cơ chế phá hủy tế bào của mọi sinh vật sống. Vì vậy, cơ thể có cơ chế bảo vệ chống lại quá trình oxy hóa quá mức và các hệ thống enzyme như metalloenzyme đóng vai trò quan trọng trong quá trình kháng oxy hóa. Một số chất nội sinh cần thiết cho hoạt động của enzyme tạo thành một phần của quá trình kháng oxy hóa như glutathione có tính khử tạo nên hệ thống bảo vệ được gọi là hệ thống bảo vệ glutathione. Hệ thống kháng oxy hóa *in vivo* rất phức tạp và bị ảnh hưởng bởi sự tổng hợp các chất nội sinh và sự hấp thụ các chất kháng oxy hóa ngoại sinh (Hossain, Rahman, 2011; Ghasemzadeh, 2012). Lên men là quá trình giúp phân hủy các phân tử hữu cơ lớn thông qua hoạt động của vi sinh vật thành các phân tử đơn giản hơn như enzyme nấm men chuyển hóa đường và tinh bột thành rượu, trong khi protein được chuyển đổi thành peptide/amino acid. Hoạt động của vi sinh vật hoặc enzyme lên các thành phần thực phẩm dẫn đến những thay đổi sinh hóa mong muốn, tạo ra những biến đổi đáng kể. Lên men là một cách tự nhiên giúp cải thiện vitamin, amino acid thiết yếu, protein, hương vị và tăng cường mùi thơm (Sharma *et al.*, 2020).

Nghệ trắng hay còn gọi là nghệ rừng hay ngải cứu trắng (*Curcuma aromatica* Salisb.), là một loài của chi *Curcuma* và thuộc họ gừng (Zingiberaceae), phân bố ở một số nước bao gồm Ấn Độ, Sri Lanka, Trung Quốc, Myanmar, Thái Lan, Campuchia và Việt Nam (Nguyễn Quốc Bình, 2017). Nghệ trắng là một dược liệu thường được sử dụng trong nhiều bài thuốc dân gian để điều trị rối loạn tiêu hóa, đau khớp, viêm nhiễm, nhiễm trùng da và côn trùng cắn. Nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của nghệ trắng đã cho thấy đây là một dược liệu quý với nhiều công dụng. Thân rễ là bộ phận được sử dụng phổ biến nhất của cây nghệ trắng để làm dược liệu. Bằng cách chiết xuất thân rễ củ nghệ trắng bằng dung môi ethyl acetate đã xác định được các hợp chất như germanacron, curdion, dehydrocurdione, furanodienone, zederone, cruiserenone, curzeon, comosone II, gwaycurculactone, curcumenol... (Aknarin *et al.*, 2020). Các hoạt chất có trong nghệ trắng đã được xác nhận có hoạt tính kháng ung thư, kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng ho, giảm đau, chữa lành vết thương... (Neerja *et al.*, 2013; Revathi, Malathy, 2013; Nura *et al.*, 2020). Năm 2020, Đái Thị Xuân Trang và đồng tác giả đã thực hiện 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*), ngải vàng (*Hedychium coronarium*), riềng rừng (*Alpinia conchigera*), dái khoai (*Dioscorea bulbifera*), từ mỏng (*D. membranacea*), củ nân (*D. hispida*) và củ trâu (*D. pentaphylla*). 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, 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 hóa có giá trị, có thể ứng dụng trong cả ngành dược và thuốc bảo vệ thực vật (Đái Thị Xuân Trang *et al.*, 2020). Vào năm 2003, Braga và đồng tác giả đã thực hiện so sánh năng suất, thành phần và hoạt tính kháng oxy hóa của các chất chiết xuất từ củ nghệ (*Curcuma longa* L.) thu được bằng các kỹ thuật khác nhau. Chiết xuất củ nghệ thu được từ hai lô nguyên liệu thô bằng các kỹ thuật khác nhau: chưng cất thủy phân, chiết xuất dung môi áp suất thấp, Soxhlet và chiết xuất bằng cách sử dụng carbon dioxide và cosolvents. Các dung môi và cosolvents được thử nghiệm là ethanol, rượu isopropyl và hỗn hợp của các dung môi theo tỷ lệ bằng nhau. Thành phần của các chất chiết xuất được xác định bằng sắc ký khí phát hiện ion hóa ngọn lửa (GC-FID) và UV. Lượng curcuminoid tối đa (8,43 %) thu được bằng chiết xuất Soxhlet (ethanol/isopropyl alcohol). Soxhlet và chiết xuất áp suất thấp thể hiện các hoạt tính kháng oxy hóa mạnh nhất (Braga *et al.*, 2003). Dù có nhiều hoạt tính quý giá có lợi cho sức khỏe con người, trong dân gian có khá nhiều bài thuốc từ nghệ, cũng như đã có khá nhiều nghiên cứu về nghệ trắng để ứng dụng trong thực tiễn; tuy nhiên, việc nghiên cứu hiệu quả của các sản phẩm lên men từ nghệ trắng vẫn còn hạn chế. Cho nên, đề tài này với mục đích khảo sát hiệu quả kháng oxy hóa và kháng khuẩn của thành phần trong củ nghệ tươi và các dịch lên men từ nghệ trắng nhằm góp phần phát triển và ứng dụng vào thực tiễn đời sống, bảo vệ sức khỏe của con người.

NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Nghệ trắng tươi được thu mua tại QNA Farm tại địa chỉ xã Tiên Ngọc, huyện Tiên Phước, tỉnh Quảng Nam. Nghệ trắng sau khi thu mua được bảo quản ở nhiệt độ phòng nhằm đảm bảo chất lượng phục vụ cho quá trình nghiên cứu. Dòng vi khuẩn sử dụng trong thử nghiệm: *Escherichia coli* ATCC 25922; *Salmonella enterica* ATCC 14028; *Staphylococcus aureus* kháng kháng sinh (MRSA) ATCC 43300; *Streptococcus pneumoniae* ATCC; *Streptococcus pyogenes* ATCC và *Vibrio cholerae* từ bộ sưu tập vi khuẩn của Nhóm nghiên cứu Vi sinh vật nông nghiệp, Viện Kỹ thuật Công nghệ cao NTT, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành.

Ly trích và lên men nghệ trắng

Dịch chiết nghệ trắng: Nghệ trắng tươi sau khi thu về được rửa sạch để xử lý sơ bộ, bỏ vỏ và các bó mạch bên ngoài, chỉ lấy phần lõi, sau đó được xay lấy nước, lọc qua giấy lọc để thu phần nước, bảo quản trong chai vô trùng có nắp kín và bên ngoài được bọc giấy bạc.

Dịch lên men tự nhiên nghệ trắng: Nghệ trắng tươi sau khi thu về được rửa sạch để xử lý sơ bộ, bỏ vỏ để loại bỏ các vi sinh vật gây hại bên ngoài và chỉ lấy phần lõi. Tiến hành cắt lát mỏng, xếp vào bình vô trùng, bổ sung thêm đường theo tỷ lệ 1:1, đậy nắp kín và bên ngoài được bọc giấy bạc. Các bình lên men được bảo quản ở nhiệt độ phòng để nguyên liệu xảy ra quá trình lên men.

Dịch lên men tự nhiên nghệ trắng bổ sung vi khuẩn *Lactobacillus rhamnosus*: Nghệ trắng tươi sau khi thu về được rửa sạch để xử lý sơ bộ, bỏ vỏ để loại bỏ các vi sinh vật gây hại bên ngoài và chỉ lấy phần lõi. Tiến hành cắt lát mỏng, xếp vào bình vô trùng, bổ sung thêm đường theo tỷ lệ 1:1. Sau đó bổ sung 50 µL vi khuẩn *L. rhamnosus* và đậy nắp kín, bên ngoài được bọc giấy bạc. Các bình lên men được bảo quản ở nhiệt độ phòng để nguyên liệu xảy ra quá trình lên men (Jiahui *et al.*, 2019).

Dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian: Tỏi, nghệ trắng, gừng, củ hành tây tím và ớt chuông sau khi thu về được rửa sạch để xử lý sơ bộ, bỏ vỏ và cắt thành những lát nhỏ. Dùng máy ép nắm loại nguyên liệu trên để lấy nước nguyên chất. Trộn 2/3 thể tích nước ép và 1/3 thể tích giấm táo và khuấy đều, cho thêm 2 % muối (tính trên tổng thể tích nước ép và giấm táo), khuấy đều và cho vào chai thủy tinh vô trùng có nắp kín và bọc giấy bạc bên ngoài. Mỗi ngày lắc đều một đến hai lần trong một tuần đầu, sau đó để yên (theo công thức kháng sinh tự nhiên Mita).

Dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng được định lượng polyphenol, flavonoid, khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa và hoạt tính kháng khuẩn sau thời gian 0; 5, 10 và 15 ngày ủ.

Định lượng polyphenol tổng và flavonoid trong dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng

Định lượng polyphenol tổng: Thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của (Li *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2014; Petrillo *et al.*, 2016) có hiệu chỉnh. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lần lặp lại. Chất chuẩn để đối chứng là acid gallic nồng độ 0; 12,5; 25; 50 và 100 µg/mL. Pha thuốc thử Folin-Ciocalteu 10 % (pha với nước khử ion). Pha dung dịch Na₂CO₃ 10 % (pha với nước khử ion). Acid gallic chuẩn được pha thành dung dịch với dãy nồng độ 0; 12,5; 25; 50 và 100 µg/mL (pha với methanol). Bơm 250 µL dịch chiết hoặc các dịch lên men nghệ trắng, thêm 250 µL thuốc thử Folin-Ciocalteu 10 % và để phản ứng trong 5 phút (ủ tối). Sau đó thêm vào 250 µL dung dịch Na₂CO₃ 10 %. Sau 30 phút phản ứng (ủ tối) ở nhiệt độ 40°C, tiến hành xác định độ hấp phụ bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 765 nm. Dựa vào giá trị đo OD của các hợp chất thứ cấp thực vật ở bước sóng 765 nm. Thu nhận kết quả đo OD các mẫu dịch chiết hoặc các dịch lên men nghệ trắng và dựa vào phương

trình đường chuẩn của acid gallic $y = ax + b$ để tính toán hàm lượng polyphenol có trong mẫu dịch chiết hoặc các dịch lên men nghệ trắng theo công thức: Hàm lượng polyphenol tổng: $C = (c \cdot V)/m$. Trong đó: C: Hàm lượng polyphenol tổng (mg acid gallic/g mẫu); c: Giá trị (x) từ đường chuẩn với acid gallic ($\mu\text{g/mL}$); V: Thể tích dịch chiết hoặc các dịch lên men cho vào phản ứng (mL); m: Khối lượng mẫu có trong thể tích V (g).

Định lượng flavonoid tổng: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lần lặp lại. Chất chuẩn để đối chứng là quercetin nồng độ 0; 20; 40; 60; 80 và 100 $\mu\text{g/mL}$. Thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của (Ghasemzadeh, 2012; Petrillo *et al.*, 2016) có hiệu chỉnh. Dung dịch AlCl_3 10 % (pha với nước khử ion). Dung dịch CH_3COOK 1M (pha với nước khử ion). Pha quercetin trong ethanol thành dãy nồng độ 0; 20; 40; 60; 80 và 100 $\mu\text{g/mL}$. Bơm 0,5 mL dịch chiết hoặc các dịch lên men nghệ trắng cho vào ống nghiệm, thêm 1,5 mL methanol và 0,1 mL AlCl_3 10 % để phản ứng trong 5 phút. Cuối cùng cho thêm 0,1 mL CH_3COOK 1M và 2,8 mL nước khử ion rồi để ổn định ở nhiệt độ phòng trong 45 phút. Sau 45 phút, tiến hành đo OD ở bước sóng 415 nm. Dựa vào giá trị đo OD của mẫu ở bước sóng 415 nm. Thu nhận kết quả đo OD các mẫu dịch chiết hoặc các dịch lên men nghệ trắng và dựa vào phương trình đường chuẩn của quercetin để tính toán hàm lượng flavonoid tổng có trong mẫu theo công thức: Hàm lượng flavonoid tổng: $F = (c \cdot V)/m$. Trong đó: F: Hàm lượng flavonoid tổng (mg quercetin/g mẫu); c: Giá trị (x) từ đường chuẩn với chất chuẩn quercetin ($\mu\text{g/mL}$); V: Thể tích dịch chiết hoặc các dịch lên men cho vào phản ứng (mL); m: Khối lượng dịch chiết hoặc các dịch lên men có trong thể tích V (g).

Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng

Khảo sát hoạt tính khử DPPH: Thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của (Li *et al.*, 2014; Jovanović *et al.*, 2018) có hiệu chỉnh. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lần lặp lại. Chất chuẩn làm đối chứng là vitamin C. Lần lượt cho 500 μL dịch chiết hoặc các dịch lên men nghệ trắng vào ống nghiệm, tiếp tục thêm vào 500 μL DPPH 0,1 mM. Sau 60 phút ủ trong tối, tiến hành đo OD bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 517 nm. Dựa vào giá trị OD của vitamin C và dịch chiết hoặc các dịch lên men nghệ trắng ở bước sóng 517 nm, tính toán phần trăm chế ở các nồng độ khác nhau theo công thức: Hoạt tính khử DPPH được thể hiện qua giá trị phần trăm ức chế: Phần trăm ức chế (%) = $(A_0 - A)/A_0 \times 100$. Trong đó: A_0 : Giá trị đo OD của mẫu đối chứng; A: Giá trị đo OD của mẫu có chứa dịch chiết hoặc các dịch lên men nghệ trắng.

Khảo sát hoạt tính trung hòa gốc tự do ABTS: Hoạt tính kháng oxy hóa được xác định bằng phương pháp khử màu $\text{ABTS}^{+\cdot}$ (2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) mô tả bởi Nenadis và đồng tác giả (2004). $\text{ABTS}^{+\cdot}$ được tạo ra bởi phản ứng $\text{ABTS} + 7 \text{ mM}$ với 2,45 mM kali persulfate. Hỗn hợp được ủ trong 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. Tiến hành khảo sát bằng cách cho 100 μL dịch chiết hoặc các dịch lên men nghệ trắng cho phản ứng với ba mL $\text{ABTS}^{+\cdot}$ ở nhiệt độ 25 °C trong 30 phút. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm. Hiệu suất (%) = $100 \times (1 - Vt/Vc)$. Trong đó, Vt: Độ hấp thụ quang phổ của mẫu thử có chứa dịch chiết hoặc các dịch lên men nghệ trắng, Vc: Độ hấp thụ quang phổ của mẫu đối chứng âm (methanol).

Từ giá trị phần trăm ức chế ở các nồng độ của từng mẫu dịch chiết hoặc các dịch lên men nghệ trắng, tiến hành xây dựng đường chuẩn $y = ax + b$. Từ đó, tính giá trị IC_{50} (nồng độ dịch chiết hoặc các dịch lên men nghệ trắng mà tại đó ức chế 50%). Giá trị IC_{50} càng thấp mẫu dịch chiết hoặc các dịch lên men nghệ trắng sẽ có hoạt tính kháng oxy hóa càng cao và ngược lại.

Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng

Phương pháp khuếch tán giếng thạch được sử dụng để xác định đường kính vòng kháng khuẩn (Revathi, Malathy, 2013). Tiến hành nhỏ và trải đều 100 μL dịch vi khuẩn *Escherichia coli* ATCC 25922; *Salmonella enterica* ATCC 14028; *Staphylococcus aureus* kháng kháng sinh (MRSA) ATCC 43300; *Streptococcus pneumoniae* ATCC; *Streptococcus pyogenes* ATCC và *Vibrio cholerae* lên bề mặt môi trường MHA đặc (chiết thịt bò 2 g, sản phẩm phân giải casein bởi acid 17,5 g, tinh bột 1,5 g, agar 17 g, nước cất vừa đủ 1 lít) cần thử hoạt tính, sau đó đục các giếng với đường kính 6 mm trên đĩa thạch. Hút 50 μL dịch chiết hoặc các dịch lên men nghệ trắng trong thời gian 0; 5; 10 và 15 ngày lên men vào các giếng trên đĩa petri môi trường MHA vừa trải vi khuẩn *E. coli* ATCC 25922; *S. enterica* ATCC 14028; *S. aureus* MRSA ATCC 43300; *S. pneumoniae* ATCC; *S. pyogenes* ATCC và *V. cholerae*, ủ ở nhiệt độ 37°C trong 24 giờ. Khả năng kháng khuẩn được đánh giá qua đường kính vòng kháng khuẩn được tạo ra (đã trừ đường kính giếng thạch), đơn vị là mm sau 24 giờ ủ mẫu ở nhiệt độ 37°C.

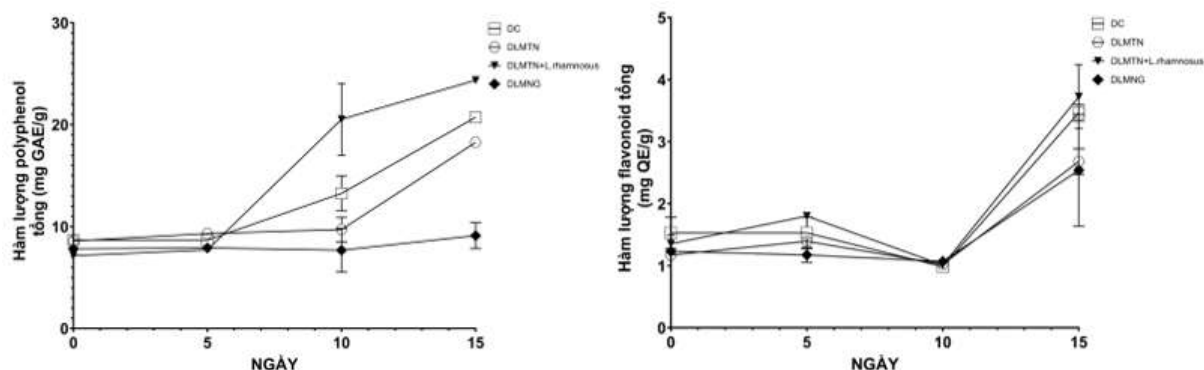
Thống kê phân tích số liệu

Kết quả được phân tích thống kê bằng phần mềm Minitab 16.0. So sánh giá trị trung bình giữa các mẫu thử sử dụng phép thử t-Student. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid trong dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng

Kết quả định lượng polyphenol tổng, flavonoid tổng trong dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng được thể hiện qua Hình 1. Các loại tế bào khác nhau hình thành nên các loại mô khác nhau từ đó cấu tạo nên các cơ quan, bộ phận khác nhau để thực hiện những chức năng sinh học khác nhau của thực vật.

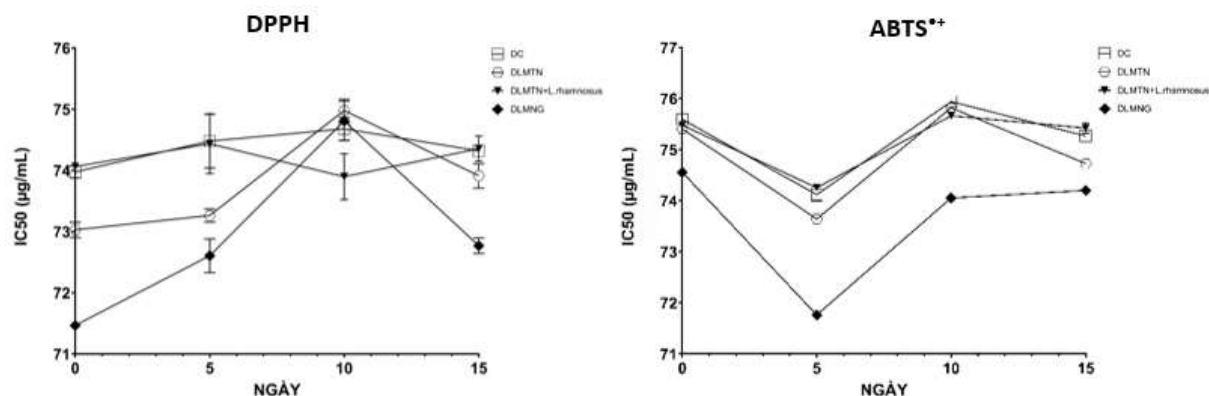


Hình 1. Hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid tổng trong dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng

Hoạt tính sinh học về kháng oxy hóa phụ thuộc nhiều vào hàm lượng polyphenol và flavonoid có trong dịch chiết và các dịch lên men (Hossain, Rahman, 2011; Ghasemzadeh, 2012; Neerja *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2014; Jovanović *et al.*, 2018; Aknarin *et al.*, 2020). Do đó, cần nghiên cứu xác định hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid tổng có trong các mẫu dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng. Kết quả Hình 1 cho thấy, tất cả các mẫu dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng có sự hiện diện của polyphenol tổng và flavonoid tổng số nhưng hàm lượng khác nhau giữa các mẫu dịch chiết nghệ trắng, dịch lên men tự nhiên nghệ trắng, dịch lên men tự nhiên nghệ trắng bổ sung vi khuẩn *L. rhamnosus* và dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian sau 15 ngày lên men, sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê. Khi xét về hàm lượng polyphenol thì mẫu dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng sau 15 ngày lên men xếp từ thấp lên cao như sau: Dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian → Dịch lên men tự nhiên nghệ trắng → Dịch chiết nghệ trắng và cao nhất là mẫu dịch lên men tự nhiên nghệ trắng bổ sung vi khuẩn *L. rhamnosus*. Hàm lượng polyphenol tổng trong dịch chiết nghệ trắng thu được là 20,71 mg GAE/g sau 15 ngày khá thấp so với kết quả của nghiên cứu của Đái Thị Xuân Trang và đồng tác giả năm 2020 là 44,87±0,14 mg GAE/g (Đái Thị Xuân Trang *et al.*, 2020). Hàm lượng polyphenol tổng trong mẫu dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian là thấp nhất so với các mẫu còn lại khi so sánh trong cùng một thời gian lên men. Tuy nhiên, thời gian lên men càng lâu thì hàm lượng polyphenol cũng tăng dần, từ 5,07 mg GAE/g lên tới ngày 15 đã là 9,11 mg GAE/g. Hàm lượng flavonoid cao nhất trong dịch lên men tự nhiên nghệ trắng bổ sung vi khuẩn *L. rhamnosus* (3,73 mg QE/g) và thấp nhất trong dịch lên men tự nhiên nghệ trắng theo công thức dân gian (2,54 mg QE/g) sau 15 ngày lên men, nhưng sau khi kiểm tra sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mẫu thì thấy rằng không có sự khác biệt về mặt thống kê ở các mẫu dịch lên men tự nhiên nghệ trắng, dịch lên men tự nhiên nghệ trắng bổ sung vi khuẩn *L. rhamnosus* và dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian. Hàm lượng flavonoid trong dịch lên men tự nhiên nghệ trắng bổ sung vi khuẩn *L. rhamnosus* nhiều gấp 1,5 – 1,6 so với mẫu dịch lên men tự nhiên nghệ trắng và dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian. Ở mẫu dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian, hàm lượng flavonoid giảm dần trong suốt thời gian lên men, thời gian lên men càng lâu, hàm lượng flavonoid tổng trong mẫu có xu hướng giảm từ 2,17 mg QE/g xuống còn 1,03 mg QE/g, tuy nhiên sự chênh lệch này không quá lớn.

Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng

Kết quả khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng ở xã Tiên Ngọc, huyện Tiên Phước, tỉnh Quảng Nam được thể hiện qua giá trị IC₅₀ (nồng độ ức chế 50 %) qua hoạt tính khử DPPH và ABTS^{•+} (Hình 2). Giá trị IC₅₀ càng thấp hoạt tính kháng oxy hóa càng mạnh và ngược lại.

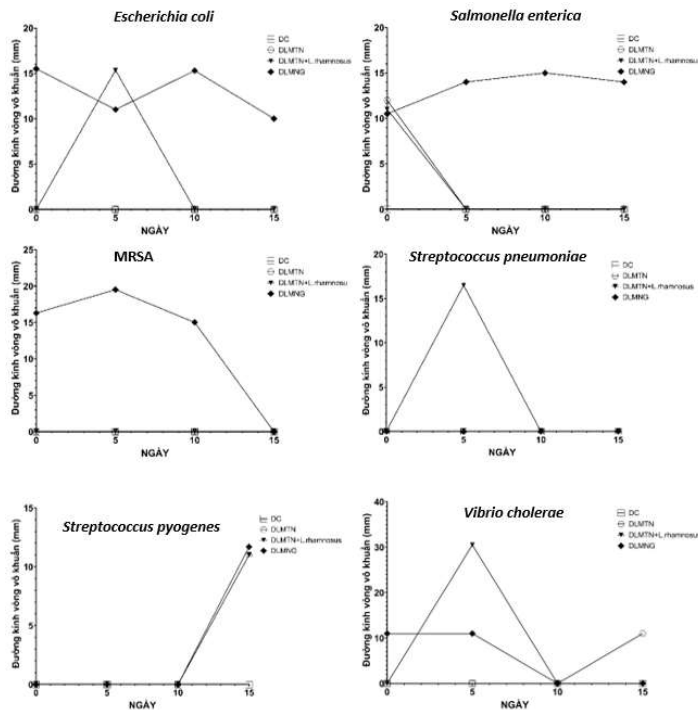


Hình 2. Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng

Tất cả các mẫu đều cho kết quả có hoạt tính kháng oxy hóa thông qua kết quả thử nghiệm khử gốc tự do DPPH. Tuy nhiên, dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian cho kết quả về hoạt tính kháng oxy hóa cao hơn các mẫu dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng khác sau 15 ngày lên men. Kết quả ở Hình 2 cho thấy, sau 15 ngày lên men, chỉ số IC₅₀ của dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian thấp nhất ($72,77 \pm 0,12$) $\mu\text{g/mL}$. Hoạt tính kháng oxy hóa thấp nhất là dịch lên men tự nhiên nghệ trắng bổ sung vi khuẩn *L. rhamnosus* với chỉ số IC₅₀ cao nhất $74,36 \pm 0,21$ $\mu\text{g/mL}$. Kết quả Hình 2 cho thấy hoạt tính chống oxy hóa của mẫu dịch chiết nghệ trắng và dịch lên men tự nhiên nghệ trắng bổ sung vi khuẩn *L. rhamnosus* gần như tương đương nhau và thấp hơn so với các mẫu còn lại sau 0, 5 và 15 ngày lên men. Kết quả nghiên cứu cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa cao hơn rất nhiều so với các mẫu còn lại. Nguyên nhân của kết quả là do sự cộng hưởng của hoạt tính kháng oxy hóa từ một số nguyên liệu được sử dụng lên men trong mẫu và hoạt tính sẽ dần giảm bởi phản ứng lên men (Nenadis *et al.*, 2004). ABTS^{•+} bị khử thành ABTS²⁻ (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6 sulfonic acid)), màu xanh nhạt dần do gốc tự do ABTS^{•+} nhận một điện tử hoặc H⁺ từ chất kháng oxy hóa trong dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng. Từ đó độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm cũng sẽ giảm dần. Có thể kết luận mẫu thử có hoạt tính trung hòa gốc tự do càng cao thì giá trị hấp thụ quang phổ càng thấp và ngược lại. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hoạt tính khử gốc tự do ABTS^{•+} của mẫu dịch chiết nghệ trắng gần như không chênh lệch so với các mẫu dịch lên men nghệ trắng tại các thời điểm khảo sát. Tuy nhiên, đến ngày lên men thứ 15, dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian có hoạt tính kháng oxy hóa cao hơn rất nhiều so với các mẫu còn lại. Nguyên nhân dẫn đến kết quả là do trong công thức của dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian có chứa khá nhiều các nguyên liệu có hoạt tính chống oxy hóa đã được chứng minh trong rất nhiều nghiên cứu trước đó (Dương Kim Thanh, Nguyễn Minh Thủy, 2016). Các flavonoid là nhóm hợp chất có khả năng tạo phức với các ion kim loại nên có tác dụng như những chất xúc tác ngăn cản các phản ứng oxy hóa (Aknarin *et al.*, 2020). Khi xét mối tương quan giữa thời gian lên men và hoạt tính kháng oxy hóa của các dịch lên men nghệ trắng cho thấy, hoạt tính khử gốc tự do của tất cả bốn mẫu có xu hướng giảm dần theo thời gian lên men. Nguyên nhân là do sản phẩm sinh ra trong quá trình lên men hoặc thậm chí là các vi sinh vật tham gia vào quá trình lên men làm ảnh hưởng đến hoạt tính khử gốc tự do của các chất có trong nguyên liệu ban đầu (Sharma *et al.*, 2020).

Hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng

Hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng được đánh giá dựa vào khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn thể hiện qua việc hình thành vòng vô khuẩn trên đĩa môi trường. Sáu mẫu vi khuẩn gây bệnh trên người được dùng để đánh giá trong thí nghiệm bao gồm *Escherichia coli* ATCC 25922; *Salmonella enterica* ATCC 14028; *Staphylococcus aureus* kháng kháng sinh (MRSA) ATCC 43300; *Streptococcus pneumoniae* ATCC; *Streptococcus pyogenes* ATCC và *Vibrio cholerae*. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng sáu dòng vi khuẩn gây bệnh trên người được thể hiện ở Hình 3.



Hình 3. Đường kính (mm) vòng vô khuẩn của dịch chiết và các dịch lên men nghệ trắng

Từ kết quả Hình 3 cho thấy, mẫu dịch chiết nghệ trắng không có hoạt tính kháng khuẩn đối với sáu dòng vi khuẩn *E. coli* ATCC 25922; *S. enterica* ATCC 14028; *S. aureus* kháng kháng sinh (MRSA) ATCC 43300; *S. pneumoniae* ATCC; *S. pyogenes* ATCC và *V. cholerae*. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dịch lên men tự nhiên nghệ trắng bổ sung vi khuẩn *L. rhamnosus* được khảo sát vào các ngày lên men 0; 5; 10 và 15 cho thấy: Ở ngày 0, vòng vô khuẩn xuất hiện ở đĩa thử nghiệm với vi khuẩn *S. enterica* ATCC 14028 với đường kính trung bình là 11 mm. Sau năm ngày lên men, vòng vô khuẩn xuất hiện tại mẫu vi khuẩn *E. coli* ATCC 25922, *S. pneumoniae* ATCC và *V. cholerae* với đường kính trung bình lần lượt là 15,34 mm, 16,5 mm và 30,52 mm. Sau 15 ngày lên men, vòng kháng khuẩn xuất hiện với vi khuẩn *S. pyogenes* ATCC, đường kính vòng vô khuẩn trung bình là 11 mm. Kết quả nghiên cứu cho thấy dịch lên men tự nhiên nghệ trắng bổ sung vi khuẩn *L. rhamnosus* chỉ có thể kháng được vi khuẩn *E. coli* ATCC 25922; *S. enterica* ATCC 14028; *S. pneumoniae* ATCC; *S. pyogenes* ATCC và *V. cholerae* trong số sáu dòng vi khuẩn được thử nghiệm. Mẫu dịch lên men tự nhiên nghệ trắng chỉ xuất hiện vòng vô khuẩn với dòng vi khuẩn *S. enterica* ATCC 14028 ở ngày lên men 0 với đường kính trung bình là 12 mm. Sau 15 ngày lên men, vòng vô khuẩn xuất hiện với mẫu vi khuẩn *S. pyogenes* ATCC đường kính trung bình là 11 mm. Kết quả của nghiên cứu cho thấy, mẫu dịch lên men tự nhiên nghệ trắng có khả năng kháng khuẩn kém so với mẫu dịch lên men tự nhiên nghệ trắng bổ sung vi khuẩn *L. rhamnosus*. Mẫu dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian, vòng vô khuẩn xuất hiện trong cả bốn thời điểm khảo sát. Riêng đối với mẫu dịch chiết nghệ trắng, do quá trình thu dịch chiết được thực hiện với nguyên liệu tươi mà không qua quá trình ngâm với các dung môi, vì vậy đó là nguyên nhân dẫn đến các hoạt chất bên trong củ nghệ chưa thực sự được ly trích hoàn toàn, làm ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm hoạt tính của nguyên liệu. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn đối với dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian cho hoạt tính kháng với 5/6 dòng vi khuẩn được thử nghiệm với đường kính vòng vô khuẩn lớn hơn so với các mẫu còn lại. Kết quả nghiên cứu tương đồng với kết quả nghiên cứu của Hà Thị Dung và đồng tác giả khi đánh giá một số hoạt tính sinh học của dịch chiết Nghệ trắng (*C. aromatica* Salisb.) thu thập tại Yên Bái trong năm 2022. Tại nghiên cứu của Hà Thị Dung và đồng tác giả, dịch chiết Nghệ trắng cho ra kết quả kháng khuẩn yếu so với vi khuẩn *S. aureus* VTCC12275 và *E. coli* VTCC12272 và không có hoạt tính kháng khuẩn so với mẫu vi khuẩn *S. lentus* ATCC29070. (Hà Thị Dung *et al.*, 2022). Nguyên nhân là do dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian có thành phần khá đa dạng và trong số các thành phần đó có một vài nguyên liệu (ví dụ như tỏi) đã được chứng minh là có hoạt tính kháng khuẩn từ các nghiên cứu trước (Dương Kim Thanh, Nguyễn Minh Thủy, 2016).

KẾT LUẬN

Kết quả thu được từ mẫu dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian cho thấy trong dịch lên men có chứa nồng độ polyphenol cao và tăng theo thời gian lên men. Tuy nhiên, nồng độ flavonoid trong dịch lên men thấp hơn so với các mẫu còn lại. Hoạt tính kháng oxy hoá theo phương pháp bắt gốc tự do DPPH và ABTS⁺ trong dịch lên men theo công thức dân gian là cao nhất và có dấu hiệu giảm dần theo thời gian. Về hoạt tính kháng khuẩn, mẫu dịch lên men nghệ trắng theo công thức dân gian xuất hiện nhiều vòng vô khuẩn với đường kính tương đối cao với 5/6 dòng vi khuẩn được thử nghiệm. Từ đó có thể thấy đây là mẫu có hoạt tính kháng oxy hoá cũng như kháng khuẩn cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aknarin P, Wisanu M, Emilie L, Emmy T, Maria ES, Luc P, Wim VB, Tawanun S, Suwanna D, Surat L (2020). *In vitro* antiinflammatory, antioxidant, and cytotoxic activities of four curcuma species and the isolation of compounds from *Curcuma aromatica* rhizome. *Biomolecules*, 10(5).
- Braga, Mara EM, Patricia FL, João EC, Angela AM (2003). Comparison of yield, composition, and antioxidant activity of Turmeric (*Curcuma Longa* L.) extracts obtained using various techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22).
- Dương Kim Thanh, Nguyễn Minh Thủy (2016). Ảnh hưởng của phương pháp tiền xử lý đến các hợp chất có hoạt tính sinh học và khả năng loại trừ gốc tự do trong tỏi. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* CĐ Nông nghiệp, Số chuyên đề: Nông nghiệp (Tập 1): 25-32.
- Đái Thị Xuân Trang, Phùng Thị Hằng, Trần Chí Linh, Phạm Khánh Nguyên Huân (2020). Hoạt tính kháng oxy hóa và kháng nấm của một số cao chiết thực vật thuộc họ gừng (Zingiberaceae) và họ Củ Nâu (Dioscoreaceae). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, Tập 56, Số 5: 52 – 59.
- Ghasemzadeh A (2012). Flavonoid compounds and their antioxidant activity in extract of some tropical plants. *Journal of Medicinal Plants Research* 6(13): 2639 – 2643.
- Hà Thị Dung, Phan Xuân Bình Minh, Trần Bảo Trâm, Nguyễn Phương Lan, Vũ Xuân Tạo, Nguyễn Minh Nam (2022). Đánh giá một số hoạt tính sinh học của dịch chiết Nghệ trắng (*Curcuma Aromatica* Salisb.) thu thập tại Yên Bái. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, Tập 64, Số 10 ĐB.
- Hossain MA, Rahman SMM (2011). Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. *Food Research International* 44(3): 672 – 676.
- Jovanović M, Milutinović M, Kostić M, Miladinović B, Kitić N, Branković S, Kitić D (2018). Antioxidant capacity of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) extracts and juice. *Lekovite Sirovine* 38(38): 27 – 30.
- Jiahui S, Hongyu C, Yali Q, Gefei L, Cong L, Yanjiao Z, Xuepeng L, Zhen F (2019). The nutrient requirements of *Lactobacillus rhamnosus* GG and their application to fermented milk. *Journal of Dairy Science* 102(7): 5971 – 5978.

- Li T, Shen P, Liu W, Liu C, Liang R, Yan N, & Chen J (2014). Major polyphenolics in pineapple peels and their antioxidant interactions. *International Journal of Food Properties* 17(8): 1805 – 1817.
- Neerja P, Himanshu M, Jain DC (2013). Phytochemical investigation of ethyl acetate extract from *Curcuma aromatica* Salisb. *Arabian Journal Chemistry* 6(3): .279 – 283.
- Nenadis N, Wang LF, Tsimidou M, Zhang HY (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS^{•+} assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(15): 4669 – 4674.
- Nguyễn Quốc Bình (2017). Họ Gừng - Zingiberaceae Lindl. *Thực vật chí Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học Tự nhiên và Công nghệ: 259 – 260.
- Nura MU, Thaigarajan P, Nafiu A, Seok MT (2020). Phytochemical and pharmacological properties of *Curcuma aromatica* Salisb. (wild turmeric). *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 10(10): 180 – 194.
- Petrillo AD, González-Paramás AM, Era B, Medda R, Pintus F, Santos-Buelga C, Fais A (2016). Tyrosinase inhibition and antioxidant properties of *Asphodelus microcarpus* extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 16(1): 1 – 9.
- Revathi S, Malathy NS (2013). Antibacterial activity of rhizome of *Curcuma aromatica* and partial purification of active compounds. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 75(6): 732 – 735.
- Sharma, Ranjana, Prakrati G, Pradeep K, Shashi KB, Saurabh K (2020). Microbial fermentation and its role in quality improvement of fermented foods. *Fermentation* 6(4): 106.
- Zhou D, Li L, Wu Y, Fan J, Ouyang J (2014). Salicylic acid inhibits enzymatic browning of fresh-cut Chinese chestnut (*Castanea mollissima*) by competitively inhibiting polyphenol oxidase. *Food Chemistry* 171: 19 – 25.

ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF FERMENTATION OF *Curcuma aromatica* Salisb.

Giang Cam Tu¹, Pham Hoang Ngoc Linh², Le Thanh Khang^{3*}

¹NTT Hi-Tech Institute, Nguyen Tat Thanh University

²Institute of Technology Application and Sustainable Development, Nguyen Tat Thanh University

³Quy Nhon University

SUMMARY

Curcuma aromatica Salisb. is a priceless medicinal herb with well established applications, including antibacterial, antioxidant, antiinflammatory, and anticancer properties. The purpose of this study is to assess the antioxidant and antibacterial properties of fermentation extracts from the rhizome of *C. aromatica* Salisb. that was harvested in the province of Quang Nam. The extracts' capacity to scavenge free radicals (IC₅₀) further demonstrated their antioxidant activity. In addition, the findings demonstrated that, following a 24 hours culture period, the ferment containing extracts from *C. aromatica* Salisb. exhibited potent antibacterial activity against three strains of *Salmonella enterica* ATCC 14028, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Streptococcus pyogenes* ATCC. After 15 days of fermentation, the traditional formula for *C. aromatica* Salisb. achieved inhibitory zones of 14, 10, and 11.7 mm against the test strains *E. coli* ATCC 25922, *S. enterica* ATCC 14028, and *S. pyogenes* ATCC, respectively. According to preliminary research, *C. aromatica* Salisb. may be used as a medicinal herb in Vietnam to create pharmaceuticals.

Keywords: Antibacterial, antioxidant, *Curcuma aromatica* Salisb., extract.

* Author for correspondence: Tel: + 84-37.676.0102; Email: lethanhkhang@qnu.edu.vn