Nghiên cứu gốc

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN CHE SÁNG VÀ THỜI ĐIỂM THU HOẠCH LÁ LÊN HÀM LƯỢNG CHLOROPHYLL, POLYPHENOL VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM *Candida* CỦA DỊCH CHIẾT LÁ LÚA (*Oryza sativa* L.)

Nguyễn Thị Tố Uyên[1,2,✉], Nguyễn Phú Thọ[3], Nguyễn Hữu Thanh[3], Đặng Chí Thiện[4], Nguyễn Thị Phương Thảo[5]

[1] *Học viện Khoa học & Công nghệ,Viện Hàn Lâm Khoa học & Công nghệ Việt Nam*
[2] *Trường Cao Đẳng Y Tế Đồng Tháp, tỉnh Đồng Tháp*
[3] *Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh*
[4] *Trung tâm Ứng dụng tiến bộ Khoa học và Công nghệ Cần Thơ*
[5] *Viện Sinh học Nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Côngnghệ Việt Nam*

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá ảnh hưởng của thời điểm thu hoạch lá lúa và điều kiện che sáng đến hàm lượng chlorophyll, polyphenol và khả năng kháng nấm *Candida albicans* của dịch chiết lá lúa.

Phương pháp: Sử dụng sáu giống lúa được trồng phổ biến ở khu vực Đồng bằng sông Cửu Long gồm IR50404, Nàng Thơm, Tài Nguyên, Hương Lài, Nếp Tím và Huyết Rồng. Lá lúa được thu hoạch tại sáu thời điểm (1, 2, 3, 4, 5 và 6 tuần sau gieo) và áp dụng ba điều kiện che sáng (không che, che 1 lớp lưới và che 2 lớp lưới). Lá lúa được chiết với ethanol 80%. Các chỉ tiêu phân tích gồm hàm lượng chlorophyll, hàm lượng polyphenol và khả năng kháng nấm *Candida albicans*.

Kết quả: Điều kiện che sáng và thời điểm thu hoạch lá có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng chlorophyll, polyphenol và hoạt tính kháng nấm trongdịch chiết lá lúa. Kết quả cho thấy có mối liên quan giữa hàm lượng chlorophyll, polyphenol và tính chất kháng nấm. Các giá trị này đạt cao nhất khi lúa phát triển dưới điều kiện không che sáng và giai đoạn cây từ 3-5 tuần tuổi.

Kết luận: Nghiên cứu là tiền đề cơ sở để lựa giống lúa và điều kiện canh tác phù hợp để thu hoạch lá lúa có tính kháng cao với nấm *Candida*, tiềm năng ứng dụng trongsản xuất mỹ phẩm chăm sóc da.

Từ khoá: *Chlorophyll, kháng nấm, Candida albicans, polyphenol, lá lúa non.*

EFFECTS OF SHADING CONDITIONS AND LEAF HARVEST TIMES ON TOTAL CONTENTS OF CHLOROPHYLL, POLYPHENOLS AND ANTIFUNGAL PROPERTIES IN RICE (*Oryza sativa* L.)

ABSTRACT

Aims: To evaluate the effects of leaf harvest time and shadingconditions on the contents of chlorophyll and polyphenol, and the antifungal activity of rice leaf extract against *Candida albicans*.

✉ Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Tố Uyên
Email: nttuyen@cdytdt.edu.vn
Doi: 10.56283/1859-0381/708
Nhận bài: 13/5/2024 Chỉnh sửa: 12/7/2024
Chấp nhận đăng: 25/7/2024
Công bố online: 1/8/2024

Methods: The study used six rice varieties commonly grown in the Mekong Delta region including IR50404, Nang Thom, Tai Nguyen, Huong Lai, Nep Tim and Huyet Rong. Rice leaves were harvested at six growth periods from weeks 1 to 6 and three shading conditions were applied (no shading, 1 layer of mesh, and 2 layers of mesh). Rice leaves were extracted with 80% ethanol. Analytical criteria includedthe contents of chlorophyll and polyphenol, chlorophyll a/b ratio and antifungal activities against *Candida albicans*.

Results: Shading and harvest time had a significant influence on the levels oftotal chlorophyll and polyphenols and antifungal properties in rice leaves. The results showed correlations between the contents of chlorophyll and polyphenol and antifungal activities. These values reachedthe highest when rice grown under unshaded condition and when the plants are 3-5 weeks old.

Conclusion: This is the basic premise for selecting rice varieties, suitable cultivation conditions to harvest rice leaves with high antifungal activities against *Candida* spp. and potential application in the production of skin care cosmetics.

Keywords: *Antifungal, Candida albicans, chlorophyll, polyphenol, young rice leaves.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây lúa (*Oryza sativa* L.), thuộc họ hoà thảo Gramineae (Poaceae), là một trong những loại cây lương thực chính, được tiêu thụ bởi hơn một nửa dân số thế giới. Tỷ lệ canh tác và sản xuất lớn làm cho lúagạo trở thành nguồn nguyên liệu sẵn có cho các ứng dụng khác nhau [1]. Những nghiên cứu gần đây cho thấy lá lúa non giai đoạn sinh trưởng có chứa hàm lượng dinh dưỡng và các hợp chất sinh học có giá trị. Lá lúa giống gạo đen được ghi nhận có chứa các hợp chất polyphenol và flavonoid có đặc tính chống oxy hóa, chống viêm và chống ung thư [2]. Nghiên cứu của Wangcharoen & Phimphilai [3] cho thấy dịch chiết lá lúa có hàm lượng cao chlorophyll và polyphenol và hoạt động chống oxy hoá cao hơn lá lúa mì. Những phát hiện này cho thấy tiềm năng của lá lúa như là một nguồn nguyên liệu sinh học mới cho các ứng dụng trong thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm. Tuy nhiên, cần xác định giai đoạn thu hoạch phù hợp và lựa chọn giống lúa cho hiệu suất thu được cao nhất về hàm lượng các hợp chất sinh học và hoạt tính sinh học để có thể ứng dụng một cách hiệu quả nguồn nguyên liệu.

Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng các yếu tố gây stress sinh học và phi sinh học có thể làm thay đổi hàm lượng và thành phần các hợp chất sinh học của cây [4]. Một trong những yếu tố bất lợi phi sinh học phổ biến nhất là điều kiện che sáng hay cường độ ánh sáng [5]. Sự thay đổi cường độ ánh sáng có ảnh hưởng lớn đến sự phát triển, các đặt tính hình thái, sinh lý, sinh hoá và khả năng quang hợpcủa thực vật, và cuối cùng là ảnh hưởng đến năng suất sản phẩm [6,7]. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ che bóng càng cao thì năng suất lạccàng giảm [8]. Vì vậy, việc xác định điều kiện canh tác tối ưu sẽ giúp thu được sản phẩm thực vật có năng xuất cao nhất.

Hiện nay, nhiễm nấm là nguyên nhân đứng thứ tư gây nhiễm khuẩn đường máu và loại nấm liên quan phổ biến nhất là loài

Candida [9]. Trong số tất cả các loài, *C. albicans* là tác nhân gây nhiễm khuẩn niêm mạc và nhiễm khuẩn hệ thống phổ biến nhất và là nguyên nhân gây ra khoảng 70% các trường hợp nhiễm nấm trên toàn thế giới [10]. Sản phẩm từ thực vật có chứa các hợp chất sinh học như chlorophyll và polyphenol đã được báo cáo có khả năng kháng nấm hiệu quả [11,12]. Nghiên cứu kháng nấm *C. albicans* từ hạt gạo đã được báo cáo [13, 14]. Tuy nhiên, vẫn chưa có nghiên cứu nào được báo cáo về khả năng kháng nấm của lá lúa.

Nghiên cứu này sử dụng sáu giống lúa được trồng phổ biến ở khu vực Đồng bằng sông Cửu Long gồm một giống lúa cao sản (IR50404), ba giống lúa mùi thơm (Nàng Thơm, Tài Nguyên và Hương Lài) và hai giống lúa có hạt màu đỏ (Nếp Tím và Huyết Rồng). Mục tiêu của nghiên cứu là đánh giá ảnh hưởng của thời điểm thu hoạch lá lúa và độ che sáng đếnhàm lượng chlorophyll và polyphenol và hoạt tính kháng nấm *C. albicans* của dịch chiết lá lúa.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và bố trí thí nghiệm

Nghiên cứu sử dụng sáu giống lúa gồm IR50404 (IR504), Nàng Thơm (NTH), Tài Nguyên (TNG), Hương Lài (HLA), Nếp Tím (NTI) và Huyết Rồng (HRO). Hạt giống của sáu giống lúa được rửa sạch và ngâm trong nước 24 giờ. Hạt đã ngâm sau đó được phủ bằng vải thưa ẩm trong 48 giờ để nảy mầm.Hạt được gieo trên các khay nhựa (65x42x16 cm) chứa đất phù sa (khối lượng đất trong từng khay là 25 kg/khay) với tỷ lệ là 200 hạt cho mỗi khay trồng (khoảng 500 hạt/m^2, khoảng cách 1-2 cm giữa các hạt). Các khay được để trongđiều kiện môi trường có mức độ che phủ ánh sáng khác nhau và tưới nước 2 lần một ngày. Bón phân đạm cho mạ lúa khi cây được 7 ngày tuổi với liều lượng (1 – 2 g urea pha trong 5 lít nước/m^2) và bón phân NPK bổ sung dinh dưỡng cho mạ lúa khi cây được 14 ngày tuổi và 28 ngày tuổi cho mỗi khay trồng với liều lượng (0,5 – 1 g NPK/m^2).

Đối với khảo sát ảnh hưởng của thời điểm thu hoạch lá: Các nghiệm thức được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 2 nhân tố (6 giống lúa và 6 thời điểm thu hoạch lá lúa (1, 2, 3, 4, 5 và 6 tuần). Thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp lại cho mỗi thời gian thu hoạch với các giống lúa khác nhau.

Đối với khảo sát ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng: Điều kiện không che sáng, các khay trồng lúa được đặt ngoài trời. Đối với điều kiện che sáng,sử dụng rèm lưới polyetylen màu đen (OOKAS, Đức) để tạo bóng râm và giảm cường độ chiếu sáng. Các nghiệm thức được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với hai nhân tố và ba lần lặp lại, trong đó 06 giống lúa và 3 mức điều kiện chiếu sáng gồm không che phủ (100% cường độ ánh sáng tự nhiên), che phủ một lớp lưới (40% cường độ ánh sáng tự nhiên) và che phủ 2 lớp lưới (10% cường độ ánh sáng tự nhiên). Thí nghiệm được bố trí ngoài trời, cường độ ánh sáng trong ngày từ thời điểm 8 giờ đến 16 giờ dao động từ 49.369-123.207 Lux. Trong quá trình thí nghiệm, nhiệt độ tối thiểu trung bình được ghi nhận là 24,5 °C, trong khi nhiệt độ trung bình tối đa đạt cực đại là 32,6 °C.

2.2. Chiết xuất lá lúa

Chiết xuất lá lúa theo phương pháp được mô tả bởi Tamprasit *et al.* [15], sử dụng 80% ethanol làm dung môi. Lá lúa được thu nhận, rửa sạch và để ráo nước ở nhiệt độ phòng. Sau đó cắt lá thành từng miếng nhỏ (0,2-0,5 cm). Lá lúa được chiết xuất bằng siêu âm với etanol chứa 1% HCl (10 g trên 100 mL) trong thời gian 30 phút. Mẫu thu được được lọc bằng giấy lọc Whatman số 1 và được cô quay để loại bỏ dung môi ethanol và bổ sung nước cất để tái định mức lại ban đầu của dịch chiết lá lúa.

2.3. Phân tích hàm lượng chlorophyll

Cholorophyll tổng được xác định bằng phương pháp quang phổ so màu theo mô tả của Tamprasit *et al.* [15] với một số điều chỉnh. 1 g lá lúa tươi được nghiền nhỏ và chiết xuất với10 ml ethanol 80%. Sau đó, ly tâm với tốc độ 6000 vòng/phút trong 5 phút. Chất nổi trên mặt được chuyển đi và quy trình được lặp lại cho đến khi cặn trở nên không màu. Dung dịch chứa chlorophyll được đo độ hấp thu ánh sáng ở các bước sóng 645 nm (A645) và 663 nm (A663). Hàm lượng chlorophyll tổng được tính theo công thức: Lượng Chlorophyll tổng (µg/ml) = 20,2(A645) + 8,02(A663); Lượng Chlorophyll a (µg/ml) = 12,7(A663) – 2,69(A645); Lượng Chlorophyll b (µg/ml) = 22,9(A645) – 4,68(A663).

2.4. Phân tích hàm lượng polyphenol

Hàm lượng polyphenol tổngtrong nghiên cứu được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu với một số điều chỉnh (Tamprasit *et al.* [15] và Berwal *et al.* [16]). Cân 1 g lá lúa tươi, nghiền nhỏ và chiết xuất với10 ml ethanol 80%. Dịch chiết chứa polyphenol được thu thập bằng cách ly tâm với tốc độ 6000 vòng/phút trong 5 phút. Hỗn hợp gồm 0,5 mL dịch chiết cần phân tích được bổ sung với 5 mL thuốc thử Folin-Cioculteu 10%, để ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Sau đó thêm 4 mL dung dịch Na_2CO_3 1M và điều chỉnh đến thể tích cuối cùng là 10 mL, giữ trong bóng tối trong 90 phút. Đo độ hấp thụ của hỗn hợp dung dịch ởbước sóng 750 nm. Hàm lượng polyphenol tổng được tính dựa vào đường chuẩn acid gallic ở khoảng nồng độ 10-100 µg/mL và được biểu thị bằng miligam/g lá tươi (tính theo acid gallic).

2.5. Phương pháp xác định khả năng kháng nấm

Dịch chiết xuất từ lá lúa được bổ sung với nồng độ 5% (v/v) vào các ống nghiệm chứa môi trường Sabouraud dextrose lỏng cùng với vi sinh vật thử nghiệm là *Candida albicans*. Mẫu đối chứng không bổ sung dịch chiết xuất từ lá lúa. Tiến hành ủ mẫu ở 37°C trong 48 giờ. Sau đó, 100 µL dịch nuôi cấy trong các ống nghiệm được hút ra và cấy vào môi trường Sabouraud có bổ sung agar. Đếm mật số nấm *Candida albicans* ở các nồng độ pha loãng sau khi nuôi cấy 48 giờ. Mỗi nghiệm thức được lặp lại ba lần. Khả năng ức chế sự phát triển được tính dựa trên sự giảm mật số vi sinh vật thử nghiệm so với mẫu đối chứng.

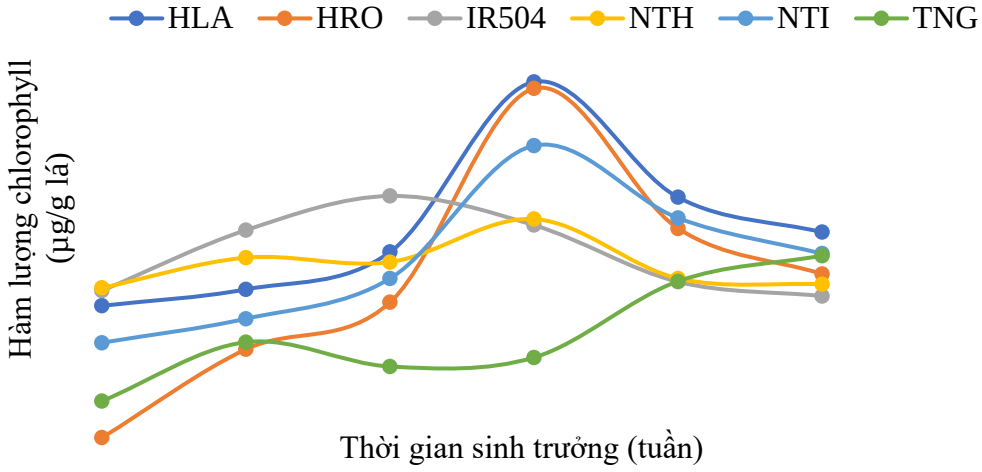
2.6. Phân tích số liệu

Sử dụng phần mềm Microsof Excel để xử lý số liệu thô, tính các số liệu thống kê như giá trị trung bình. Phần mềm STATGRAPHICS được dùng để phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định Duncan các trung bình nghiệm thức.

III. KẾT QUẢ

3.1. Ảnh hưởng của mức độ che phủ ánh sáng, thời gian sinh trưởng đến hàm lượng chlorophyll

Chlorophyll đóng vai trò quan trọng trong quá trình quang hợp và trao đổi chất của cây [17]. Hàm lượng chlorophyll trong dịch chiết lá lúa có thể thay đổi khác nhau tùy thuộc vào mùa vụ và giai đoạn sinh trưởng [18]. Kết quả nghiên cứucho thấy hàm lượng chlorophyll trong dịch chiết lá lúa của các giống lúa HLA, HRO, NTI và NTH tăng dần từ tuần thứ nhất, đạt cao nhất (1286-1469 µg/g lá) ở tuần thứ tư (Hình 1). Tuy nhiên khi thời gian sinh trưởng tăng thì hàm lượng chlorophyll lại giảm. Cụ thể, ở tuần thứ năm, hàm lượng chlorophyll trong dịch chiết lá của các giống lúa dao động khoảng 1206-1313 µg/g lá.



Hình 1. *Thay đổi hàm lượng chlorophyll trong lá lúa theo thời gian sinh trưởng*

Một kết quả khác đáng chú ý là hàm lượng chlorophyll trong dịch chiết lá của giống IR504 cao nhất ở tuần thứ ba (1315 µg/g lá). Trong khi đó, dịch chiết lá lúa của giống lúa TNG có hàm lượng chlorophyll cao nhất ở tuần sáu (1239 µg/g lá).

So sánh ảnh hưởng của mức độ che sáng lên hàm lượng chlorophyll trong dịch chiết lá lúa, kết quả cho thấy hàm lượng chlorophyll trong dịch chiết lá lúa ở điều kiện không che sáng và che sáng 1 lớp lưới cao hơn so với che sáng 2 lớp lưới (Bảng 1). Ở điều kiện không che sáng và che sáng 1 lớp lưới, hàm lượng chlorophylltrong dịch chiết lá lúa dao động khoảng 1260µg/g lá. Trong khi đó ở điều kiện che sáng2 lớp lưới giá trị này chỉ khoảng 1150 µg/g lá. Phân tích thống kê cho thấy hàm lượng chlorophyll trong dịch chiết lá lúa ở điều kiện không che sáng và che sáng 1 lớp lưới cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với điều kiện che sáng 2 lớp lưới.

Bảng 1. *Ảnh hưởng của mức độ che sáng lên hàm lượng chlorophyll trong lá lúa*

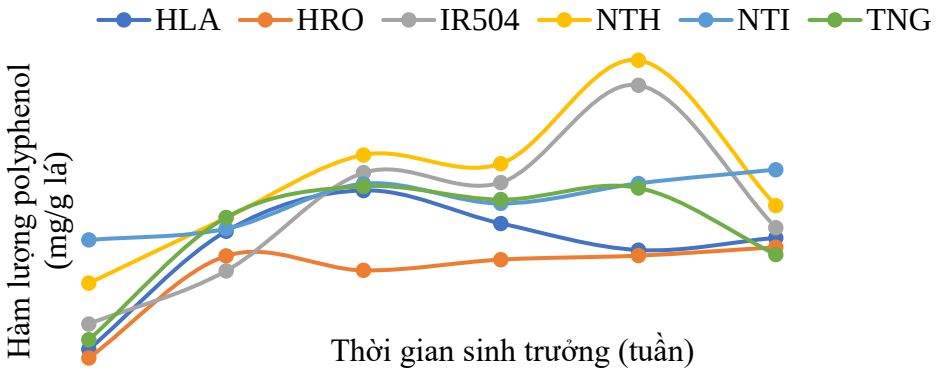
Giống lúa	Không che sáng*	Một lớp lưới*	Hai lớp lưới*
HLA	1302,65 a±24,31	1293,85 a±9,54	1173,75 a±10,39
HRO	1244,89 d±15,48	1205,86 d±12,39	1174,64 a±22,32
IR50404	1285,11 b±18,31	1280,59 b±15,71	1161,92 ab±11,83
NTH	1261,47 c±10,89	1271,71 b±22,65	1150,14 b±18,05
NTI	1277,75 b±13,21	1263,05 c±11,13	1162,91 ab±20,62
TNG	1251,17 cd±12,76	1107,84 e±10,35	1060,02 c±16,03

** Các chữ cái khác nhau trên đầu cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩathống kê giữa các giống lúa trong cùng một điều kiện sinh trưởng ($p<0,05$).*

3.2. Ảnh hưởng của mức độ che phủ ánh sáng, thời gian sinh trưởng đến hàm lượng polyphenol

Tương tự như chlorophyll, hàm lượng polyphenol trong dịch chiết lá lúa cũng có sự thay đổi theo thời gian tăng trưởng. Các kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng hàm lượng polyphenol trong dịch chiết lá lúa ở các giống lúa TNG, IR504 và NTH tăng dần từ tuần thứ nhất và đạt cao nhất ở tuần thứ năm. Tuy nhiên, đến tuần thứ sáu thì hàm lượng polyphenol lại giảm (Hình 2).

Kết quả phân tích dịch chiết lá lúa của giống HLA cho thấy hàm lượng polyphenol đạt cao nhất ở tuần thứ 3 (3,66 mg/g lá) và sau đó giảm ở các tuần tiếp theo. Trong khi đó, hàm lượng polyphenol trong dịch chiết lá lúa của giống HRO và NTI tăng đều từ tuần thứ nhất và đạt cao nhất ở tuần thứ sáu, tương ứng là 3,16 và 3,79 mg/g lá (Bảng 2).



Hình 2. *Thay đổi hàm lượng polyphenol trong lá lúa theo thời gian sinh trưởng*

Điều kiện che sáng có ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol trong dịch chiết lá lúa. Hàm lượng polyphenol trong dịch chiết lá lúa của các giống lúa được kiểm tra đạt cao nhất ở điều kiện không che sáng, dao động 5,2-6,3 mg/g lá. Trong khi đó, giá trị này ở các điều kiện che sáng 1 lớp lưới và hai lớp lưới chỉ khoảng 2-2,6 mg/g lá. Phân tích thống kê cho thấy điều kiện không che sáng có hàm lượng polyphenol cao hơn có ý nghĩa so với hai điều kiện còn lại ($p<0.05$).

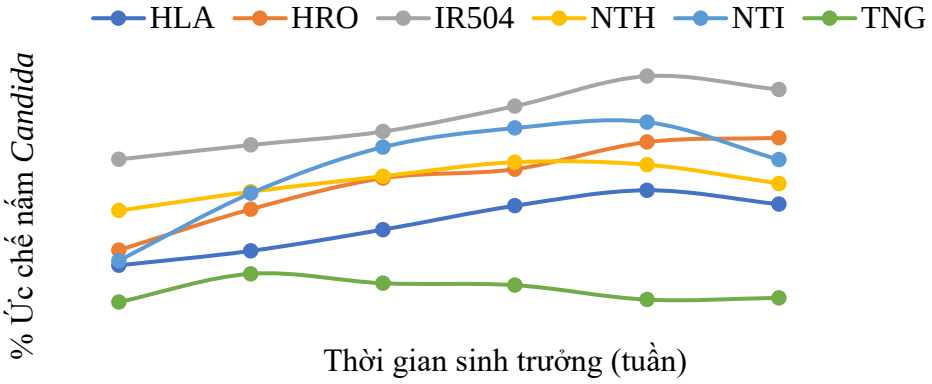
Bảng 2. *Ảnh hưởng của mức độ che sáng lên hàm lượng polyphenol trong lá lúa*

Giống lúa	Không che sáng*	Một lớp lưới*	Hai lớp lưới*
HLA	5,72b±0,42	2,13 d±0,32	1,79 e±0,33
HRO	5,21 e±0,87	1,93 e±0,47	1,89 d±0,41
IR50404	5,46 d±0,73	2,49 b±0,51	2,52 a±0,3
NTH	6,34 a±0,65	2,63 b±0,34	2,15 b±0,19
NTI	6,07 b±0,93	2,60 a±0,79	1,99 c±0,21
TNG	5,76 c±0,54	2,21 c±0,67	2,04 c±0,39

**Các chữ cái khác nhau trên đầucột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩathống kê giữa các giống lúa trong cùng một điều kiện sinh trưởng (p<0,05).*

3.3. Ảnh hưởng của mức độ che phủ ánh sáng, thời gian sinh trưởng đến tính chất kháng nấm

Phân tích tỉ lệ phần trăm ức chế nấm *C. albicans*, kết quả cho thấy có sự thay đổi về tỉ lệ phần trăm ức chế kháng nấm của dịch chiết lá lúa ở các giống lúa, điều kiện che phủ và thời điểm thu hoạch lá lúa (Hình 3 và Bảng 3). Theo hình3, dịch chiết lá lúa của các giống lúa HLA, HRO, IR504, NTH và NTI có tỉ lệ phần trăm ức chế nấm đạt cao nhất ở tuần thứ năm. Đáng chú ý, dịch chiết lá lúa của các giống IR504 thể hiện tính chất kháng nấm cao nhất, đạt gần 50%. Trong khi đó, dịch chiết lá lúa của các giống lúa TNG có tỉ lệ phần trăm kháng nấm thấp nhất (23-26%).



Hình 3. *Thay đổi tính chất kháng nấm của lá lúa theo thời gian sinh trưởng*

Xét ảnh hưởng của điều kiện che sáng, kết quả thống kê cho thấy dịch chiết lá lúa của các giống lúa trong điều kiện không che sáng cho khả năng ức chế nấm cao hơn có ý nghĩa so với các điều kiện che sáng ($p<0.05$). Đặc biệt, dịch chiết lá lúa của giống lúa HRO cho khả năng ức chế nấm gần 50% trong khi điều kiện che sáng cho khả năng ức chế thấp hơn (25-35%). Ngoài ra, quan sát bảng 3 cho thấyhoạt tính kháng nấm củadịch chiết lá lúa giống IR504 ít chịu tác động của điều kiện che sáng. Điều này thể hiện qua phần trăm ức chế nấm của dịch chiết lá lúa thay đổi không đáng kể khi so sánh giữa các điều kiện che sáng.

Bảng 3. *Ảnh hưởng của mức độ che sáng lên tính chất kháng nấm của lá lúa*

Giống lúa	Khôngche sáng*	Một lớp lưới*	Hai lớp lưới*
HLA	28,72 e±2,01	32,92 d±2,19	34,12 c±3,15
HRO	50,67 a±5,87	35,57 bc±4,85	25,04 d±2,33
IR50404	44,94 b±3,15	46,33 a±6,74	42,67 a±4,84
NTH	33,41 d±4,67	36,28 b±3,69	41,44 b±3,99
NTI	40,28 c±6,01	34,88 c±5,36	40,65 b±5,07
TNG	27,48 e±5,38	24,49 e±3,01	20,14 e±3,65

**Các chữ cái khác nhau trên đầucột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các giống lúa trong cùng một điều kiện sinh trưởng (p<0,05).*

IV. BÀN LUẬN

Các kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng điều kiện che sáng và thời gian sinh trưởng có ảnh hưởng đáng kể đếnsự tích tụ của các hợp chất sinh họctrong lálúa như chlorophyll và polyphenols tổng số.Suốt quá trình trưởng thành của cây lúa, những thay đổi về mặt chuyển hóa xảy ra trong các mô dẫn đến những thay đổi trong sản xuất và tích lũy các hợp chất có hoạt tính sinh học trong cây [19].Kết quả nghiên cứu cho thấy có sự khác nhau về hàm lượng chlorophyll và polyphenol giữa các giống lúa ở các thời điểm sinh trưởng. Tương tự, nghiên cứu của Khanthapok *et al.* [20] và Tamprasit *et al*. [15] cũng chỉ ra rằng hàm lượng chlorophyll và polyphenol của dịch chiết lá lúa biến thiên theo thời gian sinh trưởng và khác nhau phụ thuộc vào giống lúa. Điều này được giải thích là do sự khác biệt về di truyền giữa các giống lúa [21].

Ánh sáng như một nguồn năng lượng quyết định sự tăng trưởng và phát triển của thực vật, quyết định màu sắc thực vật. Ánh sáng hấp thụ bởi các lạp lục để sản xuất năng lượng thông qua quang hợp. Kết quả là cây phát triển trong điều kiện ánh sáng thấp, hàm lượng chlorophyll thường cao hơn so với những cây phát triển trong ánh sáng đầy đủ. Nghiên cứu trước đây cho thấy hàm lượng chlorophyll cao hơn đáng kể trong lúa gạo (*Oryza sativa* L. cv IR 72) được trồng trong điều kiện ánh sáng yếu [22]. Sự gia tăng đáng kể hàm lượng chlorophyll và các hợp chất carotenoids khi lúa được xử lý che bóng từ 15 ngày sau khi gieo cho đến khi thu hoạch [23]. Tuy nhiên, sự che sáng quá mức có thể làm giảm khả năng tích tụ chlorophyll. Điều này được minh chứng bằng kết quả của nghiên cứu hiện tại là lúa được trồng trong điều kiện che sáng 2 lớp lưới có hàm lượng chlorophyll thấp hơn so với điều kiện che sáng vừa phải (1 lớp lưới). Bên cạnh đó, cường độ chiếu sáng cũng có ảnh hưởng đến sự tích lũy các chất chuyển hóa thứ cấp khác như các hợp chất phenolic [24]. Sinh tổng hợp phenolic đòi hỏi ánh sáng hoặc được tăng cường bởi ánh sáng. Do đó, kết quả khảo sát trên các 06 giống lúa nghiên cứu cho thấy hàm lượng polyphenol cao hơn đáng kể khi trồng trong điều kiện tự nhiên không che sáng. Như vậy các kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng mức độ chiếu sáng có ảnh hưởng đến sự tích tụ chlorophyll và polyphenol trong lá lúa.

Nghiên cứu trước đây cho thấy, điều kiện chiếu sáng hay cường độ chiếu sáng

sẽ có tác động ảnh hưởng đến tổng hợp và tích trữ các hợp chất sinh học trong cây [25]. Trong nghiên cứu này, điều kiện che sáng làm thay đổi hàm lượng chlorophyll, tuy nhiên, sự thay đổi không đáng kể. Tương tự, nghiên cứu của Ekawati *et al.* [26] đã báo cáo rằng hàm lượng tổng chlorophyll và tỷ lệ chlorophyll a/b trên cây hành *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr không bị ảnh hưởng đáng kể bởi chế độ che sáng. Ngược lại, nghiên cứu của Dong *et al.* [27] cho thấy khi xử lý với cường độ ánh sáng yếu đã làm tăng hàmlượng chlorophylltrong dịch chiết cây lúa mì Triticum aestivum. Về hợp chất polyphenol, nghiên cứu này cho thấy dịch chiết lá lúa xử lý che sáng sẽ bị giảm đáng kể về hàm lượng.Nghiên cứu trên cây trà ở các mức che sáng khác nhau cho kết quả gần giống với nghiên cứu này, cụ thể hàm lượng một số hợp chất polyphenol như flavonol glycoside và catechin đã giảm đáng kể khi xử lý trong bóng râm [28]. Các nghiên cứu này cho thấy, điều kiện che sáng hay mức độ cường độ chiếu sáng sẽ có tác động khác nhau đối với từng loài thực vật khác nhau.Điều này có thể giải thích là do đặc tính di truyền của các giống thực vật khác [29, 30]. Tương tự, trong nghiên cứu này, dịch chiết lá lúa của sáu giống lúa cũng thể hiện sự biến thiên khác nhau về hàm lượng các hợp chất chlorophyll và polyphenol và hoạt tính kháng nấm đối với các điều kiện che sáng khác nhau. Đối với cây lúa, điều kiện ánh sáng tự nhiên được xem là phù hợp cho cây sinh trưởng và phát triển, cũng như tích trữ hàm lượng cao các hợp chất sinh học.

Một số nghiên cứu đã khẳng định khả năng kháng nấm của chiết xuất từ cây thực vật bắt nguồn từ hiện diện của các hợp chất sinh học trong cây, đặc biệt polyphenol và chlorophyll [31]. Dịch chiết từ lá và thân cây lúa mì non, cùng họ ngũ cốc với cây lúa gạo,đã được báo cáo là có hiệu quả kháng nấm *Candida* [32]. Đặc biệt, hai nghiên cứu này đã chỉ ra rằng chiết xuất từ lá lúa mì thể hiện hoạt tính kháng các vi sinh vật gây bệnh thông qua sự hiện diện của các hợp chất polyphenol bao gồm (ancaloit, glycoside, saponin, steroid, tannin, flavonoid, terpenoid và phenol).Nghiên cứu củaEvensen và Braun [33]cho thấy polyphenol trong dịch chiết trà xanhcó khả năng làm giảm 40% tốc độ tăng trưởng của *Candida* sp..Tương tự, nghiên cứu trước đây đã báo cáo khả năng kháng nấm gây bệnh trên dacủa hợp chất chlorophyll [34]. Do đó, có sự liên quan giữa hàm lượng polyphenol, chlorophyll và khả năng kháng nấm. Nghiên cứu hiện tại cũng đã chứng minh sự thay đổi trong hàm lượng của các chất này theo điều kiện che sáng và thời gian sinh trưởng đã làm thay đổi tính chất kháng nấm của dịch chiết lá lúa.

Khi so sánh khả năng kháng nấm của dịch chiết lá lúa của các giống lúa được khảo sát. Kết quả cho thấy rằng dịch chiết lá lúa của giống IR504, NTI và HRO cho hiệu quả kháng nấm cao nhất ở tuần thứ 5 của thời gian sinh trưởng. Tuy nhiên, ở tại thời điểm này, hàm lượng chlorophyll đạt cao nhất trong dịch chiết lá lúa ở giống lúa HLA và HRO trong khi giống IR504 và NTH lại có hàm lượng polyphenol cao nhất. Điều này cho thấy sự chi phối của polyphenol và chlorophyll đối với tính chất kháng nấm của dịch chiết lá lúa phụ thuộc vào nguồn gốc của nó, tức là phụ thuộc vào giống lúa. Các nghiên cứu trước đây cũng đã chứng minh hoạt tính khác nấm khác nhau của các polyphenol có nguồn gốc từ thực vật khác nhau [35].

Một điều khá thú vị có sự tương đồng trong nghiên cứu đó là hàm lượng chlorophyll, polyphenol và tính chất kháng nấm đạt cao nhất khi lúa phát triển

dưới điều kiện không che sáng. Kết quả này không chỉ chứng minh mức độ chiếu sáng có ảnh hưởng đến sự tích tụ chlorophyll, polyphenol cũng như tính chất kháng nấm của lúa non mà còn khẳng định mối liên quan giữa các thành phần này. Ngoài ra, trong điều kiện không che sáng, kết quả cho thấy hai giống IR504 và HRO cho hoạt tính kháng nấm cao nhất. Đây có thể là cơ sở để lựa 2 chọn giống lúa có tính kháng cao với nấm *Candida* phù hợp sản xuất dịch chiết có thể áp dụng làm mỹ phẩm chăm sóc da.

V. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng điều kiện che sáng và thời gian sinh trưởng có ảnh hưởng đáng kể đếnhàm lượng chlorophyll, polyphenol và thuộc tính kháng nấm trong lá lúa. Nghiên cứu đã chứng minh sự thay đổi trong hàm lượng của các chất này theo điều kiện che sáng và thời gian sinh trưởng đã làm thay đổi tính chất kháng nấm của dịch chiết lá lúa. Đồng thời, hàm lượng polyphenol, chlorophyllvà tính chất kháng nấm của lá lúa phụ thuộc vào giống lúa. Kết quả cũng cho thấy có mối liên quan giữa hàm lượng chlorophyll, polyphenol và tính chất kháng nấm. Các giá trị này đạt cao nhất khi lúa phát triển dưới điều kiện không che sáng và giai đoạn cây từ 3-5 tuần tuổi. Nghiên cứu là tiền đề cơ sở để lựa giống lúa có tính kháng cao với nấm *Candida* phù hợp sản xuất dịch chiết ứng dụng trong mỹ phẩm chăm sóc da.

Lời cảm ơn

Nguyễn Thị Tố Uyên được tài trợ bởi Chương trình học bổng đào tạo thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF), mã số VINIF.2023.TS.145.

Tài liệu tham khảo

1. Muthayya S, Sugimoto JD, Montgomery S, Maberly GF. An overview of global rice production, supply, trade, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2014;1324(1):7-14. doi:10.1111/nyas.12540.
2. Thepthanee C, Liu CC, Yu HS, et al. Evaluation of phytochemical contents and *in vitro* antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities of black rice leaf (*Oryza sativa* L.) extract and its fractions. *Foods*. 2021;10(12):2987. doi:10.3390/foods10122987.
3. Wangcharoen W, Phimphilai S. Chlorophyll and total phenolic contents, antioxidant activities and consumer acceptance test of processed grass drinks. *J Food Sci Technol*. 2016;53(12):4135-4140. doi:10.1007/s13197-016-2380-z.
4. Aalipour H, Nikbakht A, Sabzalian MR. Essential oil composition and total phenolic content in *Cupressus arizonica* G. in response to microbial inoculation under water stress conditions. *Sci Rep*. 2023;13(1):1209. doi:10.1038/s41598-023-28107-z.
5. Ferrante A, Mariani L. Agronomic management for enhancing plant tolerance to abiotic stresses: high and low values of temperature, light intensity, and relative humidity. *Horticulturae*. 2018;4(3):21. doi:10.3390/horticulturae4030021.
6. Wimalasekera R. Effect of light intensity on photosynthesis. In: *Photosynthesis, Productivity and Environmental Stress*. John

Wiley & Sons, Ltd; 2019:65-73. doi:10.1002/9781119501800.ch4.

7. Ma Z, Li S, Zhang M, Jiang S, Xiao Y. Light intensity affects growth, photosynthetic capability, and total flavonoid accumulation of *Anoectochilus plants*. *HortScience*. 2010;45(6):863-867. doi:10.21273/HORTSCI.45.6.863.
8. Noertjahyani N, Akbar C, Komariah A, Mulyana H. Shade effect on growth, yield, and shade tolerance of three peanut cultivars. *J Agro*. 2020;7(1):102-111. doi:10.15575/6273.
9. Talapko J, Juzbašić M, Matijević T, et al. *Candida albicans*—the virulence factors and clinical manifestations of infection. *Journal of Fungi*. 2021;7(2):79. doi:10.3390/jof7020079
10. Morad HOJ, Wild AM, Wiehr S, et al. Pre-clinical imaging of invasive *Candidiasis* using immunopet/mr. *Front Microbiol*. 2018;9:1996. doi:10.3389/fmicb.2018.01996.
11. Jaiswal N, Kumar A. HPLC in the discovery of plant phenolics as antifungal molecules against *Candida* infection related biofilms. *Microchemical Journal*. 2022;179:107572. doi:10.1016/j.microc.2022.107572.
12. Ibrahim M, Riaz M, Ali A, et al. Evaluating the total phenolic, protein contents, antioxidant and pharmacological effects of extracts against and. *Polish Journal of Chemical Technology*. 2023;25(3):110-119. doi:10.2478/pjct-2023-0031.
13. Jeenkeawpieam J, Rodjan P, Roytrakul S, et al. Antifungal activity of protein hydrolysates from Thai Phatthalung Sangyod rice (*Oryza sativa* L.) seeds. *Vet World*. 2023;16(5):1018-1028. doi:10.14202/vetworld.2023.1018-1028
14. Al-Khafaji AN, Muhsin AH, Abdallab MT. Antifungal activity of crude and phenolic extract to rice crusts and chemical pesticide (Blitinute) in inhibition of fungi isolate from rice seeds. *IJFMT*. 2020;4(2):1427-1433. doi:10.37506/ijfmt.v14i2.3112.
15. Tamprasit K, Weerapreeyakul N, Sutthanut K, Thukhammee W, Wattanathorn J. Harvest age effect on phytochemical content of white and black glutinous rice cultivars. *Molecules*. 2019;24(24):4432. doi:10.3390/molecules24244432.
16. Berwal M, Haldhar S, Ram C, Shil S, Gora JS. Effect of extraction solvent on total phenolics, flavonoids and antioxidant capacity of flower bud and foliage of *Calligonum polygonoides* L. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry*. 2021;34:61-67. doi:10.5958/0974-4479.2021.00008.3.
17. Roca M, Chen K, Pérez-Gálvez A. Chapter 8 - Chlorophylls. In: Schweiggert R, ed. *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages (Second Edition)*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing; 2024:193-226. doi:10.1016/B978-0-323-99608-2.00017-3.
18. Yang CM, Lee YJ. Seasonal changes of chlorophyll content in field-grown rice crops and their relationships with growth. *Proc Natl Sci Counc Repub China B*. 2001;25(4):233-238.
19. Thi ND, Hwang ES. Bioactive compound contents and antioxidant activity in aronia (*Aronia melanocarpa*) leaves collected at different growth stages. *Prev Nutr Food Sci*. 2014;19(3):204-212. doi:10.3746/pnf.2014.19.3.204.
20. Khanthapok P, Muangprom A, Sukrong S. Antioxidant activity and DNA protective properties of rice grass juices. *ScienceAsia*. 2015;41(2):119. .doi:10.2306/scienceasia1513-1874.2015.41.119.
21. Neugart S, Baldermann S, Hanschen FS, Klopsch R, Wiesner-Reinhold M, Schreiner M. The intrinsic quality of brassicaceous vegetables: How secondary plant metabolites are affected by genetic, environmental, and agronomic factors. *Scientia Horticulturae*. 2018;233:460-478. doi:10.1016/j.scienta.2017.12.038.
22. Resurreccion AP, Makino A, Bennett J, Mae T. Effect of light intensity on the growth and photosynthesis of rice under different sulfur concentrations. *Soil Science and Plant Nutrition*. 2002;48(1):71-77. doi:10.1080/00380768.2002.10409173.

23. Viji MM, Thangaraj M, Jayapragasam M. Effect of Low Light on Photosynthetic Pigments, Photochemical Efficiency and Hill Reaction in Rice (Oryza sativa L.). *Journal of Agronomy and Crop Science*. 1997;178(4):193-196. doi:10.1111/j.1439-037X.1997.tb00490.x.
24. Karimi E, Jaafar H, Ghasemzadeh A, Ibrahim MH. Light intensity effects on production and antioxidant activity of flavonoids and phenolic compounds in leaves, stems and roots of three varieties of Labisia pumila Benth. *Australian Journal of Crop Science*. Published online 2013. Accessed July 16, 2024. https://www.semanticscholar.org/paper/Light-intensity-effects-on-production-and-activity-Karimi-Jaafar/0ec2934a5178ec150b11c3fbce5baec80accdc00.
25. Katerova Z, Todorova D, Sergiev I. Plant secondary metabolites and some plant growth regulators elicited by UV irradiation, light and/or shade. In: Ghorbanpour M, Varma A, eds. *Medicinal Plants and Environmental Challenges*. Springer International Publishing; 2017:97-121. doi:10.1007/978-3-319-68717-9_6.
26. Ekawati R, Saputri LH. Chlorophyll Components, Total Flavonoid, Anthocyanin Content and Yield of Eleutherine palmifolia L. (Merr) on Different Shading Levels. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci*. 2022;1018(1):012004. doi:10.1088/1755-1315/1018/1/012004
27. Dong C, Fu Y, Liu G, Liu H. Low light intensity effects on the growth, photosynthetic characteristics, antioxidant capacity, yield and quality of wheat (*Triticum aestivum* L.) at different growth stages in BLSS. *Advances in Space Research*. 2014;53(11):1557-1566. doi:10.1016/j.asr.2014.02.004
28. Ye JH, Lv YQ, Liu SR, et al. Effects of Light Intensity and Spectral Composition on the Transcriptome Profiles of Leaves in Shade Grown Tea Plants (Camellia sinensis L.) and Regulatory Network of Flavonoid Biosynthesis. *Molecules*. 2021;26(19):5836. doi:10.3390/molecules26195836.
29. Zhan X, Chen Z, Chen R, Shen C. Environmental and genetic factors involved in plant protection-associated secondary metabolite biosynthesis pathways. *Front Plant Sci*. 2022;13. doi:10.3389/fpls.2022.877304.
30. Grativol C, Hemerly AS, Ferreira PCG. Genetic and epigenetic regulation of stress responses in natural plant populations. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*. 2012;1819(2):176-185. doi:10.1016/j.bbagrm.2011.08.010.
31. Pourakbar L, Moghaddam SS, Enshasy HAE, Sayyed RZ. Antifungal activity of the extract of a macroalgae, *Gracilariopsis persica*, against four plant pathogenic fungi. *Plants*. 2021;10(9):1781. doi:10.3390/plants10091781.
32. Millat M, Amin M. Phytochemical screening and antimicrobial potential analysis of methanolic extracts of ten days mature *Triticum aestivum* Linn. (whole plants). *Discovery Phytomedicine*. 2019;6:16-19. doi:10.15562/phytomedicine.2019.78.
33. Evensen NA, Braun PC. The effects of tea polyphenols on *Candida albicans*: inhibition of biofilm formation and proteasome inactivation. *Can J Microbiol*. 2009;55(9):1033-1039. doi:10.1139/w09-058.
34. Maekawa L, Roberta L, Sidnei M, Maekawa M, Nassri M, Koga Ito C. Antimicrobial activity of chlorophyll-based solution on *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Revista Sul-brasiliera de Odontologia*. 2007;4. doi:10.21726/rsbo.v4i2.1294.
35. Martins N, Barros L, Henriques M, Silva S, Ferreira ICFR. Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida species*. *Industrial Crops and Products*. 2015;74:648-670. doi:10.1016/j.indcrop.2015.05.067.