



Bài báo nghiên cứu

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ỨC CHẾ NẤM *BOTRYTIS CINEREA* CỦA HỆ NANO TINH DẦU MÙ TẠT, TỎI, SẢ CHANH VÀ ĐÌNH HƯƠNG

Trần Thị Ngọc Mai*, Phạm Bảo Ngọc, Lê Xuân Cường, Lê Văn Toàn,
Nguyễn Ngọc Thùy Trang, Vũ Ngọc Bích Đào, Nguyễn Minh Hiệp

Trung tâm Công nghệ Bức xạ và Công nghệ Sinh học, Viện Nghiên cứu Hạt nhân, Việt Nam

*Tác giả liên hệ: Trần Thị Ngọc Mai – Email: Tranthingocmai626@gmail.com

Ngày nhận bài: 06-9-2024; ngày nhận bài sửa: 06-10-2024; ngày duyệt đăng: 15-10-2024

TÓM TẮT

Nấm *Botrytis cinerea* gây bệnh mốc xám trên cành, lá và quả của nhiều loại cây trồng, gây thiệt hại nặng suất đáng kể. Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hiệu quả ức chế nấm *Botrytis cinerea* của các tinh dầu thực vật mù tạt, tỏi, sả chanh, đĩnh hương ở dạng nano đơn lẻ hoặc kết hợp với nhau trong điều kiện *in vitro*. Đầu tiên, tinh dầu thực vật (mù tạt, tỏi, sả chanh, đĩnh hương) được đóng gói vào hệ mang nano, sau đó, hiệu quả kháng nấm được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Kết quả cho thấy hệ nano tinh dầu tỏi kết hợp hệ nano tinh dầu mù tạt có hiệu quả ức chế nấm tốt nhất trong điều kiện *in vitro*.

Từ khóa: *Botrytis cinerea*; tinh dầu tỏi; tinh dầu mù tạt; hệ mang nano

1. Giới thiệu

Việt Nam là đất nước sản xuất nông nghiệp với nhiều loại rau hoa và cây ăn quả. Theo tổng cục Thống kê năm 2023 diện tích trồng rau và cây ăn quả có xu hướng tăng lên, với diện tích trồng cây ăn quả đạt 1267,3 nghìn ha, tăng 4,1% so với năm 2022 (General Statistics Office of Viet Nam, 2024). Tuy nhiên, đối với ngành trồng trọt, nấm mốc gây bệnh hằng năm gây thất thoát một lượng lớn nông sản cả trước và sau thu hoạch. Trong số nấm mốc gây bệnh, chi *Botrytis* đa phần gây bệnh chuyên tính tuy nhiên nấm *Botrytis cinerea* lại là loài nấm gây bệnh với phổ kí chủ rộng. Nấm này ban đầu được biết tới khi gây bệnh mốc xám trên nho, sau này nhiều nghiên cứu đã cho thấy nấm gây bệnh trên nhiều loại rau củ quả khác như hành, tulip, đậu, dâu tây... (Jackson, 2014). Nấm *B. cinerea* sản xuất các enzyme như cellulase, hemicellulase, pectinase để phân hủy thành tế bào thực vật, đồng thời tạo ra các hợp chất như botrydial, axit oxalic... gây chết vật chủ (Boddy, 2016). Nấm phát triển trong điều kiện độ ẩm cao. *B. cinerea* tạo ra một lượng lớn bào tử vô tính, nên khả năng phát tán và tồn tại trong môi trường lâu.

Cite this article as: Tran Thi Ngoc Mai, Pham Bao Ngoc, Le Xuan Cuong, Le Van Toan, Nguyen Ngoc Thuy Trang, Vu Ngoc Bich Dao, & Nguyen Minh Hiep (2024). Investigation of inhibitory effect of nanocarriers encapsulating clove, mustard, garlic and lemongrass essential oil on *Botrytis cinerea*. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 21(12), 2225-2232.

Biện pháp kiểm soát nấm này cho đến nay có thể sử dụng là phương pháp vật lí, hóa học và sinh học. Việc sử dụng phương pháp hóa học với các chất tổng hợp có giá thành cạnh tranh và tác động nhanh vẫn là ưu tiên lựa chọn của người dân. Hiện nay, phương pháp sử dụng vi sinh vật đối kháng, chiết xuất thực vật đã ngày càng được nghiên cứu và ứng dụng nhiều hơn. Chiết xuất thực vật và các chất chuyển hóa thứ cấp của nó cũng đã có nhiều nghiên cứu cho thấy có khả năng ức chế sự phát triển của nấm mốc và độc tố do nấm gây ra (Thai & Do, 2021). Tinh dầu đã được nghiên cứu từ lâu trong hiệu quả kháng nấm, tuy nhiên với sự đa dạng về nguồn gốc và phương pháp chiết xuất mà hiệu quả của tinh dầu rất đa dạng. Tuy phương pháp hóa học có hiệu quả nhanh nhưng lại gây ảnh hưởng xấu đến môi trường và con người. Trong khi đó, các phương pháp sinh học hiện nay có một số hạn chế như hiệu quả chậm hơn thuốc hóa học và một số sản phẩm giá thành tương đối cao. Do đó, trong nghiên cứu này thực hiện nghiên cứu một chế phẩm sinh học có nguồn gốc từ tinh dầu thực vật, được nano hóa nhằm tăng hiệu quả trong ức chế nấm.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

Chủng nấm *Botrytis cinerea* (Viện Nghiên cứu Hạt nhân Đà Lạt). Tinh dầu mù tạt, tinh dầu tỏi, tinh dầu sả chanh, tinh dầu đinh hương (Công ty TNHH tinh dầu thảo dược Dalosa, Việt Nam). Một số hóa chất khác có độ tinh khiết ở mức độ phân tích.

2.2. Phương pháp tổng hợp hệ mang nano chứa tinh dầu thực vật

Hệ nano chứa tinh dầu thực vật (tinh dầu mù tạt, tinh dầu tỏi, tinh dầu sả chanh, tinh dầu đinh hương) được tổng hợp theo phương pháp của Nguyễn Minh Hiệp và cộng sự có sửa đổi (Nguyen et al., 2022). Cụ thể, 10 g tinh dầu được trộn với hỗn hợp 10 g chất hoạt động bề mặt gồm lecithin và tween 80 đã được khuấy tan trong nước nóng. Sau đó, hỗn hợp dung dịch được đồng hoá ở 18 000 vòng/phút trong 5 phút bằng máy Ultra Turrax homogenizer digital và được giảm kích thước bằng sóng siêu âm sử dụng thiết bị Ultrasonic Liquid Processor trong 4 phút, công suất 30%. Dịch phân tán nano thu được sẽ được sử dụng cho các thí nghiệm sau. Hệ kết hợp hai được thực hiện khi trộn hai hệ nano tinh dầu đơn lẻ với tỉ lệ 1:1 (v/v); hệ kết hợp ba loại nano tinh dầu đơn lẻ hình thành khi trộn 3 hệ nano tinh dầu đơn lẻ với tỉ lệ 1:1:1 (v/v/v). Sau đó, các thông số đặc điểm của hệ (kích thước hạt, chỉ số phân tán, thế zeta) được xác định bằng thiết bị Zetasizer Nano ZS.

2.3. Phương pháp khảo sát hiệu quả ức chế nấm ở điều kiện *in vitro*

Hiệu quả ức chế nấm của các chế phẩm nano chứa tinh dầu thực vật ở dạng riêng lẻ và kết hợp được thực hiện theo phương pháp khuếch tán đĩa thạch của Bảo và Khang có sửa đổi (Thai & Do, 2021). Cụ thể, nấm sẽ được cấy lên môi trường thạch khoai tây có bổ sung dịch phân tán (hoặc hỗn hợp dịch phân tán) nano tinh dầu thực vật với nồng độ là 500; 333,3; 250; 200; 166,7; 142,8 ppm. Với mẫu đối chứng là mẫu không có bổ sung dịch phân tán nano mà bổ sung nước cất vô trùng. Mẫu sau khi cấy được giữ trong tủ ẩm 22 ± 1 °C, trong 7 ngày. Sau đó, mẫu được quan sát và đo đường kính nấm phát triển. Hiệu quả ức chế nấm được tính theo công thức $H(\%) = (D_0 - D_t) / D_0 \times 100$. Trong đó: H là hiệu quả ức chế nấm, D_0

là đường kính khuẩn lạc trên môi trường đối chứng; D_t là đường kính khuẩn lạc trên môi trường có bổ sung tinh dầu.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và tính toán bằng phần mềm Microsoft Excel. Các phân tích thống kê, đánh giá độ tin cậy thông qua phần mềm SPSS, phương pháp One-Way Anova, phép thử Duncan (mức ý nghĩa $p < 0,05$). Số liệu được trình bày ở dạng số trung bình cộng trừ độ lệch chuẩn.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Tổng hợp hệ nano chứa tinh dầu thực vật

Kết quả bảng 1 cho thấy cả bốn hệ nano tinh dầu tỏi, sả chanh, đinh hương, mù tạt sau khi đóng gói vào trong hệ mang nano đều có kích thước hạt đạt mức nano. Trong đó, hệ nano tinh dầu sả chanh có kích thước hạt trung bình nhỏ nhất, sau đó đến hệ nano tinh dầu tỏi, hệ nano tinh dầu mù tạt và cuối cùng là hệ nano tinh dầu đinh hương với kích thước hạt lần lượt là 88,60; 97,14; 179,7 và 193,4 nm. Trong bốn hệ nano đơn lẻ, hệ nano tinh dầu đinh hương có chỉ số phân tán giữa các hạt nano (PDI) tương đối lớn (0,511), điều này cho thấy kích thước hạt của các hạt trong hệ có sự chênh lệch nhiều, có các hạt nhỏ và những hạt khá lớn so với kích thước hạt trung bình. Bên cạnh đó, thế zeta của tất cả các dịch phân tán nano sau khi tạo thành đều có giá trị điện tích âm và giá trị tuyệt đối lớn hơn 45 mV. Kết quả này cho thấy, các hệ nano tạo thành đều có độ ổn định trong thời gian dài, ít nhất 6 tháng sau tổng hợp. Kết quả này cũng phù hợp với các tài liệu nghiên cứu trước đó nghiên cứu của Mehnert và cộng sự (2001) và nghiên cứu của Nguyen và cộng sự (2022) (Mehnert et al., 2001; Nguyen et al., 2022).

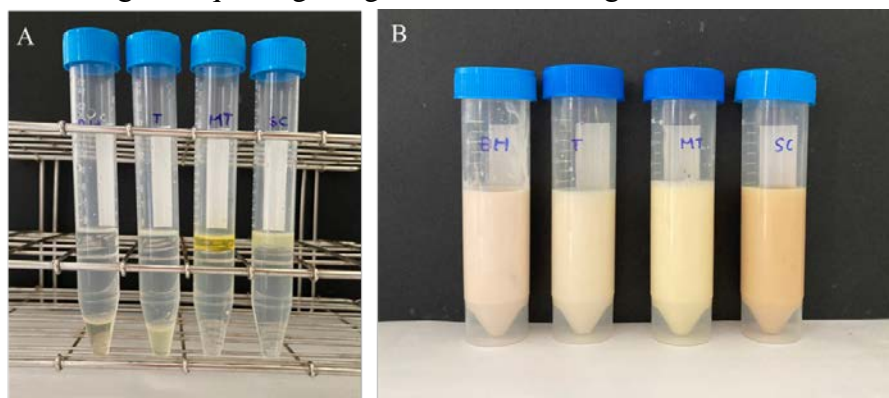
Khi kết hợp các hệ nano tinh dầu (kết hợp hai và kết hợp ba) các hệ có kích thước hạt trong khoảng từ 95 đến 190 nm. Do hệ nano tinh dầu đinh hương và hệ nano tinh dầu mù tạt từ đầu đã có kích thước hạt và chỉ số phân tán tương đối lớn, nên sau khi kết hợp thì hệ kết hợp hai giữa hai hệ nano tinh dầu này có kích thước hạt lớn nhất là 189,6 nm, chỉ số phân tán là 0,492. Các hệ kết hợp ba lại có kích thước hạt tương đối nhỏ hơn chỉ dao động trong khoảng từ 120 đến 160 nm. Do các hệ nano tinh dầu ban đầu sau khi tổng hợp đều có kích thước hạt trung bình khá nhỏ chỉ dưới 200 nm. Điều này cũng dẫn đến sau khi kết hợp hai hoặc kết hợp ba bằng cách trộn các hệ nano tinh dầu với tỉ lệ bằng nhau, thì kích thước hạt của các hệ cũng không quá lớn. Ngoại trừ đinh hương thì các hệ còn lại có chỉ số phân tán thấp cho thấy các hệ có độ đồng đều giữa các hạt nano phân tán trong dung dịch. Đồng thời, các hệ kết hợp vẫn duy trì được tính chất của hệ mang nano tinh dầu là phân tán tốt trong nước, kích thước hạt đạt mức nano và chỉ số thế zeta lớn hơn 40 mV.

Bảng 1. Các thông số đặc điểm của hệ nano chứa tinh dầu thực vật

Dịch phân tán nano	Kích thước hạt (nm)	Chỉ số phân tán (PDI)	Thế Zeta (mV)
Tinh dầu đinh hương	193,4 ± 3,20	0,511 ± 0,033	-48,40 ± 1,61
Tinh dầu mù tạt	179,7 ± 3,62	0,379 ± 0,015	-45,53 ± 1,40
Tinh dầu sả chanh	88,60 ± 1,57	0,186 ± 0,003	-54,07 ± 1,53
Tinh dầu tỏi	97,14 ± 2,68	0,228 ± 0,037	-49,70 ± 1,56

Tinh dầu đinh hương và tỏi	153,6 ± 2,65	0,362 ± 0,008	-47,77 ± 0,51
Tinh dầu đinh hương và mù tạt	189,6 ± 1,99	0,492 ± 0,012	-46,93 ± 1,76
Tinh dầu đinh hương và sả chanh	142,10 ± 2,01	0,252 ± 0,006	-49,67 ± 1,46
Tinh dầu tỏi và sả chanh	98,60 ± 2,52	0,157 ± 0,002	-50,6 ± 0,95
Tinh dầu tỏi và mù tạt	146,10 ± 2,12	0,222 ± 0,011	-48,33 ± 0,60
Tinh dầu mù tạt và sả chanh	134,1 ± 1,81	0,210 ± 0,006	-50,97 ± 1,17
Tinh dầu tỏi, sả chanh, mù tạt	122,1 ± 1,53	0,288 ± 0,009	-48,40 ± 1,67
Tinh dầu tỏi, sả chanh, đinh hương	125,9 ± 1,23	0,295 ± 0,015	-51,47 ± 2,03
Tinh dầu tỏi, đinh hương, mù tạt	159,3 ± 2,18	0,360 ± 0,006	-46,57 ± 2,03
Tinh dầu sả chanh, mù tạt, đinh hương	154,1 ± 1,80	0,276 ± 0,025	-52,20 ± 2,05

Kết quả Hình 1 cũng cho thấy các hệ nano chứa tinh dầu thực vật sau khi tổng hợp đều có khả năng phân tán tốt hơn trong nước so với tinh dầu dạng thô (khi chưa được đóng gói vào hệ mang nano). Điều này đã được nhắc đến trong nhiều nghiên cứu cho thấy hệ nano có khả năng làm tăng độ phân tán và độ ổn định của các chất hoạt tính (Abed et al., 2019; Karczewicz, 2014). Cho đến nay, có rất nhiều định nghĩa khác nhau về hệ mang nano (nanocarriers), có nghiên cứu cho rằng đó là các hệ nhỏ hơn 1000 nm (Abed et al., 2019), có nghiên cứu lại cho rằng là các hệ có kích thước hạt từ 5 đến 200 nm (Lynn et al., 2019)... Sự khác biệt trong kích thước hạt thường ảnh hưởng đến khả năng thấm và tính ứng dụng của hệ mang nano chứa chất hoạt tính. Thông thường khi phun một số loại thuốc trên cây trồng, các loại thuốc ứng dụng hệ mang nano có thể có khả năng thấm vào tốt hơn, do kích thước của khí khổng trên cây thường ở mức micromet. Nghiên cứu này cũng góp phần củng cố luận điểm khi đóng gói chất hoạt tính vào trong hệ mang nano thì giúp tăng độ hòa tan trong nước của tinh dầu. Từ đó cho thấy, khi sử dụng hệ mang nano trong đóng gói tinh dầu sẽ góp phần làm tăng hiệu quả ứng dụng của tinh dầu trong điều kiện thực tiễn.



Hình 1. Độ phân tán của các tinh dầu thực vật

(A) Dạng thông thường, (B) Dạng nano.

3.2. Hiệu quả ức chế nấm *Botrytis cinerea* ở điều kiện *in vitro*

Kết quả về hiệu quả ức chế nấm trong điều kiện *in vitro* với phương pháp khảo sát trên đĩa thạch được thể hiện ở Bảng 2. Kết quả Bảng 2 cho thấy ở bốn hệ nano tinh dầu đơn lẻ hệ nano tinh dầu tỏi cho hiệu quả ức chế nấm tốt nhất, sau đó đến hệ nano tinh dầu sả chanh, đinh hương và mù tạt. Cụ thể, ở nồng độ 200 ppm, hệ nano tinh dầu tỏi vẫn cho hiệu quả ức chế nấm hoàn toàn đạt 100%, trong khi hệ sả chanh chỉ còn 63,96%, hệ đinh hương 44,14%

và hệ mù tạt không còn hiệu quả ức chế nấm. Khi giảm nồng độ tinh dầu từ 200 ppm xuống còn 166,7 ppm thì hiệu quả của hệ nano tinh dầu tỏi cũng giảm đi 30,63%, từ 100% xuống còn 69,37%. Ở nồng độ 142,8 ppm hiệu quả của hệ nano tinh dầu gần như không đáng kể chỉ còn hơn 20%. Từ kết quả khi so sánh bốn hệ nano tinh dầu đơn lẻ có thể thấy, khi giảm nồng độ tinh dầu thì hiệu quả ức chế nấm giảm. Hiệu quả ức chế nấm *B. cinerea* khác nhau tùy thuộc vào loại tinh dầu. Ở nồng độ từ 300 đến 500 ppm đa phần các loại tinh dầu đều cho hiệu quả ức chế nấm hoàn toàn. Nhưng từ nồng độ 300 ppm trở xuống bắt đầu có sự phân hóa sâu sắc về hiệu quả ức chế nấm của các loại tinh dầu. Giữa bốn hệ nano tinh dầu thì hệ nano tỏi tốt nhất cho hiệu quả ức chế nấm đạt 100% ở nồng độ tinh dầu là 200 ppm. Hiệu quả của hệ nano tinh dầu sẽ giảm đi khi nồng độ tinh dầu thấp hơn nồng độ tối thiểu cần để ức chế sự phát triển của nấm *B. cinerea*.

Khi kết hợp các hệ nano tinh dầu với nhau thì hệ kết hợp hai loại nano tinh dầu tỏi và mù tạt (TM) và hệ kết hợp nano tinh dầu tỏi và sả chanh (TS) lại cho hiệu quả cao hơn cả hệ nano tinh dầu tỏi ở dạng đơn lẻ. Ở nồng độ 166,7 ppm hệ nano tinh dầu tỏi và mù tạt (TM) vẫn cho hiệu quả ức chế nấm hoàn toàn và hệ nano tinh dầu tỏi và sả chanh (TS) cho hiệu quả ức chế nấm là 81,53%. Từ đó cho thấy, hệ kết hợp nano tinh dầu tỏi và mù tạt cho hiệu quả ức chế nấm *B. cinerea* tốt nhất.

Nhiều nghiên cứu trước đó cũng đã cho thấy chiết xuất hoặc tinh dầu tỏi và mù tạt đơn lẻ đã cho hiệu quả ức chế nấm. Nghiên cứu của Xie và cộng sự năm 2022 cũng đã khảo sát nhiều loại tinh dầu trên chủng nấm *B. cinerea* cũng đã cho thấy tinh dầu tỏi với nồng độ trên 125 $\mu\text{L/L}$ sẽ cho hiệu quả bảo quản quả nho (Xie et al., 2022). Nghiên cứu của Daniel và cộng sự cho thấy chiết xuất tỏi ở dạng bay hơi có hiệu quả trong ức chế nảy mầm của bào tử và sự phát triển của sợi nấm có thể là do nhóm hợp chất sulfur có trong tỏi (Daniel et al., 2015). Bên cạnh đó, nghiên cứu của Aguilar-González và cộng sự cho thấy sử dụng tinh dầu mù tạt bay hơi với lượng 15,42 $\mu\text{L/L}$ không khí cũng cho hiệu quả chống lại bệnh mốc xám trên dâu tây trong quá trình bảo quản (Aguilar-González et al., 2015).

Trong nghiên cứu này, khi kết hợp hệ nano tinh dầu tỏi và mù tạt cho hiệu quả ức chế nấm tốt nhất. Ở nồng độ 142,8 ppm thì hiệu quả của hệ kết hợp tỏi và mù tạt vẫn đạt 95,5%. Hiệu quả của hệ tỏi và sả chanh cũng cao hơn các hệ khác đạt 40,09% ở nồng độ 142,8 ppm, chỉ thấp hơn hệ tỏi mù tạt. Kết quả này cho thấy khi kết hợp các hệ nano tinh dầu không phải hệ kết hợp nào cũng làm tăng hiệu quả ức chế nấm *B. cinerea*. Một nghiên cứu trước đây của của Clemente và cộng sự cho thấy khi sử dụng tinh dầu mù tạt có hiệu quả ức chế nấm mốc trên bánh mì ở dạng bay hơi và khi kết hợp tinh dầu tỏi và quế cho hiệu quả hiệp đồng (Clemente et al., 2019).

Cho đến nay, các cơ chế về ức chế sự phát triển nấm vẫn còn được nghiên cứu nhiều. Do sự phức tạp của các cấu tử trong tinh dầu nên cơ chế ức chế nấm càng trở nên phức tạp. Nhưng nhiều nghiên cứu trước đó cho thấy hiệu quả của tinh dầu hoặc các nhóm hợp chất chính trong tinh dầu có thể gây ra do cơ chế ức chế chuỗi truyền điện tử của ty thể, ảnh hưởng đến cấu trúc tế bào hoặc tác động ức chế lên các bơm có tác dụng loại bỏ độc tố của nấm (efflux pump) (Nazzaro et al., 2017). Ngày nay, các hợp chất tự nhiên được nghiên cứu

ứng dụng nhiều hơn trong nhiều lĩnh vực bao gồm cả nông nghiệp nhằm thay thế cho các hợp chất tổng hợp có ảnh hưởng lâu dài không tốt cho hệ sinh thái. Ngay cả khi vẫn cần nhiều nghiên cứu hơn để tìm hiểu về cơ chế và hiệu quả của các tinh dầu khác nhau với từng chủng nấm thì các nghiên cứu vẫn không ngừng được cập nhật hướng tới tạo ra sản phẩm an toàn và thân thiện với tự nhiên. Do đó, nghiên cứu này cũng cho thấy hệ mang nano chứa tinh dầu thực vật có tiềm năng ứng dụng như một chế phẩm sinh học trong ức chế nấm gây bệnh *B. cinerea*.

Kết quả của nghiên cứu này đã chứng minh chế phẩm tinh dầu đóng gói vào trong hệ mang nano có khả năng ức chế nấm *Botrytis cinerea* gây bệnh thực vật. Từ đó, mở ra tiềm năng ứng dụng của hệ nano chứa tinh dầu thực vật trong kiểm soát nấm *Botrytis cinerea* gây bệnh trên dâu tây, đặc biệt là trong phát triển nông nghiệp sạch bền vững.

Bảng 2. Hiệu quả ức chế nấm *Botrytis cinerea*

Dịch phân tán nano	Hiệu quả ức chế nấm (%)					
	Nồng độ 500 ppm	Nồng độ 333,3 ppm	Nồng độ 250 ppm	Nồng độ 200 ppm	Nồng độ 166,7 ppm	Nồng độ 142,8 ppm
Tinh dầu đinh hương	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	90,54 ± 1,35 ^b	44,14 ± 4,13 ^g	0 ± 0 ⁱ	0 ± 0 ^f
Tinh dầu mù tạt	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	60,36 ± 2,06 ^e	0 ± 0 ⁱ	0 ± 0 ⁱ	0 ± 0 ^f
Tinh dầu sả chanh	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	63,96 ± 1,56 ^f	0,45 ± 0,78 ^h	0 ± 0 ^f
Tinh dầu tỏi	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	69,37 ± 4,34 ^c	28,83 ± 0,78 ^e
Tinh dầu đinh hương và tỏi (ĐT)	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	64,86 ± 1,35 ^c	15,76 ± 2,06 ^d
Tinh dầu đinh hương và mù tạt (ĐM)	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	76,13 ± 2,81 ^e	31,98 ± 3,4 ^f	0 ± 0 ^f
Tinh dầu đinh hương và sả chanh (ĐS)	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	82,88 ± 1,56 ^d	42,79 ± 4,13 ^e	0 ± 0 ^f
Tinh dầu tỏi và sả chanh (TS)	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	81,53 ± 3,9 ^b	40,09 ± 2,81 ^b
Tinh dầu tỏi và mù tạt (TM)	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	95,50 ± 1,56 ^a
Tinh dầu mù tạt và sả chanh (MS)	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	85,14 ± 1,35 ^c	64,41 ± 2,06 ^f	7,66 ± 2,81 ^g	0 ± 0 ^f
Tinh dầu tỏi, sả chanh, mù tạt (TSM)	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	77,48 ± 2,81 ^e	41,89 ± 1,35 ^e	0 ± 0 ^f
Tinh dầu tỏi, sả chanh, đinh hương (TSD)	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	94,59 ± 1,35 ^b	60,81 ± 1,35 ^c	8,11 ± 2,70 ^e

Tinh dầu tỏi, đinh hương, mù tạt (SDM)	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	75,68 ± 3,58 ^d	21,62 ± 3,58 ^h	0 ± 0 ⁱ	0 ± 0 ^f
Tinh dầu sả chanh, mù tạt, đinh hương (TMD)	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	90,54 ± 1,35 ^c	54,50 ± 2,06 ^d	0 ± 0 ^f

Chú thích: Các chữ cái a, b, c, d, e, f, g, h, i chỉ sự khác biệt về mặt thống kê trong cùng một cột (phép thử one-way anova, p < 0,05).

3. Kết luận

Các hệ nano chứa tinh dầu thực vật mù tạt, tỏi, sả chanh, đinh hương đơn lẻ và hệ kết hợp hai, ba đã được tổng hợp thành công có kích thước trung bình đạt mức nano, nhỏ hơn 200 nm, và giá trị tuyệt đối của thế zeta đều lớn hơn 40 mV cho thấy hệ có độ ổn định cao. Trong nghiên cứu này, khi so sánh giữa bốn hệ nano tinh dầu đơn lẻ, hệ nano tinh dầu tỏi cho hiệu quả ức chế nấm tốt nhất, sau đó đến hệ nano tinh dầu sả chanh, hệ nano tinh dầu đinh hương và cuối cùng là hệ nano tinh dầu mù tạt. Tuy nhiên, hiệu quả ức chế nấm *B. cinerea* tốt nhất là hệ kết hợp hai loại nano tinh dầu tỏi và mù tạt, đạt hơn 95,5% ở nồng độ tinh dầu là 142,8 ppm. Nghiên cứu này cho thấy tiềm năng của việc kết hợp tinh dầu tỏi và mù tạt để ức chế nấm gây bệnh mốc xám. Tuy vậy, vẫn cần nghiên cứu thử nghiệm trên đồng ruộng trước khi hoàn thiện sản phẩm và được sử dụng như một chế phẩm sinh học chống nấm thương mại.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abed, S. N., Deb, P. K., Surchi, H. S., Kokaz, S. F., Jamal S. M., Bandopadhyay S., & Tekade, R. K. (2019). Chapter 17 - Nanocarriers in Different Preclinical and Clinical Stages. *Basic Fundamentals of Drug Delivery, Advances in Pharmaceutical Product Development and Research* (pp.685-731). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817909-3.00017-0>
- Aguilar-González, A. E., Palou, E., & López-Malo, A. (2015). Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 32, 181-185. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.09.003>
- Boddy, L. (2016). Chapter 8 - Pathogens of Autotrophs. *The Fungi (Third Edition)* (pp.245-292). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382034-1.00008-6>
- Clemente, I., Aznar, M., & Nerín, C. (2019). Synergistic properties of mustard and cinnamon essential oils for the inactivation of foodborne moulds in vitro and on Spanish bread. *International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.03>
- Danie, C. K., Lennox, C. L., & Vries, F. A. (2015). *In-vitro* effects of garlic extracts on pathogenic fungi *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* and *Neofabraea alba*. *South African Journal of Science*, 111, 7-8.

- <https://www.gso.gov.vn/du-lieu-va-so-lieu-thong-ke/2024/01/san-xuat-nong-lam-nghiep-va-thuy-san-nam-2023-ket-qua-dat-duoc-va-kho-khan-thach-thuc-dan-xen/>
- Jackson, R. S. (2014). Botrytis. Reference Module in Food Science. Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition), (pp.288-296). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00042-2>
- Karewicz, A. (2014). Polymeric and liposomal nanocarriers for controlled drug delivery. *Biomaterials for Bone Regeneration*, 351–373. <https://doi.org/10.1533/9780857098104.3.351>
- Lynn, G. M., Laga, R., & Jewell, C. M. (2019). Induction of anti-cancer T cell immunity by in situ vaccination using systemically administered nanomedicines. *Cancer Letters*, 459, 192-203. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2019.114427>
- Mehnert, W., Mäder, K. (2001). Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47, 65-196.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & Feo, V. D. (2017). Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals*, 10(4), Article 86. <https://doi.org/10.3390/ph10040086>
- Nguyen, M. H., Tran, T. N. M., & Vu, N. B. D. (2022). Antifungal activity of essential oil-encapsulated lipid nanoemulsions formulations against leaf spot disease on tomato caused by *Alternaria alternata*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 55(2), 235-257.
- Thai, B. & Do, T. K. (2021). Anti-fungal activity of cinnamon essential oil (*Cinnamomum verum*) against fruit rot disease. *Can Tho University Science Journal*, 57(1B), 99-106.
- Xie, Y., Zhu, J., Liu, H., Lian, H., & Liu, J. (2022). *In vitro* antifungal activity of essential oils against *Botrytis cinerea* of postharvest grapes. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. *The 4th International Conference on Environmental Prevention and Pollution Control Technologies* (1035). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1035/1/012008>

**INVESTIGATION OF INHIBITORY EFFECT
OF NANOCARRIERS ENCAPSULATING CLOVE, MUSTARD, GARLIC
AND LEMONGRASS ESSENTIAL OIL ON *BOTRYTIS CINEREA***

**Tran Thi Ngoc Mai*, Pham Bao Ngoc, Le Xuan Cuong, Le Van Toan,
Nguyen Ngoc Thuy Trang, Vu Ngoc Bich Dao, Nguyen Minh Hiep**

*Corresponding author: Tran Thi Ngoc Mai – Email: Tranthingocmai626@gmail.com

Received: September 06, 2024; Revised: October 06, 2024; Accepted: October 15, 2024

ABSTRACT

The fungus Botrytis cinerea is a major pathogen responsible for gray mold disease affecting the branches, leaves, and fruits of many crops, leading to significant yield losses. This study aimed to evaluate the antifungal efficacy of mustard, garlic, lemongrass, and cloves oils both individually and in combination, in nano-encapsulated form under in vitro conditions against B. cinerea. Essential oils (mustard, garlic, lemongrass, cloves) were first encapsulated into nanocarriers, then their antifungal effect was assessed using a petri dish assay. The results demonstrated that the combination of garlic and mustard essential oils exhibited the strongest inhibitory effect against the fungus under in vitro conditions.

Keywords: *Botrytis cinerea*; garlic essential oil; mustard essential oil; nanocarriers