



## KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA TINH DẦU NGẢI SẬY (*ZINGIBER MONTANUM*)

Trần Thị Thùy Dương<sup>1</sup>, Nguyễn Trọng Đức<sup>1</sup>, Hồ Như Quỳnh<sup>1</sup>, Đặng Kiều Nhung<sup>1</sup>, Trương Lê Mỹ Tú<sup>1</sup> và Bùi Thị Bửu Huệ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 16/05/2014

Ngày chấp nhận: 29/12/2014

### Title:

Research the chemical components and biological activities of Ngai say's essential oil (*Zingiber montanum*)

### Từ khóa:

Ngải sậy, chưng cất lôi cuốn hơi nước, chưng cất lôi cuốn hơi nước có sự hỗ trợ của vi sóng, độc tính trên tế bào ung thư

### Keywords:

Ngai say, water distillation, steam distillation, microwave-assisted water distillation, cytotoxic

### ABSTRACT

Three different methods of extraction of essential oil from rhizome of Ngai say collected from Bay Nui, An Giang have been studied including water distillation (NSC-1), steam distillation (NSC-2) and microwave-assisted water distillation (NSC-3). The overall yields of the obtained essential oils were found to be almost the same in the cases of NSC-2 and NSC-3 methods (1.439% and 1.423%, respectively) and higher than that of NSC-1 (1.261%). Negligible amount of essential oil was found for trunks and leaves based on the water distillation method ( $6.00 \times 10^{-3}$  % and  $4.33 \times 10^{-3}$  %, respectively). GC-MS analysis showed that the essential oil from rhizome obtained under studied methods comprised mainly of 4-terpinenol (27 - 35%), sabinene (15 - 26%) and 1,4-bis(methoxy)-triquinacene (7 - 28%). Evaluation of bioactivity showed that the essential oils of Ngai say's rhizome had no anti-microbial and anti-fungal properties; negligible anti-oxidation activity compared to that of vitamine C but more significant compared with other essential oils such as *Curcuma longa* or *Cinnamomum camphora* Ness; and possessed good cytotoxic activities toward MCF-7, MCF7/ADR, MDA-MB-231 and Hela species.

### TÓM TẮT

Ba phương pháp trích ly tinh dầu từ củ Ngải sậy thu hái tại Bảy Núi, tỉnh An Giang đã được nghiên cứu bao gồm phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp (NSC-1), phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước gián tiếp (NSC-2) và phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có sự hỗ trợ của vi sóng (NSC-3). Hiệu suất tinh dầu thu được trong hai phương pháp NSC-2 và NSC-3 là khá giống nhau (lần lượt là 1,439% và 1,423%) và cao hơn so với phương pháp NSC-1 (1,261%). Bên cạnh đó, tinh dầu thân và lá Ngải sậy cũng được trích ly bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp nhưng hiệu suất không đáng kể (tương ứng là  $6 \times 10^{-3}$ % và  $4,33 \times 10^{-3}$ %). Kết quả phân tích bằng phương pháp GC-MS cho thấy thành phần tinh dầu củ thu được trong cả ba phương pháp chủ yếu bao gồm 4-terpinenol (27 - 35%), sabinene (15 - 26%) và 1,4-bis(methoxy)-triquinacene (7 - 28%). Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học cho thấy tinh dầu củ Ngải sậy thu được có hoạt tính kháng oxi hóa không đáng kể khi so với vitamin C nhưng tốt hơn tinh dầu Nghệ nhà và Long não; không có hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm trên các chủng vi sinh vật thử nghiệm nhưng thể hiện tốt hoạt tính gây độc trên 4 dòng tế bào ung thư: ung thư vú (MCF-7), ung thư vú đa kháng thuốc (MCF7/ADR), ung thư biểu mô tuyến (MDA-MB-231) và ung thư cổ tử cung (Hela).

## 1 GIỚI THIỆU

Họ Gừng ở Việt Nam có từ 17 đến 20 chi và trên 100 loài. Các cây họ Gừng đã được sử dụng từ lâu đời để làm thuốc trị bệnh như Riềng nếp giúp tiêu hóa; Nghệ trị đau dạ dày, làm mau lành vết thương; Gừng giúp tiêu hóa, trị ho, đau bụng,... Ngải Sậy cũng thuộc họ Gừng, có tên khoa học là *Zingiber montanum*. Các kết quả nghiên cứu trên thế giới cho thấy tinh dầu Ngải Sậy có rất nhiều hoạt tính sinh học quý như kháng nấm (Md. Nazrul Islam Bhuiyan *et al.*, 2008; Ibrahim bin Jantan *et al.*, 2003), kháng oxy hóa (Saowaluck Bua-in *et al.*, 2009) và có độc tính với tế bào ung thư (Trần Công Luận, 2010). Ở Việt Nam, các nghiên cứu về hoạt tính sinh học của tinh dầu Ngải Sậy còn rất hạn chế. Đáng chú ý là công trình nghiên cứu của Trần Công Luận và *ctv* đã đạt được những thành công bước đầu trong việc nghiên cứu khả năng kháng ung thư và kháng nấm của tinh dầu Ngải sậy. Từ đó cho thấy việc nghiên cứu quy trình trích ly, xác định thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của tinh dầu Ngải Sậy có ý nghĩa quan trọng cả về mặt khoa học lẫn thực tiễn, góp phần vào hướng nghiên cứu tận dụng những nguồn nguyên liệu sẵn có để tạo ra các sản phẩm tinh dầu thiên nhiên chất lượng cao, giá thành thấp, nhằm phục vụ tốt hơn nhu cầu cuộc sống. Từ công trình nghiên cứu của nhóm tác giả này, đề tài phát triển hoàn thiện thêm việc nghiên cứu tinh dầu Ngải sậy bằng cách mở rộng nghiên cứu trên thân và lá Ngải sậy. Thêm vào đó là xây dựng quy trình trích ly tinh dầu Ngải sậy theo ba phương pháp là chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp, gián tiếp và có sự hỗ trợ của vi sóng ở quy mô phòng thí nghiệm. Về khảo sát hoạt tính sinh học của tinh dầu, đề tài nghiên cứu thêm hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn, đặc biệt hoạt tính kháng ung thư trên 4 dòng tế bào ung thư: ung thư vú (MCF-7), ung thư vú đa kháng thuốc (MCF7/ADR), ung thư biểu mô tuyến (MDA-MB-231) và ung thư cổ tử cung (Hela).

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

### 2.1 Nguyên liệu

Nguyên liệu được sử dụng là thân, lá và củ Ngải sậy (*Zingiber montanum*) được thu mua trực tiếp tại vườn ở Bảy Núi, An Giang và được định danh tại Bộ môn Sinh, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ và tham chiếu với tài liệu tham khảo (Nguyễn Thị Kim Huê, 2009). Toàn bộ cây Ngải sậy sau khi thu mua về được rửa sạch bùn

đất, bụi bẩn và loại bỏ phần hư, dập. Các hoá chất sử dụng trong nghiên cứu có nguồn gốc Trung Quốc.

### 2.2 Thực nghiệm

#### 2.2.1 Trích ly tinh dầu từ củ Ngải sậy

Ở mỗi phương pháp trích ly, sau khi quá trình chưng cất kết thúc thu lấy hoàn toàn cột nước và tinh dầu vào bình tam giác, để nguội. Tiến hành chiết tách tinh dầu bằng diethyl ether, làm khan bằng  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , lọc, cô đuổi dung môi để thu tinh dầu sản phẩm. Cân, xác định hiệu suất. Mỗi thí nghiệm được tiến hành ba lần, lấy giá trị trung bình.

##### a. Chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp (NSC-1)

Củ Ngải sậy có độ ẩm 7,53% được xay nhuyễn. Cân 200 g mẫu, cho vào bình cầu cùng với 500 mL nước cất hai lần, lắp hệ thống chưng cất hoàn chỉnh và tiến hành chưng cất tinh dầu trong 2,5 giờ. Hiệu suất tinh dầu thu được theo phương pháp này là 1,261%.

##### b. Chưng cất lôi cuốn hơi nước gián tiếp (NSC-2)

Củ Ngải sậy có độ ẩm 7,53% được xay nhuyễn. Cân 200 g mẫu, cho vào bình cầu có đáy dưới được chặn lưới thép và gắn với bình chứa 500 mL nước cất. Nguyên liệu không tiếp xúc trực tiếp với nước cất và nguồn nhiệt. Tiến hành chưng cất tinh dầu trong 12 giờ. Hiệu suất tinh dầu thu được theo phương pháp này là 1,423%.

##### c. Chưng cất lôi cuốn hơi nước có sự hỗ trợ của vi sóng (NSC-3)

Củ Ngải sậy có độ ẩm 7,53% được xay nhuyễn. Cân 200 g mẫu, cho vào bình cầu cùng với 125 mL nước cất, lắp hệ thống chưng cất hoàn chỉnh, điều chỉnh công suất lò vi sóng ở 750 W và tiến hành chưng cất trong 1,5 giờ. Hiệu suất tinh dầu thu được theo phương pháp này là 1,439%.

#### 2.2.2 Phân tích thành phần tinh dầu bằng kỹ thuật GC/MS

Thành phần hóa học của tinh dầu củ Ngải sậy được phân tích bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ trên máy GC-MS của hãng Thermo Scientific tại Bộ môn Hóa, Khoa Khoa học Tự nhiên. Cột sử dụng trong phân tích là cột TG-SQC (15 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ), khí mang là Heli, với các điều kiện phân tích như sau:

Chương trình nhiệt độ	Điều kiện sắc ký		Điều kiện khối phổ
	Injector	Khí mang	
Nhiệt độ đầu ở 60°C, giữ 2 phút.	Nhiệt độ buồng tiêm: 240°C.	Loại khí: Heli. Chế độ đẳng dòng,	Nhiệt độ đường truyền khối phổ: 275°C.
Ram 1: Tăng lên 150°C với tốc độ 5°C/phút, giữ 2 phút.	Chế độ tiêm mẫu chia dòng: 50 mL/phút.	tốc độ 1,2 mL/phút.	Nhiệt độ nguồn cấp ion: 230°C.
Ram 2: Tăng lên 250°C với tốc độ 5°C/phút, giữ 3 phút.	Ti lệ chia dòng: 42.		Khối quét: 40 – 500 amu.

2.2.3 Phân tích chỉ số vật lý và hóa học của tinh dầu

Tinh dầu củ Ngải sậy trích ly từ 3 phương pháp sau khi được xác định thành phần hóa học, tiếp tục được xác định các chỉ số vật lý và hóa học như tỷ trọng (d), góc quay cực ( $\alpha'_D$ ), chỉ số acid (IA), chỉ số savon hóa (IS), chỉ số ester (IE).

2.2.4 Xác định khả năng kháng oxy hóa

Nguyên tắc của phương pháp là sử dụng 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Hoạt tính kháng oxy hóa của mẫu thử được đánh giá dựa trên khả năng loại bỏ gốc tự do thông qua việc làm giảm màu của DPPH, được xác định bằng độ hấp thụ quang của dung dịch sau phản ứng đo tại bước sóng  $\lambda = 517$  nm.

Cách tiến hành:

- DPPH gốc: 1 mg hòa tan trong 2 mL ethanol 99,7%.
- DPPH: 200  $\mu$ L DPPH gốc pha loãng thành 2 mL trong ethanol với nồng độ là 0,006%.
- Mẫu thử được pha loãng đến nồng độ phù hợp trong ethanol 99,7%. Sau đó tiến hành pha các dung dịch phản ứng theo Bảng 1.

**Bảng 1: Pha dung dịch thử nghiệm hoạt tính kháng oxy hóa**

STT	Dung dịch mẫu thử ( $\mu$ L)	Ethanol ( $\mu$ L)	DPPH ( $\mu$ L)
1	0	250	250
2	50	200	250
3	100	150	250
4	150	100	250
5	200	50	250
6	250	0	250

$\lambda = 517$  nm

Để thời gian phản ứng 30 phút ở 37°C, trong bóng tối, sau đó đo độ hấp thụ quang của các dung dịch ở bước sóng 517 nm. Phần trăm quét gốc tự do (Scavenging effect) DPPH của mẫu thử được tính theo công thức sau:

$$SC\% = [(A_{\text{trắng}} - A_{\text{mẫu}}) / A_{\text{trắng}}] \times 100$$

Thí nghiệm được lặp lại ba lần, tính kết quả trung bình.

Lập đồ thị biểu hiện mối tương quan giữa SC và thể tích mẫu thử đã dùng, từ đó tính được giá trị EC<sub>50</sub> của tinh dầu.

2.2.5 Xác định hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn

Hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn được kiểm định theo phương pháp khuếch tán trong bản thạch, thực hiện ở Phòng kiểm nghiệm Hóa – Lý – Vi sinh, Viện Pasteur, Thành phố Hồ Chí Minh và phương pháp pha loãng đa nồng độ để xác định IC<sub>50</sub>, thực hiện ở Phòng Hóa sinh ứng dụng, Viện Hóa học thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2.6 Xác định độc tính trên tế bào ung thư

Thử nghiệm độc tính trên tế bào của tinh dầu củ Ngải sậy ly trích từ 3 phương pháp được thực hiện trên 4 dòng tế bào ung thư: ung thư vú (MCF-7), ung thư vú đa kháng thuốc (MCF7/ADR), ung thư xuất phát từ biểu mô tuyến (MDA-MB-231), ung thư cổ tử cung (Hela) bằng phương pháp MTT. Thử nghiệm được tiến hành ở Phòng thí nghiệm Dược liệu, Khoa Dược, Trường Đại học Quốc Gia Seoul, Hàn Quốc.

Phương pháp MTT (3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) được mô tả như sau: các dòng tế bào ung thư được nuôi cấy trong đĩa 96 giếng có mật độ 5000 tế bào/giếng, với môi trường nuôi cấy là DMEM high glucose, 10% FBS, 1% A/A, ủ ở nhiệt độ 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Sau 24 giờ nuôi cấy, đĩa 96 giếng được chuyển đổi sang môi trường DMEM không có FBS. Tế bào được xử lý với tinh dầu Ngải sậy pha loãng bằng dung môi DMSO ở các nồng độ khác nhau và đảm bảo nồng độ cuối của DMSO trong môi trường nuôi cấy không vượt quá 0,05% (v/v) để tránh gây độc dung môi. Sau 48 giờ, 20  $\mu$ L dung dịch MTT có nồng độ 2 mg/mL được cho vào mỗi giếng và tiếp tục ủ trong 4 giờ. Enzyme cellular

của những tế bào sống sót sẽ chuyển hóa MTT thành formazan không bị hòa tan trong môi trường nuôi cấy. Formazan sẽ được hòa tan bằng DMSO và đo độ hấp thụ ở bước sóng 550 nm. Thành phần phần trăm của tế bào sống sót biểu thị độc tính của tinh dầu Ngải sậy, khi độc tính càng cao thì số lượng tế bào sống sót càng thấp. Thành phần phần trăm độc tính được xác định bằng cách so sánh độ hấp thụ ở giếng thử nghiệm với độ hấp thụ ở giếng đối chứng. Mỗi thử nghiệm có độ lặp lại ba lần. Sử dụng phần mềm Sigma Plot10.0 để tính toán giá trị IC<sub>50</sub>.

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Trích ly tinh dầu từ củ Ngải sậy

Ba phương pháp trích ly tinh dầu từ củ Ngải sậy ở quy mô phòng thí nghiệm được tiến hành khảo sát bao gồm: trích ly theo phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp với bộ Clevenger (NSC-1); trích ly theo phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước gián tiếp (NSC-2) và trích ly bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có sự hỗ trợ của vi sóng (NSC-3).

Ở phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp (NSC-1): Tiến hành khảo sát ba yếu tố ảnh hưởng tới hiệu suất tinh dầu trích ly bao gồm thể tích nước cất (mL), thời gian chưng cất (giờ) và cách xử lý mẫu (xay nhuyễn và xắt nhỏ) bằng cách cố định hai yếu tố và thay đổi yếu tố khảo sát để xác định giá trị tốt nhất. Kết quả tìm được điều

kiện chưng cất tốt nhất như sau: ứng với lượng mẫu là 200 g (xay nhuyễn), lượng nước cất sử dụng là 500 mL và trong thời gian chưng cất là 2,5 giờ. Trong điều kiện này, hiệu suất tinh dầu thu được tương ứng là 1,261 %.

Để xây dựng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước gián tiếp (NSC-2), đề tài tiến hành cố định hai yếu tố đã được xác định là tốt nhất từ quy trình trích ly (NSC-1) là thể tích nước cất (500 mL) và cách xử lý mẫu (xay nhuyễn), thay đổi thời gian chưng cất lần lượt ở các giá trị: 6, 8, 10, 12 và 14 giờ. Kết quả cho thấy, thời gian 12 giờ là khoảng thời gian tốt nhất ứng với hiệu suất tinh dầu thu được là 1,423 %.

Đối với phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có sự hỗ trợ của vi sóng (NSC-3), đề tài tiến hành khảo sát các yếu tố ảnh hưởng tới hiệu suất tinh dầu củ Ngải sậy bao gồm công suất lò vi sóng (W), thể tích nước cất (mL), thời gian chưng cất (giờ) bằng cách cố định hai yếu tố và thay đổi một yếu tố ở nhiều giá trị, đồng thời giữ nguyên giá trị của yếu tố đã được xác định là tốt nhất từ quy trình ly trích tinh dầu bằng phương pháp (NSC-1) là cách xử lý mẫu (xay nhuyễn). Kết quả tìm được điều kiện trích ly tốt nhất như sau: công suất chiếu của lò vi sóng là 750W, lượng nước cất sử dụng là 125 mL và thời gian chưng cất là 2,5 giờ.

Điều kiện tốt nhất tìm được cho ba quy trình trích ly tinh dầu củ Ngải sậy và hiệu suất tinh dầu thu được tương ứng được tóm tắt trong Bảng 2.

**Bảng 2: Điều kiện tốt nhất cho quá trình ly trích tinh dầu củ Ngải sậy**

Phương pháp	Lượng nước chưng cất (mL)	Thời gian chưng cất (giờ)	Cách xử lý nguyên liệu	Công suất lò vi sóng (W)	Hiệu suất tinh dầu (%)
NSC-1	500	2,5	Xay nhuyễn	-	1,261
NSC-2	500	12	Xay nhuyễn	-	1,423
NSC-3	125	1,5	Xay nhuyễn	750	1,439

Từ Bảng 2 cho thấy hiệu suất tinh dầu củ Ngải sậy thu được bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước gián tiếp (NSC-2) tuy cao hơn so với phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp (NSC-1) nhưng đòi hỏi thời gian chưng cất rất dài (12 giờ). Trong khi đó, phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có sự hỗ trợ của vi sóng (NSC-3) cần thời gian chưng cất ngắn nhất đồng thời cho hiệu suất tinh dầu cao nhất trong cả ba phương pháp.

#### 3.2 Trích ly tinh dầu từ thân và lá Ngải sậy

Phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp được áp dụng để trích ly tinh dầu từ thân và lá Ngải sậy. Thí nghiệm được lặp lại ba lần, mỗi lần với 300 g thân hoặc lá Ngải sậy đã được xử lý sơ

bộ (rửa sạch bụi bẩn, loại bỏ những phần bị hư, dập, để khô tự nhiên trong bóng mát, xay nhuyễn). Lượng nước cất sử dụng cho mỗi mẫu chưng cất là 500 mL và thời gian chưng cất là 5 giờ. Kết quả cho thấy: hiệu suất tinh dầu thân và lá thu được theo phương pháp này lần lượt là  $6 \times 10^{-3}$  và  $4,33 \times 10^{-3}$  %. Từ đây cho thấy, thân và lá Ngải sậy có hàm lượng tinh dầu rất thấp, không đáng kể so với củ Ngải sậy. Chính vì vậy, đề tài chỉ tiến hành phân tích thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của tinh dầu từ củ Ngải sậy.

#### 3.3 Phân tích thành phần hóa học của tinh dầu củ Ngải sậy

Thành phần hóa học của tinh dầu củ Ngải sậy được tiến hành phân tích bằng phương pháp GC-

MS. Kết quả được tóm tắt trong Bảng 3. Nhìn chung có sự khác biệt về thành phần của tinh dầu trích ly được ở ba phương pháp nghiên cứu. Tuy nhiên, thành phần nhiều nhất trong tinh dầu củ

Ngải sậy thu được bằng cả ba phương pháp là giống nhau bao gồm 4-terpinenol (27 – 35%), sabinene (15 – 26%) và 1,4-bis(methoxy)-triquinacene (7 – 28%).

**Bảng 3: Thành phần hóa học của tinh dầu củ Ngải sậy**

STT	Thành phần hóa học	NSC-1	NSC-2	NSC-3
1	4-Terpinenol	27,05	34,62	35,31
2	Sabinene	15,21	25,92	20,37
3	1,4-bis(Methoxy)-triquinacene	7,45	15,86	28,38
4	$\gamma$ -Terpinene	6,03	6,48	4,07
5	$\beta$ -Sesquiphellandrene	4,65	1,17	0,72
6	$\beta$ -Pinene	4,4	-	-
7	$\alpha$ -Terpinene	4,26	3	-
8	p-Cymene	3,62	1,24	0,91
9	$\alpha$ -Pinene	3,57	1,18	0,58
10	$\beta$ -Myrcene	3,3	1,26	0,66
11	4-Thujanol	3,11	-	-
12	$\alpha$ -Thujene	2,36	0,44	-
13	2-Allyl-1,4-dimethoxy-6-methylbenzene	2,04	2,03	2,77
14	$\alpha$ -Terpinolen	2	1,12	0,68
15	$\alpha$ -Humulene	-	-	1,77
16	(-)-Zingiberene	1,51	0,36	0,19
17	1-Terpinenol	1,36	1,33	-
18	Trans-Piperitol	1,22	-	-
19	cis-Piperitol	-	0,37	0,35
20	$\alpha$ -Terpineol acetate	1,03	0,26	-
21	(Z)-Sabinene hydrate	-	0,99	1,47
22	Camphene	0,97	0,27	0,13
23	5,6-bis(Hydroxymethyl)-3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-inden-1-one	0,7	-	-
24	$\beta$ -Bisabolene	0,62	-	-
25	$\alpha$ -Terpineol	-	0,54	-

**3.4 Kết quả phân tích một số chỉ tiêu hóa lý của tinh dầu củ Ngải sậy**

Một số chỉ tiêu hóa lý quan trọng của tinh dầu củ Ngải sậy như tỷ trọng, góc quay cực, chỉ số acid, chỉ số savon hóa và chỉ số ester được tiến hành phân tích. Kết quả được trình bày trong Bảng 4.

Nhìn chung, tinh dầu củ Ngải sậy trích ly từ ba phương pháp khác nhau có sự khác nhau về chỉ số vật lý, hóa học. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả phân tích thành phần hóa học của ba mẫu tinh dầu thu được: thành phần hóa học khác nhau dẫn đến các tính chất hóa lý như góc quay cực, chỉ số acid, chỉ số savon và chỉ số ester cũng khác nhau.

**Bảng 4: Chỉ số vật lý, hóa học của tinh dầu củ Ngải sậy**

Đặc điểm	NSC-1	NSC-2	NSC-3
Tỷ trọng	0,8360	0,8714	0,8564
Góc quay cực	-10,06	-8,51	-5,64
Chỉ số acid	3,02	2,58	4,59
Chỉ số savon hóa	47,31	55,04	37,67
Chỉ số ester	44,29	52,46	33,08

**3.5 Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học của tinh dầu củ Ngải sậy**

**3.5.1 Hoạt tính kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH**

Hoạt tính kháng oxy hóa của tinh dầu củ Ngải sậy được xác định bằng phương pháp DPPH. Kết

quả tính được giá trị EC<sub>50</sub> của tinh dầu củ Ngải sậy và so sánh với giá trị EC<sub>50</sub> của chất đối chứng là vitamin C và một số loại tinh dầu khác (Sara Albino Antunes *et al.*, 2012) được trình bày trong Bảng 5.

**Bảng 5: Giá trị EC<sub>50</sub> của các loại tinh dầu và vitamin C**

Tên	EC <sub>50</sub> (µg/mL)
NSC-1	545
NSC-2	470
NSC-3	315
<i>Cinnamomum camphora</i>	12942
Ness (long não)	2094,172
<i>Curcuma longa</i> (nghệ nhà)	4,870
Vitamin C	4,870

Từ đây cho thấy các loại tinh dầu khảo sát đều có hoạt tính kháng oxy hóa không đáng kể so với vitamin C, một hợp chất được biết có hoạt tính kháng oxy hóa rất tốt và có nhiều ứng dụng thương

mại. Tuy nhiên, so với hai loại tinh dầu khảo sát thì tinh dầu củ Ngải sậy có hoạt tính kháng oxy hóa tốt hơn và tốt nhất là tinh dầu củ Ngải sậy trích ly từ phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có sự hỗ trợ của vi sóng (NSC-3).

3.5.2 Hoạt tính kháng nấm và kháng khuẩn

a. Thử nghiệm hoạt tính kháng nấm và kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch và đo đường kính vòng ức chế

Do thành phần hóa học của cả ba loại tinh dầu khá giống nhau nên đề tài tiến hành khảo sát hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn trên mẫu tinh dầu NSC-1 bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch và đo đường kính vùng ức chế để sàng lọc sơ bộ trước.

Tinh dầu thử nghiệm bao gồm tinh dầu nguyên chất C<sub>0</sub> và tinh dầu pha loãng trong 1 thể tích dimethyl sulfoxide, theo thứ tự lần lượt là C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>. Lượng dùng thử nghiệm là 25 µL.

**Bảng 6: Giá trị đường kính vòng vô khuẩn của tinh dầu củ Ngải sậy**

Vi sinh vật	Tên	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)				
		C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>
Vi khuẩn Gram dương	<i>Listeria monocytogens</i>	11	10	9	8	7
	<i>Staphylococcus aureus</i>	8	6	6	6	6
	<i>Enterococcus faecalis</i>	10	10	9	7	7
	<i>Bacillus cereus</i>	6	6	6	6	6
	<i>Bacillus subtilis</i>	6	6	6	6	6
Vi khuẩn Gram âm	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	6	6	6	6
	<i>Salmonella typhi</i>	6	6	6	6	6
	<i>Escherichia coli</i>	8	6	6	6	6
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	6	6	6	6
Vi nấm	<i>Candida albicans</i>	17	14	13	10	8

Đường kính lỗ thạch: 6 mm

Đường kính vòng vô khuẩn = 6 mm: không có dấu hiệu diệt khuẩn

Đường kính vòng vô khuẩn > 6 mm: xuất hiện dấu hiệu diệt khuẩn

b. Thử nghiệm hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn bằng phương pháp pha loãng đa nồng độ xác định IC<sub>50</sub>

Qua kết quả khảo sát khả năng kháng nấm, kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch và đo đường kính vùng ức chế có thể

nhận thấy tinh dầu củ Ngải sậy có dấu hiệu diệt một số chủng vi khuẩn và nấm kiểm định. Chính vì vậy, đề tài tiếp tục xác định giá trị IC<sub>50</sub> của tinh dầu củ Ngải sậy trích ly được từ ba phương pháp để có kết luận chính xác. Kết quả được trình bày trong Bảng 7.

**Bảng 7: Giá trị IC<sub>50</sub> của tinh dầu củ Ngải sậy**

Vi sinh vật	Tên	IC <sub>50</sub> (µg/mL)		
		NSC-1	NSC-2	NSC-3
Vi khuẩn Gram âm	<i>Staphylococcus aureus</i>	> 128	> 128	> 128
	<i>Bacillus subtilis</i>	> 128	> 128	> 128
	<i>Lactobacillus fermentum</i>	> 128	> 128	> 128
Vi khuẩn Gram dương	<i>Salmonella enterica</i>	> 128	> 128	> 128
	<i>Escherichia coli</i>	> 128	> 128	> 128
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	> 128	> 128	> 128
Vi nấm	<i>Candida albicans</i>	> 128	> 128	> 128

IC<sub>50</sub> ≤ 128 µg/mL: có hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

IC<sub>50</sub> > 128 µg/mL: không có hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

Bảng 7 cho thấy tinh dầu củ Ngải sậy trích ly từ ba phương pháp không có hoạt tính kháng các chủng vi khuẩn và vi nấm thử nghiệm.

**3.5.3 Xác định độc tính với tế bào ung thư**

Ba mẫu tinh dầu củ Ngải sậy được tiến hành

đánh giá hoạt tính gây độc trên 4 dòng tế bào ung thư: ung thư vú (MCF-7), ung thư vú đa kháng thuốc (MCF7/ADR) ung thư biểu mô tuyến (MDA-MB-231) và ung thư cổ tử cung (Hela). Kết quả được trình bày trong Bảng 8.

**Bảng 8: Độc tính với tế bào ung thư của tinh dầu củ Ngải sậy**

Hợp chất	Dòng tế bào/IC <sub>50</sub> (ug/mL) <sup>a</sup>			
	MCF-7	MCF7/ADR	MDA-MB-231	Hela
NSC-1	9,75±0,49	13,06±0,28	14,30±0,53	11,06±0,74
NSC-2	6,3±0,20	5,96±0,68	4,29±0,80	6,29±0,26
NSC-3	5,91±0,60	5,1±0,11	4,85±0,42	6,29±0,31
4-Hydroxytamoxifen <sup>b</sup>	4,21±0,29	3,54±0,29	3,51±0,62	4,27±0,82

a: Các giá trị được thể hiện theo giá trị trung bình ± SD lặp lại 3 lần

b: Nhóm đối chứng dương

Theo Viện nghiên cứu ung thư quốc gia Hoa Kỳ, một chất có IC<sub>50</sub> < 20 µg/mL được xem là có độc tính đối với tế bào. Kết quả IC<sub>50</sub> còn giúp so sánh một cách đầy đủ hoạt tính gây độc tế bào giữa các mẫu với nhau. Nếu mẫu tinh dầu nào có giá trị IC<sub>50</sub> thấp hơn, tức nồng độ ức chế 50% thấp hơn thì tinh dầu đó có hoạt tính gây độc tế bào mạnh hơn. Ở đây, cả ba mẫu tinh dầu đều có IC<sub>50</sub> < 20 µg/mL cho thấy các mẫu tinh dầu này đều có tiềm năng kháng ung thư. Tuy nhiên, hai mẫu tinh dầu củ Ngải sậy NSC-2 và NSC-3 có hoạt tính gây độc đối với tế bào cao hơn so với mẫu tinh dầu NSC-1. Đặc biệt, hoạt tính gây độc tế bào ung thư của hai mẫu tinh dầu củ Ngải sậy NSC-2 và NSC-3 xấp xỉ so với đối chứng dương 4-hydroxytamoxifen, một mô hình thụ thể estrogen chọn lọc được ứng dụng trong điều trị ung thư vú và phẫu thuật điều trị ung thư vú hiện nay.

**4 KẾT LUẬN**

Khảo sát tinh dầu Ngải sậy trồng ở Bảy Núi, An Giang cho các kết quả như sau:

- Hiệu suất tinh dầu ở thân và lá Ngải sậy không đáng kể so với phần củ.
- Đối với củ Ngải sậy, phương pháp chưng cất lôi cuốn có sự hỗ trợ của vi sóng (NSC-3) cho hiệu suất tinh dầu cao nhất trong thời gian ngắn nhất trong cả ba phương pháp nghiên cứu.
- Tinh dầu củ Ngải sậy trích ly từ ba phương pháp khác nhau đều có ba thành phần chính là 4-terpinenol (27 – 35%), sabinene (15 – 26%) và 1,4-bis(methoxy)-triquinacene (7 – 28%).
- Tinh dầu củ Ngải sậy không có hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn đối với các chủng vi khuẩn và nấm thử nghiệm và hoạt tính kháng oxy hóa không đáng kể so với Vitamin C, nhưng tốt hơn tinh dầu Long não và tinh dầu Nghệ nhà.
- Tinh dầu củ Ngải sậy có hoạt tính gây độc trên các dòng tế bào ung thư: ung thư vú (MCF-7), ung thư vú đa kháng thuốc (MCF7/ADR), ung thư biểu mô tuyến (MDA-MB-231) và ung thư cổ tử cung (Hela)

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện bằng nguồn kinh phí từ đề tài nghiên cứu khoa học của sinh viên (mã số: TSV2013-03). Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn cô Hà Thị Kim Quy và Giáo sư Oh Won Keun (Khoa Dược – Trường Đại học Quốc gia Seoul, Hàn Quốc) đã hỗ trợ khảo sát thử nghiệm hoạt tính gây độc trên các dòng tế bào ung thư của tinh dầu củ Ngải sậy.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sara Albino Antunes, Weber da Silva Robazza, Liziane Schittler, Gilmar de Almeida Gomes, 2012. Synergistic and antimicrobial properties of commercial turmeric (*Curcuma longa*) essential oil against pathogenic bacteria. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 32(3): 525-530.
2. Md. Nazrul Islam Bhuiyan, Jasim Uddin Chowdhury and Jaripa Begum, 2008. Volatile constituents of essential oils isolated from leaf and rhizome of *Zingiber cassumunar* Roxb. *Journal of the Bangladesh Pharmacological Society*. 3: 69-73.
3. Saowaluck Bua-in and Yingyong Paisooksantivatana, 2009. Essential Oil and Antioxidant Activity of Cassumunar Ginger (*Zingiberaceae*: *Zingiber montanum* (Koenig) Link ex Dietr.) Collected from Various Parts of Thailand. *Kasetsart Journal: Natural Science*. 43: 467 – 475.
4. Ibrahim bin Jantan, Mohd Salleh Mohd Yassin, Chen Bee Chin, Lau Lee Chen and Ng Lee Sim, 2003. Antifungal activity of the essential oils of nine *Zingiberaceae* species. *Research Article of Pharmaceutical Biology*. 41 (5): 392 – 397.
5. Nguyễn Thị Kim Huệ, 2009, Họ Gừng (*Zingiberaceae*) ở Thất Sơn – An Giang: Hình thái, Giải phẫu, Phân loại và Công dụng. Luận án Thạc sĩ. Đại học Cần Thơ. Cần Thơ, Việt Nam.
6. Trần Công Luận, Nguyễn Thị Phương Thảo và Trần Thu Hoa, 2010. Thành phần hoá học và một số tác dụng sinh học của tinh dầu ba loài ngải sậy An Giang. *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*. Tập 14, Số 2, Chuyên đề Y học Cổ truyền, trang 151 – 156.