

Giá trị hóa học và sinh học của tinh dầu và bã tinh dầu từ *Piper betle*, *Piper sarmentosum* và *Eucalyptus camaldulensis*

Lê Tiến Dũng^{1,*}, Kiều Đăng Minh Nhật¹, Nguyễn Hoàng Anh Tiến², Phạm Thị Nhật Trinh³

¹Viện Công nghệ tiên tiến, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Thành phố Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh, TP HCM

³Trường Đại học Tiền Giang, Châu Thành, Đồng Tháp

*ldung@iat.vast.vn

Tóm tắt

Tinh dầu từ trầu không, lá lốt, bạch đàn trắng có giá trị cao trong y học dân gian và được chứng minh có nhiều hoạt tính sinh học quan trọng. Tuy nhiên, phần bã sau chưng cất tinh dầu – vốn có thể chứa nhiều hợp chất thứ cấp có hoạt tính – lại thường bị bỏ qua. Nghiên cứu này tiến hành: (i) phân tích thành phần hóa học của tinh dầu bằng GC-MS; (ii) đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu đối với *Xanthomonas* sp.; (iii) khảo sát hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính tan huyết của các cao chiết từ bã tinh dầu chiết bằng ethanol ở bốn nồng độ (30, 50, 70, 96) %. Kết quả cho thấy vòng kháng khuẩn lớn nhất thuộc về tinh dầu ECO ($14,00 \pm 3,46$) mm. Trong khi MIC thấp nhất thuộc về PSO ($< 0,03 \mu\text{L/mL}$). Tiếp theo là PBO ($0,07 \mu\text{L/mL}$) và ECO ($0,31 \mu\text{L/mL}$). Hàm lượng polyphenol cao nhất lần lượt ở PS50 ($230,16 \pm 15,85$) mg GAE/g, PB96 ($261,89 \pm 4,19$) mg GAE/g, EC30 ($283,45 \pm 7,30$) mg GAE/g. Hàm lượng flavonoid cao nhất ghi nhận ở PB50 ($943,40 \pm 5,17$) mg QE/g. Hoạt tính tan huyết dao động mạnh, với EC96 tại $500 \mu\text{g/mL}$ gây tan huyết ($71,35 \pm 7,77$) %. Các kết quả này cho thấy tinh dầu và bã tinh dầu của ba loài vẫn là nguồn hoạt chất có giá trị, tiềm năng ứng dụng trong dược liệu, mỹ phẩm và các chế phẩm kháng khuẩn sinh học.

Nhận 30/11/2025

Được duyệt 13/01/2026

Công bố 28/02/2026

Từ khóa

Tinh dầu, bã chưng cất, polyphenol, flavonoid, GC-MS, kháng khuẩn, *Xanthomonas* sp.

© 2026 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Giới thiệu

Tinh dầu là nhóm sản phẩm tự nhiên giàu terpenoid và phenylpropanoid, có nhiều ứng dụng trong dược phẩm, mỹ phẩm và nông nghiệp nhờ hoạt tính kháng khuẩn, kháng viêm và chống oxy hóa mạnh [1]. Tại Việt Nam, nhiều loài thực vật thuộc chi *Piper* và *Eucalyptus* đã được khai thác để sản xuất tinh dầu, trong đó Trầu không (*Piper betle*, PB), Lá lốt (*Piper sarmentosum*, PS) và Bạch đàn trắng (*Eucalyptus camaldulensis*, EC) nổi bật bởi thành

phần hóa học phong phú và tiềm năng sinh học cao. Tinh dầu PB chứa chavibetol, eugenol và các phenylpropanoid, được chứng minh có khả năng ức chế mạnh vi khuẩn Gram dương, Gram âm và nấm gây bệnh [2]. PS sở hữu các hợp chất như myristicin, β -bisabolene, ... đóng vai trò quan trọng trong hoạt tính chống oxy hóa và kháng viêm [3]. Đối với EC các monotерpen như 1,8-cineole, α -pinene và β -phellandrene được ghi nhận có khả năng ức chế mạnh nhiều vi khuẩn gây bệnh ở người và thực vật,

bao gồm *Xanthomonas* spp. – tác nhân gây bệnh phổ biến trên cây trồng [4, 5].

Mặc dù tinh dầu được ứng dụng rộng rãi, phần bã thực vật sau chưng cất tinh dầu thường bị thải bỏ. Tuy nhiên, nhiều báo cáo cho thấy bã tinh dầu vẫn chứa lượng đáng kể polyphenol, flavonoid và hợp chất chống oxy hóa – các thành phần không bay hơi nên không bị loại bỏ hoàn toàn trong quá trình lôi cuốn hơi nước [6, 7]. Điều này mở ra khả năng tận dụng bã tinh dầu để sản xuất các cao chiết sinh học, tăng hiệu quả kinh tế và giảm lãng phí tài nguyên.

Dù đã có các nghiên cứu riêng lẻ về tinh dầu PB, PS và EC, chưa có nghiên cứu nào đánh giá đồng thời thành phần hóa học tinh dầu, hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu và hoạt tính sinh học còn lại trong bã sau chưng cất của cả ba loài. Bên cạnh hiệu quả sinh học, việc đánh giá độ an toàn ban đầu của cao chiết là bước cần thiết trước khi định hướng ứng dụng trong dược liệu và mỹ phẩm. Trong đó, phép thử tán huyết – đánh giá mức độ phá hủy màng hồng cầu – thường được sử dụng như một chỉ dấu nhanh về độc tính tế bào và khả năng gây tổn thương màng [8]. Polyphenol và flavonoid còn lại trong bã sau chưng cất có nhiều hoạt tính sinh học có lợi, ở một số nồng độ chúng cũng có thể làm thay đổi tính thấm màng và gây ly giải hồng cầu. Do đó, việc khảo sát hoạt tính tan huyết của cao chiết bã tinh dầu là cần thiết nhằm xác định ngưỡng an toàn và tiềm năng ứng dụng của chúng.

Khoảng trống nghiên cứu này đóng vai trò quan trọng trong bối cảnh ngành tinh dầu Việt Nam hướng đến mô hình khai thác bền vững và tận dụng phụ phẩm. Do đó, nghiên cứu này tập trung vào các mục tiêu: (1) chiết xuất và phân tích thành phần hóa học tinh dầu PB, PS và EC bằng GC-MS, (2) đánh giá hoạt tính kháng vi khuẩn *Xanthomonas* sp. của tinh dầu, (3) xác định hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính tan huyết của cao chiết từ bã tinh dầu ở bốn nồng độ ethanol khác nhau.

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên liệu và hóa chất

PS tươi được hái tại xã Lương Hòa, huyện Giồng Trôm, tỉnh Bến Tre (nay là xã Lương Hòa, tỉnh Vĩnh Long), EC được thu hái ở Long An (nay thuộc Tây Ninh), PB

được thu mua trực tiếp tại vườn trầu xã Lương Quới, huyện Giồng Trôm, tỉnh Bến Tre vào năm 2024 (nay là xã Châu Hòa, tỉnh Vĩnh Long), tất cả đảm bảo tươi, không nhiễm bệnh và được giám định đúng loài. Sau khi thu hái, nguyên liệu được làm sạch, cắt nhỏ và tiến hành chưng cất ngay trong ngày.

Chủng vi khuẩn nghiên cứu: *Xanthomonas* sp. được cung cấp bởi Phòng Vật liệu sinh dược - Viện Công nghệ tiên tiến.

Hóa chất sử dụng cho nghiên cứu: các dung môi bao gồm ethanol (CAT#64-17-5), methanol (CAT#67-56-1), cloroform (CAT#67-66-3), ethyl acetate (CAT#141-78-6), hexane (CAT#110-54-3), acetone (CAT#67-64-1), nước cất, gallic acid (CAS#149-91-7) Thiết bị sử dụng: dụng cụ chưng cất lôi cuốn hơi nước, cân phân tích (Ohaus, USA), thiết bị cô quay chân không, thiết bị đo quang phổ (USA), và các dụng cụ phòng thí nghiệm.

2.2 Chưng cất tinh dầu

Nguyên liệu được rửa sạch, cắt nhỏ và chưng cất bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước với khối lượng nguyên liệu sử dụng là 400 g lá mỗi loại, chưng cất trong thời gian 4 giờ kể từ lúc bắt đầu sôi. Tinh dầu sau đó được tách nước bằng muối Na_2SO_4 khan, bảo quản trong lọ thủy tinh tối màu, lưu trữ ở trong tủ lạnh nhiệt độ 4 °C cho đến khi sử dụng.

2.3 Phân tích thành phần hóa học bằng GC-MS

Thành phần hóa học của tinh dầu được xác định bằng hệ thống GC-MS. Các hợp chất được xác định dựa trên: (a) so sánh phổ khối với thư viện NIST, (b) chỉ số lưu (RI) tham chiếu theo [9]. Chương trình nhiệt của GC-MS: sắc ký khí GC-2030 (Shimadzu, Japan) được ghép với GCMS-QP2020 (Shimadzu, Japan). Một cột mao quản Rxi-5MS (dài 30 m, đường kính trong 0,25 mm, độ dày phim: 0,25 μm , Shimadzu, Japan) đã được sử dụng để phân tích. Nhiệt độ đầu cột: 50 °C giữ trong 4 phút, tăng lên 80 °C với tốc độ 2 °C/phút, tăng lên 150 °C với tốc độ 5 °C/phút, tiếp tục tăng lên 200 °C với tốc độ 10 °C/phút, tiếp tục tăng lên 300 °C với tốc độ 20 °C/phút và giữ trong 3 phút. Nhiệt độ buồng ion là 230 °C. Khí He được sử dụng làm khí mang với tốc độ dòng là 1,9 mL/phút. Chia dòng với tỷ lệ 1:10 (split) và áp suất đầu cột: 100 kPa.

2.4 Chiết xuất bã chưng cất tinh dầu



Bã sau chung cất tinh dầu được thu gom, sấy khô ở 60 °C trong 72 giờ, sau đó nghiền mịn để thu ba loại bột nguyên liệu tương ứng với PB, PS và EC. Mỗi mẫu bột được bảo quản trong túi zip kèm hạt hút ẩm ở điều kiện phòng. Từ mỗi loại nguyên liệu, cân chính xác 40 g bã và tiến hành chiết tuần tự bằng ethanol (96, 70, 50 và 30) % ở nhiệt độ phòng trong 6 giờ. Các dịch chiết thu được được cô quay chân không để loại dung môi và bảo quản ở 4 °C cho đến khi tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

2.5 Xác định polyphenol tổng và flavonoid tổng
 Hàm lượng polyphenol tổng (TPC) được xác định bằng thuốc thử Folin – Ciocalteu theo phương pháp mô tả trong nghiên cứu [10]. Mẫu phản ứng được đo hấp thụ tại 760 nm và tính theo đường chuẩn gallic acid (GAE). Tất cả thí nghiệm được thực hiện ba lần lặp lại. Hàm lượng flavonoid tổng (TFC) được xác định bằng phương pháp AlCl₃, đo hấp thụ tại 415 nm, và tính theo đường chuẩn quercetin (QE) [11]. Mỗi mẫu được tiến hành ba lần lặp lại.

2.6 Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu
 Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu thực hiện bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch [12]. Chủng *Xanthomonas* sp. được sử dụng làm chủng vi sinh vật kiểm định. Dịch huyền phù vi khuẩn được chuẩn bị bằng cách lắc tăng sinh trong môi trường BHI, tốc độ lắc 100 vòng/phút trong 24 giờ. Tiến hành cấy trải 200 µL dịch vi khuẩn trên môi trường MHA. Các mẫu tinh dầu được pha trong DMSO với tỷ lệ tinh dầu:DMSO 1:4, hút 35 µL mẫu cho vào các vòng giấy đường kính 6 mm, tương tự với đối chứng dương là Gentamycin 100 µg/mL. Tiến hành ủ ở 37 °C trong 24 giờ, đo đường kính vòng kháng d (mm).

Xác định MIC của tinh dầu bằng phương pháp pha loãng trong môi trường lỏng bằng đĩa 96 giếng, môi trường thực hiện phương pháp pha loãng môi trường lỏng xác định MIC là MHB (Mueller-Hinton Broth). Tinh dầu được pha loãng trong eppendoff thành 1 dãy có nồng độ từ 20 µL/mL đến 0,03 µL/mL bằng môi trường lỏng BHI. Cho vào từng 120 µL ở từng nồng độ đã pha loãng, thêm vào 30 µL huyền phù vi khuẩn *Xanthomonas* sp. Mật độ 10⁸ CFU/mL. Tiến hành ủ ở 37 °C trong 24 giờ, sau đó 50 µL thuốc thử resaruzin 0,01 % được thêm vào, tiếp tục ủ ở 37 °C trong 15 phút. Xác định giá trị MIC: là giá trị nồng độ thấp nhất mà tại đó có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn.

2.7 Đánh giá khả năng gây tan huyết của cao chiết
 Khả năng gây tan huyết của các cao chiết từ bã tinh dầu được đánh giá theo phương pháp [13] có điều chỉnh như sau: máu cừu được ly tâm ở 5 000 vòng/phút trong 5 phút, loại bỏ phần dịch nổi, sau đó rửa hồng cầu bằng dung dịch NaCl 0,9 % và tiếp tục ly tâm ở 5 000 vòng/phút trong 3 phút; quy trình rửa được lặp lại 3 lần. Hồng cầu thu được được huyền phù lại trong dung dịch NaCl 0,9 % để đạt nồng độ 20 %.

Các cao chiết được hòa tan trong đệm PBS với pH = 7,4 để đạt các nồng độ 500 µg/mL và 100 µg/mL. Đối với mỗi mẫu thử, hút 500 µL dung dịch cao chiết, thêm 25 µL huyền phù hồng cầu 20 % và ủ ở 37 °C trong 30 phút. Mẫu đối chứng dương sử dụng nước cất thay cho dung dịch cao chiết, trong khi mẫu đối chứng âm sử dụng đệm PBS. Sau ủ, các ống được ly tâm ở 3 000 vòng/phút trong 3 phút, phần dịch nổi được thu và đo độ hấp thụ tại bước sóng 540 nm để tính toán tỷ lệ (%) tan huyết.

Xác định khả năng gây tan huyết theo công thức:

$$\text{Khả năng gây tan huyết (\%)} = \frac{\text{OD mẫu}}{\text{OD đối chứng dương}} \times 100$$

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Chiết xuất tinh dầu và cao chiết

Tinh dầu của ba loài PB, PS và EC được thu bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước, với thể tích lần lượt đạt 1 mL (PB), 6 mL (EC) và 1,5 mL (PS).

Bã sau chung cất từ từng loài được tiếp tục chiết bằng ethanol (30, 50, 70 và 96) %. Khối lượng cao chiết thu được thay đổi theo loại dung môi và từng nguyên liệu (Bảng 1). Nhìn chung, ethanol 70 % thường cho hiệu suất chiết cao đối với PS, trong khi ethanol 96 % cho khối lượng cao chiết lớn nhất ở cả PB (3,2 g) và EC (4,8 g). Điều này phản ánh sự khác biệt trong độ tan của các hợp chất trong từng loài.

Bảng 1 Khối lượng các cao chiết

Tên mẫu	Khối lượng cao (g)	Độ ẩm (%)	Tên mẫu	Khối lượng cao (g)	Độ ẩm (%)
PS30	0,30	11,06	PB70	2,00	25,17
PS50	1,40	8,53	PB96	3,20	5,00
PS70	3,10	5,81	EC30	2,80	25,00
PS96	1,80	15,68	EC50	1,80	13,06
PB30	2,10	10,18	EC70	0,80	10,75
PB50	2,00	28,90	EC96	4,80	13,46

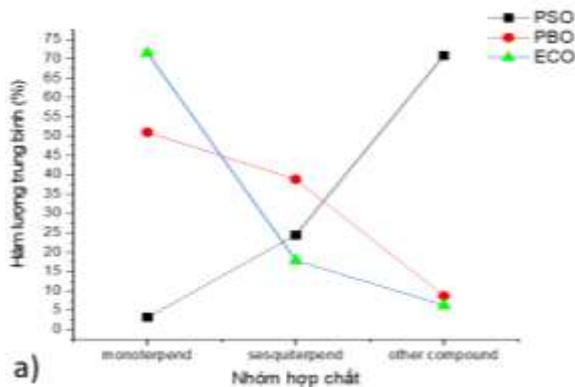


3.2 Thành phần hóa học của tinh dầu

Phân tích GC-MS cho thấy tinh dầu của PB (PBO), EC (ECO) và PS (PSO) chứa số lượng lớn các hợp chất dễ bay hơi, trong đó mỗi loài thể hiện một thành phần hóa học đặc trưng. PBO có các cấu tử chính như chavibetol acetate (40,58 %), chavibetol (11,44 %), caryophyllene (7,48 %), sabinene (4,69 %). ECO đặc trưng bởi 1,8-cineole (27,65 %), α -pinene (5,15 %), (-)-globulol (5,91 %). Trong khi đó, PSO giàu β -bisabolene (6,38 %), safrole và nhiều sesquiterpene khác (Bảng 2).

Thành phần tinh dầu có thể thay đổi do giống cây, điều kiện sinh thái, mùa vụ và phương pháp chiết [1]. Vì vậy, nghiên cứu tiến hành phân tích so sánh các mẫu thông qua HCA, heatmap và PCA nhằm đánh giá sự tương đồng và khác biệt giữa ba loài cũng như với dữ liệu từ các nghiên cứu trước.

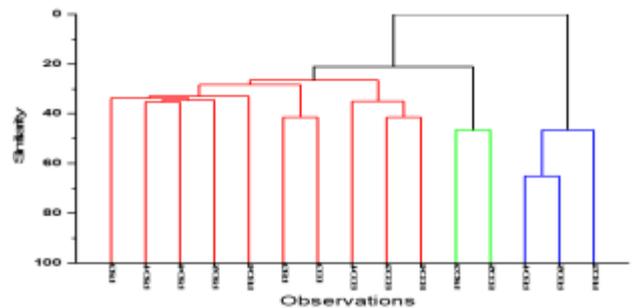
Phân tích HCA (Hình 1) cho thấy tinh dầu phân thành ba cụm riêng biệt, phản ánh sự khác nhau rõ rệt về nhóm hợp chất chiếm ưu thế giữa PBO, PSO và ECO.



Hình 2 (a) Giá trị trung bình của từng nhóm hợp chất trong ba nhóm mẫu. (b) Biểu đồ heatmap về nhóm các thành phần hóa học trong tinh dầu

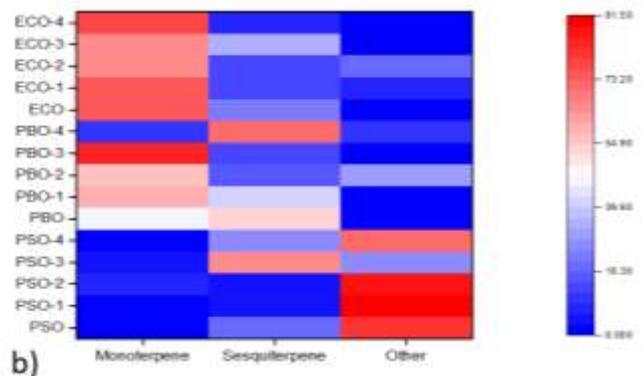
Phân tích PCA (Hình 3) tiếp tục khẳng định sự phân tách rõ ràng giữa ba mẫu tinh dầu. Hai thành phần chính đầu tiên (PC1 và PC2) giải thích hơn 47 % phương sai dữ liệu và cho phép phân biệt hoàn toàn PBO, PSO và ECO dựa trên 16 hợp chất có hàm lượng từ (3,30-

Trong khi PBO và ECO chia sẻ một số hợp chất terpenoid tương đồng, PSO lại tạo thành một nhóm độc lập với nhiều sesquiterpene đặc trưng.

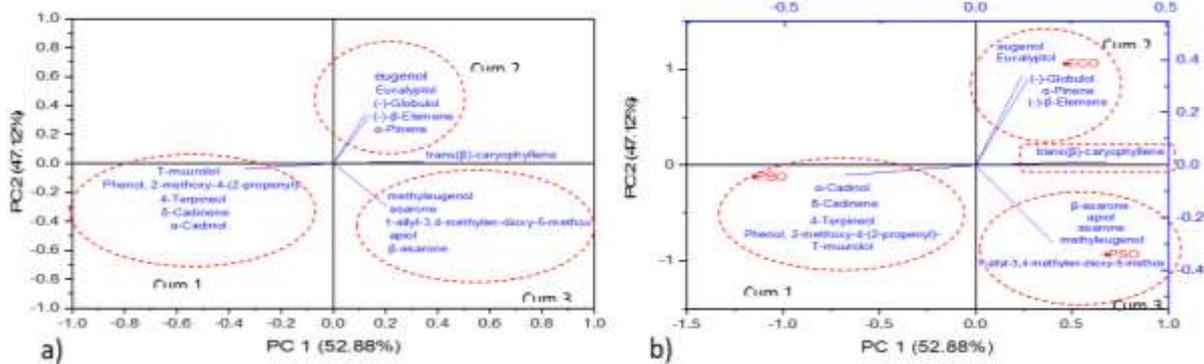


Hình 1 Phân tích HCA về thành phần hóa học chính trong mẫu tinh dầu nghiên cứu và nghiên cứu trước

Kết quả trong Hình 2 cho thấy, tỷ lệ sesquiterpene và monoterpene khác nhau đáng kể giữa ba loài: PBO và ECO có xu hướng giàu monoterpene hơn, trong khi PSO chứa tỷ lệ sesquiterpene cao vượt trội. Điều này làm nổi bật sự phân hóa về sinh tổng hợp hợp chất thứ cấp ở từng loài.



30,66) %. Biểu đồ loading cho thấy mối liên hệ giữa các cấu tử chính và các trục PCA, trong đó chavibetol acetate, 1,8-cineole và β -bisabolene là những hợp chất quyết định sự phân nhóm.



Hình 3 Biểu đồ loading plot (a) và biplot (b) của phân tích thành phần chính (PCA) đối với ba mẫu tinh dầu

Nhìn chung, kết hợp HCA – heatmap – PCA đã chứng minh rõ sự khác biệt về cấu trúc hóa học của tinh dầu ba loài, đồng thời cung cấp cơ sở quan trọng cho việc lựa chọn các hợp chất tiềm năng ứng dụng trong dược liệu, mỹ phẩm hoặc nông nghiệp sinh học.

3.3 Kết quả đánh giá khả năng kháng khuẩn

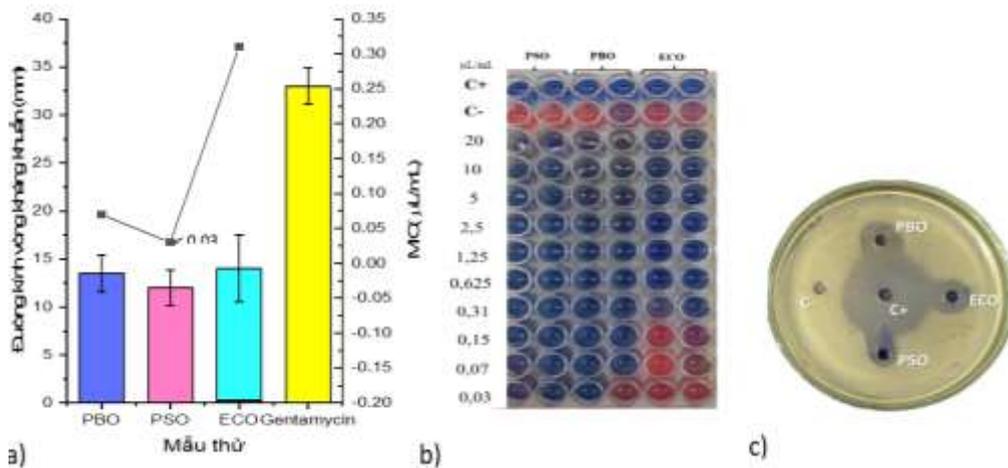
Khả năng kháng khuẩn của PBO, PSO và ECO được đánh giá thông qua thí nghiệm khuếch tán trên đĩa thạch và xác định MIC đối với vi khuẩn *Xanthomonas* sp. (Hình 4). Kết quả cho thấy cả ba mẫu tinh dầu đều thể hiện hoạt tính ức chế mạnh, nhưng mức độ khác nhau rõ rệt giữa các loài.

Tinh dầu ECO tạo vòng kháng khuẩn lớn nhất, đạt $(14,00 \pm 3,46)$ mm, cho thấy khả năng ức chế đáng kể sự phát triển của *Xanthomonas* sp.. Trong khi đó, PBO và PSO có vòng kháng nhỏ hơn nhưng vẫn thể hiện hoạt tính rõ rệt.

Kết quả MIC cho thấy PSO là mẫu mạnh nhất với MIC < 0,03 μ L/mL, tiếp theo là PBO với MIC 0,07 μ L/mL,

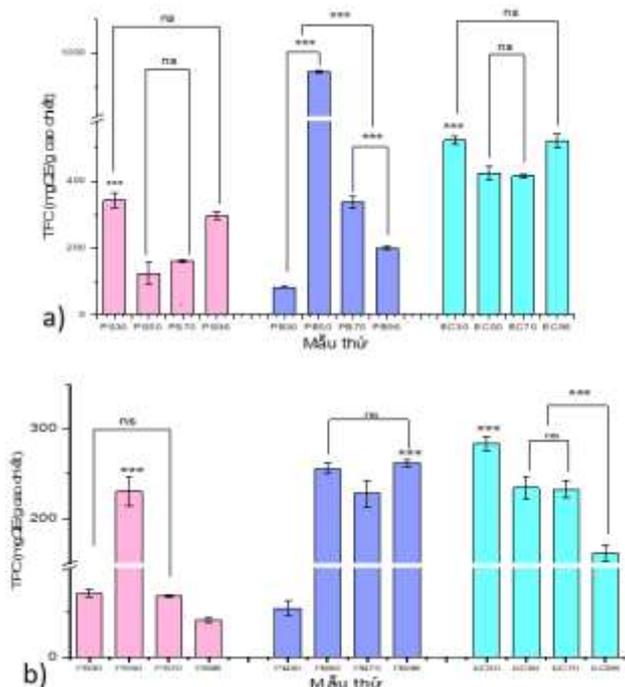
trong khi ECO có MIC 0,31 μ L/mL. MIC rất thấp của PSO và PBO phản ánh sự hiện diện của các hợp chất phenylpropanoid và sesquiterpen có tác dụng kháng khuẩn mạnh.

Sự khác biệt giữa vòng kháng và MIC cho thấy hoạt tính ức chế không chỉ phụ thuộc nồng độ tinh dầu, mà còn liên quan đến tính khuếch tán của các hợp chất trong môi trường thạch. ECO tuy có độ khuếch tán tốt (vòng kháng lớn), nhưng PSO và PBO có khả năng ức chế mạnh hơn ở nồng độ thấp, thể hiện qua MIC nhỏ. Nhìn chung, kết quả chứng minh ba loại tinh dầu đều có tiềm năng ứng dụng trong phòng trừ vi khuẩn gây bệnh trên cây trồng, trong đó PSO và PBO nổi bật bởi MIC rất thấp, còn ECO thể hiện hiệu quả tốt trong mô hình khuếch tán. Các kết quả này phù hợp với hồ sơ hóa học của từng mẫu và cung cấp cơ sở cho định hướng ứng dụng tinh dầu trong nông nghiệp sinh học hoặc chế phẩm kháng khuẩn tự nhiên.



Hình 4 Kết quả khả năng kháng khuẩn của tinh dầu. (a) Kết quả đường kính vòng kháng và MIC; (b) Kết quả MIC của các mẫu thử; (c) Hình ảnh đĩa khuẩn *Xanthomonas* sp.

3.4 Định lượng TFC và TPC của cao chiết



Hình 5 Kết quả hàm lượng flavonoid tổng (a), polyphenol tổng (b) của mẫu cao chiết. ns: không khác biệt ; ***: khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,001$) theo phép thử Tukey

TFC được xác định bằng phương pháp $AlCl_3$ và tính theo mg QE/g cao chiết, cũng cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa các mẫu (Hình 5a). Ở PS, mẫu PS30 chứa lượng flavonoid cao nhất ($342,93 \pm 22,83$) mg QE/g. Đối với PB, mẫu PB50 nổi bật với hàm lượng flavonoid rất cao ($943,40 \pm 5,17$) mg QE/g, giá trị vượt trội so với tất cả các mẫu còn lại. Trong khi đó, ở bạch đàn trắng (EC), mẫu EC30 đạt TFC cao nhất ($523,43 \pm 12,85$) mg QE/g. Kết quả cho thấy flavonoid phân bố không đồng đều giữa các loài và chịu ảnh hưởng mạnh bởi nồng độ ethanol, trong đó ethanol (30-50) % cho hiệu suất cao hơn đối với nhiều mẫu. TPC của các cao chiết từ bã nguyên liệu sau quá trình tách chiết tinh dầu được xác định bằng phương pháp Folin – Ciocalteu và biểu diễn theo mg GAE/g cao chiết. Kết quả cho thấy TPC khác biệt đáng kể giữa các mức ethanol và giữa các loài (Hình 5b). Đối với PS, mẫu PS50 ghi nhận hàm lượng polyphenol cao nhất ($230,16 \pm 15,85$) mg GAE/g. Ở mẫu PB, mẫu PB96 đạt giá trị lớn nhất ($261,89 \pm 4,19$) mg GAE/g. Đối với EC, mẫu EC30 thể hiện TPC cao nhất ($283,45 \pm 7,30$) mg GAE/g, vượt trội so với các mức dung môi khác. Nhìn chung, kết quả cho

thấy dung môi ethanol có độ phân cực cao hơn (PB96) hoặc trung bình (EC30, PS50) thường cho hiệu suất thu polyphenol tốt hơn, phù hợp với tính chất hòa tan của nhóm hợp chất phenolic.

3.5 Hoạt tính tan huyết của các cao chiết

Hoạt tính tan huyết được đánh giá ở hai nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$ và 500 $\mu\text{g/mL}$. Kết quả cho thấy mức độ tan huyết tăng theo nồng độ cao chiết và khác biệt đáng kể giữa các loài (Bảng 2). Ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$, mẫu PS96 ghi nhận mức tan huyết thấp nhất ($13,17 \pm 1,29$) %, cho thấy độ an toàn sinh học tương đối cao. Ở nồng độ 500 $\mu\text{g/mL}$, mẫu EC96 thể hiện mức tan huyết cao nhất ($71,35 \pm 7,77$) %, phản ánh khả năng gây ly giải hồng cầu mạnh hơn so với các mẫu còn lại.

Bảng 2 Khả năng gây tan huyết của các mẫu cao chiết từ bã chung cất PS, PB, và EC

Tên mẫu	Mức tan huyết (%)	
	100 $\mu\text{g/mL}$	500 $\mu\text{g/mL}$
PS30	$5,73 \pm 1,36$	$12,59 \pm 0,36$
PS50	$6,71 \pm 3,50$	$10,36 \pm 0,37$
PS70	$6,50 \pm 1,20$	$9,93 \pm 0,35$
PS96	$8,54 \pm 0,83$	$19,43 \pm 1,07$
PB30	$6,55 \pm 1,20$	$8,73 \pm 0,01$
PB50	$6,76 \pm 1,83$	$8,07 \pm 0,29$
PB70	$7,78 \pm 2,17$	$10,61 \pm 0,33$
PB96	$13,17 \pm 1,29$	$31,98 \pm 0,99$
EC30	$5,95 \pm 0,81$	$13,45 \pm 0,71$
EC50	$6,59 \pm 0,76$	$13,35 \pm 0,54$
EC70	$12,63 \pm 1,84$	$64,26 \pm 3,68$
EC96	$9,34 \pm 2,10$	$71,35 \pm 7,77$
Chứng âm	$4,61 \pm 1,50$	$3,74 \pm 0,50$

Sự khác biệt này có thể liên quan đến thành phần hóa học của các mẫu cao chiết – đặc biệt là hàm lượng polyphenol, flavonoid và các hợp chất phân cực – ảnh hưởng trực tiếp đến tính thấm màng tế bào hồng cầu. Các kết quả này cũng cho thấy cần xem xét liều lượng thích hợp khi ứng dụng các cao chiết trong lĩnh vực dược liệu hoặc chế phẩm sinh học.

3.6 Thảo luận

Kết quả cho thấy tinh dầu và các cao chiết đều có giá trị sinh học, với sự khác biệt về thành phần và hoạt tính giữa các loài.

Thứ nhất, thành phần hóa học của tinh dầu cho thấy mỗi loài sở hữu một thành phần các cấu tử đặc trưng, phù hợp

với các ghi nhận từ các nghiên cứu trước [2, 4, 5]. *Piper betle* giàu chavibetol acetate, eugenol và các phenylpropanoid – nhóm chất đã được chứng minh có hoạt tính kháng khuẩn mạnh. *Piper sarmentosum* lại có tỷ lệ sesquiterpen cao, như β -bisabolene và safrole, trong khi *Eucalyptus camaldulensis* đặc trưng bởi 1,8-cineole và α -pinene. Phân tích HCA, heatmap và PCA đã khẳng định sự phân tách rất rõ giữa ba nhóm tinh dầu, phản ánh tính đa dạng sinh học và sự khác biệt trong con đường sinh tổng hợp terpenoid của từng loài. Các kết quả này phù hợp với nhận định rằng yếu tố di truyền, khí hậu và điều kiện sinh thái ảnh hưởng mạnh đến thành phần tinh dầu [1].

Thứ hai, hoạt tính kháng khuẩn cho thấy tinh dầu của cả ba loài đều ức chế hiệu quả vi khuẩn *Xanthomonas sp.* – tác nhân gây bệnh nguy hiểm trên nhiều loại cây trồng. ECO tạo vòng kháng lớn nhất ($14,00 \pm 3,46$) mm, cho thấy độ khuếch tán tốt của các monoterpen như 1,8-cineole. Tuy nhiên, MIC thấp nhất lại thuộc về PSO ($< 0,03 \mu\text{L/mL}$) và PBO ($0,07 \mu\text{L/mL}$), cho thấy khả năng ức chế mạnh ở nồng độ rất thấp, phù hợp với đặc tính hoạt tính mạnh của các phenylpropanoid và sesquiterpen [2]. Sự khác biệt giữa vòng kháng và MIC cũng phản ánh tính chất lý hóa của các hợp chất: monoterpen dễ khuếch tán nhưng đôi khi MIC không thấp bằng phenylpropanoid vốn ít khuếch tán hơn nhưng ảnh hưởng mạnh đến cấu trúc màng tế bào vi khuẩn.

Thứ ba, bã sau chưng cất tinh dầu vẫn chứa nhiều polyphenol và flavonoid với hàm lượng đáng kể. Điều này phù hợp với thực tế rằng quá trình lôi cuốn hơi nước chỉ tách được các hợp chất dễ bay hơi, còn các hợp chất phenolic (không bay hơi) vẫn còn lại trong bã [6]. Kết quả cho thấy EC30 và PB96 có hàm lượng polyphenol cao nhất, trong khi PB50 chứa lượng flavonoid vượt trội ($943,40 \text{ mg QE/g}$). Điều này nhấn mạnh tiềm năng tái sử dụng bã tinh dầu trong lĩnh vực dược liệu – như làm nguyên liệu kháng oxy hóa, kháng viêm hoặc kháng khuẩn nhẹ.

Thứ tư, hoạt tính tan huyết cho thấy sự khác biệt giữa các dung môi chiết và từng loài. EC96 ở $500 \mu\text{g/mL}$ gây tan huyết mạnh ($71,35 \pm 7,77$) %, trong khi PS96 ở $100 \mu\text{g/mL}$ gây tan huyết thấp ($13,17 \pm 1,29$) %. Điều này cho thấy cần thận trọng khi ứng dụng cao chiết ở nồng độ cao hoặc các dung môi có độ phân cực thấp. Đồng thời, kết quả cũng phản ánh mối liên hệ giữa hàm

lượng hoạt chất và tác động sinh học, bởi polyphenol ở nồng độ cao có thể làm thay đổi tính thấm màng tế bào hồng cầu.

Nhìn chung, sự kết hợp phân tích thành phần tinh dầu – đánh giá hoạt tính kháng khuẩn – định lượng phenolic trong bã tinh dầu đã cung cấp cái nhìn toàn diện về giá trị sinh học của ba loài thực vật quen thuộc. Tinh dầu thể hiện vai trò như tác nhân kháng khuẩn mạnh, đặc biệt với PSO và PBO. Đồng thời, bã tinh dầu – vốn là phụ phẩm – lại cho thấy hàm lượng polyphenol và flavonoid đáng kể, khẳng định tiềm năng phát triển theo hướng “tận dụng toàn phần” (full utilization) nhằm gia tăng giá trị kinh tế và giảm chất thải trong sản xuất tinh dầu. Các phát hiện này không chỉ đóng góp dữ liệu mới cho ba loài thực vật mà còn hỗ trợ xây dựng mô hình sản xuất tinh dầu bền vững tại Việt Nam.

4 Kết luận và kiến nghị

Nghiên cứu đã đánh giá thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của tinh dầu và cao chiết bã chưng cất từ ba loài *Piper* và *Eucalyptus*. Tinh dầu cả ba loài đều thể hiện khả năng ức chế mạnh *Xanthomonas sp.*, trong đó PSO có MIC thấp nhất và ECO có vòng kháng lớn nhất. Phân tích GC-MS cùng HCA, PCA và heatmap cho thấy mỗi loài sở hữu thành phần hóa học đặc trưng.

Bã sau chưng cất vẫn chứa hàm lượng polyphenol và flavonoid đáng kể, đặc biệt ở PB50, PB96, PS50 và EC30, chứng minh tiềm năng tái sử dụng làm nguồn nguyên liệu sinh học. Hoạt tính tan huyết ghi nhận sự khác biệt giữa các mẫu và dung môi, cho thấy cần cân nhắc liều lượng phù hợp trong ứng dụng.

Tổng thể, nghiên cứu khẳng định giá trị sinh học kép của tinh dầu và bã tinh dầu, đồng thời mở ra tiềm năng phát triển các chế phẩm kháng khuẩn, chống oxy hóa và ứng dụng trong nông nghiệp sinh học theo hướng khai thác bền vững. Phép thử tan huyết cung cấp thông tin ban đầu về độ an toàn sinh học của các cao chiết, góp phần định hướng lựa chọn dung môi và nồng độ phù hợp cho các ứng dụng tiềm năng.

Cần mở rộng nghiên cứu về hoạt tính sinh học và tối ưu quy trình chiết để nâng cao hiệu quả thu hồi hoạt chất, đồng thời xem xét ứng dụng tinh dầu và bã tinh dầu trong chế phẩm kháng khuẩn và nông nghiệp sinh học theo hướng bền vững.

Tài liệu tham khảo

1. Sá Filho, J. C. F. de, Nizio, D. A. de C., Oliveira, A. M. S. de, Alves, M. F., Oliveira, R. C. de, Luz, J. M. Q., Nogueira, P. C. de L., Arrigoni-Blank, M. de F., & Blank, A. F. (2022). Geographic location and seasonality affect the chemical composition of essential oils of *Lippia alba* accessions. *Industrial Crops and Products*, 188, 115602. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115602>.
2. Hieu, L. D., Thang, T. D., Hoi, T. M., & Ogunwande, I. A. (2014). Chemical composition of essential oils from four Vietnamese species of *Piper* (Piperaceae). *Journal of Oleo Science*, 63(3), 211-217. <https://doi.org/10.5650/jos.ess13181>.
3. Athikomkulchai, S., Rojanavipart, P., Junsongduang, A., Thongpraditchote, S., Sritularak, B., & Piyachaturawat, P. (2021). Chemical composition of essential oil from *Piper sarmentosum* fruit and neuroprotective activity. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 5(3), 319-323.
4. Harvala, E., Kretsi, O., & Chinou, I. B. (2002). Composition and antibacterial activity of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* growing in Greece. In I. Chinou (Ed.), *Natural products in the new millennium: Prospects and industrial application* (pp. 235-239). Springer.
5. Abraham, A., Tahir, M., Sasikumar, J. M., Kebede, M., Ejigu, M. C., & Yones, A. M. (2024). Antibacterial activity of essential oils from *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Eucalyptus tetragona* F. Muell. *Pharmacological Research – Natural Products*, 3, 100033. <https://doi.org/10.1016/j.prnp.2024.100033>.
6. Almeida, H. H. S., Crugeira, P. J. L., Santamaria-Echart, A., Amaral, J. S., Finimundy, T. C., Barros, L., Rodrigues, A. E., & Barreiro, M.-F. (2025). Circular valorisation of essential oil post-distillation by-products for enhanced xanthan gum bioproduction and antimicrobial treatments against *Staphylococcus aureus*. *Waste and Biomass Valorization*. <https://doi.org/10.1007/s12649-025-03302-3>.
7. Gago, C., Bakchiche, B., Djekhioua, T., & Miguel, M. G. da G. (2025). *Cistus ladanifer* L.: Essential oils, volatiles, by-products, and their biological properties. *Molecules*, 30(18), 4425. <https://doi.org/10.3390/molecules30184425>.
8. Elizondo-Luevano, J. H., Quintanilla-Licea, R., Castillo-Hernández, S. L., Sánchez-García, E., Bautista-Villarreal, M., González-Meza, G. M., Gloria-Garza, M. A., Rodríguez-Luis, O. E., Kluz, M. I., & Kačaniová, M. (2024). In vitro evaluation of anti-hemolytic and cytotoxic effects of traditional Mexican medicinal plant extracts on human erythrocytes and cell cultures. *Life*, 14(9), 1176. <https://doi.org/10.3390/life14091176>.
9. Adams, R. P. (2017). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (5th ed.). Texensis Publishing.
10. Akkol, E. K., Göger, F., Koşar, M., & Başer, K. H. C. (2008). Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Food Chemistry*, 108(3), 942-949. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.071>.
11. Djeussi, D. E., Noumedem Kenfack, J. A., Noumedem Anangmo, C. N., Simeni Njonnou, S. R., Ngongang Ouankou, C., Yossa Nzeuwa, I. B., Yamssi, C., Zambou Ngoufack, F., Kuate, J.-R., & Kuete, V. (2022). Radical scavenging activities, total reducing power, total phenolic and flavonoids contents of four common vegetables. *European Journal of Biology and Biotechnology*, 3(3), 75-80. <https://doi.org/10.24018/ejbio.2022.3.3.381>.
12. Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., & Ignacimuthu, S. (2006). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6, 39. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-6-39>.
13. Anosike, C. A., Obidoa, O., & Ezeanyika, L. U. S. (2012). Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of methanol extract of garden egg (*Solanum aethiopicum*). *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20, 76. <https://doi.org/10.1186/2008-2231-20-76>.

Chemical and Biological Properties of Essential Oils and Residual Biomass from *Piper betle*, *Piper sarmentosum*, and *Eucalyptus camaldulensis*

Le Tien Dung^{1,*}, Kieu Đang Minh Nhat¹, Nguyen Hoang Anh Tien², Pham Thi Nhat Trinh³

¹Institute of Advanced Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, Ho Chi Minh City

²Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Viet Nam

³Tien Giang University, Chau Thanh, Dong Thap Province

*ltdung@iat.vast.vn

Abstract Essential oils from *Piper betle* (PB), *Piper sarmentosum* (PS), and *Eucalyptus camaldulensis* (EC) are widely used in traditional medicine and have been reported to exhibit multiple biological activities. However, the post-distillation residues, which may still contain valuable non-volatile bioactive metabolites, are often overlooked. This study (i) profiled the chemical compositions of the essential oils using GC-MS; (ii) evaluated their antibacterial activity against *Xanthomonas* sp.; and (iii) quantified total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), and hemolytic activity of ethanolic extracts obtained from post-distillation residues using four ethanol strengths (30, 50, 70, and 96)%. Among the tested oils, EC oil produced the largest inhibition zone (14.00 ± 3.46) mm, whereas the strongest antibacterial potency (lowest MIC) was observed for PS oil (< 0.03 $\mu\text{L}/\text{mL}$), followed by PB oil (0.07 $\mu\text{L}/\text{mL}$) and EC oil (0.31 $\mu\text{L}/\text{mL}$). The highest TPC values were recorded for PS50 (230.16 ± 15.85) mg GAE/g, PB96 (261.89 ± 4.19) mg GAE/g, and EC30 (283.45 ± 7.30) mg GAE/g. The highest TFC was found in PB50 (943.40 ± 5.17) mg QE/g. Hemolytic activity varied markedly among extracts, with EC96 at 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ inducing (71.35 ± 7.77) % hemolysis. Overall, both the essential oils and post-distillation residues of these three plants remain promising sources of bioactive compounds with potential applications in herbal products, cosmetics, and natural antibacterial formulations.

Keywords Essential oil, post-distillation residue, polyphenols, flavonoids, GC-MS, antibacterial activity, *Xanthomonas* sp.