

COMPARISON OF CHEMICAL COMPOSITIONS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF UNRIPE AND RIPE *Sonneratia caseolaris* L. FRUIT EXTRACTS COLLECTED FROM HAU GIANG AND EMULSION FOOD PRESERVATIVE APPLICATION

Pham Khanh Nguyen Huan, Vo Huu Nghia, Ha Thi Kim Quy*

Can Tho University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 17/4/2025 Revised: 15/7/2025 Published: 15/7/2025	This study aims to compare the chemical compositions and antimicrobial activities of unripe and ripe <i>Sonneratia caseolaris</i> L. fruit extracts collected from Hau Giang province and to evaluate their potential application in food preservation. EtOH extracts from unripe and ripe fruits were prepared and analyzed for phytochemical analysis. Antimicrobial activities were assessed against 10 bacterial strains and <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> fungus using the agar well diffusion. Emulsion systems containing the extracts were formulated and evaluated for their efficacy in preserving salad. Results revealed that unripe fruit extracts contained significantly higher flavonoid content than ripe fruit extracts, while phenolic content was comparable between both extracts. Both extracts exhibited potent antimicrobial activities against the tested microorganisms. Notably, emulsion systems incorporating 0.5-1% extract concentration demonstrated effective preservation of salad for 7 days at 4 °C. This research provides compelling evidence for the potential application of <i>S. caseolaris</i> fruit extracts in developing natural food preservative formulations.
KEYWORDS Unripe and ripe <i>S. caseolaris</i> Emulsion systems Chemical compositions Antimicrobial activities Preserving salad	

SƠ SÁNH THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG VI SINH VẬT CỦA CAO CHIẾT TRÁI BÀN CHUA (*Sonneratia caseolaris* L.) NON VÀ GIÀ THU HÁI TẠI HẬU GIANG VÀ ỨNG DỤNG TRONG BẢO CHẾ HỆ NHŨ TƯƠNG BẢO QUẢN THỰC PHẨM

Phạm Khánh Nguyên Huân, Võ Hữu Nghĩa, Hà Thị Kim Quy*

Trường Đại học Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 17/4/2025 Ngày hoàn thiện: 15/7/2025 Ngày đăng: 15/7/2025	Nghiên cứu nhằm so sánh thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật của cao chiết trái Bàn chua (<i>Sonneratia caseolaris</i> L.) non và già thu hái tại tỉnh Hậu Giang, đồng thời đánh giá khả năng ứng dụng trong bảo quản thực phẩm. Cao chiết EtOH từ trái Bàn non và già được điều chế và phân tích thành phần hóa học. Hoạt tính kháng vi sinh vật được khảo sát đối với 10 chủng vi khuẩn và nấm <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch. Hệ nhũ tương chứa cao chiết được bảo chế và đánh giá khả năng bảo quản salad. Kết quả cho thấy cao chiết trái Bàn non có hàm lượng flavonoid cao hơn trái già, trong khi hàm lượng phenolic tương đương. Cả hai loại cao chiết đều thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật mạnh. Đặc biệt, hệ nhũ tương chứa cao chiết ở nồng độ 0,5-1% có khả năng bảo quản salad hiệu quả trong thời gian 7 ngày ở 4 °C. Kết quả nghiên cứu đã minh chứng tiềm năng ứng dụng của cao chiết trái Bàn chua trong phát triển chế phẩm bảo quản thực phẩm tự nhiên.
TỪ KHÓA Bàn chua non và già Hệ nhũ tương Thành phần hóa học Kháng vi sinh vật Bảo quản salad	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.12615>

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

1. Giới thiệu

An toàn vệ sinh thực phẩm là vấn đề được xã hội quan tâm sâu sắc. Theo thống kê của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), có khoảng 600 triệu người mắc bệnh hàng năm do tiêu thụ thực phẩm nhiễm vi sinh vật, trong đó hơn 125.000 trẻ em mắc hội chứng tiêu chảy cấp tính [1]. Vi khuẩn (VK) và nấm mốc được xác định là tác nhân chính gây các bệnh liên quan đến thực phẩm, đặt ra yêu cầu cấp thiết về phương pháp bảo quản thực phẩm (BQTP) hiệu quả, an toàn và thân thiện với môi trường [1]. Hiện nay, nhiều phương pháp được sử dụng để BQTP như sấy khô, ngâm chua, đông lạnh và sử dụng chất bảo quản. Trong đó, chất bảo quản được phân thành hai loại chính: chất bảo quản tổng hợp (chứa sulphite, benzoate, sorbate) có thể gây tác dụng phụ không mong muốn nếu tiêu thụ vượt ngưỡng cho phép, và chất bảo quản tự nhiên, đặc biệt từ thực vật, chứa các hợp chất kháng vi sinh vật (VSV) và chống oxy hóa mà không gây tác dụng phụ đáng kể [2]. Đây là lý do các nhà khoa học tập trung nghiên cứu và phát triển chất bảo quản có nguồn gốc tự nhiên.

Việt Nam nằm trong vùng nhiệt đới gió mùa với hệ sinh thái rừng ngập mặn phong phú và đa dạng. Trong số các loài thực vật rừng ngập mặn, cây Bần chua (*Sonneratia caseolaris* L.) là loài thực vật phổ biến không chỉ gắn liền với đời sống người dân mà còn có giá trị y học cổ truyền. Cây này được phân bố chủ yếu ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long, trong đó có tỉnh Hậu Giang - được chọn làm địa điểm thu hái mẫu trong nhiều nghiên cứu [3]. Trong y học dân gian, Bần chua (BC) được sử dụng để điều trị các vết thương bầm tím, cầm máu, chữa bí tiểu, sỏi thận, giảm đau và chống viêm [4]. Các nghiên cứu khoa học hiện đại đã làm sáng tỏ cơ sở khoa học cho các ứng dụng truyền thống này. Các nghiên cứu thành phần hóa học (TPHH) của trái BC cho thấy sự hiện diện của nhiều hợp chất có hoạt tính như polyphenol, flavonoid, steroid, triterpene, vitamin A, C và các khoáng chất thiết yếu góp phần làm tăng giá trị dinh dưỡng và dược lý của loài cây này [5]. Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ các bộ phận khác nhau của cây BC đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu [6]. Tuy nhiên, các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào một giai đoạn phát triển cụ thể của quả mà chưa so sánh sự biến đổi TPHH và hoạt tính sinh học giữa quả non và già. Các chất chuyển hóa thứ cấp hình thành trong quá trình phát triển của quả là hiện tượng phổ biến, dẫn đến sự thay đổi đáng kể về hàm lượng và cấu trúc các hợp chất có hoạt tính sinh học, từ đó ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt tính kháng VSV và chống oxy hóa [7]. Việc xác định giai đoạn thu hoạch thích hợp dựa trên đánh giá sơ bộ TPHH và hoạt tính sinh học là cần thiết để tối ưu hóa hiệu quả ứng dụng của trái BC.

Về mặt ứng dụng trong BQTP, hệ nhũ tương (HNT) đã được chứng minh là phương pháp hiệu quả giúp tăng cường khả năng phân tán của hai chất lỏng không hòa tan vào nhau với sự hỗ trợ của chất nhũ hóa [8]. Ưu điểm của HNT bao gồm khả năng tăng độ tan của các hợp chất kỵ nước, bảo vệ các hợp chất có hoạt tính khỏi sự phân hủy, và kiểm soát sự giải phóng các thành phần hoạt tính [9]. Đối với các hợp chất kháng VSV và chống oxy hóa từ trái BC, việc kết hợp chúng vào HNT là phương pháp tiềm năng trong BQTP, đặc biệt là salad - loại thực phẩm dễ hư hỏng do hàm lượng nước cao và tiếp xúc trực tiếp với không khí. Salad là môi trường thuận lợi cho sự phát triển của VSV gây hỏng thực phẩm và gây bệnh như *Escherichia coli*, *Salmonella* và *Listeria* [10]. Các phương pháp bảo quản salad (BQSa) thường dựa vào việc sử dụng các chất bảo quản tổng hợp hoặc kỹ thuật đóng gói, nhưng mỗi phương pháp đều có những hạn chế nhất định [11]. Do đó, nghiên cứu điều chế HNT chứa hợp chất tự nhiên từ trái BC có khả năng kháng VSV và chống oxy hóa là giải pháp mang giá trị thực tiễn cao, góp phần nâng cao giá trị kinh tế của loài cây này và giải quyết vấn đề an toàn thực phẩm.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Thu thập mẫu, điều chế cao chiết EtOH và dịch chiết nước từ trái Bần chua

Trái BC non và già được thu hái trên địa bàn xã Hoà Mỹ, huyện Phụng Hiệp, tỉnh Hậu Giang. Các mẫu thực vật được định danh dựa vào nghiên cứu đã công bố của tác giả Phạm Hoàng Hộ [12]. Mẫu nguyên liệu tươi được rửa sạch, loại bỏ phần cuống và tiến hành xay nhuyễn thu được các mẫu nguyên liệu xay. Các mẫu nguyên liệu tươi xay được đo độ ẩm bằng cân sấy ẩm ghi

nhận được độ ẩm trung bình các mẫu từ 70-74%. Cho từng loại nguyên liệu tươi đã xay vào túi vải khác nhau và trộn đều với nước cất theo tỷ lệ 1 kg nguyên liệu và 200 mL nước cất, tiến hành vắt kiệt thu được dịch chiết nước trái BC và phần bã trái tươi. Phần bã trái tươi của từng loại trái già và non sau đó được ngâm dầm ngập trong EtOH 96% (Xilong, Trung Quốc) trong 7 ngày ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết được lọc qua giấy lọc bằng máy lọc áp suất thấp và cô quay chân không đuổi dung môi để thu cao EtOH.

2.2. Định tính thành phần hóa học cao chiết EtOH từ trái Bần chua

Cao chiết EtOH được định tính các nhóm hợp chất bằng các sắc ký lớp mỏng (TLC) (TLC Silica gel 60 F₂₅₄, Merck, Đức) và các phản ứng đặc trưng với các thuốc thử như sau: thuốc thử Wagner điều chế từ KI (Xilong, Trung Quốc) và I₂ (Xilong, Trung Quốc) dùng nhận biết alkaloid, thuốc thử Pb(CH₃COO)₂ 10% (Xilong, Trung Quốc) dùng nhận biết flavonoid, thuốc thử FeCl₃ 5% (Xilong, Trung Quốc) dùng nhận biết phenolic, thuốc thử gelatin 1% (Xilong, Trung Quốc) và NaCl 10% (Việt Nam) dùng nhận biết tannin, thuốc thử HCl (Xilong, Trung Quốc) dùng nhận biết quinone, thuốc thử NaOH 10% (Xilong, Trung Quốc) dùng nhận biết coumarin, thuốc thử CHCl₃ (Chemsol, Việt Nam) và H₂SO₄ (Xilong, Trung Quốc) dùng nhận biết terpenoid, và phản ứng nhũ hóa nhận biết saponin.

2.3. Định lượng flavonoid và phenolic tổng

2.3.1. Định lượng flavonoid tổng

Hàm lượng flavonoid tổng được xác định bằng phương pháp đo màu của phức chất tạo thành giữa flavonoid và AlCl₃ (Xilong, Trung Quốc), sử dụng quercetin (Sigma Aldrich) làm chất chuẩn. Cho vào các ống nghiệm thủy tinh tối màu hỗn hợp gồm dung dịch quercetin và EtOH với thể tích phù hợp để nồng độ cuối của quercetin đạt được dãy nồng độ 20, 40, 60, 80, 100, 120 mg/mL. Thêm tiếp vào mỗi ống nghiệm 1 mL nước cất và 200 μ L dung dịch NaNO₂ 5%, tiến hành lắc mạnh và để yên 5 phút. Tiếp tục thêm 200 μ L dung dịch AlCl₃ 10%, lắc đều và ủ trong thời gian 6 phút. Cuối cùng, thêm tiếp 2 mL dung dịch NaOH 1M và 600 μ L nước cất, lắc đều. Tiến hành đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 510 nm. Thực hiện các thử nghiệm với cao chiết ở các nồng độ khác nhau theo quy trình tương tự.

2.3.2. Định lượng phenolic tổng

Hàm lượng phenolic tổng được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu (Alpha Chemika, Ấn Độ), sử dụng gallic acid (Shanghai Zhanyun Chemical, Trung Quốc) làm chất chuẩn. Cho vào các ống nghiệm thủy tinh tối màu 400 μ L dung dịch gallic acid và ethanol 40% với thể tích phù hợp để thu được dung dịch với dãy nồng độ 20, 40, 60, 80, 100, 120 mg/mL. Thêm tiếp vào mỗi ống 400 μ L dung dịch thuốc thử Folin-Ciocalteu 1N đã được pha loãng tỷ lệ 1:1 với nước cất, lắc mạnh và ủ trong 5 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó tiếp tục thêm 3200 μ L dung dịch đệm Na₂CO₃ 5% (Xilong, Trung Quốc), lắc đều, rồi ủ 20 phút ở nhiệt độ phòng. Tiến hành đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 750 nm.

2.4. Điều chế hệ nhũ tương

Thành phần của HNT bao gồm dầu olive (Olivoilà, Tây Ban Nha) nồng độ 30% ($v_{\text{dầu}}/v_{\text{dịch chiết nước}}$), tween 20 (Shanghai Zhanyun Chemical, Trung Quốc) nồng độ 2% ($v_{\text{tween}}/v_{\text{HNT}}$) được khuấy từ trong 15 phút ở 50 °C. Sau đó, cao chiết EtOH ở các nồng độ 0, 0,05, 0,1, 0,5, 1% ($w_{\text{cao chiết}}/w_{\text{HNT}}$) được thêm vào HNT và hỗn hợp tiếp tục được đồng hóa mẫu máy đánh siêu âm trong thời gian 5 phút thu được HNT chứa cao chiết có sự đồng nhất và không bị tách lớp [13]. Các HNT này được bảo quản ở 4 °C để quan sát tính ổn định và được tiến hành thử nghiệm kháng khuẩn trên đĩa thạch và BQTP salad.

2.5. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết EtOH và hệ nhũ tương

Hoạt tính kháng VK của cao chiết được khảo sát bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch. Phương pháp tóm tắt như sau: các chủng VK được nuôi trử trong môi trường tryptic soy agar (TSA) (Himedia, Ấn độ) và ủ ấm trong điều kiện hiếu khí ở nhiệt độ 32 °C. Chọn khuẩn lạc đơn lẻ cấy chuyển sang 5 mL môi trường lòng tryptic soy broth (TSB) (Himedia, Ấn độ). Dung dịch chứa VK được lắc tự động trong 24 giờ. Sau đó, dung dịch huyền phù của các dòng VK thử nghiệm được pha loãng bằng môi trường lòng TSB để đạt mật số khuẩn khoảng 10^6 CFU/mL. Hút 100 μ L dịch VK trải đều trên đĩa thạch TSA. Tiến hành đục lỗ đường kính 7 mm và cho vào từng giếng 100 μ L cao chiết được pha trong DMSO 20% (Shanghai Zhanyun Chemical, Trung Quốc) với các nồng độ lần lượt 60, 40, 20 mg/mL. DMSO 20% được sử dụng làm đối chứng âm và tetracyclin 0,05 mg/mL làm đối chứng dương. Đo đường kính vòng kháng VK sau 24 giờ ủ ở 32°C.

Hoạt tính kháng khuẩn của HNT được thử nghiệm định tính bằng phương pháp agar mềm (soft agar). Cụ thể quy trình như sau: *Chuẩn bị môi trường*: agar mềm được chuẩn bị bằng cách hòa tan TSB bổ sung 0,5% agar (w/v) trong 100 mL nước cất và hấp khử trùng ở nhiệt độ 121 °C trong 20 phút. Sau khi hấp, hỗn hợp agar mềm được giữ ổn định nhiệt độ ở khoảng 55 °C trước khi sử dụng. *Trải khuẩn*: 100 μ L dung dịch huyền phù VK có nồng độ khoảng 10^6 CFU/mL được cho vào 5 mL dung dịch agar mềm, lắc đều, đổ vào đĩa thạch agar cứng. Nhỏ 10 μ L HNT lên bề mặt agar mềm. HNT 0% cao chiết được sử dụng làm đối chứng âm và tetracyclin 0,05 mg/mL làm đối chứng dương. Các đĩa thạch được ủ ở nhiệt độ 32 °C trong thời gian 24 giờ và tiến hành quan sát kết quả.

2.6. Khảo sát hoạt tính kháng nấm của cao chiết EtOH

Hoạt tính kháng nấm *Colletotrichum gloeosporioides* được khảo sát bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch. Nấm được nuôi cấy trong môi trường potato dextrose agar (PDA) (Himedia, Ấn độ) và ủ trong điều kiện hiếu khí ở nhiệt độ 30 °C. Nấm được cấy chuyển lưu trữ vào môi trường mới định kỳ sau 5-7 ngày và các bào tử nấm được pha loãng trong nước muối sinh lý 0,9%. Hút 100 μ L dung dịch bào tử nấm cho lên đĩa thạch và trải đều. Sau đó, tiến hành đục lỗ với đường kính 7 mm và cho vào 100 μ L cao chiết đã được hòa tan trong DMSO 20% ở các nồng độ 60, 40, 20 mg/mL. DMSO 20% được sử dụng làm đối chứng âm và difenoconazole 0,05 mg/mL (Syngenta, Việt Nam) làm đối chứng dương. Đo đường kính vòng kháng nấm sau 24 giờ ủ ở 30 °C.

2.7. Khảo sát khả năng bảo quản salad của hệ nhũ tương

Thực phẩm cải salad Đà Lạt được mua trong siêu thị ở Cần Thơ. Salad sau đó được rửa sạch và loại bỏ các phần hư hỏng và cho 10 g vào các túi zip. Đối với HNT chứa 0% cao chiết: nghiệm thức 1, 2 và 3 chứa lần lượt 0,5 g, 1,0 g và 2,0 g HNT. Thực hiện lần lượt các nghiệm thức như trên đối với HNT có nồng độ cao chiết 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1%. Các mẫu được bảo quản ở 4 °C và đánh giá cảm quan hàng ngày trong 7 ngày. Các tiêu chí đánh giá bao gồm màu sắc, độ tươi, mùi và dấu hiệu hư hỏng [14].

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Điều chế cao chiết EtOH và dịch chiết nước từ trái Bần chua

Kết quả Bảng 1 cho thấy hiệu suất điều chế cao chiết từ trái non thấp hơn so với trái già; hàm lượng các hợp chất hòa tan trong EtOH ở trái già cao hơn gấp đôi. Sự khác biệt này do quá trình tích lũy các hợp chất thứ cấp trong giai đoạn chín của quả [15]. Các cao chiết thu được có màu vàng nâu, sánh đặc, phù hợp với các đặc điểm của cao chiết giàu polyphenol và flavonoid đã được mô tả trong nghiên cứu trước đây về trái cây từ rừng ngập mặn [16]. Kết quả dịch chiết nước từ trái BC cho thấy sự khác biệt đáng kể về hiệu suất chiết giữa hai giai đoạn phát triển của quả (tương đương khoảng 545 mL/kg trái già và 262 mL/kg trái non). Cả hai loại cao nước đều có màu vàng và tính chất lỏng được đề xuất là do có sự hiện diện của các hợp chất tan trong nước như đường, acid hữu cơ, vitamin C, và các hợp chất phenolic tan trong nước [17], [18]. Trong nghiên cứu này, mặc dù không tiến hành thí

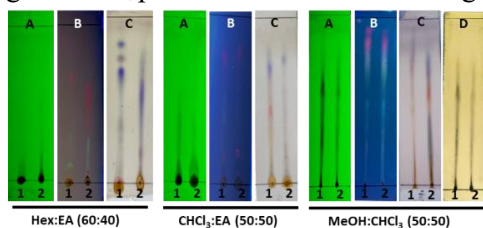
nghiệm khảo sát TPHH và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn trực tiếp của dịch chiết nước, kết quả thử nghiệm BQSA với hệ nhũ-cao có bổ sung dịch chiết nước cho thấy tiềm năng ứng dụng của dịch chiết nước trái BC như một thành phần trong chế phẩm BQTP tự nhiên.

Bảng 1. Kết quả điều chế cao chiết từ trái BC

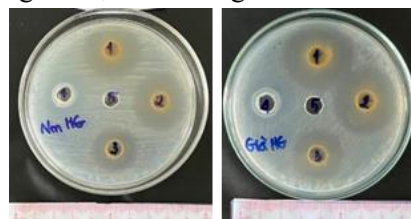
Cao chiết	Khối lượng mẫu ban đầu (kg)	Khối lượng cao hoặc dịch chiết nước	Hiệu suất (%)	Màu sắc
Bần non	1,60			
Cao EtOH		8,03 (g)	0,50	Vàng nâu, sánh đặc
Dịch chiết nước		420 mL		Vàng, lỏng
Bần già	2,20			
Cao EtOH		23,02 (g)	1,05	Vàng nâu, sánh đặc
Dịch chiết nước		1200 mL		Vàng, lỏng

3.2. Kết quả định tính và định lượng thành phần hóa học cao chiết EtOH

Kết quả định tính TLC (Hình 1) với hệ dung môi phân cực cao (MeOH:CHCl₃) cho thấy cả hai loại cao chiết đều thể hiện vết màu vàng đặc trưng của flavonoid và vết màu đỏ của polyphenol khi sử dụng thuốc hiện hình vanillin- H₂SO₄, đồng thời khi hiện hình bằng FeCl₃-MeOH xuất hiện vết màu xanh dương đến đen, xác nhận sự hiện diện của các phenolic. Đối với hệ dung môi phân cực trung bình (CHCl₃:EA), cao chiết trái non thể hiện nhiều vết flavonoid và phenolic hơn, phù hợp với kết quả định lượng cho thấy hàm lượng flavonoid cao hơn trong trái non. Trong hệ dung môi phân cực yếu (Hex: EA), cả hai cao chiết đều xuất hiện vết màu tím khi hiện hình bằng vanillin-H₂SO₄, chứng tỏ sự hiện diện của terpenoid. Sự khác biệt về cường độ và số lượng vết phân tách giữa hai loại cao chiết phản ánh sự biến đổi cấu trúc các hợp chất trong quá trình chín của quả, trong đó các hợp chất flavonoid có xu hướng giảm dần từ giai đoạn non đến già.



Hình 1. TLC của cao chiết EtOH trái Bần chua non (1) và già (2) tiến hành chạy giải ly với các hệ dung môi được soi dưới đèn UV 254 nm (A), UV 365 nm (B), hiện hình vanillin-H₂SO₄ (C) và FeCl₃-MeOH (D)



Hình 2. Kết quả đường kính vòng kháng nấm *C. gloeosporioides* (mm) của cao chiết EtOH trái Bần non (trái) và già (phải): 1,2,3, Cao chiết ở nồng độ 60, 40, 20 mg/mL; 4, difenoconazole 0,05 mg/mL; 5, DMSO 20%

Kết quả định tính các nhóm hợp chất tự nhiên bằng các thuốc thử đặc hiệu cho thấy cả hai cao chiết EtOH từ trái BC non và già đều chứa hàm lượng đáng kể các hợp chất phenolic, flavonoid và tannin. Sự hiện diện của các nhóm hợp chất này phù hợp với nghiên cứu trước đây về TPHH của trái BC [5]. Sự hiện diện của alkaloid, terpenoid và coumarin cũng được ghi nhận với phản ứng yếu, trong khi không phát hiện quinone và saponin trong cả hai loại cao chiết.

Bên cạnh đó, kết quả định lượng cho thấy hàm lượng flavonoid trong cao chiết trái non ($179,506 \pm 3,160$ mg QE/g) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với cao trái già ($137,480 \pm 5,320$ mg QE/g). Về hàm lượng phenolic tổng, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa cao trái non ($168,240 \pm 2,680$ mg GA/g) và trái già ($158,43 \pm 7,480$ mg GA/g). Hàm lượng flavonoid và phenolic trong cao chiết EtOH trái BC trong nghiên cứu này tương đối cao khi so sánh với kết quả của nhóm nghiên cứu Jariyah và cộng sự [19] đề xuất hàm lượng phenolic trong trái BC chỉ đạt khoảng 76,35 mg GA/g. Sự khác biệt này có thể do điều kiện địa lý, thời điểm thu hái, phương pháp chiết xuất và phương pháp phân tích.

3.3. Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết EtOH

Kết quả đường kính vòng kháng VK của các cao chiết đối với 10 chủng VK trong Bảng 2 cho thấy hiệu quả kháng VK của cao chiết phụ thuộc vào nồng độ. Khi so sánh hoạt tính kháng VK giữa cao chiết trái non và già ở nồng độ 60 mg/mL, có thể thấy: đối với *Listeria innocua*, cao chiết trái già có hiệu quả kháng VK mạnh hơn do đường kính vòng kháng VK lớn hơn có ý nghĩa thống kê so với cao trái non. Trong khi đó, cao chiết trái non có khả năng kháng *Salmonella enterica* serotype Minnesota (NBRC 15335) tốt hơn có ý nghĩa thống kê so với cao trái già. Đối với các dòng VK còn lại, cao chiết trái non và già không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết EtOH trái BC có thể được giải thích bởi sự hiện diện của các phenolic, flavonoid và tannin đã được chứng minh có khả năng phá vỡ màng tế bào VK, ức chế các enzyme cần thiết cho quá trình trao đổi chất, và gây ra sự rò rỉ các thành phần nội bào [20], [21]. Bên cạnh đó, các phenolic và flavonoid cũng có thể tương tác với protein và enzyme của VK, dẫn đến sự ức chế quá trình phân chia tế bào và cuối cùng là gây chết tế bào VK [22].

So sánh với các nghiên cứu trước đây, hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết EtOH trái BC trong nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Mahadlek và cộng sự [6] đã đề xuất cao chiết EtOH từ lá và vỏ cây BC có khả năng ức chế sự phát triển của cả VK Gram dương và Gram âm. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy cao chiết EtOH trái BC thể hiện phổ kháng khuẩn rộng và hiệu quả hơn đối với cả VK Gram dương và Gram âm.

Bảng 2. Đường kính vòng kháng khuẩn và nấm (mm) của cao chiết EtOH trái Bần non và già

Tên	Đặc điểm	Cao chiết EtOH trái BC					
		Non	Già	Non	Già	Non	Già
		60 mg/mL		40 mg/mL		20 mg/mL	
<i>L. innocua</i>	VK	21 ± 0,577 ^b	25 ± 1,000 ^a	17 ± 1,732 ^{cd}	20 ± 0,000 ^{bc}	13 ± 0,577 ^{de}	14 ± 0,577 ^e
<i>S. aureus</i> (ATCC 6538)	Gram dương	21 ± 1,000 ^a	21 ± 3,512 ^a	19 ± 4,041 ^{ab}	19 ± 1,000 ^{ab}	16 ± 3,055 ^{ab}	14 ± 1,528 ^{bc}
<i>S. aureus</i>		10 ± 0,577 ^{bc}	11 ± 1,000 ^b	8 ± 1,000 ^{cde}	9 ± 0,577 ^{bcd}	6 ± 0,577 ^{de}	7 ± 0,577 ^{de}
<i>E. coli</i> O157:H7		18 ± 1,000 ^{abc}	20 ± 0,577 ^{ab}	14 ± 1,000 ^c	17 ± 1,528 ^{abc}	9 ± 2,000 ^d	15 ± 1,158 ^c
<i>E. coli</i> O14:K7:NM		18 ± 0,577 ^a	19 ± 1,000 ^a	14 ± 1,000 ^c	14 ± 1,158 ^{bc}	10 ± 1,000 ^d	10 ± 0,577 ^d
<i>E. coli</i> O10:K5:H4		20 ± 2,000 ^a	17 ± 2,517 ^{ab}	17 ± 1,155 ^{ab}	15 ± 1,000 ^{bc}	14 ± 0,577 ^{bc}	13 ± 0,577 ^c
<i>S. enterica</i> Enteritidis (NBRC 3313)		17 ± 0,577 ^a	19 ± 1,528 ^{ab}	15 ± 1,000 ^{bcd}	16 ± 1,000 ^{bc}	12 ± 1,732 ^{cd}	11 ± 1,528 ^d
<i>S. enterica</i> Typhimurium (NBRC 12529)	VK	19 ± 1,528 ^a	18 ± 0,577 ^a	16 ± 1,000 ^{bc}	16 ± 2,000 ^{bc}	12 ± 1,155 ^d	14 ± 0,577 ^{cd}
<i>S. enterica</i> Minnesota (NBRC 15182)	Gram âm	17 ± 0,577 ^{ab}	19 ± 1,155 ^a	15 ± 1,155 ^{bcd}	17 ± 1,000 ^{abc}	13 ± 0,577 ^d	15 ± 1,000 ^{bcd}
<i>S. enterica</i> Minnesota (NBRC 15335)		24 ± 1,155 ^a	20 ± 2,000 ^b	20 ± 1,155 ^b	17 ± 1,000 ^{bc}	15 ± 0,577 ^{cd}	14 ± 1,000 ^{cd}
<i>C. gloeosporioides</i>	Nấm	25 ± 1,732 ^a	23 ± 1,528 ^a	20 ± 1,000 ^b	19 ± 1,155 ^b	14 ± 2,082 ^{cd}	15 ± 0,577 ^c

Ghi chú: Trong cùng một dòng, các giá trị có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

3.4. Hoạt tính kháng nấm của cao chiết EtOH

Hoạt tính kháng nấm của cao chiết trái non và già được khảo sát đối với nấm *C. gloeosporioides* - một loài nấm gây bệnh phổ biến trên nhiều loại cây trồng. Kết quả ở Hình 2 và Bảng 2 cho thấy cả hai loại cao chiết đều thể hiện hoạt tính kháng nấm mạnh. Hoạt tính kháng nấm giảm dần khi giảm nồng độ cao chiết, nhưng vẫn duy trì ở mức cao ngay cả ở nồng độ 20 mg/mL. Đáng chú ý, hoạt tính kháng nấm của các cao chiết ở nồng độ 20 mg/mL tương đương với đối chứng là thuốc diệt nấm thương mại Difenoconazole ở nồng độ 0,05 mg/mL (13 ± 0,577 mm).

Khả năng kháng nấm mạnh của cao chiết EtOH trái BC có thể là kết quả của tác động hiệp đồng giữa các nhóm hợp chất. Tian và cộng sự [23] cho rằng sự kết hợp giữa flavonoid, tannin và terpenoid có hiệu quả kháng nấm mạnh hơn nhiều so với từng hợp chất riêng lẻ. Điều này giải thích tại sao cao chiết toàn phần thường có hoạt tính kháng nấm vượt trội so với các hợp chất tinh khiết ở cùng nồng độ. Kết quả thực nghiệm trong nghiên cứu này cũng phù hợp với nghiên cứu của Saad và cộng sự [24] về hoạt tính kháng nấm của các loài thực vật ngập mặn, trong đó cây Bần thể hiện hoạt tính kháng nấm mạnh đối với các loài *Aspergillus* và *Fusarium*.

3.5. Hoạt tính kháng khuẩn của các hệ nhũ tương bào chế từ cao chiết trái Bần chua

Sau 24 giờ bảo quản ở 4 °C, HNT có tính ổn định tốt, không tách pha và được tiến hành thử nghiệm kháng khuẩn trên đĩa thạch. Trong số 10 dòng VK đã được khảo sát trong Bảng 2, *S. aureus* ATCC 6538 và *E. coli* O157:H7 được chọn tiếp tục nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của các HNT là do: (1) hai dòng VK này đại diện cho hai nhóm VK có cấu trúc khác biệt rõ rệt: *S. aureus* ATCC 6538 đại diện cho nhóm VK Gram dương với cấu trúc vách tế bào dày chứa nhiều peptidoglycan và không có màng ngoài, trong khi *E. coli* O157:H7 đại diện cho nhóm VK Gram âm với cấu trúc vách tế bào phức tạp hơn, bao gồm lớp peptidoglycan mỏng và màng ngoài chứa lipopolysaccharide; (2) Hai dòng VK này liên quan trực tiếp đến an toàn thực phẩm với *S. aureus* gây ngộ độc thực phẩm qua enterotoxin và *E. coli* O157:H7 là serotype có khả năng sản sinh độc tố Shiga gây bệnh đường ruột nghiêm trọng; (3) kết quả ban đầu cho thấy cao chiết có hoạt tính kháng khuẩn khá tốt đối với cả hai dòng VK.

Kết quả Bảng 3 cho thấy HNT chứa cao chiết trái non ở nồng độ 0,5% và 1% có khả năng ức chế sự phát triển của *S. aureus* ATCC 6538, trong khi HNT chứa cao chiết trái già chỉ thể hiện hoạt tính kháng khuẩn khi nồng độ cao chiết là 1%. Đối với dòng VK *E. coli* O157:H7, cả hai loại HNT chứa cao chiết trái non và già thể hiện hoạt tính kháng khuẩn không ổn định khi nồng độ cao chiết là 1%. Sự khác biệt về hiệu quả kháng khuẩn giữa hai HNT này được cho là liên quan đến sự khác biệt về TPHH của cao chiết, đặc biệt là hàm lượng flavonoid cao hơn trong cao chiết trái non. Bên cạnh đó, hoạt tính kháng khuẩn mạnh hơn đối với *S. aureus* ATCC 6538 (Gram dương) so với *E. coli* serotype O157 (Gram âm) được giải thích là do sự khác biệt về cấu trúc màng tế bào giữa hai loại VK này. Cụ thể, VK Gram âm có màng ngoài chứa lipopolysaccharide, tạo nên rào chắn chọn lọc khiến cho nhiều hợp chất kháng khuẩn khó thâm nhập vào tế bào VK Gram âm [21], [25].

Bảng 3. Kết quả khảo sát định tính khả năng kháng khuẩn của các HNT chứa các nồng độ khác nhau của cao chiết EtOH trái BC

Nồng độ cao chiết EtOH trái BC trong HNT (% w/w)	<i>S. aureus</i> ATCC 6538		<i>E. coli</i> O157:H7	
	Non	Già	Non	Già
0	-	-	-	-
0,05	-	-	-	-
0,1	-	-	-	-
0,5	+	-	-	-
1	+	+	±	±

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

3.6. Khả năng bảo quản salad của các hệ nhũ tương bào chế từ cao chiết trái Bần chua

Kết quả BQSa cho thấy sau 7 ngày, mẫu salad không chứa HNT (đối chứng) và mẫu salad chứa HNT được bào chế từ dịch chiết nước trái non không có cao chiết (0%) đều bắt đầu có dấu hiệu hư hỏng. Các mẫu salad chứa HNT được bào chế từ dịch chiết nước trái non bổ sung cao chiết trái non nồng độ thấp (0,05% và 0,1%) cũng bắt đầu xuất hiện dấu hiệu hư hỏng. Màu sắc của các mẫu này chuyển sang màu sậm hơn, cho thấy quá trình thối rửa đã bắt đầu. Ngược lại, các mẫu salad chứa HNT với nồng độ cao chiết 0,5% và 1% vẫn giữ được hình dạng và màu sắc ban đầu, không có dấu hiệu hư hỏng rõ rệt. Đặc biệt, mẫu chứa HNT với 1% cao chiết có khả năng bảo quản tốt nhất, giữ

được khoảng 80-90% chất lượng ban đầu của salad (Hình 3). Kết quả tương tự cũng được quan sát thấy với cả HNT chứa cao chiết trái già. Điều này phù hợp với kết quả thử nghiệm kháng khuẩn của HNT, trong đó nồng độ cao chiết từ 0,5-1% thể hiện hoạt tính kháng VSV tốt nhất.



Hình 3. Hình ảnh đại diện các nghiệm thức BQSa. Trong đó, kí hiệu DC-0 và DC-7 là nghiệm thức đối chứng được quan sát ngày 0 và ngày thứ 7; C0%-0, C0%-7 và C1%-0, C1%-7 là nghiệm thức chứa HNT không có cao chiết (0%) và có cao chiết (1%) ngày 0 và ngày thứ 7

Khả năng BQSa của HNT chứa cao chiết trái BC được giải thích bởi sự kết hợp của nhiều cơ chế. Việc phát triển thành công HNT đã khắc phục những hạn chế của cao chiết như tính tan kém trong nước và độ ổn định thấp của các hợp chất hoạt tính. Cấu trúc vi nhũ tương tạo ra một hệ phân tán đồng nhất, trong đó các phân tử hoạt tính kỵ nước được bao bọc trong các vi giọt dầu, tăng cường sự tiếp xúc với tế bào VSV và cải thiện hiệu quả kháng khuẩn [9].

Kết quả thử nghiệm kháng khuẩn cho thấy HNT chứa cao chiết ở nồng độ 0,5-1% có khả năng ức chế sự phát triển của *S. aureus* ATCC 6538 và *E. coli* O157:H7, phù hợp với kết quả BQSa khi HNT ở cùng nồng độ có khả năng duy trì chất lượng sản phẩm đến 7 ngày ở 4 °C. Cơ chế bảo quản của HNT có thể đến từ ba yếu tố chính: (1) hoạt tính kháng VSV trực tiếp từ các hợp chất flavonoid, phenolic và tannin, ức chế sự phát triển của các VK gây hỏng thực phẩm [26]; (2) khả năng chống oxy hóa, làm chậm quá trình oxy hóa lipid và protein trong thực phẩm [27]; (3) cơ chế phóng thích có kiểm soát, bảo vệ các hợp chất hoạt tính khỏi sự phân hủy và duy trì nồng độ hiệu quả trong thời gian dài [28]. Cơ chế phóng thích chậm này giải thích tại sao HNT chứa cao chiết có thể BQSa hiệu quả hơn so với việc sử dụng trực tiếp cao chiết.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định sự khác biệt về TPHH và hoạt tính kháng VSV giữa cao chiết EtOH trái Bần non và già thu hái tại tỉnh Hậu Giang. Cao chiết trái non thể hiện hàm lượng flavonoid cao hơn có ý nghĩa thống kê ($179,506 \pm 3,160$ mg QE/g) so với trái già ($137,480 \pm 5,320$ mg QE/g). Bên cạnh đó, không ghi nhận sự khác biệt của hàm lượng phenolic tổng giữa cao trái non ($168,240 \pm 2,680$ mg GA/g) và trái già ($158,43 \pm 7,480$ mg GA/g). Cả hai loại cao chiết đều có hoạt tính kháng khuẩn mạnh đối với cả VK Gram dương, Gram âm và nấm *C. gloeosporioides*. Đặc biệt, HNT chứa cao chiết ở nồng độ 0,5-1% thể hiện khả năng bảo quản hiệu quả salad trong 7 ngày ở 4 °C. Kết quả nghiên cứu cung cấp cơ sở khoa học cho việc phát triển chế phẩm BQTP tự nhiên từ trái BC. Công nghệ HNT được đề xuất có ưu điểm là đơn giản, chi phí thấp và tiềm năng ứng dụng cao trong công nghiệp thực phẩm. Việc tận dụng hiệu quả trái BC không chỉ góp phần nâng cao giá trị kinh tế của loài cây này mà còn tạo động lực cho việc bảo tồn hệ sinh thái rừng ngập mặn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] C. Hernández-Cortez, I. Palma-Martínez, L. U. Gonzalez-Avila, A. Guerrero-Mandujano, R. C. Solís, and G. Castro-Escarpulli, "Food poisoning caused by bacteria (food toxins)," *Poisoning From Specif. toxic agents to Nov. rapid Simpl. Tech. Anal.*, vol. 33, pp. 33–71, 2017.
- [2] Z. I. M. Sharif, F. A. Mustapha, J. Jai, N. M. Yusof, and N. A. M. Zaki, "Review on methods for preservation and natural preservatives for extending the food longevity," *Chem. Eng. Res. Bull.*, vol. 19, pp. 145–153, 2017.

- [3] T. T. Van *et al.*, "Changes in mangrove vegetation area and character in a war and land use change affected region of Vietnam (Mui Ca Mau) over six decades," *Acta Oecologica*, vol. 63, pp. 71–81, 2015.
- [4] N. Bunyapraphatsara *et al.*, "Pharmacological studies of plants in the mangrove forest," *Thai J. Phytopharm.*, vol. 10, pp. 1–12, 2003.
- [5] S.-B. Wu, Y. Wen, X.-W. Li, Y. Zhao, Z. Zhao, and J.-F. Hu, "Chemical constituents from the fruits of *Sonneratia caseolaris* and *Sonneratia ovata* (Sonneratiaceae)," *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 37, no. 1, pp. 1–5, 2009.
- [6] J. Mahadlek, T. Phachamud, and C. Wessapun, "Antimicrobial studies of *Sonneratia caseolaris* using different agar diffusion method," *Res. J. Pharm. Biol. Che. Sci.*, vol. 3, pp. 404–410, 2012.
- [7] G. B. Seymour, L. Østergaard, N. H. Chapman, S. Knapp, and C. Martin, "Fruit development and ripening," *Annu. Rev. Plant Biol.*, vol. 64, no. 1, pp. 219–241, 2013.
- [8] D. J. McClements and C. E. Gumus, "Natural emulsifiers—Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance," *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 234, pp. 3–26, 2016.
- [9] F. Donsì and G. Ferrari, "Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food," *J. Biotechnol.*, vol. 233, pp. 106–120, 2016.
- [10] A. N. Olaimat and R. A. Holley, "Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review," *Food Microbiol.*, vol. 32, no. 1, pp. 1–19, 2012.
- [11] M. Oliveira, M. Abadias, J. Usall, R. Torres, N. Teixidó, and I. Viñas, "Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables—A review," *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 46, no. 1, pp. 13–26, 2015.
- [12] H. H. Pham, *Vietnamese Plants II*, Tre Publishing House, (In Vietnamese), Ho Chi Minh City, 2003.
- [13] E. Choulitoudi, M. Xristou, D. Tsimogiannis, and V. Oreopoulou, "The effect of temperature on the phenolic content and oxidative stability of o/w emulsions enriched with natural extracts from *Satureja thymbra*," *Food Chem.*, vol. 349, pp. 1–7, 2021.
- [14] H. Stone, R. N. Bleibaum, and H. A. Thomas, *Sensory evaluation practices*. Academic Press, 2020.
- [15] M. Tian, H. Dai, X. Li, and B. Wang, "Chemical constituents of marine medicinal mangrove plant *Sonneratia caseolaris*," *Chinese J. Oceanol. Limnol.*, vol. 27, no. 2, pp. 288–296, 2009.
- [16] A. Simlai and A. Roy, "Biological activities and chemical constituents of some mangrove species from Sundarban estuary: An overview," *Pharmacogn. Rev.*, vol. 7, no. 14, pp. 170–178, 2013.
- [17] D. W. Dari, D. Junita, Y. Arsita, M. Meilina, and V. Meylani, "Chemical characteristics of juice of mangrove apple (*Sonneratia caseolaris*) added with sugar," *Int. J. Front Life Sci. Res.*, vol. 2, no. 1, pp. 18–28, 2022.
- [18] M. Basyuni, Y. S. Siagian, R. Wati, L. A. P. Putri, E. Yusraini, and I. Lesmana, "Fruit nutrition content, hedonic test, and processed products of pidada (*Sonneratia caseolaris*)," in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, IOP Publishing, 2019, pp. 1–5.
- [19] J. Jariyah, S. B. Widjanarko, Y. Yunianta, and T. Estiasih, "Phytochemical and acute toxicity studies of ethanol extract from Pedada (*Sonneratia caseolaris*) fruit flour (PFF)," *Int. J. Adv. Sci. Eng. Inf. Technol.*, vol. 5, no. 2, pp. 95–98, 2015.
- [20] M. Daglia, "Polyphenols as antimicrobial agents," *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 23, no. 2, pp. 174–181, 2012.
- [21] T. P. T. Cushnie and A. J. Lamb, "Antimicrobial activity of flavonoids," *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 26, no. 5, pp. 343–356, 2005.
- [22] I. Górniak, R. Bartoszewski, and J. Króliczewski, "Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids," *Phytochem. Rev.*, vol. 18, pp. 241–272, 2019.
- [23] J. Tian, X. Ban, H. Zeng, J. He, B. Huang, and Y. Wang, "Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cicuta virosa* L. var. *latisepta* Celak," *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 145, no. 2–3, pp. 464–470, 2011.
- [24] S. Saad, M. Taher, D. Susanti, H. Qaralleh, and A. F. I. B. Awang, "In vitro antimicrobial activity of mangrove plant *Sonneratia alba*," *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, vol. 2, no. 6, pp. 427–429, 2012.
- [25] B. K. Tiwari, V. P. Valdramidis, C. P. O'Donnell, K. Muthukumarappan, P. Bourke, and P. J. Cullen, "Application of natural antimicrobials for food preservation," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 57, no. 14, pp. 5987–6000, 2009.
- [26] M. Friedman, P. R. Henika, C. E. Levin, and R. E. Mandrell, "Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* in apple juice," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, no. 19, pp. 6042–6048, 2004.
- [27] C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, and G. Paganga, "Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids," *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 20, no. 7, pp. 933–956, 1996.
- [28] D. J. McClements and J. Rao, "Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 51, no. 4, pp. 285–330, 2011.