

## **MỘT SỐ ĐẶC TRƯNG HOÁ SINH VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN CỦA DỊCH CHIẾT QUẢ NHÀU (*Morinda citrifolia* L.)**

**VÕ THỊ MAI HƯƠNG, TRẦN THANH PHONG**  
*Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế*

Ngày nay, việc tìm kiếm các loại thuốc có khả năng chữa bệnh hiệu quả, đặc biệt là các loại thuốc có nguồn gốc từ các nguồn dược thảo thiên nhiên là mối quan tâm đặc biệt của các nhà hoá sinh và y dược trên thế giới. Theo Tổ chức Sức khoẻ thế giới (WHO), cho đến nay, trong khoảng 20.000 cây thuốc đã phát hiện chỉ có khoảng 50 cây được khai thác trong công nghiệp hoá dược. Nhiều cây thuốc được thu hái và chế biến chỉ mới theo kinh nghiệm chứ chưa được tiêu chuẩn hoá cả định tính và định lượng, khó cho phép tạo ra những sản phẩm đồng đều. Chính vì vậy những khảo sát thành phần hoá học và tác dụng sinh học của cây thuốc là rất cần thiết nhằm tạo cơ sở khoa học để đánh giá nguồn dược liệu và ứng dụng vào việc chữa bệnh.

Cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.) thuộc chi Nhàu (*Morinda* L.) họ Cà phê (Rubiaceae) là cây có rễ được sử dụng chữa bệnh cao huyết áp và quả được ăn với muối giúp dễ tiêu, nhuận tràng, chữa ho, cảm hen, thũng, đái đường [6]. Với mục đích tìm hiểu rõ hơn cây dược liệu dân gian quen thuộc này, đồng thời nhằm kiểm chứng tác dụng kháng khuẩn của nó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu “Một số đặc trưng hoá sinh và khả năng kháng khuẩn của dịch chiết quả Nhàu (*Morinda citrifolia* L.)”.

### **I. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

- Đối tượng: Quả nhàu (*Morinda citrifolia* L.) chín.
- Các phương pháp xác định thành phần hoá sinh:

Định lượng đường khử bằng phương pháp Bertrand; Định lượng protein bằng phương pháp Lowry; Định lượng lipid bằng phương pháp dùng Soxhlet; Định lượng cellulose bằng phương pháp thủy phân bằng acid; Định lượng vitamin C bằng phương pháp chuẩn độ với 2,6-dichlorophenol (DPIP) [7, 9]; Xác định hoạt độ enzym catalase bằng phương pháp chuẩn độ với  $KMnO_4$ . Xác định hoạt độ enzym peroxidase bằng phương pháp so màu. Hàm lượng glutation dạng khử được đo bằng phương pháp hóa học với thuốc thử Ellman [3]. Chỉ số peroxid hóa lipid (LP) được xác định theo phương pháp Placer (1966).

- Phương pháp chiết flavonoid [8]:

+ Chiết và định lượng flavonoid toàn phần: flavonoid toàn phần được chiết qua Soxhlet bằng dung môi ethanol. Chế phẩm thu được gọi là cao toàn phần (CT).

+ Chiết và định lượng flavonoid tổng số theo quy trình B.C. Talli, chế phẩm được ký hiệu là FT.

+ Quy trình chiết phân lớp: Mẫu được ngâm chiết rút 3 lần/3 ngày với hỗn hợp MeOH: H<sub>2</sub>O (9: 1), cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cặn tổng MeOH (ký hiệu là CF<sub>m</sub>). Chiết và thu cặn tổng MeOH tương tự như trên, thêm khoảng 100-300ml nước cất vào cặn và chiết phân lớp lần lượt với n-Hexan, EtOAc, n-Butanol. Loại dung môi trên mỗi cách thủy thu được cao chiết tương ứng, ký hiệu là CF<sub>h</sub>, CF<sub>e</sub> và CF<sub>b</sub>.

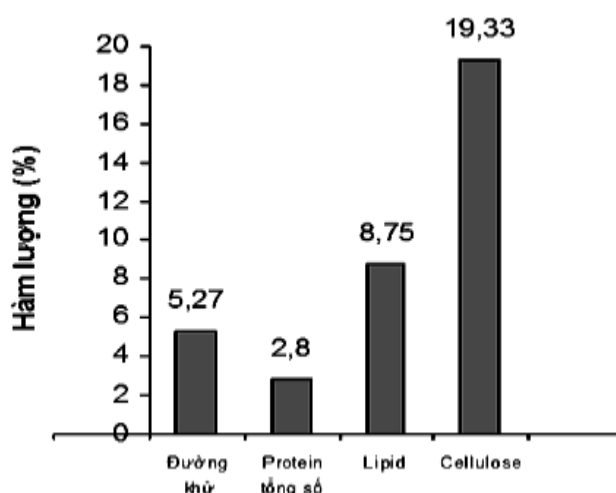
- Định tính flavonoid bằng các phản ứng hoá học đặc trưng: Phản ứng Shinoda; phản ứng với dung dịch kiềm đặc; phản ứng với acid sulphuric đặc; phản ứng với  $FeCl_3$ ; phản ứng định tính catechin [2].

- Thử hoạt tính kháng vi sinh vật theo phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch [1]. Các chủng vi sinh vật (VSV) kiểm định đại diện gây bệnh cho người do Trung tâm Kiểm nghiệm Dược, Mỹ phẩm-Thừa Thiên Huế cung cấp, gồm: Vi khuẩn Gram (-): *Escherichia coli*; *Salmonella typhi* và vi khuẩn Gram (+): *Staphylococcus aureus*; *Bacillus pumilus*.

- Các số liệu thực nghiệm được xử lý thống kê trên chương trình MS-Excel. Trung bình mẫu  $\pm$  sai số chuẩn.

## II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 1. Một số thành phần hóa sinh của quả Nhàu



Hình 1. Hàm lượng một số thành phần hoá sinh trong quả Nhàu

Kết quả phân tích một số thành phần hóa sinh trong dịch chiết quả nhàu (hình 1) cho thấy: Hàm lượng cellulose trong quả nhàu (19,33%) cao hơn hẳn so với đường khử (5,27%), protein (2,8%) và lipid (8,75%).

### 2. Hoạt độ của enzyme chống oxy hoá (catalase, peroxidase) và hàm lượng một số chất chống oxy hóa trong quả Nhàu

Catalase (C-ase) là enzyme chứa sắt tìm thấy trong tất cả mô hiếu khí, xúc tác cho phản ứng phân giải  $H_2O_2$  thành  $H_2O$  và  $O_2$ . Trong hệ thống enzyme antioxidant (enzyme chống oxy hóa) thì C-ase là một trong những enzyme quan trọng nhất, có tác dụng loại trừ  $H_2O_2$  tích tụ trong tế bào. Kết quả nghiên cứu cho thấy hoạt độ riêng của C-ase trong quả Nhàu rất cao, đạt 32,626 U/mgprotein (bảng 1). Hoạt độ của enzyme này ở quả Nhàu cao hơn so với một số đối tượng khác như Dứa xanh 2,38 U/mg protein, Dưa leo 3,03 U/mg protein, vỏ Nha đam non 25,33 U/mg protein, ruột Nha đam non 9,44 U/mg protein, củ Gừng 0,06 U/mg protein, hạt Tiêu 1,17 U/mg protein [4].

**Hoạt độ catalase và peroxidase trong quả Nhàu**

Hoạt độ enzyme			
Catalase		Peroxidase	
Hoạt độ chung	Hoạt độ riêng (U/mg protein)	Hoạt độ chung	Hoạt độ riêng (U/mg protein)
1,420 ± 0,281	32,626 ± 0,316	2,271 ± 0,042	68,818 ± 0,012

Enzyme peroxidase (P-ase) có mặt ở động vật và thực vật, tác động lên H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và peroxide hữu cơ trong sự hiện diện của chất nhận oxy. Peroxidase ngăn chặn sự nhiễm độc của tế bào bằng cách phân hủy H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> được tạo thành trong quá trình trao đổi chất. Ngoài ra enzyme này còn xúc tác cho các phản ứng oxy hóa nhiều loại polyphenol và amime thơm, tạo thành các sản phẩm khác nhau.

Hoạt độ peroxidase của quả Nhàu rất cao (68,818U/mg protein). So sánh với hoạt độ của enzyme này ở vỏ nha đam non (0,44 U/mg protein), ở ruột nha đam non (0,12 U/mg protein) và một số đối tượng cây dược liệu khác thì hoạt độ enzyme P-ase trong nghiên cứu này của quả Nhàu cao hơn rất nhiều [6].

**\* Một số hợp chất chống oxy hoá**

Trong quá trình loại gốc tự do, các chất chống oxy hoá tự nhiên có trọng lượng phân tử thấp có mặt trong các hệ thống sinh học cũng thường được chú ý, trong đó glutation dạng khử (GSH) đóng vai trò quan trọng. Khi nồng độ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> trong tế bào thấp, glutation peroxydase là hệ thống bảo vệ chính của tế bào. Khi nồng độ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> lớn gây độc hại thì C-ase bước vào hoạt động. Bên cạnh đó vitamin C (VTMC) được xem như là một thuốc có tác dụng chống oxy hoá, chống gốc tự do. Chỉ số peroxid hoá lipid (LP) được xác định như là chỉ số nói lên tác động của gốc oxy phân tử lên màng tế bào mà có thể mô tả như phản ứng giữa các gốc phát sinh từ O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O và của acid béo không no [5]. Kết quả định lượng một số chất có tác dụng chống oxy hóa trên trong quả nhàu như sau:

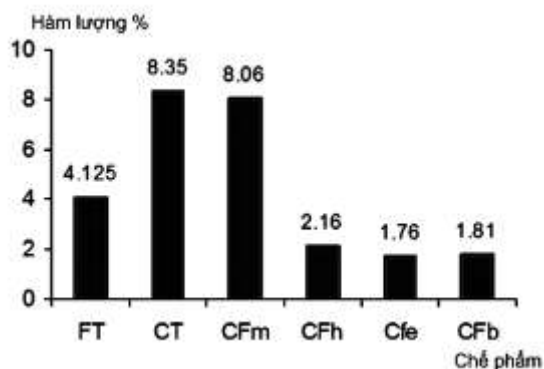
- Hàm lượng glutation dạng khử (GSH) trong quả Nhàu khoảng 2,270 µM/g mẫu, cao hơn nhiều so với thành phần này ở Cam thảo đất (0,37), Sài đất (1,13), Chè xanh (0,87)...
- Hàm lượng vitamin C chiếm 121mg/100g.
- Chỉ số peroxid hóa lipid (LP) đạt 79,392 nM MDA/g mẫu.

Nhìn chung hoạt độ các enzyme chống oxy hóa trong quả Nhàu tương đối cao, cùng với sự có mặt một số thành phần chống oxy hóa khác phản ánh khả năng chống oxy hóa của đối tượng này luôn được duy trì ở mức cao.

**3. Hàm lượng các chế phẩm tách chiết từ quả nhàu bằng các quy trình khác nhau**

Kết quả chiết CT bằng dung môi ethanol thu được hàm lượng cao nhất (8,35%); Hàm lượng flavonoid tổng số (FT) chiết theo quy trình Talli thu được 4,12%; Chiết phân lớp với các dung môi khác nhau (CF), lần lượt thu được: Dung môi MeOH (CF<sub>m</sub>): 8,06%; dung môi n-Hexan (CF<sub>n</sub>): 2,15%; dung môi EtOAc (CF<sub>e</sub>): 1,76% và dung môi n-BuOH (CF<sub>b</sub>): 1,81%.

Như vậy tỷ lệ chế phẩm thu được từ chiết phân lớp là khác nhau, trong đó chế phẩm MeOH chiếm hàm lượng cao nhất.



Hình 2. Hàm lượng chế phẩm thu được bằng các phương pháp chiết khác nhau

#### 4. Định tính flavonoid bằng các phản ứng hóa học đặc trưng

Flavonoid cho phản ứng đặc trưng với một số chất thử như: Dung dịch NaOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub>, vanilin 1% trong HCl. Phản ứng dương tính thể hiện qua màu sắc đặc trưng dễ dàng quan sát bằng mắt thường. Thí nghiệm định tính (bảng 2) cho phép dự đoán thành phần flavonoid ẩn trong dịch chiết phân lớp và dịch chiết flavonoid tổng số của quả Nhàu.

Kết quả định tính trên cho thấy dịch chiết tổng MeOH quả Nhàu cho phản ứng dương tính với cả 4 loại thuốc thử chứng tỏ sự có mặt của flavonoid. Chế phẩm chiết phân lớp bằng dung môi EtOAc cho phản ứng dương tính mạnh hơn cả, màu phản ứng của chế phẩm với thuốc thử cho phép dự đoán sự có mặt của một số flavonoid. Chế phẩm chiết phân lớp bằng dung môi n-BuOH không có phản ứng tạo màu đặc trưng của flavonoid với H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> và FeCl<sub>3</sub> và có phản ứng yếu với NaOH và dung dịch vanilin 1% trong HCl đặc.

Bảng 2

Định tính flavonoid trong các phần dịch chiết quả nhàu

Dịch chiết	Thuốc thử				Dự đoán sự có mặt của flavonoid
	NaOH	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	FeCl <sub>3</sub>	Vanilin/HCl	
MeOH	+++	+++	++	+	Flavonoid
n-hexan	++	+	+	+	Flavonoid
EtOAc	++	++	+	+	Flavonoid
n-BuOH	+	-	-	+	Flavonoid
FT	++	+	+	-	Flavonoid

#### 5. Hoạt tính kháng khuẩn của các dịch chiết quả Nhàu

Tính kháng khuẩn là một trong những tác dụng sinh học được quan tâm của các cây thuốc. Nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn của các chế phẩm CT, FT và CF từ quả Nhàu cho thấy các chế phẩm đều có khả năng kháng với 4 loại vi sinh vật kiểm định, trong đó *S. aureu* là chủng nhạy cảm nhất.

**Hoạt tính kháng khuẩn của chế phẩm CT, FT và CF từ quả Nhàu**

Chế phẩm	Hiệu số vòng vô khuẩn đối với các VSV kiểm định D-d (mm)			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus pumilus</i>
CF <sub>m</sub>	18,33±0,33	16,33±0,88	15,02±0,57	16,70±0,33
CF <sub>h</sub>	10,33±1,20	5,67±0,33	8,75±0,25	4,25±0,75
CF <sub>e</sub>	19,67±1,20	22,33±1,20	15,67± 1,20	13,33±0,88
CF <sub>b</sub>	18,75±0,75	18,00±1,00	17,75±0,25	13,25±1,25
CT	15,03±0,58	12,67±0,67	6,67±0,88	6,33±0,88
FT	19,17±0,44	20,83±2,09	13,75± 0,75	10,50±1,50

Hoạt tính kháng khuẩn đối với các loại vi khuẩn gây bệnh của các chế phẩm cụ thể như sau:

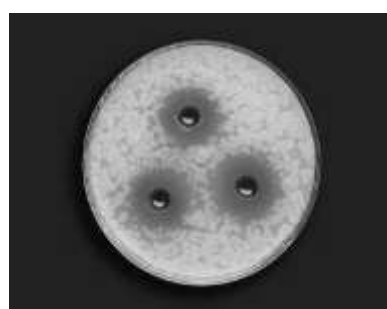
+ Chế phẩm CF<sub>m</sub> kháng mạnh đối với cả 4 nhóm VSV kiểm định, nhất là đối với *S. aureus*.

+ Chế phẩm CF<sub>e</sub> kháng mạnh đối với cả 4 nhóm VSV kiểm định, đặc biệt đối với *S. typhi*. Chế phẩm CF<sub>b</sub> kháng mạnh nhất đối với *S. aureus*, *S. typhi* và *E. coli*. FT kháng mạnh vi khuẩn *S. aureus* và *S. typhi*. Trong các chế phẩm thu được, chế phẩm CF<sub>m</sub> có tác dụng kháng *B. pumilus* mạnh nhất; chế phẩm CF<sub>b</sub> kháng *E.coli* mạnh nhất.

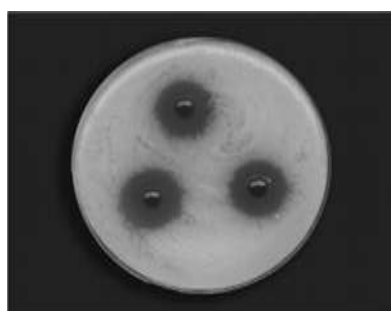
+ Nhìn chung dịch chiết quả Nhàu thể hiện hoạt tính kháng khuẩn khá cao.



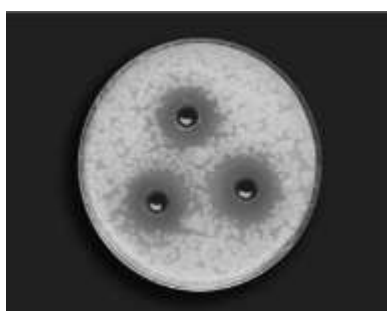
Hình 3. Vòng vô khuẩn của dịch chiết CF<sub>m</sub> đối với *B. pumilus*



Hình 4. Vòng vô khuẩn của chế phẩm FT đối với *E. coli*



Hình 5. Vòng vô khuẩn CT (2 giếng bên phải) và của FT (2 giếng bên trái) của quả Nhàu đối với *S. typhi*



Hình 6. Vòng vô khuẩn của CT đối với vi khuẩn kiểm định *S.typhi*

### III. KẾT LUẬN

1. Quả Nhàu chín chứa 5,27g/100g đường khử; 0,033g/100g protein; 8,750g/100g lipid; 19,33 (%) cellulose:

2. Hoạt độ một số enzyme và các chất chống oxy hoá trong quả Nhàu khá cao. Hoạt độ riêng của C-ase là 32,626 (U/mgprotein), hoạt độ riêng của P-ase là 68,818 (U/mg protein), hàm lượng vitamin C là 0,121 (g/100g mẫu). Chỉ số LP: 79,39 (nM MDA/g mẫu)

3. Hàm lượng cao toàn phần với dung môi ethanol (CT) chiếm 8,35%; flavonoid tổng số (FT): 4,125%; các chế phẩm chiết phân lớp với dung môi MeOH (CF<sub>m</sub>): 8,06%; n-Hexan (CF<sub>h</sub>): 2,15%; dung môi EtOAc (CF<sub>e</sub>): 1,76% và dung môi n-BuOH (CF<sub>b</sub>): 1,81%. Dự đoán sự có mặt của flavonoid trong tất cả các dịch chiết quả Nhàu thu được.

4. Các chế phẩm CF<sub>m</sub>, CF<sub>h</sub>, CF<sub>e</sub>, CF<sub>b</sub>, CT, FT (flavonoid tổng số) đều thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh với các loại vi sinh vật kiểm định. Trong đó đáng chú ý là 2 loại VSV kiểm định *Staphylococcus aureus* và *Salmonella typhi* là nhạy cảm nhất đối với tất cả các chế phẩm nghiên cứu CF<sub>b</sub>, CF<sub>e</sub> và FT nói trên.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gomez-Flores R., P. Tamez-Guerra, C. Rodriguez-Padilla, E. Monreal-Cuevas, 2006. Journal of Infectious Diseases, 1: 1-8
2. Keoliman J., K. H. Roehn, 2005. Color Atlas of Biochemistry. Thieme Stuttgart New York
3. Đỗ Quý Hai, 1986. Nghiên cứu so sánh các enzyme antioxidant ở trong các hệ thống sinh học khác nhau. Luận án Phó Tiến sĩ (tiếng Hungari) Szeged, Hungari.
4. Đỗ Quý Hai, Đỗ Tấn Thảo, Phan Văn Cư, 2006. Tạp chí Khoa học, Đại học Huế, Số 33: 51-59.
5. Võ Thị Mai Hương, Trần Thanh Phong, 2007. Nghiên cứu hoạt động chống oxy hóa của cây Nha đam (*Aloe vera*). Báo cáo Khoa học Hội nghị toàn quốc 2007. Nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống. NXB. KHKT, tr.: 883-886.
6. Đỗ Tất Lợi, 2001. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB. Y học.
7. Nguyễn Văn Mùi, 2000. Thực hành hóa sinh học. NXB. KHKT, Hà Nội.
8. Placer Z. A., L Cushman., B. C. Johnson, 1986. Biochemical system. Analyt Biochem. 16: 359-364.
9. Hồ Việt Quý, 2002. Chiết tách, phân chia xác định các chất bằng dung môi hữu cơ. NXB. KHKT, Hà Nội, tập 1.
10. Phan Văn Sổ, Bùi Thị Như Thuận, 1975. Kiểm nghiệm lương thực, thực phẩm. NXB. KHKT, Hà Nội.

### SOME BIOCHEMICAL COMPOSITION AND THE ANTI-BACTERIAL ACTIVITY OF *Morinda citrifolia* L. EXTRACT

VO THI MAI HUONG, TRAN THANH PHONG

#### SUMMARY

*Morinda citrifolia* L. is used as a traditional medicine to treat many diseases. The ripe fruit contains reducing sugar (5.27g/100g), protein (0.033g/100g), lipid (8.750g/100g), cellulose (19.33%), vitamin C (0.121g/100g). The activity of antioxidant enzyme C-ase and P-ase is rather high (32.626 U/mg protein and 68.818 (U/mg protein), LP (79.39 nM MDA/g). High levels of whole fruit as solvent extraction with ethanol (CT) is 8.35%, total flavonoid content (FT) is 4.125%; layered preparations with solvent extraction MeOH (CF<sub>m</sub>): 8.06%, n-hexane (CF<sub>h</sub>): 2.15% solvent EtOAc (CF<sub>e</sub>): 1.76% and solvent n-BuOH (CF<sub>b</sub>): 1.81%. The presence of flavonoids was predicted in the fruit extract. The products obtained showed strong activity against the tested microorganisms, particularly the preparation of CF<sub>b</sub>, CF<sub>e</sub> and FT. *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi* are the most sensitive species to the all studied preparations.