



NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA TINH DẦU TỪ LÁ BẠCH ĐÀN THỨ SINH (*EUCALYPTUS*) TẠI THÀNH PHỐ VIỆT TRÌ, TỈNH PHÚ THỌ

Phùng Thị Lan Hương^{1*}, Nguyễn Thị Định¹

¹Khoa Khoa học tự nhiên, Trường Đại học Hùng Vương, Phú Thọ

Ngày nhận bài: 06/11/2019; Ngày chỉnh sửa: 26/02/2020; Ngày duyệt đăng: 06/3/2020

Tóm tắt

Cây bạch đàn có tên khoa học là *Eucalyptus*, trồng ở nhiều vùng khác nhau tại tỉnh Phú Thọ và được biết đến nhiều thập kỷ bởi có giá trị cao về kinh tế và dược lý. Mục tiêu của nghiên cứu là xác định thành phần hóa học và khả năng kháng khuẩn của tinh dầu bạch đàn thứ sinh được trồng tại Việt Trì, tỉnh Phú Thọ. Bằng phương pháp GC-MS đã xác định được có 23 hợp chất được nhận diện trong tinh dầu từ lá bạch đàn thứ sinh, chiếm tỷ lệ 99,52%. Thành phần chính là 1,8-cineole (38,34%), α -pinene (18,86%), α -Terpinyl acetate (9,00%). Tinh dầu từ lá bạch đàn thứ sinh có thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với hai loài *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus*.

Từ khóa: Bạch đàn thứ sinh, hoạt tính kháng khuẩn, tinh dầu, 1,8-cineole.

1. Đặt vấn đề

Cây bạch đàn, còn gọi là cây khuynh diệp, tên khoa học *Eucalyptus*, thuộc họ Sim Myrtaceae. Tên bạch đàn là tên có từ lâu ở vùng Nghệ An, Hà Tĩnh, tên Khuynh diệp là do mùi tinh dầu có mùi tinh dầu trầm. Hiện nay tên bạch đàn được dùng phổ biến hơn ở Việt Nam với số lượng khoảng trên 20 loài [1, 2].

Trong sản xuất, bạch đàn được trồng với diện tích lớn chủ yếu bởi khả năng cung cấp gỗ. Do có khả năng tái sinh cao, nên trong quá trình sản xuất bạch đàn người dân thường

khai thác bạch đàn tái sinh ít nhất một chu kỳ để tiết kiệm chi phí đầu tư. Tuy nhiên, việc tái sinh chồi thường cho năng suất gỗ giảm dần sau mỗi lần khai thác rừng chồi bạch đàn. Bên cạnh đó, lá bạch đàn khi rụng xuống đất thường ức chế sự phát triển của một số loại vi sinh vật và cả thực vật khác, nên làm suy giảm đa dạng sinh học, giảm khả năng mùn hóa xác thực vật.

Tỉnh Phú Thọ hiện có 55% diện tích đất tự nhiên là rừng và đất lâm nghiệp, trong đó có trên 9.000 ha rừng trồng bạch đàn, diện tích rừng bạch đàn tái sinh là khá lớn (5.000 ha). Vì vậy, nếu có thể tận dụng được nguồn

nguyên liệu lá bạch đàn thứ sinh tại tỉnh Phú Thọ để sản xuất tinh dầu sẽ làm tăng hiệu quả của quá trình sản xuất bạch đàn, hạn chế tác động xấu tới sinh thái [1].

Tinh dầu bạch đàn màu vàng nhạt, ở thể lỏng, mùi thơm vị lúc đầu mát sau đó nóng, tỷ trọng 0,910-0,930, độ sôi 168-180°C. Thành phần chủ yếu của tinh dầu là cineol hay Eucalyptol hay 1,8-cineole (60-85%) [2, 3, 4].

Theo Daizy R. Batish và cộng sự (2008), Duke (2004), Brooker và Kleinig (2006), Liu, (2008),... tinh dầu một số loài bạch đàn là một hỗn hợp phức tạp của nhiều monoterpenes và sesquiterpenes khác nhau, cùng với các phenol và oxit, ester, ancol, ete, andehyt và xeton... Các tác giả cũng khẳng định rằng do các thành phần như 1,8-cineole, p-cymene, eucamalol, limonene, linalool, α -pinene, γ -terpinene, α -terpineol, alloocimene và aromadendrene nên tinh dầu bạch đàn có hoạt tính trừ sâu hại, diệt nấm và vi sinh vật [5, 6, 7].

Thành phần và chất lượng tinh dầu bạch đàn phụ thuộc vào từng loài, khu vực trồng, khí hậu, loại đất và tuổi của lá, chế độ phân bón, đồng thời còn phụ thuộc vào phương pháp tách chiết. Hiện nay chưa có nghiên cứu nào được công bố về thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu từ lá bạch đàn thứ sinh được trồng tại tỉnh Phú Thọ.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Hóa chất và thiết bị nghiên cứu

Hóa chất: Dung môi được sử dụng gồm: Nước cất, NaCl, NaOH, HCl, Na₂SO₄.

Thiết bị nghiên cứu: Cân phân tích, cân kỹ thuật; Máy đo khúc xạ; Máy đo độ phân cực; Hệ thống chiết Soxhlet, phễu chiết, bộ nồi chưng cất lôi cuốn hơi nước (10 lít).

Phương pháp đo GS-MS được thực hiện trên máy GC789A-MS 5975C của hãng Agilent Technologies tại Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Với điều kiện: Nhiệt độ cột 60 - 170°C, tốc độ tăng nhiệt 4°C/phút, nhiệt độ buồng bơm mẫu ở 180°C và detector (FID) 230°C, khí mang là heli tốc độ 1,0 ml/phút; tốc độ chia dòng 1.

Bộ dụng cụ chuẩn độ để chuẩn độ các chỉ số lý hóa: chỉ số axit-IA (TCVN 8450:2010), chỉ số savon hóa-IS, chỉ số ester hóa-IE (TCVN 8451:2010), thực hiện tại Phòng Hóa học Vô cơ - Phân tích, Bộ môn Hóa học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Hùng Vương [8].

Chủng vi sinh vật *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus* và thí nghiệm khảo sát hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch tại Phòng thí nghiệm Khoa Nông - Lâm - Ngư của Trường Đại học Hùng Vương.

2.2. Chế tạo tinh dầu lá bạch đàn

- Chuẩn bị nguyên liệu:

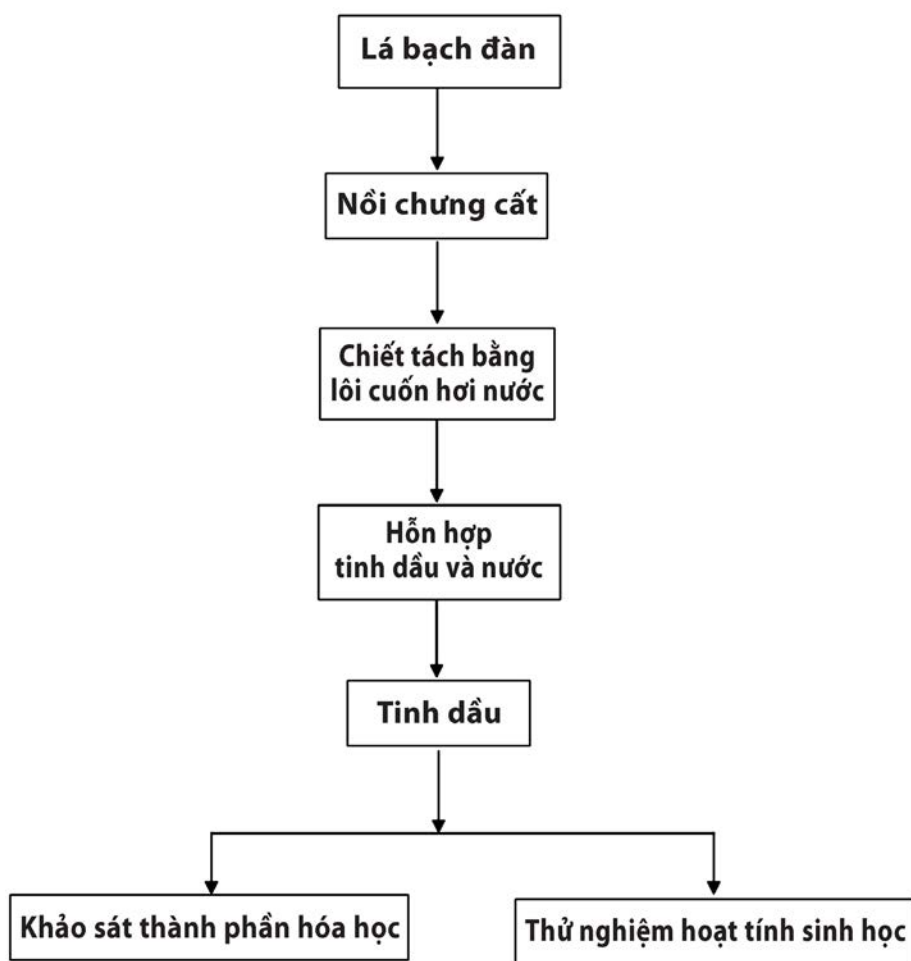
Nguyên liệu được sử dụng trong nghiên cứu là lá cây bạch đàn thứ sinh được thu hái tại khuôn viên Trường Đại học Hùng Vương, thành phố Việt Trì, tỉnh Phú Thọ.

Việc xác định tên khoa học được thực hiện tại Phòng Sinh học thực vật, bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Hùng Vương.

Nguyên liệu được để héo trong vòng 3 ngày trong bóng râm sau đó xay nhỏ bằng máy xay.

- Chiết tách tinh dầu:

Nguyên liệu chuẩn bị xong được cho vào nồi chưng cất lõi cuộn hơi nước, khối lượng nguyên liệu sử dụng là 60kg lá bạch đàn thứ sinh đã được xay nhỏ. Quy trình chiết tách tinh dầu từ lá bạch đàn thứ sinh được tiến hành như Hình 1:



Hình 1. Quy trình chiết tách tinh dầu từ lá bạch đàn thứ sinh

Tinh dầu sau đó được tách nước bằng muối Na_2SO_4 khan, và đựng vào lọ thủy tinh tối màu, lưu trữ ở nhiệt độ thường sau đó đem xác định chỉ số lý hóa, xác định thành phần hóa học và khả năng kháng khuẩn.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

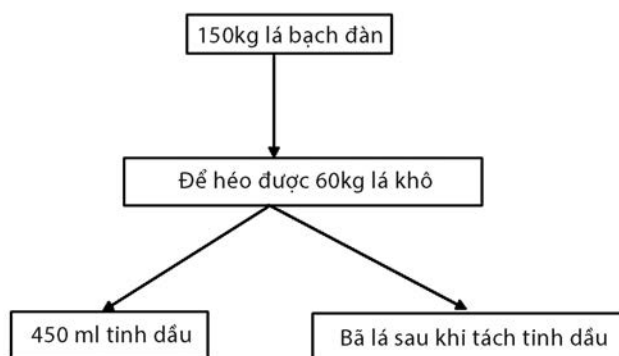
3.1. Chứng cất tinh dầu

Chứng cất tinh dầu từ lá bạch đàn thứ sinh bằng phương pháp chưng cất hơi nước tiến hành trong 3 giờ.

Hàm lượng tinh dầu trong lá bạch đàn thứ sinh được tính theo công thức:

$$\text{Hàm lượng} = \frac{\text{Số ml tinh dầu} \times \text{Tỷ trọng tương đối}}{\text{Khối lượng lá tươi}} \times 100\%$$

Kết quả chưng cất tinh dầu từ lá bạch đàn thứ sinh sau 3 giờ được trình bày ở Hình 2:



Hình 2. Hàm lượng tinh dầu trong lá bạch đàn

3.2. Chỉ số vật lý và hóa học

Mẫu tinh dầu từ lá bạch đàn thứ sinh thu được có màu vàng nhạt, mùi thơm dễ chịu. Chỉ số acid phụ thuộc vào phương pháp khai thác và mức độ tươi nguyên của nguyên liệu.

Với nguyên liệu được bảo quản lâu thì chỉ số acid sẽ tăng lên do bị oxy hóa và ester

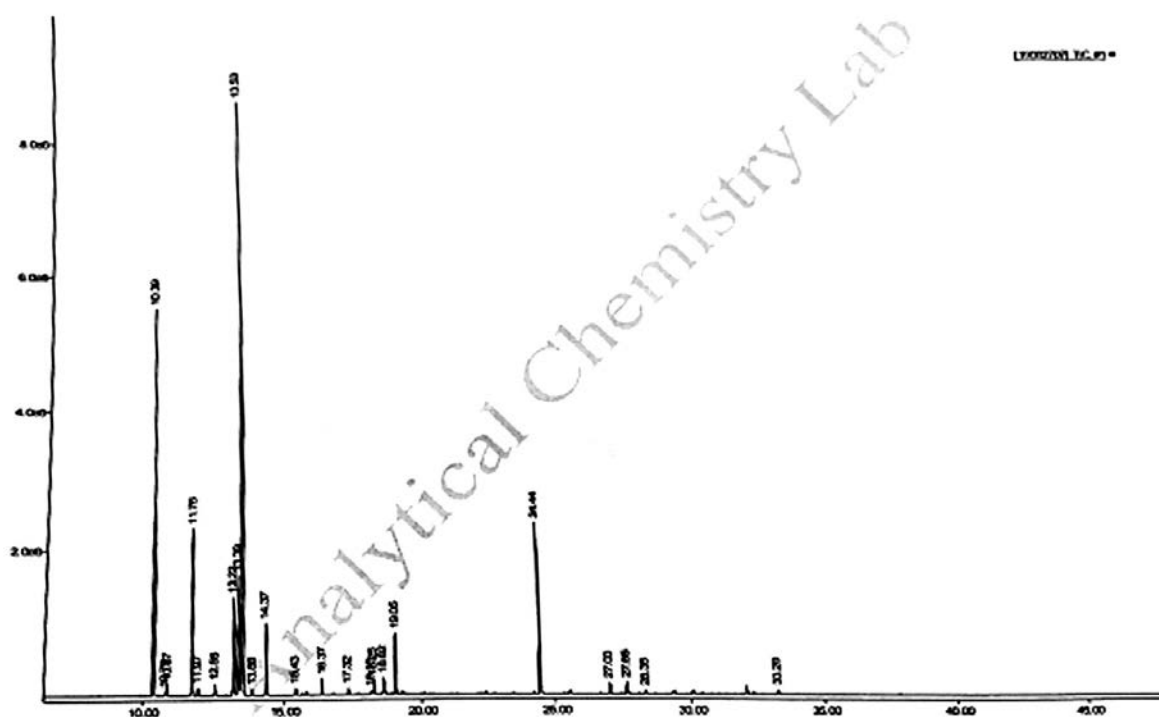
trong tinh dầu bị oxy hóa và ester trong tinh dầu bị phân giải. Từ chỉ số acid sẽ biết được lượng acid tự do có trong tinh dầu. Chỉ số xà phòng lớn chứng tỏ trong tinh dầu có các acid phân tử khối nhỏ và ngược lại. Chỉ số vật lý và hóa học của tinh dầu bạch đàn thứ sinh được trình bày ở Bảng 1:

Bảng 1. Chỉ số vật lý và hóa học của tinh dầu lá bạch đàn thứ sinh

Tỷ trọng tương đối	Chỉ số khúc xạ	Độ quay cực	IA	IE	IS
0,87347	1,5675	[-0,56]	3,367	10,569	15,378

3.3. Thành phần hóa học

Mẫu tinh dầu được phân tích bằng phương pháp sắc ký khí nối ghép khối phổ và detector ion hóa ngọn lửa tại Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Kết quả thu được như sau (xem Hình 3 và Bảng 2):



Hình 3. Sắc ký đồ GC của tinh dầu từ lá bạch đàn

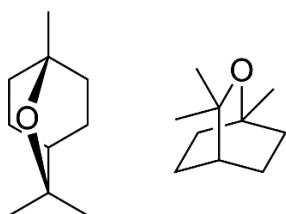
Bảng 2. Thành phần hóa học tinh dầu từ lá bạch đàn thứ sinh

STT	Thành phần	RI	%FID	STT	Thành phần	RI	%FID
1	α -Pinene	939	18,86	13	endo-Fenchol	1121	0,77
2	α -Fenchene	953	0,18	14	trans-Sabinol	1148	0,37
3	Camphene	955	0,53	15	Pinocarvone	1172	0,23
4	β -Pinene	984	7,83	16	endo-Borneol	1175	0,83
5	Myrcene	991	0,36	17	Terpinen-4-ol	1185	0,76
6	α -Phellandrene	1010	0,51	18	α -Terpineol	1197	3,04
7	o-Cymene	1029	5,00	19	α -Terpinyl acetate	1356	9,00
8	Limonene	1034	7,35	20	E-Caryophyllene	1473	0,53
9	1,8-cineole	1038	38,34	21	Aromadendrene	1457	0,62
10	(E)- β -Ocimene	1048	0,26	22	9-epi-Caryophyllene	1479	0,21
11	Terpinolene	1063	3,34	23	1-epi-Cubenol	1646	0,27
12	Terpinolene	1094	0,33				
Tổng							99,52

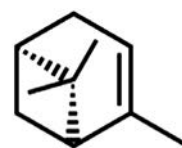
Kết quả phân tích GC-MS cho thấy tinh dầu từ lá bạch đàn thứ sinh thu hái tại Việt Trì, Phú Thọ có 23 chất được nhận diện, tổng hàm lượng là 99,52% với thành phần chính là 1,8-cineole (38,34%), α -pinene (18,86%), α -Terpinyl acetate (9,00%).

Chất có hàm lượng cao nhất là 1,8-cineole chiếm tới 38,34%, đây là hợp chất chính và được coi như là chất đặc trưng cho tinh dầu bạch đàn trắng. So sánh

với nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Hằng xác định thành phần hóa học trong tinh dầu lá bạch đàn trắng trồng tại Xuân Mai, huyện Chương Mỹ, thành phố Hà Nội bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước, tỷ lệ phần trăm của hợp chất này là 32,6% [1], cho thấy thành phần hóa học của tinh dầu lá bạch đàn không những phụ thuộc vào loài, mà còn phụ thuộc vào vị trí trồng, độ tuổi của lá.



a) 1,8-cineole

(+) α -pinene(-) α -pineneb) α -Pinene

Hình 4. Hai hợp chất chính trong tinh dầu lá bạch đàn thứ sinh

1,8-cineole (38,34%), α -pinene (18,86%) là hai hợp chất có dược lý mạnh, có ứng dụng lớn trong y học, tính kháng khuẩn, kháng nấm cao, sử dụng nhiều trong mỹ phẩm, hàm lượng hai chất này càng cao, tinh dầu có giá trị càng cao... Đặc biệt là 1,8-cineole có nhiều các hoạt tính có tác dụng làm sạch môi trường như diệt khuẩn, diệt ký sinh trùng,

kháng sinh... với những đặc tính trên, hiện 1,8-cineole đang được sử dụng là thuốc trị bệnh với chỉ định sát trùng đường hô hấp, trị ho, trị sốt. Ngoài ra tinh dầu bạch đàn còn được dùng trong ngành công nghiệp chất dẻo, công nghiệp quốc phòng, làm nguyên liệu để sản xuất các hương liệu quý...

3.4. Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn



Hình 5. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu bạch đàn thứ sinh với hai chủng *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus*

Hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu lá bạch đàn thứ sinh được khảo sát bằng phương pháp Kirby-Bauer (Bauer *et al.*, 1966). Kết quả cho thấy tinh dầu lá bạch đàn thứ sinh có hoạt tính kháng *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus* thể hiện qua sự xuất hiện vòng vô khuẩn xung quanh khoanh thạch có chứa tinh dầu.

Sự xuất hiện vòng vô khuẩn xung quanh khoanh thạch có chứa tinh dầu có thể do các chất có hoạt tính kháng khuẩn trong tinh dầu đã ức chế sự phát triển của vi khuẩn. Điều này lý giải việc sử dụng lá bạch đàn thứ sinh như một vị thuốc dân gian để chữa một số bệnh như: chữa ghẻ lở, viêm tai, chữa bệnh lị...

Bảng 3. Kết quả kháng khuẩn của tinh dầu lá bạch đàn thứ sinh

Vi khuẩn	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)	Hoạt tính
<i>Escherichia coli</i>	24	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	+

Hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu bạch đàn thứ sinh là do sự hiện diện của một số phenol, terpen và aldoketones có trọng lượng phân tử thấp. Mỗi loại tinh dầu đều chứa các thành phần kháng khuẩn, khả năng kháng khuẩn là không tương đồng trên các chủng khác nhau.

4. Kết luận

Chiết tách thành công tinh dầu từ lá bạch đàn thứ sinh được trồng tại tỉnh Phú Thọ, bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước với hiệu suất 0,262% trên khối lượng lá bạch đàn tươi. Thành phần hóa học tinh dầu từ lá bạch đàn thứ sinh trồng tại Việt Trì, Phú Thọ có 23 chất được nhận diện, tổng

hàm lượng là 99,52% với thành phần chính là 1,8-cineole (38,34%), α -pinene (18,86%), α -Terpinyl acetate (9,00%). Tinh dầu lá bạch đàn thứ sinh có hoạt tính kháng khuẩn *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus*.

Từ những giá trị kinh tế và dược lý tinh dầu bạch đàn thứ sinh đem lại, việc sản xuất tinh dầu từ lá bạch đàn thứ sinh có thể trở thành một hướng đi nhằm phát triển kinh tế tại tỉnh Phú Thọ.

Tài liệu tham khảo

- [1] Nguyễn Thị Thái Hằng (1995). Nghiên cứu tinh dầu một số loài thuộc chi *Eucalyptus* ở Việt Nam và khả năng sử dụng chúng trong ngành dược. Luận án phó tiến sĩ khoa học Y dược. Trường Đại học Dược Hà Nội.
- [2] Đỗ Tất Lợi (2011). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Thời đại, Hà Nội.
- [3] Lê Đình Mối (2002). Tài nguyên thực vật có tinh dầu ở Việt Nam, tập II. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
- [4] Lê Ngọc Thạch (2003). Tinh dầu. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia, Hà Nội.
- [5] Dairy R. Batish, Harminder pal Singh, Ravinder Kumar Kohli & Shalinder Kaur (2008). *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. Forest Ecology and Management, 256 (12), 2166-2174.
- [6] Liu Yu Qing, Xue Ming, Zhang Qing Chen, Zhou Fang Yuan & Wei Ji Qian (2010). Toxicity of β -Caryophyllene from *Vitex negundo* (Lamiales: Verbenaceae) to *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) and its action mechanism. Acta Entomologica Sinica, 53 (4), 396-404.
- [7] Yang Young-Cheol, Choi Han-Young, Choi Won-Sil, Clark J. M. & Ahn Young-Joon (2004). Ovicidal and adulticidal activity of *Eucalyptus globulus* leaf oil terpenoids against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52 (9), 2507-2511.
- [8] Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8451:2010 (ISO 709: 2001) về tinh dầu - Xác định trị số ester.

**CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY
OF THE ESSENTIAL OIL FROM THE LEAVES OF REGROWTH EUCALYPTUS COLLECTED
FROM VIET TRI CITY, PHU THO PROVINCE**

Phung Thi Lan Huong¹, Nguyen Thi Dinh¹

¹*Faculty of Natural Sciences, Hung Vuong University, Phu Tho*

Abstract

Eucalyptus, a plant from family myrtaceae, grows well in different parts of Phu Tho province and has been known since decades because of its rich ethanomedicinal and therapeutic importance. The aim of this study was to determine the chemical composition and antimicrobial properties of the essential oils of regrowth *Eucalyptus* grown in Viet Tri city, Phu Tho province. A total of twenty-three compounds were identified from the essential oil, by Gas chromatography mass spectroscopy representing 99.52% of the total oil. The dominant compounds being 1,8-cineole (38.34%), α -pinene (18.86%), α -Terpinyl acetate (9.00%). The results of the antimicrobial activity tests revealed that the essential oil of *Eucalyptus*, has antimicrobial activity, especially against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Antibacterial activity, cineole 1,8, essential oil, *Eucalyptus*.