

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA CỦA TINH DẦU BẠC HÀ ĐỒNG VẦN *Elsholtzia winitiana* var. *dongvanensis* Phuong

Lục Quang Tấn¹, Hà Thị Dung², Nguyễn Quang Cơ³, Nguyễn Thị Lan Hương⁴, Cao Thị Huệ^{4*}

¹ Phân hiệu Đại học Thái Nguyên tại tỉnh Hà Giang

² Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

³ Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Huế

⁴ Trường Đại học Thủy lợi

* Email: caohue@thu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đã xác định được hiệu suất, chỉ số lý hóa, thành phần hóa học và hoạt tính kháng oxy hóa của tinh dầu bạc hà Đồng Văn *Elsholtzia winitiana* var. *dongvanensis* Phuong thu hái tại xã Tả Lũng, huyện Đồng Văn, tỉnh Hà Giang. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hiệu suất chiết xuất tinh dầu bạc hà Đồng Văn đạt 0,5% (tính theo hàm lượng mẫu tươi), thành phần chính của tinh dầu bạc hà Đồng Văn bao gồm: Dehydroelsholtzia ketone (59,52%), caryophyllene (13,06%) và D-limonene (7,52%). Kết quả thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa đối với năng lực khử, hoạt tính chống oxy hóa tổng và quét gốc tự do DPPH cho giá trị EC₅₀ đạt tương ứng là 193,20; 257,50; 28,07 µg/mL. Nghiên cứu này đã góp phần bổ sung cơ sở dữ liệu khoa học về thành phần hóa học và khả năng kháng oxy hóa của cây bạc hà Đồng Văn thu hái tại tỉnh Hà Giang.

Từ khóa: Bạc hà Đồng Văn, thành phần hóa học, hoạt tính chống oxy hóa.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa, lượng mưa và độ ẩm cao, tạo điều kiện tốt để hệ thực vật phát triển, tạo ra nguồn nguyên liệu dồi dào và phong phú cho đời sống con người. Thảm thực vật của Việt Nam có khoảng 12.000 loài, trong đó hơn 3.200 loài được sử dụng trong y học cổ truyền, những loài này cũng là nguyên liệu để thực hiện các nghiên cứu khoa học tạo ra các sản phẩm có giá trị [1, 2]. Từ xa xưa đã phát hiện và sử dụng nhiều loại thảo dược có nguồn gốc tự nhiên nhằm mục đích chữa bệnh, trong đó có các loài thuộc chi kinh giới, họ Bạc hà. Các loài thuộc chi kinh giới chủ yếu phân bố ở Đông Á, châu Phi, Bắc Mỹ và châu Âu [3, 4]. Nhìn chung, hầu hết các loài thuộc chi này đều được sử dụng trong các bài thuốc thảo dược để điều trị sốt, cảm lạnh, tiêu chảy, kiết lỵ, rối loạn tiêu hóa và giải độc. Một số

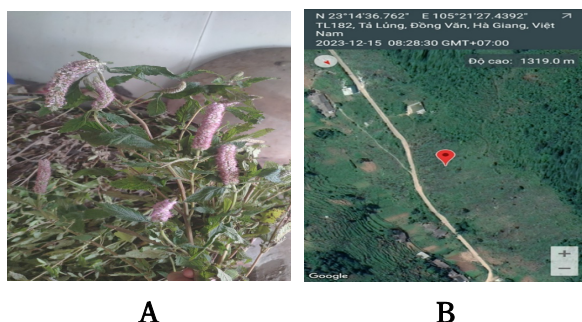
loài trong chi này như: *E. rugulosa*, *E. penduliflora*, *E. blanda*, *E. bodinieri*, *E. stauntoni*, *E. fruticosa*, *E. myosurus*, *E. densa* và *E. ciliata* được sử dụng để giảm đau và chống viêm. Loài *E. cypriani* được sử dụng để điều trị sốt xuất huyết và viêm mũi, trong khi loài *E. bodinieri* được sử dụng để chữa đau đầu, đau họng, đau răng, khó tiêu, viêm kết mạc cấp tính và viêm gan [5].

Ngoài ứng dụng trong y học cổ truyền, tinh dầu nói chung và tinh dầu từ các loài thuộc chi kinh giới nói riêng còn được sử dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau, bao gồm: Y học, mỹ phẩm, dược phẩm và nhiều ngành công nghiệp khác. Nghiên cứu về chiết xuất tinh dầu có thể mang lại những kiến thức quan trọng và ứng dụng trong các lĩnh vực này, giúp hiểu rõ hơn về các hoạt chất sinh học và tác động của các hoạt chất này đến sức khỏe con người và vật nuôi [6].

Chi kinh giới hầu hết là cây thân thảo sống trong thời gian ngắn ngày (dưới một năm tuổi), có khoảng 40 loài đã được công nhận. Tại Việt Nam có 7 loài với tên gọi có chứa cụm từ kinh giới, hầu hết được dùng để làm thuốc, trong đó có bạc hà Đồng Văn [1, 2]. Cây bạc hà Đồng Văn (*Elsholtzia winitiana* var. *dongvanensis* Phuong) là loài ít thấy của chi kinh giới được tìm thấy chủ yếu ở vùng cao nguyên đá Đồng Văn thuộc tỉnh Hà Giang. Cho đến nay, những nghiên cứu về cây bạc hà Đồng Văn tập trung chủ yếu vào thành phần hóa học, chỉ ra sự có mặt của aldehyde, monoterenoid và secquiterpenoid [7, 8]. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu của Phạm Thị Ngọc Mai và cs (2021) cũng chỉ ra sự có mặt của một số hợp chất flavonoid có trong hoa bạc hà Đồng Văn [9]. Tuy nhiên, các công bố về hoạt tính sinh học của loài cây này còn hạn chế cả trong và ngoài nước. Do vậy, nghiên cứu này hướng tới mục tiêu đánh giá thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hóa của tinh dầu thu bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước từ cây bạc hà Đồng Văn được thu tại xã Tả Lũng, thuộc cao nguyên đá Đồng Văn, huyện Đồng Văn, tỉnh Hà Giang.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu



Hình 1. Mẫu cây bạc hà Đồng Văn (A) và tọa độ thu hái mẫu (B)

2.2. Hóa chất và thiết bị nghiên cứu

Mẫu bạc hà Đồng Văn toàn cây (cành, lá và hoa) (Hình 1A) thu hái vào tháng 12 năm 2023 ở xã Tả Lũng, huyện Đồng Văn, tỉnh Hà Giang tại tọa độ 23°14'36.762"N, 108°21'527.4392 E (Hình

1B). Mẫu cây được thu hái vào thời điểm hoa đã già và xuất hiện mùi thơm đặc trưng của tinh dầu. Tên khoa học của cây được định danh bởi PGS.TS. Lê Thị Thanh Hương - Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên. Tiêu bản được kí hiệu là EW-Bio.TLU2023 và bảo quản tại Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học - Trường Đại học Thủy lợi.

Nghiên cứu sử dụng những hóa chất và dụng cụ, thiết bị tại Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học - Trường Đại học Thủy lợi và Viện Dược liệu, Bộ Y tế. Các hóa chất dùng hỗ trợ chưng cất, làm khan tinh dầu và xác định các chỉ số lý hóa của tinh dầu: Axit sunfuric, sodium phosphate, natri chloride, natri sulfate... được mua của Công ty Hóa chất Đức Giang (Thành phố Hà Nội, Việt Nam). Các hóa chất dùng trong phân tích thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học (ammonium molybdate, axit ascorbic, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), potassium hydroxide...) có xuất xứ Sigma - Aldrich, Mỹ.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp chiết xuất tinh dầu

Tinh dầu bạc hà Đồng Văn được chiết xuất bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước tại Trung tâm Nghiên cứu Nguồn gen và Giống dược liệu Quốc gia thuộc Viện Dược liệu, Bộ Y tế theo mô tả bởi Nguyễn Đức Duy và cs (2022) [10]. Cụ thể, 5 kg cây bạc hà Đồng Văn tươi sau khi được băm nhỏ (kích thước khoảng 2 cm) được đưa vào thiết bị chưng cất và ngâm với dung dịch NaCl 9% trong 15 phút. Quá trình chưng cất được tiến hành trong 3 giờ, tính từ thời điểm xuất hiện giọt tinh dầu đầu tiên. Tinh dầu thô sau đó được làm khan bằng Na_2SO_4 để loại bỏ nước, thu được tinh dầu tinh khiết, ký hiệu là EWO-TLU. Mẫu tinh dầu tinh khiết được bảo quản trong chai thủy tinh tối màu, đậy kín nắp, ở nơi khô ráo, tránh ánh sáng trực tiếp. Thành phần hóa học của mẫu tinh dầu được phân tích ngay sau khi chưng cất.

2.3.2. Phương pháp đánh giá các chỉ số hóa lý của tinh dầu

Tỉ trọng của tinh dầu được xác định theo TCVN 8444:2010 [11], góc quay cực theo TCVN 8446:2010 [12], chỉ số khúc xạ theo TCVN 8445:2010 [13], chỉ số axit theo TCVN 8450:2010 [14], chỉ số este theo TCVN 8451:2010 [15].

2.3.3. Phương pháp tính hiệu suất của tinh dầu

Hiệu suất của tinh dầu được tính theo công thức sau:

Hiệu suất tinh dầu (%) = $\frac{\text{[Khối lượng của tinh dầu (g)]}}{\text{[Khối lượng của mẫu tươi (g)]}} \times 100$ (1)

2.3.4. Phương pháp phân tích thành phần hóa học của tinh dầu

Thành phần hóa học của tinh dầu được xác định theo phương pháp sắc ký khí kết nối với khối phổ GC/MS. Theo phương pháp này, hoà tan 1,5 mg tinh dầu đã được làm khan bằng Na_2SO_4 khan trong 1 mL *n*-hexane tinh khiết loại dùng cho sắc ký và phân tích phổ. Việc phân tích được thực hiện trên hệ thống GC/MS-QP2020 của hãng Shimadzu (Nhật Bản), cột mao quản SH - Rxi - 5Sil MS có kích thước 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm . Chương trình nhiệt độ với điều kiện 60°C (giữ 2 phút), tăng lên nhiệt độ 120°C với tốc độ 10°C/phút, sau đó tăng lên 240°C với tốc độ 5°C, tiếp tục giữ ở 240°C trong 5 phút. Khí heli được sử dụng làm khí mang. Detector khối phổ được cài đặt trong khoảng tín hiệu 50 - 900 m/z. Thể tích mẫu tiêm vào cột là 1 μL với dung dịch mẫu tinh dầu có nồng độ 1% (w/v) trong *n*-hexane. Tỷ lệ chia dòng là 1: 20. Kết quả phân tích các thành phần trong mẫu tinh dầu được xử lý bằng cách so sánh về phổ khối của các chất với thư viện NIST và một số tài liệu tham khảo [16, 17]. Phương pháp này được thực hiện tại Viện Dược liệu, Bộ Y tế.

2.3.5. Phương pháp đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của tinh dầu bạc hà Đồng Văn

Đánh giá năng lực khử của tinh dầu

Năng lực khử (RP) của mẫu tinh dầu được thực hiện theo phương pháp của Ferreira và cs

(2007) [18]. Hỗn hợp phản ứng gồm 0,5 mL tinh dầu pha trong ethanol (ở các nồng độ từ 0 - 500 $\mu\text{g/mL}$), 0,5 mL đệm phosphate (0,2 M, pH = 6,6) và 0,5 mL $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1%. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được ủ ở 50°C trong 20 phút, thêm 0,5 mL CCl_3COOH 10% rồi ly tâm 3.000 vòng/phút trong 10 phút. Nhẹ nhàng rút 0,5 mL cho vào 0,5 mL nước và 0,1 mL FeCl_3 0,1%, lắc đều rồi tiến hành đo mật độ quang của hỗn hợp phản ứng ở bước sóng 700 nm. Chất đối chứng dương sử dụng là axit ascorbic. Hiệu quả kháng oxy hóa của tinh dầu ở các nồng độ khác nhau được so sánh với chất chuẩn bằng cách sử dụng nồng độ mà tại đó chất chuẩn hay cao chiết ($\mu\text{g/mL}$) có giá trị OD = 0,5 ($\text{OD}_{0,5}$).

Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa theo phương pháp phosphomolybdenum

Hoạt tính chống oxy hóa tổng của tinh dầu bạc hà Đồng Văn EWO-TLU được thực hiện theo phương pháp phosphomolybdenum [19]. Theo phương pháp này, mẫu tinh dầu được pha loãng bằng ethanol để đạt nồng độ 100 - 500 $\mu\text{g/mL}$. Lần lượt cho 0,1 mL dung dịch tinh dầu pha loãng với nồng độ tương ứng ở trên vào ống eppendorf dung tích 2 mL, bổ sung thêm 1 mL dung dịch phản ứng (0,6 M H_2SO_4 , 28 mM sodium phosphate và 4 mM ammonium molybdate). Ống eppendorf được đóng nắp chặt, ủ ở nhiệt độ 95°C trong thời gian 90 phút. Ống mẫu thí nghiệm được làm nguội tới nhiệt độ 25°C, sau đó đo độ hấp thụ ở bước sóng 760 nm. Axit ascorbic được sử dụng làm chất chuẩn. Hoạt tính chống oxy hóa tổng của mẫu EWO-TLU ở các nồng độ khác nhau được so sánh với chất chuẩn bằng cách sử dụng nồng độ mà tại đó chất chuẩn hay tinh dầu ($\mu\text{g/mL}$) có giá trị OD = 0,5 ($\text{OD}_{0,5}$).

Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa theo phương pháp dọn gốc tự do DPPH

Hoạt tính quét gốc tự do DPPH được tiến hành theo mô tả của Sharma và cs (2009) [20]. Tiến hành hút 1,5 mL dung dịch DPPH với nồng độ 0,1 mM vào 1,5 mL dung dịch mẫu có nồng độ 6,15; 12,5; 25; 50 $\mu\text{g/mL}$ trong ethanol 90°. Sau đó, ủ hỗn hợp thu được trong bóng tối thời gian 30 phút và đo độ hấp thụ quang tại 517 nm.

Hoạt tính ức chế gốc tự do DPPH (I%) được tính toán theo công thức:

$$I\% = \frac{Ac - As}{Ac} \times 100 \quad (2)$$

Ac và As là mật độ quang của mẫu trắng và mẫu thử tương ứng. Dựa vào các giá trị I% thu được tại các nồng độ mẫu khác nhau tính được giá trị EC₅₀. Axit ascorbic được sử dụng làm chất đối chứng dương.

2.3.6. Xử lý số liệu và thống kê

Tất cả các phép thử chống oxy hóa của tinh dầu bạc hà Đồng Văn được thực hiện 3 lần. Giá trị được tính bằng giá trị trung bình +/- sai số. Quá trình đánh giá thành phần hóa học của tinh dầu bằng phương pháp GC-MS được thực hiện 1 lần. Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Two-way ANOVA.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu suất thu hồi tinh dầu bạc hà Đồng Văn

Bảng 1. Chỉ số lý hóa của tinh dầu bạc hà Đồng Văn

Các chỉ số hóa lý	Nhiệt độ	Tỷ trọng	Chỉ số khúc xạ	Góc quay cực	Chỉ số axit, mg KOH/g	Chỉ số este, mg KOH/g
EWO-TLU	25°C	0,952	1,465	86° 40'	0,645	0,725

Kết quả nghiên cứu trong bảng 1 thể hiện tỉ trọng của tinh dầu là 0,952, chỉ số khúc xạ là 1,465, chỉ số này nhỏ hơn 1,47 điều đó cho thấy, trong tinh dầu có chứa nhiều cấu tử có liên kết đôi.

So với mẫu tinh dầu chiết xuất từ quả phật thủ, tinh dầu bạc hà Đồng Văn có chỉ số khúc xạ, tỉ trọng và góc quay cực cao hơn. Đồng thời, các chỉ số axit hay este thì quy luật ngược lại, thấp hơn so với mẫu phật thủ được công bố [23].

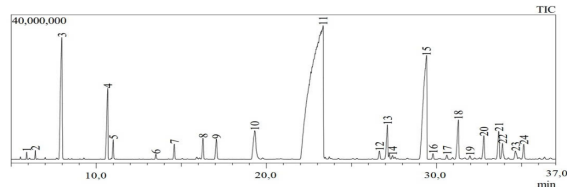
3.3. Thành phần hóa học của tinh dầu

Kết quả phân tích phổ GC/MS (Hình 2) cho thấy có tổng số 24 hợp chất đã được xác định trong mẫu tinh dầu bạc hà Đồng Văn EWO-TLU (Bảng 2), so với mẫu tinh dầu bạc hà Đồng Văn được công bố bởi Phạm T. N. M và cs (2020) [7], Le X. D và cs (2021)[8] chỉ chứa 22 hợp chất.

Tinh dầu bạc hà Đồng Văn có dạng lỏng, nhẹ hơn nước, màu vàng nhạt, mùi thơm đặc trưng. Hiệu suất thu hồi tinh dầu được tính theo nguyên liệu tươi là 0,51%, thấp hơn so với hiệu suất thu hồi tinh dầu bạc hà Đồng Văn từ các bộ phận hoa và phần trên mặt đất được thu hái và nghiên cứu bởi Phạm T. N. M và cs (2020) [7], Le X. D và cs (2021)[8]. Đồng thời, so với một số loài khác cùng chi, loài bạc hà Đồng Văn chứa hàm lượng tinh dầu cao hơn. Theo một số công trình công bố, hàm lượng tinh dầu tính theo mẫu tươi và chiết xuất bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước của loài kinh giới thu hái tại các nơi khác nhau đạt hiệu suất 0,2 - 0,35% [21, 22].

3.2. Chỉ số lý hóa của tinh dầu bạc hà Đồng Văn

Mẫu tinh dầu bạc hà Đồng Văn được đánh giá một số chỉ tiêu lý hóa, kết quả được trình bày ở bảng 1.



Hình 2. Sắc ký đồ GC-MS của tinh dầu bạc hà Đồng Văn

Mẫu nghiên cứu EWO-TLU được chưng cất từ loài bạc hà Đồng Văn theo phương pháp lôi cuốn hơi nước chứa hợp chất chính là dehydroelsholtzia ketone với hàm lượng 59,52%. Một số chất khác chứa trong tinh dầu với hàm lượng cao như: Caryophyllene (13,06%), D-limonene (7,52%), α -naginatene (3,45%), 3-carvomenthenone (2,78%), humulene (2,32%), (-), β -bourbonene (1,87%), γ -elemene (1,44%), and β -copaene (1,13%). Các hợp chất chứa tỉ lệ thấp hơn (< 1%) bao gồm: β -phellandrene (0,15%), β -myrcene (0,19%), linalool (0,65%), 1,4-dihyronaphthalene (0,17%),

rosefuran epoxide (0,55%), elsholtzia ketone (0,23%), γ -elemene (0,19%), germacrene D (0,17%), (0,87%), 2,3-dimethyl-5-(2,6,10-trimethylundecyl) *trans*- α -bergamotene (0,85%), α -farnesene (0,56%), (0,95%), copaene (0,38%), *cis*-muurola-4(15), 5-cadina-3,9-diene (0,82%). diene (0,16%), (+)-epi-bicyclosesquiphellandrene

Bảng 2. Thành phần hóa học của tinh dầu bạc hà Đồng Văn

STT	RT	KI (DB-5S)	Hàm lượng, %	Tên của hợp chất
1	5,909	1031	0,15	β -phellandrene
2	6,417	990	0,19	β -myrcene
3	7,977	1028	7,52	D-limonene
4	10,678	1425	3,45	Naginatene
5	10,999	1100	0,65	Linalool
6	13,505	1290	0,17	1,4-dihyronaphthalene
7	14,589	1375	0,55	Rosefuran epoxide
8	16,277	1525	0,87	Elsholtzia ketone
9	17,064	1620	0,95	2,3-dimethyl-5-(2,6,10-trimethylundecyl) furan
10	19,315	1465	2,78	3-carvomenthenone
11	23,329	1720	59,52	Dehydroelsholtzia ketone
12	26,653	1380	0,38	Copaene
13	27,116	1390	1,87	(-)- β ,bourbonene
14	27,420	1480	0,16	<i>Cis</i> -muurola-4(15),5-diene
15	29,406	1425	13,06	Caryophyllene
16	29,800	1510	0,23	(+)-epi-icyclosesquiphellandrene
17	30,616	1480	0,19	γ -muurolene
18	31,285	1450	2,32	Humulene
19	31,972	1490	0,17	Germacrene D
20	32,788	1430	1,13	β -copaene
21	33,664	1440	1,44	γ -elemene
22	33,886	1440	0,85	<i>Trans</i> - α -bergamotene
23	34,647	1500	0,56	α -farnesene
24	35,135	1520	0,82	Cadina-3,9-diene

Ghi chú: STT: Số thứ tự; RT: Thời gian lưu (phút), KI: Chỉ số lưu giữ Kovats

Theo Phạm T. N. M và cs (2020) [[7], mẫu tinh dầu bạc hà Đồng Văn được chiết xuất từ hoa và các bộ phận trên mặt đất chứa hai hợp chất chính: rosefuran epoxide (63,17%) và rosefuran (12,67%); trong khi mẫu tinh dầu ở nghiên cứu này không chứa rosefuran mà chỉ chứa rosefuran epoxide với tỉ lệ thấp hơn đáng kể, đạt 0,55%. Ngược lại, dehydroelsholtzia ketone là thành phần chính của mẫu EWO-TLU (59,52%), trong khi mẫu được công bố bởi nghiên cứu kể trên chỉ chiếm 0,26%. Sự khác biệt về thành phần hóa học của tinh dầu có thể phụ thuộc vào thời

vụ thu hái, bộ phận thu hái, tọa độ thu mẫu và phương pháp chưng cất.

Thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của tinh dầu của các loài thuộc chi kinh giới cũng nhận được sự quan tâm của nhiều tác giả trên thế giới. Theo Pudziulyte và cs (2017) [24], tinh dầu chiết xuất từ loài kinh giới *Elsholtzia ciliata* thu hái tại Lithuania chứa 26 hợp chất, trong đó có chứa 2 hợp chất chính là: Dehydroelsholtzia ketone (78,28%) và elsholtzia ketone (14,58%). Kết quả này cũng trùng hợp với công bố của Kharina và cs (1995), Thappa và cs

(1999) [25, 26]. Ngoài ra, Korolyuk và cs (2002) cũng đưa ra kết quả tương tự, theo đó, dehydroelsholtzia ketone và elsholtzia ketone là 2 hợp chất chính chứa trong tinh dầu kinh giới thu hái tại Novosibirsk [27]. Tinh dầu chiết xuất từ loài kinh giới này được báo cáo có hoạt tính đối với một số bệnh ung thư như: u nguyên bào thần kinh đệm (Glioblastoma), ung thư tuyến tụy và ung thư vú. Hiện nay, chưa có một công trình công bố chính thức nào về hoạt tính gây độc tế bào của hai hợp chất: Dehydroelsholtzia ketone và elsholtzia ketone [24]. Tuy nhiên, sự có mặt của nhóm chất này với hàm lượng cao, cùng với tác dụng hiệp đồng với các thành phần còn lại của tinh dầu có thể là nguyên nhân tạo nên hoạt tính chống ung thư của tinh dầu loài này. Cũng từ loài kinh giới này thu hái tại Việt Nam, Lưu Tang Phúc Khang và cs (2023) đã xác định thành phần của tinh dầu, bao gồm 26 hợp chất, trong đó chứa các hợp chất chính là: Neral (15,66%), geranial (5,62%) và (Z)- β -farnesene (22,72%) và caryophyllene (9,57%) [28]. Kết quả nghiên cứu của Song và cs (2024) cho thấy, loài này thu hái tại Trung Quốc thu được tinh dầu chứa 3 hợp chất chính là R-carvone, L-limonene và S-carvone [29].

Một trong những hợp chất đáng chú ý khác của mẫu tinh dầu bạc hà Đồng Văn EWO-TLU là chứa hợp chất caryophyllene. Theo nghiên cứu của Djilani và Dicko (2012) [30] nhóm chất này thể hiện hoạt tính kháng viêm, hoạt tính kháng virus, kháng khuẩn và kháng nấm [31].

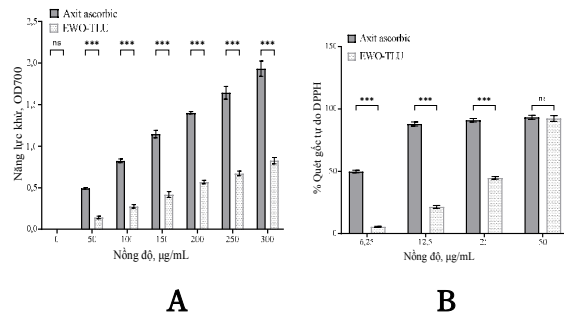
Như vậy, những dẫn chứng về thành phần hóa học có thể đưa ra kết luận rằng, tinh dầu của các loài trong cùng một chi sẽ khác nhau. Tinh dầu của cùng một loài cũng khác nhau về thành phần hóa học, phụ thuộc vào cách chưng cất, thời gian thu hái và bộ phận sử dụng để chiết xuất. Sự khác nhau trong thành phần hóa học của tinh dầu nói riêng và các loài thảo dược nói chung sẽ ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học của tinh dầu (hoạt tính chống oxy hóa, hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định, hoạt tính kháng viêm...). Nghiên cứu này tiến hành đánh giá hoạt

tính chống oxy hóa của tinh dầu bạc hà Đồng Văn.

3.4. Hoạt tính kháng oxy hóa của tinh dầu bạc hà Đồng Văn

Khả năng kháng oxy hóa là một trong các đặc tính sinh học quan trọng của tinh dầu và là phương pháp sàng lọc hoạt tính sinh học trước khi thử nghiệm các hoạt tính khác. Ở nghiên cứu này, xác định khả năng kháng oxy hóa thông qua năng lực khử, khả năng quét gốc tự do DPPH và phép thử phosphomolybdenum (khả năng chống oxy hóa tổng).

3.4.1. Năng lực khử của tinh dầu bạc hà Đồng Văn

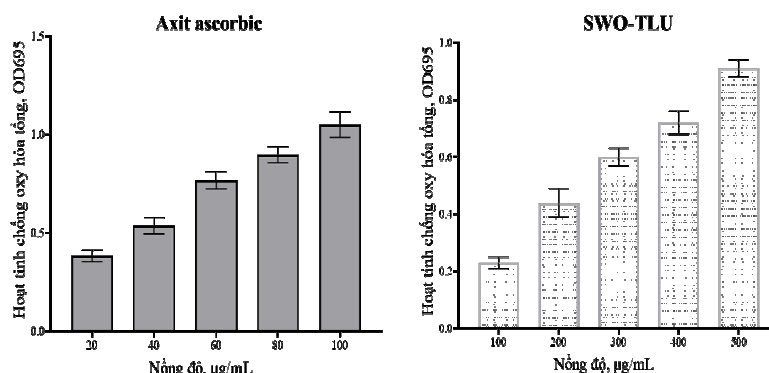


Hình 3. Năng lực khử (A) và khả năng quét gốc tự do DPPH (B) của tinh dầu bạc hà Đồng Văn

Ghi chú: (ns: Khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ***: Khác biệt có nghĩa thống kê ở mức $p < 0,001$ khi phân tích ANOVA hai chiều sử dụng Turkey test).

Kết quả đánh giá năng lực khử cho thấy, tùy theo phương pháp và điều kiện phản ứng tiến hành khác nhau mà các hoạt chất từ tinh dầu sẽ cho khả năng phản ứng khác nhau. Độ hấp thụ quang tại bước sóng 700 nm tăng dần khi tăng nồng độ của tinh dầu. Mật độ quang càng cao thì năng lực khử càng mạnh. Từ số liệu về sự phụ thuộc của độ hấp thụ tại bước sóng 700 nm vào nồng độ của tinh dầu (Hình 3A) xây dựng được đường chuẩn và tính giá trị EC_{50} (Bảng 3). Giá trị EC_{50} đối với tinh dầu là 193,20 µg/mL, cao hơn đối chứng dương (axit ascorbic). Đây là lần đầu tiên năng lực khử của tinh dầu bạc hà Đồng Văn được công bố.

3.4.2. Hoạt tính chống oxy hóa tổng của tinh dầu bạc hà Đồng Văn



Hình 4. Hoạt tính chống oxy hóa tổng của tinh dầu bạc hà Đồng Văn

Hoạt tính chống oxy hóa tổng theo phương pháp thử phosphomolybdenum là phương pháp đơn giản và có thể dễ dàng thực hiện trong phòng thí nghiệm, được áp dụng nhiều để đánh giá khả năng kháng oxy hóa của các cao chiết thực vật [32, 33]. Hoạt tính chống oxy hóa tổng của mẫu EWO-TLU được xác định dựa trên việc khử Mo (VI) thành Mo (V) bằng các hợp chất kháng oxy hóa và hình thành phức hợp phosphate/Mo (V) màu xanh có độ hấp thụ cực đại tại bước sóng 695 nm. Để xác định hoạt tính kháng oxy hóa tổng, mẫu tinh dầu EWO-TLU được pha loãng thành dãy nồng độ từ 100 - 500 µg/mL. Hiệu quả trung hòa dựa trên năng lực khử phosphomolybdenum của tinh dầu được so sánh dựa vào giá trị OD (Hình 4).

Kết quả nghiên cứu cho thấy, ở nồng độ 100 µg/mL, khả năng khử phức Mo của mẫu EWO-TLU có giá trị OD = 0,23 thấp hơn khoảng 5 lần khi so sánh với chất chuẩn axit ascorbic (OD = 1,05). Giá trị EC₅₀ của EWO-TLU và axit ascorbic lần lượt là 257,50 và 33,29 µg/mL (Bảng 3).

3.4.3. Khả năng quét gốc tự do DPPH của tinh dầu bạc hà Đồng Văn

Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hóa qua khả năng quét gốc tự do DPPH được trình bày ở hình 3B cho thấy, mẫu EWO-TLU có khả năng quét gốc tự do khá tốt. Khả năng quét gốc tự do DPPH ở nồng độ 6,25, 12,5, 25, 50 µg/mL đạt giá trị tương ứng là 5,44; 21,45; 44,70; 92,2%. Dựa trên giá trị EC₅₀ thu được cho thấy, axit ascorbic có khả năng làm sạch gốc tự do cao hơn gấp hơn 4 lần (EC₅₀ = 5,79 µg/mL) so với tinh dầu bạc hà Đồng Văn (EC₅₀ = 28,07 µg/mL) (Bảng 3). Tuy nhiên, đối với mẫu thử là tinh dầu hoặc cao chiết thô, giá trị EC₅₀ < 100 µg/mL được coi là có hoạt tính. Đồng thời, so với mẫu một số mẫu tinh dầu của loài kinh giới khác thuộc chi *Elsholtzia* [28], tinh dầu bạc hà Đồng Văn thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tốt hơn. Như vậy, tinh dầu bạc hà Đồng Văn thu hái tại cao nguyên đá Đồng Văn, tỉnh Hà Giang có thể được xem như một nguyên liệu tiềm năng trong mục đích tạo các sản phẩm có khả năng chống oxy hóa.

Bảng 3. Giá trị EC₅₀ của hoạt tính chống oxy hóa của tinh dầu bạc hà Đồng Văn

EC ₅₀ , µg/mL			
Các phép thử chống oxy hóa	Năng lực khử	Khả năng quét gốc tự do DPPH	Hoạt tính chống oxy hóa tổng
Axit ascorbic	33,29 ± 1,23	5,79 ± 0,51	33,29 ± 1,23
EWO-TLU	193,20 ± 1,32	28,07 ± 1,25	257,50 ± 4,32

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được hiệu suất, chỉ số lý hóa, thành phần hóa học của tinh dầu bạc hà Đồng Văn thu hái tại xã Tả Lũng, huyện Đồng Văn, tỉnh Hà Giang. Hoạt tính sinh học của mẫu tinh dầu cũng được đánh giá thông qua năng lực khử, hoạt tính chống oxy hóa tổng và khả năng dọn gốc tự do DPPH. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hiệu suất chiết xuất tinh dầu bạc hà Đồng Văn đạt 0,51% (tính theo hàm lượng mẫu tươi), thành phần chính của tinh dầu bạc hà Đồng Văn bao gồm: Dehydroelsholtzia ketone (59,52%), caryophyllene (13,06%) và D-limonene (7,52%). Kết quả thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa đối với năng lực khử, hoạt tính chống oxy hóa tổng và quét gốc tự do DPPH cho giá trị EC₅₀ đạt tương ứng là 93,20; 257,5; 28,07 µg/mL. Như vậy, tinh dầu bạc hà Đồng Văn thể hiện hoạt tính chống oxy hóa khá tốt. Nghiên cứu này đã góp phần bổ sung cơ sở dữ liệu khoa học về thành phần hóa học và khả năng kháng oxy hóa của cây bạc hà Đồng Văn thu hái tại tỉnh Hà Giang. Mối quan hệ giữa thành phần hóa học và các hoạt tính khác của tinh dầu sẽ được thực hiện ở các nghiên cứu tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Trung, Bùi Xuân Cường và cs (2006). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội. Tập 1: 827 - 828.
2. Phạm Hoàng Hộ (2003). *Cây cỏ Việt Nam*. Nxb trẻ. Tập 1, 1027 tr.
3. 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. DOI: 10.1186/1752-153X-6-147.
4. Boncheewin, B., Chantanranothai, P., Paton, A. (2015). *Elsholtzia* (Lamiaceae) in Thailand. *Blumea*, 59(3): 209 - 214. DOI: 10.3767/000651915X688696.
5. Liu, A., Lee, S. M. Y., Wang, Y. T., Du, G. H. (2007). *Elsholtzia*. Review of traditional uses, chemistry and pharmacology. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 16: 73 - 78.
6. Durczyńska, Z., Żukowska, G. (2024). Properties and applications of essential oils: A Review. *Journal of Ecological Engineering*, 25(2): 333 - 340. DOI:10.12911/22998993/177404.
7. Pham, T. N. M., Nguyen, T. H. V., Chu, Q. T., Tran, D. T., Tran, Q. T., Pham, Q. L., Cam, T. I., Dao, T. P., Tran, T. H., Tran, T. K. N. (2020). Compositional comparison of essential oils extracted from flowers and aerial parts of *Elsholtzia winitiana* var. *dongvanensis* Phuong harvested in Ha Giang province, Vietnam. *Asian Journal of Chemistry*, 32(10): 2438 - 2442.
8. Le, X. D., Pham, T. N. M., Cam, T. I., Do, H. N., Nguyen, T. H. V., Tran, D. T., Lai, T. P. T., Do, T. S., Nguyen, T. D., Pham, Q. L., Dao, T. P., Pham, T. N., Tran, Q. T. (2021). Optimization of the essential oils extraction process from Dong Van marjoram (*Winitiana* var. *dongvanensis* Phuong) by using microwave assisted hydrodistillation and its bioactivities against some cancer cell lines and bacteria. *Natural Product Communications*, 1610: 1 - 8. DOI: 10.1177/1934578X-211054235.
9. Phạm Thị Ngọc Mai, Trần Đình Thắng, Nguyễn Thị Ngần, Nguyễn Tân Thành, Cẩm Thị Ính (2021). Những hợp chất flavonoid từ hoa của cây bạc hà Đồng Văn (*Elsholtzia winitiana* var. *dongvanensis* Phuong) ở Việt Nam. *Tạp chí Phân tích Hóa, Lý và Sinh học*, 26(3A): 54 - 57.
10. Nguyễn Đức Duy, Nguyễn Thị Kim Thúy, Mai Thị Như Trang, Ninh Khắc Bấy, Quách Thị Thanh Vân, Quãn Cẩm Thúy, Bùi Thị Phương Thảo (2022). Thành phần hóa học của tinh dầu cây Kinh giới (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.) trồng tại tỉnh Phú Thọ. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Trường Đại học Hùng Vương*, 27(2): 80 - 84.
11. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8444:2010. Tinh dầu - xác định tỷ trọng tương đối ở 20°C.
12. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8446:2010. Tinh dầu - xác định độ quay cực.

13. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8445:2010. Tinh dầu – xác định chỉ số khúc xạ.
14. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8450:2010. Tinh dầu – xác định chỉ số axit.
15. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8451:2010. Tinh dầu – xác định chỉ số este.
16. Adams, R. P. (2017). Identification of Essential oil Components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th ed.; Allured Publ. Corp.: Carol Stream, Illinois.
17. Linstrom, P. J. and Mallard, W. G. (2022). NIST chemistry WebBook, NIST Standard Reference database number 69. January 2022 ed.; National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899.
18. Ferreira, I. C. F. R, Baptista, P., Vilas-Boas, M and Barros, L. (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food chemistry*, 100(4): 1511 - 1516. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.043>.
19. Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2): 337341. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019>.
20. Sharma, O. P., Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113(4): 1202 - 1205. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.008>.
21. Lê Ngọc Thạch, Trần Hữu Anh, Cao Như Anh, Nguyễn Thị Tuyết Nhung, Đoàn Ngọc Nhuận & Đỗ Quang Hiền (2003). Tách tinh dầu kinh giới, *Elsholtzia cristata* Wild. bằng phương pháp vi sóng. Hội nghị Khoa học và Công nghệ Hóa hữu cơ toàn quốc lần thứ 2, 356 - 360.
22. Đặng Thị Thanh Nhân, Lê Thị Huyền (2017). Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của tinh dầu cây Kinh giới (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland). *Tạp chí Khoa học và Giáo dục*, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Huế, 02(42): 85 - 91.
23. Nguyễn Văn Lợi, Nguyễn Thị Minh Tú, Hoàng Đình Hòa. Nghiên cứu thành phần hóa học, chỉ số hóa lý và hoạt tính sinh học của tinh dầu quả phật thủ Việt Nam. *Tạp chí Hóa học*, 53(1), 107 - 111. DOI: 10.15625/0866-7144.2015-0097.
24. Pudziuvelyte, L., Stankevicius, M., Maruska, A., Petrikaite, V., Ragazinskiene, O., Draksienė, G., Bernatoniene, J. (2017). Chemical composition and anticancer activity of *Elsholtzia ciliata* essential oils and extracts prepared by different methods. *Industrial Crops and Products*, 107(15): 90 - 96. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.040>.
25. Kharina, T. G., Kalinkina, G.I., Dembitsky, A. D., Maksimenk, N.B. (1995). Essential oil composition and morphological and biological characteristics of *Elsholtzia ciliata* (Thunb.). *Hyl. Rastit. Resur.*, 31: 58 - 64 (In Russian).
26. Thappa, R. K., Agarwal, S. G., Kapahi, B. K., Srivastava, T. N. (1999). Chemosystematics of the Himalayan *Elsholtzia*. *J. Essent. Oil Res.*, 11: 97 - 103.
27. 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 Resource*, 1: 31 - 36 (In Russian).
28. Luu Tang Phuc Khang, Nguyen Huu Tai, Cao Van Len, Nguyen Ngoc Thu Phuong, Nguyen Hoang Viet, Truong Vinh, Phan Thanh Bach, Tran Thi Phuong Dung, Nguyen Xuan Tong (2023). Chemical composition of *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland essential oil in Vietnam with multiple biological utilities: a survey on antioxidant, antimicrobial, anticancer activities. *Academia Journal of Biology*, 45(3): 99 - 110.
29. Song, S., Tang, Y., Feng, R., Zhang, X., An, Y., Kong, W., Wang, J., Zhang, J., Liang, J. (2024). Bioactivities and synergistic effect of *Elsholtzia ciliata* essential oil and its main

Components against *Lasioderma serricorne*. *Molecules*, 29(9):1924. DOI: 10.3390/molecules 29091924.

30. Djilani, A., Dicko, A. (2012). The therapeutic benefits of essential oils. In: Bouayed, J., Bohn, T. (Eds.), *Nutrition, Well-Being and Health. In Tech, Croatia*, pp. 155 - 178.

31. Bougatsos, C., Ngassapa, O., Runyoro, D. K. B., Chinou, I. B. (2004). Chemical composition and *in vitro* antimicrobial activity of the essential oils of two *Helichrysum* species from Tanzania. *Zeitschrift Fur Naturforschung Sect. C J. Biosci.*, 59 (5/6): 368 - 372. DOI: 10.1515/znc-2004-5-614.

32. Prasad, K. N., Yang, B., Yang, S., Chen, Y., Zhao, M., Ashraf, M., Jiang Y. (2009). Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi sinensis Sonn.*) seeds. *Food Chemistry*, 116(1): 1 - 7. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.079>.

33. Zhao, H. F., Fan, W., Dong, J. J., Lu, J., Chen, J., Shan, L. J. (2007). Evaluation of antioxidant activities and total phenolic contents of typical malting barley varieties. *Food Chemistry*, 107: 296 - 304. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.08.018.

STUDY ON CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY
OF ESSENTIAL OIL FROM *Elsholtzia winitianavar. dongvanensis* Phuong

Luc Quang Tan¹, Ha Thi Dung², Nguyen Quang Co³, Nguyen Thi Lan Huong⁴, Cao Thi Hue⁴

¹Thai Nguyen University Ha Giang Campus

²Hanoi University of Industry

³Institute of Biotechnology, Hue University

⁴Thuyloi University

Abstract

This study aimed to evaluate the yield, physicochemical properties, chemical composition, and antioxidant activity of essential oil extracted from *Elsholtzia winitiana* harvested in Ta Lung commune, Dong Van district, Ha Giang province. The results showed that the extraction yield of *Elsholtzia winitiana* essential oil reached 0.5% (based on fresh sample weight) and the main components of the essential oil were dehydroelsholtzia ketone (59.52%), caryophyllene (13.06%) and D-limonene (7.52%). The antioxidant activity test results for reducing power, total antioxidant activity, and DPPH radical scavenging capacity showed EC₅₀ values of 193.20, 257.5, and 28.07 µg/mL, respectively. This study has contributed to supplementing the scientific database on the chemical composition and antioxidant capacity of *Elsholtzia winitiana* harvested in Ha Giang province.

Keywords: *Elsholtzia winitiana*, chemical composition, antioxidant activity.

Ngày nhận bài: 5/2/2025

Ngày chuyển phản biện: 3/3/2025

Ngày thông qua phản biện: 18/3/2025

Ngày duyệt đăng: 28/4/2025