



KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN CỦA CAO CHIẾT LÁ VỐI (*Syzygium nervosum*) ĐỐI VỚI VI KHUẨN *Vibrio parahaemolyticus* GÂY BỆNH HOẠI TỬ GAN TUYỆT CẤP TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*)

Trương Thị Hoa^{1,*}, Trần Quang Khánh Vân¹, Hồ Thị Tùng¹,
Đoàn Quốc Tuấn², Trần Nam Hà¹

¹ Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

² Trường Đại học Y – Dược, Đại học Huế, 6 Ngô Quyền, Huế, Việt Nam

* Tác giả liên hệ: Trương Thị Hoa <truongthihoa@hueuni.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 28-9-2023; Ngày chấp nhận đăng: 11-10-2023)

Tóm tắt. Lá vối được ngâm chiết bằng ethanol 96%, ethanol 55% và nước cất và tất cả cao chiết đều có khả năng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Trong đó, cao chiết lá vối ngâm chiết bằng ethanol 96% có khả năng kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* mạnh nhất với đường kính vòng kháng khuẩn trung bình 17,9 mm. Nồng độ ức chế tối thiểu của cao chiết lá vối ngâm chiết bằng ethanol 96%, ethanol 55% và nước cất lần lượt là 6,25, 12,5 và 100 mg/mL. Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu tương ứng là 12,5, 50 và 200 mg/mL. Cao chiết chứa flavonoid, coumarin và tannin và có tiềm năng sử dụng để phòng trị bệnh do *Vibrio parahaemolyticus* gây ra trên tôm thẻ chân trắng.

Từ khóa: *Vibrio parahaemolyticus*, cao chiết lá vối, khả năng kháng khuẩn

Antibacterial activity of *Syzygium nervosum* extracts against *Vibrio parahaemolyticus*, causing acute hepatopancreatic necrosis in white leg shrimps (*Litopenaeus vannamei*)

Truong Thi Hoa^{1,*}, Tran Quang Khanh Van¹, Ho Thi Tung¹,
Doan Quoc Tuan², Tran Nam Ha¹

¹ University of Agriculture and Forestry, Hue University, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

² University of Medicine and Pharmacy, Hue University, 6 Ngo Quyen St., Hue, Vietnam

* Correspondence to Truong Thi Hoa <truongthihoa@hueuni.edu.vn>

(Submitted: September 28, 2023; Accepted: October 11, 2023)

Abstract. *Syzygium nervosum* leaves were extracted in 96 and 55% ethanol and distilled water. The results reveal that all extracts possess antibacterial activity against *V. parahaemolyticus*. Remarkably, the extract obtained with 96% ethanol exhibits the highest antibacterial efficacy, with an average inhibition zone diameter of 17.9 mm. The minimum inhibitory concentration for the extracts prepared with 96% ethanol, 55% ethanol, and distilled water is 6.25, 12.5, and 100 mg/mL, respectively. Their minimum bactericidal concentration is 12.5, 50, and 200 mg/mL, respectively. The extracts contain flavonoids, coumarin, and tannin, and they can be used as a preventive against diseases caused by *V. parahaemolyticus* in white leg shrimps.

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus*, *Syzygium nervosum* leaf extract, antibacterial activity

1 Đặt vấn đề

Bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (Acute hepatopancreatic necrosis disease - AHPND) do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây ra và gây thiệt hại cho người nuôi tôm. Bệnh lây lan nhanh và tôm nhiễm bệnh có tỷ lệ chết cao [1]. Tại Việt Nam, trong năm 2021, tổng diện tích tôm bị bệnh hoại tử gan tụy cấp là 2.103 ha (chiếm 44,39% diện tích tôm mắc bệnh) [2].

Kháng sinh thường được sử dụng để trị bệnh do vi khuẩn gây ra và mang lại hiệu quả tốt trong việc điều trị bệnh vi khuẩn trên tôm [3]. Tuy nhiên, thuốc kháng sinh đã được biết đến có nhiều tác dụng không mong muốn như ảnh hưởng tiêu cực đến môi trường, chất lượng sản phẩm thủy sản cũng như hiệu quả trong quá trình điều trị [4]. Do đó, thảo dược được xem là một trong những giải pháp hiệu quả trong việc phòng trị bệnh do vi khuẩn. Nhiều báo cáo khoa học đã chứng minh hiệu quả của việc sử dụng thảo dược trong nuôi trồng thủy sản. Trong đó, hoạt tính kháng khuẩn của thảo dược đã được nghiên cứu và ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản [5]. Một số chiết xuất thảo dược được nghiên cứu, ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản và có hiệu quả trong việc phòng trị bệnh như cà gai leo (*Solanum trilobatum*), xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata*), diệp hạ châu (*Phyllanthus niruri*), ngũ bội tử (*Galla chinensis*), lựu (*Punica granatum*) và cam thảo (*Glycyrrhiza uralensis*) [6–9]. Nhiều nghiên cứu đã được báo cáo cho thấy thảo dược có giá trị

ứng dụng cao trong nuôi trồng thủy sản. Chiết xuất thảo dược ghi nhận có hoạt tính kháng khuẩn cao, tăng cường hệ miễn dịch, ít ảnh hưởng đến môi trường và không gây hại cho con người [10–12].

Cây vối (*Syzygium nervosum*) phân bố rộng rãi tại các quốc gia nhiệt đới như Việt Nam, Lào, Campuchia, v.v. Cây vối là loại cây gỗ nhỏ, cao khoảng 5–10 m [13]. Ở nước ta, các tỉnh như Hà Giang, Nghệ An, Lạng Sơn, Thanh Hóa, Lào Cai là nơi có nhiều cây vối. Ngoài ra, loài cây này cũng được trồng phổ biến ở khu vực miền Trung và một số tỉnh phía Nam. Trong thành phần của lá vối có chứa khoáng chất, kháng sinh thực vật, các vitamin và tinh dầu [13]. Đến nay vẫn chưa có báo cáo về sử dụng lá vối để phòng trị bệnh do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm. Do đó nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định khả năng kháng khuẩn của cao chiết lá vối đến vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm thẻ chân trắng và thành phần hợp chất hữu cơ trong lá vối nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho các nghiên cứu sử dụng cao chiết lá vối để phòng trị bệnh do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây ra trên tôm thẻ chân trắng.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu

Nguồn vi khuẩn

Chủng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* TX07-3/3 được sử dụng để xác định hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết lá vối được lấy từ bộ sưu tập vi khuẩn của bộ môn Bệnh thủy sản, khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế. Chủng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* TX07-3/3 chứa các gen độc tố PirA và PirB được phân lập trên tôm thẻ chân trắng nuôi tại tỉnh Thừa Thiên Huế bị bệnh hoại tử gan tụy cấp [14].

Chủng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* TX07-3/3 được nuôi trên môi trường Tryptone Soya Agar (TSA, Himedia, Ấn Độ) có bổ sung 2% NaCl ở nhiệt độ 28 °C trong 24 giờ. Sau đó chúng tôi lấy khuẩn lạc vi khuẩn chuyển sang nuôi cấy trên môi trường Tryptic Soy Broth (TSB, Himedia, Ấn Độ) có bổ sung 2% NaCl ở nhiệt độ 28 °C trong 24 giờ. Mật độ vi khuẩn được xác định theo phương pháp đo mật độ quang học (Optical density- OD) ở bước sóng 600 nm trên máy quang phổ UV-VIS (U2900, Hitachi, Nhật Bản) ở giá trị OD = 1 (tương đương mật độ vi khuẩn là 10⁹ CFU/mL), sau đó mật độ vi khuẩn được pha loãng về 10⁶ CFU/mL để sử dụng trong các thí nghiệm.

Nguồn lá vối và phương pháp tạo cao chiết

Lá vối tươi được chúng tôi thu từ các hộ dân trồng cây vối tại tỉnh Thừa Thiên Huế. Lá vối được rửa sạch, sấy khô trong tủ sấy ở nhiệt độ 55 °C trong 24 giờ và xay thành bột nguyên liệu bằng máy xay sinh tố đa năng. Bột nguyên liệu được ngâm trong các dung môi khác nhau gồm

Ethanol 96%, Ethanol 55% và nước cất với tỉ lệ 1:10 trong 60 phút. Sau đó, dịch chiết được lọc qua giấy lọc Whatman No.1 và được làm khô bằng cách sử dụng máy cô quay chân không (Rotavapor R-100, BUCHI, Thụy Sĩ) để loại bỏ dung môi thu được cao chiết lá với [15]. Cao chiết (Hình 1) được bảo quản ở nhiệt độ 4 °C để sử dụng cho các thí nghiệm.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp xác định hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết lá với

Phương pháp khuếch tán đĩa thạch được sử dụng để xác định khả năng kháng *Vibrio parahaemolyticus* của cao chiết lá với [16]. Cao chiết lá với được pha loãng trong nước cất với liều lượng 400 mg/mL, sau đó được tẩm vào đĩa giấy có đường kính 6 mm, để khô và sử dụng để phân tích hoạt tính kháng khuẩn [9]. Dùng micropipet lấy 100 μ L dịch vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* mật độ là 10^6 CFU/mL nhỏ trên môi trường TSA bổ sung 2% NaCl và dùng que cấy tam giác trang đều và để khô trong 3–5 phút. Đặt các đĩa giấy đã được tẩm cao chiết lá với lên đĩa môi trường trên và nuôi cấy ở nhiệt độ 28 °C trong 24 giờ. Đĩa giấy tẩm nước cất được sử dụng làm đối chứng âm và đĩa giấy tẩm kháng sinh Doxycyclin (30 μ g, Nam Khoa, Việt Nam) được sử dụng làm đối chứng dương. Thí nghiệm được lặp lại ba lần. Khả năng kháng khuẩn của cao chiết lá với được xác định bằng cách đo đường kính của vòng kháng khuẩn sau 24 giờ nuôi cấy ở nhiệt độ 28 °C.

Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (minimum inhibitory concentration - MIC) của cao chiết lá với

Cao chiết lá với được pha loãng thành các nồng độ khác nhau theo cơ số 2 với nồng độ gốc ban đầu là 400 mg/mL cho đến 3,13 mg/mL. Cho 100 μ L dung dịch vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* mật độ 10^6 CFU/mL vào môi trường TSB bổ sung 2% NaCl có chứa cao chiết thảo dược ở các nồng độ trên và nuôi cấy ở nhiệt độ 28 °C trong 24 giờ. Mỗi nồng độ cao chiết lá với được lặp lại



Hình 1. Cao chiết lá với ngâm chiết bằng ethanol 96%

ba lần. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của cao chiết lá vối được xác định là nồng độ thấp nhất của cao chiết trong môi trường lỏng không có vi khuẩn phát triển [16].

Phương pháp xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (minimum bactericidal concentration - MBC) của cao chiết lá vối

Các nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) sự phát triển của vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* được sử dụng để xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) bằng phương pháp xác định khuẩn lạc trên môi trường TSA bổ sung 2% NaCl [16]. Trong thử nghiệm xác định nồng độ ức chế tối thiểu, các ống nghiệm không có vi khuẩn phát triển được sử dụng cho thí nghiệm này. Lấy 50 μ L dung dịch vi khuẩn từ các ống nghiệm trên cấy trên môi trường TSA bổ sung 2% NaCl nuôi cấy ở nhiệt độ 28 °C trong 24 giờ, kiểm tra sự phát triển của khuẩn lạc trên môi trường nuôi cấy. Mỗi nồng độ cao chiết lá vối kết hợp với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* được lặp lại ba lần. Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của cao chiết lá vối được xác định là nồng độ thấp nhất của cao chiết trên môi trường không có vi khuẩn phát triển.

Phương pháp định tính thành phần một số nhóm hợp chất hữu cơ trong lá vối

Chiết xuất, phân tích sơ bộ các nhóm chất hữu cơ trong dịch chiết toàn phần từ lá vối bằng các phản ứng hóa học đặc trưng [17, 18]. Định tính các nhóm chất: glycosid tim, alkaloid, anthranoid, saponin, flavonoid, coumarin, acid hữu cơ, tannin có trong cao chiết lá vối. Sử dụng thuốc thử Mayer, Bouchardat và Dragendorf để xác định sự hiện diện của alkaloid; các thuốc thử xác định flavonoid trong cao chiết là NaOH, NH₃, chì acetat, Cyanidin; dựa vào tính chất tạo bọt để xác định saponin; sử dụng FeCl₃, chì acetat, đồng acetat để xác định sự hiện diện của tanin; định tính coumarin bằng thuốc thử diazo; xác định anthranoid bằng phản ứng Borntraeger; acid hữu cơ bằng Na₂CO₃; glycosid tim bằng các phản ứng Liebermann, Legal và Keller-Kiliani.

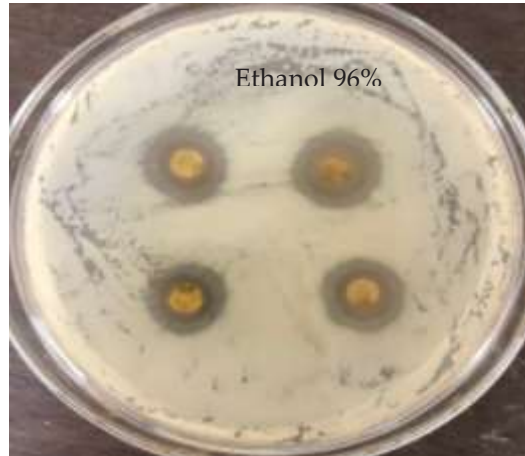
2.3 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được nhập xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 và SPSS 20. Phân tích phương sai ANOVA một yếu tố để so sánh sự khác nhau về đường kính vòng kháng khuẩn ở mức ý nghĩa thống kê $p \leq 0,05$ bằng phương pháp kiểm định khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa (Least Significant Difference Test – LSD).

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Khả năng kháng khuẩn của cao chiết lá vối đối với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

Kết quả xác định khả năng kháng khuẩn của cao chiết lá vối đối với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* cho thấy đường kính vòng kháng khuẩn của cao chiết lá vối ngâm chiết bằng ethanol 96% (Hình 2), ethanol 55% và nước cất với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* lần lượt là 17,9 mm, 13,5 mm và 7,5 mm. Như vậy cao chiết lá vối ngâm chiết bằng ethanol 96% có hoạt tính kháng



Hình 2. Vòng kháng khuẩn của cao chiết lá với ngâm chiết bằng ethanol 96% với *Vibrio parahaemolyticus*

Vibrio parahaemolyticus cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với cao chiết lá với được ngâm chiết bằng ethanol 55% và nước cất. So với Doxycyclin, đường kính vòng kháng khuẩn của cao chiết lá với ngâm chiết bằng ethanol 96% với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* thấp hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) (Bảng 1).

Theo Faikoh và cs. [19], đường kính vòng kháng khuẩn nhỏ hơn 7,5 mm thì mức độ kháng vi sinh vật yếu; từ 7,5–15 mm thì mức độ kháng vi sinh vật vừa và lớn hơn 15 mm thì mức độ kháng vi sinh vật mạnh. Như vậy, kết quả cho thấy cao chiết lá với ngâm chiết bằng ethanol 96% kháng mạnh với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*. Kết quả nghiên cứu này cho thấy cao chiết lá với ngâm chiết bằng ethanol 96% có tiềm năng phát triển thành chế phẩm thảo dược để phòng trị bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây ra. Kết quả nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của chất chiết diệp hạ châu thân đỏ (*Phyllanthus urinaria*), lựu (*Punica granatum*) và trà xanh (*Camellia sinensis*) ngâm chiết bằng methanol có khả năng

Bảng 1. Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết lá với được ngâm chiết bằng các dung môi khác nhau đối với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*

| STT | Cao chiết lá với ngâm chiết trong dung môi | Đường kính vòng kháng khuẩn (mm) của cao chiết lá với với vi khuẩn <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (TB ± SD) |
|-----|--|---|
| 1 | Ethanol 96% | 17,9 ^a ± 1,5 |
| 2 | Ethanol 55% | 13,5 ^b ± 2,3 |
| 3 | Nước cất | 7,5 ^c ± 2,5 |
| 4 | Đối chứng dương (Doxycyclin (30 µg)) | 28,1 ^d ± 3,0 |
| 5 | Đối chứng âm (nước cất) | 0 |

Ghi chú: các chữ cái a, b, c, d chỉ sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê $p < 0,05$.

kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh cho tôm thẻ chân trắng với đường kính vòng kháng khuẩn trung bình lần lượt là 21,7 mm; 20,7 mm và 11,8 mm [9]; dịch chiết lá sim và hạt sim (*Rhodomyrtus tomentosa*) ngâm chiết bằng *ethanol* 40% cũng có khả năng kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm thẻ chân trắng với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 12,67 mm và 17,67 mm [20].

3.2 Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của cao chiết lá với đối với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của cao chiết lá với đối với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* được thể hiện qua Bảng 2. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là nồng độ thấp nhất của cao chiết lá với trong môi trường lỏng không có vi khuẩn phát triển. Do đó nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) càng thấp thì khả năng kháng khuẩn của cao chiết lá với càng cao.

Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của cao chiết lá với ngâm chiết bằng *ethanol* 96%, *ethanol* 55% và nước cất lần lượt là 6,25 mg/mL, 12,5 mg/mL và 100 mg/mL. Khi lấy dịch vi khuẩn ở các nồng độ này, nuôi cấy trên môi trường TSA có bổ sung 2% NaCl ở nhiệt độ 28 °C trong 24 giờ thì khuẩn lạc vi khuẩn phát triển trên môi trường. Cao chiết lá với ngâm chiết bằng *ethanol* 96%, *ethanol* 55% và nước cất lần lượt ở các nồng độ 12,5 mg/mL, 50 mg/mL và 200 mg/mL, khuẩn lạc vi khuẩn không phát triển trên môi trường nuôi cấy (Bảng 3).

Kết quả này xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của cao chiết lá với ngâm chiết bằng *ethanol* 96%, *ethanol* 55% và nước cất lần lượt là 12,5 mg/mL, 50 mg/mL và 200 mg/mL. Tỷ lệ MBC/MIC của cao chiết lá với với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* nhỏ hơn hoặc bằng 4 (Bảng 4). Theo Canillac và Mourey [21], tỷ lệ MBC/MIC nhỏ hơn hoặc bằng 4, cao chiết có khả năng diệt khuẩn. Ngược lại, tỷ lệ này lớn hơn 4, cao chiết có tác dụng kìm khuẩn. Kết quả nghiên

Bảng 2. Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của cao chiết lá với đến *Vibrio parahaemolyticus*

| Nồng độ cao chiết lá với (mg/mL) | Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của cao chiết lá với ngâm chiết trong dung môi | | |
|----------------------------------|---|--------------------|----------|
| | <i>Ethanol</i> 96% | <i>Ethanol</i> 55% | Nước cất |
| 400 | - | - | - |
| 200 | - | - | - |
| 100 | - | - | - |
| 50 | - | - | + |
| 25 | - | - | + |
| 12,5 | - | - | + |
| 6,25 | - | + | + |
| 3,13 | + | + | + |

Ghi chú: (+): Vi khuẩn phát triển; (-): Vi khuẩn không phát triển

Bảng 3. Kết quả xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của cao chiết lá vối đến *Vibrio parahaemolyticus*

| Nồng độ cao chiết lá vối (mg/mL) | Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của cao chiết lá vối ngâm chiết trong dung môi | | |
|----------------------------------|---|-------------|----------|
| | Ethanol 96% | Ethanol 55% | Nước cất |
| 400 | - | - | - |
| 200 | - | - | - |
| 100 | - | - | + |
| 50 | - | - | + |
| 25 | - | + | + |
| 12,5 | - | + | + |
| 6,25 | + | + | + |

Ghi chú: (+): Vi khuẩn phát triển, (-): Vi khuẩn không phát triển

Bảng 4. Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của cao chiết lá vối với *Vibrio parahaemolyticus*

| Cao chiết lá vối ngâm chiết trong dung môi | Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), (mg/mL) | Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC), (mg/mL) | Tỷ lệ MBC/MIC |
|--|---|---|---------------|
| Ethanol 96% | 6,25 | 12,5 | ≤ 4 |
| Ethanol 55% | 12,5 | 50 | ≤ 4 |
| Nước cất | 100 | 200 | ≤ 4 |

cứu cho thấy cao chiết lá vối có khả năng diệt vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*. Kamel [22], cho rằng nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu đối với các chủng vi khuẩn gây bệnh có liên quan đến nồng độ hoạt chất và độ tinh khiết của cao chiết. Tương tự kết quả xác định MIC của cao chiết nghệ ngâm chiết bằng ethanol đến vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* là 0,94 mg/mL [7], Theo Al-Zoreky, cao chiết từ vỏ lựu (*Punica granatum*) ngâm chiết bằng methanol 80% có khả năng ức chế mạnh đối với *Staphylococcus aureus* với nồng độ ức chế tối thiểu là 2 mg/mL. Theo kết quả khảo sát về tình hình sử dụng thảo dược trong nuôi tôm vùng đồng bằng sông Cửu Long cho thấy có một số thảo dược được sử dụng phổ biến để phòng bệnh trong quá trình nuôi tôm như tỏi (*Allium sativum*), điệp hạ châu thân đỏ (*Phyllanthus urinaria*) [24].

3.3 Kết quả xác định một số nhóm hợp chất hữu cơ trong lá vối

Kết quả phân tích các nhóm hợp chất saponin, flavonoid, coumarin, tanin, anthranoid, acid hữu cơ, alcaloid và glycosid tim trong lá vối xác định được các hợp chất hữu cơ có trong lá vối là flavonoid, coumarin, tanin (Bảng 5).

Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Giang và cs. [5], trong lá vối có chứa flavonoid, coumarin, tanin, acid hữu cơ, đường tự do và sterol. Các flavonoid có khả năng tạo phức với các ion kim loại nên có tác dụng như những chất xúc tác ngăn cản các phản ứng oxy hóa nên các

Bảng 5. Thành phần một số nhóm hợp chất hữu cơ trong lá vối

| STT | Nhóm chất | Thuốc thử phản ứng | Kết quả | Kết luận |
|-----|--------------|---------------------------------|---------|----------|
| 1 | Saponin | Phản ứng tạo bọt | - | Không |
| 2 | Flavonoid | Chì acetat | +++ | Có |
| | | Cyanidin | +++ | |
| | | NaOH | +++ | |
| 3 | Coumarin | Diazo | ++ | Có |
| 4 | Tanin | FeCl ₃ | +++ | Có |
| | | Chì acetat | +++ | |
| | | Đồng acetat | +++ | |
| 5 | Anthranoid | Borntraeger | - | Không |
| 6 | Acid hữu cơ | Na ₂ CO ₃ | - | Không |
| 7 | Alcaloid | Mayer | - | Không |
| | | Dragendorf | - | |
| 8 | Glycosid tim | Liebermann | - | Không |
| | | Legal | - | |
| | | Keller-Kiliani | - | |

Ghi chú: ký hiệu: (-): Phản ứng âm tính, (+): Phản ứng dương tính, (++): Phản ứng dương tính rõ, (+++): Phản ứng dương tính rất rõ.

flavonoid có tác dụng bảo vệ cơ thể [5]. Ngoài hoạt tính chống oxy hóa, flavonoid có hoạt tính kháng khuẩn chống lại các vi sinh vật gây bệnh [25]. Coumarin và tanin có tính kháng khuẩn và chống viêm [17, 18]. Do vậy, kết quả xác định thành phần một số nhóm hợp chất hữu cơ trong lá vối là flavonoid, coumarin và tanin giúp giải thích thêm về kết quả hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết lá vối. Từ kết quả này cho thấy có thể sử dụng cao chiết lá vối ngâm chiết bằng *ethanol* 96%, *ethanol* 55% có khả năng kháng khuẩn và có tiềm năng là nguồn thảo dược giúp phòng trị bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm thẻ chân trắng do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây ra. Theo Immanuel và cs. [26], trong nhiều giải pháp thay thế kháng sinh trong nuôi tôm, thảo dược cho thấy những tác động tiềm năng đối với kích thích tăng trưởng và tăng cường tỉ lệ sống của tôm nuôi cũng như đặc tính kháng khuẩn.

4 Kết luận

Cao chiết lá vối được ngâm chiết bằng *ethanol* 96%, *ethanol* 55% và nước cất đều có khả năng kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*. Trong đó, cao chiết lá vối ngâm chiết bằng *ethanol* 96%, có khả năng kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* mạnh với đường kính vòng kháng khuẩn trung bình là 17,9 mm. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của cao chiết lá vối ngâm chiết bằng *ethanol* 96%, *ethanol* 55% và nước cất lần lượt là 6,25 mg/mL, 12,5 mg/mL và 100 mg/mL. Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của cao chiết lá vối ngâm chiết bằng *ethanol* 96%, *ethanol* 55% và nước cất

lần lượt là 12,5 mg/mL, 50 mg/mL và 200 mg/mL. Thành phần một số nhóm hợp chất hữu cơ trong lá với gồm flavonoid, coumarin, tanin.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được thực hiện với sự tài trợ kinh phí của đề tài cấp Đại học Huế: “Ảnh hưởng của cao chiết lá với (*Syzygium nervosum*) lên tăng trưởng, miễn dịch và khả năng kháng bệnh của tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*”.

Tài liệu tham khảo

1. OIE-World Organisation for Animal Health (2019), *Acute hepatopancreatic necrosis disease*, Retrieved May 25, 2021, from <https://www.oie.int/en/home>.
2. Cục Thú y (2021), *Báo cáo công tác phòng chống dịch bệnh thủy sản năm 2021 và kế hoạch công tác năm 2022 ngày 8/12/2021*.
3. Jayaprakas, V. and Sambhu, C. (1996), Growth response of white prawn, *Penaeus indicus*, to dietary L-carnitine, *Asian Fisheries Science*, 9, 209–220.
4. Sarter, S., Kha, N. H. N., Hung, L. T., Lazard, J. and Didier, Montet (2007), Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish, *Food Control*, 18(11), 1391–1396.
5. Castro, R., Lamas, J., Morais, P., Sanmartín, M. L., Orallo, F. and Leiro, J. (2008), Resveratrol modulates innate and inflammatory responses in fish leucocytes, *Veterinary Immunology Immunopathology*, 126(1–2), 9–19.
6. Citarasu, T. (2010), Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry, *Aquaculture International*, 18(3), 403–414.
7. Lawhavinit, O. A., Sincharoenpokai, P. and Sunthornandh, P. (2011), Effects of ethanol turmeric (*Curcuma longa* Linn.) extract against shrimp pathogenic *Vibrio* spp. and on growth performance and immune status of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*), *Kasetsart Journal Natural Science*, 45(1), 70–77.
8. Guo, J. J., Her, B. Y., Chou, R. L. and Chen, T. I. (2011), Screening of Modern Herbal Medicines in White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against *Vibrio harveyi* infection, *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgah*, 63(2), 1–7.
9. Trần Thị Tuyết Hoa, Trần Thị Mỹ Duyên, Hồng Mộng Huyền, Bùi Thị Bích Hằng và Nguyễn Trọng Tuấn (2020), Hoạt tính kháng khuẩn của một số chất chiết thảo dược kháng *Vibrio parahaemolyticus* và *Vibrio harveyi* gây bệnh ở tôm biển, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 56 (Số chuyên đề: Thủy sản), (1), 170–178.

10. Makkar, H. P. S., Francis, G., Becker, K. (2007), Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems, *Animal*, 1, 1371–1391.
11. Hai, N. V. (2015), The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture, *Aquaculture*, 446, 88–96.
12. Reverter, M., Tapissier-Bontemps, N., Sasal, P. and Saulnier, D. (2017), Use of medicinal plants in aquaculture. In: Austin B. and Newaj-Fyzul A. (Ed), *Diagnosis and Control of Dis of Fish and Shellfish*, 223–261.
13. Giang, N. P., Tu, T. T. N. and Hieu, N. N. (2020), *Ethnopharmacology, Phytochemistry, and Pharmacology of Syzygium nervosum*, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.
14. Quang, H. T., Lan, T. T., Hai, T. T. H., Yen, P. T. H., Van, T. Q. K., Tung, H. T., Binh, M. N., Son, N. K. H., Linh, N. Q., Tram, N. D. Q. (2020), Genetic diversity and toxic genes analysis of *Vibrio* spp. isolated from white leg shrimp and marine fishes cultured in Tam Giang lagoon in Thua Thien Hue province, Vietnam, *Indian Journal of Science and Technology*, 13(13), 1412–1422.
15. Nguyễn Kim Phi Phụng (2007), Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh.
16. Oonmetta-Aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P. and Eumkeb, G. (2006), Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga*) on *Staphylococcus aureus*, *Food Science and Technology*, 39(10), 1214–1220.
17. Bộ Y tế (2011), Dược liệu học tập 1, Nhà xuất bản Y học, Tp. Hà Nội.
18. Bộ Y tế (2018), Dược liệu học tập 2, Nhà xuất bản Y học, Tp. Hà Nội.
19. Faikoh, E. N., Hong, Y. H., Hu, & S. Y. (2014), Liposome-encapsulated cinnamaldehyde enhances zebrafish (*Danio rerio*) immunity and survival when challenged with *Vibrio vulnificus* and *Streptococcus agalactiae*, *Fish and Shellfish Immunology*, 38, 15–24.
20. Đặng Thị Lụa, Lại Thị Ngọc Hà, Nguyễn Thanh Hải (2015), Tác dụng diệt khuẩn của dịch chiết lá sim và hạt sim (*Rhodomyrtus tomentosa*) đối với vi khuẩn gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm nuôi nước lợ, *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 13(7), 1101–1108.
21. Canillac, N., and Mourey, A. (2001), Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria, *Food Microbiology*, 18(3), 261–268.
22. Kamel, C. (2001), Tracing modes of action and the roles of plant extracts in nonruminants, *Recent advances in Animal nutrition*, 135–150.
23. Al-Zoreky, N. S. (2009), Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels, *International Journal of Food Microbiology*, 134(3), 244–248.
24. Hồng Mộng Huyền, Nguyễn Văn Toàn, Huỳnh Văn Hiền và Trần Thị Tuyết Hoa (2020), Tình hình sử dụng thảo dược trong nuôi tôm vùng Đồng bằng sông Cửu Long, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 56 (Số chuyên đề: Thủy sản) (1), 137–148.

25. 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.
26. Immanuel, G., Vincybai, V. C., Sivaram, V., Palavesam, A. and Marian, M. P. (2004), Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles, *Aquaculture*, 236(1–4), 53–65.