

STUDIES ON THE *ASPERGILLUS* FR.: FR. OF *FRUCTUS MALI* COLLECTED FROM THE TRADITIONAL MEDICINE STORES IN HANOI

Nguyen Lien Huong, Tran Trinh Cong*

Hanoi University of Pharmacy – 13 Le Thanh Tong, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam

Received: 20/05/2024

Revised: 01/06/2024; Accepted: 15/06/2024

ABSTRACT

Objective: To determine the *Aspergillus* species contamination of *Fructus Mali* samples.

Materials and Methods: Ten samples of *Fructus Mali* were collected from the traditional herbal stores in Hanoi for fungal analyses. For the mycological analyses of the *Fructus Mali* samples the direct plating technique and PDA medium were used. The taxonomic systems of fungi (Samson *et al.*, 1995; Pitt & Hocking 2009) were followed for the observation and identification. The isolates were cultured on Czapek-Dox.

Results: Six species of the genus *Aspergillus* Fr.: Fr. were collected: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. fumigatus*, *A. aculeatus*, *A. tamarii*.

Conclusion: These results identify potential source of mycotoxins in *Fructus Mali* and allude to the need of good storage practices in order to protect consumers from the health threat posed by mycotoxin contamination.

Keywords: *Aspergillus*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. fumigatus*, *A. aculeatus*, *A. tamarii*, *Fructus Mali*.

* Corresponding author
E-mail: congahn@gmail.com
Phone number: (+84) 903 464 960
<https://doi.org/10.52163/yhc.v65iCD5.1276>

NGHIÊN CỨU MỨC ĐỘ NHIỄM CÁC LOÀI CỦA CHI *ASPERGILLUS* FR.: FR. TRÊN DƯỢC LIỆU SƠN TRÁ (*FRUCTUS MALI*) TỪ MỘT SỐ HIỆU ĐÔNG DƯỢC Ở HÀ NỘI

Nguyễn Liên Hương, Trần Trịnh Công*

Đại học Dược Hà Nội – 13 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài: 20/05/2024

Chỉnh sửa ngày: 01/06/2024; Ngày duyệt đăng: 15/06/2024

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định các loài nấm thuộc chi *Aspergillus* Fr.: Fr. nhiễm trên dược liệu Sơn tra (*Fructus Mali*) đang lưu hành ở một số hiệu Đông dược thuộc địa bàn Hà Nội.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 10 mẫu dược liệu sơn tra được thu thập từ các hiệu đông dược, phố Lãn Ông, Hà Nội. Sử dụng môi trường PDA và phương pháp đặt trực tiếp để phân lập nấm. Môi trường Czapek-Dox và các khóa phân loại của Samson và cộng sự (1995), Pitt & Hocking (2009) được sử dụng để phân loại các chủng nấm.

Kết quả: 10 mẫu dược liệu nghiên cứu đã bị nhiễm 6 loài của chi *Aspergillus* gồm: *A. niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. fumigatus*, *A. aculeatus* và *A. tamarii* với tỷ lệ chủng phân lập được lần lượt là 61,8; 11,2; 8,5; 6,6; 6,6 và 5,3%.

Kết luận: Kết quả này cho thấy, nguồn cơ chất Sơn tra nhạy cảm với các loài nấm sinh độc tố của chi *Aspergillus*, cần được lưu ý trong quá trình thu hoạch, bảo quản và sử dụng để đảm bảo an toàn cho người dùng.

Từ khóa: *Aspergillus*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. fumigatus*, *A. aculeatus*, *A. tamarii*, Sơn tra, *Fructus Mali*.

* Tác giả liên hệ

E-mail: congdhn@gmail.com

Điện thoại: (+84) 903 464 960

<https://doi.org/10.52163/yhc.v65iCD5.1276>



1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thảo dược và các chế phẩm từ nguồn nguyên liệu này thường nhạy cảm với sự lây nhiễm nấm mốc và độc tố nấm mốc (mycotoxin) [1,2,3]. Trong quá trình thu hoạch, vận chuyển, bảo quản và phân phối, thảo dược là mục tiêu lây nhiễm của nhiều loại nấm mốc khác nhau, đặc biệt là các loài của *Aspergillus* (một chi nấm với nhiều loài có khả năng sinh độc tố) và là nguyên nhân chủ yếu gây hư hỏng và nhiễm mycotoxin trên các sản phẩm sau thu hoạch [5,6,7]. Sơn tra (*Fructus Mali*), một thảo dược thường được sử dụng trong đông y để chủ trị: ăn không tiêu, đau bụng, đầy trướng, ợ chua, sản hậu ứ huyết[8]. Tuy nhiên, cho đến nay vẫn còn rất ít các công trình nghiên cứu về nấm mốc và mycotoxin trên thảo dược này. Để góp phần đảm bảo an toàn và hiệu quả sử dụng dược liệu nói chung, thảo dược Sơn tra nói riêng, đề tài “Nghiên cứu mức độ nhiễm các loài của chi *Aspergillus* Fr.: Fr. trên dược liệu Sơn tra (*Fructus Mali*) từ một số hiệu đông dược ở Hà Nội” được thực hiện, với mục tiêu phân lập, phân loại các chủng nấm của các loài thuộc chi *Aspergillus* Fr.: Fr. nhiễm trên thảo dược này.

Mục tiêu nghiên cứu: Xác định các loài nấm thuộc chi *Aspergillus* Fr.: Fr. nhiễm trên dược liệu Sơn tra (*Fructus Mali*) đang lưu hành ở một số hiệu đông dược thuộc địa bàn Hà Nội.

2. Nguyên liệu, đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: 10 mẫu dược liệu Sơn tra (*Fructus Mali*) thu thập từ một số hiệu đông dược trên địa bàn Hà Nội (tháng 3 năm 2023) được chuyển về phòng thí nghiệm, bảo quản ở nhiệt độ phòng trước khi phân lập và phân loại nấm.

Môi trường phân lập: Môi trường PDA (Potato Dextrose Agar), do hãng Himedia, Ấn Độ sản xuất.

Môi trường phân loại: Môi trường ADM (*Aspergillus* Differentiation Medium Base) và Môi trường Czapek Dox Agar (Himedia, Ấn Độ).

Phương pháp nghiên cứu:

Phương pháp xác định hàm ẩm dược liệu: Hàm ẩm các mẫu dược liệu được xác định bằng phương pháp “Mất khối lượng do làm khô” (Phụ lục 9.6, DĐVN V)[8].

Phương pháp phân lập nấm mốc: Phân lập các chủng nấm được áp dụng trên cơ sở phương pháp Samson và

cộng sự (sử dụng phương pháp đặt trực tiếp trên môi trường PDA)[7]: Các mẫu dược liệu (mỗi mẫu tối thiểu 40g, cắt thành các mẫu có kích thước 1-1,5 cm) được khử trùng bề mặt bằng dung dịch natri hypoclorid 1% mới pha trong một phút. Sau đó rửa 3 lần bằng nước cất khử trùng. Để ráo nước và đặt nhanh vào các đĩa Petri đã có môi trường PDA bằng kẹp vô trùng (thực hiện trong tủ cấy vô trùng). Ủ ở nhiệt độ 25°C, sau 5-7 ngày tiến hành phân lập các chủng nấm nhiễm trên các mẫu dược liệu nghiên cứu.

Phương pháp phân loại nấm mốc: Phân loại các chủng nấm của các loài thuộc chi *Aspergillus* dựa trên mô tả đặc điểm khuẩn lạc, vi học, sinh hóa các loài của Samson và cộng sự 1995[7], Pitt và Hocking 2009[6].

Mức độ nhiễm các loài của chi: Được tính theo chỉ số có mặt hay tần suất xuất hiện (FQ - isolation frequency) và chỉ số có nhiều hay mật độ nấm (RD - relative fungal density). Trong đó, FQ (%) = số mẫu nghiên cứu có mặt loài/tổng số mẫu nghiên cứu x 100 và RD (%) = Số chủng của loài/tổng số chủng nấm của chi phân lập được x 100[4].

3. Kết quả và bàn luận

Độ ẩm của các mẫu Sơn tra nghiên cứu

Kết quả xác định hàm ẩm của 10 mẫu dược liệu sử dụng trong nghiên cứu được trình bày trong bảng 1. Các mẫu có hàm ẩm dao động từ 15,9-22,5 %. Tất cả 10/10 mẫu đều không đạt yêu cầu của DĐVN V về hàm ẩm (đều có hàm ẩm > 13%).

Bảng 1. Hàm ẩm của các mẫu Sơn tra nghiên cứu

TT	Mẫu	Hàm ẩm	TT	Mẫu	Hàm ẩm
1	10 LÔ	15,9	6	51A LÔ	22,5
2	30 LÔ	16,3	7	55 LÔ	19,4
3	32 LÔ	18,6	8	56 LÔ	17,4
4	33 LÔ	16,1	9	57 LÔ	18,5
5	36 LÔ	18,8	10	69A LÔ	18,9

(Ghi chú. LÔ: Phở Lãn Ông)

Mức độ nhiễm các loài của chi *Aspergillus* trên các mẫu quả Sơn tra nghiên cứu

Kết quả phân lập và phân loại các chủng nấm thuộc chi *Aspergillus* nhiễm trên 10 mẫu Sơn tra nghiên cứu được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Các loài và số lượng chủng của chi *Aspergillus* phân lập được từ 10 mẫu Sơn tra nghiên cứu

Chi & loài	10 LÔ	30 LÔ	32 LÔ	33 LÔ	36 LÔ	51A LÔ	55 LÔ	56 LÔ	57 LÔ	69A LÔ	Tổng	Tỷ lệ (%)
<i>Aspergillus</i>												
<i>A. niger</i>	3	34		23				26	3	5	94	61,8
<i>A. flavus</i>	1	4	3		2	1		2	3	1	17	11,
<i>A. parasiticus</i>		2		1	1	1		3	2	3	13	8,5
<i>A. fumigatus</i>	1		2	2		2	3				10	6,6
<i>A. aculeatus</i>	2		2		1		3	1	1		10	6,6
<i>A. tamarii</i>		2		1		1	1		1	2	8	5,3
Tổng	7	42	7	27	4	5	7	32	10	1	152	100 (%)

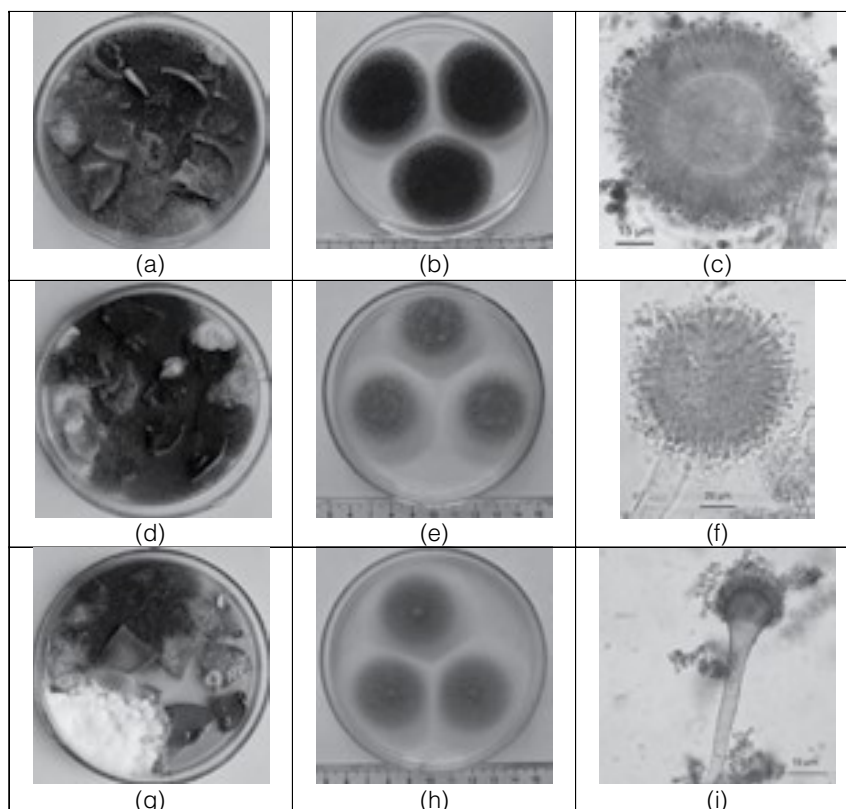
Kết quả thu được từ bảng 2 cho thấy: Từ 10 mẫu Sơn tra nghiên cứu đã phân lập được 152 chủng nấm thuộc 6 loài của chi *Aspergillus* Fr.: Fr.. Trong đó, loài *A. niger* van Tieghem chiếm tỷ lệ cao nhất về số chủng phân lập được, với chỉ số có nhiều RD = 61,8% (94/152) và chỉ số có mặt FQ = 60% (6/10) mẫu nghiên cứu. Đây là loài có khả năng sinh ochratoxin A, một độc tố gây hại thận^[3,5,6].

Xếp thứ 2 và 3 là 2 loài *A. flavus* Link, *A. parasiticus* Speare, có chỉ số RD lần lượt là 11,2% (17/152) và 8,5% (13/152); chỉ số FQ là 80% (8/10) và 70% (7/10), là 2 loài sinh aflatoxin chủ yếu, độc tố đã được tổ chức

nghiên cứu ung thư quốc tế (IARC) công nhận có khả năng gây ung thư ở người^[5].

Xếp vị trí thứ 4 về số chủng nhiễm là loài *A. fumigatus* Fres. (có khả năng sinh các độc tố gliotoxin, verrucologen, fumitoxins...), có chỉ số RD = 6,6% (10/152) và chỉ số có mặt FQ = 50% (có mặt 5/10 mẫu nghiên cứu). Với loài *A. fumigatus*, bên cạnh khả năng sinh độc tố còn có khả năng gây các bệnh nấm cơ hội cao ở người và động vật, cần phòng tránh trong quá trình phân lập, tiếp xúc, nhất là những người có cơ địa suy nhược hoặc suy giảm miễn dịch^[6].

Hình 1. Một số loài quan trọng của chi *Aspergillus* nhiễm trên dược liệu Sơn tra



- Loài *A. niger*. (a): Nhiễm trên dược liệu; (b), (c): Khuẩn lạc và đặc điểm vi học của loài;
- Loài *A. flavus*. (d): nhiễm trên dược liệu; (e), (f): khuẩn lạc và đặc điểm vi học của loài;
- Loài *A. fumigatus*. (g): Nhiễm trên dược liệu; (h), (i): khuẩn lạc và đặc điểm vi học của loài.

(Môi trường phân lập PDA; môi trường phân loại Czapek Dox, 25°C, 5 ngày nuôi)

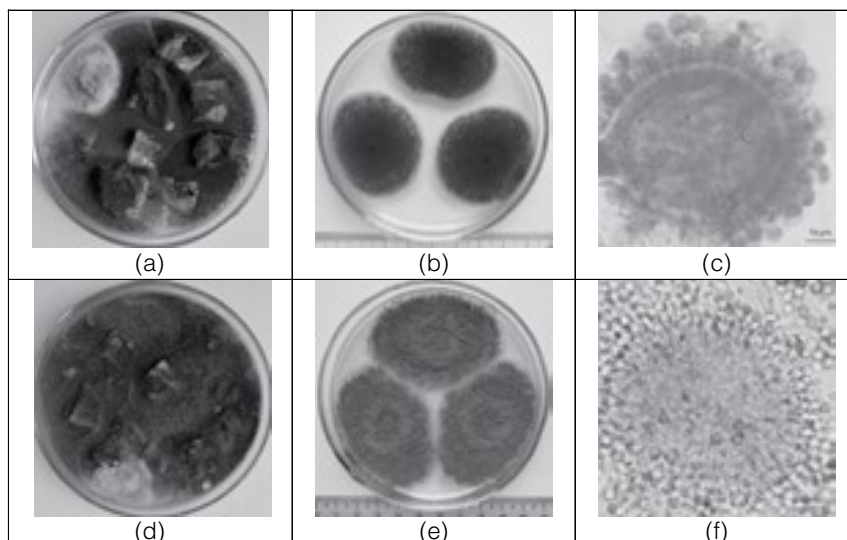
Bên cạnh 4 loài trên, hai loài *A. aculeatus* Lizuka và *A. tamarii* Kita cũng phân lập được, với các chỉ số RD và FQ lần lượt là 6,6% và 60%; 5,3% và 60%. Hai loài này cũng có khả năng sinh một số độc tố như ochratoxin A, acid cyclopiazonic, fumigaclavine [6,7].

Kết quả và bàn luận trên đây cho thấy các mẫu Sơn tra nghiên cứu đã bị nhiễm khá nhiều các loài nấm có khả năng sinh mycotoxin của chi *Aspergillus* Fr.: Fr.. Điều này có thể do dược liệu Sơn tra có thành phần dinh

dưỡng thích hợp gồm tinh bột, chất béo và chất đạm, tạo thuận lợi cho sự phát triển của các loài nấm bảo quản này [1,6,7].

Hàm ẩm của thảo dược cũng là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới sự phát triển của nấm mốc. Tất cả 10 mẫu Sơn tra đều có hàm ẩm lớn hơn 13% (15,9%-22,5%). Đây là hàm ẩm thuận lợi cho sự phát triển của nấm mốc nói chung, các loài của chi nấm bảo quản (storage fungi) *Aspergillus* nói riêng. Tuy nhiên, các mẫu thảo dược nghiên cứu không kiểm soát được nguồn gốc, quá trình thu hoạch, bảo quản, luân chuyển; các mẫu dược liệu có thể đã bị nhiễm nấm (trong, sau thu hoạch và bảo quản) trước khi được lưu hành ở các hiệu đông dược. Do vậy, đây là vấn đề cần được khuyến cáo với các nhà nuôi trồng, sản xuất và quản lý trong việc nâng cao chất lượng thảo dược, phải kiểm soát được xuất xứ cũng như quá trình luân chuyển và bảo quản các loại thảo dược, dược liệu.

Hình 2. Một số loài khác của chi *Aspergillus* nhiễm trên dược liệu Sơn tra



- Loài *A. aculeatus*. (a): Nhiễm trên dược liệu; (b), (c): Khuẩn lạc và đặc điểm vi học của loài;
- Loài *A. tamarii*. (d): nhiễm trên dược liệu; (e), (f): khuẩn lạc và đặc điểm vi học của loài;

(Môi trường phân lập PDA; môi trường phân loại Czapek Dox, 25°C, 5 ngày nuôi);

4. KẾT LUẬN

Khảo sát mức độ nhiễm nấm trên các mẫu Sơn tra cho thấy: 10 mẫu dược liệu nghiên cứu đã bị nhiễm khá đa dạng các loài của chi *Aspergillus*, bao gồm *A. niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. fumigatus*, *A. aculeatus* và *A. tamarii*, với tỷ lệ chủng phân lập được lần lượt là 61,8; 11,2; 8,5; 6,6; 6,6 và 5,3%. Kết quả này cho thấy,

nguồn thảo dược này dễ bị nhiễm các loài nấm sinh độc tố của chi *Aspergillus*, cần được lưu ý trong quá trình thu hoạch, bảo quản và sử dụng để đảm bảo an toàn cho người dùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Trần Trịnh Công và cộng sự, Phân lập và nghiên cứu khả năng sinh độc tố của một số nấm mốc trên một số vị thuốc đông dược của Việt Nam, Đề tài NCKH cấp Bộ Y tế, 2008, pp. 99-102.
- [2] Samina A, Mubbashir H, Bashir A, Natural occurrence of mycotoxins in medicinal plants: A review, Fungal genetics and biology 66, 2014, pp.1-10.

- [3] Ajay G, Shubhi A, Rekha B, Mycotoxins: the silent killers inside herbal drugs. A critical review of the literature, *Bio. Bulletin*, Vol. 2(1), 2016, pp.26-39.
- [4] HH González , EJ Martínez, A Pacin et al., Relationship between *Fusarium* and *Alternaria alternata* contamination and deoxynivalenol occurrence on Argentinian durum, *Mycopathologia*, Vol. 144, 1998, pp. 97-102.
- [5] IARC, Improving public health through mycotoxin control, WHO Press, 2012, pp. 1-23; 87-99.
- [6] Pitt JI, Hocking AD, *Fungi and Food Spoilage*, Springer Science + Business, 2009, pp. 274-337.
- [7] Robert AS, *Introduction to food-borne fungi*, Fourth edition, CBS Press, 1995, pp. 52-83.
- [8] Bộ Y tế, *Dược điển Việt Nam V, Tập 2, Phụ lục 9.6*, Nhà xuất bản Y học, trang PL-203 - PL-204, 2017.

