



DOI:10.22144/ctujos.2024.354

## KHẢO SÁT HÀM LƯỢNG DƯỢC CHẤT VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CAO TRÍCH TỪ CÂY KHỔ QUẢ RỪNG (*Momordica charantia* var. *abbreviata* Ser.)

Trần Nguyễn Phương Lam<sup>1</sup>, Đỗ Tấn Khang<sup>2</sup>, Trần Thanh Mến<sup>3</sup>, Lê Thị Diễm Ái<sup>4</sup> và Trần Ngọc Quý<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>3</sup>Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>4</sup>Trường Cao đẳng Cộng đồng Hậu Giang

\*Tác giả liên hệ (Corresponding author): tnquy@ctu.edu.vn

### Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 04/05/2024

Sửa bài (Revised): 09/07/2024

Duyệt đăng (Accepted): 17/08/2024

**Title:** Survey on biosubstances content and bioactivity of ethanolic extract of *Momordica charantia* L.

**Author(s):** Tran Nguyen Phuong Lam<sup>1</sup>, Do Tan Khang<sup>2</sup>, Tran Thanh Men<sup>3</sup>, Le Thi Diem Ai<sup>4</sup> and Tran Ngoc Quy<sup>2\*</sup>

**Affiliation(s):** <sup>1,2,3</sup>Can Tho university; <sup>4</sup>Hau Giang community college

### TÓM TẮT

Cây Khổ qua rừng là một trong những loại dược liệu tự nhiên chứa nhiều hợp chất thực vật quan trọng, có tính ứng dụng trong y học và đời sống. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định hàm lượng của một số hợp chất có trong dịch cao trích các bộ phận của cây Khổ qua rừng và đánh giá khả năng chống lại các gốc oxy hóa và kháng các loại vi khuẩn của dịch cao trích từ trái loài cây này. Các kết quả định lượng cho thấy có sự khác biệt rõ rệt về hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số ở trái (tương ứng là 36,97 và 48,47 mg/g TLK bột) so với thân (tương ứng là 25,86 và 64,08 mg/g TLK bột) và lá Khổ qua rừng (tương ứng là 21,49 và 136,27 mg/g TLK bột). Dịch cao trích trái có khả năng kháng lại các gốc oxy hóa như gốc tự do DPPH ( $EC_{50}=4310,15 \mu\text{g/mL}$ ) và khử sắt ( $EC_{50}=339,17 \mu\text{g/mL}$ ). Cao trích từ trái cũng cho thấy hoạt tính sinh học thông qua khả năng kháng các chủng vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus subtilis*, *B. cereus* ATCC10876 và *Listeria innocua* ATCC33090.

**Từ khóa:** Dược liệu, kháng khuẩn, kháng oxy hóa, khổ qua rừng

### ABSTRACT

*Momordica charantia* var. *abbreviata* Ser. is a natural medicinal plant with many important bioactive compounds with applications in medicine and life. This study was conducted to determine the content of some compounds in extracts from parts of *Momordica charantia* var. *abbreviata* Ser. plant and to evaluate the antibacterial and antioxidant potential of the fruit extract of this plant. Quantitative results showed that there was a clear difference in total phenolic and flavonoid content in the fruit (36,97 and 48,47 mg.g<sup>-1</sup> DW, respectively) compared to the stem (25,86 and 64,08 mg.g<sup>-1</sup> DW, respectively) and *Momordica charantia* leaves (21,49 and 136,27 mg.g<sup>-1</sup> DW, respectively). The fruit extract has the ability to resist oxidative radicals such as DPPH free radicals ( $EC_{50}=4310,15 \mu\text{g/mL}$ ) and iron reduction ( $EC_{50}=339,17 \mu\text{g/mL}$ ). The extract from the fruit also showed biological activity through its ability to resist bacterial strains *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus subtilis*, *B. cereus* ATCC10876 and *Listeria innocua* ATCC33090.

**Keywords:** Medicinal plant, antibacterial, antioxidant, *Momordica charantia* var. *abbreviata* Ser.

## 1. GIỚI THIỆU

Việt Nam có khí hậu nhiệt đới gió mùa đặc trưng với những những cánh rừng rậm cùng nhiều vùng đất thấp và các cao nguyên, đây là những ưu điểm thích hợp cho khá nhiều loài thực vật phát triển (Nguyễn & Kuznetsov, 2014). Trong đó, cây dược liệu nhận được sự quan tâm, nghiên cứu và khai thác nhờ những công dụng hữu ích và tính chất thuần tự nhiên (Son et al., 2023), đem lại những giá trị có ích cho sức khỏe cũng như đời sống. Trên thực tế, ước tính gần một nửa số dược phẩm hiện tại có nguồn gốc từ thực vật (Newman et al., 2007)

Cây Khổ qua rừng (*Momordica charantia* var. *abbreviata* Ser.) thuộc họ Bầu bí (Cucurbitaceae), là một loài dây leo mọc ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới (De Oliveira, 2018). Quả của loài cây này ăn được và có vị đắng đặc trưng. Khổ qua rừng là một giống hoang dã của cây khổ qua (Hsu et al., 2012). Tuy nhiên thân, lá và trái của Khổ qua rừng nhỏ hơn. Tác dụng chữa bệnh của cây Khổ qua rừng được quy định bởi hoạt tính sinh học của các hợp chất hoá học có trong thành phần dược chất của cây. Mỗi thành phần hoá học có hoạt tính sinh học khác nhau, nhóm phenolic là hợp chất chống oxy hóa đóng vai trò quan trọng liên quan tới nhiều chức năng của cơ thể và các bệnh lý như não, tim mạch, viêm khớp, tiểu đường,... Theo nhiều nghiên cứu, nhóm chất này cũng có khả năng kháng nhiều dòng vi khuẩn khác nhau (Bajpaj et al., 2005; Uddin et al., 2008; Stefanović et al., 2015). Việc nghiên cứu và đánh giá các thành phần hoạt chất thật sự cần thiết để đưa ra cái nhìn tổng quan về khả năng ứng dụng của cây Khổ qua rừng. Trong đó, việc khảo sát hàm lượng các hoạt chất trong các bộ phận thân, lá và trái của cây Khổ qua rừng sẽ giúp đưa ra những lựa chọn phù hợp trong việc ly trích hoạt chất và sản xuất các sản phẩm có nguồn gốc từ loài cây này. Đồng thời việc đánh giá khả năng kháng oxy hóa, kháng các chủng vi khuẩn gây bệnh ở người cũng giúp cho giá trị dược liệu của Khổ qua rừng đáng tin cậy và được ứng dụng nhiều hơn.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu và thiết bị

Hạt giống Khổ qua rừng được thu tại Vĩnh Long, sau đó được trồng và chăm sóc tại nhà lưới. Mẫu trái được thu 3 ngày 1 lần, liên tục trong 1 tháng, đối với thân và lá sẽ thu toàn bộ mẫu (non, già, trưởng thành) vào cuối đợt, chỉ thu một lần. Tách riêng các bộ phận sau khi thu, sơ chế sấy khô ở 40°C và trữ mẫu tại phòng Thí nghiệm Sinh Lý, phòng Thí nghiệm Sinh hóa (khoa Sinh lý - Sinh hoá) thuộc

trường Nông Nghiệp và phòng thí nghiệm Sinh học thuộc khoa Khoa học Tự nhiên, trường Đại học Cần Thơ.

Vi khuẩn: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* ATCC10876, *Listeria innocua* ATCC33090.

### 2.2. Hóa chất

Hoá chất dùng trong định lượng các hợp chất: thuốc thử Folin-Ciocalteu, ethanol, gallic acid,...

Hóa chất dùng trong kháng oxy hóa: methanol,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), gallic acid,...

Hóa chất dùng trong kháng khuẩn: dimethyl sulfoxide, tetracycline, agar, NaCl, pepton, yeast extract,...

### 2.3. Chuẩn bị cao trích

Mẫu Khổ qua rừng thu được sau khi rửa sạch sẽ được sấy khô ở 40°C đến khi khối lượng không đổi và nghiền thành bột. Lượng bột mỗi bộ phận của cây được trích theo tỷ lệ bột: ethanol là 1:10. Sau 1 tháng, hỗn hợp được lọc bằng giấy lọc và tiến hành cô cạn bằng máy cô quay chân không. Các dịch cao trích thu được sau khi cô quay sẽ được trữ trong tủ âm 15-20°C. Các dịch cao trích này sẽ được sử dụng cho các nghiên cứu về định lượng, khảo sát khả năng kháng oxy hóa và khả năng kháng khuẩn.

### 2.4. Xác định hàm lượng phenolic tổng

Tiến hành xác định hàm lượng phenolic tổng dựa theo phương pháp Folin-Ciocalteu (Yadav & Agarwala, 2011). Nguyên tắc xác định hàm lượng hợp chất dựa vào phản ứng oxy hoá các hợp chất polyphenol bằng thuốc thử Folin-Ciocalteu. Thí nghiệm này dùng gallic acid làm chất chuẩn. Trong phản ứng này, các hợp chất nhóm phenolic bị oxy hoá ở môi trường kiềm dẫn đến sự hình thành các ion superoxide, các ion này sẽ lần lượt phản ứng với các molybdate để hình thành dạng molybdenum oxide ( $\text{MoO}_4^{+}$ ), chất này có dạng phức có màu xanh lam, hấp thụ bước sóng 765 nm. Dựa vào cường độ màu đo được và đồ thị chuẩn của gallic acid với thuốc thử có thể xác định được hàm lượng phenolic trong mẫu (Yadav & Agarwala, 2011).

Mẫu cao chiết Khổ qua rừng được pha loãng bằng ethanol (nguyên chất) thành nồng độ 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Đối với xây dựng đường chuẩn, chất chuẩn gallic acid được pha thành dãy 5 nồng độ 20, 40, 60, 80 và 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  bằng dung môi ethanol.

Lần lượt 0,5 mL dung dịch gallic acid (dãy nồng độ đường chuẩn) được cho vào 2,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu nồng độ 10%, để yên hỗn hợp trong 5 phút; thêm vào 2 mL dung dịch Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5%. Sau 30 phút phản ứng ở nhiệt độ phòng, tiến hành đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 765 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Giá trị OD được ghi nhận và tiến hành vẽ đường chuẩn để sử dụng xác định hàm lượng phenolic tổng số trong các mẫu cao trích. Các mẫu cao trích được tiến hành tương tự với gallic acid. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Hàm lượng phenolic tổng số được tính theo công thức:

$$P = c \times x \times \frac{V}{m} \times n$$

Trong đó:

x: nồng độ được suy ra từ đường chuẩn (µg/mL)

P: hàm lượng phenolic tổng (mg/g TLK bột)

c: giá trị x được suy ra từ đường chuẩn (mg/mL)

V: thể tích dịch chiết (mL)

n: hệ số pha loãng dịch chiết

m: khối lượng cao chiết (g)

### 2.5. Xác định hàm lượng flavonoid tổng

Hàm lượng flavonoid tổng số được xác định dựa vào phương pháp của Bhaigyabati et al. (2014), quy trình có hiệu chỉnh. Nguyên tắc dựa trên phản ứng đo màu AlCl<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub> sẽ tạo phức acid ổn định với nhóm keto C-4 và nhóm hydroxyl của một trong hai nhóm C-3 hoặc C-5 của flavon và flavonol. Mặt khác, nó cũng tạo phức acid không ổn định với nhóm orthodihydroxyl trong vòng A hoặc B của flavonoid. Phức này có độ hấp thụ quang phổ ở 510 nm.

Dung môi ethanol được sử dụng để pha chất chuẩn quercetin thành dãy 5 nồng độ 20, 40, 60, 80 và 100 µg/mL để xây dựng đường chuẩn. Cao chiết Khổ qua rừng được pha loãng với nồng độ 1200 µg/mL bằng ethanol. Dung dịch AlCl<sub>3</sub> 10%, NaNO<sub>2</sub> 5% và NaOH 1M được pha loãng với nước cất.

Hỗn hợp phản ứng gồm 1 mL quercetin (cao trích) và 1 mL nước cất, thêm tiếp 0,2 mL NaNO<sub>2</sub> 5%. Sau khi để phản ứng trong 5 phút, thêm vào 0,2 mL AlCl<sub>3</sub> 10% và tiếp tục để phản ứng trong 5 phút. Cuối cùng, hỗn hợp được thêm vào 2 mL NaOH 1M và 0,6 mL nước cất, lắc đều. Tiến hành xác định độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 510 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả OD được

ghi nhận và dựng đường thẳng hiệu chuẩn nhằm xác định hàm lượng flavonoid trong các mẫu cao trích.

Hàm lượng flavonoid tổng số được tính theo công thức :

$$F = c \times x \times \frac{V}{m} \times n$$

Trong đó:

x: nồng độ được suy ra từ đường chuẩn (µg/mL)

F: hàm lượng flavonoid tổng (mg/g TLK bột)

c: giá trị x được suy ra từ đường chuẩn (mg/mL)

V: thể tích dịch chiết (mL)

n: hệ số pha loãng dịch chiết

m: khối lượng cao chiết (g)

### 2.6. Khả năng kháng oxy hóa

#### 2.6.1. Xác định khả năng trung hòa gốc tự do DPPH của cao trích trái Khổ qua rừng

Trong thí nghiệm này sử dụng gallic acid làm chất chuẩn. Methanol được sử dụng để hòa tan gallic acid thành dãy dung dịch có nồng độ từ 1-10 µg/mL (10 nồng độ) để xây dựng đường chuẩn. Đối với cao chiết cũng được pha loãng bằng methanol, dãy nồng độ được sử dụng gồm 5 nồng độ từ 2000 đến 10000 µg/mL.

Dung dịch DPPH: Chuẩn bị dung dịch DPPH 0,2 mM trong methanol, lắc đều sau đó trữ lạnh ở 4°C trong tối theo phương pháp của Prieto (2012) có hiệu chỉnh.

Mẫu thử: Lần lượt cho 500 µL dung dịch DPPH vào các eppendorf chứa 500 µL dung dịch gallic acid (nồng độ từ 1-10 µg/mL). Tiến hành ủ tối trong 60 phút và đo OD ở bước sóng 517 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần tương ứng với 10 nồng độ khác nhau. Các kết quả đo OD được ghi nhận, tính toán và vẽ đường thẳng hiệu chuẩn. Đối với mẫu cao trích, tiến hành tương tự như cách dựng đường chuẩn. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Mẫu trắng: thay mẫu bằng methanol và tiến hành tương tự quy trình như trên, đo OD ở bước sóng 517 nm, tương tự lặp lại 3 lần. Ghi nhận kết quả đo OD rồi vẽ biểu đồ  $y = ax + b$ . Phần trăm DPPH bị ức chế được tính theo công thức sau:

$$EC (\%) = \frac{A_{blank} - A_{mẫu}}{A_{blank}} \times 100$$

Trong đó:

EC: Khả năng ức chế DPPH (%)

$A_{blank}$ : Giá trị mật độ quang của mẫu trắng

$A_{mẫu}$ : Giá trị mật độ quang của mẫu cao chiết

Xây dựng đường chuẩn với phần trăm ức chế DPPH thu được ở các nồng độ khác nhau. Từ đó, tính toán giá trị  $EC_{50}$  (nồng độ cao trích và gallic acid).

Giá trị  $EC_{50}$  (Effective concentration of 50%) là nồng độ mẫu khảo sát (chất chuẩn hoặc cao trích) mà ở đó các gốc oxy hóa được loại bỏ ở mức 50% (Ferreira et al., 2007). Giá trị này được xác định dựa vào phương trình tuyến tính được xây dựng của loại mẫu khảo sát. Với những mẫu khảo sát có hoạt tính biến thiên tuyến tính với nồng độ, vẽ một đường thẳng  $y = ax + b$  qua tất cả các điểm ( $x$  là nồng độ,  $y$  là % ức chế). Nếu mẫu không có khả năng biến thiên tuyến tính với nồng độ, sẽ tiến hành chọn hai nồng độ ức chế trên dưới 50% và cũng tiến hành vẽ đường thẳng  $y = ax + b$  (một cách gần đúng). Từ phương trình  $y = ax + b$  đã biết, thay  $y = 50\%$  vào phương trình sẽ thu được giá trị  $x$ , đó chính là nồng độ ức chế 50% ( $EC_{50}$ ).

### 2.6.2. Xác định khả năng khử sắt của cao trích trái Khô qua rừng

Khả năng khử sắt của cao trích được thực hiện theo phương pháp của Oyaizu (1986), tham khảo quy trình của Định và ctv. (2019), Lý và ctv. (2021), quy trình thực hiện có hiệu chỉnh cho phù hợp.

Dung dịch đệm phosphate được pha theo tỉ lệ: 62,5 mL dung dịch A và 37,5 mL dung dịch B, điều chỉnh pH đạt 6,6 bằng dung dịch NaOH 10% (khi  $pH < 6,6$ ) hoặc  $H_3PO_4$  10% (khi  $pH > 6,6$ ) ở 25°C. Trong đó:

- Dung dịch gốc A: dung dịch  $Na_2HPO_4$  0,2 M.
- Dung dịch gốc B: dung dịch  $NaH_2PO_4$  0,2 M.

Chuẩn bị các dung dịch  $Cl_3CCOOH$  10%,  $FeCl_3$  0,1%,  $K_3Fe(CN)_6$  1%, dung môi là nước cất.

Gallic acid được sử dụng làm chất chuẩn và hòa tan bằng methanol để có được dãy dung dịch 6 nồng độ lần lượt từ 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 và 3  $\mu g/mL$  để xây dựng đường chuẩn. Đối với cao chiết cũng được pha loãng bằng methanol, dãy 5 nồng độ được sử dụng từ 100, 200, 300, 400 và 500  $\mu g/mL$ .

Mẫu thử: Cho lần lượt 0,4 mL các nồng độ gallic acid vào trong ống ly tâm nhựa, thêm 0,4 mL đệm phosphate 0,2M pH 6,6 và 0,4 mL  $K_3Fe(CN)_6$  1%, tiến hành ủ ở 50°C trong thời gian 20 phút. Tiếp theo, cho thêm 0,4 mL  $Cl_3CCOOH$  10% và ly tâm ở 3000 vòng/phút trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Sau khi ly tâm, nhẹ nhàng lấy 0,5 mL ở lớp trên cho vào

eppendorf, thêm vào 0,5 mL nước cất và cuối cùng là 0,1 mL  $FeCl_3$  0,1% vào eppendorf, lắc đều. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần với mỗi nồng độ. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 700 nm, ghi nhận kết quả, tính toán và vẽ đường chuẩn. Đối với mẫu cao trích, tiến hành tương tự như đường chuẩn và lặp lại 3 lần. Nồng độ mẫu được tính từ đồ thị giá trị OD theo nồng độ tại độ hấp thụ 0,5 ( $EC_{50}$ ).

Mẫu trắng: Được thực hiện tương tự, thay 0,4 mL mẫu thử nghiệm bằng 0,4 mL methanol. Lặp lại 3 lần tương ứng với 5 nồng độ, đo độ hấp thụ ở bước sóng 700 nm. OD của mẫu blank khoảng 0,09 - 0,19. Ghi nhận kết quả, phần trăm khử sắt được tính như sau:

$$EC (\%) = \frac{A_{mẫu} - A_{blank}}{A_{blank}} \times 100$$

Trong đó:

EC: Khả năng khử sắt (%)

$A_{blank}$ : Giá trị mật độ quang của mẫu trắng

$A_{mẫu}$ : Giá trị mật độ quang của mẫu cao chiết

Xây dựng đường chuẩn với phần trăm khử sắt thu được ở các nồng độ khác nhau. Từ đó, tính toán giá trị  $EC_{50}$  (nồng độ cao chiết và gallic acid).

### 2.7. Khả năng kháng khuẩn

Quy trình kháng khuẩn được thực hiện dựa trên phương pháp của Trang (2019), áp dụng quy trình khuếch tán đĩa thạch có hiệu chỉnh cho phù hợp.

Môi trường sử dụng: LB Broth powder, pH 7.2. Môi trường và đĩa petri được hấp khử trùng trong 20 phút ở điều kiện 121°C, 1 atm bằng nồi thanh trùng.

Khả năng kháng khuẩn của cao trích được khảo sát trên 5 loài vi khuẩn (1 gram âm và 4 gram dương): *P. aeruginosa* ATCC27853 (gram âm), *S. aureus* ATCC25923, *B. subtilis*, *B. cereus* ATCC10876, *L. innocua* ATCC33090.

Đối chứng dương: tetracyclin nồng độ 16 ( $\mu g/mL$ ), pha loãng bằng dung môi DMSO 1%. Đối chứng âm: DMSO 1%

Mẫu thí nghiệm: Tiến hành pha loãng cao trích bằng DMSO 1% thành dãy nồng độ 16, 32, 64, 128, 256, 512  $mg/mL$  để tiến hành thí nghiệm kháng khuẩn.

Phương pháp khuếch tán đĩa thạch được tiến hành như sau: Dịch lỏng nuôi vi khuẩn sau khi đạt nồng độ  $10^6 - 10^8$  CFU/mL ở độ hấp thụ 600 nm sẽ tiến hành tráng một lớp khuẩn mỏng lên đĩa môi trường. Sau khi lớp khuẩn khô, đầu côn vô trùng

được dùng để khoan 5 giếng trên đĩa môi trường, đường kính đầu côn là 7 mm. Tiến hành rút 50 µL các nồng độ của dung dịch thí nghiệm lần lượt bơm vào các giếng. Mỗi vi khuẩn sẽ có 2 đĩa mỗi đĩa 5 giếng, 1 đĩa là nồng độ cao trích, 1 đĩa là đối chứng. Các đĩa sau đó sẽ được ủ ở 37°C trong 24 giờ. Tiến hành lấy chỉ tiêu bằng cách đo đường kính vòng kháng khuẩn, sau đó trừ đi đường kính giếng (7mm) và tính toán kết quả. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

**2.8. Xử lý số liệu**

Các số liệu thực nghiệm được xử lý bằng chương trình Microsoft Excel 2010 và phân tích thống kê số liệu ANOVA 1 nhân tố, so sánh sự khác biệt giữa các giá trị trung bình kiểm định bằng phép kiểm định DUNCAN ở mức ý nghĩa 1% trên phần mềm SPSS 21.0.

**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Hàm lượng phenolic toàn phần và flavonoid toàn phần trong cao trích các bộ phận của Khổ qua rừng**

Kết quả định lượng phenolic và flavonoid tổng số có trong cao trích các bộ phận thân, trái và lá của Khổ qua rừng được thể hiện ở Bảng 1.

**Bảng 1. Hàm lượng một số hợp chất của cao trích Khổ qua rừng**

| Loại mẫu | Phenolic tổng số (mg/g TLK bột) <sup>(1)</sup> | Flavonoid tổng số (mg/g TLK bột) <sup>(2)</sup> |
|----------|--|---|
| Trái     | 36,97 <sup>a</sup> ± 0,12                      | 48,47 <sup>c</sup> ± 1,30                       |
| Thân     | 25,86 <sup>b</sup> ± 0,85                      | 64,08 <sup>b</sup> ± 0,67                       |
| Lá       | 21,49 <sup>c</sup> ± 0,64                      | 136,27 <sup>a</sup> ± 3,99                      |
| F        | **   | **  |
| CV (%)   | 2,21   | 2,96  |

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ cái khác nhau theo sau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan, \*\*: khác biệt có ý nghĩa 1%.

<sup>(1)</sup>: Giá trị được tính dựa trên phương trình đường chuẩn của gallic acid trong xác định hàm lượng phenolic tổng số ( $y = 0,0106x + 0,0455$ ;  $R^2 = 0,9945$ )

<sup>(2)</sup>: Giá trị được tính dựa trên phương trình đường chuẩn của quercetin trong xác định flavonoid tổng số ( $y = 0,001x + 0,0004$ ;  $R^2 = 0,9934$ )

Từ kết quả Bảng 1, có thể thấy hàm lượng phenolic tổng được tích lũy có trong trái Khổ qua rừng là cao nhất (36,97 mg/g TLK bột) so với hàm lượng trong có ở thân (25,86 mg/g TLK bột) và lá (21,49 mg/g TLK bột), trong khi đó ở lá có hàm lượng phenolic thấp nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% đối với hàm lượng phenolic có trong các bộ phận của cây Khổ qua rừng. Hàm lượng flavonoid trong các bộ phận của Khổ qua rừng lần

lượt là trái (48,47 mg/g TLK bột), thân là (64,08 mg/g TLK bột) và lá (136,27 mg/g TLK bột). Từ kết quả này có thể thấy hàm lượng flavonoid trong lá là cao nhất, tiếp theo là thân và thấp nhất là trái. Khổ qua rừng với khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%.

Kết quả này có sự tương đồng nhất định với nhận định trước đây về sự chênh lệch hàm lượng giữa các bộ phận của cây Khổ qua của Kubola & Siriamornpun (2008), tuy nhiên bộ phận trái trong nghiên cứu này có hàm lượng phenolic thấp hơn so với lá. Các nghiên cứu về sự khác biệt trong hàm lượng hợp chất thực vật giữa trái, thân và lá của Khổ qua rừng vẫn còn hạn chế. Một số nghiên cứu trước đây trên một số loài cây khác cho thấy hàm lượng các hợp chất phenolic tập trung chủ yếu ở thịt trái và hạt, ngược lại flavonoid chỉ chiếm một lượng nhỏ. Tuy nhiên ở lá chứa hàm lượng quercetin cao hơn so với các bộ phận khác, do đó các chỉ số về flavonoid ở lá thường cao (Bajpai et al., 2005). Đối với phần thân, hàm lượng các hợp chất thực vật thường chỉ tích lũy ở mức độ trung bình do đây là bộ phận vận chuyển các chất chủ yếu trong cây (Liu et al., 2010). Sự khác biệt này không chỉ đến từ cấu tạo đặc trưng, mà còn là chức năng cụ thể của các bộ phận trên thực vật nhằm phục vụ cho các mục đích khác nhau của chúng.

Tóm lại, nhóm polyphenol là nhóm hợp chất chuyển hóa thứ cấp phổ biến của thực vật, trong đó có hợp chất flavonoid, phenolic (Watson, 2018). Các chất này ở thực vật tuy không giữ các vai trò cơ bản trong việc duy trì sự sống của cây nhưng chúng lại có đóng góp nhất định giúp thực vật có thể thích nghi và tự bảo vệ bằng cách tương tác với môi trường. Đối với các thực vật bậc cao có khả năng chống lại các động vật ăn cỏ, mầm bệnh cũng như các áp lực từ môi trường nhờ vào việc tổng hợp các hợp chất thực vật từ các chất chuyển hóa chính như carbohydrate, lipid và acid amin (Pagare et al, 2015). Ngoài các lợi ích mang lại cho thực vật, các hợp chất thứ cấp này còn có vai trò quan trọng trong các mục đích về mỹ phẩm thiên nhiên, các nhu cầu dinh dưỡng, lĩnh vực y học áp dụng trong điều trị các bệnh, thực phẩm chức năng,... Từ kết quả trên, có thể thấy rằng trong các bộ phận của Khổ qua rừng chứa các hợp chất thực vật và có sự khác biệt rõ rệt về sự tích lũy của hàm lượng từng loại hợp chất thứ cấp. Nghiên cứu hàm lượng các hợp chất ở từng bộ phận trái, thân và lá Khổ qua rừng sẽ giúp ích cho các nghiên cứu chuyên sâu hơn và trích ly hợp chất thực vật theo từng bộ phận phù hợp hơn.

### 3.2. Khả năng kháng oxy hóa của cao trích trái Khô qua rừng

Giá trị kháng oxy hóa của cao trích trái Khô qua rừng được trình bày tại Bảng 2 cho thấy cao trích có khả năng khử sắt và trung hòa gốc tự do DPPH. Khả năng khử sắt của cao trích trái Khô qua rừng ( $EC_{50} = 339,17 \mu\text{g/mL}$ ), thấp hơn so với acid gallic ( $EC_{50} = 1,79 \mu\text{g/mL}$ ) được dùng khảo sát là 189,94 lần. Khả năng kháng gốc tự do DPPH của cao trích trái Khô qua rừng ( $EC_{50} = 4310,15 \mu\text{g/mL}$ ) thấp hơn so với gallic acid ( $EC_{50} = 6,16 \mu\text{g/mL}$ ) được dùng khảo sát là 699,69 lần.

**Bảng 2. Giá trị  $EC_{50}$  của gallic acid và cao trích trái Khô qua rừng trong các phản ứng kháng oxy hóa**

| Mẫu               | Trung hòa DPPH ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Khử sắt ( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|-------------------|-------------------------------------|------------------------------|
| Gallic acid       | 6,16 <sup>(1)</sup>                 | 1,79 <sup>(3)</sup>          |
| Trái Khô qua rừng | 4310,15 <sup>(2)</sup>              | 339,17 <sup>(4)</sup>        |

<sup>(1)</sup>: Giá trị  $EC_{50}$  của gallic acid được xác định dựa vào phương trình tuyến tính trung hòa DPPH ( $y = 7,4428x + 4,1187$ ;  $R^2 = 0,9896$ )

<sup>(2)</sup>: Giá trị  $EC_{50}$  của cao trích trái Khô qua rừng được xác định dựa vào phương trình tuyến tính trung hòa DPPH ( $y = 0,0098x + 7,7605$ ;  $R^2 = 0,9764$ )

<sup>(3)</sup>: Giá trị  $EC_{50}$  của gallic acid được xác định dựa vào phương trình tuyến tính khử sắt ( $y = 27,732x + 0,2625$ ;  $R^2 = 0,9957$ )

<sup>(4)</sup>: Giá trị  $EC_{50}$  của cao trích trái Khô qua rừng được xác định dựa vào phương trình tuyến tính khử sắt ( $y = 0,1495x - 0,707$ ;  $R^2 = 0,9901$ )

Qua hai chỉ tiêu khảo sát về khả năng ức chế gốc tự do (DPPH và khử sắt), kết quả cho thấy khả năng

**Bảng 3. Khả năng kháng khuẩn của cao trích trái Khô qua rừng**

| Nồng độ thí nghiệm (mg/mL)          | Đường kính vòng vô khuẩn (cm) |                    |                    |                     |                    |
|-------------------------------------|-------------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
|                                     | <i>P. aeruginosa</i>          | <i>S. aureus</i>   | <i>B. cereus</i>   | <i>B. subtilis</i>  | <i>L. innocua</i>  |
| 32                                  | 0,000 <sup>c</sup>            | 0,250 <sup>c</sup> | 0,225 <sup>c</sup> | 0,200 <sup>d</sup>  | 0,275 <sup>c</sup> |
| 64                                  | 0,225 <sup>d</sup>            | 0,375 <sup>d</sup> | 0,325 <sup>d</sup> | 0,275 <sup>cd</sup> | 0,325 <sup>c</sup> |
| 128                                 | 0,300 <sup>c</sup>            | 0,600 <sup>c</sup> | 0,425 <sup>c</sup> | 0,350 <sup>c</sup>  | 0,425 <sup>d</sup> |
| 256                                 | 0,375 <sup>b</sup>            | 0,800 <sup>b</sup> | 0,525 <sup>b</sup> | 0,500 <sup>b</sup>  | 0,600 <sup>c</sup> |
| 512                                 | 0,500 <sup>a</sup>            | 1,075 <sup>a</sup> | 0,700 <sup>a</sup> | 0,750 <sup>a</sup>  | 0,875 <sup>b</sup> |
| Tetracycline (16 $\mu\text{g/mL}$ ) | 0,225 <sup>d</sup>            | 0,825 <sup>b</sup> | 0,500 <sup>b</sup> | 0,500 <sup>b</sup>  | 1,025 <sup>a</sup> |
| F                                   | **                            | **                 | **                 | **                  | **                 |
| CV (%)                              | 11,67                         | 4,83               | 7,02               | 7,36                | 5,38               |

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan, \*\*: khác biệt có ý nghĩa 1%

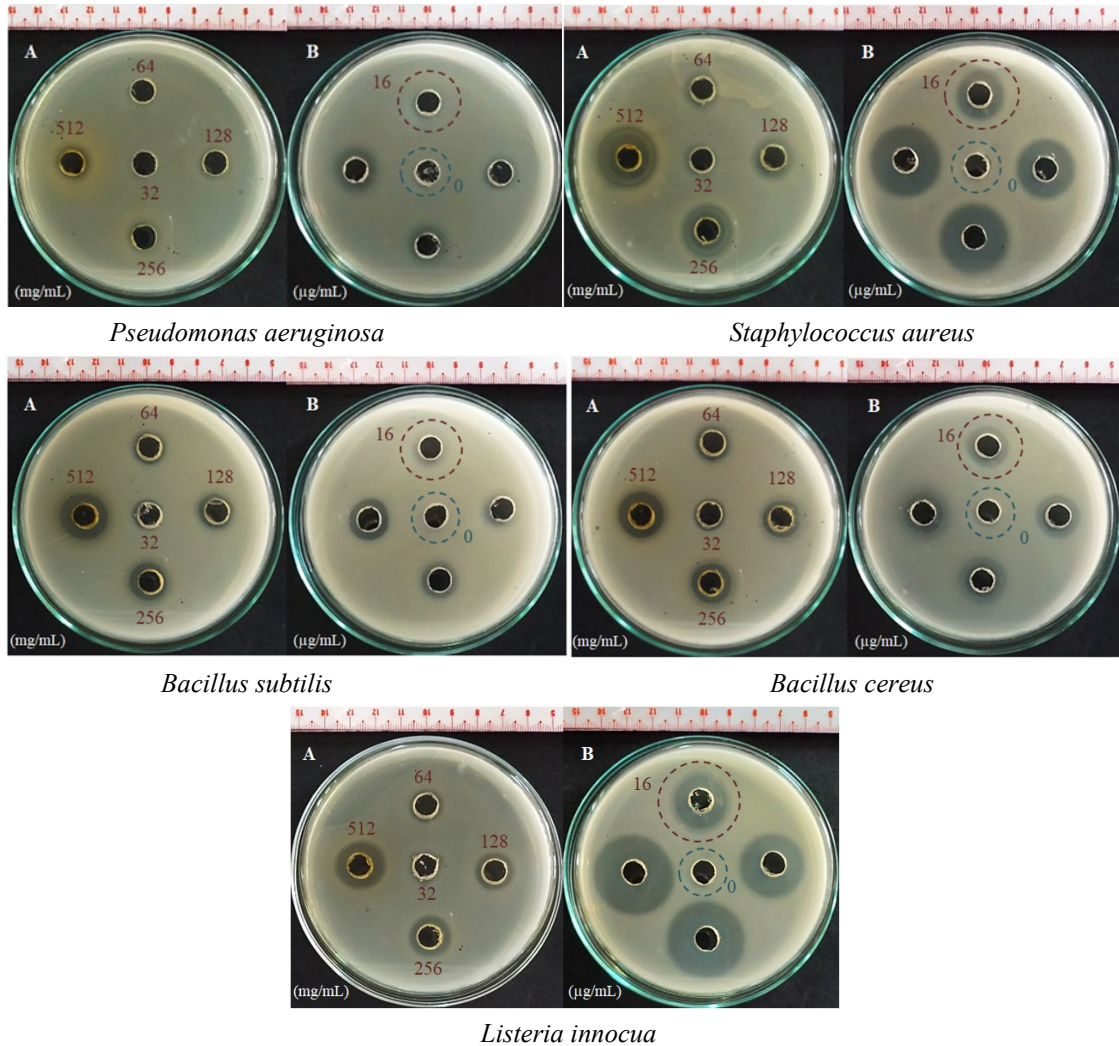
kháng gốc oxy hóa của cao trái Khô qua rừng và gallic acid tỷ lệ thuận với nồng độ, các đường chuẩn có hệ số tương quan cao. Theo nhận định của Marzoug et al. (2011), Hương và Bạch (2017), tính kháng oxy hóa của một chất sẽ phụ thuộc vào số lượng gốc nhóm hydroxyl do tác dụng thu dọn các gốc tự do của chúng. Liên kết đôi và nhóm carbonyl sẽ làm tăng hoạt tính kháng oxy hóa do chúng tác động vào khả năng liên hợp các electron bất định, là nguyên nhân tạo nên sự bền vững cho các gốc tự do. Do đó số lượng các gốc nhóm hydroxyl sẽ càng cao khi nồng độ chất chống oxy hóa càng cao, vì thế hoạt động khử gốc tự do càng mạnh.

Các hoạt chất sinh học trong thành phần của trái Khô qua rừng đóng vai trò quan trọng trong khả năng trung hòa các gốc tự do của cao trích trái. Kết quả định lượng cho thấy cao trích trái chứa nhiều hợp chất như phenolic và flavonoid, chúng được biết đến là những hợp chất có khả năng loại bỏ gốc tự do và kháng các gốc oxy hóa rất hiệu quả từ thực vật (Kubola & Siriamornpun, 2008; Pagare et al, 2015; Watson, 2018). Kết quả chứng minh cao trích trái Khô qua rừng có khả năng kháng oxy hóa nhưng khả năng này thấp hơn rất nhiều so với chất chuẩn gallic acid. Gallic acid là một sản phẩm có độ tinh sạch cao, vì vậy hiệu quả ức chế gốc tự do chắc chắn sẽ cao hơn cao trích trái Khô qua rừng với những công đoạn (trong quá trình chiết cao) có thể chưa được loại bỏ được hết các tạp chất và chưa hoàn toàn tinh sạch.

### 3.3. Khả năng kháng khuẩn

Kết quả kháng 5 loại vi khuẩn của cao trích từ trái được trình bày tại Bảng 3 và Hình 1.





**Hình 1. Hoạt tính kháng khuẩn của cao trích trái Khô qua rừng (A) và đối chứng tetracycline (B) trên 5 loại vi khuẩn**

Hoạt tính sinh học của thực vật cũng thể hiện qua khả năng kháng khuẩn của chúng. Hiệu quả kháng khuẩn của các hợp chất thứ cấp có trong cao trích trái Khô qua rừng đối với 5 chủng vi khuẩn được trình bày ở Bảng 3 và Hình 1. Kết quả cho thấy đường kính vòng kháng khuẩn tỉ lệ thuận với nồng độ cao trích được sử dụng. Điều này có thể kết luận khả năng kháng khuẩn tăng khi nồng độ cao trích tăng. Qua các nghiên cứu trước đây về khả năng kháng vi khuẩn *B. cereus*, *S. aureus* và *P. aeruginosa* của Khô qua rừng (Abid Mahmood et al., 2012; Mada et al., 2013; Jabeen & Khanum, 2017), kết quả trên cho thấy sự tương đồng nhất định về khả năng kháng khuẩn của cao trích trái Khô qua rừng. Từ kết quả cho thấy cao trích có khả năng kháng khuẩn ở nhiều nồng độ đối với tất cả các chủng vi khuẩn trong thí nghiệm, tuy nhiên nồng độ

kháng còn cao và đường kính kháng thấp. Tuy nhiên không thể phủ nhận về khả năng kháng đa dạng nhiều chủng loại vi khuẩn của cao trích.

Khả năng kháng vi sinh vật của cao trích thực vật không những phụ thuộc vào một hoạt chất chính mà còn là sự hoạt động kết hợp của những hợp chất khác nhau trong thực vật (Sunayane et al., 2003). Các chất này có vai trò quan trọng trong việc giúp thực vật ức chế nhiều vi sinh vật hay chống lại các động vật ăn cỏ và côn trùng theo nhiều cơ chế khác nhau. Nhóm flavonoids có khả năng kháng khuẩn do chúng có khả năng tạo phức với các protein ngoại bào và thành tế bào vi khuẩn, từ đó phá vỡ màng tế bào. Nhìn chung, các thành phần kháng khuẩn của cao trích thực vật ảnh hưởng tính thẩm thấu hoặc ức chế enzyme sinh tổng hợp amino acid của vi khuẩn

bằng cách tương tác với các enzyme hoặc protein của màng tế bào vi khuẩn gây ra sự phân tán của các dòng proton (Burt, 2004; Gill & Holley, 2006). Trong kết quả định lượng đã xác định được cao trích chứa các hợp chất phenolic và flavonoid, do đó khả năng kháng khuẩn của trái Khổ qua rừng là có cơ sở khoa học. Điều này giúp ích cho việc nghiên cứu ứng dụng Khổ qua rừng để điều trị và ngăn ngừa các bệnh do vi khuẩn.

#### 4. KẾT LUẬN

Hàm lượng phenolic tổng số trong trái (36,97 mg/g TLK bột) cao hơn so với trong thân và lá (tương ứng là 25,86 và 21,49 mg/g TLK bột). Tuy nhiên, hàm lượng flavonoid tổng số trong lá lại đạt

cao nhất (136,27 mg/g TLK bột) so với các bộ phận thân và trái (lần lượt là 64,08 và 48,47 mg/g TLK bột). Do đó, có sự khác biệt rõ rệt về hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số giữa các bộ phận của cao trích cây Khổ qua rừng.

Cao trích trái Khổ qua rừng có khả năng kháng gốc tự do DPPH ( $EC_{50} = 4310,15 \mu\text{g/mL}$ ) và khử sắt ( $EC_{50} = 339,17 \mu\text{g/mL}$ ).

Cao trích trái Khổ qua rừng đều có thể kháng ở các nồng độ cao trích khác nhau đối với 5 loại vi khuẩn *P. aeruginos*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus* và *L. innocua*.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abid Mahmood, A. M., Raja, G. K., Tariq Mahmood, T. M., Muhammad Gulfraz, M. G., & Azra Khanum, A. K. (2012). Isolation and characterization of antimicrobial activity conferring component(s) from seeds of bitter gourd (*Momordica charantia*). *J. Med. Plants Res*, 6. <https://doi.org/10.5897/JMPR10.613>
- Akihisa, T., Higo, N., Tokuda, H., Ukiya, M., Akazawa, H., Tochigi, Y., ... & Nishino, H. (2007). Cucurbitane-type triterpenoids from the fruits of *Momordica charantia* and their cancer chemopreventive effects. *Journal of natural products*, 70(8), 1233-1239. <https://doi.org/10.1021/np068075p>
- Bajpai, M., Pande, A., Tewari, S. K., & Prakash, D. (2005). Phenolic contents and antioxidant activity of some food and medicinal plants. *International journal of food sciences and nutrition*, 56(4), 287-291. <https://doi.org/10.1080/09637480500146606>
- Bhaigayabati, T. H., Devi, P. G., & Bag, G. C. (2014). Total flavonoid content and antioxidant activity of aqueous rhizome extract of three *Hedychium* species of Manipur valley. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(5), 970-976.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- De Oliveira, M. S., da Costa, W. A., Bezerra, F. W. F., Araújo, M. E., Ferreira, G. C., & de Carvalho Junior, R. N. (2018). Phytochemical profile and biological activities of *Momordica charantia* L.(Cucurbitaceae): A review. *African Journal of Biotechnology*, 17(27), 829-846. <https://doi.org/10.5897/AJB2017.16374>
- Định, P.K., Tuấn, N.T. & Trang, Đ.T.X (2019). Hoạt tính chống oxy hoá và bảo vệ gan của cao chiết Lá Gáo Trắng (*Neolamarckia cadamba* (ROXB.) BOSSER). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 55(5A), 24-31. <https://doi.org/10.61310.22144/ctu.jvn.2019.124>
- Ferreira, I. C., Baptista, P., Vilas-Boas, M., & Barros, L. (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food chemistry*, 100(4), 1511-1516. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.043>
- Gill, A. O., & Holley, R. A. (2006). Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. *International journal of food microbiology*, 108(1), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.10.009>
- Hsiao, P. C., Liaw, C. C., Hwang, S. Y., Cheng, H. L., Zhang, L. J., Shen, C. C., ... & Kuo, Y. H. (2013). Antiproliferative and hypoglycemic cucurbitane-type glycosides from the fruits of *Momordica charantia*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(12), 2979-2986. <https://doi.org/10.1021/jf3041116>
- Hsu, C., Tsai, T. H., Li, Y. Y., Wu, W. H., Huang, C. J., & Tsai, P. J. (2012). Wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) extract and its bioactive components suppress *Propionibacterium acnes*-induced inflammation. *Food Chemistry*, 135(3), 976-984. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.045>
- Hương, T. N. L. & Bạch, L. T. (2017). *Giáo trình Hóa học hợp chất thiên nhiên*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.
- Jabeen, U., & Khanum, A. (2017). Isolation and characterization of potential food preservative peptide from *Momordica charantia* L. *Arabian*



- Journal of Chemistry*, 10, S3982-S3989.  
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.06.009>
- Kubola, J., & Siriamornpun, S. (2008). Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food chemistry*, 110(4), 881-890.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.076>
- Liu, Z. Q. (2010). Chemical methods to evaluate antioxidant ability. *Chemical reviews*, 110(10), 5675-5691. <https://doi.org/10.1021/cr900302x>
- Lý, B.T.K., Oanh, N.T.M., Thương, N.T.L., Chi, H.T. (2021). Đánh giá hoạt tính sinh học của cao chiết Nghệ Trắng (*Curcuma aromatica* Salisb). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Sư phạm Tp. Hồ Chí Minh*, 18(6), 1028-1040.
- Mada, S. B., Garba, A., Mohammed, H. A. A., Muhammad, A., Olagunju, A., & Muhammad, A. B. (2013). Antimicrobial activity and phytochemical screening of aqueous and ethanol extracts of *Momordica charantia* L. leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(10), 579-586. <https://doi.org/10.5897/JMPR012.1161>
- Marzoug, H. N. B., Romdhane, M., Lebrhi, A., Mathieu, F., Couderc, F., Abderraba, M., ... & Bouajila, J. (2011). Eucalyptus oleosa essential oils: chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the oils from different plant parts (stems, leaves, flowers and fruits). *Molecules*, 16(2), 1695-1709.  
<https://doi.org/10.3390/molecules16021695>
- Newman, M., Musgrave, F. I., & Lardelli, M. (2007). Alzheimer disease: amyloidogenesis, the presenilins and animal models. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1772(3), 285-297.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2006.12.001>
- Nguyễn, Đ. H., & Kuznetsov, A.N. (2014). Đặc trưng cơ bản của thực vật rừng nhiệt đới gió mùa Việt Nam. *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology*, 30(1).
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.  
<https://doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>
- Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare, S., & Bansal, Y. K. (2015). Secondary metabolites of plants and their role: Overview. *Current trends in biotechnology and pharmacy*, 9(3), 293-304.
- Prieto, J. M. (2012). Procedure: Preparation of DPPH Radical, and antioxidant scavenging assay. *DPPH Microplate Protoc*, 2012, 7-9.
- Son, Đ. V., Bảo, N. Q., Vương, T. B., Trọng, P. Q., Chi, H. N. Q., & Hương, N. T. M. (2023). Thực trạng nguồn tài nguyên cây dược liệu quý hiếm ở một số đảo vùng Nam Bộ, Việt Nam. *Tạp chí Khoa học lâm nghiệp*, (5), 3-13.
- Stefanović, O. D., Tešić, J. D., & Čomić, L. R. (2015). Melilotus albus and Dorycnium herbaceum extracts as source of phenolic compounds and their antimicrobial, antibiofilm, and antioxidant potentials. *Journal of food and drug analysis*, 23(3), 417-424.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.01.003>
- Sunayana, V., Vadivukkarasi, P., Rajendran, A., Xavier, T. F., & Natarajan, E. (2003). Antibacterial potential of *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng. *A study in vitro*. *J Swamy Bot Club*, 20, 55-58.
- Trang, Đ.T.X. (2019). *Giáo trình Thực tập Thử nghiệm sinh học*. Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ.
- Uddin, S. N., Akond, M. A., Mubassara, S., & Yesmin, M. N. (2008). Antioxidant and Antibacterial activities of *Trema cannabina*. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 3(2), 105-108.
- Watson, R. R. (Ed.). (2018). *Polyphenols in plants: isolation, purification and extract preparation*. Academic Press.
- Yadav, R. N. S., & Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of phytology*, 3(12).
- Zhang, F., Lin, L., & Xie, J. (2016). A mini-review of chemical and biological properties of polysaccharides from *Momordica charantia*. *International journal of biological macromolecules*, 92, 246-253.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.101>