

NGHIÊN CỨU TRÍCH LY TINH DẦU NGẢI CỨU, XÁC ĐỊNH CÁC CHỈ SỐ HÓA LÝ VÀ KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN

Trịnh Thị Như Quỳnh⁽¹⁾

(1) Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài 07/04/2021; Ngày gửi phản biện 07/04/2021; Chấp nhận đăng 30/05/2021

Liên hệ email: quynhntn.ktcn@tdmu.edu.vn

<https://doi.org/10.37550/tdmu.VJS/2021.03.183>

Tóm tắt

Tinh dầu ngải cứu có nhiều công dụng trong y học và đặc biệt là có khả năng điều trị ung thư. Nghiên cứu này nhằm tối ưu hóa các thông số kỹ thuật cho thu nhận tinh dầu từ lá ngải cứu đồng thời xác định chỉ số hóa lý và hoạt tính kháng khuẩn. Phương pháp nghiên cứu được sử dụng là chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp trong bộ chưng cất tinh dầu nhẹ Clevenger; bố trí thí nghiệm theo phương pháp ngẫu nhiên, lặp lại ba lần; xử lý số liệu bằng phần mềm SAS 9.4. Kết quả cho thấy nguyên liệu lá già, cắt 1cm, ngâm 30 phút trong NaCl 10%, chưng 180 phút, nguyên liệu héo 120 giờ, tỷ lệ nguyên liệu: nước chưng là 1 : 3 thích hợp cho thu nhận tinh dầu từ lá ngải cứu. Hàm lượng tinh dầu là 0,482%. Chỉ số hóa lý: tỷ trọng là 0,885; IA: 3,630; chỉ số IE: 36,881; chỉ số IS: 40,486; chỉ số ethanol: tỷ lệ tinh dầu/cồn tuyệt đối = 1:10,47; tỷ lệ tinh dầu/cồn 90° = 1:14,27; tỷ lệ tinh dầu/cồn 80° = 1:23,90; tỷ lệ tinh dầu/cồn 70° = 1:48,43. Tinh dầu ngải cứu có khả năng kháng các chủng vi khuẩn gram (+) và vi khuẩn gram (-).

Từ khóa: chỉ số hóa lý, hoạt tính kháng khuẩn, lôi cuốn hơi nước, ngải cứu, tinh dầu

Abstract

STUDY ON EXTRACTING MUGWORT ESSENTIAL OIL, DETERMINING CHEMICAL COMPOSITION AND INVESTIGATING ANTI-BACTERIAL ACTIVITY

Mugwort essential oil has a lot of uses in medicine and especially capable of treating cancer. This study aimed to optimize the technical parameters for the extraction of essential oil from Mugwort leaves and determine the physicochemical index and antibacterial activity. Using the distillation method that attracts steam directly in the Clevenger light essential oil distillation unit. Experiment arrangement by random method, repeated three times. Data processing using SAS 9.4 software. The results showed that the old leaf material, cut 1cm, soaked for 30 minutes in 10% NaCl, distilled 180 minutes, wilted for 120 hours, the ratio of raw material: distilled water was 1:3, suitable for collection. Essential oils from Mugwort leaves. The essential oil content is 0.482%. Physical and chemical index: density is 0.885; IA: 3,630; IE index: 36,881; IS index: 40,486; Ethanol index: absolute oil/alcohol ratio = 1:10.47; the ratio of essential oils/alcohol 90° = 1:14.27; the

ratio of essential oils/alcohol 80° = 1:23.90; The ratio of essential oil/alcohol 70° = 1:48.43. Mugwort oil is resistant to bacterial strains (Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus, Shigella boydii). The parameters of Mugwort oil collection have been optimized. Determination of wormwood essential oil content grown in Binh Duong and determination of the physicochemical index of essential oil. Mugwort leaf oil is resistant to gram (+) and gram (-) bacteria strains.

1. Giới thiệu

Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.) là một loài thực vật thuộc họ Cúc, có tiềm năng để sản xuất tinh dầu và chất kháng sinh tự nhiên; là dược liệu sử dụng rộng rãi với thành phần hóa học cũng khá đa dạng tập trung ở các bộ phận khác nhau của cây như cụm hoa, lá và cây chứa tinh dầu, flavonoid, phenolic,... (Dược điển Việt Nam IV, 2004). Ngải cứu có tác dụng chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng viêm, gây độc tế bào ung thư, dùng trong bệnh lý về huyết áp, hen suyễn và có tác dụng bảo vệ gan. Trong y học hiện đại, ngải cứu được sử dụng để hỗ trợ cân bằng hệ probiotic đường ruột, giúp giảm hiện tượng táo bón, loại bỏ giun và ký sinh trùng đường ruột. Một số hoạt chất trong ngải cứu còn giúp kháng viêm, làm se da, sáng da, tẩy tế bào chết, kháng khuẩn, kháng nấm, giảm thâm nám. Một số nghiên cứu đã chỉ ra trong ngải cứu có chứa hoạt chất artemisinin có tác dụng chữa sốt rét. Theo Đông y và y học cổ truyền, ngải cứu được sử dụng trong nhiều bài thuốc dân gian với các công dụng đặc trưng như bổ huyết, điều kinh, an thai, sơ cứu vết thương, trị mụn, mẫn ngứa, đau thần kinh tọa, nhức xương khớp, đau đầu hoa mắt, cảm cúm, ho, đau họng, thổ huyết, máu cam,... (Đỗ Tất Lợi, 2004).

Việc nghiên cứu tách chiết các hợp chất có dược tính từ tinh dầu ngải cứu và thử hoạt tính sinh học là vấn đề mới mẻ, chưa được quan tâm và nghiên cứu nhiều. Tinh dầu được sản xuất từ thân, lá cây bằng nhiều phương pháp: phương pháp cơ học, phương pháp trích ly bằng dung môi dễ bay hơi và không bay hơi, phương pháp trích ly bằng CO₂, phương pháp vi sóng, phương pháp sinh học,... Ngoài ra, còn một phương pháp trích ly tinh dầu khá phổ biến là phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước. Ưu điểm của phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước là quy trình kỹ thuật tương đối đơn giản, thiết bị gọn, dễ chế tạo, không đòi hỏi vật liệu phụ như các phương pháp tẩm trích, hấp thụ, thời gian tương đối nhanh, thu được tinh dầu ít bị lẫn tạp chất, giữ nguyên được mùi vị thiên nhiên ban đầu và thành phần trong tinh dầu ít bị biến đổi. Mục đích của nghiên cứu này là bước đầu tìm hiểu, khảo sát các điều kiện thành phần hóa học và những ứng dụng của cây ngải cứu từ đó nâng cao hiệu quả sử dụng loại cây này.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Nguyên liệu

Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.) thu mua ở thành phố Thủ Dầu Một, tỉnh Bình Dương, sau đó ngắt bỏ các cành chỉ lấy lá.

Các chủng vi khuẩn *Escherichia coli*, *Shigella boydii*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dùng trong nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của tinh dầu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu thu được bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước: Tiến hành khảo sát yếu tố: kích thước nguyên liệu (đề nguyên, cắt nhỏ 1cm và xay 60 giây); tuổi nguyên liệu (lá non và lá già); nồng độ NaCl bổ sung vào nguyên liệu (0; 5; 10; 15%); thời gian ngâm nguyên liệu trong dung dịch NaCl (0, 30, 45 và 60 phút); thời gian chưng cất (30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 và 240 phút); độ héo của nguyên liệu (0h, 72h, 120h; 168h) và lượng nước chưng cất (300, 450 và 600mL). Lần lượt thay đổi một trong sáu yếu tố trên và cố định các yếu tố còn lại để chọn được mức tối ưu cho quá trình ly trích và thu nhận tinh dầu ngải cứu. Sau mỗi thí nghiệm thì yếu tố tối ưu sẽ được kế thừa cho thí nghiệm tiếp theo.

Đánh giá cảm quan về chất lượng tinh dầu: phân tích sơ bộ chất lượng của tinh dầu bằng cảm quan (Tôn Long Dày, 2013), nghiên cứu những dấu hiệu bên ngoài như màu sắc, mùi, vị, độ trong suốt,... từ đó có thể phán đoán và đánh giá sơ bộ về chất lượng tinh dầu và mục đích sử dụng tinh dầu.

Định lượng tinh dầu: theo TCVN 8444:2010, hàm lượng tinh dầu được tính theo công thức:

$$\% \text{ tinh dầu} = \frac{\text{số mL tinh dầu thu được sau chưng cất}}{\text{số gam nguyên liệu tươi hoặc khô}} \times 100\%$$

Tỷ trọng: tỷ trọng tinh dầu được tính theo công thức (theo TCVN 189:1993):

$$d_{20}^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Với: m_0 : khối lượng của ống tiêm không, tính bằng gam (g); m_1 : khối lượng của ống tiêm và nước cất, tính bằng gam (g); m_2 : khối lượng của ống tiêm và tinh dầu, tính bằng gam (g); Cứ như thế lặp lại nghiệm thức 3 lần: $d(tb) = (d_1 + d_2 + d_3)/3$

Độ hòa tan của tinh dầu trong ethanol: pha ethanol 90°, 80°, 70° từ cồn tuyệt đối. Dùng pipette chuẩn hút 1mL tinh dầu ngải cứu cho vào bình tam giác có nút mài. Từ burette nhỏ dần ethanol vào bình đựng tinh dầu. Sau mỗi lần nhỏ khoảng 0,2mL vào đập nút và lắc đều cho đến khi tan hết tinh dầu. Tiếp tục nhỏ ethanol vào và lắc cho đến khi thu được dung dịch đồng nhất trong suốt, ghi lượng ethanol đã dùng. Lặp lại thao tác 3 lần.

Xác định chỉ số acid (Index Acid – IA): chỉ số acid là số mg KOH cần thiết để trung hoà các acid tự do có trong 1 g tinh dầu. Theo TCVN 8444:2010, chỉ số acid được tính theo công thức:

$$I_A = \frac{5,61 \cdot V}{g}$$

Trong đó, V_{KOH} : số mL dung dịch KOH 0,1N dùng chuẩn độ; 5,61: số mg KOH có trong 1mL dung dịch KOH 0,1N; g: số gam tinh dầu dùng để chuẩn độ.

Xác định chỉ số ester (Index Ester – IE): Chỉ số ester hoá của tinh dầu là số mg KOH cần thiết để trung hoà lượng acid béo nằm ở dạng ester có trong 1g tinh dầu. Theo TCVN 8444:2010, chỉ số acid được tính theo công thức:

$$IE = \frac{5,61.(V_1 - V_0)}{g}$$

Trong đó, V_0 : thể tích dung dịch HCl dùng cho mẫu trắng (mL); V_1 : thể tích dung dịch HCl dùng cho mẫu tinh dầu (mL); g: số gam tinh dầu ngải cứu

Xác định chỉ số savon hóa (Index Savon – IS): Chỉ số savon hoá là số mg KOH cần thiết để tác dụng với tất cả các acid tự do và acid kết hợp dưới dạng ester có trong 1g tinh dầu. Theo TCVN 8444:2010, Chỉ số savon hoá của tinh dầu bằng tổng số giữa chỉ số ester hoá và chỉ số acid: $IS = IE + IA$.

Đánh giá hoạt lực kháng khuẩn: đánh giá hoạt lực kháng khuẩn của tinh dầu ngải cứu trên 4 chủng vi sinh vật chỉ thị: *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli* và *Shigella boydii*. Mẫu thuốc kháng sinh Ampicillin để đối chứng. Mức độ nhạy cảm của vi khuẩn với dịch chiết được phân loại theo đường kính vô khuẩn (Celikel và Kavas, 2008). So sánh đường kính vòng vô khuẩn của tinh dầu ngải cứu với kháng sinh.

2.3. Thống kê và xử lý số liệu

Thu thập và xử lý số liệu bằng phần mềm SAS 9.4 (Statistical Analysis System). Mỗi nghiệm thức thí nghiệm được lặp lại ba lần. Tất cả các số liệu sau khi thu thập ứng với từng chỉ tiêu theo dõi, được thống kê và biểu diễn dưới dạng các số liệu trung bình có cùng ký tự a, b,... thì không có sự khác biệt về mặt thống kê. Các mẫu tự khác nhau (a, b,...) chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu

Kết quả thu được cho thấy kích thước nguyên liệu lá ngải cứu có ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu. Ở 3 kích thước để nguyên, cắt nhỏ 1cm và xay 60 giây hàm lượng tinh dầu thu được có sự khác nhau rõ rệt, cụ thể ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu

Kích thước nguyên liệu	Hàm lượng tinh dầu (%)
Để nguyên lá	0,091 ^c
Cắt nhỏ 1 cm	0,469^a
Xay 60 giây	0,322 ^b

Kết quả thí nghiệm cho thấy, nguyên liệu được cắt nhỏ 1cm sẽ cho hàm lượng tinh dầu tối ưu là: 0,469%. Khi xay 60 giây, nguyên liệu lá bị phá vỡ, các tế bào chứa tinh dầu bị vỡ, dễ thẩm thấu vào các túi dầu, tinh dầu dễ thoát ra môi trường. Trong quá trình xay lại tạo ra một lượng nhiệt nhất định nên dẫn đến việc tinh dầu bị thất thoát ngay trong quá trình

xay. Đối với nguyên liệu xay 60 giây, tinh dầu thu được có màu vàng sáng, mùi tự nhiên so với nguyên liệu cắt nhỏ, tinh dầu đôi khi xuất hiện màu vàng sậm do tiếp xúc nhiệt quá lâu.

3.2. Ảnh hưởng của tuổi nguyên liệu đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu

Kết quả thu được cho thấy tuổi nguyên liệu lá ngải cứu có ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu. Ở 2 loại tuổi là lá non và lá già, hàm lượng tinh dầu thu được có sự khác nhau rõ rệt, cụ thể ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của tuổi nguyên liệu đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu

Tuổi nguyên liệu	Hàm lượng tinh dầu (%)
Lá non	0,243 ^b
Lá già	0,470 ^a

Kết quả thu được ở bảng 2 cho thấy tuổi nguyên liệu lá ngải cứu (lá non, lá già) có ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu thu được. Lá còn non lượng hàm lượng nước cao, khả năng tích lũy các hợp chất hóa học còn thấp, lá chủ yếu tổng hợp các chất giúp cho thực vật tăng trưởng. Khi lá già đi, độ ẩm thấp, lá tích lũy nhiều chất khô hơn, đặc biệt là các hợp chất thứ cấp trong đó có tinh dầu, vì vậy hàm lượng tinh dầu ở lá già cao gấp đôi so với lá non. Do vậy, khi thu nhận tinh dầu từ lá ngải cứu nên sử dụng lá già.

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu

Kết quả thu được cho thấy nồng độ muối NaCl bổ sung vào nước chung có ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu. Ở 4 nồng độ NaCl khác nhau thì hàm lượng tinh dầu thu được có sự khác nhau rõ rệt, cụ thể ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu

Nồng độ muối NaCl (%)	Hàm lượng tinh dầu (%)
0	0,147 ^c
5	0,243 ^b
10	0,471^a
15	0,290 ^b

Kết quả thí nghiệm cho thấy việc bổ sung NaCl vào nước chung giúp làm tăng hàm lượng tinh dầu thu được, nồng độ NaCl bổ sung vào nước chung tăng thì hàm lượng tinh dầu thu được cũng tăng dần và hàm lượng tinh dầu thu được cao nhất là 0,471% khi bổ sung 10% NaCl vào nước chung. Tuy nhiên, nếu tăng nồng độ NaCl bổ sung vào nước chung lên 15% thì hàm lượng tinh dầu thu được lại giảm. Do đó, khi trích ly tinh dầu ngải cứu để thu được hàm lượng tinh dầu cao nhất cần tiến bổ sung 10% NaCl vào nước chung trước khi nguyên liệu.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian ngâm nguyên liệu trong dung dịch NaCl đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu

Kết quả thu được cho thấy việc ngâm nguyên liệu trong dung dịch NaCl trước khi chung cất có ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu. Ở 3 thời gian ngâm khác nhau thì hàm lượng tinh dầu thu được có sự khác nhau rõ rệt, cụ thể ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian ngâm nguyên liệu trong NaCl đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu

Thời gian ngâm (phút)	Hàm lượng tinh dầu (%)
0	0,128 ^c
30	0,473^a
60	0,243 ^b

Kết quả thí nghiệm cho thấy ở mức thời gian ngâm nguyên liệu trong dung dịch NaCl là 30 phút, hàm lượng tinh dầu thu được cao nhất là 0,473%. Do đó, khi trích ly tinh dầu ngải cứu để thu được hàm lượng tinh dầu cao nhất cần tiến hành ngâm nguyên liệu trong dung dịch NaCl 10% trong thời gian 30 phút.

3.5. Ảnh hưởng của thời gian chưng cất đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu

Kết quả thu được cho thấy thời gian chưng cất có ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu. Việc chưng cất càng lâu, lượng tinh dầu thu được càng nhiều, sự khác nhau rõ rệt ở các khoảng thời gian chưng cất khác nhau, cụ thể ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của thời gian chưng cất đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu

Thời gian chưng cất (phút)	Hàm lượng tinh dầu thu được (%)
30	0,150 ^c
60	0,176 ^c
90	0,255 ^{bc}
120	0,360 ^b
150	0,387 ^b
180	0,474^a
210	0,466 ^a
240	0,458 ^a

Kết quả thu được cho thấy: thời gian chưng cất từ 30 phút đến 60 phút, tinh dầu tiết ra khá chậm; từ 90 phút đến 120 phút, hàm lượng tinh dầu thu được tăng nhanh và đạt được cao nhất khi chưng 180 phút. Hàm lượng tinh dầu thu được ở thời điểm 180 phút là 0,474% và bắt đầu bị hao hụt dần khi thời gian chưng cất tăng. Mỗi loại nguyên liệu có cấu trúc thực vật khác nhau, yêu cầu khoảng thời gian khác nhau để chưng cất. Khi tăng thời gian chưng cất đến một giới hạn nhất định lượng tinh dầu trong mẫu đã được trích ly hoàn toàn thì nên ngưng quá trình chưng cất để thu được tinh dầu với hàm lượng cao nhất, chất lượng tốt nhất (chưng quá lâu gây cháy khét nguyên liệu, tốn thời gian và lãng phí nhiên liệu). Việc kéo dài thời gian chưng cất còn ảnh hưởng đến chất lượng tinh dầu do nguyên liệu bị cháy, khét làm mất mùi thơm tự nhiên của tinh dầu. Đối với nguyên liệu ngải cứu thì thời gian chưng cất là 180 phút.

3.6. Ảnh hưởng của độ héo nguyên liệu đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu

Kết quả thu được cho thấy trạng thái của nguyên liệu (tươi hay héo) khi chưng cất có ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu. Ở 4 độ héo khác nhau của nguyên liệu thì hàm lượng tinh dầu thu được có sự khác nhau rõ rệt, cụ thể ở bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của độ héo nguyên liệu đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu

Thời gian để héo (giờ)	Hàm lượng tinh dầu thu được (%)
0	0,091 ^c
72	0,253 ^b
120	0,478^a
168	0,153 ^c

Kết quả nghiên cứu cho thấy trạng thái của nguyên liệu (tươi hay héo), thời gian làm héo có ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu. Khi nguyên liệu còn tươi hàm lượng nước trong nguyên liệu cao, độ ẩm cao, lượng tinh dầu thu được thấp. Ngải cứu có hàm lượng tinh dầu trong nguyên liệu khá thấp, nếu nguyên liệu tươi việc thu nhận tinh dầu được rất ít. Khi làm héo nguyên liệu, giảm bớt lượng nước trong nguyên liệu, lượng tinh dầu thu được tăng dần. Việc làm héo nguyên liệu ở các khoảng thời gian khác nhau ảnh hưởng rõ rệt đến hàm lượng tinh dầu thu được. Đối với ngải cứu thời gian làm héo là 120 giờ cho kết quả thu nhận tinh dầu với hàm lượng cao nhất đạt 0,478%. Tuy nhiên, nếu tiếp tục để héo nguyên liệu với thời gian lâu hơn là 168 giờ thì lượng tinh dầu thu được giảm, điều này có thể là do khi nguyên liệu héo lâu một phần tinh dầu bị phân hủy trong quá trình thoát hơi nước, nguyên liệu héo quá (độ ẩm thấp) khiến các cấu trúc thực vật co lại hình thành các lớp bao kín lại khiến cho tinh dầu bị giữ lại không thể thoát ra khi chưng cất. Từ kết quả thí nghiệm cho thấy thời gian làm héo nguyên liệu thích hợp là 120 giờ thích hợp nhất cho chưng cất tinh dầu từ lá ngải cứu.

3.7. Ảnh hưởng của lượng nước chưng cất đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu

Kết quả thu được cho thấy thể tích nước chưng được nạp vào bình chưng cất trước khi chưng cất có ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu. Ở 3 thể tích nước chưng khác nhau thì hàm lượng tinh dầu thu được có sự khác nhau rõ rệt, cụ thể ở bảng 7.

Bảng 7. Ảnh hưởng của lượng nước chưng cất đến hàm lượng tinh dầu ngải cứu

Thể tích nước chưng (mL)	Hàm lượng tinh dầu thu được (%)
300	0,266 ^b
450	0,482^a
600	0,254 ^b

Tỷ lệ nguyên liệu lá ngải cứu/nước chưng ảnh hưởng mạnh đến hiệu suất thu hồi tinh dầu. Lượng nước quá nhiều, một số thành phần tinh dầu có tính phân cực sẽ tan vào nước. Nếu lượng nước quá ít thì không đủ hòa tan các chất keo, muối bao bọc xung quanh túi tinh dầu dẫn đến nguyên liệu dễ bị cháy, khét, ảnh hưởng xấu đến chất lượng và hiệu suất thu được của tinh dầu. Kết quả thí nghiệm cho thấy thể tích nước chưng là 450mL tương đương tỷ lệ nguyên liệu/nước là 1/3, tinh dầu thu nhận được nhiều nhất và tối ưu nhất.

3.8. Xác định chỉ số vật lý, hóa học của tinh dầu ngải cứu

Kết quả đánh giá cảm quan: Tinh dầu ngải cứu thu được bằng phương chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp có các tính chất sau: màu: trong suốt màu vàng sáng; mùi: có

mùi hơi hắc, thơm nồng đặc trưng của ngải cứu, giống mùi của nguyên liệu. Vị: có vị đắng nhẹ, the và cay.

Kết quả định lượng tinh dầu ngải cứu

Bảng 8. Kết quả định lượng tinh dầu ngải cứu

Số lần	Khối lượng nguyên liệu (g)	Hàm lượng tinh dầu thu được (%)
1	150	0,472
2	150	0,490
3	150	0,484
Hàm lượng trung bình (%)		0,482

Từ kết quả nghiên cứu tối ưu hóa các thông số cho quá trình chưng cất tinh dầu ngải cứu cho thấy hàm lượng tinh dầu ngải cứu thu được ở các điều kiện tối ưu là 0,482%. Hàm lượng tinh dầu thu được của thực nghiệm tuy nhỏ hơn hàm lượng tinh dầu thu được ở điều kiện tối ưu của tác giả Nguyễn Thị Hồng nhưng thời gian trích ly tối ưu của thực nghiệm là 180 phút, nhanh hơn thời gian trích ly của tác giả là 300 phút.

Xác định tỷ trọng tinh dầu ngải cứu: Tiến hành thí nghiệm xác định tỷ trọng tinh dầu ngải cứu kết quả thu được ở bảng 9.

Bảng 9. Kết quả xác định tỷ trọng tinh dầu ngải cứu

Số lần	D
1	0,870
2	0,890
3	0,895
Trung bình	0,885

Tỷ trọng trung bình của tinh dầu ngải cứu thu được là: $0,885 < 1,0$. Điều này là có cơ sở, do tinh dầu ngải cứu thuộc nhóm tinh dầu nhẹ hơn nước. Tỷ trọng của tinh dầu ngải cứu được quyết định bởi thành phần của các chất có trong tinh dầu. Khi chưng cất trong bộ chưng cất Clevenger trực tiếp (bộ chưng cất tinh dầu nhẹ) tinh dầu thu được sẽ nằm phía trên hơi nước nằm phía dưới. Tỷ trọng của tinh dầu là một trong những thông số quan trọng giúp đánh giá chất lượng của tinh dầu.

Xác định chỉ số hóa học của tinh dầu ngải cứu:

Tiến hành xác định chỉ số lý hóa của tinh dầu ngải cứu thu được kết quả ở bảng 10.

Bảng 10. Kết quả xác định chỉ số hóa học của tinh dầu ngải cứu

Số lần	IA	IE	IS
1	3,487	36,711	39,911
2	3,802	36,921	41,051
3	3,601	37,012	40,497
Trung bình	3,630	36,881	40,486

Kết luận: 1) Chỉ số acid của tinh dầu ngải cứu là: $IA = 3,630$; 2) Chỉ số ester hóa của tinh dầu ngải cứu là: $IE = 36,881$; 3) Chỉ số savon hóa của tinh dầu ngải cứu là: $IS = 40,486$

Xác định độ hòa tan trong ethanol: Tiến hành xác định độ hòa tan của tinh dầu trong ethanol 96°, 90°, 80° thu được kết quả ở bảng 11.

Bảng 11. Kết quả xác định độ hòa tan của tinh dầu ngải cứu trong ethanol

Số lần	Thể tích ethanol tuyệt đối (mL)	Thể tích ethanol 90° (mL)	Thể tích ethanol 80° (mL)	Thể tích ethanol 70° (mL)
1	10,3	14,1	23,7	48,1
2	10,6	14,3	24,1	48,3
3	10,5	14,4	23,9	47,9
Thể tích trung bình	10,47	14,27	23,90	48,07
Tỷ lệ hòa tan tinh dầu	1:10,47	1:14,27	1:23,90	1:48,43

Kết quả khảo sát độ hòa tan của tinh dầu ngải cứu trong ethanol ở các nồng độ khác nhau cho thấy tinh dầu ngải cứu dễ bay hơi và tan tốt trong cồn. Nồng độ cồn càng cao khả năng hòa tan của tinh dầu càng tốt. Nồng độ cồn thấp, cần thể tích lớn mới có thể hòa tan được cùng một thể tích tinh dầu. Khi tăng nồng độ ethanol sẽ tỷ lệ thuận với độ hòa tan của tinh dầu. Nồng độ ethanol càng cao, tinh dầu càng tan tốt. Điều này cho thấy tinh dầu ngải cứu tan tốt trong cồn tuyệt đối.

3.9. Đánh giá hoạt lực kháng khuẩn

Kết quả kháng khuẩn của tinh dầu ngải cứu thu được bằng phương pháp lồi cuốn hơi nước trực tiếp cho thấy: ở 4 chủng vi khuẩn là *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella boydii* tinh dầu ngải cứu đều kháng được cả 4 chủng vi sinh vật chỉ thị này. Tinh dầu ngải cứu nguyên chất có khả năng kháng 4 chủng vi sinh vật này mạnh nhất và có hoạt lực kháng khuẩn mạnh hơn cả kháng sinh Ampicillin đối chứng. Khi pha loãng tinh dầu (nồng độ tinh dầu giảm dần thì kích thước vòng kháng giảm). Tuy nhiên, khi pha loãng tinh dầu ngải cứu ở độ pha loãng 10^{-4} (rất loãng) vẫn cho kết quả nhạy đối với các chủng *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* (Celikel và Kavas, 2008). Kết quả kháng khuẩn cho thấy tinh dầu ngải cứu thu được bằng phương pháp chưng cất hơi nước có phổ kháng rộng, kháng được các chủng vi khuẩn gram (+) và gram (-). Kết quả này bước đầu cho thấy tiềm năng của tinh dầu ngải cứu ứng dụng làm dược liệu, mỹ phẩm,... là rất lớn.

4. Kết luận

Từ quá trình nghiên cứu tác giả thu được các thông số kỹ thuật cho quá trình trích ly tinh dầu ngải cứu bằng phương pháp chưng cất lồi cuốn hơi nước trực tiếp trong bộ chưng cất hơi nước Clevenger là: nguyên liệu lá ngải cứu già để héo 120 giờ, sau đó cắt mẫu 1cm, chuẩn bị nước chưng với tỷ lệ nguyên liệu/nước: 1/3. Mẫu trước khi chưng phải được ngâm trong dung dịch NaCl 10% trong 30 phút, và chưng cất trong 180 phút kể từ khi giọt tinh dầu đầu tiên ngưng tụ nhỏ xuống ống hứng tinh dầu để thu được hàm lượng tinh dầu tối ưu là 0,482%. Tinh dầu ngải cứu thu được có màu vàng sáng, nhẹ hơn nước, có mùi nồng đặc trưng, vị cay the. Đã xác định được các chỉ số vật lý và hóa học của tinh

dầu ngải cứu: tỷ trọng tinh dầu ngải cứu: 0,885; chỉ số acid (IA): 3,630; chỉ số ester hóa (IE): 36,881; chỉ số savon hóa (IS): 40,486; chỉ số ethanol: tỷ lệ tinh dầu/cồn tuyệt đối = 1:10,47; tỷ lệ tinh dầu/cồn 90° = 1:14,27; tỷ lệ tinh dầu/cồn 80° = 1:23,90; tỷ lệ tinh dầu/cồn 70° = 1:48,43.

Kết quả kháng khuẩn ở 4 chủng vi khuẩn: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella boydii* cho thấy tinh dầu ngải cứu thu được bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp có khả năng kháng phổ rộng, kháng được các chủng vi khuẩn gram (+) và gram (-). Tinh dầu nguyên chất có khả năng kháng vi sinh vật mạnh nhất và có hoạt lực kháng khuẩn mạnh hơn cả kháng sinh Ampicillin đối chứng. Khả năng kháng khuẩn của tinh dầu ngải cứu giảm dần theo độ pha loãng tinh dầu. Kết quả cho thấy khi pha loãng tinh dầu ngải cứu 10⁻⁴ (rất loãng) nhưng vẫn cho kết quả nhạy đối với các chủng *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ahameethunisa A.R., Hopper W. (2010). Antibacterial activity of *Artemisia nilagirica* leaf extracts against clinical and phytopathogenic bacteria. *Complement Alternat. Med.*, 10, 6.
- [2] Bhoj R.S., Vidya S., Raj K.S., Saroj T., Nazrul H., Ebibeni N. (2012). Comparative evaluation of antimicrobial effect of *Artemisia vulgaris* essential oils extracted from fresh and dried herb. *Medicine plant*, (4)2, 76-82.
- [3] Bhoj R.S., Vidya S.R.K.S., Saroj T., Nazrul H., Ebibeni N. (2011). Antimicrobial effect of *Artemisia vulgaris* essential oil, Natural Products. *An Indian Journal*, 1-7.
- [4] Celikel N., Kavas G. (2008) Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. *Czech Journal of Food Sciences*, 26, 174-181.
- [5] *Dược điển Việt Nam IV* (2004). NXB Y học.
- [6] Đỗ Tất Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. NXB Khoa Học Kỹ Thuật.
- [7] Kordali S., Kotan R., Mavi A (2005). Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dranunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dranunculus*, *A. santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. *J. Agric. Food Chem*, 53, 9452-9458.
- [8] Sengul M., Ercisli S., Yildiz H., Gungor N., Kavaz A., Çetin B (2011). Antioxidant, Antimicrobial Activity and Total Phenolic Content within the Aerial Parts of *Artemisia absinthium*, *Artemisia santonicum* and *Saponaria officinalis*. *Iranian J. Pharmaceut, Res*, 10, 49-56.
- [9] Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8444:2010 (ISO 279:1998) về Tinh dầu.
- [10] Tiêu chuẩn Việt Nam 189:1993. Tinh dầu và phương pháp thử. Số 430/QĐ-TĐC ngày 7 tháng 9 năm 1993.
- [11] Tôn Long Dày (2013). *Ly trích và khảo sát thành phần hóa học của tinh dầu Bạc Hà*. Đại học Cần Thơ.
- [12] Zafar M.M., Hamdard M.E., Hameed A.(1990). Screening of *Artemisia absinthium* for antimalarial effects on *Plasmodium berghei* in mice: a preliminary report. *J. Ethnopharmacol*, 30, 223-226.