

ẢNH HƯỞNG CỦA DỊCH CHIẾT NẤM MEN LÊN KHẢ NĂNG TÍCH LŨY CURCUMIN CỦA TẾ BÀO NGHỆ ĐEN (*CURCUMA ZEDOARIA ROSCOE*)

Trần Vũ Ngọc Thi

Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Huế

Email: cengocthi@gmail.com

TÓM TẮT

Nuôi cấy tế bào huyền phù cây nghệ đen có bổ sung chất kích kháng là biện pháp có nhiều triển vọng trong việc tăng hiệu quả sản xuất curcumin. Kết quả nghiên cứu bước đầu cho thấy tế bào nghệ đen sinh trưởng trong bình nuôi cấy huyền phù 250 mL đạt sinh khối cực đại sau 14 ngày nuôi cấy tăng 2,74 lần so với ban đầu. Dịch chiết nấm men nồng độ từ 0,5-4,0 g/L có tác dụng ức chế sự tích lũy sinh khối của tế bào nghệ đen nuôi cấy huyền phù trong bình 250 mL. Sinh khối khô thấp nhất tại nồng độ 4,0 g/L chỉ đạt 6,2 g tươi (0,51 g khô), giảm 29,17% so với đối chứng. Hàm lượng curcumin tăng dần khi bổ sung từ 0,5-1,0 g/L dịch chiết nấm men vào môi trường nuôi cấy. Hàm lượng curcumin tích lũy cao nhất tại nồng độ dịch chiết nấm men là 1,0 g/L, đạt 31,69 $\mu\text{g/g}$ khô, tăng 32,04 % so với đối chứng. Ở các nồng độ cao hơn 1,0 g/L, hàm lượng curcumin giảm dần.

Từ khóa: Curcumin, nghệ đen, chất kích kháng, tế bào huyền phù.

1. MỞ ĐẦU

Sử dụng các dược liệu có nguồn gốc thực vật để chữa bệnh đã được ứng dụng rộng rãi từ lâu ở nhiều nơi trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Mặc dù ngày nay nền công nghiệp hóa dược phát triển mạnh nhưng giá trị của các dược liệu có nguồn gốc thực vật vẫn được nhiều nhà khoa học quan tâm. Tuy nhiên, do tác động của nhiều yếu tố khác nhau mà nơi sống tự nhiên của cây thuốc ngày càng bị thu hẹp. Việc đảm bảo nguồn nguyên liệu để tách chiết các hợp chất thứ cấp dùng trong dược phẩm ngày càng khó khăn. Điều này đặt ra cho các nhà khoa học và nhà sản xuất nhiệm vụ tìm kiếm giải pháp để cung cấp nguyên liệu cho nguồn dược phẩm này. Công nghệ nuôi cấy tế bào thực vật đang phát triển mạnh và trở thành phương thức hữu hiệu để giải quyết vấn đề trên.

Bằng nuôi cấy tế bào thực vật có thể sản xuất các hợp chất có giá trị dùng làm dược liệu, gia vị, hương liệu, màu nhuộm... mà những chất này không thể sản xuất từ các tế bào vi sinh vật hoặc tổng hợp bằng con đường hóa học. Nuôi cấy tế bào thực vật để sản xuất các hợp chất thứ cấp có thể đạt được bằng con đường nuôi cấy callus, nuôi cấy tế bào huyền phù trong bình tam giác trên máy lắc [1]. Nuôi cấy tế bào huyền phù có bổ sung chất kích kháng thực vật là một trong những biện pháp làm tăng hiệu suất tổng hợp các hoạt chất sinh học trong tế bào, tăng hàm lượng hoạt chất sinh học cao, rút ngắn thời gian và giảm chi phí sản xuất so với thu từ cây ngoài tự nhiên. Các chất kích kháng thường được sử dụng trong các nghiên cứu này là methyl jasmonate, acid

salicylic, dịch chiết nấm men, ethrel... [6].

Cây nghệ đen (*Curcuma zedoaria* Roscoe) là một loài thân thảo được trồng phổ biến ở nhiều nước châu Á. Ở Việt Nam, thường gặp nghệ đen mọc tự nhiên ở nhiều địa phương miền núi và trung du phía Bắc (Hà Giang, Lào Cai, Yên Bái...) và một số tỉnh miền Trung [2].

Từ xưa, nghệ đen được dùng như một loại dược liệu có giá trị cao để chữa nhiều bệnh như đau dạ dày, điều kinh, nôn mửa, tích máu tử cung [2]... Curcumin là một trong những hoạt chất sinh học chính của nghệ đen. Curcumin có tác dụng chống đông máu và hạ huyết áp, sodium curcuminat có tác dụng chống co thắt ruột, curcuminoides và secquiterpen có tác dụng chống viêm nhiễm. Ngoài ra, curcumin còn có khả năng chống oxy hóa bảo vệ tế bào, kìm hãm sự phát sinh khối u và một số dạng ung thư ở chuột như ung thư ruột kết, ung thư dạ dày, ung thư vú và ung thư buồng trứng, và ngoài ra nó còn có tác dụng kháng khuẩn [4].

Việc thu hồi các hoạt chất từ nghệ đen ngoài thiên nhiên gặp nhiều trở ngại do nó là loài có hệ số nhân thấp và chịu nhiều tác động như điều kiện tự nhiên không thuận lợi, thời gian cây đến tuổi thu hoạch dài, năng suất phụ thuộc vào mùa vụ, chi phí công lao động ngày càng tăng.... Vì vậy, nghiên cứu nuôi cấy tế bào huyền phù cây nghệ đen có bổ sung chất kích kháng nhằm tăng hiệu suất thu hồi các hoạt chất sinh học có trong tế bào nghệ đen là cần thiết và có ý nghĩa. Tuy nhiên, cho đến nay chưa có nghiên cứu nào đề cập đến ảnh hưởng của việc bổ sung chất kích kháng thực vật lên khả năng tích lũy curcumin trên đối tượng tế bào nghệ đen. Xuất phát từ cơ sở trên, trong khuôn khổ bài báo này chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu **“Ảnh hưởng của dịch chiết nấm men lên khả năng tích lũy curcumin của tế bào nghệ đen (*Curcuma zedoaria* Roscoe)”** để làm cơ sở khoa học cho việc sản xuất có hiệu quả curcumin bằng phương pháp nuôi cấy tế bào huyền phù, góp phần định hướng cho việc sản xuất hoạt chất này trong thực tế.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

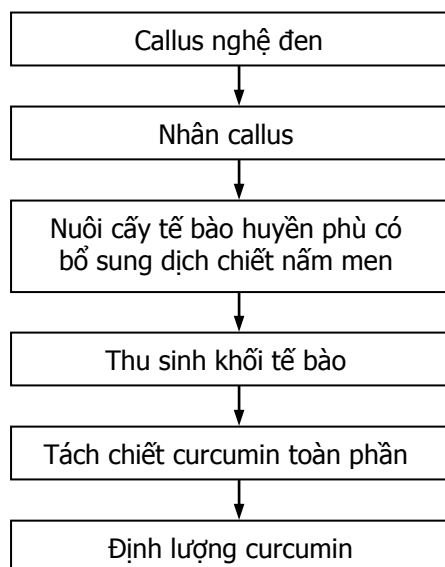
2.1. Đối tượng và nguyên liệu

Đối tượng nghiên cứu là cây nghệ đen (*Curcuma zedoaria* Roscoe), thuộc họ Gừng (Zingiberaceae), bộ Gừng (Zingiberales).

Nguyên liệu: Tế bào callus nghệ đen được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm Hợp chất thứ cấp, Viện Tài nguyên, Môi trường và Công nghệ sinh học, Đại học Huế (nay là Trung tâm Ươm tạo và chuyển giao công nghệ Đại học Huế).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 2/2011 đến tháng 5/2011 tại Phòng thí nghiệm Hợp chất thứ cấp, Viện Tài nguyên, Môi trường và Công nghệ sinh học, Đại học Huế.

Tóm tắt sơ đồ thí nghiệm**2.2.1. Nuôi cấy callus**

Tế bào callus được nuôi cấy trên môi trường cơ bản MS (Murashige and Skoog 1962) có 30 g/L saccharose, 8 g/L agar, bổ sung 0,5 mg/L benzyladenine (BA) và 0,5 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic (2,4-D), pH môi trường 5,8.

Điều kiện nuôi cấy: nhiệt độ 25-27°C, cường độ chiếu sáng 2000-3000 lux, thời gian chiếu sáng 10 giờ/ngày.

2.2.2. Nuôi cấy tế bào huyền phù

Sử dụng 3 g callus 8-10 ngày tuổi nuôi cấy trong bình tam giác 250 mL chứa 50 mL môi trường MS có 30 g/L saccharose, bổ sung 0,5 mg/L BA và 0,5 mg/L 2,4-D, pH môi trường 5,8. Sau 10 ngày nuôi cấy, 3 g tế bào được chuyển sang môi trường mới có thành phần giống môi trường ban đầu và nuôi trong cùng một điều kiện cho đến khi thu được dịch tế bào huyền phù đồng nhất.

Điều kiện nuôi cấy: nuôi cấy trên máy lắc với tốc độ 120 vòng/phút, nhiệt độ 25-27°C, cường độ chiếu sáng 500 lux, thời gian chiếu sáng 10 giờ/ngày.

2.2.3. Thăm dò ảnh hưởng của dịch chiết nấm men lên khả năng tích lũy curcumin

Sử dụng 3 g callus 8-10 ngày tuổi được nuôi cấy trong bình tam giác 250 mL chứa 50 mL môi trường MS có 30 g/L saccharose, bổ sung 0,5 mg/L BA và 1,5 mg/L 2,4-D, pH môi trường 5,8. Bổ sung thêm dịch chiết nấm men nồng độ từ 0,5-4 mg/L vào môi trường nuôi cấy huyền phù tế bào nghệ đen.

Điều kiện nuôi cấy: nuôi cấy trên máy lắc với tốc độ 120 vòng/phút, nhiệt độ 25-27°C, cường độ chiếu sáng 500 lux, thời gian chiếu sáng 10 giờ/ngày.

2.2.4. Xác định sinh khối tế bào

Tiến hành thu sinh khối tế bào từ ngày nuôi cấy thứ 2 đến ngày thứ 16, cách nhau 2 ngày, để xác định khối lượng tươi và khô của tế bào.

Khối lượng tươi: Dịch huyền phù tế bào được lọc chân không bằng giấy lọc, rửa sạch sinh khối tế bào bằng nước cất từ 2-3 lần, cân để xác định khối lượng tươi.

Khối lượng khô: Khối lượng tươi của tế bào được sấy khô ở 50°C đến khối lượng không đổi, cân để xác định khối lượng khô.

Chỉ số sinh trưởng: được tính bằng tỷ lệ giữa khối lượng tươi sau một thời gian nuôi cấy (g) và khối lượng tươi lúc đưa vào nuôi cấy (g).

2.2.5. Xác định hàm lượng curcumin bằng HPLC

Tách chiết curcumin: hòa tan 2 g bột mịn của tế bào nghệ đen trong 20 mL dung môi ethanol 70%. Hỗn hợp được phá bằng sóng siêu âm trên máy T700/H (Elma, Đức) trong 30 phút ở 30°C. Sau đó, thể nổi được lọc bằng giấy Whatman, bã được chiết lại với cùng dung môi cho tới khi hết hoàn toàn (dịch chiết cuối cùng không màu). Dịch chiết nhiều lần được trộn lại và làm giàu bằng máy cô quay chân không (Heidolph, Đức). Mẫu sau khi cô được hòa tan với ethanol 70% đến 10 mL, lọc bằng màng Milipore 0,25 μ m (Sartorius, Đức) và pha loãng dịch chiết 2,5 lần.

Phân tích HPLC: được thực hiện trên máy HPLC Spectra System (Thermo Electron, Mỹ) bằng chương trình ChromQuest (ver. 4.2.34). Tất cả dung môi đạt tiêu chuẩn phân tích được mua từ các hãng Sigma (Mỹ) và Merck (Đức). Hòa tan curcumin chuẩn ($\geq 94\%$) bằng ethanol 70% ở các nồng độ từ 1-20 μ g/mL để dựng đường chuẩn. Lấy 20 μ L của dịch chiết được đưa vào máy HPLC bằng Hamilton syringe. Điều kiện chạy HPLC ở nhiệt độ phòng, cột Vertisep GES C18 (5 μ m; 4,6 $\times$ 150 mm), tốc độ chạy 1,2 mL/phút, thời gian chạy 10 phút, detector đọc ở bước sóng 420 nm, pha tĩnh là silica gel và pha động là acetic acid 2%: acetonitrile (10:90, v/v). Hàm lượng curcumin (% khối lượng khô) của tế bào được tính theo phương trình đường chuẩn $y = 155072 \times (R^2 = 0,993)$.

2.2.6. Xử lý thống kê

Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần ($n \geq 30$) để tính trung bình mẫu và phân tích Duncan's test ($p < 0,05$) bằng chương trình SAS (ver. 6.12).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nuôi cấy tế bào huyền phù nghệ đen

Chúng tôi tiến hành nuôi cấy tế bào nghệ đen và thu sinh khối cách nhau 2 ngày từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 18 để khảo sát quá trình sinh trưởng của tế bào. Kết quả được trình bày ở bảng 3.1.

Từ sinh khối thu được, chúng tôi xây dựng đường cong sinh trưởng của tế bào nuôi cấy trong bình 250 mL ở hình 3.1.

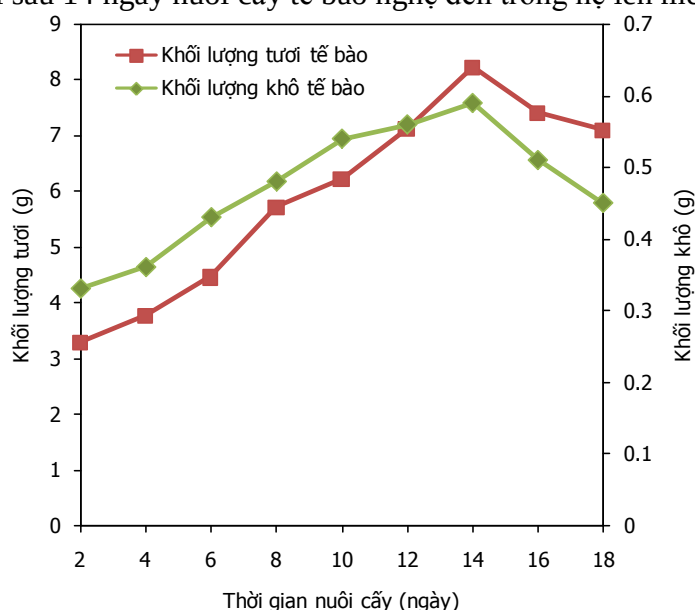
Kết quả nghiên cứu cho thấy pha lag của tế bào nghệ đen rất ngắn, chỉ khoảng gần 2 ngày. Sau 2 ngày, tế bào bắt đầu bước qua pha log, sinh trưởng phát triển nhanh. Pha log kéo dài trong khoảng 12 ngày và sinh khối đạt cực đại ở ngày thứ 14 với 8,22 g khối lượng tươi (0,59 g khối lượng khô) tăng 2,74 lần so với lúc đầu nuôi cấy. Sau pha log, tế bào chuyển sang pha cân bằng thời gian ngắn và bước nhanh vào pha suy vong sau 16-18 ngày nuôi cấy, sinh khối tế bào chỉ còn 7,10 g khối lượng tươi (0,45 g khối lượng khô).

Bảng 3.1. Tích lũy sinh khối của tế bào nghệ đen theo thời gian

Thời gian nuôi cấy (ngày)	Khối lượng tế bào (g)		Chỉ số sinh trưởng
	Tươi	Khô	
2	3,29 ^f	0,33 ^f	1,10
4	3,76 ^{ef}	0,36 ^f	1,25
6	4,46 ^e	0,43 ^e	1,49
8	5,71 ^d	0,48 ^{cde}	1,90
10	6,22 ^{cd}	0,54 ^{abc}	2,07
12	7,12 ^{bc}	0,56 ^{ab}	2,37
14	8,22^a	0,59^a	2,74
16	7,40 ^{ab}	0,51 ^{bcd}	2,47
18	7,10 ^{bc}	0,45 ^{de}	2,37

Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê của các trung bình mẫu ở $p < 0,05$ (Duncan's test).

Lúc này, dịch tế bào từ màu vàng chuyển sang nâu. Sự xuất hiện màu nâu của dịch nuôi cấy có thể liên quan đến sự oxy hóa các sản phẩm phenol tiết ra trong quá trình nuôi cấy bởi các enzyme ngoại bào [3]. Võ Châu Tuấn và cs (2010) đã thu được sinh khối cực đại sau 14 ngày nuôi cấy tế bào nghệ đen trong hệ lên men 10 L [3].



Hình 3.1. Đường cong sinh trưởng của tế bào nghệ đen



Hình 3.2. Sinh khối tươi (A) và sinh khối khô sau khi được nghiền mịn (B) của tế bào nghệ đen

3.2. Ảnh hưởng của dịch chiết nấm men lên sự tích lũy sinh khối của tế bào nghệ đen

Khả năng tích lũy sinh khối của tế bào nghệ đen trong môi trường nuôi cấy có bổ sung dịch chiết nấm men ở các nồng độ khác nhau được trình bày ở bảng 3.2 và hình 3.2.

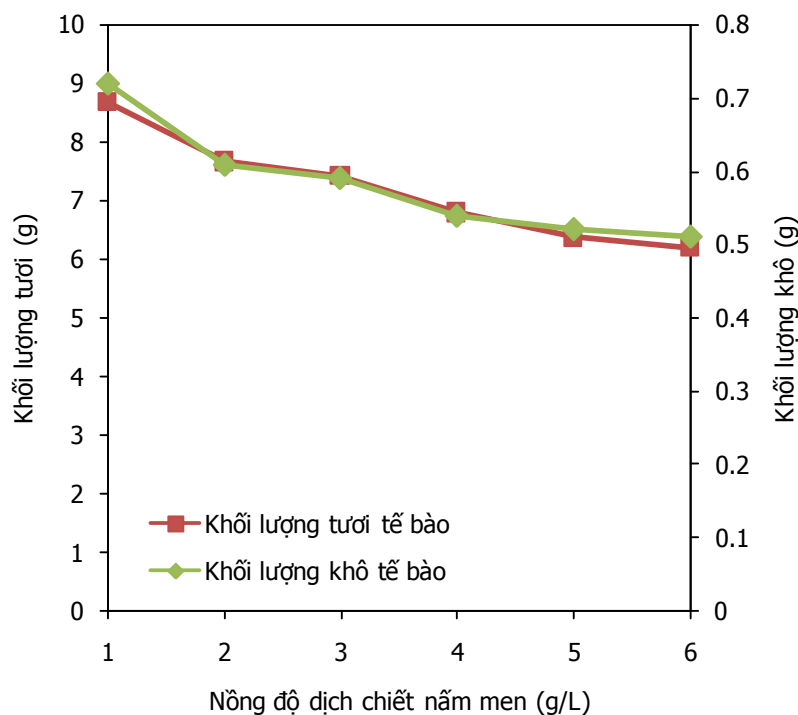
Kết quả trình bày ở bảng 3.2 cho thấy nồng độ dịch chiết nấm men có ảnh hưởng lên sự tích lũy sinh khối tế bào. Khi nồng độ này tăng từ 0,5 – 4,0 g/L, khối lượng tế bào giảm dần, thấp nhất ở 4 g/L đạt 6,2 g tươi (0,51 g khô), giảm 29,17% so với đối chứng. Mức độ giảm sinh khối tươi và khô là không có ý nghĩa thống kê giữa các nồng độ khác nhau ($p > 0,05$). Như vậy, sự tích lũy sinh khối tế bào tỷ lệ nghịch với nồng độ dịch chiết nấm men bổ sung vào môi trường nuôi cấy, nồng độ dịch chiết nấm men càng cao thì sinh khối tích lũy càng giảm. Nói cách khác, dịch chiết nấm men ức chế sự tích lũy sinh khối của tế bào nghệ đen nuôi cấy huyền phù trong bình 250 mL.

Cho đến nay chúng tôi chưa tìm thấy tài liệu nào đề cập đến sự ức chế của chất kích kháng lên sự tích lũy sinh khối của tế bào nuôi cấy huyền phù, tuy nhiên Christine và cs (2004) đã chứng minh sự ức chế sinh trưởng lên mầm cây *Arabidopsis thaliana* của các chất kích kháng có trong dịch chiết bằng nước sôi (boiled extract) từ vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* [5].

Bảng 3.2. Sinh khối của tế bào nghệ đen ở môi trường có bổ sung dịch chiết nấm men

Nồng độ dịch chiết nấm men (g/L)	Khối lượng tế bào (g)	
	Tươi	Khô
0 (đối chứng)	8,69 ^a	0,72 ^a
0,5	7,67 ^b	0,61 ^b
1	7,42 ^{bc}	0,59 ^b
2	6,79 ^{cd}	0,54 ^c
3	6,37 ^d	0,52 ^{cd}
4	6,20 ^d	0,51 ^d

Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê của các trung bình mẫu ở $p < 0,05$ (Duncan's test).



Hình 3.3. Sinh khối tế bào nghệ đen ở môi trường có bổ sung dịch chiết nấm men

3.3. Ảnh hưởng của dịch chiết nấm men lên sự tích lũy curcumin của tế bào nghệ đen

Tế bào 10 ngày tuổi nuôi cấy trong môi trường MS bổ sung các nồng độ dịch chiết nấm men khác nhau từ 0,5-4 g/L được tách chiết curcumin và định lượng bằng HPLC để nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ dịch chiết nấm men lên sự tích lũy curcumin của tế bào nghệ đen. Kết quả được trình bày ở bảng 3.3 và hình 3.3.

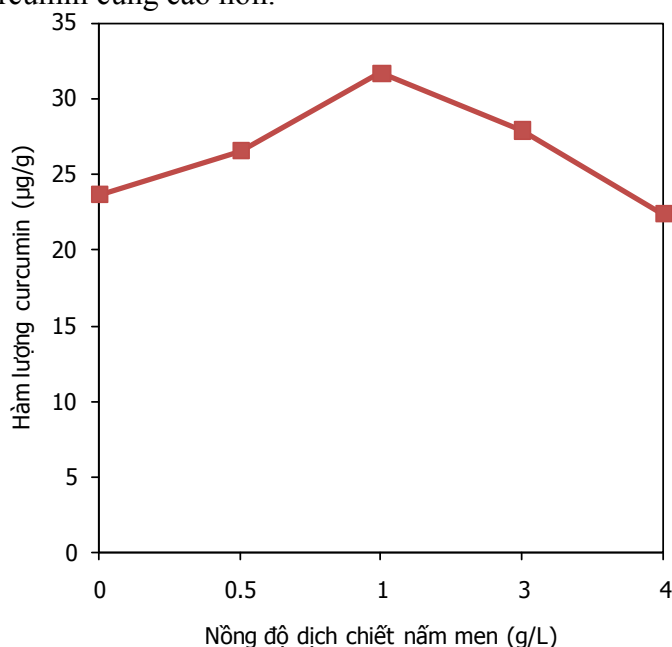
Kết quả ở bảng 3.3 cho thấy dịch chiết nấm men có ảnh hưởng đến sự tích lũy curcumin của tế bào nuôi cấy. Khi bổ sung dịch chiết nấm men theo nồng độ tăng dần từ 0,5-1 g/L thì hàm lượng curcumin trong tế bào cũng tăng và đạt cực đại 31,69 µg/g (0,0032% khối lượng khô) cao hơn 32,04% so với đối chứng. Khi tiếp tục tăng nồng độ dịch chiết nấm men lên 3-4 g/L thì hàm lượng curcumin trong tế bào giảm dần, thấp nhất là 22,37 µg/g (0,0022% khối lượng khô) thấp hơn 6,80% so với đối chứng. Kết quả trên cho thấy, hàm lượng curcumin tích lũy trong tế bào có thể tăng khi bổ sung chất kích kháng vào môi trường nuôi cấy với nồng độ phù hợp, nếu nồng độ chất kích kháng quá cao có thể gây ức chế tích lũy curcumin của tế bào.

Bảng 3.3. Hàm lượng curcumin trong tế bào nghệ đen ở môi trường có bổ sung dịch chiết nấm men

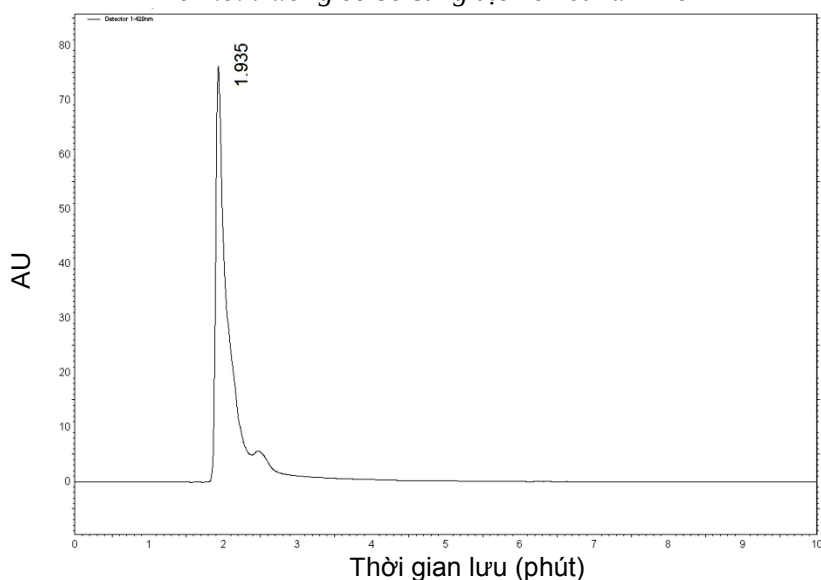
Nồng độ dịch chiết nấm men (g/L)	Thời gian lưu (phút)	Diện tích peak (mAU) ²	Hàm lượng curcumin (µg/g)	(%) so với đối chứng
0 (đối chứng)	2,09	292.849	23,61	100,00
0,5	1,96	411.748	26,55	110,63
1	2,00	491.405	31,69	132,04
3	2,04	432.746	27,91	116,28
4	2,02	346.850	22,37	93,20
Curcumin chuẩn	1,94	813.645	5,25 µg/mL	-

Kết quả phân tích HPLC được trình bày ở bảng 3.3 và các hình từ 3.5-3.9. Curcumin chuẩn có thời gian lưu là 1,94 phút, một đỉnh (peak) có thời gian lưu tương đương (1,96-2,09 phút) cũng được tìm thấy ở dịch chiết curcumin của tế bào huyền phù nghệ đen có bổ sung dịch chiết nấm men ở các nồng độ khác nhau.

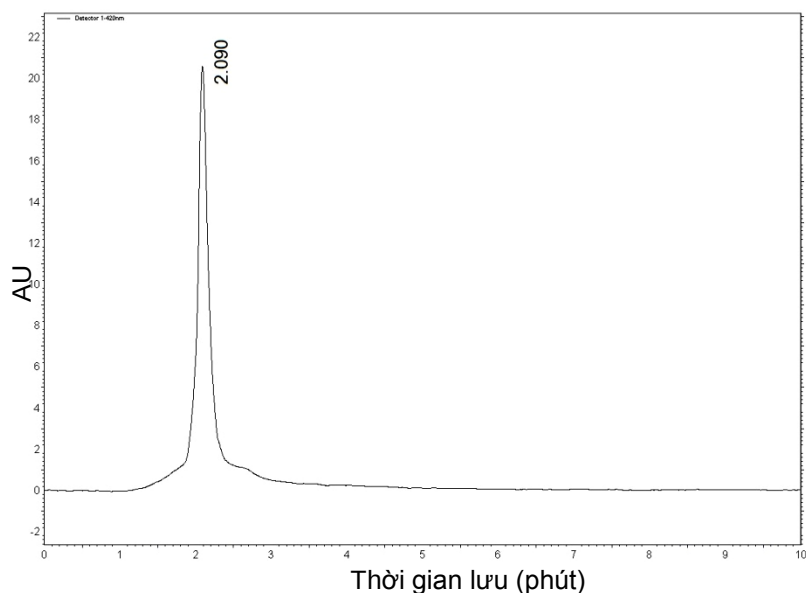
Hàm lượng curcumin thu được trong các thí nghiệm của chúng tôi (Hình 3.4) thấp hơn nhiều so với kết quả nghiên cứu của Võ Châu Tuấn và cs (2010) khi nuôi cấy tế bào huyền phù của nghệ đen trong hệ lên men 14 L [3]. Nguyên nhân có thể là do điều kiện nuôi cấy khác nhau, nuôi cấy tế bào trong hệ lên men 10 L có hệ thống sục khí và cánh khuấy thích hợp, khối lượng mẫu đưa vào lớn và mật độ tế bào thích hợp hơn nên sự tích lũy curcumin cũng cao hơn.



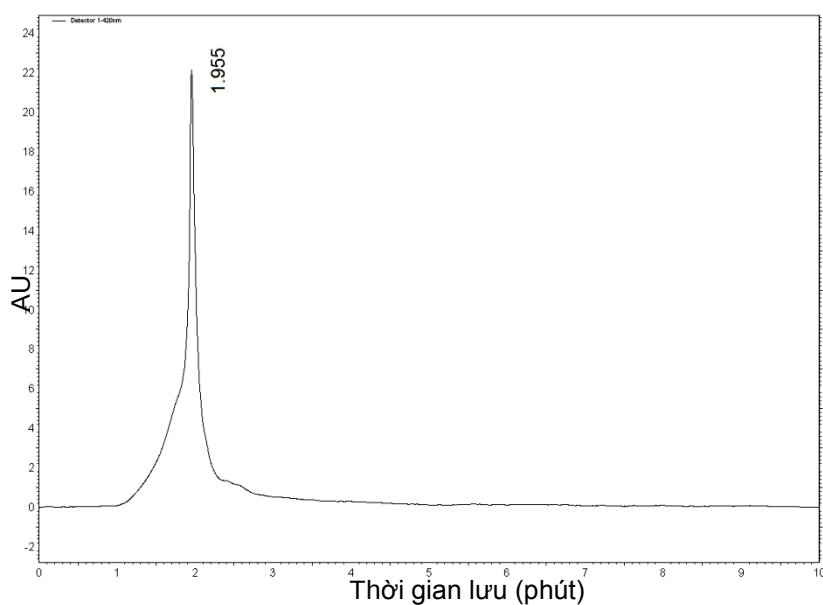
Hình 3.4. Hàm lượng curcumin trong tế bào nghệ đen ở môi trường có bổ sung dịch chiết nấm men



Hình 3.5. Phổ HPLC của curcumin chuẩn



Hình 3.6. Phổ HPLC của dịch chiết curcumin từ tế bào nuôi cấy ở môi trường không bổ sung dịch chiết nấm men



Hình 3.7. Phổ HPLC của dịch chiết curcumin từ tế bào nuôi cấy ở môi trường có bổ sung 0,5g/L dịch chiết nấm men

Từ kết quả thăm dò được trên, có thể thấy xu hướng tác động của nồng độ dịch chiết nấm men bổ sung vào môi trường nuôi cấy đến sự tích lũy sinh khối và tích lũy curcumin của tế bào nghệ đen là khác nhau. Trong khi sinh khối của tế bào nghệ đen giảm khi bổ sung dịch chiết nấm men thì hàm lượng curcumin trong tế bào lại tăng lên ở nồng độ thích hợp. Điều này có thể do trong dịch chiết nấm men chứa một số thành phần kích kháng bảo vệ tế bào, kích thích tế bào nghệ đen tổng hợp curcumin.

Đây chỉ mới là những kết quả thăm dò bước đầu về ảnh hưởng của dịch chiết nấm men nói riêng và chất kích kháng nói chung lên sự sinh trưởng và tích lũy

curcumin của tế bào nghệ đen nuôi cấy huyền phù. Vì vậy, cần có những nghiên cứu tiếp theo về vấn đề này để làm rõ thêm hiệu quả tác động của chất kích kháng lên tổng hợp curcumin, góp phần phối hợp với các kết quả nghiên cứu chọn dòng tế bào, tối ưu hóa hệ lên men và các điều kiện nuôi cấy nhằm tăng lượng sản phẩm mong muốn.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

1. Tế bào nghệ đen sinh trưởng trong bình nuôi cấy huyền phù 250 mL đạt sinh khối cực đại sau 14 ngày nuôi cấy (8,22 g tươi, tương đương với 0,59 g khô) tăng 2,74 lần so với ban đầu.

2. Dịch chiết nấm men nồng độ từ 0,5-4,0 g/L có tác dụng ức chế sự tích lũy sinh khối của tế bào nghệ đen nuôi cấy huyền phù trong bình 250 mL. Sinh khối thấp nhất tại nồng độ 4 g/L chỉ đạt 6,2 g tươi (0,51 g khô), giảm 29,17% so với đối chứng.

3. Hàm lượng curcumin tăng dần khi bổ sung từ 0,5-1,0 g/L dịch chiết nấm men vào môi trường nuôi cấy. Hàm lượng curcumin tích lũy cao nhất tại nồng độ dịch chiết nấm men là 1 g/L, đạt 31,69 $\mu\text{g/g}$ khô, tăng 32,04 % so với đối chứng. Ở các nồng độ cao hơn 1 g/L, hàm lượng curcumin giảm dần.

4.2. Đề nghị

1. Tiếp tục nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết nấm men lên sự tích lũy curcumin của tế bào nuôi cấy ở các quy mô lớn hơn.

2. Nghiên cứu ảnh hưởng của một số chất kích kháng khác lên sự sinh trưởng và tích lũy curcumin của tế bào nghệ đen.

3. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian bổ sung dịch chiết nấm men nói riêng và các chất kích kháng khác nói chung lên sự sinh trưởng và tích lũy curcumin của tế bào nghệ đen nuôi cấy *in vitro*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Phúc Lộc (2010). *Tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy và đánh giá khả năng kháng khuẩn của tinh dầu tế bào cây nghệ đen nuôi cấy trong hệ lên men 10 L*. Đồ án tốt nghiệp, Trường đại học Khoa học, Đại học Huế.
2. Lê Đình Mỗi, Lưu Đàm Cư (2002). *Tài nguyên thực vật có tinh dầu ở Việt Nam*. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội 2, tr. 245-250.
3. Võ Châu Tuấn, Nguyễn Hoàng Lộc (2010). Sản xuất curcumin từ tế bào nghệ đen (*Curcuma zedoria* Roscoe). *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 8(3B), tr. 1459-1464.

4. Phạm Đình Ty, Nguyễn Thế Dũng, Lê Minh Hà, Hoàng Thanh Hương (2000). *Công nghệ phân lập hoạt chất osthonol và curcumin từ nguyên liệu thực vật*. Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Chương trình Nghiên cứu khoa học cơ bản của Trung tâm Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Quốc gia.
5. Christine P, Jullie TK, Dunning FM, Jose MA, Joseph RE, Caitilyn A, Andrew FB (2004). Flagelin is not a major defense elicitor in *Ralstonia solanacearum* cells or extracts applied to *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 17 (6), pp. 696-706.
6. Roat C, Ramawat KG (2009). Elicitor-induced accumulation of stilbenes in cell suspension cultures of *Cayratia trifolia* (L.) Domin. *Plant Biotechnol Rep* 3, pp. 135-138.

**EFFECTS OF YEAST EXTRACT ELICITATION ON THE ENHANCEMENT
OF CURCUMIN BIOSYNTHESIS IN CELL CULTURES OF ZEDOARY
(CURCUMA ZEDOARIA ROSCOE)**

Tran Vu Ngoc Thi

Department of Biology, Hue University of Sciences

Email: cengocthi@gmail.com

ABSTRACT

Zedoary cell suspension culture with elicitor was added into medium having many potential to improve the production of curcumin. Our study showed that zedoary cells reached a maximum fresh weight of 8.22g (0.59g dry weight) after 14 days of culture and 2.74 times higher than the beginning. The results indicated that yeast extract from 0.5-4.0g/L had different eliciting influences. The cell growth was inhibited and reached the minimum value of 6.2g/L fresh weight (0.51g dry weight), below 29.17% compared to the control cells on the medium treated with 4.0g/L yeast extract. However, the addition of yeast extract into the cultures strongly enhanced curcumin production in zedoary cells. Curcumin content reached the highest value of 31.69µg/g, so increasing 32.04% compared to the control in the medium containing 1.0g/L yeast extract. The content of curcumin decreases when medium was treated with concentration of yeast extract above 1.0g/L.

Keywords: *Curcumin, zedoary, elicitor, suspension cell*