TẠP CHÍ KHOA HỌC ĐẠI HỌC TÂN TRÀO
ISSN: 2354 - 1431
http://tckh.daihoctantrao.edu.vn/

RESEARCH OF EXTRACTION PROCESS AND CHEMICAL COMPOSITION OF PLUCHEA INDICA (L.) LESS. ESSENTIAL OIL IN THAI NGUYEN

Luu Hong Son, Do Nhu Quynh, Ho Thi Hong, Pham Thu Nguyet, Nguyen Dinh Manh, Ngo Thi Hanh, Dang Van Cuong, Nong Thi Hong Ngoc, Tran Van Chi, Dinh Thi Kim Hoa*

Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry

Email address: luuhongson@tuaf.edu.vn

DOI: 10.51453/2354-1431/2022/806

Article info

Received:18/06/2022

Revised: 14/07/2022

Accepted: 01/08/2022

Keywords:

Pluchea indica (L.) Less, essential oil, extraction, box-behnken

Abstract:

According to modern medicine, many studies prove that chrysanthemum has antioxidant, anti-inflammatory, anti-ulcer, antipyretic, hypoglycemic, diuretic and anti-bacterial activities and many useful uses and effects. The purpose of the study is to investigate single factors affecting the extraction process of essential oils. On the basis of surveying factors affecting extraction conditions by experimental planning method Box- Behnken has found the optimal temperature condition is: 100.41^{o}C; The optimal solvent/material ratio is: 1.65 (mL/g); The optimal time parameter is: 58.65 minutes. It has been identified that essential oils have 25 substances with high biological value, essential oils exhibit antibacterial and antioxidant activities.

TẠP CHÍ KHOA HỌC ĐẠI HỌC TÂN TRÀO
ISSN: 2354 - 1431
http://tckh.daihoctantrao.edu.vn/

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH TÁCH CHIẾT VÀ THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA TINH DẦU CÂY CÚC TẦN TẠI THÁI NGUYÊN

Lưu Hồng Sơn, Đỗ Như Quỳnh, Hồ Thị Hồng, Phạm Thu Nguyệt, Nguyễn Đình Mạnh, Ngô Thị Hạnh, Đặng Văn Cường, Nông Thị Hồng Ngọc, Trần Văn Chí, Đinh Thị Kim Hoa*

Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên

Địa chỉ email: luuhongson@tuaf.edu.vn

DOI: 10.51453/2354-1431/2022/806

Thông tin bài viết

Ngày nhận bài: 18/06/2022

Ngày sửa bài: 14/07/2022

Ngày duyệt đăng: 01/08/2022

Từ khóa:

cúc tần, tinh dầu, tách chiết, box-behnken.

Tóm tắt

Theo y học hiện đại nhiều nghiên cứu chứng minh cúc tần có hoạt tính chống oxy hoá, chống viêm, chống loét, hạ nhiệt, hạ đường huyết, lợi tiểu và chống khuẩn và rất nhiều các công dụng, tác dụng hữu ích. Mục đích của nghiên cứu là khảo sát đơn yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tách chiết tinh dầu. Trên cơ sở khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến điều kiện chiết tách bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm Box- Behnken đã tìm đươc điều kiện nhiệt độ tối ưu là: 100.41^{o}C; Tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu tối ưu là: 1.65 (mL/g); Thông số thời gian tối ưu là: 58.65 phút. Đã xác định được tinh dầu có 25 chất có giá trị sinh học cao, tinh dầu thể hiện hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hoá.

1. Mở đầu

Cây Cúc Tần tên khoa học *Pluchea indica* (L.) Less còn có nhiều tên gọi khác là cây đại ngải, phặc phà (Tày), hoa mai não,... Cây cúc tần là cây thuốc nam quý [1]. Cây bụi cao 1-2m, cành mảnh. Lá mọc so le, hình gần bầu dục, hơi nhọn đầu, gốc thuôn dài, mép khía răng. Cụm hoa hình ngù, mọc ở ngọn các nhánh. Đầu có cuống ngắn màu tím nhạt, thường xếp 2-3 cái một; lá bắc 4-5 dây; hoa cái xếp trên nhiều dây; hoa lưỡng tính ở phía giữa. Quả bế hình trụ thoi, có 10 cạnh, toàn cây có lông tơ và mùi thơm [2]. Tinh dầu cúc tần được nhiều nghiên cứu đánh giá chứa nhiều hoạt chất sinh học quý có tính ứng dụng cao.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu

Cúc tần được thu hái vườn quốc gia Tam Đảo, được định danh bởi khoa Nông học trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên, xã Quyết Thắng, thành phố Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên.

Nguyên liệu được rửa sạch, lưu trữ ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng và ẩm.

Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch

Nhân giống vi khuẩn.

Vi khuẩn lấy từ ống gốc được đem đi hoạt hóa lại trong 5mL môi trường MP lỏng, nuôi cấy trên máy lắc trong 24 giờ ở nhiệt độ 37^{0}C để đạt được mật độ 108 (tế bào/mL). Độ đục chuẩn của dịch nuôi cấy sẽ tương ứng với 0,5 McFarland, nếu dịch vi khuẩn có độ đục cao hơn độ đục chuẩn, ta có thể điều chỉnh bằng cách cho thêm nước muối sinh lý. Nếu dịch vi khuẩn đã đạt độ đục chuẩn thì ta thu dịch vi khuẩn để tiến hành thử khả năng kháng của dịch chiết.

Thử khả năng kháng khuẩn

Lắc đều ống nghiệm chứa vi khuẩn, dùng micropipet hút 100µl dịch vi khuẩn vào giữa đĩa thạch chứa môi trường MPA, dùng que cấy tam giác trang đều cho đến khi bề mặt thạch khô. Sau 15 phút ta tiến hành đục lỗ (giếng) trên môi trường thạch với đường kính 6mm, đục 5–6 giếng, mỗi giếng cách nhau 1–2cm, Ở mỗi giếng thạch ta nhỏ 10µl tinh dầu cúc tần bằng Micropipet, sử dụng đối chứng là nước cất.

Để các đĩa thạch trong tủ lạnh 30 phút để dịch chiết khuếch tán ra môi trường nuôi cấy vi khuẩn, sau đó tiếp tục nuôi cấy trong tủ ấm ở 37^0C sau 24 giờ mang ra đo kích thước vòng kháng khuẩn.

Hoạt tính kháng khuẩn được xác định bằng cách đo kích thước vùng kháng khuẩn (BK) bằng công thức:

$$BK = D - d \text{ (mm)}$$

Trong đó:

D là đường kính vòng kháng khuẩn

d là đường kính giếng thạch

Phương pháp xác định hoạt tính chống oxy hóa bằng DPPH

Nguyên tắc: DPPH là một gốc tự do được sử dụng để thực hiện phản ứng sàng lọc hoạt tính chống Oxy hóa của các chất được nghiên cứu. Hoạt tính chống Oxy hóa được chứng minh bằng cách làm giảm màu của các gốc tự do DPPH, được xác định bằng cách đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 517nm.

Cách tiến hành: Pha loãng dung dịch DPPH 0,1mM trong etanol bằng cách hòa tan 4mg DPPH với một lượng etanol vừa đủ để hòa tan DPPH. Sau đó cho vào bình định mức và thêm etanol vừa đủ 100mL, đựng trong bình thủy tinh.

Pha loãng tinh dầu với etanol ở 5 nồng độ 10g/mL, 20g/mL, 30g/mL, 40g/mL, 50g/mL. Hút 1mL mẫu thử có các nồng độ khác nhau cho vào bình định mức, thêm 3mL dung dịch DPPH và thêm 6mL etanol.

Đối chứng 3mL dung dịch DPPH và 7mL dung dịch etanol. Mẫu được bảo quản trong bóng tối ở nhiệt độ phòng, sau 30 phút đô độ hấp thụ ở bước sóng 517nm, thí nghiệm được thực hiện trrong 3 lần lặp lại. Axit ascorbic được sử dụng làm chất chuẩn đối chiếu.

Tỉ lệ phần trăm DPPH nhặt được của dịch chiết được tính theo công thức: %DPPH

Trong đó:

A_c: Độ hấp thụ của phản ứng đối chứng

A_e: Độ hấp phụ của mẫu thử hoặc mẫu chuẩn

Giá trị 50 của mẫu là nồng độ mẫu cần thiết để ức chế 50% gốc tự do DPPH được tính toán từ nồng độ mẫu và DPPH (%). Dùng phần mềm excel lập phương trình hồi quy dạng y = ax + b thể hiện mối tương quan giữa DPPH (%) (y) và nồng độ (x). Độ hấp thụ thấp hơn của hỗn hợp cho thấy hoạt tính của gốc tự do cao hơn

Phương pháp xác định thành phần cấu tử bằng GC - MS

Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được được phân tích phương sai (ANOVA) một nhân tố và phân tích hậu kiểm Fisher's PLSD với mức P ≤0,05 bằng phần mềm SPSS (version 20).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả khảo sát điều kiện tách chiết tinh dầu cúc tần

3.1.1 Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng tinh dầu

Nhiệt độ là yếu tố quan trọng quyết định đến khả năng tách chiết tinh dầu cúc tần. Trong quá trình trích ly bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước, khi gia nhiệt nếu nhiệt độ thấp thì tinh dầu có trong nguyên liệu không thể được chiết ra hết, bên cạnh đó, việc nhiệt độ thấp dẫn đến hơi nước bốc lên ít nên lượng tinh dầu thu được giảm. Nhưng nếu nhiệt độ quá cao thì mẫu sẽ dễ bị cháy, lượng hơi nước bốc lên nhiều và nhanh khiến cho tinh dầu không thể thoát ra kịp cùng hơi nước dẫn đến lượng tinh dầu thu được giảm đi. Để tránh những điều bất lợi kể trên thì việc nghiên cứu và chọn được nhiệt độ phù hợp cho quá trình chiết tinh dầu là rất cần thiết để lượng tinh dầu thu được là cao nhất và cũng tiết kiệm thời gian và chi phí nhất. Để nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng tinh dầu. Chúng tôi tiến hành với 03 công thức: 90, 100, 110°C. Kết quả được trình bày ở bảng 3.1:

Bảng 3.2: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng tinh dầu cúc tần

Công thức	Nhiệt độ (°C)	Hàm lượng tinh dầu (mL)
CT1	90	$0,27^c$
CT2	100	$0,83^a$
CT3	110	$0,53^b$

Ghi chú: Trên cùng 1 cột các giá trị mang cùng chữ số mũ thì khác nhau không có ý nghĩa ở mức α = 0,05

Từ bảng 3.1 cho thấy yếu tố nhiệt độ có ảnh hưởng lớn đến hàm lượng tinh dầu tách chiết được. Cụ thể như sau: Khi tăng nhiệt độ thì lượng tinh dầu thu được tăng. Khi nhiệt độ tăng từ 90^oC đến 100^oC, hàm lượng lượng tinh dầu thu được tăng 307%. Khi nhiệt độ tăng lên thì lượng nước bốc hơi lên nhiều hơn từ đó kéo theo được nhiều tinh dầu hơn ra khỏi hỗn hợp.

Nhưng khi nhiệt độ tăng từ 100^oC đến 110^oC thì hàm lượng tinh dầu có xu hướng giảm đi 63,9%. Sở dĩ điều này sảy ra là do khi tăng nhiệt lên quá cao, lượng

tinh dầu chưa kịp thoát ra khỏi các tế bào của lá mà lượng hơi nước đã bắt đầu bốc hơi dẫn đến hiện tượng không đủ lượng hơi nước để kéo theo tinh dầu ra ngoài.

Vì vậy khi tách chiết tinh dầu cúc tần với cùng một tỉ lệ dung môi/ nguyên liệu và thời gian xác định thì sử dụng mức nhiệt độ 100°C là tốt nhất để thu được lượng tinh dầu là lớn nhất.

3.1.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/nguyên liệu đến hàm lượng tinh dầu

Tiến hành thí nghiệm này để khảo sát ảnh hưởng của thể tích dung môi thêm vào đến hàm lượng tinh dầu trích ly được từ lá Cúc tần. Bằng cách tiến hành chưng cất tinh dầu lần lượt với những thể tích dung môi khác nhau, và cố định hai yếu tố nhiệt độ và thời gian chết (100°C trong 90 phút).

Mục đích để xác định thể tích dung môi tối ưu nhất cho quá trình chưng cất, tránh sử dụng lượng nước quá dư, tránh hao phí, và không có lợi cho việc chiết tách tinh dầu do trong tinh dầu chứa nhiều hợp chất dễ tan trong nước. Kết quả được thể hiện ở Bảng 3.2.

Bảng 3.3: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/nguyên liệu đến hàm lượng tinh dầu

Công thức	Dung môi /nguyên liệu (mL/g)	Hàm lượng tinh dầu (mL)
CT4	1/2	0,3[d]
CT5	1/1	0,54[b]
CT6	3/2	0,87[a]
CT7	2/1	0,37[c]

Ghi chú: Trên cùng 1 cột các giá trị mang cùng chữ số mũ thì khác nhau không có ý nghĩa ở mức α = 0,05

Từ bảng 3.2 cho thấy: Tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu có ảnh hưởng tới hàm lượng tinh dầu cúc tần thu được. Khi tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu từ 1/2 đến 1/1 (mL/g) thì hàm lượng tinh dầu thu được tăng khá nhiều là 80%. Khi tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu từ 1/2 đến 3/2 (mL/g) cho thấy hàm lượng tinh dầu từ cúc tần được chiết tách tăng 290% , còn tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu từ 1/2 đến 2/1 (mL/g) thì hàm lượng tinh dầu lá cúc tần có xu hướng tăng nhưng không nhiều và chỉ tăng 12%. Hàm lượng tinh dầu đạt cao nhất là 0,87 mL khi chiết ở tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu là 3/2 (mL/g), cao hơn khoảng 290% so với hàm lượng tinh dầu khi chiết ở tỷ lệ dung môi/ nguyên lệu là 1/2 (mL/g) và cao hơn so với ở công thức 3 là 2/1 (mL/g) là 235%. Vì vậy tôi chọn tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu thích hợp là 3/2 (mL/g) (mL/g) để tiết kiệm dung môi và không làm tổn thất tinh dầu.

3.1.3 Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng tinh dầu

Để xác định thời gian trích ly thích hợp và tối ưu, cũng như hao phí thời gian, nhiên liệu. Tiến hành khảo sát với 03 công thức lần lượt là 30; 60; 90 phút.

Bảng 3.4: Kết quả ảnh hưởng của yếu tố thời gian chiết dến hàm lượng tinh dầu

Công thức	Thời gian (phút)	Hàm lượng tinh dầu (mL)
CT8	30	0,37[c]
CT9	60	0,87[a]
CT10	90	0,57[b]

Từ kết quả bảng 3.3 cho thấy thời gian chưng cất có ảnh hưởng tới hàm lượng tinh dầu thu được sau quá trình chiết. Nếu càng kéo dài thời gian chưng cất thì hàm lượng tinh dầu càng giảm do bị thất thoát trong quá trình chưng cất và ngây hao phí nhiên liệu. Khi chiết ở 30 phút cho hàm lượng tinh dầu là 0,37mL do thời gian chiết không đủ dẫn đến chưa thể tách chiết hết tinh dầu, Khi tăng thời gian chiết lên đến 60 phút, hàm lượng tinh dầu tăng đến 235%. Khi tăng thời gian từ 30 lên 90 phút thì hàm lượng tinh dầu chỉ tăng lên 66,7%.

Qua kết quả trên cho thấy chiết ở mức thời gian 60 phút là tối ưu nhất, cũng như tiết kiệm chi phí nhất.

3.2. Tối ưu hóa quy trình tách chiết tinh dầu cúc tần

Sử dụng phương pháp bề mặt chỉ tiêu theo thiết kế thí nghiệm của Box-Behnken với ba biến ba cấp độ. Áp dụng phương pháp phân tích hồi quy các số liệu thực nghiệm, thu được mô hình đa thức bậc hai thể hiện hàm lượng tinh dầu.

Bảng 3.5: Kết quả ma trận thực nghiệm Box-Behnken ba yếu tố chiết tinh dầu từ *lá cúc tần*

Thí nghiệm	A. Nhiệt độ °C	B. DM/ NL (mL)	C. Thời gian (phút)	HLTD cúc tần (mL)
1	90	1,0	60	0,27
2	110	1,0	60	0,37
3	90	2,0	60	0,49
4	110	2,0	60	0,57
5	90	1,5	30	0,31
6	110	1,5	30	0,43
7	90	1,5	90	0,27
8	110	1,5	90	0,15
9	100	1,0	30	0,36
10	100	2,0	30	0,47
11	100	1,0	90	0,26
12	100	2,0	90	0,57
13	100	1,5	60	0,87

Thí nghiệm	A. Nhiệt độ °C	B. DM/ NL (mL)	C. Thời gian (phút)	HLTD cúc tần (mL)
14	100	1,5	60	0,83
15	100	1,5	60	0,87
16	100	1,5	60	0,93
17	100	1,5	60	0,91

Mô hình đa thức bậc hai thể hiện hàm lượng tinh dầu cúc tần:

$$Y = + 0,88 + 0,023*A + 0,11*B + 0,11 *C - 0,005*A*B - 0,060*A*C + 0,050*B*C - 0,29*A^2 - 0,17*B^2 - 0,30*C^2$$

Với Y là hàm lượng tinh dầu thu được, các biến A, B, C là thông số nhiệt độ, tỉ lệ dung môi/ nguyên liệu và thời gian chiết.

Sử dụng ANOVA để đánh giá, phâm tích mô hình. Kết quả phân tích ANOVA được thể hiện qua hình 4.1

Response 1 HLTD cuc tan

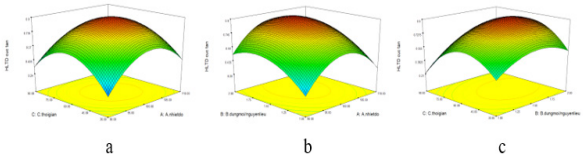
ANOVA for Response Surface Quadratic Model

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	1.08	9	0.12	36.50	< 0.0001	significant
A-A.nhietdo	*4.050E-003*	*1*	*4.050E-003*	*1.24*	*0.3029*	
B-B.dungmoi/n	*0.088*	*1*	*0.088*	*26.93*	*0.0013*	
C-C.thoigian	*0.013*	*1*	*0.013*	*3.91*	*0.0886*	
AB	*1.000E-004*	*1*	*1.000E-004*	*0.031*	*0.8662*	
AC	*0.014*	*1*	*0.014*	*4.40*	*0.0742*	
BC	*0.010*	*1*	*0.010*	*3.05*	*0.1241*	
A^2	*0.36*	*1*	*0.36*	*108.85*	*< 0.0001*	
B^2	*0.12*	*1*	*0.12*	*35.42*	*0.0006*	
C^2	*0.38*	*1*	*0.38*	*116.46*	*< 0.0001*	
Residual	0.023	7	3.276E-003			
Lack of Fit	*0.017*	*3*	*5.617E-003*	*3.70*	*0.1195*	*not significant*
Pure Error	*6.080E-003*	*4*	*1.520E-003*			
Cor Total	1.10	16				

Hình 3. 1:Kết quả phân tích phương sai ANOVA của mô hình chiết tinh dầu từ lá cúc tần

SS : Tổng phương sai ; ĐF : Bậc tự do ; MS : Trung bình phương sai , chuẩn F : Chuẩn Fisher ; Residual : Phần dư ; Lack of Fit : Chuẩn đánh giá độ không tương thích của mô hình với thực nghiệm . Từ kết quả phân tích ANOVA ta thấy giá trị xác xuất của mô hình P - value = 0,0001 < 0,05 do đó mô hình được lựa chọn để giải thích cho kết quả cầu thí nghiệm , Lack of Fit test = 0,1195 (not significant) có ý nghĩa đối với mô hình .



a b c

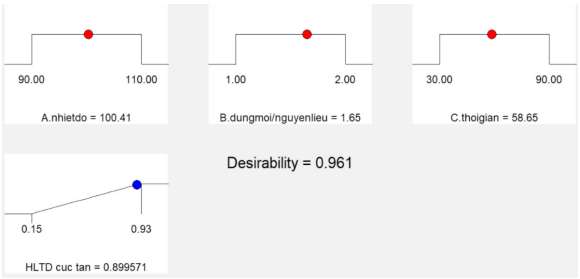
Hình 3.2: Bề mặt đáp ứng hàm lượng tinh dầu lá cúc tần

a. Mô hình tương tác giữa thời gian với nhiệt độ chiết

b. Mô hình tương tác giữa tỉ lệ DM/NL với nhiệt độ chiết

c. Mô hình tương tác giữa tỉ lệ DM/NL với thời gian

Phương án tốt nhất được dự đoán nhiệt độ chưng cất 100,41 °C, tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu là 1,65 (mL/g), thời gian chưng cất 58,65 phút khi đó hàm lượng tinh dầu đạt 0,899571 mL. Kết quả kiểm tra bằng thực nghiệm cho kết quả tương ứng.



Hình 3.3: Hàm kỳ vọng và điều kiện tối ưu ở hàm lượng tinh dầu cúc tần

3.3. Kết quả phân tích thành phần cấu tử tinh dầu cúc tần

Các cấu tử trong tinh dầu được xác định bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS) các thành phần hóa học trong tinh dầu cúc tần được xác định và ghi trong bảng 3.5.

Bảng 3.6: Thành phần hóa học trong tinh dầu cúc tần

TT	Tên mẫu	Mã mẫu	Thành phần đơn lượng	KQ L1 (%)
1	Cúc tần	CCT1	a-Pinene	1,29
			m-Cymene	0,45
			c-Terpinene	1,88
			Linalool	0,32
			Nonanal	0,35
			Terpinen-4-ol	1,03
			Estragole	0,42
			Citronellol	0,54
			Neral	0,77
			Anethole	4,66
			Silphiperfol-5-ene	5,22
			Germacrene B	2,94
			Caryophyllene	5,47
			Humulene	5,13
			Eudesma-4(14), 11-diene	4,37
			Cadina-1(10),4-diene	0,55
			Caryophyllene Oxyde	6,55
			Khusimene	1,75
			Humulenol-II	1,43
			Lanceol, cis	4,75
			a-Isonootkatol	0,78
			Silphiperfola-4(7), 14-diene	1,41
			Phytol	3,48
			Copalol	0,14
			1-Docosanol	0,05

Từ kết quả trên cho thấy thành phần hóa học trong tinh dầu cúc tần thu được có 25 hợp chất. Trong đó các chất có hàm lượng cao nhất là *Caryophyllene Oxyde*(6.55%), *Caryophyllene*(5.47%), Silphiperfol-5-ene(5.22%), *Humulene*(5.13%).

Kết quả trên có sự khác biệt với kết quả nghiên cứu về thành phần tinh dầu cúc tần ở Nghệ An theo

sự nghiên cứu của Nguyễn Thị Chung.(1999). Cụ thể nghiên cứu này công bố đã tìm được 34 hợp chất và đã xác định được 22 hợp chất. Với thành phần chính là*:* β-*selinen,* α-*copaen, 7*β-*H-Silphiperfol-5-en.*

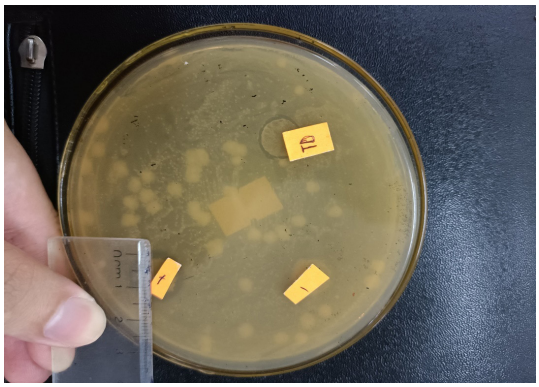
Sở dĩ có sự sai khác này có thể là do sự khác nhau về điều kiện, khí hậu, thổ nhưỡng và điều kiện thực nghiệm nên thành phần các chất trong tinh dầu khác nhau, cho thấy giá trị sinh học cao của Cúc Tần tại vườn quốc gia Tam Đảo.

3.4. Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học của tinh dầu cúc tần

3.4.1. Kết quả nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu cúc tần

Để biết được tinh dầu cúc tần có hoạt tính kháng khuẩn hay không: Chúng tôi đã sử phương pháp khuếch tán trên giếng thạch bằng cách đo đường kính của vùng ức chế tăng trưởng của vi khuẩn (mm) của tinh dầu trên đĩa thạch. Kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của tinh dầu cúc tần ảnh hưởng đến khả năng kháng khuẩn được thể hiện:

Tinh dầu từ lá cúc tần có khả năng kháng chuẩn chống lại vi khuẩn thử nghiệm là *E.coli* với kích thước vòng kháng khuẩn đo được là: 1,5 mm. Từ đó ta có thể khẳng định tinh dầu được chiết suất từ lá cúc tần có khả năng kháng khuẩn nhưng khả năng kháng khuẩn yếu.



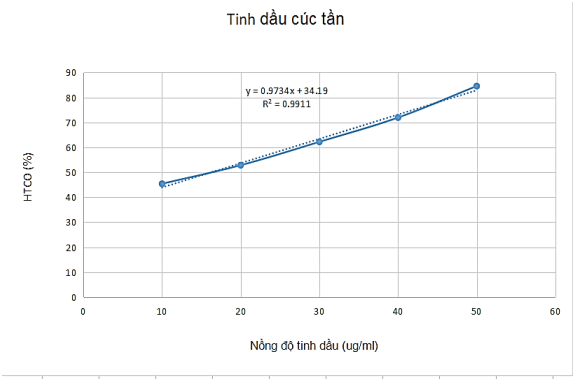
Hình 4.4. Ảnh kháng khuẩn tinh dầu cúc tần

3.4.2. Kết quả nghiên cứu hoạt tính chống oxy hóa của tinh dầu cúc tần

Qua quá trình thí nghiệm với chất thử DPPH, tôi xác định được sự tương quan giữa hoạt tính ức chế gốc tự do và nồng độ tinh dầu được thể hiện qua bảng 3.6.

Bảng 3.7: Kết quả xác định khả năng ức chế gốc tự do

Nồng độ (µg/mL)	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Độ hấp thụ	Mẫu đối chứng	%DPPH
10	0,286	0,287	0,286	0,286	0,524	45,41
20	0,247	0,246	0,248	0,247	0,524	52,86
30	0,198	0.197	0,198	0,198	0,524	62,21
40	0,146	0.147	0,147	0,147	0,524	71,94
50	0,081	0,081	0,082	0,081	0,524	84,54



Hình 3.5: Sự tương quan giữa hoạt tính ức chế gốc tự do và nồng độ tinh dầu

Từ phương trình ta suy ra giá trị IC_{50} của tinh dầu cúc tần là: IC_{50} = 16,24 (µg/mL).

Hình 3.6. Đánh giá hoạt tính chống oxy hoá của tinh dầu cúc tần

4. Kết luận

- Đã khảo sát được điều kiện tách chiết tinh dầu: Thông số nhiệt độ tốt nhất là 100^{o}C; Tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu tốt nhất là 3/2 (mL/g); Thông số thời gian tốt nhất là 60 phút.

- Thông số tối ưu hóa được điều kiện tách chiết như sau: Thông số nhiệt độ tối ưu là: 100.41^{o}C; Tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu tối ưu là: 1.65 (mL/g); Thông số thời gian tối ưu là: 58.65 phút.

- Qua quá trình làm nghiên cứu và làm thí nghiệm, tôi đã xác định được trong tinh dầu cúc tần trồng tại Thái Nguyên có 25 hợp chất, trong đó các chất có hàm lượng cao nhất là: *Caryophyllene, Oxyde* (6,55%), *Caryophyllene* (5.47%), Silphiperfol-5 ene (5,22%), *Humulene* (5,13%).

- Tinh dầu cúc tần có khả năng kháng khuẩn và chống oxy hóa

REFERENCES

[1]. Chung, N.T. (1999), Research on chemical composition of Pluckea indica (L.) less essential oil in Nghe An. Master's thesis in chemistry, Vinh University.

[2]. Chi, V.V. (1999), *Dictionary of Vietnamese medicinal plants*. Medical Publishing House, 1999.

[3]. Hoa, D.T.K., Tinh, N.T., Luong, T.T., Duy, N.V., My, N.T., Ngoc, L.T.H., Ngoc, N.T.H., Lam, V.D., Son, L.H. (2021), *Research on the extraction process of carotenoids total from leaves of chrysanthemum indica less. (pluchea indica less.) collected in Thai Nguyen"*.

[4]. Hung, P.D. et al.(1998), *"Research on the extraction and structural determination of highly bioactive compounds from plants belonging to the daisy, coffee, hollyhock, and some other plants belonging to the daisy family, coffee, hollyhock and some plants. Other surnames are common in southern Vietnam"*.

[5]. Huong,L.M. (2020), *Study on factors affecting the ability to extract essential oil from betel leaf and evaluate antibacterial activity of essential oil. Graduation thesis in food technology*, Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry.

[6]. Ky, P.T. (1998). *Medicine lecture*. Hanoi University of Pharmacy.

[7]. Loi, D.T. (1997), North-South medicinal plants. Medical Publishing House

[8]. Loi. D.T. (2004) "Medicinal plants and Vietnamese herbs", p. 668-669. Medical Publishing House

[9]. New Palace. Essential oil plant resources in Vietnam. Hanoi Agricultural Publishing House, 2001.

[10]. Phuoc , N.D. (2003). Study on chemical composition of essential oil of chrysanthemum (Pluchea indica(L.) Less) in Ha Tinh. Graduation thesis in organic chemistry Vinh University

[11]. Cho et al. Crude aqueous extracts of Pluchea indica (L.) Less. inhibit proliferation and migration of cancer cells through induction of p53-dependent cell death. BMC complementary and alternative medicine, 12, 265

[12]. Hac, L.V., Chung, N.T., Dung, N.X., Trung, H.Q. (2000), and Piet.A.Leclerq constituents of leaf and root essentianal oil of Pluchea indica(L.) *Less from Viet Nam,J.of essential oil- Brearing Plant*.2000, Vol. 3, No.1, pp 21-29.