

ẢNH HƯỞNG CỦA CƯỜNG ĐỘ ÁNH SÁNG ĐẾN NỒNG ĐỘ CHLOROPHYLL VÀ POLYPHENOL TRONG LÁ CỦA GIỐNG LÚA *IR50404*

Đặng Chí Thiện^{1,4,*}, Nguyễn Phú Thọ^{2,3}, Nguyễn Thị Tố Uyên⁵,

Nguyễn Thị Tố Uyên¹, Bùi Nhi Bình¹, Nguyễn Hoàng Tính¹,

Huỳnh Ngọc Thanh Tâm⁴, Nguyễn Hữu Thanh^{2,3}

TÓM TẮT

Cường độ ánh sáng được cho là có tác động đến sự tích lũy của các hợp chất có hoạt tính sinh học trong lá lúa như polyphenol và chlorophyll qua các giai đoạn sinh trưởng. Kết quả nghiên cứu cho thấy, lá lúa ở giai đoạn 3 tuần tuổi được gieo trồng trong điều kiện ánh sáng S1 (cường độ ánh sáng trung bình 22.686 Lux, tương ứng với độ che phủ khoảng 60% cường độ ánh sáng) có sự tích lũy chlorophyll cao nhất, đạt 1.357,49 µg/g lá lúa tươi. Trong khi đó, lúa được gieo trồng trong điều kiện chiếu sáng tự nhiên Tn (cường độ ánh sáng trung bình 60.791 Lux) cho hàm lượng polyphenol cao nhất (6,88 mg/g lá lúa tươi) ở thời điểm sau gieo 5 tuần tuổi. Song song đó, kết quả phân tích hoạt tính chống oxy hóa thông qua hoạt động bắt gốc tự do DPPH cho thấy giống lúa *IR50404* được gieo trồng ở điều kiện ánh sáng S1 có hoạt tính DPPH cao hơn ($p < 0,05$) so với điều kiện ánh sáng S2 (cường độ trung bình 6.072 Lux, tương ứng với độ che phủ 90% cường độ ánh sáng) và điều kiện chiếu sáng Tn. Kết quả nghiên cứu chứng minh rằng cường độ ánh sáng khác nhau có ảnh hưởng đến sự tích lũy các hợp chất có hoạt tính sinh học trong lá lúa như chlorophyll a, b và polyphenol ở giống lúa *IR50404* ở các giai đoạn sinh trưởng. Hơn nữa, các hợp chất sinh học thực vật này có thể đóng vai trò quan trọng như các chất chính trong hoạt động chống oxy hóa của lá lúa.

Từ khóa: *Chlorophyll, chống oxy hóa, lá lúa, polyphenol.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa là một trong những loại cây lương thực chính được trồng phổ biến ở Việt Nam [1]. Từ trước đến nay, trồng lúa để thu hoạch hạt cho lương thực hoặc sử dụng sinh khối cho chăn nuôi rất ít sử dụng lá lúa như nguồn nguyên liệu sản xuất các hoạt chất sinh học. Trong khi đó, lá lúa ở giai đoạn làm đồng chứa nhiều chất dinh dưỡng cần thiết cho cơ thể như chlorophyll và các hợp chất phenols, chúng giúp hỗ trợ tiêu hóa và tăng cường miễn dịch cho cơ thể người sử dụng [2, 3]. Việc sử dụng sinh khối lá lúa để sản xuất các hoạt chất sinh học sẽ mở ra giải pháp nâng cao giá trị từ cây lúa.

Lá lúa có hàm lượng chlorophyll cao hơn so với một số loại rau khác [4, 5, 6]. Chlorophyll a và các dẫn xuất của nó như pheophorbide b và pheophytin b

hiện diện trong thực phẩm đóng vai trò quan trọng trong phòng chống ung thư bởi hoạt tính chống oxy hóa và chống đột biến hay giữ các tác nhân gây đột biến [7]. Các chất dẫn xuất của chlorophyll a đã cho thấy, có khả năng bắt gốc tự do hiệu quả hơn so với các dẫn xuất của chlorophyll b và chế độ ăn uống bổ sung chlorophyll có tác dụng chống oxy hóa và hoạt động chống gây đột biến (antimutagenic) ở người [8].

Polyphenol có nguồn gốc tự nhiên và tồn tại trong thực vật được chứng minh là có khả năng chống oxy hóa vô cùng hiệu quả [9]. Khả năng chống oxy hóa của các polyphenol đã thu hút sự quan tâm đặc biệt của các nhà khoa học. Các hợp chất phenols trong lá lúa có thể đóng vai trò quan trọng trong các hoạt động chống oxy hóa [10, 11]. Khả năng chống oxy hóa phụ thuộc vào sự hiện diện của các hợp chất phenolic với số lượng và vị trí của các nhóm hydroxyl gắn vào cấu trúc vòng của phân tử phenolic [12].

Trong quá trình hình thành và phát triển của lá, những thay đổi trong quá trình chuyển hóa của các mô thực vật xảy ra, cây tăng trưởng và phát triển thông qua sản xuất và tích lũy các hợp chất có hoạt

¹ Trung tâm Ứng dụng tiến bộ Khoa học và Công nghệ Cần Thơ

* Email: thienM0520017@gstudent.ctu.edu.vn

² Trường Đại học An Giang

³ Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

⁴ Viện Nghiên cứu & Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

⁵ Trường Cao đẳng Y tế Đồng Tháp

tính sinh học. Quá trình sản xuất và hàm lượng của các hợp chất sinh học này cũng thay đổi trong suốt quá trình phát triển của lá [13]. Sự sản xuất và tích lũy các hợp chất có hoạt tính sinh học cũng thay đổi trong suốt quá trình phát triển của lá. Hàm lượng chlorophyll, polyphenol bị ảnh hưởng bởi sự trưởng thành của cây và trong lá non có chứa lượng lớn hợp chất polyphenol cao hơn lá trưởng thành và lá già [14].

Điều kiện ánh sáng ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng, thành phần và số lượng của các hợp chất có trong thực vật [15]. Hàm lượng chlorophyll luôn cao hơn ở những cây trồng sống trong điều kiện ít ánh sáng so với điều kiện nhiều ánh sáng [16]. Thực vật phát triển trong bóng râm, chất diệp lục tăng và hấp thụ ánh sáng trong lục lạp để tối đa hóa ánh sáng hấp thụ [17]. Cường độ ánh sáng khác nhau cũng có ảnh hưởng đến sự tích lũy các chất chuyển hóa thứ cấp như flavonoid và các hợp chất phenolic cũng như các hoạt động chống oxy hóa của chúng [18]. Tuy nhiên, các loại thực vật khác nhau có phản ứng khác nhau đối với sự thay đổi cường độ ánh sáng và tạo ra các hợp chất flavonoid; polyphenol khác nhau [19, 20].

Khai thác các hợp chất có ích cho sức khỏe từ lá lúa sẽ làm tăng giá trị cho quá trình sản xuất lúa, tạo ra hướng đi mới làm tăng giá trị của cây lúa được trồng ở Việt Nam. Chính vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá ảnh hưởng của giai đoạn sinh trưởng và cường độ chiếu ánh sáng tới sự tích lũy hàm lượng chlorophyll và polyphenol trong lá lúa giống *IR50404* nhằm xác định điều kiện trồng và thời điểm thu hoạch lá thích hợp.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên giống lúa *IR50404*, là giống lúa phổ biến nhất được trồng ở đồng bằng sông Cửu Long.

Đất trồng thí nghiệm được thu thập là loại đất phù sa được lấy từ bề mặt (có độ sâu từ 0 - 20 cm) tại các ruộng lúa (xã Mỹ Khánh, huyện Phong Điền, thành phố Cần Thơ), có độ phì đồng đều, trên địa hình bằng phẳng và có khả năng giữ nước tốt.

Các hóa chất được sử dụng trong thí nghiệm: Ethanol 96% (v/v) (Việt Nam), thuốc thử Folin - Ciocalteu (Merck, Germany), Na_2CO_3 (China), axit Gallic (Sigma - Aldrich, USA), Trolox (Sigma-

Aldrich, USA), 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) (TCL, Japan).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Hạt của giống lúa *IR50404* được xử lý bằng nước ấm (50 - 55°C). Tiến hành ngâm hạt trong 24 giờ và ủ chúng trong 36 giờ tiếp theo trước khi gieo hạt.

Hạt được gieo trên các chậu nhựa đã bổ sung đất phù sa để trồng, gieo xạ hạt với tỷ lệ là 50 hạt cho mỗi chậu trồng (khoảng 400 hạt/m²).

Bón phân: tiến hành tưới phân đạm cho mạ lúa khi cây được 7 ngày tuổi cho mỗi chậu trồng với liều lượng (1 - 2 g urea pha trong 5 lít nước/m²) và bón phân NPK bổ sung dinh dưỡng cho mạ lúa khi cây được 14 ngày tuổi và 28 ngày tuổi cho mỗi chậu trồng với liều lượng (0,5 - 1 g NPK/m²).

2.2.2. Phương pháp thực hiện thay đổi cường độ ánh sáng

Để tạo ra sự thay đổi cường độ ánh sáng, lúa được gieo trồng ở các điều kiện che phủ ánh sáng khác nhau sử dụng lưới cắt nắng do Công ty Cổ phần lưới Thái Việt sản xuất. Điều kiện hạn chế ánh sáng có các mức độ không che phủ (Tn), che phủ một lớp lưới (S1) và che phủ hai lớp lưới (S2).

Tiến hành thu hoạch lá lúa theo thời gian hàng tuần. Lá được chọn ngẫu nhiên từ 3 - 5 cây để thu thập mẫu tùy thuộc vào giai đoạn sinh trưởng của cây. Sử dụng hết toàn bộ lá của cây. Thu mẫu tại thời điểm sáng sớm và tiến hành nghiên cứu ngay sau đó để thu dịch trích lá lúa.

Hàm lượng chlorophyll, polyphenol và khả năng khử gốc tự do DPPH trong lúa được phân tích trong lá lúa được trồng ở 3 điều kiện như mô tả ở trên và ở các giai đoạn thời gian sinh trưởng 1, 2, 3, 4, 5 và 6 tuần sau khi hạt nảy mầm.

2.2.3. Phương pháp ly trích dịch lá lúa

Cân 1 gram lá lúa, nghiền và trích ly bằng 10 mL ethanol 60% (v/v), ly tâm 6.000 vòng/phút thu lấy dịch chiết. Tiếp tục cô quay đuổi ethanol và định mức về thể tích ban đầu.

2.2.4. Phân tích hàm lượng chlorophyll bằng phương pháp đo quang phổ

Hàm lượng chlorophyll được phân tích theo mô tả của Rajalakshmi và Banu (2014) [21] có hiệu chỉnh. Một gram lá tươi được cắt nhỏ và nghiền với

40 mL ethanol 80%. Sau đó, ly tâm với tốc độ 6.000 vòng/phút trong 5 phút. Phần chất nổi trên mặt được chuyển đi và quy trình được lặp lại cho đến khi phần cặn lắng bị mất màu. Chlorophyll có phổ hấp thụ ánh sáng đồ cực đại ở bước sóng 645 nm và 663 nm so với mẫu trắng chứa dung môi ethanol. Độ hấp thụ ở bước sóng này biểu thị cho cường độ của sắc tố hay lượng chlorophyll có trong dung dịch. Dựa vào tính chất này người ta đo các giá trị hấp thụ và định lượng chlorophyll.

Công thức tính lượng chlorophyll như sau:

$$+ \text{Lượng Chlorophyll tổng } (\mu\text{g/mL}) = 20,2(A_{645}) + 8,02(A_{663}).$$

$$+ \text{Lượng Chlorophyll a } (\mu\text{g/mL}) = 12,7(A_{663}) - 2,69(A_{645}).$$

$$+ \text{Lượng Chlorophyll b } (\mu\text{g/mL}) = 22,9(A_{645}) - 4,68(A_{663}).$$

2.2.5. Phân tích hàm lượng polyphenol tổng số

Hàm lượng polyphenol tổng của lá lúa được đo bằng phương pháp Folin - Ciocalteu đã được Tan và Kassim (2011) [22] điều chỉnh. Dịch chiết lúa 0,5 mL được cho vào bình định mức, sau đó thêm 5 mL thuốc thử Folin - Ciocalteu 10% và để ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Sau đó, 4 mL sodium carbonate 1M (Na_2CO_3) được thêm vào và điều chỉnh thể tích cuối cùng thành 10 mL, giữ dung dịch trong bóng tối trong 90 phút. Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 750 nm. Hàm lượng polyphenol được tính dựa vào đường chuẩn của axit gallic ở dãy nồng độ từ 10 -100 $\mu\text{g/mL}$ và được biểu thị bằng miligam tương đương axit gallic/g lá lúa.

2.2.6. Phân tích khả năng khử gốc tự do DPPH

Hoạt tính khử gốc tự do DPPH được xác định theo mô tả của Binsan và cs (2008) [23] có hiệu chỉnh. Thêm 1,5 mL DPPH 0,15 mM trong ethanol 95% vào trong 1,5 mL dịch chiết lá lúa. Hỗn hợp được trộn đều và để yên trong 30 phút ở nhiệt độ phòng trong bóng tối. Độ hấp thụ của dung dịch thu được đo ở bước sóng 517 nm bằng máy đo quang phổ. Hoạt tính DPPH được tính dựa vào đường chuẩn Trolox ở dãy nồng độ từ 10 - 60 μM và được biểu thị bằng μmol Trolox tương đương (TE)/g [24].

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Phần mềm Microsoft Excel 2016 được sử dụng để xử lý số liệu thô. Phần mềm STATGRAPHICS Centurion XVI được dùng để phân tích phương sai

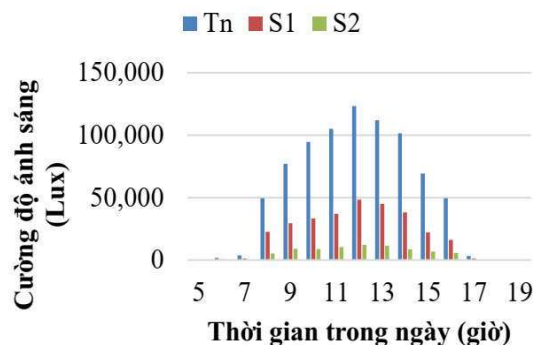
(ANOVA) và kiểm định Duncan các trung bình nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của các điều kiện che sáng tới cường độ ánh sáng của nơi trồng lúa thực nghiệm

Để tạo ra sự thay đổi cường độ chiếu sáng, nghiên cứu đã thực hiện che lưới để giảm cường độ ánh sáng. Các điều kiện khảo sát bao gồm không che lưới (Tn), che một lớp lưới (S1) và che hai lớp lưới (S2). Thời gian đo được cường độ ánh sáng với 3 điều kiện che sáng khác nhau bắt đầu từ thời điểm 6 giờ sáng và kết thúc lúc 18 giờ tối. Cường độ ánh sáng tăng mạnh vào buổi sáng và đạt cực đại từ 11 giờ đến 13 giờ, sau đó bắt đầu giảm dần cường độ chiếu sáng đến cuối ngày.

Kết quả cho thấy, sự thay đổi cường độ ánh sáng ở các mốc thời gian trong ngày minh chứng cho việc che lưới làm giảm cường độ ánh sáng so với không che lưới (Hình 1). Nhìn chung, ở điều kiện Tn cường độ ánh sáng trong ngày từ thời điểm 8 giờ đến 16 giờ dao động từ 49.369-123.207 Lux. Tuy nhiên, khi che sáng với các điều kiện S1 và S2, cường độ ánh sáng đo được tương ứng các mốc thời gian này lần lượt dao động từ 16.178-48.447 Lux và 5.738-12.151 Lux.



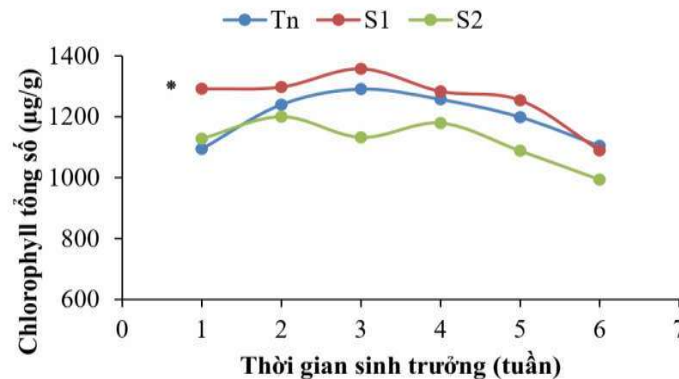
Hình 1. Thay đổi cường độ ánh sáng ở các điều kiện che sáng khác nhau. Tn: Không che sáng, S1: Che sáng một lớp lưới, S2: Che sáng hai lớp lưới

Dựa trên sự thay đổi cường độ chiếu sáng ở các điều kiện che phủ khác nhau, nghiên cứu thiết lập cơ sở cho việc đánh giá ảnh hưởng của giai đoạn sinh trưởng và cường độ chiếu sáng lên sự tích lũy các hợp chất sinh học có ích trong lúa non. Phân tích cho thấy điều kiện Tn có cường độ ánh sáng trung bình là 60.791 Lux. Trong khi đó, giá trị này ở điều kiện S1 và S2 lần lượt là 22.686 Lux và 6.072 Lux. Như vậy, so với điều kiện Tn thì điều kiện che sáng S1 làm giảm khoảng 60% cường độ ánh sáng và giá trị này ở điều

kiện che sáng S2 là 90%. Điều này phù hợp với công bố của nhà sản xuất lưới, khả năng hạn chế ánh sáng của lưới che khi đo được cường độ ánh sáng thể hiện qua các thông số biểu diễn trong đồ thị của hình 1. Ngoài ra, khả năng tích lũy chlorophyll trong lá được cho là chịu ảnh hưởng của giai đoạn sinh trưởng và cường độ chiếu sáng lên thực vật, đặc biệt trên cây lúa sẽ được trình bày ở phần tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến sự tích lũy chlorophyll trong lá của giống lúa IR50404

Chlorophyll đóng vai trò quan trọng trong sự trao đổi chất của cây lúa. Hàm lượng chlorophyll trong lá lúa có thể thay đổi khác nhau tùy thuộc vào mùa vụ và giai đoạn sinh trưởng [25]. Kết quả nghiên cứu của Muhidin và cs (2018) [26] cho thấy, sự tương tác của các điều kiện bóng râm và giống cây trồng ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng của chlorophyll tổng số, chlorophyll a và chlorophyll b có trong lá. Bóng râm có thể làm tăng hàm lượng chlorophyll trong số các cây trồng được thử nghiệm.



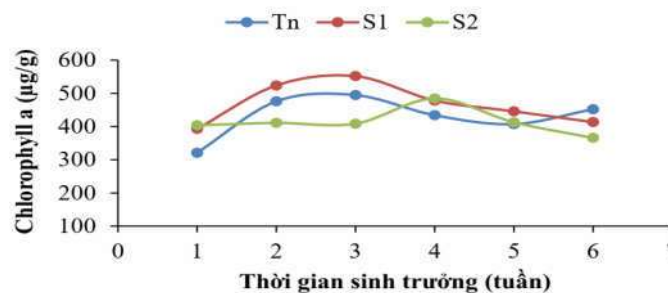
Hình 2. Thay đổi hàm lượng chlorophyll tổng số trong lá lúa theo thời gian sinh trưởng.

Ghi chú: Tn: Không che sáng, S1: Che sáng 60%, S2: Che sáng 90%. * Trung bình hàm lượng chlorophyll trong cây lúa được trồng ở điều kiện S1 khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các điều kiện Tn và S2.

Hình 2 cho thấy, lá lúa trồng từ các điều kiện không che sáng (Tn) và che sáng S1 có hàm lượng chlorophyll tổng số tăng dần từ tuần thứ nhất, đạt cao nhất ở tuần thứ ba với các giá trị tương ứng là 1.290,92 µg/g và 1.357,49 µg/g lá lúa tươi. Tuy nhiên, khi thời gian sinh trưởng tăng thì hàm lượng chlorophyll lại giảm. Cụ thể, ở tuần thứ năm và thứ sáu sau khi hạt nảy mầm tương ứng giai đoạn làm đồng, hàm lượng chlorophyll tổng trong lá lúa dao động khoảng 1.100 - 1.250 µg/g lá lúa tươi. Ở điều kiện che sáng S2, hàm lượng chlorophyll tổng cũng tăng ở tuần thứ nhất (1.128,15 µg/g lá lúa tươi) và

thay đổi không đáng kể ở giai đoạn 2 đến 4 tuần tuổi (dao động trong khoảng 1.200 µg/g lá lúa tươi). Đến tuần thứ 6, hàm lượng chlorophyll giảm còn 993,34 µg/g lá lúa tươi.

So sánh ảnh hưởng của mức độ che sáng lên hàm lượng chlorophyll, kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng chlorophyll tổng trong lá lúa ở điều kiện che sáng S1 cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các điều kiện còn lại. Tuy nhiên, khi cường độ ánh sáng quá thấp thì hàm lượng chlorophyll trong lá lúa cũng thấp tương ứng ở lá lúa được trồng trong điều kiện che sáng S2 (Hình 2).



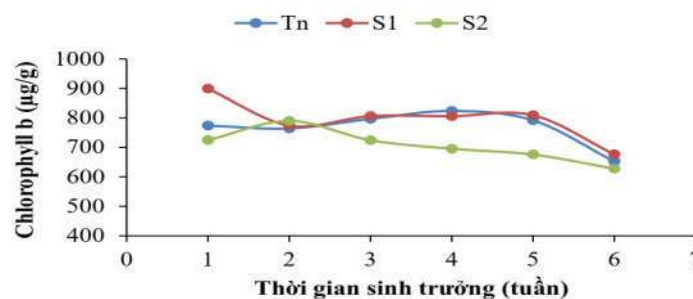
Hình 3. Thay đổi hàm lượng chlorophyll a trong lá lúa theo thời gian sinh trưởng.

Ghi chú: Tn: Không che sáng, S1: Che sáng 60%, S2: Che sáng 90%.

Song song với phân tích hàm lượng chlorophyll tổng, hàm lượng chlorophyll a và chlorophyll b cũng được đánh giá dưới sự tác động của cường độ ánh sáng. Kết quả cho thấy khi giống lúa *IR50404* được trồng trong điều kiện có mức độ che phủ ánh sáng khác nhau cũng ảnh hưởng đến hai thành phần này trong lá ở các giai đoạn sinh trưởng. Ở điều kiện không che sáng và che sáng S1, hàm lượng chlorophyll a tăng ở ba tuần đầu của giai đoạn sinh trưởng và bắt đầu giảm từ tuần thứ 4 (Hình 3). Trái lại, ở điều kiện che sáng S2, hàm lượng chlorophyll a thay đổi không đáng kể ở ba tuần đầu và đạt cao nhất

ở tuần thứ tư (448,40 $\mu\text{g/g}$), sau đó giảm ở tuần thứ 5 và 6 (Hình 3).

Tương tự như chlorophyll a, hàm lượng chlorophyll b cũng có sự thay đổi tăng giảm khác nhau theo thời gian sinh trưởng và mức độ che sáng. Ở điều kiện không che sáng và che sáng S1, hàm lượng chlorophyll b thay đổi không đáng kể trong giai đoạn 2 đến 5 tuần tuổi. Tuy nhiên, chlorophyll b lại có xu hướng giảm mạnh ở tuần thứ 6 (Hình 4). Với điều kiện che sáng S2, chlorophyll b tăng lên ở tuần thứ 2 và giảm đều ở các tuần tiếp theo của giai đoạn sinh trưởng (Hình 4).



Hình 4. Thay đổi hàm lượng chlorophyll b trong lá lúa theo thời gian sinh trưởng.

Ghi chú: Tn: Không che sáng, S1: Che sáng 60%, S2: Che sáng 90%.

Sự gia tăng hàm lượng của chlorophyll xảy ra do quá trình sinh tổng hợp các sắc tố quang hợp ở cây lúa, điều cần thiết trong việc hình thành hệ thống quang học (photosystems) để cung cấp thêm năng lượng cho sự phát triển của cây. Chlorophyll là một chỉ số thể hiện khả năng quang hợp, liên quan trực tiếp đến quá trình tăng trưởng của cây [27]. Quá trình sinh trưởng diễn ra mạnh mẽ ở giai đoạn 3 tuần đầu tiên đã giúp cây lúa tích lũy được chlorophyll với hàm lượng lớn nhất có thể. Vì vậy, từ tuần tuổi thứ 4 trở đi, quá trình quang hợp diễn ra chậm lại dẫn đến hàm lượng chlorophyll trong lá có xu hướng giảm theo. Tương tự kết quả trên, nghiên cứu của Rattanpon và cs (2017) [28] đã khảo sát các hoạt chất sinh học và hoạt tính chống oxy hóa của cây mạ lúa theo từng giai đoạn sinh trưởng. Kết quả cho thấy lúa non ở 21 ngày tuổi có hàm lượng chlorophyll và carotenoid đạt giá trị cao nhất so với giai đoạn 7 và 14 ngày tuổi.

Ở thực vật bậc cao, chlorophyll a là sắc tố chính tham gia vào quá trình quang hợp, trong khi chlorophyll b là sắc tố phụ làm nhiệm vụ góp năng lượng cho chlorophyll a quang hợp [29]. Do đó

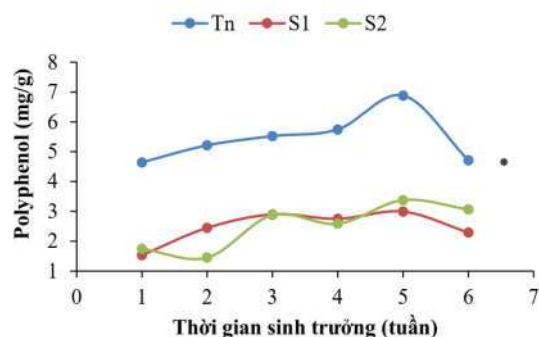
quang hợp mạnh hay yếu phụ thuộc nhiều vào chlorophyll a. Sự hoạt động của chlorophyll b reductase tạo phản ứng chuyển hóa chlorophyll b thành chlorophyll a. Do hoạt động của enzyme này trong quá trình phát triển của cây đã dẫn đến sự khác biệt về hàm lượng và tỷ lệ chlorophyll thu nhận được. Nghiên cứu hiện tại cho thấy có sự thay đổi trong hàm lượng chlorophyll a và chlorophyll b theo thời gian sinh trưởng và mức độ che sáng. Rất có thể những thay đổi này có liên quan đến hoạt động của chlorophyll b reductase [30].

Sự gia tăng hàm lượng chlorophyll là một trong những đặc tính của thực vật để thích nghi với điều kiện cường độ ánh sáng thấp. Số lượng lục lạp trong tế bào nhu mô lá được gia tăng giúp cây lúa hoàn thành chức năng quang hợp, duy trì sự sống, thích nghi với điều kiện của môi trường. Điều này cho thấy sắc tố quang hợp (chlorophyll) trong lá được tăng cường, giúp cây thích nghi với điều kiện bóng râm. Kết quả nghiên cứu hiện tại cho thấy việc che sáng vừa phải làm tăng hàm lượng chlorophyll ở cây lúa non. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Makino và cs (1997) [16], hàm lượng chlorophyll

luôn cao hơn ở những cây trồng sống trong điều kiện ít ánh sáng so với điều kiện nhiều ánh sáng. Thực vật phát triển trong bóng râm, chất diệp lục tăng và hấp thụ ánh sáng trong lục lạp để tối đa hóa ánh sáng hấp thụ [17]. Một kết quả nghiên cứu khác cho thấy hàm lượng chlorophyll cao hơn đáng kể trong lá lúa (*Oryza sativa* L. cv IR 72) được trồng trong điều kiện ánh sáng yếu của Resurreccion và cs (2002) [31]. Sự gia tăng đáng kể hàm lượng chlorophyll và các hợp chất carotenoids khi lúa được xử lý che sáng từ 15 ngày sau khi gieo cho đến khi thu hoạch [32]. Cường độ ánh sáng và thời gian sinh trưởng không chỉ ảnh hưởng lên sự hình thành chlorophyll mà còn ảnh hưởng lên hàm lượng polyphenols tích lũy ở thực vật.

3.3. Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến sự tích lũy polyphenol trong lá của giống lúa IR50404

Lúa được trồng trong 3 điều kiện che sáng khác nhau và được thu hoạch lá để phân tích polyphenol mỗi tuần. Kết quả được thể hiện trong hình 5.



Hình 5. Thay đổi hàm lượng polyphenol trong lúa non theo thời gian sinh trưởng.

Ghi chú: Tn: Không che sáng, S1: Che sáng 60%, S2: Che sáng 90%. * Trung bình hàm lượng polyphenol trong lúa non được trồng ở điều kiện Tn khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các điều kiện S1 và S2.

Hình 5 cho thấy, hàm lượng polyphenol tổng trong lá lúa cũng có sự thay đổi theo thời gian tăng trưởng. Ở tất cả các điều kiện được khảo sát hàm lượng polyphenol tổng tăng dần từ tuần thứ nhất, đạt cao nhất ở tuần thứ năm và sau đó giảm ở tuần thứ sáu. Điều kiện che sáng có ảnh hưởng mạnh đến hàm lượng polyphenols tích lũy. Hàm lượng polyphenol tổng ở lá lúa IR50404 được trồng trong điều kiện không che sáng cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các điều kiện che sáng S1 và S2. Ở điều kiện không che sáng, hàm

lượng polyphenol đạt 4,65 - 6,88 mg/g. Trong khi đó, giá trị này ở các điều kiện che sáng S1 và S2 chỉ khoảng 1,53 - 3,38 mg/g.

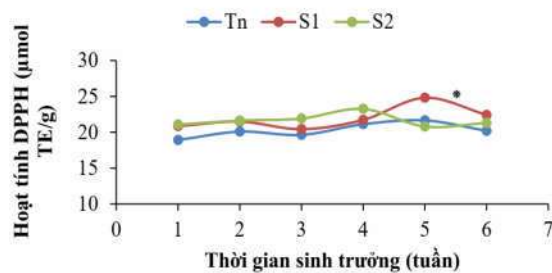
Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng polyphenols tích lũy ở lá lúa tăng nhanh trong giai đoạn đầu quá trình phát triển của cây lúa khi lá lúa còn non. Do lá cây cần một số hợp chất để bảo vệ chính nó khỏi stress môi trường, vi sinh vật hay côn trùng tấn công [33]. Tuy nhiên, đến tuần thứ sáu thì hàm lượng polyphenols tổng lại giảm. Hàm lượng polyphenol tổng bị giảm có thể do hoạt động của polyphenol oxidase gia tăng trong quá trình phát triển của lá lúa và lúc này lá lúa cứng hơn nên khả năng bảo vệ chúng khỏi sự tấn công côn trùng cũng cao hơn.

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy, mức độ che sáng có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng polyphenols tổng tích lũy trong lá lúa và hàm lượng này cũng thay đổi theo thời gian sinh trưởng của cây. Sự tích lũy polyphenols trong lá lúa khi được trồng ở điều kiện tự nhiên không che sáng cao hơn các điều kiện che sáng. Điều này cho thấy ánh sáng có cường độ cao góp phần thúc đẩy sự tổng hợp của polyphenols ở giống lúa IR50404 trong 5 tuần đầu của quá trình phát triển ở giống lúa này. Các hợp chất phenols được tổng hợp nhiều khi quá trình phát triển của cây được hấp thụ nhiều ánh sáng có cường độ cao. Ánh sáng làm tăng sự hoạt hóa của enzyme phân giải amino phenylalanine trong con đường tổng hợp axit phenolic [34]. Ngoài chlorophyll và polyphenols, khả năng chống oxy hóa cũng được cho là bị ảnh hưởng bởi giai đoạn sinh trưởng và cường độ chiếu sáng lên ở thực vật nhất là lúa.

3.4. Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến khả năng chống oxy hóa ở lá của giống lúa IR50404

Lá lúa được trồng trong 3 điều kiện che sáng khác nhau được thu hoạch mỗi tuần sau khi lúa nảy mầm và được phân tích khả năng chống oxy hóa của nó. Khả năng này được tính thông qua bởi hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của dịch trích từ lá lúa. Kết quả phân tích cho thấy mức độ che phủ ánh sáng có ảnh hưởng đến tính chất chống oxy hóa ở lá của giống lúa IR50404 qua các tuần lấy mẫu (Hình 6). Ở điều kiện không che sáng và che sáng S1, hoạt tính DPPH tăng dần từ tuần 1, đạt cao nhất ở tuần 5 và sau đó giảm ở tuần 6. Tuy nhiên, ở điều kiện che sáng S2, hoạt tính DPPH cao hơn lá lúa trồng trong 2 điều kiện còn lại ở tuần 2 đến tuần 4 và đạt cao nhất ở

tuần 4 và bắt đầu giảm ở tuần 5 của thời gian sinh trưởng.



Hình 6. Thay đổi hoạt tính DPPH trong lá lúa theo thời gian sinh trưởng.

Ghi chú: Tn: Không che sáng, S1: Che sáng 60%, S2: Che sáng 90%. * Trung bình hoạt tính

DPPH trong lá lúa được trồng ở điều kiện S1 khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các điều kiện Tn và S2.

Hình 6 cho thấy, lúa trồng trong điều kiện che sáng S1 có hoạt tính DPPH cao hơn ($p < 0,05$) so với điều kiện không che sáng và che sáng S2. Hoạt tính DPPH trong lá lúa được gieo trồng ở điều kiện che sáng S1 đạt cao nhất là 24,81 $\mu\text{mol TE/g}$ ở tuần 5 sau khi hạt nảy mầm.

Zhang và cs (2015) [35] đã giải thích rằng trong quá trình cây con phát triển, hàm lượng polyphenol và chlorophyll tăng lên thì hoạt động chống oxy hóa cũng được cải thiện. Nhiều nghiên cứu cũng chỉ ra rằng polyphenols và chlorophyll có khả năng bắt gốc tự do bằng cách cho nguyên tử hydro hoặc electron phản ứng với các gốc tự do để chuyển chúng thành các sản phẩm ổn định hơn [36]. Vì vậy, khả năng chống oxy hóa của lá lúa *IR50404* bị ảnh hưởng rất lớn bởi các hợp chất phenols được hình thành trong quá trình phát triển của cây.

Nhiều nghiên cứu đã công bố về khả năng chống oxy hóa của polyphenols và chlorophyll ở thực vật. Nghiên cứu của Zujko và Witkowska (2011) [37] cho thấy, tiềm năng chống oxy hóa của thực phẩm có liên quan đến hàm lượng polyphenol tổng. Tương tự, chlorophyll cũng được coi là chất chống oxy hóa quan trọng trong thực phẩm chức năng nhất là các loại nước uống detox. Hoạt động chống oxy hóa và các hoạt động bắt gốc tự do DPPH của chlorophyll cũng đã được công bố bởi Hsu và cs (2013) [38]. Các kết quả này cho thấy, có sự liên quan giữa hàm lượng polyphenol, chlorophyll và hoạt tính chống oxy hóa.

Đánh giá tương quan giữa hoạt tính bắt gốc tự do DPPH và sự tích lũy chlorophyll và polyphenols ở các giai đoạn sinh trưởng và che sáng khác nhau của lá lúa, có thể thấy rằng mặt dù lúa được trồng trong điều kiện không che sáng, lá lúa tích lũy polyphenol nhiều hơn nhưng hoạt tính DPPH thấp hơn so với điều kiện che sáng S1. Trong khi đó, điều kiện che sáng S1 có sự tích lũy nhiều chlorophyll hơn. Kết quả này chứng minh rằng chlorophyll chính là chất chính cho đặc tính bắt gốc tự do DPPH ở lá lúa *IR50404*. Hoạt tính DPPH được xác định cao nhất ở tuần thứ 5 của quá trình sinh trưởng, tương ứng với thời điểm có sự tích lũy polyphenol nhiều nhất.

4. KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng cường độ ánh sáng thông qua điều kiện che sáng có ảnh hưởng đáng kể đến sự tích lũy của các hợp chất sinh học có ích như chlorophyll, polyphenol, cũng như tính chất chống oxy hóa trên lá lúa *IR50404*. Lá lúa ở giai đoạn 3 tuần tuổi được gieo trồng trong điều kiện che phủ ánh sáng với một lớp lưới có sự tích lũy chlorophyll cao nhất, đạt 1.357,49 $\mu\text{g/g}$ lá lúa tươi. Trong khi đó, lá lúa thu từ cây lúa được gieo trồng trong điều kiện chiếu sáng tự nhiên ở thời gian sinh trưởng 5 tuần tuổi có hàm lượng polyphenol cao nhất là 6,88 mg/g .

LỜI CẢM ƠN

Sở Khoa học và Công nghệ thành phố Cần Thơ đã tài trợ cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ho, T. L., Nguyen, T. T. C., Vu, D. C., Nguyen, N. Y., Nguyen, T. T. T., Phong, T. N. H., Nguyen, C. T., Lin, C.-H., Lei, Z., Sumner, L. W., & Le, V. V. (2020). Allelopathic Potential of Rice and Identification of Published Allelochemicals by Cloud-Based *Metabolomics* Platform. *Metabolites*, 10 (6), 244. <https://doi.org/10.3390/metabo10060244>.
2. Brandon Yeo, P. H., Bhavé, M., & Hwang, S. S. (2019). Potential Protective Effects of Rice Seedling Extracts of a Malaysian Rice Variety, Biris, Against Doxorubicin-Induced Cytotoxicity. *Tropical Life Sciences Research*, 30(2), 71–90. <https://doi.org/10.21315/tlsr2019.30.2.6>.
3. Khanthapok, P., Muangprom, A., & Sukrong, S. (2015). Antioxidant activity and DNA protective properties of rice grass juices. *ScienceAsia*, 41(2),

119. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2015.41.119>
4. Benincasa, P., Falcinelli, B., Lutts, S., Stagnari, F., & Galieni, A. (2019). Sprouted Grains: A Comprehensive Review. *Nutrients*, 11(2), 421. <https://doi.org/10.3390/nu11020421>.
5. Chomchan, R., Siripongvutikorn, Asst. Prof. Dr. S., Puttarak, Dr. P., & Rattanapon, Ms. R. (2016). Investigation of Phytochemical Constituents, Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Ricegrass Juice compared to Wheatgrass Juice. *Functional Foods in Health and Disease*, 6 (12), 822. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v6i12.290>.
6. Tamprasit, K., Weerapreeyakul, N., Sutthanut, K., Thukhammee, W., & Wattanathorn, J. (2019). Harvest Age Effect on Phytochemical Content of White and Black Glutinous Rice Cultivars. *Molecules*, 24 (24), 4432. <https://doi.org/10.3390/molecules24244432>.
7. Lanfer-Marquez, U. M., Barros, R. M., and Sinnecker, P. (2005). Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. *Food Research International*, vol. 38, pp. 885-891.
8. Ferruzzi, M. G., Böhm, V., Courtney, P. D., Schwartz, S. J. (2006). Antioxidant and Antimutagenic Activity of Dietary Chlorophyll Derivatives Determined by Radical Scavenging and Bacterial Reverse Mutagenesis Assays. *Journal of Food Science*, 67 (7): 2589 – 2595. DOI:10.1111/j.1365-2621.2002.tb08782.x.
9. Vijayalaxmi, S., Jayalakshmi, S. K., & Sreeramulu, K. (2015). Polyphenols from different agricultural residues: Extraction, identification and their antioxidant properties. *Journal of Food Science and Technology*, 52 (5), 2761 – 2769. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1295-9>.
10. Medvidovic-Kosanovic, M., Seruga, M., Jakobek, L. and Novak, I. (2010). Electrochemical and Antioxidant Properties of (+)-Catechin, Quercetin and Rutin. *Croat Chem Acta*. 83 (2): 197 - 207.
11. Sanchez, M., Franco, D., Sineiro, J., Magarinos, B. and Nunez, M. J. (2009). Antioxidant power, bacteriostatic activity, and characterization of white grape pomace extracts by HPLC-ESI-MS. *Eur Food Res Technol*. 230 (2): 291 - 301.
12. Wangcharoen, W., & Pimphilai, S. (2016). Chlorophyll and total phenolic contents, antioxidant activities and consumer acceptance test of processed grass drinks. *Journal of Food Science and Technology*, 53 (12), 4135 – 4140. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2380-z>.
13. Kaur, N., Singh, B., Kaur, A., Yadav, M. P., Singh, N., Ahlawat, A. K., & Singh, A. M. (2021). Effect of growing conditions on proximate, mineral, amino acid, phenolic composition and antioxidant properties of wheatgrass from different wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *Food Chemistry*, 341, 128201. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128201>.
14. Thi, N. D., & Hwang, E. S. (2014). Bioactive Compound Contents and Antioxidant Activity in Aronia (*Aronia melanocarpa*) Leaves Collected at Different Growth Stages. *Preventive nutrition and food science*, 19 (3), 204 - 212. doi:10.3746/pnf.2014.19.3.204.
15. Techavuthiporn, C., Potaros, T., Jarerat, A., & Nimitkeatkai, H. (2022). Physicochemical properties and bioactive compounds of purple rice (*Oryza sativa* L.) seedlings grown under light-emitting diodes. *Agriculture and Natural Resources*, 56 (2), 343 - 350.
16. Makino, A., Sato, T., Nakano, H., & Mae, T. (1997). Leaf photosynthesis, plant growth and nitrogen allocation in rice under different irradiances. *Planta*, 203 (3), 390 - 398.
17. Lichtenthaler, H. K. (2007). Chlorophyll fluorescence imaging of photosynthetic activity in sun and shade leaves of trees. *Research article Photosynth*, vol 93, pp 235 - 244.
18. Karimi, E., Jaafar, H. Z., Ghasemzadeh, A., & Ibrahim, M. H. (2013). 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*, 7, 1016 -1023.
19. Briskin, D. P., Gawienowski, M. C. (2001). Differential effects of light and nitrogen on production of hypericins and leaf glands in *Hypericum perforatum*. *Plant Physiol Biochem*, 39: 1075 - 1081.

20. Kurata, H., Tetsuya, K., Yamamoto, Kotaro, T. (1997). Light-stimulated root elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Physiology*, 151 (3), 346 - 351.
21. Rajalakshmi, K., Banu, N. (2014). Extraction and Estimation of Chlorophyll from Medicinal Plants, *International Journal of Science and Research (IJSR)*, Index Copernicus Value (2013): 6.14, Impact Factor (2014): 5.611.
22. Tan, Kang Wei., Kassim, M. Jain. (2011). A correlation study on the phenolic profiles and corrosion inhibition properties of mangrove tannins (*Rhizophora apiculata*) as affected by extraction solvents. *Corrosion Science*, 53 (2), 0 - 574. doi:10.1016/j.corsci.2010.09.065.
23. Binsan, W., Benjakul, S., Visessanguan, W., Roytrakul, S., Tanaka, M., & Kishimura, H. (2008). Antioxidative activity of Mungoong, an extract paste, from the cephalothorax of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Food Chemistry*, 106 (1), 185 - 193. doi:10.1016/j.foodchem.2007.05.065.
24. Kulkarni, Sunil D., Tilak, Jai. C., Acharya, R., Rajurkar, Nilima S., Devasagayam, T. P. A., Reddy, A. V. R. (2006). Evaluation of the antioxidant activity of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) as a function of growth under different conditions. *Phytother. Res*, 20(3), 218-227. doi:10.1002/ptr.1838.
25. Yang, Chwen - Ming., Lee, Y J. (2001). Seasonal changes of chlorophyll content in field-grown rice crops and their relationships with growth. *Proc. Natl. Sci. Counc. ROC(B)*. Vol. 25, No. 4, 2001. pp. 233 - 238.
26. Muhidin, Muhidin., Syamâun, E., Kaimuddin, M., Musa, Y., Sadimantara, G R., Usman, Leomo, S. and Rakian, T C. (2018). The effect of shade on chlorophyll and anthocyanin content of upland red rice. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*, 122(1):012030. DOI: 10.1088/1755-1315/122/1/012030.
27. Rao, R. C. Nageswara., Talwar, H. S., Wright, G. C. (2001). Rapid assessment of specific leaf area and leaf nitrogen in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using chlorophyll meter. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 189, pp.175 - 182.
28. Rattanapon, R., Siripongvutikorn, S., Usawakesmanee, W. and Thongraung, C. (2017). Changes of nutritional value, bioactive compounds and antioxidant activity of primed white rice, Chainat 1, during seedling. *International Food Research Journal*, 24 (6): 2563 - 2571.
29. Berg, Jeremy M. (1970). Light Absorption by Chlorophyll Induces Electron Transfer. *Biochemistry*. 5th edition. U.S. National Library of Medicine, 01 Jan. 1970.
30. Sato, R., Ito, H., & Tanaka, A. (2015). Chlorophyll b degradation by chlorophyll b reductase under high-light conditions. *Photosynthesis Research*, 126 (2-3), 249-259. doi: 10.1007/s11120-015-0145-6.
31. Resurreccion, A. P., Makino, A., Bennett, J., & Mae, T. (2002). Effect of light intensity on the growth and photosynthesis of rice under different sulfur concentrations. *Soil Science and Plant Nutrition*, 48 (1), 71 - 77. doi:10.1080/00380768.2002.10409173.
32. Viji, M. M., Thangaraj, M., & Jayapragasam, M. (1997). Effect of Low Light on Photosynthetic Pigments, Photochemical Efficiency and Hill Reaction in Rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 178 (4), 193 - 196. doi:10.1111/j.1439-037X.1997.tb00490.x.
33. Anguiano, D. M. V., Cabrera, E., Ortiz, G. D., Oomah, B. D., Martinez, A. C. and Martinez, C. J. (2015). Content and distribution of nutritional and nonnutritional compounds during germination of three Mexican faba bean (*Vicia faba*) varieties. *International Journal of Research in Agriculture and Food Sciences*, 2 (9): 2311 - 2476.
34. Kumari R, Singh S, Agrawal SB. (2009). Combined effects of Psoralens and ultraviolet-B on growth, pigmentation and biochemical parameters of *Abelmoschus esculentus* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1129 - 1136. DOI 10.1016/j.ecoenv.2008.12.009.
35. Zhang, G., Xu, Z., Gao, Y., Huang, X., Zou, Y. and Yang, T. (2015). Effects of germination on the nutritional properties, phenolic profiles, and antioxidant activities of buckwheat. *Journal of Food Science*, 80(5): 1 - 9.
36. Zou, Y., Lu, Y. and Wei, D. (2004). Antioxidant activity of a flavonoidrich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro. *Journal of*

Agricultural and Food Chemistry, 52 (16): 5032 - 5039. *Food Properties*, 14(2):300-308. DOI: 10.1080/10942910903176584.

37. Zujko, M. Elzbieta., Witkowski, A Maria. (2011). Antioxidant Potential and Polyphenol Content of Selected Food. *International Journal of*
38. Hsu, C. Y., Chao, P. Y., Hu, S.P. and Yang C. M. (2013). The antioxidant and free radical scavenging activities of chlorophylls and pheophytins. *Food and Nutrition Sciences*, 4: 1 - 8.

EFFECTS OF LIGHT INTENSITY ON THE CHLOROPHYLL AND POLYPHENOL CONTENTS OF RICE LEAVES CULTIVAR *IR50404*

**Dang Chi Thien, Nguyen Phu Tho, Nguyen Thi To Uyen,
Nguyen Thi To Uyen, Bui Nhi Binh, Nguyen Hoang Tinh,
Huynh Ngoc Thanh Tam, Nguyen Huu Thanh**

Summary

Light intensity has been reported to impact the accumulation of bioactive compounds in rice leaves such as polyphenol and chlorophyll through growth stages. The results showed that rice leaves at the age of three weeks, cultivated under S1 light condition (average light at 22,686 Lux, equivalent to 60% of shading level) gained the largest accumulation of chlorophyll content, reaching 1,357.49 µg/g of fresh rice leaves. Meanwhile, the rice grass grown under (Tn) natural light intensity (average light at 60,791 Lux) had the highest total polyphenol content (6.88 mg/g of fresh rice leaf) at the growth stage of 5 weeks. Beside that, the results of antioxidant activity using DPPH free radical scavenging activity assay indicated that the rice cultivar *IR50404* grown under S1 light condition accounted for higher antioxidant DPPH scavenging activity ($p < 0.05$) compared to those grown under S2 light condition (average light at 6,072 Lux, corresponding to 90% of shading level) and (Tn) light intensity. The findings revealed that different light intensities influenced the accumulation of bioactive compounds in the rice variety leaves *IR50404*, including chlorophyll a, b and polyphenols at different growth stages. Furthermore, these phytochemicals can play an important role as the principal component responsible for the antioxidant activity of the rice leaves.

Keywords: *Antioxidant activity, chlorophyll, polyphenols, rice leaves.*

Người phản biện: PGS.TS. Tăng Thị Hạnh

Ngày nhận bài: 7/9/2022

Ngày thông qua phản biện: 7/10/2022

Ngày duyệt đăng: 9/12/2022