

A survey of chemical composition and antimicrobial effect of the essential oil obtained from the *Scimum Sanctum* L. plants grown in Binh Dinh

Vo Thi Thanh Tuyen*, Nguyen Thi My Bien

Chemistry Department, Quy Nhon University

Received: 30/12/2018; Accepted: 27/03/2019

ABSTRACT

The essential oils from the *Ocimum sanctum* L. grown in Binh Dinh was obtained by water-distilled method, accounting for 0.61%. The chemical composition of the essential oils was analyzed by GC-MS method. The dominant compounds in the essential oils were eugenol (71.21%), β -caryophyllene (12.96%) and *cis*- β -elemene (9.67%). The main component in the essential oils was eugenol. This essential oils has strong inhibitory activity against the growth of *Lactobacillus fermentum* and *Staphylococcus aureus*. In addition, it also inhibits the development of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonasa eruginosa*.

Keywords: *Essential oil from *Ocimum sanctum* L., Eugenol, *Ocimum sanctum*.*

**Corresponding author.*

Email: vothithanhtuyen@qnu.edu.vn

Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh của tinh dầu hương nhu tía (*Ocimum Sanctum* L.) ở Bình Định

Võ Thị Thanh Tuyền*, Nguyễn Thị Mỹ Biên

Khoa Hóa, Trường Đại học Quy Nhơn

Ngày nhận bài: 30/12/2018; Ngày nhận đăng: 27/03/2019

TÓM TẮT

Tinh dầu hương nhu tía ở Bình Định thu được bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước chiếm hàm lượng 0,61%. Thành phần hóa học của tinh dầu được xác định bằng phương pháp GC-MS. Những chất chiếm hàm lượng cao trong tinh dầu là eugenol (71,21%), β -caryophyllen (12,96%) và cis- β -elemen (9,67%). Trong đó eugenol là chất chiếm hàm lượng cao nhất trong tinh dầu. Tinh dầu này có khả năng ức chế mạnh sự phát triển của vi khuẩn ứng *Lactobacillus fermentum* và *Staphylococcus aureus*. Ngoài ra, tinh dầu này cũng có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Bacillus subtilis* và vi khuẩn *Pseudomonasa eruginosa*.

Từ khóa: Eugenol, *Ocimum sanctum*, tinh dầu hương nhu tía.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hương nhu tía có tên khoa học là *Ocimum sanctum* L. hay *Ocimum tenuiflorum* L., tên thường gọi là é tía hay é rừng, thuộc họ Hoa môi (Lamiaceae).¹ Hương nhu tía là loại cây thảo mộc. Cây được tìm thấy ở Ấn Độ, Trung Quốc, Lào, Campuchia, Philippin, Indonesia, các nước châu Phi và châu Úc. Ở Việt Nam cây thường thấy từ Hòa Bình, Bắc Giang, Hà Nội, Ninh Bình đến Khánh Hòa, Ninh Thuận, thành phố Hồ Chí Minh cho đến An Giang.^{2,3}

Hương nhu tía được dùng làm cây thuốc để chữa hạ sốt, long đờm, viêm phế quản, ho, sốt rét, đau dạ dày, cảm nắng, nhức đầu, đi ngoài, phù thũng, rối loạn kinh nguyệt, hạ huyết áp, hạ lipid máu, ức chế sự tăng trưởng của bệnh bạch cầu, ung thư biểu mô miệng, điều hòa thần kinh trung ương,... Tinh dầu hương nhu tía còn có tác dụng chống mối mọt, không chế muỗi. Ngoài ra,

tinh dầu hương nhu tía còn được dùng trong công nghệ làm đẹp như dưỡng da, dưỡng tóc.³⁻⁷

Hiện nay trên thế giới có nhiều công bố về thành phần hóa học cũng như hoạt tính của tinh dầu hương nhu tía.³⁻⁷ Ở Việt Nam cũng có một số nghiên cứu về loài cây này nhưng chủ yếu là phân lập eugenol rồi chuyển hóa.^{8,9} Bài viết này trình bày kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu hương nhu tía ở tỉnh Bình Định, nhằm góp phần làm cơ sở khoa học cho tác dụng điều trị bệnh do nhiễm khuẩn của loại tinh dầu này.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, xử lý nguyên liệu

Thân, lá và hoa của cây hương nhu tía được thu hái vào tháng 11 năm 2018 ở phường Nhơn Bình, thành phố Quy Nhơn, tỉnh Bình Định. Khi đó cây hương nhu tía được 7 tháng tuổi.

*Tác giả liên hệ chính.

Email: vothithanhtuyen@qnu.edu.vn

Sau khi hái về, hương nhu tía được tiến hành xử lý sơ bộ, rửa sạch, thái nhỏ trước khi đem xay.

2.2. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu chiết xuất

Tinh dầu hương nhu tía được chiết xuất bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp kết hợp với việc sử dụng NaCl. Sự chiết xuất này được thực hiện với bộ chưng cất tinh dầu Clevenger 1 L.

Nhằm thiết lập quy trình chiết xuất tinh dầu, các yếu tố: nồng độ dung dịch NaCl, thời điểm thu hái, thời gian để héo nguyên liệu và thời gian chưng cất đã được tiến hành khảo sát.

2.3. Xác định một số chỉ số hóa lý của tinh dầu

Tinh dầu sau trích ly được đem làm khan bằng muối Na_2SO_4 , bảo quản ở nhiệt độ 0 - 5°C. Sau đó tiến hành xác định tỷ trọng, chỉ số axit, chỉ số este.

2.4. Xác định thành phần hóa học của tinh dầu hương nhu tía

Thành phần hóa học của tinh dầu hương nhu tía được xác định bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS), thực hiện trên máy sắc ký khí GC7890A và máy phổ khối 5975C của Phòng Phân tích hóa học, Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm KHCN Việt Nam.

Loại cột sắc ký sử dụng là HP5MS 5% phenyl, 95% metyl siloxan, dài 60m, đường kính 0,25 mm, độ dày lớp hấp phụ 0,25 μm ; khí mang là He với tốc độ 1 mL/min; nhiệt độ 60 ÷ 240°C.

2.5. Thử hoạt tính kháng vi sinh của tinh dầu hương nhu tía

Tinh dầu hương nhu tía được đem thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định trên đĩa thạch tại Phòng Hóa sinh ứng dụng, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

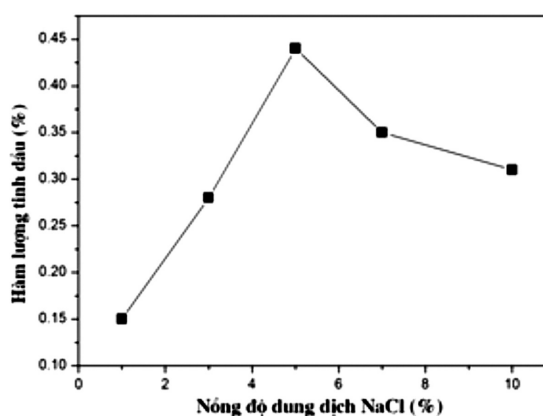
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu

3.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ dung dịch NaCl

Tiến hành chưng cất ngay 150g hương nhu tía vừa mới hái (thời gian để héo là 0 giờ) vào lúc 8 giờ cùng với 450 ml nước cất trong 3 giờ thì thu được hàm lượng tinh dầu là 0,13%.

Tiến hành khảo sát sự phụ thuộc của hàm lượng tinh dầu hương nhu tía theo nồng độ dung dịch NaCl. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ dung dịch NaCl đến hàm lượng tinh dầu chiết xuất được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Sự phụ thuộc của hàm lượng tinh dầu hương nhu tía theo nồng độ dung dịch NaCl (450 ml dung dịch NaCl ứng với các nồng độ: 1% , 3% , 5% , 7% và 10%; 150g hương nhu tía hái vào lúc 8 giờ, thời gian để héo là 0 giờ, thời gian chưng cất là 3 giờ)

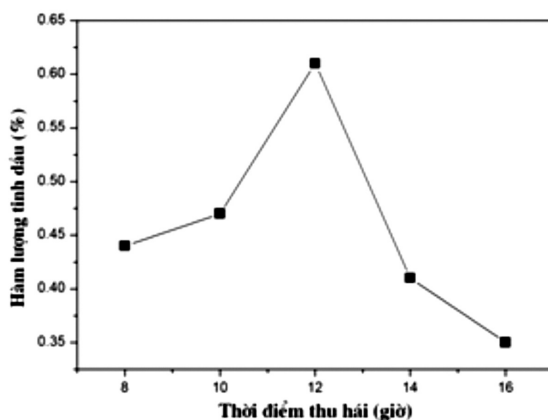
Từ hình 1 nhận thấy hàm lượng tinh dầu thu được phụ thuộc vào nồng độ dung dịch NaCl. Hàm lượng tinh dầu tăng khi nồng độ muối tăng từ 1 ÷ 5% và hàm lượng tinh dầu giảm khi nồng độ muối lớn hơn 5%. Việc thêm NaCl vào quá trình chưng cất làm tăng khả năng thẩm thấu của nước vào tế bào, làm tăng quá trình khuếch tán của tinh dầu ra ngoài nên rút ngắn thời gian chưng cất. Mặt khác, khi thêm NaCl vào làm tăng độ phân cực của dung dịch, nhờ đó làm giảm lực tương tác giữa các cấu tử tinh dầu với nước. Do đó tinh dầu sẽ dễ dàng bay hơi trong quá trình chưng cất.¹⁰⁻¹¹ Ngoài ra, khi cho NaCl vào làm tăng tỷ trọng của nước nên tinh dầu sẽ nổi lên nhiều hơn. Tuy nhiên, khi chưng cất với nồng độ dung dịch NaCl lớn hơn 5% thì lượng tinh dầu thu được giảm. Vì khi sử dụng NaCl với nồng độ cao thì xảy ra sự

co nguyên sinh, tế bào chất bị co rút lại ngăn cản sự khuếch tán của tinh dầu ra ngoài.¹² Tóm lại, qua khảo sát cho thấy hàm lượng tinh dầu chiết xuất đạt cao nhất ở nồng độ muối là 5%.

3.1.2. Ảnh hưởng của thời điểm thu hái nguyên liệu

Thời điểm thu hái nguyên liệu cũng ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu chiết xuất. Kết quả khảo sát sự thay đổi hàm lượng tinh dầu hương nhu tía theo thời điểm thu hái được thể hiện ở hình 2.

Từ hình 2 nhận thấy hương nhu tía hái vào lúc 12 giờ cho hàm lượng tinh dầu cao nhất. Vì vào thời điểm này, các tia sáng với bước sóng ngắn (tia xanh, tia tím) tăng làm thúc đẩy quá trình tổng hợp các amino axit và protein, làm tăng sự chuyển hóa các amino axit thành tinh dầu.¹¹



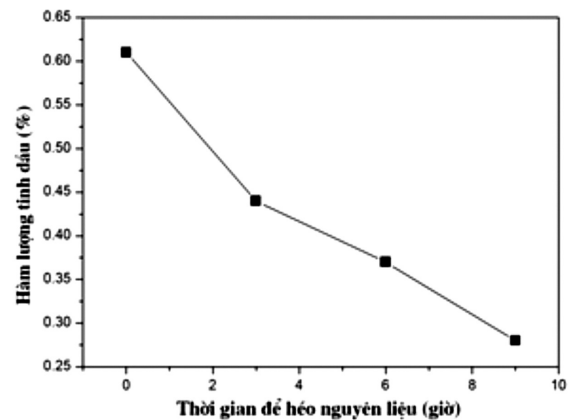
Hình 2. Sự phụ thuộc của hàm lượng tinh dầu hương nhu tía theo thời điểm thu hái (thời điểm thu hái trong ngày: 8 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 14 giờ và 16 giờ; 150g hương nhu tía hái vào lúc 8 giờ, thời gian để héo là 0 giờ với 450 ml dung dịch NaCl nồng độ 5%, thời gian chưng cất 3 giờ)

3.1.3. Ảnh hưởng của thời gian để héo nguyên liệu

Kết quả khảo sát thời gian để héo nguyên liệu đến hàm lượng tinh dầu chiết xuất được thể hiện ở hình 3.

Từ hình 3 cho thấy mẫu hương nhu tía hái về rồi đem tiến hành chưng cất ngay sẽ cho lượng tinh dầu cao nhất, còn nếu để héo thì lượng tinh dầu sẽ giảm dần theo thời gian để héo. Bởi lẽ,

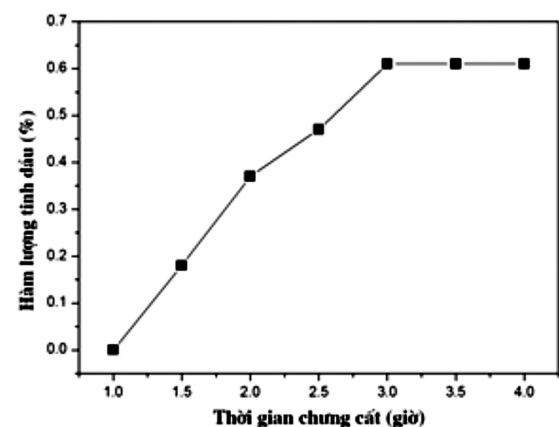
trong quá trình để héo mẫu hương nhu thì một số cấu tử có trong tinh dầu như β -caryophyllen, β -elemen bị phân hủy nên làm cho lượng tinh dầu giảm.¹³



Hình 3. Sự phụ thuộc của hàm lượng tinh dầu hương nhu tía theo thời gian để héo nguyên liệu (thời gian để héo nguyên liệu: 0 giờ, 3 giờ, 6 giờ và 9 giờ; 150g hương nhu tía hái vào lúc 12 giờ với 450 ml dung dịch NaCl nồng độ 5%, thời gian chưng cất 3 giờ)

3.1.4. Ảnh hưởng của thời gian chưng cất mẫu

Kết quả khảo sát sự phụ thuộc của hàm lượng tinh dầu theo thời gian chưng cất được thể hiện ở hình 4.



Hình 4. Sự phụ thuộc của hàm lượng tinh dầu hương nhu tía theo thời gian chưng cất (thời gian chưng cất 0 ÷ 4 giờ, 150g hương nhu tía hái vào lúc 12 giờ, thời gian để héo nguyên liệu là 0 giờ với 450 ml dung dịch NaCl nồng độ 5%)

Đồ thị hình 4 cho thấy hàm lượng tinh dầu tăng từ khi mới chưng cất cho đến 3 giờ. Sau khi chưng cất được 3 giờ thì lượng tinh dầu không thay đổi. Điều này cho thấy với thời gian chưng

cát nhỏ hơn 3 giờ thì chưa đủ để trích ly hết tinh dầu. Với thời gian chưng cất từ 3 giờ đến 4 giờ thì tinh dầu trong mẫu đã được trích ly hết nên lượng tinh dầu thu được là không đổi theo thời gian (0,911g). Do đó để tiết kiệm năng lượng cũng như thời gian thì thời gian chưng cất thích hợp nhất cho 150g hương nhu tím là 3 giờ.

Qua khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu chiết xuất cho thấy điều kiện tối ưu để chiết xuất tinh dầu hương nhu tím ở Bình Định là hái hương nhu vào lúc 12 giờ, sau đó tiến hành chưng cất ngay với 450 ml dung dịch NaCl nồng độ 5% ứng với 150g hương nhu tím, thời gian chưng cất là 3 giờ thì thu được tinh dầu với hàm lượng 0,61% so với mẫu tươi. So sánh với hàm lượng tinh dầu hương nhu tím ở Ấn Độ (0,45%), ở Úc (0,57%) thì hàm lượng tinh dầu hương nhu tím ở Bình Định cao hơn (0,61%).^{4,14} Sự khác nhau về hàm lượng tinh dầu là do sự khác nhau về điều kiện thổ nhưỡng, khí hậu cũng như sự khác nhau về kỹ thuật chiết xuất tinh dầu (chiết xuất với sự có mặt của muối NaCl).

3.2. Tính chất cảm quan và một số chỉ số hóa lý của tinh dầu hương nhu tím

Tinh dầu hương nhu tím thu được là chất lỏng màu vàng nhạt, mùi thơm.

Bảng 1. Một số chỉ số hóa lý của tinh dầu hương nhu tím

Tỷ trọng (d_{25}^{25})	Chỉ số axit (IA)	Chỉ số este (IE)
0,98	0,74	5,72

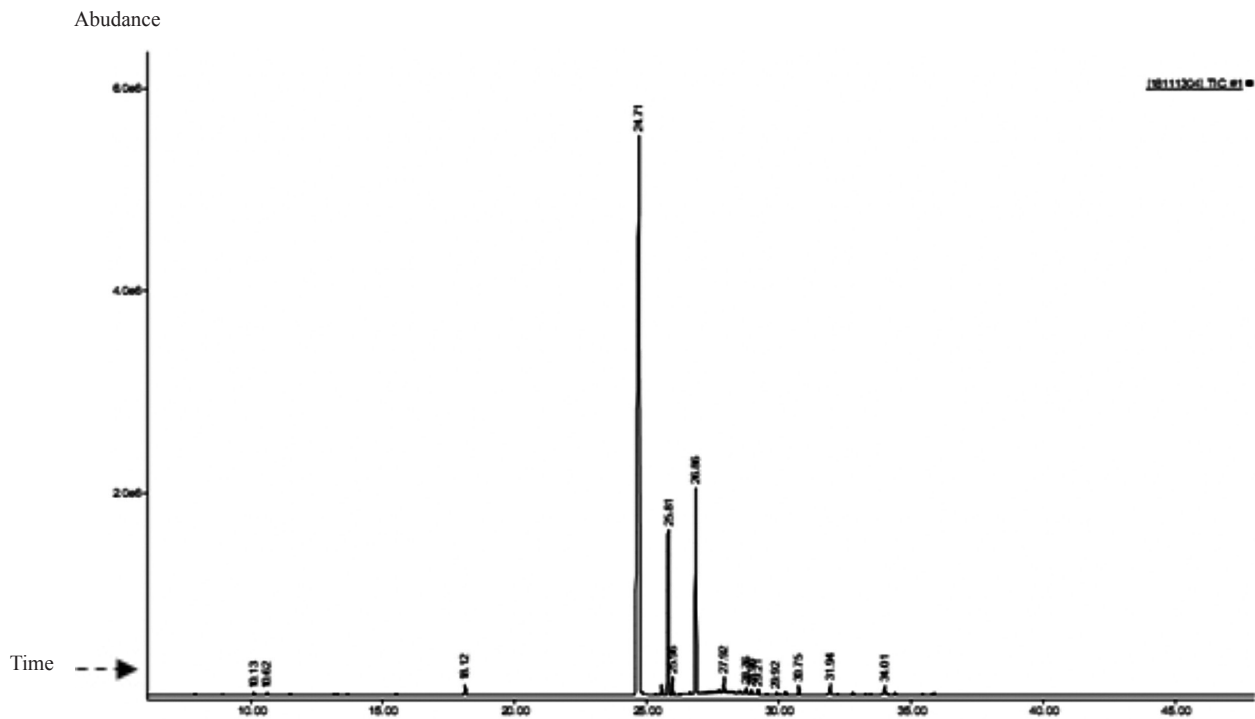
Từ bảng 1 nhận thấy, tinh dầu hương nhu tím ở 25°C có tỷ trọng bằng 0,98. Kết quả thực nghiệm này phù hợp với công bố của tài liệu.¹⁵ Tỷ trọng của tinh dầu thu được xấp xỉ bằng 1 nên việc dùng dung dịch muối NaCl để tăng cường sự tách lớp là rất cần thiết. Ngoài ra, kết quả thực nghiệm cũng cho thấy tinh dầu hương nhu tím có chỉ số axit, chỉ số este rất thấp.

3.3. Thành phần hóa học của tinh dầu hương nhu tím

Sắc ký đồ của tinh dầu hương nhu tím ở Bình Định được biểu diễn ở hình 5.

Thành phần hóa học của tinh dầu hương nhu tím ở Bình Định được trình bày trong bảng 2.

Kết quả GC-MS cho thấy có 15 chất trong tinh dầu đã được định danh với tổng hàm lượng là 99,07%. Các cấu tử chính trong tinh dầu là eugenol (71,21%), β -caryophyllen (12,96%) và cis- β -elemen (9,67%). Trong đó eugenol là chất chiếm hàm lượng cao nhất trong tinh dầu (71,21%). So sánh hàm lượng eugenol trong tinh dầu hương nhu tím ở Ấn Độ (60,24%) Hungary (60,20%), Cuba (34,3%) thì lượng eugenol trong tinh dầu ở Bình Định là cao hơn nhiều.^{4,16,17} Kết quả nghiên cứu này mở ra tiềm năng khai thác eugenol từ tinh dầu cây hương nhu tím ở Bình Định.



Hình 5. Sắc ký đồ của tinh dầu hương nhu tía ở Bình Định

Bảng 2. Thành phần hóa học tinh dầu hương nhu tía ở Bình Định

STT	Thời gian lưu (phút)	Hợp chất	Hàm lượng (%)
1	10,13	α -pinen	0,11
2	10,62	camphen	0,11
3	18,12	endo-borneol	0,54
4	24,71	eugenol	71,21
5	25,81	cis- β -elemen	9,67
6	25,96	metyl eugenol	1,02
7	26,86	β -caryophyllen	12,96
8	27,92	α -humulen	0,86
9	28,76	D-germacren	0,31
10	28,96	β -selinen	0,27
11	29,21	α -selinen	0,32
12	29,92	δ -cadinen	0,12
13	30,75	elemol	0,50
14	31,95	caryophyllene oxit	0,66
15	34,01	neointermedeol	0,68
Tổng			99,07

3.4. Hoạt tính kháng vi sinh của tinh dầu hương nhu tím

Bảng 3 trình bày kết quả thử hoạt tính của tinh dầu hương nhu tím ở Bình Định.

Từ bảng 3 cho thấy tinh dầu hương nhu tím ở Bình Định có khả năng ức chế mạnh sự phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus fermentum* và *Staphylococcus aureus*. Cụ thể với nồng độ tinh dầu hương nhu tím là 16 µg/ml

thì 15% vi khuẩn *Lactobacillus fermentum* bị ức chế, còn ứng với nồng độ tinh dầu là 256 µg/ml thì 32% vi khuẩn *Lactobacillus fermentum* và 30% vi khuẩn *Staphylococcus aureus* bị ức chế. Ngoài ra tinh dầu này cũng có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Bacillus subtilis* và vi khuẩn *Pseudomonasa eruginosa*. Kết quả nghiên cứu này góp phần làm cơ sở khoa học cho tác dụng điều trị các bệnh nhiễm khuẩn của loại tinh dầu này.

Bảng 3. Hoạt tính kháng vi sinh của tinh dầu hương nhu tím ở Bình Định

Nồng độ thử (µg/mL)	Phần trăm ức chế vi sinh tại các nồng độ thử (%)			
	Gram(+)			Gram(-)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Pseudomonasa eruginosa</i>
256	30	10	32	18
64	15	0	23	11
16	0	0	15	0
4	0	0	0	0

4. KẾT LUẬN

Bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước, tinh dầu hương nhu tím ở Bình Định đã được chiết xuất với hàm lượng 0,61% so với mẫu tươi. Điều kiện tối ưu để chiết xuất tinh dầu là hái hương nhu vào lúc 12 giờ, sau đó tiến hành chưng cất ngay với 450 ml dung dịch NaCl nồng độ 5% ứng với 150g hương nhu tím, thời gian chưng cất là 3 giờ.

Đã xác định được các chỉ số hóa lý của tinh dầu hương nhu tím: tỷ trọng ở 25°C là 0,98, chỉ số axit là 0,74 và chỉ số este là 5,72.

Đã xác định được thành phần hóa học của tinh dầu. Các cấu tử chính trong tinh dầu là eugenol (71,21%), β-caryophyllen (12,96%) và cis-β-elemen (9,67%). Trong đó eugenol là chất chiếm hàm lượng cao nhất trong tinh dầu.

Đã thử hoạt tính kháng vi sinh của tinh dầu. Kết quả thử hoạt tính cho thấy tinh dầu hương nhu tím có khả năng ức chế mạnh đối với sự phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus fermentum* và *Staphylococcus aureus*. Ngoài ra tinh dầu này cũng có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Bacillus subtilis* và vi khuẩn *Pseudomonasa eruginosa*.

Kết quả nghiên cứu đã góp phần mở ra tiềm năng khai thác tinh dầu hương nhu tím ở Bình Định.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nxb Hồng Đức, **2013**.

2. Nguyễn Thạch Bích, Võ Văn Chuyên, Vũ Văn Dũng, Lê Văn Quý, Trịnh Đình Thanh dịch. *Những họ thực vật có hoa: Cây hai lá mầm - tập 1*, Nxb Khoa học và kỹ thuật, **1975**.

3. A. K Shasany, The Holy Basil (*Ocimum sanctum* L.) and its Genome, *Indian Journal of History of Science*, **2016**, 51.2.2, 343.

4. P. Raina, Ashok Kumar, M. Dutta. Chemical characterization of aroma compounds in essential isolated from “Holy Basil” (*Ocimum tenuiflorum* L.) in India, *Genet Resour Crop Evol*, **2013**, 60, 1727.

5. K. J. Bhatt. *Ocimum Sanctum: The Indian Medicinal plant*, *International Journal of Chemtech Application*, **2012**, 3(1), 53.

6. G. S. Krishna, T. B. Ramesh, P. P. Kumar. *Tulsi - the Wonder Herb (Pharmacological Activities*

- of *Ocimum Sanctum*), *American Journal of Ethnomedicine*, **2014**, 1(1), 89.
7. A. K. Pandey, P. Singh, N. N. Tripathi. *Chemistry and bioactivities of essential oils of some Ocimum species: An Overview*, **2014**, 4(9), 682.
 8. Nguyen Huu Dinh, Trinh Thi Huan, Hoang Thi Tuyet Lan. Sang-Bae Han, Hidrazones and 1,3-thiazolidin-4-ones incorporating furoxan moiety synthesized from eugenol the main constituent of *Ocimum sanctum* L.oil, *Heterocycles*, **2013**, 87(11), 2319.
 9. Nguyen Huu Dinh, Le Van Co, Nguyen Manh Tuan, Le Thi Hong Hai and Luc Van Meervelt. New route to novel polysubstituted quinolines starting with eugenol, the main constituent of *ocimum sanctum* l. oil, *Heterocycles*, **2012**, 85(3), 627.
 10. Nguyễn Năng Vinh. *Kỹ thuật khai thác và sơ chế tinh dầu*, Nxb Nông nghiệp, 1977.
 11. Đỗ Tất Lợi. *Tinh dầu Việt Nam*, Nxb Y học, 1985.
 12. Vũ Văn Vụ, Vũ Thanh Tâm, Hoàng Minh Tâm. *Sinh lý học thực vật*, Nxb Giáo dục, 1999.
 13. C. Turek, F. C. Stintzing. Stability of Essential Oils: A Review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **2013**, 12, 40.
 14. H. A. Yamani, E. C. Pang, N. Mantri, M. A. Deighton. Antimicrobial Activity of Tulsi (*Ocimum tenuiflorum*) Essential Oil and Their Major Constituent against Three Species of Bacteria, *Front Microbiol*, **2016**, 7, 681.
 15. N. Dev, A. K. Das, M. A. Hossain, S. M. M. Rahman, Chemical Compositions of Different Extracts of *Ocimum basilicum* Leaves, *J. Sci. Res*, **2011**, 3(1), 197.
 16. B. Bernhardt, K. Szabo, J. Bernath, Sources of variability in essential oil composition of *Ocimum Americanum* and *Ocimum Tenuiflorum*, *Acta Alimentaria*, **2015**, 44(1), 111.
 17. Jorg A. Pino, Aristides Rosado, Marya Rodriguez, Dinash Garcia. Composition of the Essential Oil of *Ocimum tenuiflorum* L. Grown in Cuba, *Journal of Essential Oil Research*, **1998**, 10(4), 437.