

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN, KHÁNG NẤM CỦA TINH DẦU CÂY KINH GIỚI (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland.,)

ĐẶNG THỊ THANH NHÀN - LÊ THỊ HUYỀN
Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Huế
ĐT: 0982 208 193, Email: nhanhoasp@gmail.com

Tóm tắt: Kết quả phân tích GC/MS tinh dầu lá cây kinh giới cho thấy tinh dầu này chứa 34 cấu tử, trong đó có 26 cấu tử được định danh, chiếm 97,5% thành phần hóa học của tinh dầu. Các cấu tử chính của tinh dầu gồm geranial (28,4%), β -cis-ocimen (23,0%), neral (21,7%). Tinh dầu lá kinh giới có hoạt tính kháng vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* và nấm *Candida albicans* nhưng không có hoạt tính kháng các vi khuẩn *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus fermentum*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Từ khóa: kinh giới, GC-MS, geranial, kháng khuẩn.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kinh giới là một loài cây thảo, có tên khoa học là *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland., thuộc họ Hoa môi (Lamiaceae). Cây kinh giới có thể mọc ở các địa hình khác nhau từ khu vực đồi núi đến bờ sông suối, các khu vực có nhiều nắng. Cây được tìm thấy ở nhiều nước châu Á như Trung Quốc, Ấn Độ, Lào, Campuchia, Thái Lan,...[4]. Ở Việt Nam, cây kinh giới được trồng rất nhiều nơi. Lá cây được dùng như một loại rau gia vị và vị thuốc kinh giới được dùng để chữa cảm sốt, đau bụng nôn mửa, tiêu chảy, chữa trị phong thấp, đau xương, mụn nhọt hay dị ứng [2], [4], [5]. Một công trình nghiên cứu trong nước cho thấy thành phần hóa học của tinh dầu cây kinh giới ở Việt Nam chứa chủ yếu là terpenoit với cấu tử chính là neral và geranial [1]. Một công trình nghiên cứu khác của loài này ở Nga lại chỉ ra thành phần chủ yếu của tinh dầu là elsholtzia xeton [3]. Kết quả khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của tinh dầu loài *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland. ở Thừa Thiên Huế sẽ góp phần vào việc sử dụng hiệu quả loài này ở địa phương.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu

Mẫu lá cây kinh giới được thu hái tại huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên Huế. Mẫu được định danh bởi nhà giáo ưu tú Đỗ Xuân Cẩm, nguyên giảng viên Phân loại Thực vật, trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế. Mẫu tiêu bản hiện đang được lưu giữ tại phòng thí nghiệm Hợp chất tự nhiên, khoa Hóa học, trường Đại học Sư phạm, Đại học Huế.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chung cất tinh dầu

Lá cây kinh giới tươi được rửa sạch, cắt nhỏ và tiến hành chưng cất bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước trong 3 giờ. Mỗi lần tiến hành chưng cất với 150 g mẫu lá và thu được mẫu tinh dầu màu vàng nhạt, có mùi thơm, nhẹ hơn nước. Tinh dầu được làm khô bằng natri sunfat khan, bảo quản trong chai thủy tinh đậy kín ở nhiệt độ 4⁰C.

2.2.2. Xác định thành phần hóa học

Thành phần hóa học của tinh dầu lá cây kinh giới được xác định bằng phương pháp sắc ký khí - khối phổ liên hợp (GC-MS) trên hệ thống thiết bị GCMS-QP2010 Plus của hãng Shimadzu, Nhật Bản tại phòng Phân tích công cụ, khoa Hóa học, trường Đại học Sư phạm, Đại học Huế. Hệ thống GCMS-2010 được lắp với cột tách mao quản Equity-5 với chiều dài 30 m, đường kính trong 0,25 mm, lớp phim mỏng 0,25 μ m cùng với đầu dò khối phổ MS QP2010 Plus. Chế độ ion hóa va chạm điện tử (EI) được sử dụng với năng lượng 70 eV. Khí mang heli tinh khiết được sử dụng với tốc độ dòng 1,78 mL/phút. Kiểu bơm mẫu split với tỉ lệ chia dòng 1:30, mẫu được bơm tự động với thể tích 1 μ L. Nhiệt độ vòi phun 250⁰C, nhiệt độ giao diện khối phổ 250⁰C, nhiệt độ buồng ion hóa 300⁰C. Điện thế đầu dò 0,82 kV. Chế độ quét toàn bộ, dải quét 40÷350 amu. Chương trình nhiệt độ lò sắc ký khí: nhiệt độ đầu 40⁰C (giữ đẳng nhiệt trong 1 phút), tăng 3⁰C/phút đến 285⁰C (giữ đẳng nhiệt trong 5 phút).

Việc xác định các thành phần trong tinh dầu được thực hiện bởi phần mềm GCMS Solution bằng cách so sánh thời gian lưu, mô hình phân mảnh khối lượng với những dữ liệu của mẫu tham khảo có sẵn và cơ sở dữ liệu phổ khối của các cấu tử với phổ chuẩn đã được công bố ở thư viện NIST 0.5 và NIST 0.5s.

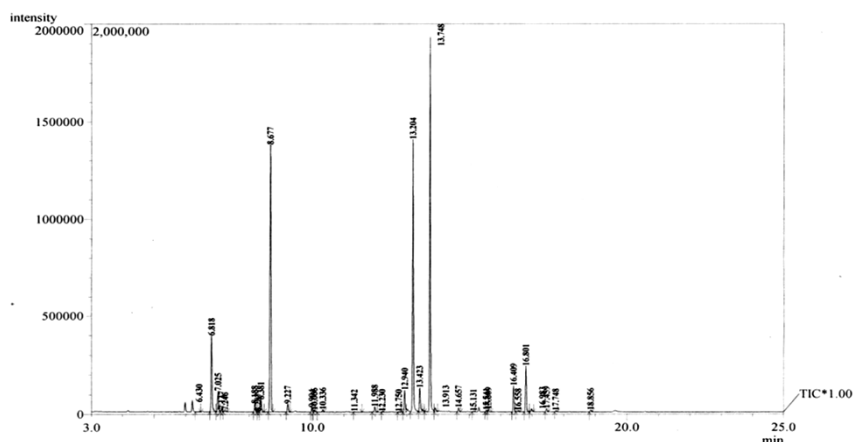
2.2.3. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm

Hoạt tính kháng một số vi khuẩn Gram (-) *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, vi khuẩn Gram (+) *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus fermentum* và nấm *Candida albicans* được thực hiện tại phòng Hóa sinh ứng dụng, Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam bằng phương pháp khuếch tán.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hóa học của tinh dầu lá cây kinh giới

Từ 1,2 kg mẫu lá cây kinh giới tươi, tiến hành chưng cất lôi cuốn hơi nước thu được 2,7 mL tinh dầu màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước chiếm hàm lượng 0,2%.



Hình 1. Sắc ký đồ GC của tinh dầu lá cây kinh giới (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland.)

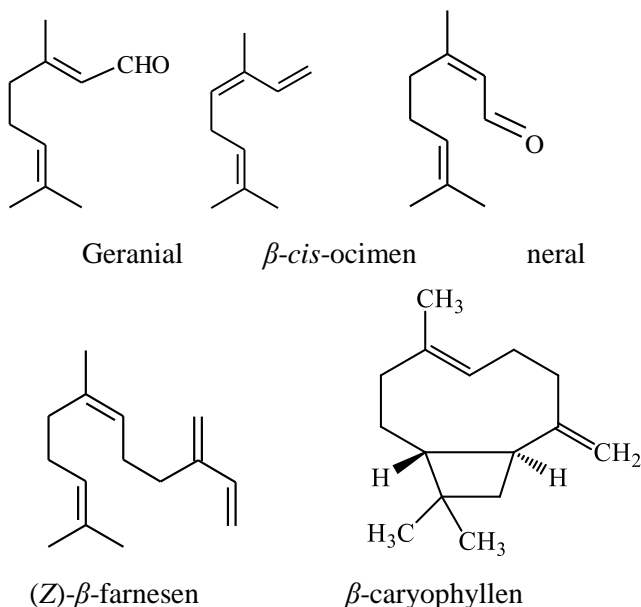
Kết quả phân tích GC-MS tinh dầu lá cây kinh giới cho thấy tinh dầu chứa 34 cấu tử, trong đó có 26 cấu tử được định danh, chiếm 97,5% thành phần hóa học của tinh dầu. Các cấu tử được định danh được liệt kê ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần hóa học tinh dầu lá cây kinh giới

TT	RT (phút)	Hợp chất	Hàm lượng (%)
1	6,818	Amyl vinyl cacbinol	6,469
2	7,025	6-Metylhept-5-en-2-on	1,937
3	7,137	β -Myrcen	0,234
4	7,246	Octan-3-ol	0,179
5	8,188	Limonen	0,768
6	8,381	β -trans-Ocimen	1,104
7	8,677	β-cis-Ocimen	22,992
8	9,227	Axetophenon	0,735
9	9,994	2-Pinen-4-on	0,400
10	10,066	β -Linalool	0,164
11	10,336	(1E)-1-Octenyl axetat	0,191
12	11,988	2-Pinen-4-ol	0,560
13	12,230	α -Terpineol	0,059
14	12,940	Nerol	1,938
15	13,204	Neral	21,679
16	13,423	Geraniol	2,020
17	13,748	Geranial	28,385
18	13,913	Metyl nerolat	0,417
19	14,657	Metyl geranat	0,339
20	15,609	Neryl axetat	0,195
21	16,409	β -Caryophyllen	2,143
22	16,558	trans- α -Bergamoten	0,126
23	16,801	(Z)- β -Farnesen	3,656
24	16,983	α -Caryophyllen	0,308

25	17,459	Germacren D	0,328
26	18,856	Nerolidol	0,176
Các cấu tử chưa định danh			2,498

Kết quả nghiên cứu cho thấy thành phần hóa học của tinh dầu lá cây kinh giới chủ yếu là các monotecpenoit như geranial, β -cis-ocimen, neral, geraniol, nerol, trong đó các hợp chất monotecpen chiếm 25,1% và các dẫn xuất chứa oxi của monotecpen chiếm 56,2% thành phần hóa học của tinh dầu. Ngoài ra, trong tinh dầu của lá cây kinh giới còn có một số cấu tử khác không phải là monotecpen nhưng chiếm tỉ lệ lớn như amyl vinyl cacbinol, (*Z*)- β -farnesen, β -caryophyllen.



Hình 2. Một số cấu tử chính trong tinh dầu lá cây kinh giới

Kết quả nghiên cứu này có nhiều điểm tương đồng với công bố của tác giả N. X. Dung và cộng sự [1]. Tinh dầu lá cây kinh giới thu hái ở thành phố Vinh và ở thành phố Hồ Chí Minh có thành phần chính là geranial (19,5-26,5%), neral (15,2-20,5%). Hai cấu tử chính khác là limonen (10,9-14,2%) (9) và (*Z*)- β -farnesen (10,8-11,7%). Trong nghiên cứu của chúng tôi, 2 cấu tử này có hàm lượng thấp hơn với limonen (0,768%) và (*Z*)- β -farnesen (3,656%). Nhiều cấu tử khác như linalool, nerol, geraniol, neryl axetat, methyl geranat, metyl nerolat, nerolidol đều được tìm thấy trong cả 2 nghiên cứu này.

Tuy vậy, kết quả nghiên cứu của tác giả E. A. Korolyuk và cộng sự về tinh dầu loài *Elsholtzia ciliata* ở Nga cho thấy có sự khác biệt [3]. Các cấu tử chính của loài này là dehidro-elsholtzia xeton (66,1-72,4%), α -dehidro-elsholtzion (2,0-5,7%), elsholtzia xeton (3,3-19,3%), perillen (2,1-3,9%) và humulen (1,5-3,8%). Trong khi đó các cấu tử này không có mặt trong nghiên cứu của chúng tôi và nghiên cứu của tác giả N. X. Dung [1]. Tuy nhiên một số cấu tử có mặt trong nghiên cứu của chúng tôi và của tác giả Korolyuk nhưng với hàm lượng khác biệt như octan-3-ol (0,2-0,5%), β -myrcen (vết-

0,1%), limonen (vết), axetophenon (0,2-1,9%), linalool (0,1%), α -terpinenol (0,3%), caryophyllen (0,2-0,5%), germacren D (0,2-0,5%), nerolidol (0,2%).

Các sự so sánh trên cho thấy thành phần hóa học của tinh dầu của cùng một loài thu hái ở các vùng khác nhau là không giống nhau về cả sự có mặt của các cấu tử cũng như hàm lượng của chúng. Điều này có thể được giải thích là do sự ảnh hưởng của khí hậu, thổ nhưỡng đến hàm lượng và thành phần hóa học của tinh dầu.

Thêm vào đó, tiến hành so sánh với thành phần hóa học tinh dầu với loài kinh giới rừng (*Elsholtzia blanda* (Benth.) Benth.) ở tỉnh Thừa Thiên Huế [6], chúng tôi nhận thấy có khá nhiều sự giống nhau. Có 18 cấu tử có mặt trong cả hai tinh dầu, trong đó có 2 cấu tử chiếm hàm lượng lớn là β -cis-ocimen và geraniol. Tuy nhiên, 2 cấu tử chiếm hàm lượng lớn khác là oct-1-en-3-ol và 2-isopropenyl-5-metylhex-4-enal chỉ tìm thấy trong tinh dầu loài *Elsholtzia blanda* mà không tìm thấy trong tinh dầu loài *Elsholtzia ciliata*. Mặt khác, neral là cấu tử chiếm hàm lượng lớn thứ hai trong tinh dầu loài kinh giới *Elsholtzia ciliata* lại không có mặt trong tinh dầu loài kinh giới rừng *Elsholtzia blanda*. Sự so sánh cụ thể về thành phần hóa học của tinh dầu hai loài kinh giới ở Thừa Thiên Huế được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Bảng so sánh thành phần hóa học tinh dầu của hai loài kinh giới ở Thừa Thiên Huế

TT	Hợp chất	Loài <i>Elsholtzia ciliata</i>	Loài <i>Elsholtzia blanda</i> [6]
1	Amyl vinyl cacbinol	6,469	-
2	6-Metylhept-5-en-2-on	1,937	8,145
3	β -Myrcen	0,234	0,375
4	Octan-3-ol	0,179	0,182
5	Limonen	0,768	2,726
6	β -trans-Ocimen	1,104	-
7	β-cis-Ocimen	22,992	18,099
8	Axetophenon	0,735	3,095
9	2-Pinen-4-on	0,400	-
10	β -Linalool	0,164	0,701
11	(1E)-1-Octenyl axetat	0,191	0,087
12	2-Pinen-4-ol	0,560	-
13	α -Terpineol	0,059	0,227
14	Nerol	1,938	4,168
15	Neral	21,679	-
16	Geraniol	2,020	3,303
17	Geraniol	28,385	15,360
18	Metyl nerolat	0,417	-
19	Metyl geranat	0,339	0,299
20	Neryl axetat	0,195	-
21	β -Caryophyllen	2,143	3,706
22	trans- α -Bergamoten	0,126	0,095
23	(Z)- β -Farnesen	3,656	7,644

24	α - Caryophyllen	0,308	0,378
25	Germacren D	0,328	-
26	Nerolidol	0,176	0,161
27	Oct-1-en-3-ol	-	13,361
28	2-isopropenyl-5-metylhex-4-enal	-	12,750
29	α -pinen	-	1,196
30	Hex-3-en-1-ol	-	0,836
31	1-axetyl-2-metylxiclopenten	-	0,198
32	Caryophyllen oxit	-	0,198
33	3-phenylbutan-2-on	-	0,152
34	7-metyl-3-metylenoct-6-en-1-ol	-	0,105
35	Hexyl formiat	-	0,095
36	Benzandehit	-	0,080

3.2. Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm

Bảng 3. Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của tinh dầu lá cây kinh giới

TT	Tên loài vi khuẩn, vi nấm		Đường kính vòng tròn vô khuẩn (mm//5 μ L/giếng)	Hoạt tính
1	Vi khuẩn Gram (-)	<i>Escherichia coli</i>	14	+
2		<i>Salmonella enterica</i>	0	-
3		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	-
4	Vi khuẩn Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	21	+
5		<i>Bacillus subtilis</i>	0	-
6		<i>Lactobacillus fermentum</i>	0	-
7	Vi nấm	<i>Candida albicans</i>	không mọc	+

(+): thể hiện hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm

(-): không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn

Kết quả trên cho thấy tinh dầu loài *Elsholtzia ciliata* ở Thừa Thiên Huế có hoạt tính kháng vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. Tinh dầu cũng có khả năng kháng nấm *Candida albicans*. Điều này lý giải việc sử dụng cây kinh giới như một vị thuốc trong dân gian để chữa một số bệnh như tiêu chảy, mụn nhọt, cảm sốt,... Tuy nhiên tinh dầu loài này không thể hiện hoạt tính kháng một số vi khuẩn khác như *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus fermentum*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*.

4. KẾT LUẬN

Thành phần hóa học của tinh dầu lá cây kinh giới ở Thừa Thiên Huế đã được xác định với sự có mặt của 34 cấu tử. Với hàm lượng tinh dầu khá lớn (0,2%) và khả năng kháng

một số vi khuẩn, vi nấm, loài *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland. có thể được xem xét là nguồn sản xuất tinh dầu tiềm năng ở địa phương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyen, X.D. - Le, V.H. – Le H.H. - Leclercq, P.A. (1996). Composition of the Essential Oils from the Aerial Parts of *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland. from Vietnam, *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 8 , No. 1, 107-109.
- [2] Guo Z., Liu Z., Wang X., Liu W., Jiang R., Cheng R., She G. (2012). *Elsholtzia*: phytochemistry and biological activities, *Chemistry Central Journal*, 6-147.
- [3] Korolyuk E. A., König W., Tkachev A. V. (2002). Composition of essential oil of *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl. from the Novosibirsk region, Russia, *Chemistry of plant raw materials*, No 1, 31-36.
- [4] Liu A. L, Lee S. M. Y., Wang Y. T., Du G. H. (2007). *Elsholtzia*: review of traditional uses, chemistry and pharmacology, *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, Vol. 16, 73–78.
- [5] Đỗ Tất Lợi (2001). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- [6] Lê Thị Hải Ngọc (2013). *Nghiên cứu thành phần hóa học và thử hoạt tính sinh học tinh dầu cây kinh giới rừng (*Elsholtzia blanda* (Benth.) Benth.) ở tỉnh Thừa Thiên Huế*, Đề tài nghiên cứu khoa học cấp trường, trường Đại học Sư phạm Huế.

Title: STUDY ON CHEMICAL CONSTITUENTS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF ESSENTIAL OIL FROM *ELSHOLTZIA CILIATA* (THUNB.) HYLAND

Abstract: Thirty four constituents in the essential oil from the leaves of *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland. were analyzed by gas chromatography–mass spectrometry (GC/MS). Twenty six of them were identified, representing 97.5% of the total amount. The main constituents of the essential oil were geranial (28.4%), β -cis-ocimene (23.0%), and neral (21.7%). The essential oil from the leaves of *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland. had antimicrobial effect against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* but did not show that activity against *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus fermentum*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland, GC-MS, geranial, antimicrobial