

Nghiên cứu chiết xuất dịch chiết chứa rotenone từ rễ Dây thuốc cá (*Derris elliptica* Benth) và thử nghiệm hiệu lực diệt sâu tơ (*Plutella xylostella* L.)

Đỗ Tiến Vinh, Mai Thị Phương Hoa, Nguyễn Thị Ngọc Thảo, Trần Vũ Hoài An

Ngành CNSH – Viện Kỹ thuật Công nghệ cao – Đại học Nguyễn Tất Thành
dtvinh@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Rễ Dây thuốc cá có chứa hàm lượng rotenone cao được sử dụng để diệt các loại côn trùng gây hại trên cây trồng và xử lý cá tạp trong ao nuôi thủy sản. Chiết xuất dịch chiết chứa rotenone từ rễ Dây thuốc cá là rất cần thiết giúp giảm chi phí vận chuyển rễ tươi khi sử dụng, bảo quản hoạt chất rotenone tốt hơn và thuận tiện khi sử dụng. Nghiên cứu này được thực hiện để xác định loại dung môi, điều kiện thích hợp để thu dịch chiết chứa rotenone từ rễ Dây thuốc cá và hiệu lực diệt sâu tơ của dịch chiết xuất. Kết quả nghiên cứu cho thấy: quá trình thu cao dịch chiết chứa rotenone từ rễ Dây thuốc cá đạt kết quả tốt nhất khi sử dụng dung môi acetone với tỉ lệ cơ chất/dung môi 1:8 và thời gian ngâm mẫu 48 giờ; cao dịch chiết từ rễ Dây thuốc cá có khả năng tiêu diệt và ức chế sinh trưởng của sâu tơ ở tất cả nồng độ thí nghiệm và đạt cao nhất tại nồng độ 250 ppm.

Nhận 30/03/2023
Được duyệt 24/05/2023
Công bố 31/07/2023

Từ khóa
Dây thuốc cá,
chiết xuất, *Derris elliptica* Benth, sâu tơ

© 2023 Journal of Science and Technology – NTTU

1 Đặt vấn đề

Hàng năm, tổng sản lượng lương thực và rau quả trên thế giới bị thiệt hại do sâu bệnh ở mức cao chiếm 20 % đến 35 % sản lượng thu hoạch. Để giải quyết tình trạng trên chúng ta thường sử dụng thuốc trừ sâu hóa học có chứa hoạt chất abamectin, spinosad hoặc sử dụng thiên địch. Tuy nhiên, việc sử dụng thuốc trừ sâu hóa học đã gây ảnh hưởng đến sức khỏe con người, dẫn đến tồn dư lượng lớn thuốc trừ sâu trên nông sản và trong môi trường tự nhiên.

Do đó, việc tìm ra các sản phẩm phục vụ nông nghiệp an toàn cho người có nguồn gốc tự nhiên, thân thiện với môi trường để tiêu diệt các loài sâu gây hại là một hướng đi rất cần thiết. Dây thuốc cá (DTC) là một loại dây leo khá phổ biến ở nước ta, trong DTC có nhiều loại hợp chất hóa học như rotenone, toxicarol, elliptone, sumatrol, tephrosin và deguelin [1]. Trong đó, rotenone từ rễ DTC là một hợp chất thỏa mãn những yêu cầu nói trên. Ngoài tác dụng trừ các loài sâu rầy gây hại, rotenone còn có tác dụng diệt các

loài cá tạp và sinh vật gây hại làm sạch ao nuôi cá, tôm phục vụ cho ngành nuôi trồng thủy sản [2]. Tuy nhiên, sản phẩm này vẫn còn một số hạn chế do chưa có những sản phẩm đặc trưng được chiết xuất, người dân phải sử dụng trực tiếp rễ DTC từ tự nhiên dẫn đến làm tăng chi phí vận chuyển, làm giá thành rễ DTC tăng cao; bên cạnh đó người nông dân vẫn chưa tiếp cận những quy trình chiết xuất và thử nghiệm thuốc.

Phương pháp chiết xuất các hoạt chất có nguồn gốc từ tự nhiên đang đem lại hiệu quả kinh tế cao, cao dịch chiết từ rễ DTC có thể được sử dụng cho nhiều mục đích khác nhau. Do đó, việc nghiên cứu được một quy trình thích hợp để thu cao là rất cần thiết.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu: rễ DTC được thu thập tại xã Đông Hải, huyện Duyên Hải, tỉnh Trà Vinh.

Địa điểm nghiên cứu: phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học thực vật – ngành Công nghệ Sinh học – Viện Kỹ thuật



Công nghệ cao NTT – Trường Đại học Nguyễn Tất Thành.

Phương pháp thu bột rễ: rễ DTC sau khi thu hoạch, rửa sạch, cắt nhỏ rồi phơi khô dưới nắng tới khối lượng không đổi. Sau đó, tiến hành xay mịn, bảo quản và sử dụng cho các thí nghiệm.

Phương pháp thu cao: dịch chiết xuất sau khi thu được sẽ được cô quay chân không tại áp suất chân không 125 mbar, tốc độ quay 80 vòng/phút, nhiệt độ 45 °C.

Phương pháp: thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại 3 mẫu trên một nghiệm thức. Kết quả nghiên cứu được xử lý thống kê bằng phần mềm SAS 9.1.

Thiết kế thí nghiệm

Thí nghiệm 1: nghiên cứu ảnh hưởng của dung môi hữu cơ đến quá trình chiết xuất dịch chiết chứa rotenone từ DTC: bột rễ DTC được cho vào bình chiết và ngâm trong các dung môi (cồn 96 %, chloroform, acetone) theo tỉ lệ 1:5 (40 g bột rễ DTC ngâm trong 200 mL dung môi). Sau khi ngâm 24 giờ tiến hành lọc thu dịch chiết và cô quay chân không để thu cao dịch chiết.

Thí nghiệm 2: nghiên cứu ảnh hưởng của tỉ lệ cơ chất/dung môi đến quá trình chiết xuất dịch chiết chứa rotenone từ DTC: 40 g bột rễ DTC được cho vào bình chiết và ngâm trong dung môi acetone với các tỉ lệ thí nghiệm 1:4; 1:6 và 1:8 (w/v). Sau khi ngâm 24 giờ tiến hành lọc thu dịch chiết và cô quay chân không để thu cao dịch chiết.

Thí nghiệm 3: nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian ngâm mẫu đến quá trình chiết xuất dịch chiết chứa rotenone từ DTC: 40 g bột rễ DTC được cho vào bình chiết ngâm trong dung môi acetone, tỉ lệ cơ chất/dung môi (1:8). Mẫu thí nghiệm được ngâm trong các khoảng thời gian (12; 24, 36 và 48) giờ. Sau đó, cô quay chân không để thu cao dịch chiết.

Thí nghiệm 4: đánh giá hiệu quả diệt sâu tơ của cao dịch chiết: cao dịch chiết DTC thu được của nghiệm thức 3.4 sau khi cô quay được hòa tan trong acetone với tỉ lệ 4 g cao pha với 20 mL acetone sau khi tan hoàn toàn bổ sung thêm nước vừa đủ 100 mL thu được dịch chiết gốc, sau đó tiến hành pha loãng dung dịch gốc với bằng nước cất cho ra những nồng độ khác nhau là 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm. Thí nghiệm thực hiện trên sâu tơ tuổi 3. Sâu tơ được nuôi trong các hộp nhựa thoáng khí. Sau đó tiến hành phun với thể tích bằng nhau (10 mL) các dung dịch pha sẵn tương ứng từng nghiệm thức, làm ướt đều sâu, toàn bộ lá và thân các cây cải ngọt trong hộp.

Các chỉ tiêu theo dõi

- Hiệu lực tiêu diệt sâu của dịch chiết được tính bằng công thức Abbott (1925): $H (\%) = [(C - T)/C] \times 100$ [3]

Trong đó:

C: số sâu sống ở nghiệm thức đối chứng

T: số sâu sống ở nghiệm thức có xử lý dịch chiết.

- Hàm lượng cao (%) = (khối lượng cao sau khi cô quay/khối lượng mẫu ban đầu) $\times 100$

- Hàm lượng rotenone được xác định theo phương pháp: TC 06/CL:2008 và được thực hiện tại Trung tâm Kiểm định và Khảo nghiệm Thuốc BVTV phía Nam [4]

- Tỉ lệ hóa nhộng (%) (tổng số sâu hóa nhộng / tổng số sâu ban đầu)

- Tỉ lệ vũ hóa (%) (tổng số nhộng được vũ hóa / tổng số sâu hóa nhộng)

3 Kết quả và thảo luận

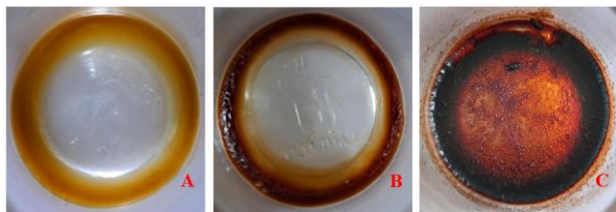
Thí nghiệm 1: nghiên cứu ảnh hưởng của dung môi hữu cơ đến quá trình chiết hoạt chất từ DTC

Việc tách chiết hoạt chất trong các loại cây dược liệu bằng dung môi là phương pháp hữu hiệu. Trong thí nghiệm này chloroform, acetone, ethanol được sử dụng để tách chiết hoạt chất có trong rễ DTC được thu hoạch tại tỉnh Trà Vinh. Kết quả ở Bảng 1 cho thấy: khi sử dụng ethanol làm dung môi chiết xuất thì dịch chiết thu được có màu đỏ cam (Hình 1C) hàm lượng cao thu được là thấp nhất 5,96 %; khi sử dụng dung môi là chloroform dịch chiết có màu vàng (Hình 1A) với hàm lượng cao thu được là 6,45 % và hàm lượng cao thu được cao nhất trong thí nghiệm này. Sử dụng dung môi acetone 6,74 % dịch chiết thu được có màu vàng thẫm (Hình 1B). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu khảo sát nồng độ rotenone trong cao dịch chiết thu được từ DTC với 4 loại dung môi: nước, ethanol, chloroform, acetone với kết quả acetone là dung môi chiết xuất cho hàm lượng rotenone cao hơn các dung môi còn lại [5, 6].

Bảng 1 Kết quả khảo sát ảnh hưởng của dung môi đến quá trình thu cao chiết từ DTC

NT	Dung môi	Hàm lượng cao (%)
1.1	Ethanol	5,96 ^c
1.2	Acetone	6,74 ^a
1.3	Chloroform	6,45 ^b

Ghi chú: các ký tự a,b,c theo sau các giá trị trong cùng một cột thể hiện sự khác nhau về mặt thống kê với $P < 0,05$



Hình 1 Cao dịch chiết từ DTC được chiết xuất với các dung môi: chloroform (A), acetone (B) và ethanol (C)

Thí nghiệm 2: nghiên cứu ảnh hưởng của tỉ lệ cơ chất/dung môi đến quá trình chiết hoạt chất từ DTC

Kết quả hàm lượng cao thu được ở các nghiệm thức cho thấy khối lượng cao tăng dần khi tăng tỉ lệ dung môi. Mức tỉ lệ 1:4 dịch chiết sau khi lọc có màu đậm nhất (Hình 2A) nhưng hàm lượng cao thu được lại thấp nhất 6,17 %. Mức tỉ lệ 1:6 dịch chiết sau khi lọc có màu sắc nhạt hơn (Hình 2B) nhưng hàm lượng cao lại cao hơn so với tỉ lệ 1:4 (7,63 %). Tỉ lệ 1:8 cho thể tích dịch chiết thu được và hàm lượng cao sau cô quay là cao nhất 8,42 %.

Tuy nhiên, kết quả này không có sự khác biệt quá lớn về thống kê so với tỉ lệ 1:6. Như vậy, khi tăng thể tích dung môi sẽ giúp cho mẫu tiếp xúc nhiều hơn với dung môi dẫn đến khả năng thẩm thấu tăng, độ hòa tan các chất cần chiết xuất vào dung môi tăng và dịch chiết thu hồi có hàm lượng hoạt chất rotenone cao hơn.

Tiếp tục tăng thể tích dung môi gây ra hiện tượng bão hòa làm giảm khả năng khuếch tán các chất vào dung môi và lãng phí hóa chất. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu chiết tách cao chiết rotenone từ củ đậu (*Pachyrhizus erosus*) và khảo sát hoạt tính kháng sâu ăn tạp (*Spodoptera litura*) hàm lượng cao thu được tỉ lệ thuận với việc tăng thể tích dung môi chiết xuất [7].

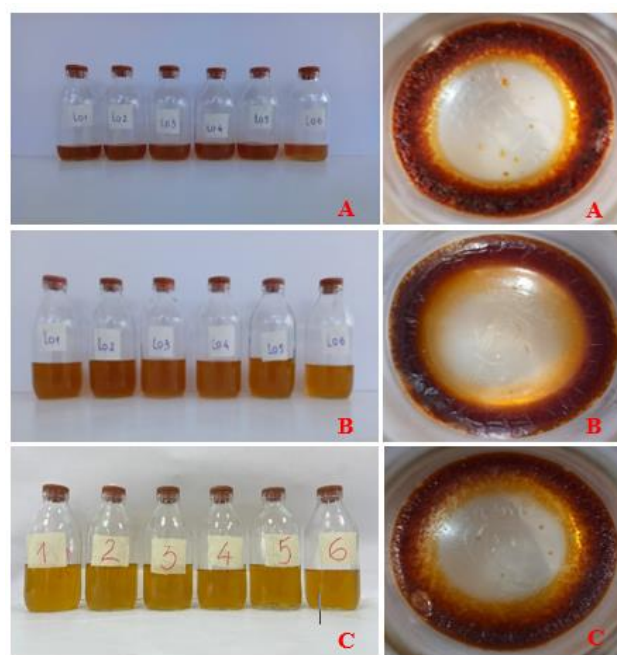
Bảng 2 Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ cơ chất/dung môi đến quá trình thu cao dịch chiết

NT	Tỉ lệ dung môi	Hàm lượng cao (%)
2.1	1:4	6,17 ^c
2.2	1:6	7,63 ^{ab}
2.3	1:8	8,42 ^a

Ghi chú: các ký tự a,b,c theo sau các giá trị trong cùng một cột thể hiện sự khác nhau về mặt thống kê với $P < 0,05$.

Thí nghiệm 3: nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian ngâm mẫu đến quá trình chiết hoạt chất từ DTC

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian ngâm mẫu đến hàm lượng cao chiết thu được thể hiện ở Bảng 3 cho thấy: hàm lượng cao dịch chiết tỉ lệ thuận với việc tăng thời gian ngâm mẫu từ 12 giờ đến 48 giờ với kết quả hàm lượng cao thu được lần lượt là (6,91; 8,22; 8,6 và 9,31) %.



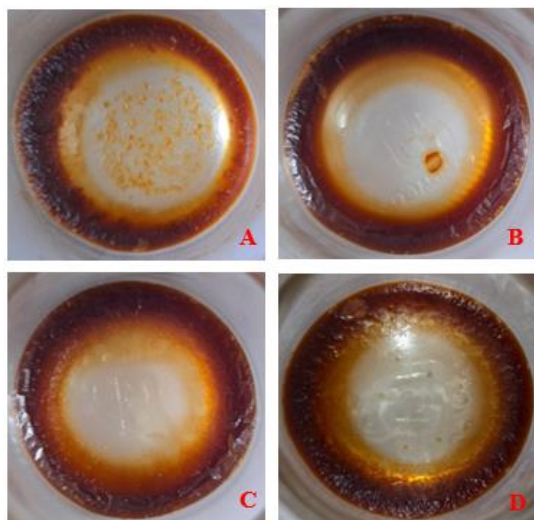
Hình 2 Dịch chiết xuất và cao thu được sau khi sấy ở các tỉ lệ 1:4 (A), tỉ lệ 1:6 (B), tỉ lệ 1:8 (C)

Thời gian ngâm mẫu 48 giờ cho kết quả hàm lượng cao tốt nhất, dịch chiết thu được có màu vàng hơi đục, có mùi đặc trưng và màu sắc của cao dịch chiết sau khi cô quay cũng đậm màu hơn (Hình 3D). Căn cứ vào nghiên cứu của Đặng Huỳnh Giao (2022) khi tăng thời gian ngâm mẫu lên 72 giờ và 96 giờ thì khối lượng cao dịch chiết tăng ít, gần như không có ý nghĩa so với thời gian ngâm là 48 giờ [7] và nghiệm thức 36 giờ và 48 giờ cũng không có sự khác biệt. Do đó, không cần tiếp tục tăng thời gian ngâm mẫu, vì nếu tăng thêm thời gian ngâm mẫu dẫn đến tăng chi phí sản xuất do mất nhiều thời gian và có thể hòa tan những tạp chất không mong muốn vào dịch chiết suất.

Bảng 3 Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng thời gian ngâm mẫu đến quá trình thu cao dịch chiết từ DTC

NT	Thời gian ngâm mẫu (giờ)	Hàm lượng cao (%)
3.1	12	6,91 ^c
3.2	24	8,22 ^b
3.3	36	8,64 ^{ab}
3.4	48	9,31 ^a

Ghi chú: các ký tự a,b,c theo sau các giá trị trong cùng một cột thể hiện sự khác nhau về mặt thống kê với $P < 0,05$



Hình 3 Cao dịch chiết thu được từ DTC khi ngâm mẫu: 12 giờ (A); 24 giờ (B); 36 giờ (C) và 48 giờ (D)

Thí nghiệm 4: đánh giá hiệu lực diệt sâu tơ của cao dịch chiết từ rễ DTC

Tỉ lệ sâu chết do ảnh hưởng của rotenone có trong cao dịch chiết rễ DTC tăng tỉ lệ thuận với nồng độ phun và có sự khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức. Sau khi phun 48 giờ, nghiệm thức đối chứng nước có tỉ lệ sâu chết thấp nhất 11,85 %, tiếp đến là acetone 17,04 % và cao dịch chiết (21,48-30,37) %. Sau khi phun dịch chiết 48 giờ, nghiệm thức dịch chiết 250 ppm cho kết quả sâu chết cao nhất 30,37 % tỉ lệ sâu chết tăng lên đáng kể so với thời gian 24 giờ 20 %. Tỉ lệ sâu chết ở nồng độ dịch chiết 200 ppm và 150 ppm lần lượt là 22,96 % và 21,48 % sau 48 giờ và không có sự khác biệt giữa hai nghiệm thức này. Kết quả thí nghiệm có thể đánh giá khả năng diệt sâu của cao dịch chiết từ rễ DTC. Do đó, chúng tôi không tiến hành khảo sát thêm các nồng độ cao hơn.

Bảng 4 Tỉ lệ sâu chết sau khi phun cao dịch chiết từ DTC

Nghiệm thức	Nồng độ	Tỉ lệ sâu chết (%)	
		24 giờ sau phun	48 giờ sau phun
ĐC1	Nước	6,67 ^e	11,85 ^d
ĐC2	Acetone	8,89 ^d	17,04 ^c
NT1	150 ppm	12,59 ^c	21,48 ^b
NT2	200 ppm	14,81 ^b	22,96 ^b
NT3	250 ppm	20,00 ^a	30,37 ^a



Hình 4 Hộp nuôi sâu tơ

Sâu tơ còn sống sau 48 giờ phun sẽ được nuôi tiếp tục để đánh giá sự tác động của cao dịch chiết lên quá trình hóa nhộng và vũ hóa của sâu tơ. Kết quả thể hiện ở Bảng 5 cho thấy: nước không gây ảnh hưởng nhiều đến quá trình hóa nhộng và vũ hóa trên sâu tơ với tỉ lệ lần lượt là 20,74 % và 28,57 %.

Xét trên 3 nghiệm thức sử dụng cao dịch chiết từ DTC với nồng độ dịch chiết lần lượt là 150 ppm, 200 ppm và 250 ppm ta thấy nồng độ dịch chiết càng cao thì tỉ lệ hóa nhộng và vũ hóa càng giảm. Tỉ lệ hóa nhộng ở nồng độ dịch chiết 150 ppm là cao nhất 10,37 % và thấp nhất là nồng độ dịch chiết 250 ppm với tỉ lệ 1,48 %. Tương tự, tỉ lệ vũ hóa cao nhất ở nghiệm thức 150 ppm 25,76 %, ngược lại ở nồng độ cao nhất 250 ppm thì tỉ lệ vũ hóa chỉ 11,11 %.

Bảng 5 Tỉ lệ hóa nhộng và tỉ lệ vũ hóa của sâu tơ

Nghiệm thức	Nồng độ	Chỉ tiêu theo dõi (%)	
		Tỉ lệ hóa nhộng	Tỉ lệ vũ hóa
ĐC	Nước	20,74 ^a	28,57 ^a
ĐC	Acetone	16,29 ^b	26,19 ^b
NT1	150 ppm	10,37 ^c	25,76 ^b
NT2	200 ppm	8,89 ^d	22,22 ^c
NT3	250 ppm	1,48 ^e	11,11 ^d

Ghi chú: các ký tự a,b,c theo sau các giá trị trong cùng một cột thể hiện sự khác nhau về mặt thống kê với $P < 0,05$



Hình 5 Ảnh hưởng của cao dịch chiết DTC đến quá trình hóa nhộng: nhộng không bị ảnh hưởng bởi đối chứng nước (A) và nhộng bị ảnh hưởng bởi dịch chiết (B)

4 Kết luận

Quá trình thu cao dịch chiết chứa rotenone từ rễ DTC đạt kết quả tốt nhất khi sử dụng dung môi là acetone

với tỉ lệ cơ chất/dung môi là 1:8 và thời gian ngâm mẫu 48 giờ. Cao dịch chiết từ rễ DTC có khả năng tiêu diệt sâu tơ ở tất cả các nồng độ thí nghiệm và đạt cao nhất tại nồng độ 250 ppm với hiệu lực diệt sâu là 86,53 % và có khả năng ức chế khả năng hóa nhộng với tỉ lệ hóa nhộng là 1,48 % và khả năng vũ hóa với tỉ lệ 11,11 %.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ – Đại học Nguyễn Tất Thành, mã đề tài 2022.01.43/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. Rashed, K.N.Z. (2020). Phytochemical Constituents and Biological Effects of *Derris elliptica* (Wall.) Benth.: A Review. *Plantae Scientia*, 3(5), 69-71
2. Ling, N. (2003). Rotenone review of its toxicity and use for fisheries management. *Science for Conservation*, 211, 1-40
3. Cục Bảo vệ Thực vật, (2018). Thuốc bảo vệ thực vật - Khảo nghiệm hiệu lực sinh học của thuốc trên đồng ruộng. *TCVN 12561:2018*, 7.
4. Cục Bảo vệ Thực vật, (2008). Thuốc bảo vệ thực vật chứa rotenone yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử. *TC6/CL*, 14.
5. Hiền, P.P., Heinz Gortnizka, H., Kraemer, R. (2003). Rotenone-potential and prospect for sustainable agriculture. *Omonrice*, 11, 83-92.
6. Zubairi, S.I., Sarmidi, M.R., Aziz, R.A. (2014). A preliminary study of rotenone exhaustive extraction kinetic from *Derris elliptica* dried roots using normal soaking extraction method. *Advances in Environmental Biology*, 910-916.
7. Giao, Đ.H., Nghĩa, N.K., Nguyễn Trọng Danh, N.T., Hậu, N.C., Tân, H.N.T., Thanh, N.Q.C. (2022). Nghiên cứu chiết tách cao chiết hạt củ đậu (*Pachyrhizus erosus*) có chứa rotenone và khảo sát hoạt tính kháng sâu ăn tạp (*Spodoptera litura*). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 58(3),

Study on extracting rotenone-containing extract from *Derris elliptica* Benth and testing its efficacy against *Plutella xylostella* L.

Do Tien Vinh, Mai Thi Phuong Hoa, Nguyen Thi Ngoc Thao, Tran Vu Hoai An,
Biotechnology – Institute of High Technology – Nguyen Tat Thanh University
dtvinh @ntt.edu.vn

Abstract *Derris elliptica* Benth root contains high levels of rotenone and is used to kill plant pests and to treat trash fish in aquaculture ponds. rotenone-containing extract from *Derris elliptica* Benth root is essential to reduce logistic costs. This research aims at determining the proper solvents, the ideal conditions to obtain the extracts, and the efficacy of the extracts against *Plutella xylostella* L. The results showed that: The process of obtaining rotenone-containing extracts from *Derris elliptica* Benth roots achieved the best results using acetone solvent with a ratio of 1:8 substrate/solvent and soaking time for 48 hours. The extract from the roots of *Derris elliptica* Benth was able to kill and inhibit the growth of silkworms at all experimental concentrations and reached the highest concentration at 250 ppm

Keywords extract, *Derris elliptica* Benth, *Plutella xylostella* L.

