

STUDY ON THE ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL OF *SENNA ALATA* AND *MIMOSA PIGRA* IN KIEN GIANG

Huynh Kim Yen^{1,2}, Tran Thanh Men^{2*}, Nguyen Trong Tuan², Nguyen Thanh Tam¹,
Huynh Thi Cam Lan², Pham Thi Khanh Linh², Truong Thi Tu Tran¹

¹Kien Giang University, ²Can Tho University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 28/02/2021	This study is aimed to evaluate the antioxidant and antibacterial activities of two plants collected in Kien Giang province, Vietnam. The antioxidant property was determined for their antioxidant activity by DPPH, ABTS ⁺ , RP và TAA methods <i>in vitro</i> . The results showed that the ethanolic leaves extract of <i>Mimosa pigra</i> displayed <i>in vitro</i> antioxidant activities with the IC ₅₀ (effective concentration) values are 67.12 µg/mL, 39.22µg/mL, 32.16 µg/mL and 71.86 µg/mL respectively. Similarly, the ethanolic leaves extract of <i>Senna alata</i> with IC ₅₀ values are 357.19 µg/mL; 40.39 µg/mL; 331.03 µg/mL and 119.59 µg/mL respectively. Total phenolic and total flavonoid of leaf extract of <i>Senna alata</i> contents were 203.57 mg GAE/g and 46.31 mg QE/g, respectively. Similarly, total phenolic and total flavonoid of leaf extract of <i>M. pigra</i> contents were 306.08 mg GAE/g and 38.71 mg QE/g respectively. The antibacterial activity is investigated in 4 bacterial strains which can cause aquatic diseases. The results proved that the ethanol extract of <i>M. pigra</i> had high efficiency in antimicrobial activity on four bacterial strains <i>Aeromonas dhakensis</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Edwardsiella ictaluri</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> . These findings indicated that <i>M. pigra</i> is a very potential herb containing natural antioxidant and antibacterial compounds.
Revised: 11/5/2021	
Published: 25/5/2021	
KEYWORDS	
ABTS ⁺	
Antioxidant	
DPPH	
<i>Mimosa pigra</i>	
<i>Senna alata</i>	

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA VÀ KHÁNG KHUẨN CỦA CÂY MUÔNG TRÂU VÀ MAI DƯƠNG TẠI KIÊN GIANG

Huỳnh Kim Yến^{1,2}, Trần Thanh Mến^{2*}, Nguyễn Trọng Tuấn², Nguyễn Thành Tâm¹,
Huỳnh Thị Cẩm Lan², Phạm Thị Khánh Linh², Trương Thị Tú Trân¹

¹Trường Đại học Kiên Giang, ²Trường Đại học Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 28/02/2021	Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn gây bệnh trên thủy sản của hai loài thực vật thu tại tỉnh Kiên Giang, Việt Nam. Khả năng kháng oxy hóa được xác định bằng phương pháp DPPH, ABTS ⁺ , RP và TAA <i>in vitro</i> . Kết quả cho thấy, cao chiết ethanol từ lá của cây Mai dương thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa với giá trị IC ₅₀ lần lượt là 67,12 µg/mL; 39,22µg/mL; 32,16 µg/mL và 71,86 µg/mL. Tương tự, cao chiết Muồng trâu có giá trị IC ₅₀ tương ứng 357,19 µg/mL; 40,39 µg/mL; 331,03 µg/mL và 119,59 µg/mL. Hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid của cao chiết cây Muồng trâu được xác định lần lượt là 203,57 mg GAE/g; 46,31 mg QE/g. Tương tự, cao chiết Mai dương có hàm lượng tương ứng là 306,08 mg GAE/g; 38,71 mg QE/g. Hoạt tính kháng khuẩn được khảo sát bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch với 4 dòng vi khuẩn gây bệnh trên thủy sản. Kết quả cho thấy cao chiết Mai dương thể hiện hoạt tính kháng khuẩn tốt đối với 4 chủng vi khuẩn <i>Aeromonas dhakensis</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Edwardsiella ictaluri</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> . Từ kết quả nghiên cứu cho thấy, Mai dương là một dược liệu tiềm năng chứa nhiều các hợp chất kháng oxy hóa và kháng khuẩn.
Ngày hoàn thiện: 11/5/2021	
Ngày đăng: 25/5/2021	
TỪ KHÓA	
ABTS ⁺	
DPPH	
Kháng oxy hóa	
Mai dương	
Muồng trâu	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.4054>

* Corresponding author. Email: tmen@ctu.edu.vn

1. Giới thiệu

Stress oxy hóa là hiện tượng xuất hiện trong cơ thể sinh vật khi có sự mất cân bằng giữa việc sản xuất các gốc tự do và hoạt động của các chất kháng oxy hóa. Nhiều bệnh hiểm nghèo như ung thư, tiểu đường, các bệnh liên quan đến hệ thần kinh, tim mạch, viêm khớp, Alzheimer và nhiều bệnh khác đã được chứng minh có liên quan đến stress oxy hóa [1]. Các hợp chất chống oxy hóa như polyphenol và flavonoid có tác dụng làm sạch các gốc tự do như peroxide, hydroperoxide hoặc lipid peroxide và do đó ức chế các cơ chế oxy hóa dẫn đến các bệnh thoái hóa [2]. Bên cạnh đó, việc thâm canh hóa trong nuôi trồng thủy sản, nâng cao năng suất kết hợp với điều kiện biến đổi khí hậu tại vùng nuôi đã làm gia tăng tình hình dịch bệnh. Do vậy, việc tìm ra các giải pháp giúp tăng cường hệ miễn dịch tôm, cá giúp phòng bệnh là điều cần thiết [3]. Việc điều trị chủ yếu dựa vào các loại thuốc kháng sinh tổng hợp, đã làm cho hiện tượng quen thuốc, kháng thuốc do lạm dụng kháng sinh trong điều trị bệnh ngày càng tăng. Do đó, trong những năm gần đây việc tìm kiếm các hợp chất kháng oxy hóa, kháng khuẩn tự nhiên được ly trích từ thực vật được quan tâm và đẩy mạnh. Thực vật với nhiều ưu điểm như rẻ, dễ chuẩn bị, hiệu quả phòng bệnh cao do dễ hấp thu, ít tác dụng phụ trong quá trình điều trị bệnh và không ảnh hưởng đến môi trường cũng như không nguy hiểm đến đối tượng nuôi [4].

Muồng trâu (*Senna alata* còn được gọi là *Cassia alata*) là một loại thảo mộc phân bố rộng rãi của họ *Leguminosae*. Phạm vi phân bố rộng, mọc những kênh mương, nơi có độ ẩm và ven rừng. Cây chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học như phenolic (rhein, chrysaphanol, kaempferol, aloemodin và glycoside), anthraquinone (alatinone và alatonal) và terpenoids (sitosterol, stigmasterol và campesterol). Nhiều công trình nghiên cứu trên thế giới liên quan đến cây Muồng trâu đã chứng minh được những hoạt động dược lý quan trọng. Hoa, rễ, lá, hạt và vỏ cây thể hiện các hoạt tính sinh học như kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm, đái tháo đường... [5]. Dịch chiết từ lá và hoa của Muồng trâu được sử dụng để điều trị nhiễm giun đường ruột và rối loạn dạ dày [6].

Mai dương (*Mimosa pigra*) mọc dày đặc ở vùng đất ẩm ướt. Thân và lá cây có nhiều gai cứng dẫn từ gốc đến ngọn, quả cây có nhiều lông ngứa. Cây Mai dương cũng có một số đặc tính sinh học nhất định, có tác dụng để an thần nhẹ và chữa sốt. Ở vùng nhiệt đới Châu Phi, cây này được dùng trị tiêu chảy, bệnh lậu và nhiễm độc máu [7]. Thành phần hóa học của cây gồm các hợp chất flavonoid, quinon, saponin, sterol và tannin. Một số flavonoid được phân lập thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm [8].

Trên thế giới, nhiều nghiên cứu đã xác định hiệu quả của việc sử dụng chiết xuất từ thực vật giúp tôm, cá tăng trưởng tốt, tăng cường hệ miễn dịch và ức chế vi khuẩn gây bệnh [9]. Nhiều loài thực vật đã được xác định có hoạt tính sinh học cao cũng như có khả năng kháng khuẩn, kháng virus, kháng nấm, ký sinh trùng, kích thích tăng trưởng, kích thích tuyến sinh dục thành thực, chống stress, tăng cường miễn dịch [10]. Ở Việt Nam, thông tin khoa học về việc sử dụng chiết xuất thảo dược ức chế vi khuẩn, đặc biệt là vi khuẩn gây bệnh trên động vật thủy sản vẫn còn hạn chế.

Tuy nhiên, việc sử dụng hai loài thực vật trên chỉ dựa vào kinh nghiệm dân gian và có ít tài liệu nghiên cứu về hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn gây bệnh trên thủy sản của hai loài cây này. Do đó, nghiên cứu hoạt tính sinh học nhằm góp phần giải thích công dụng chữa bệnh của hai loài thực vật này, nhằm hạn chế việc sử dụng thuốc và hóa chất trong nuôi trồng thủy sản.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Phương tiện vật liệu thí nghiệm

Vật liệu: lá cây Muồng trâu (*Senna alata*) và Mai dương (*Mimosa pigra*) thu hái tại tỉnh Kiên Giang được định danh bởi ThS. Phùng Thị Hằng, Bộ môn Sinh, Khoa Sư phạm, Trường Đại học Cần Thơ theo hệ thống phân loại Cây cỏ Việt Nam (Phạm Hoàng Hộ, 2003).

Các chủng vi sinh vật *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas dhakensis*, *Edwardsiella ictaluri*, *Streptococcus agalactiae* được cung cấp từ Trung tâm quan trắc môi trường và bệnh thủy sản Nam bộ, Viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản 2, thành phố Hồ Chí Minh. Vi khuẩn được phục hồi trên môi trường trypto-casein soy broth.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Điều chế cao chiết: Lá cây Muồng trâu, Mai dương (Xem Hình 1) sau khi thu về được rửa sạch, cắt nhỏ và phơi khô. Mẫu sau khi phơi khô đến khối lượng không đổi được cho vào trong túi vải và ngâm trong ethanol 99° trong 5 lần, mỗi lần ngâm 24 giờ. Dịch chiết từ các lần ngâm được gom lại, lọc qua giấy lọc và cô quay tách dung môi thu được cao chiết ethanol.



Hình 1. Mẫu lá Muồng trâu (A) và Mai dương (B) sau khi phơi khô

Định tính các hợp chất tự nhiên: Việc định tính các hợp chất tự nhiên của cao chiết thực hiện theo Jasuja và cộng sự (2013) [11] có hiệu chỉnh, được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Phương pháp định tính thành phần hóa học trong cao chiết

Định tính	Thuốc thử	Nhận diện
Alkaloid	Wagner	Kết tủa nâu cam đến đỏ
Flavonoid	FeCl ₃ 5%	Kết tủa xanh đen
	H ₂ SO ₄ đậm đặc	Kết tủa vàng đậm đến màu cam, đỏ.
Steroid và Triterpenoid	Thuốc thử Shinoda	Dung dịch màu đỏ
	LiebermannBurchard	Dung dịch đổi màu xanh dương, lục, cam, đỏ.
Saponin	Rosenthaler	Dung dịch sẽ chuyển sang màu xanh lục hoặc tím
Tanin	Chì acetat bão hòa	Xuất hiện kết tủa
	Chì acetate bão hòa	Xuất hiện kết tủa
Glycoside	Thuốc thử Stiasny	Dung dịch xuất hiện màu đỏ
	Fehling	Xuất hiện kết tủa đỏ gạch sau khi đun cách thủy

Định lượng polyphenol tổng: Hàm lượng polyphenol được xác định theo phương pháp Singleton và cộng sự (1999) [12]. Hỗn hợp phản ứng gồm 250 μ L cao chiết trong 250 μ L nước và 250 μ L thuốc thử Folin-Ciocalteu (1:4), lắc đều. Sau đó, thêm vào 250 μ L Na₂CO₃ 10% rồi ủ 30 phút ở 40°C. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm. Gallic acid được sử dụng như chất đối chứng dương.

Định lượng flavonoid tổng: Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định theo Bag và cộng sự (2015) [13]. Hỗn hợp phản ứng gồm 200 μ L dung dịch cao chiết được pha trong ethanol (500 μ g/mL), 200 mL nước và 40 μ L NaNO₂ 5% lắc đều rồi để yên 5 phút. Sau đó, hỗn hợp được tiếp tục thêm 40 μ L AlCl₃ 10%, lắc đều. Hỗn hợp phản ứng sau khi ủ 6 phút được thêm 400 μ L NaOH 1 M và nước cho đủ 1 mL. Dung dịch phản ứng được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 510 nm. Quercetin được sử dụng như chất đối chứng dương.

Khảo sát hoạt tính trung hòa gốc tự do theo phương pháp DPPH: Khả năng kháng oxy hóa của các cao chiết ethanol được xác định theo miêu tả của Sharma và cộng sự (2009) [14]. Hỗn hợp phản ứng gồm 100 μ L DPPH (6x10⁻⁴ M) và 100 μ L cao chiết ethanol của mỗi loài cây Muồng trâu (ở nồng độ cao chiết 0; 25; 50; 100; 200; 400; 800 μ g/mL) và Mai dương (ở nồng độ cao

chiết 0; 25; 50; 75; 100; 125 $\mu\text{g/mL}$). Hỗn hợp phản ứng được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong thời gian 60 phút và đo độ hấp thụ quang phổ của DPPH ở bước sóng 517 nm. Gallic acid được sử dụng như chất đối chứng dương.

Khảo sát hiệu quả trung hòa gốc tự do ABTS⁺: Hoạt động loại bỏ gốc tự do được xác định bằng phương pháp khử màu ABTS⁺ mô tả bởi Nikolaos và cộng sự (2004) [15]. Dung dịch ABTS⁺ được chuẩn bị bằng cách cho 2 mL dung dịch ABTS⁺ 7 mM và 2 mL dung dịch K₂S₂O₈ 2,45 mM. Ủ dung dịch trong bóng tối 16 giờ, sau đó pha loãng bằng ethanol (khoảng 50 lần), điều chỉnh độ hấp thụ của dung dịch ở bước 734 nm có mật độ quang phổ là $0,7 \pm 0,05$. Tiến hành khảo sát hoạt động trung hòa gốc tự do ABTS⁺ bằng cách cho 990 μL ABTS⁺ vào 10 μL cao chiết. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong tối 6 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm. Gallic acid được sử dụng như chất đối chứng dương.

Khảo sát năng lực khử sắt (RP: reducing power): Năng lực khử sắt của cao chiết ethanol được thực hiện theo phương pháp Padma và cộng sự (2013) [16]. Hỗn hợp phản ứng lần lượt gồm 0,5 mL cao chiết, 0,5 mL dung dịch đệm phosphate (0,2 M, pH = 6,6) và 0,5 mL K₃Fe(CN)₆ 1%. Sau khi hỗn hợp phản ứng được ủ ở 50°C trong 20 phút, thêm 0,5 mL CCl₃COOH 10% rồi ly tâm 3000 vòng/phút trong 10 phút. Phần dịch sau khi ly tâm được lấy 0,5 mL lớp trên cho vào 0,5 mL nước và 0,1 mL FeCl₃ 0,1%, lắc đều. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 700 nm. Gallic acid được sử dụng như chất đối chứng dương.

Phương pháp Phosphomolybdenum (TAA): Thử nghiệm được tiến hành theo phương pháp của Prieto và cộng sự (1999) [17]. Cho 100 μL dịch cao chiết khảo sát phản ứng với 1000 μL dung dịch thuốc thử, đậy kín và được ủ ở 95°C trong 90 phút. Sau đó, dung dịch phản ứng được làm lạnh về nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ của dung dịch sau phản ứng được đo ở bước sóng 695 nm. Gallic acid được sử dụng như chất đối chứng dương.

Phương pháp xác định hoạt tính kháng khuẩn: Sử dụng phương pháp khuếch tán đĩa thạch với nồng độ cao chiết 10 mg/mL pha trong dung môi DMSO 10%. Dịch nuôi vi khuẩn được pha loãng trong nước muối sinh lý tương đương độ đục $\geq 0,5$ Mc Farland (mật số vi khuẩn là 10^7) được trải đều trên môi trường TSA. Đĩa thạch được để khô 15 phút trước khi đục lỗ giếng thạch có đường kính 6 mm. Cao chiết được pha trong DMSO 10% được bổ sung vào giếng thạch với thể tích 100 μL . Các kháng sinh tetracycline được sử dụng như đối chứng dương và được pha thành các nồng độ 1000 $\mu\text{g/mL}$. Các đĩa thạch được ủ ở 32°C trong 24 - 48 giờ. Đường kính vùng ức chế được đo bằng thước đo đơn vị mm.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả định tính và định lượng các hợp chất tự nhiên

Kết quả định tính sơ bộ thành phần hóa học có trong cao ethanol được chiết từ lá của cây Muồng trâu và Mai dương cho thấy sự hiện diện của các thành phần có hoạt tính sinh học khác nhau như: alkaloid, flavonoid, phenolic, saponin, steroids, tannin được trình bày ở trong bảng 2.

Bảng 2. Thành phần hóa học có trong cao chiết ethanol từ lá của cây Muồng trâu và Mai dương

Hợp chất	Muồng trâu	Mai dương
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+++	+
Saponin	+	+
Tanin	+	++
Steroids và Triterpenoid	+	+
Glycosides	+	-

Ghi chú: (+) Hiện diện; (-) Không hiện diện

Kết quả bảng 2 cho thấy, các thành phần hóa học gồm flavonoid, alkaloid hiện diện ở hai cây Muồng trâu và Mai dương. Tuy nhiên, hợp chất glycoside chỉ hiện diện ở cây Muồng trâu mà

không phát hiện ở Mai dương. Các hợp chất phenol và flavonoid được chứng minh là có liên quan đến hoạt động kháng oxy hóa trong hệ thống sinh học [18]. Như vậy, nghiên cứu chứng minh cao ethanol được chiết từ lá của hai loài cây trên cũng chứa nhiều hợp chất sinh học đầy tiềm năng ứng dụng.

Hàm lượng polyphenol tổng (TPC) với chất chuẩn là gallic acid trong dãy nồng độ từ 2 đến 20 $\mu\text{g/mL}$ có phương trình hồi quy tuyến tính $y = 0,0759x + 0,0346$ ($R^2 = 0,9956$). Hàm lượng flavonoid toàn phần (TFC) từ chất chuẩn quercetin trong dãy nồng độ từ 20 đến 100 $\mu\text{g/mL}$ với phương trình hồi quy tuyến tính $y = 0,0067x - 0,0025$ ($R^2 = 0,997$). Trên cơ sở các đường chuẩn này, kết quả hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid toàn phần được xác định và trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng phenol tổng và flavonoid toàn phần của cao chiết ethanol từ lá của cây Muồng trâu và Mai dương

Phương pháp định lượng	Cao chiết Muồng trâu	Cao chiết Mai dương
TPC (mg GAE/g)	203,57	306,08
TFC (mg QE/g)	46,31	38,71

Theo kết quả được trình bày trong bảng 3, hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid của cao chiết ethanol cây Muồng trâu lần lượt là 203,57 mgGAE/g; 46,31 mgQE/g thấp hơn cao chiết methanol trong nghiên cứu của Nornasriq và cộng sự (2019) [19] với hàm lượng polyphenol và flavonoid là 385,37 mgGAE/g; 447,42 mgQE/g. Hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid của cao chiết ethanol cây Mai dương là 306,08 mgGAE/g; 38,71 mgQE/g cao hơn nghiên cứu của Rakotomalala và cộng sự (2013) [20] ở các nồng độ chiết xuất khác nhau lần lượt là $42,25 \pm 1,43 \mu\text{g/mL}$; $33,36 \pm 0,63 \mu\text{g/mL}$.

3.2. Hiệu quả kháng oxy hóa in vitro của cao chiết

Hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH

Kết quả cho thấy, hiệu suất loại bỏ gốc tự do DPPH của cao chiết Muồng trâu tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết, khi nồng độ cao chiết tăng từ 25 $\mu\text{g/mL}$ đến 800 $\mu\text{g/mL}$ thì hiệu suất loại bỏ gốc tự do cũng tăng dần từ $5,48 \pm 1,23\%$ đến $83,30 \pm 1,23\%$ (Bảng 4).

Bảng 4. Hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH của cao chiết ethanol lá Muồng trâu

Nồng độ cao chiết	Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH (%)
0	$0,00 \pm 0,00^f$
25	$5,48 \pm 1,18^{ef}$
50	$7,87 \pm 1,59^e$
100	$17,38 \pm 4,52^d$
200	$32,59 \pm 1,43^c$
400	$54,06 \pm 0,50^b$
800	$83,30 \pm 1,20^a$

Kết quả thực nghiệm cho thấy, cao chiết cây Mai dương có khả năng trung hòa gốc tự do DPPH. Khi nồng độ cao chiết Mai dương tăng từ 25 $\mu\text{g/mL}$ đến 125 $\mu\text{g/mL}$ thì hiệu suất loại bỏ gốc tự do cũng tăng dần từ $12,08 \pm 4,95\%$ đến $86,61 \pm 1,47\%$ thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH của cao chiết ethanol lá Mai dương

Nồng độ cao chiết	Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH (%)
0	$0,00 \pm 0,00^e$
25	$12,08 \pm 4,95^d$
50	$35,92 \pm 7,17^c$
75	$66,34 \pm 3,00^b$
100	$78,23 \pm 4,10^a$
125	$86,61 \pm 1,47^a$

Từ kết quả bảng 4 và 5 cho thấy, hiệu suất loại bỏ gốc tự do DPPH của cao chiết ethanol lá cây Muồng trâu và Mai dương đều tăng tuyến tính với nồng độ cao chiết. Hiệu quả loại bỏ gốc tự do của hai cao chiết lá cây Muồng trâu, Mai dương được xác định thông qua giá trị IC_{50} . Kết quả IC_{50} của hai loại cao chiết đều thấp hơn nhiều khi so với chất chuẩn là acid galic. Cụ thể, cao chiết ethanol lá Muồng trâu thấp hơn 109,3 lần ($IC_{50}= 357,19$) và cao chiết lá Mai dương thấp hơn 18,5 lần ($IC_{50}= 67,12$), với acid galic có $IC_{50}= 3,62$. So với nghiên cứu cây khác loài, cao chiết Muồng trâu có khả năng hấp thu gốc tự do thấp hơn loài *Senna italic* với giá trị IC_{50} là 38,18 $\mu\text{g/ml}$ khi khảo sát cùng phương pháp DPPH [21].

Hiệu quả trung hòa gốc tự do ABTS⁺

Khả năng kháng oxy hóa của hai cao chiết Muồng trâu và Mai dương được khảo sát dựa trên hàm lượng chất kháng oxy hóa có trong từng loại cao chiết của cây được tính tương đương $\mu\text{g/mL}$ acid galic. Phần trăm ức chế gốc tự do của acid galic tăng từ 17,73% ở nồng độ 1 $\mu\text{g/mL}$ đến 94,48% ở nồng độ 3,5 $\mu\text{g/mL}$. Để xác định khả năng trung hòa gốc tự do ABTS⁺, cao chiết ethanol lá Muồng trâu được pha loãng thành dãy nồng độ từ 10-70 $\mu\text{g/mL}$ và Mai dương được pha loãng thành dãy nồng độ từ 15-90 $\mu\text{g/mL}$. Phần trăm ức chế gốc tự do của cao chiết Muồng trâu tăng từ $13,084 \pm 1,349\%$ ở nồng độ 10 $\mu\text{g/mL}$ đến $80,149 \pm 0,372\%$ ở nồng độ 70 $\mu\text{g/mL}$. Tương tự, phần trăm ức chế gốc tự do của cao chiết Mai dương tăng từ $27,040 \pm 4,250\%$ ở nồng độ 15 $\mu\text{g/mL}$ đến $96,032 \pm 0,544\%$ ở nồng độ 90 $\mu\text{g/mL}$. Khả năng kháng oxy hóa cũng như hiệu quả trung hòa gốc tự do của cao chiết từ lá cây Muồng trâu và Mai dương được so sánh dựa vào giá trị IC_{50} . Giá trị IC_{50} của hai cao được tính dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính trình bày trong bảng 6.

Bảng 6. Phương trình hồi quy tuyến tính hiệu suất trung hòa gốc tự do và IC_{50}

Mẫu	Phương trình hồi quy tuyến tính	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Acid galic	$y = 28,149x - 3,1255$ ($R^2 = 0,9897$)	$1,88 \pm 0,0062^b$
Cao Muồng trâu	$y = 1,1556x + 3,3229$ ($R^2 = 0,9901$)	$40,39 \pm 0,388^a$
Cao Mai dương	$y = 1,0818x + 7,606$ ($R^2 = 0,9691$)	$39,22 \pm 1,186^a$

Kết quả bảng 6 cho thấy khả năng trung hòa gốc tự do ABTS⁺ của hai loại cao chiết đều thấp hơn chất chuẩn acid galic. Cao chiết Muồng trâu ($IC_{50}=40,39$ $\mu\text{g/mL}$) và cao chiết Mai dương ($IC_{50}= 39,22$ $\mu\text{g/mL}$) có khả năng trung hòa gốc tự do ATBS⁺ không khác biệt ý nghĩa thống kê mức 5%. Nhưng thấp hơn lần lượt là 21,49 lần và 20,86 lần khi so sánh với acid galic ($IC_{50}= 1,88$ $\mu\text{g/mL}$). Tuy nhiên, cao chiết Muồng trâu (*Senna alata*) có khả năng trung hòa gốc tự do cao hơn *Senna italic* với giá trị IC_{50} là 43,18 $\mu\text{g/mL}$ [21].

Hiệu quả trung hòa năng lực khử sắt

Hiệu quả kháng oxy hóa của cây Muồng trâu và Mai dương dựa trên khả năng khử sắt được tính tương đương với nồng độ acid galic ($\mu\text{g/mL}$). Kết quả được trình bày trong bảng 7 và 8.

Bảng 7. Hiệu quả khử sắt của cao chiết ethanol Muồng trâu

Nồng độ cao chiết	Khả năng khử sắt (%)	Hàm lượng acid galic tương đương ($\mu\text{g/mL}$)
0	$0 \pm 0,00^f$	0,00 _f
30	$29,89 \pm 2,46^e$	3,1 ^e
90	$57,68 \pm 1,60^d$	5,15 ^d
120	$65,17 \pm 0,78^c$	6,24 ^c
240	$78,69 \pm 0,61^b$	10,17 ^b
400	$84,34 \pm 0,56^a$	13,83 ^a

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trên cùng một cột biểu diễn sự khác biệt không ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey

Kết quả cho thấy, khi tăng dần nồng độ cao chiết Muồng trâu từ 30 - 400 $\mu\text{g/mL}$ thì hàm lượng chất kháng oxy hóa tăng dần tương ứng từ 3,1 - 13,83 $\mu\text{g/mL}$ (Bảng 7). Kết quả này cho thấy

rằng, hiệu quả kháng oxy hóa của cao chiết Muồng trâu ($IC_{50} = 331,03 \pm 14,32 \mu\text{g/mL}$) thấp hơn khả năng kháng oxy hóa của chất chuẩn là gallic acid ($IC_{50} = 10,31 \pm 0,0716 \mu\text{g/mL}$) 32,10 lần.

Tương tự, khi tăng nồng độ cao chiết Mai dương từ 5 - 30 $\mu\text{g/mL}$ thì hàm lượng chất kháng oxy hóa tăng dần tương ứng từ 1,06- 10,7 $\mu\text{g/mL}$ (Bảng 8).

Bảng 8. Hiệu quả khử sắt của cao chiết ethanol Mai dương

Nồng độ cao chiết	Khả năng khử sắt (%)	Hàm lượng acid gallic tương đương ($\mu\text{g/mL}$)
0	$0 \pm 0,00^h$	$0,00^h$
5	$24,25 \pm 1,00^f$	$1,06^f$
10	$51,23 \pm 1,12^e$	$2,44^e$
15	$65,14 \pm 0,92^d$	$3,98^d$
20	$74,67 \pm 0,50^c$	$6,01^c$
35	$79,35 \pm 0,42^b$	$7,69^b$
30	$84,46 \pm 0,34^a$	$10,7^a$

Kết quả cho thấy khả năng khử ion Fe^{3+} thành Fe^{2+} của cao chiết Mai dương ($IC_{50} = 32,16 \pm 0,24 \mu\text{g/mL}$) thấp hơn khi 3,1 lần khi so sánh với acid gallic ($IC_{50} = 10,31 \pm 0,0716 \mu\text{g/mL}$). Điều này cho thấy khả năng kháng oxy hóa ở phương pháp khử sắt của cao chiết lá Mai dương tương đối cao.

Hiệu quả trung hòa năng lực khử Phosphomolybdenum

Xác định khả năng khử phức Mo của cao chiết ethanol Muồng trâu và Mai dương bằng cách pha loãng cao chiết thành dãy nồng độ tương ứng. Đối với cao chiết lá Muồng trâu là từ 23 - 182 $\mu\text{g/mL}$ và cao chiết lá Mai dương là từ 14 - 68 $\mu\text{g/mL}$. Khả năng kháng oxy hóa của cao chiết ethanol từ lá cây Mai dương và Muồng trâu được so sánh dựa vào giá trị IC_{50} . Giá trị IC_{50} của hai cao chiết được tính dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính của từng cao được trình bày trong bảng 9.

Bảng 9. Phương trình hồi quy tuyến tính giá trị hấp thu và IC_{50}

Mẫu	Phương trình hồi quy tuyến tính	IC_{50}
Acid gallic	$y = 0,015x + 0,1206$ ($R^2 = 0,9863$)	$24,91 \pm 0,463^c$
Cao Muồng trâu	$y = 0,0039x + 0,0336$ ($R^2 = 0,9928$)	$119,59 \pm 1,1^a$
Cao Mai dương	$y = 0,0077x - 0,003$ ($R^2 = 0,9964$)	$65,32 \pm 1,128^b$

Từ kết quả cho thấy khả năng khử phức Mo của cao chiết Muồng trâu và Mai dương có giá trị IC_{50} đều thấp hơn khi so sánh với IC_{50} của chất chuẩn acid gallic. Cụ thể cao chiết Muồng trâu thấp hơn 4,8 lần và cao chiết Mai dương thấp hơn 2,62 lần so với acid gallic.

3.3. Kết quả hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết

Khả năng kháng khuẩn của hai loại cao chiết được xác định dựa trên khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn thể hiện qua đường kính vòng kháng khuẩn được tạo ra trên đĩa petri được trình bày ở bảng 10.

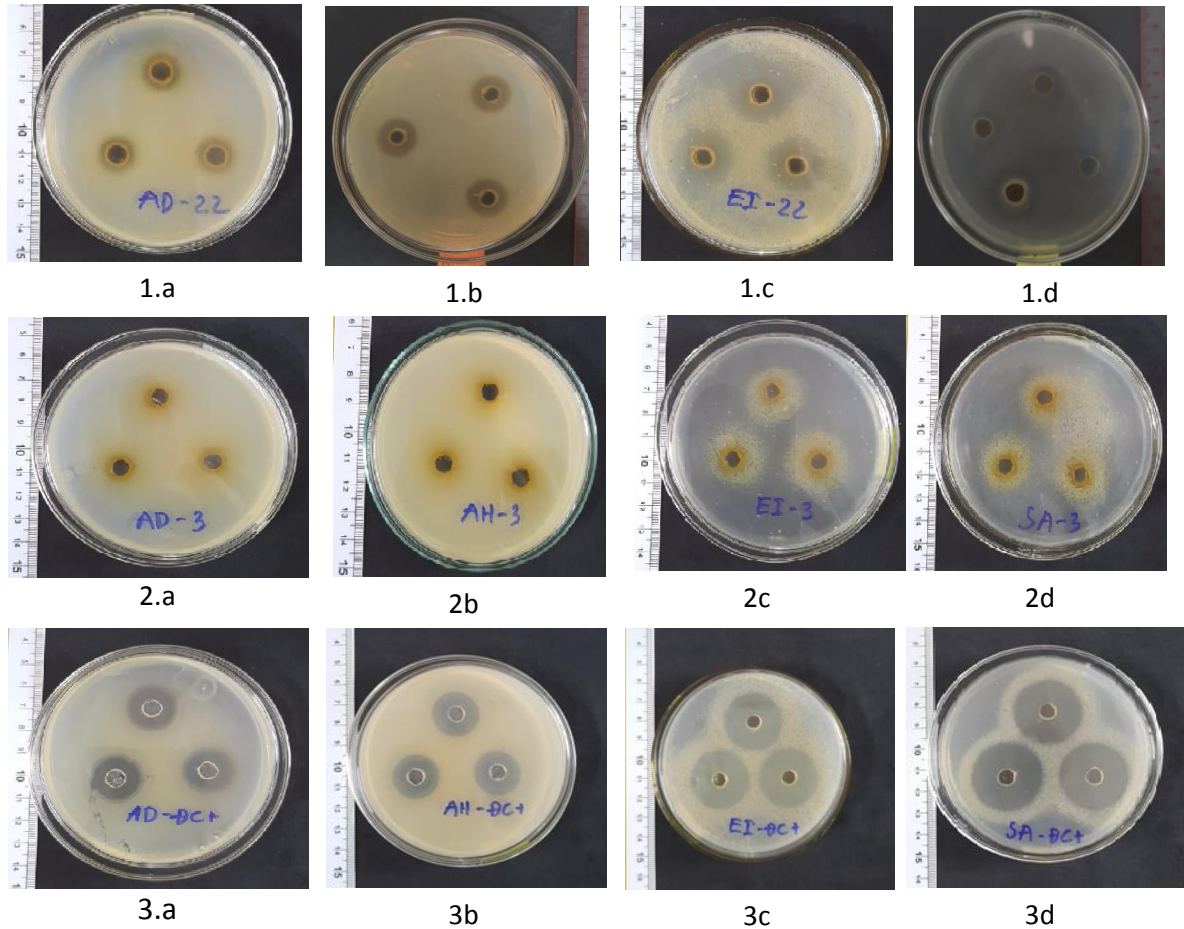
Bảng 10. Khả năng kháng khuẩn của cao chiết Muồng trâu và Mai dương

Chủng vi khuẩn	Cao chiết Muồng trâu	Cao chiết Mai dương
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	+
<i>Edwardsiella ictaluri</i>	-	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	-	+
<i>Aeromonas dhakensis</i>	-	+

Ghi chú: (-): không có hoạt tính kháng khuẩn; (+) có hoạt tính kháng khuẩn

Kết quả cho thấy, cao chiết Muồng trâu không kháng khuẩn đối với 4 loài vi khuẩn: *A.dhakensis*, *A.hydrophila*, *E.ictaluri*, *S.agalactiae*. Nhưng ngược lại cao chiết Mai dương có khả năng kháng khuẩn tốt đối với 4 loài vi khuẩn, đường kính kháng khuẩn lần lượt là

$2,6667 \pm 0,1528^b$ mm; $3,9670 \pm 0,2080^a$ mm $4,3000 \pm 0,3610^a$ mm; $3,1330 \pm 0,2080^b$ mm (Hình 2). Sự xuất hiện vòng kháng khuẩn xung quanh khoan giếng thạch có thể do các chất có hoạt tính kháng khuẩn trong cao chiết khuếch tán từ giếng thạch sang mặt thạch xung quanh và ức chế sự phát triển của vi khuẩn.



Hình 2. Khả năng kháng khuẩn của cao chiết Mai dương (1), Muồng trâu (2) và tetracycline (3) với các dòng vi khuẩn

a: *Aeromonas dhakensis*; b: *Aeromonas hydrophila*; c: *Edwardsiella ictaluri*; d: *Streptococcus agalactiae*

4. Kết luận

Nghiên cứu cho thấy, cao chiết ethanol từ lá cây Muồng trâu và Mai dương có chứa các hợp chất hóa học có dược tính tốt. Kết quả khảo sát *in vitro* (sử dụng bốn phương pháp DPPH, ABTS, RP và TAA) chứng minh cao chiết cây Mai dương có hoạt tính kháng oxy hóa tốt hơn Muồng trâu. Như vậy, cây Muồng trâu và Mai dương có nhiều tiềm năng cho các nghiên cứu về các dược chất có tác dụng kháng oxy hóa trên người và động vật thủy sản. Đồng thời, cao chiết Mai dương có thể sử dụng như một chất có khả năng diệt khuẩn và có tiềm năng là nguồn thực phẩm giúp tôm, cá tăng cường khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh.

5. Lời cảm ơn

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Ths. Nguyễn Thị Hiền, Trung tâm quan trắc môi trường và bệnh thủy sản Nam bộ, Viện nghiên cứu nuôi trồng Thủy sản 2, TP.HCM đã cung cấp các chủng vi khuẩn cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] S. Karbach, P. Wenzel, A. Waisman, T. Munzel, and A. Daiber, "eNOS uncoupling in cardiovascular diseases-the role of oxidative stress and inflammation," *Curr. Pharm. Des.*, vol. 20, pp. 3579-3594, 2014.
- [2] Y. Y. Wu, W. Li, Y. Xu, E. H. Jin, and Y. Y. Tu, "Evaluation of the antioxidant effects of four main theaflavin derivatives through chemiluminescence and DNA damage analyses," *Journal of Zhejiang University Science B.*, vol. 12, no. 9, pp. 744-751, 2011.
- [3] K. Pholdaeng and S. Pongsamart, "Studies on the immunomodulatory effect of polysaccharide gel extracted from *Durio zibethinus* in *Penaeus monodon* shrimp against *Vibrio harveyi* and WSSV," *Fish Shellfish Immunol.*, vol. 28, pp. 555-561, 2010.
- [4] V. H. Ngo, "The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture," *Aquaculture*, vol. 446, pp. 88-96, 2015.
- [5] O. S. Oladeji, F. E. Adelowo, A. P. Oluyori, and D. T. Bankole, "Ethnobotanical Description and Biological Activities of *Senna alata*," *Evid Based Complement Alternat Med.*, vol. 2020, 2020, Art. no. 2580259, doi:10.1155/2020/2580259.
- [6] J. Anbu, M. Anita, and R. Sathiya, "In Vitro Anthelmintic activity of leaf ethanolic extract of *Cassia alata* and *Typha angustifolia*," *MSRUAS-SASTech Journal*, vol. 14, no. 2, pp. 41-44, 2013.
- [7] W. M. Chen, E. K. James, J. H. Chou, S. Y. Sheu, S. Z. Yang, and J. I. Sprent, " β -Rhizobia from *Mimosa pigra*, a newly discovered invasive plant in Taiwan," *New phytologist*, vol. 168, no. 3, pp. 661-675, 2005.
- [8] G. Rakotomalala et al. "Extract from *Mimosa pigra* attenuates chronic experimental pulmonary hypertension," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 148, no.1, pp. 106-116, 2013.
- [9] A. Syahidah, C. R. Saad, H. M. Daud, and Y. M. Abdelhadi, "Status and potential of herbal applications in aquaculture," *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, vol. 14, no. 1, pp. 27-44, 2015.
- [10] T. Citarasu, "Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry," *Aquaculture International*, vol. 18, no. 3, pp. 403-414, 2010.
- [11] R. N. S. Yadav and M. Agarwala, "Phytochemical analysis of some medicinal plants," *J. Phytol.*, vol. 3, no. 12, pp. 10-14, 2011.
- [12] V. L. Singleton, R. Orthofer, and R. M. Lamuela-Raventos, "Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent," *Methods in Enzymology*, vol. 299C, no. 1, pp. 152-178, 1999.
- [13] G. C. Bag, P. G. Devi, and T. Bhaigyabati, "Assessment of total flavonoid content and antioxidant activity of methanolic rhizome extract of three *Hedychium* species of Manipur valley," *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, vol. 30, no. 1, pp. 154-159, 2015.
- [14] O. P. Sharma and T. K. Bhat, "DPPH antioxidant assay revisited," *Food chemistry*, vol. 113, no. 4, pp. 1202-1205, 2009.
- [15] N. Nikolaos, L. F. Wang, M. Tsimidou, and H. Y. Zhang, "Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS^{•+} assay," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, no. 15, pp. 4669-4674, 2004.
- [16] R. Padma, N. G. Parvathy, V. Renjith, and P. R. Kalpana, "Quantitative estimation of tannins, phenols and antioxidant activity of methanolic extract of *Imperata cylindrical*," *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, vol. 4, no. 1, pp. 73-77, 2013.
- [17] P. Prieto, M. Pineda, and M. Aguilar, "Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E," *Anal Biochem*, vol. 269, pp. 337-341, 1999.
- [18] H. C. Chang, G. J. Huang, D. C. Agrawal, C. L. Kuo, C. R. Wu, and H. S. Tsay, "Antioxidant activities and polyphenol contents of six folk medicinal ferns used as "Gusuibu," *Botanical Studies*, vol. 48, pp. 397-406, 2007.
- [19] N. A. Nordin, N. B. M. Zin, N. F. Fazilah, H. Wasoh, A. B. Ariff, and M. Halim., "Phytochemicals, antioxidant and antimicrobial properties of *Senna alata* and *Senna tora* leaf extracts against bacterial strains causing skin infections," *Scicell*, vol. 2, no. 1, pp. 19-25, 2019.
- [20] G. Rakotomalala, C. Agard, P. Tonnerre, A. Tesse, S. Derbré, S. Michalet, and P. Pacaud, "Extract from *Mimosa pigra* attenuates chronic experimental pulmonary hypertension," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 148, no. 1, pp. 106-116, 2013.
- [21] Jothi, R. Shunmuga, V. Bharathy, and F. Uthayakumari, "Antioxidant potential of aerial part of *Senna italica* Sub Species *micrantha* Mill," *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 7, no. 9, 2015, Art. no. 621.