BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC SINH VIÊN

BƯỚC ĐẦU ĐÁNH GIÁ SƠ BỘ THÀNH PHẦN HÓA HỌC LOÀI DẦU GIUN (*DYSPHANIA AMBROSIOIDES* (L.) MOSYAKIN & CLEMANTS) PHÂN BỐ Ở ĐÀ LẠT

Người hướng dẫn: TS. Hoàng Thị Bình

Đà Lạt, tháng 05 năm 2022

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC SINH VIÊN
NĂM 2022

BƯỚC ĐẦU ĐÁNH GIÁ SƠ BỘ THÀNH PHẦN HÓA HỌC LOÀI DẦU GIUN (*DYSPHANIA AMBROSIOIDES* (L.) MOSYAKIN & CLEMANTS) PHÂN BỐ Ở ĐÀ LẠT

Thuộc nhóm ngành khoa học: Khoa học tự nhiên.

Đà Lạt, tháng 05 năm 2022

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC SINH VIÊN
NĂM 2022

BƯỚC ĐẦU ĐÁNH GIÁ SƠ BỘ THÀNH PHẦN HÓA HỌC LOÀI DẦU GIUN (*DYSPHANIA AMBROSIOIDES* (L.) MOSYAKIN & CLEMANTS) PHÂN BỐ Ở ĐÀ LẠT

Thuộc nhóm ngành khoa học: Tự nhiên.

Sinh viên thực hiện: Nguyễn Phạm Đoàn Nam, Nữ: Nam
Dân tộc: Kinh
Lớp, khoa: CSK43 – Khoa Sinh học
Năm thứ: 03 / Số năm đào tạo: 04 Ngành học: Công nghệ sinh học
Người hướng dẫn: TS. Hoàng Thị Bình

Đà Lạt, tháng 05 năm 2022

LỜI CẢM ƠN

Để có thể hoàn thành đề tài này không chỉ bằng sự cố gắng và nỗ lực của bản thân chúng tôi mà còn bằng sự dạy dỗ tận tình của thầy cô, sự giúp đỡ của bạn bè và công ơn nuôi dưỡng của bố mẹ.

Với lòng trân trọng và biết ơn sâu sắc:

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn đến tất cả thầy cô khoa Sinh học nói riêng và trường Đại học Đà Lạt nói chung, đã tạo mọi điều kiện tốt nhất để chúng tôi có thể hoàn thành nghiên cứu đề tài này.

Chúng tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành đến TS. Hoàng Thị Bình, người đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ chúng tôi trong suốt thời gian thực hiện đề tài.

Chúng tôi xin cảm ơn anh, chị, các bạn thuộc phòng thí nghiệm Tài nguyên thực vật cùng toàn thể bạn bè đã động viên và giúp đỡ cho chúng tôi để có thể hoàn thành đề tài.

Trân trọng cảm ơn!

Đà Lạt, tháng 05 năm 2022.

LỜI CAM ĐOAN

Chúng tôi xin cam đoan kết quả của đề tài nghiên cứu này là công trình nghiên cứu của riêng chúng tôi không sao chép của ai và chưa từng được công bố dưới hình thức nào.

Nội dung đề tài có tham khảo và sử dụng một số thông tin, tài liệu được đăng tải trên sách, báo, tạp chí và các trang web theo danh mục tài liệu tham khảo của đề tài.

Tôi xin chịu hoàn toàn trách nhiệm về kết quả của nghiên cứu này.

Đà Lạt, tháng 05 năm 2022

Nhóm sinh viên



Nguyễn Phạm Đoàn

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN ..... **i**
LỜI CAM ĐOAN ..... **ii**
MỤC LỤC ..... **iii**
DANH MỤC BẢNG ..... **iiiv**
MỞ ĐẦU **1**
CHƯƠNG I. TỔNG QUAN **3**
1.1. Khái quát về chi *Dysphania* 3
1.2. Tình hình nghiên cứu thành phần hóa học của chi *Dysphania* 3
1.3. Khái quát về loài *Dysphania ambroisioides* 5
1.4. Tình hình nghiên cứu thành phần hóa học của loài *Dysphania ambroisioides* 7
1.5. Tình hình nghiên cứu hoạt tính sinh học và ứng dụng của loài *Dysphania ambroisioides* 9
CHƯƠNG II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP **14**
2.1. Đối tượng và địa điểm nghiên cứu 14
2.2. Hóa chất 14
2.3. Thiết bị 14
2.4. Phương pháp nghiên cứu 14
2.4.1. Thu và xử lý mẫu 15
2.4.2. Phương pháp hình thái so sánh 15
2.4.3. Phương pháp cất kéo hơi nước 15
2.4.4. Xác định hiệu suất tách chiết tinh dầu 15
2.4.5. Phương pháp phân tích thành phần hóa học của tinh dầu 15
2.4.6. Phương pháp chiết Soxhlet 16
2.4.7. Phương pháp định tính một số nhóm hợp chất thứ cấp trong cây 16
2.4.8. Xử lý số liệu 18
CHƯƠNG III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN **19**
3.1. Hiệu suất tách chiết tinh dầu 19
3.2. Thành phần hóa học của tinh dầu loài *Dysphania ambrosioides* ở khu vực Đà Lạt 20
3.3. Khảo sát thành phần hóa học có trong cao chiết loài *Dysphania ambrosioides* 24
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ **27**
TÀI LIỆU THAM KHẢO
PHỤ LỤC

DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1. Hiệu suất tách chiết tinh dầu loài Dầu giun thu được ở Đà Lạt.....19

Bảng 3.3. So sánh thành phần cấu tử tinh dầu loài Dầu giun ở các nghiên cứu trong và ngoài nước 21

Bảng 3.4. Bảng định tính thành phần hóa học có trong loài *Dysphania ambrosioides* 24

Bảng 3.5. So sánh kết quả định tính thành phần hóa học có trong cao chiết của loài *Dysphania ambrosioides* ở Việt Nam (Đà Lạt) so với các khu vực khác trên thế giới.25

Mẫu 1. Thông tin kết quả nghiên cứu của đề tài

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI

1. Thông tin chung:

- Tên đề tài: Bước đầu đánh giá sơ bộ thành phần hóa học loài Dầu giun *(Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants) phân bố ở Đà Lạt.

- Sinh viên thực hiện: Nguyễn Phạm Đoàn.

- Lớp: CSK43 Khoa: Sinh học Năm thứ: 3 Số năm đào tạo: 4

- Người hướng dẫn: TS. Hoàng Thị Bình

2. Mục tiêu đề tài:

Đánh giá sơ bộ thành phần hóa học của loài *D. ambrosioides* phân bố tại Đà Lạt.

3. Tính mới và sáng tạo:

Đây là nghiên cứu đầu tiên về thành phần hóa học của loài Dầu giun phân bố tại Đà Lạt, Lâm Đồng; vì vậy tính mới của nghiên cứu rất cao và kết quả nghiên cứu sẽ làm cơ sở khoa học trong ứng dụng của chúng sau này như làm dược liệu, hóa chất,…

4. Kết quả nghiên cứu:

- Nghiên cứu của chúng tôi đã đánh giá được các thành phần cấu tử có trong tinh dầu của loài Dầu giun (*Dysphania ambrosioides*) phân bố tại Đà Lạt, Lâm Đồng.

- Đánh giá được sơ bộ các thành phần hợp chất có trong cao chiết cây Dầu giun *(Dysphania ambrosioides)* phân bố tại Đà Lạt, Lâm Đồng.

5. Đóng góp về mặt kinh tế - xã hội, giáo dục và đào tạo, an ninh, quốc phòng và khả năng áp dụng của đề tài:

Đề tài đã khảo sát được các thành phần hóa học chính có trong cây cũng như trong tinh dầu loài Dầu giun phân bố tại Đà Lạt mà trước đây chưa có nghiên cứu nào thực hiện. Vì vậy nghiên cứu là tiền đề góp phần đa dạng hoá sản phẩm tinh dầu, giúp

người nông dân biết rõ hơn về loài *Dysphania ambrosioides* tại Đà Lạt. Bên cạnh đó góp phần bảo tồn nguồn tài nguyên thực vật cũng như nguồn gen của địa phương.

6. Công bố khoa học của sinh viên từ kết quả nghiên cứu của đề tài *(ghi rõ tên tạp chí nếu có)* hoặc nhận xét, đánh giá của cơ sở đã áp dụng các kết quả nghiên cứu *(nếu có)*:

Ngày 23 tháng 05 năm 2022

Sinh viên chịu trách nhiệm chính thực hiện đề tài

(ký, họ và tên)

Nguyễn Phạm Đoàn

Nhận xét của người hướng dẫn về những đóng góp khoa học của sinh viên thực hiện đề tài *(phần này do người hướng dẫn ghi)*:

- Kết quả nghiên cứu từ đề tài này đã có những đóng góp khoa học quan trọng, cụ thể:

  + Góp phần cung cấp dẫn liệu khoa học ban đầu về thành phần hoá học của tinh dầu cũng như các nhóm hợp chất khác có trong cây Dầu giun phân bố tại Đà Lạt.

  + Nghiên cứu là tiền đề góp phần đa dạng hoá sản phẩm tinh dầu, giúp người dân hiểu rõ hơn về loài *Dysphania ambrosioides* tại Đà Lạt. Bên cạnh đó, đề tài cũng góp phần bảo tồn nguồn tài nguyên thực vật cũng như nguồn gen của địa phương.

Ngày 23 tháng 05 năm 2022

Xác nhận của trường đại học

(ký tên và đóng dấu)

Người hướng dẫn

(ký, họ và tên)

Hoàng Thị Bình

Mẫu 2. Thông tin về sinh viên chịu trách nhiệm chính thực hiện đề tài

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

THÔNG TIN VỀ SINH VIÊN
CHỊU TRÁCH NHIỆM CHÍNH THỰC HIỆN ĐỀ TÀI



I. SƠ LƯỢC VỀ SINH VIÊN:

Họ và tên: Nguyễn Phạm Đoàn

Sinh ngày: 31 tháng 07 năm 2001

Nơi sinh: Lâm Đồng

Lớp: CSK43 Khóa 43

Khoa: Sinh học

Địa chỉ liên hệ: Tổ 20 An sơn, Phường 4, Đà Lạt, Lâm Đồng

Điện thoại: 0359374926 Email: 1911271@dlu.edu.vn

II. QUÁ TRÌNH HỌC TẬP

*** Năm thứ 1:**

Ngành học: Công nghệ sinh học Khoa: Sinh học

Kết quả xếp loại học tập: Khá

Sơ lược thành tích: Giải ba bóng chuyền nam tân sinh viên khóa 43.

*** Năm thứ 2:**

Ngành học: Công nghệ sinh học Khoa: Sinh học

Kết quả xếp loại học tập: Khá

Sơ lược thành tích: Giải ba bóng chuyền nam cấp trường năm 2021, giải ba bóng đá nam, giải nhất bóng chuyền nam hội thao khoa khoa sinh học 2021

Ngày 23 tháng 05 năm 2022

Xác nhận của trường đại học

(ký tên và đóng dấu)

Sinh viên chịu trách nhiệm chính thực hiện đề tài

(ký, họ và tên)



Nguyễn Phạm Đoàn

MỞ ĐẦU

Loài dầu giun còn gọi là rau muối rừng hay kinh giới đất có tên khoa học là *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. Loài này là thực vật mọc hoang ở khắp miền đồng bằng, ven các triền sông, miền trung du và miền núi các tỉnh phía Bắc, vùng Tây Nguyên, đặc biệt là Đà Lạt. Ngoài ra, *D. ambrosioides* còn được phân bố các nước châu Âu, châu Á, Bắc Mỹ. Từ xa xưa *D. ambrosioides* được biết đến là một loại thực vật quan trọng không chỉ trong y học cổ truyền mà còn được sử dụng làm thực phẩm, gia vị,…. (Lợi, 2006).

Hiện nay, trên thế giới có rất nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học của loài *Dysphania ambrosioides*. Năm 2019, Zago và cộng sự chỉ ra rằng chiết suất cồn 70% trong 48 tiếng chứa tannin, flavonoid, alkaloid, anthraquinon. Bên cạnh đó, *D. ambrosioides* cũng chứa saponin (ở toàn bộ loài), axit hữu cơ (butyric, citric, ferulic, malic, succinic, tartaric, vanillic), tannin (phần trên mặt đất), atethole, kaempferol, quercetin, santonin (quả), betain, chenopodiosides, heterosides (rễ) (Ehiabhi và cộng sự, 2012). Các nghiên cứu khác cũng cho thấy rằng tinh dầu *D. ambrosioides* bao gồm một hỗn hợp phức tạp của monoterpen và sesquiterpenes, và nhiều loại andehit, axit, rượu và xeton (Koba và cộng sự, 2009). Đặc biệt ở một số nước trên thế giới, *D. ambrosioides* đã được sử dụng làm thuốc diệt giun sán (Kliks, 1985; Jiménez-Osornio và cộng sự, 1996). Tại Mỹ, loài đã được sử dụng như một loại thuốc tẩy giun (Zamilpa và cộng sự, 2019) và điều trị bệnh lỵ amip (Ávila-Blanco và cộng sự, 2014). Ở Philippines, người dân địa phương đã sử dụng lá để điều trị chứng khó tiêu ở trẻ em trong nhiều thế kỷ (Cantoria, 1976). Nước sắc của lá cũng đã được sử dụng ở Trung Mỹ như một loại thuốc chống co thắt và điều trị loét (Hurrell và cộng sự, 2018).

Tại Việt Nam, nghiên cứu gần nhất về thành phần tinh dầu *D. ambrosioides* của Ngân và cộng sự (2020) tại huyện Bắc Hà, tỉnh Lào Cai chỉ ra hiệu suất chưng cất đạt 0,8435% với các thành phần chính của tinh dầu thu được chủ yếu gồm 2,3-dehydro-1,4-cineole, α -terpinene, isoascaridole và p-cymene. *D. ambrosioides* là một loài phân bố rộng và là một loài có tiềm năng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như y học, sinh học, thực phẩm, mỹ phẩm, …. Tuy nhiên, các công trình nghiên cứu về loài ở Việt Nam còn hạn chế do vậy việc nghiên cứu về thành phần hóa học của loài này là rất cần thiết, có thể làm tiền đề cho các nghiên cứu khoa học khác.

Từ những vấn đề trên chúng tôi quyết định lựa chọn đề tài "Bước đầu đánh giá sơ bộ thành phần hóa học loài Dầu giun (*Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants) phân bố ở Đà Lạt." có ý nghĩa khoa học và thực tiễn nhằm bước đầu làm sáng tỏ các cơ sở khoa học của loài loài này, phát huy giá trị kinh tế và bảo tồn nguồn gen thực vật.

Nội dung nghiên cứu:

- Tách chiết và định tính hợp chất thứ cấp chính có trong loài dầu giun *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants ở Đà Lạt.

- Phân tích thành phần tinh dầu của loài dầu giun *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants ở Đà Lạt.

CHƯƠNG I. TỔNG QUAN

1.1. Khái quát về chi *Dysphania*

Chi *Dysphania* thuộc họ Amaranthaceae, có nguồn gốc từ miền Trung và Nam Mỹ, phân bố hầu hết các nước trên thế giới bao gồm Bắc Mỹ (Stohlgren và cộng sự, 2013), Châu Âu (Pace và Tammaro, 2001), Châu Á (Liu và cộng sự, 2006; Mito và Uesugi, 2004), và Châu Phi (Brown và cộng sự, 1985). Tại Úc và New Zealand, *Dysphania* được ghi nhận có 20 loài (Wilson, 1984; Shepherd và Wilson, 2008). Đến nay, *Dysphania* là một trong những chi lớn nhất trong phân họ Chenopodioideae, bao gồm 50 loài (Sukhorukov và cộng sự, 2018), tuy nhiên theo The Plant List (2013) chi *Dysphania* bao gồm 53 loài. Năm 2013, ở dãy Himalaya và Tây Tạng đã phát hiện 8 loài bản địa và 2 loài ngoại lai của chi *Dysphania* (Perth, 2011; Sukhorukov, 2014; Sukhorukov và Kushunina, 2014; Sukhorukov và cộng sự, 2015). Năm 2021, Uotila và cộng sự nghiên cứu phát sinh loài dựa trên phân tử, dẫn đến họ Dysphanieae được thành lập và chi *Dysphania* là một trong số chi thuộc họ này. Trong đó, loài *Dysphania ambroisioides* (L.) Mosyakin & Clemants đã và đang được nhiều nhà khoa học quan tâm nghiên cứu.

1.2. Tình hình nghiên cứu thành phần hóa học của chi *Dysphania*

Theo nghiên cứu của Morteza vào năm 2015 thì *Dysphania botrys* có chứa flavonoid, alcaloid và một số terpenoid. Bên cạnh đó theo nghiên cứu của Khan và cộng sự (2019) kết quả định tính thành phần hóa học của *Dysphania botrys* bằng chiết xuất MCE (methanolic crude extract) cho thấy sự hiện diện của alkaloid, phenol, flavonoid, saponin, tannin và sterol. Tuy nhiên, trong chiết xuất phân đoạn n-hexan (HxF) chỉ ghi nhận được flavonoid và saponin (Khan và Jan, 2019). Trong phân tích định lượng (HPLC) của tất cả các dung môi, phần etyl axetat (EAF) có lượng phenol cao nhất là 27,4 mg/g, các hoạt chất khác như flavonoid là 15,5 mg/g và alkaloid là 3,14 mg/g, theo MCE hiển thị thì lượng saponin tối đa là 34,3 mg/g (Khan và Jan, 2019).

Một số thành phần đã được phân lập từ *Dysphania graveolens* bao gồm stigmasterol, stigmast-22-en-3-ol and 3α-sitosteryl glucoside), flavonoids (pinostrobin, pinocembrin, chrysin, rutin and narcissin), sesquiterpenoids ((+)-8α-hydroxyelemol, (+)-8α-cetoxycryptomeridiol và cryptomeridiol một dẫn xuất của axit o-coumaric (Mata và cộng sự, 1986; Calzada và cộng sự, 2003). Bên cạnh đó bằng phương pháp HPLC

nghiên cứu vào năm 2012 của Rivero đã định lượng ba hoạt chất flavonoid. Đối với mỗi hợp chất, phản ứng tuyến tính được đánh giá trong khoảng 0,5–2,0 mg / mL đối với pinostrobin , 0,25–1,25 mg / mL đối với pinocembrin (2) và 0,05–0,5 mg / mL đối với chrysin. Các thành phần chính trong *D. graveolens* là p-cymene (84,85%) và eucalyptol (11,26%). Các nghiên cứu dược lý được thực hiện trên các chất chiết xuất và hợp chất từ cây đã cho thấy chúng có tác dụng tẩy giun sán (Camacho và cộng sự, 1991), khử trùng (Rojas và cộng sự, 1992), chống động vật nguyên sinh (Calzada và cộng sự, 2003) và hoạt động co thắt (Meckes và cộng sự, 1998).

Độc tính và đặc tính tẩy giun sán của *D. multifida* là do sự hiện diện của monoterpene peroxide ascaridole (Gadano, Gurni, và Carballo, 2007; Gastaldi và cộng sự, 2018). Hàm lượng flavonoid và diterpenes trong *D. multifida* cao nên loài có khả năng ứng dụng trong y học. Các loài *D. glomulifera* (Nees) Paul G.Wilson và *D. littoralis* R.Br., được chứng minh là có chứa nồng độ cyanid cao (McKenzie và cộng sự, 2007). Đặc biệt là trong mùa khô nồng độ cyanid trong thực vật thuộc chi *Dysphania* đủ cao để giết gia súc và cừu sau khi tiêu thụ hơn 200 g thực vật tươi (McKenzie và cộng sự, 2007).

Các bộ phận *D. botrys* sau khi chiết suất có thể thu được 0,08-2% tinh dầu nên loài này chủ yếu được sử dụng để đặt trong quần áo vì mùi của nó giúp xua đuổi côn trùng gây hư hỏng quần áo (Kay, 1996). Mùi đặc trưng của cây là do monoterpenes và sesquiterpenes (Kletter và Kriechbaum, 2001). Thành phần tinh dầu của *D. Botrys* gồm có monoterpenes (camphor, δ-3-carene, fenchone, linalool, menthone, nerol, β-pinene, pulegone, terpineol-4 and thujone) và sesquiterpenes (β-elemene, elemol và β-eudesmo) (Buchbauer, Jirovetz, Wasicky, Walter, và Nikiforov, 1995). Theo một số nghiên cứu, tinh dầu đa dạng về số lượng và thành phần (Kletter và Kriechbaum, 2001). Các sesquiterpenoid hai vòng được tìm thấy ở *D. Botrys* có khả năng kháng nấm (Kokanova-Nedialkova, Nedialkov, và Nikolov, 2009). Tinh dầu từ các bộ phận trên không của *D.botrys* được thu thập từ tỉnh Tây Azerbaijan của Iran được thu nhận bằng hai phương pháp, chưng cất thủy lực và chiết xuất dung môi sử dụng n-hexan. Bằng phương pháp chưng cất thủy lực các thành phần chính của *D.botrys* là α eudesmol (15,2%), epi-α-muurolol (11,1%) và cubenol (10,2%). Các hợp chất chính là α chenopodiol axetat

(35,0%) và eudesma 3,11-dien-6-α-ol (18,9%) được xác định bằng phương pháp chiết xuất dung môi sử dụng n-hexan (Chalabian, Monfared, Larijani và Saldouzi, 2006).

Đối với tinh dầu của *Dysphania schraderiana* chứa nhiều hợp chất sesquiterpenes có giá trị y học. Đồng thời trong quá trình sinh tổng hợp đã thu nhận được terpene Farnesyl pyrophosphate synthase (FPPS) là một enzyme điểm nhánh quan trọng (Fu và cộng sự, 2019).

Theo nghiên cứu của Yossen và cộng sự (2019) một trong những thành phần terpenoid chính của tinh dầu *D. multifida* là α-terpinene đã xua đuổi thành công loài ong bắp cày *Vespula germanica* trên cánh đồng cày trong điều tự nhiên ở Patagonia Argentina (Yossen và cộng sự, 2019). Bên cạnh đó, *D. Multifida* còn chứa ascaridole, chất đã được ghi nhận có chức năng an thần, giảm đau và kháng nấm (Retamar, de Iglesias, Di Giacomo, và Calvarano, 1975). Ascaridole cũng cho thấy hoạt động chống lại các dòng tế bào khối u khác nhau trong ống nghiệm (Efferth và cộng sự, 2002). Kết luận đầu tiên là gợi ý đầu tiên rằng ascaridole có thể là một loại thuốc tiềm năng để điều trị ung thư.

Tinh dầu của chi *Dysphania* được đánh giá cao trong nhiều năm để trị giun sán cho người và động vật (Bye, 1986; Githiori và cộng sự, 2006); do đó thu hút sự quan tâm của các nhà nghiên cứu về thành phần tinh dầu của một số loài trong chi. Sau khi phân tích các nghiên cứu cho thấy rằng ascaridole là thành phần hoạt động có liên quan đến việc để trị giun cho người và động vật (Sagrero-Nieves và Bartley, 1995; Owolabi và cộng sự, 2009; Jardim và cộng sự, 2010; Monzote và cộng sự, 2011). Bên cạnh đó cũng có nghiên cứu cho rằng tinh dầu *D. graveolens* chứa eucalyptol (42.9%) và p-cymene (16.5%) và không có cis-ascaridole (Rivero-Cruz, 2012).

1.3. Khái quát về loài *Dysphania ambroisioides*

Dysphania ambroisioides L. Mosyakin & Clemants còn được gọi là *Chenopodium ambroisioides*, họ Rau muối (Chenopodiaceae), trên thế giới thường được gọi là cỏ ngọt hoặc chè Mexico (Hurrell và cộng sự, 2018), ở Việt Nam được gọi với tên dầu giun, cỏ hôi, kinh giới đất, rau muối dại, ... (Grozeva và Stoeva, 2006). Loài này là một loại thảo mộc sống lâu năm, hàng năm hoặc ngắn ngày (Soares và cộng sự, 2017) có lông, mùi thơm nồng (Grozeva và Stoeva, 2006). *D. ambroisioides* có nguồn gốc từ Trung và Nam Mỹ, phân bố chủ yếu từ khí hậu ôn đới đến cận nhiệt đới và nhiệt đới ở Bắc bán cầu

(Uotila, 1990; Clemants và Mosyakin, 2008). Tại Việt Nam, *D. ambroisioides* mọc khắp Bắc Bộ, Trung Bộ nhưng ở Bắc Bộ loài này phát triển mạnh và phân bố rộng hơn (Lợi, 2006).

Năm 2006, theo Đỗ Tất Lợi *Dysphania ambroisioides* thích hợp trồng ở đất phù sa; ở Bắc bộ, loài mọc tự nhiên ở hai bên bờ sông Hồng, từ Vĩnh Phúc tới Nam Hà, ven biển tỉnh Thái Bình, Hải Phòng, Đồ Sơn và những nơi cao mát như Sapa, Đà Lạt. *D. ambroisioides* mọc dại từ đầu mùa xuân đến giữa mùa hè thì ra hoa kết quả, đến tháng 8-9, quả chín hạt rụng xuống đất, những cây bị đất phù sa tràn ngập thì thối chết nhưng hạt bị vùi xuống đất đến mùa xuân lại mọc lên (Lợi, 2006).

Dysphania ambroisioides cao từ 30–80 cm, thân mọc đối, phân nhánh nhiều, có vân (Grozeva và Stoeva, 2006), thân cây được bao phủ bởi các lông bài tiết (Fatokun và cộng sự, 2019). Lá mọc xen kẽ, có cuống, gốc thuôn đầu nhọn dài 5,5 - 5,7 cm, rộng 1 – 2 cm, khía thùy không đều, đầu thùy nhọn (Bích và cộng sự, 2006), trên các gân lá thường có lông, hoa mọc thành hình xim đơm (glomerule) (Fatokun và cộng sự, 2019). Loài này thường ra hoa ở các kẽ lá, giữa chùm hoa là hoa đực hoặc hoa lưỡng tính, bao xung quanh là hoa cái nhỏ và không có cuống, hoa có màu xanh, vàng nhạt (Sá và cộng sự, 2015). Đường kính hoa khoảng 1mm, bao hoa có thùy trái xoan tù ở đầu nhị 5 đôi, khi tiêu giảm còn 2 hoặc 3 bao phấn hình trái xoan (Fatokun và cộng sự, 2019). Quả màu lục nhạt hoặc nâu nhạt, hình cầu, đường kính thường là 1.5mm, cùi mỏng, có lá đài không rụng, trong chứa một hạt nhỏ đen và bóng có vị hắc đặc biệt (Grozeva và Stoeva, 2006).

Dysphania ambroisioides phân bố rộng rãi và có giá trị trong y học nên nó được sử dụng như một vị thuốc trên toàn thế giới (Hurrell và cộng sự, 2018). Ở Brazil, loài này được liệt kê trong danh sách loài thuốc quốc gia được hệ thống y tế quan tâm (Bibiano và cộng sự, 2019). Năm 2014, nghiên cứu chỉ ra rằng loại thảo mộc này được sử dụng trong điều trị các bệnh tiêu hóa, hô hấp, tiết niệu sinh dục, rối loạn mạch máu và thần kinh (Ávila-Blanco và cộng sự, 2014). Ngoài ra, *D. ambroisioides* cũng cho thấy các tác dụng đã được thử nghiệm sau đây: chống oxy hóa (Speisky và cộng sự, 2006; Kumar và cộng sự, 2007), điều hòa miễn dịch (Rossi-Bergamann và cộng sự, 1997), thuốc giảm đau tim, giãn cơ (Alonso và Desmarchelier, 2005), chống viêm khớp (Pereira và cộng sự, 2018). Ở Mỹ loài Dầu giun đã được sử dụng như một loại thuốc tẩy

giun (Zamilpa và cộng sự, 2019), và trong chữa trị bệnh lỵ amip (Ávila-Blanco và cộng sự, 2014). Ở Philippines, người dân đã sử dụng lá loài này để điều trị chứng khó tiêu ở trẻ em trong nhiều thế kỷ (Cantoria, 1976). Nước sắc của lá cũng đã được sử dụng ở Trung Mỹ như một loại thuốc chống co thắt và điều trị viêm loét (Hurrell và cộng sự, 2018). Ngoài ra, loài này đã được ứng dụng để điều trị bệnh leishmaniasis trên da ở Brazil (França và cộng sự, 1996), và trị đau bụng, cảm lạnh ở Châu Phi và Mexico (Lall và Meyer, 1999; Calzada và cộng sự, 2010). *D. ambroisioides* cũng được chứng minh là một chất ức chế mạnh đối với các ký sinh trùng nguyên sinh nội bào, chẳng hạn như *Leishmania amazonensis* (Patrício và cộng sự, 2008), *Plasmodium falciparum* (Cysne và cộng sự, 2016), và *Trypanosoma cruzi* (Kiuchi và cộng sự, 2002), và có tác dụng gây độc không đáng kể đối với tế bào nấm *Candida albicans* (Zago và cộng sự, 2019). Hiện nay, tinh dầu và chiết suất của *D. ambroisioides* đang được sử dụng với mục đích thương mại, điều trị các bệnh ở người, cũng như trong sản xuất nước hoa và mỹ phẩm (Calzada và cộng sự, 2010; Hewis và cộng sự, 2020). Bên cạnh đó, tinh dầu *D. ambroisioides* còn có khả năng chống nấm, diệt ký sinh trùng, côn trùng (Sá và cộng sự, 2015). Những công dụng trên của *D. ambrosioides* phụ thuộc vào thành phần, hàm lượng cũng như tính chất của các hợp chất có trong loài (Barros và cộng sự, 2013).

1.4. Tình hình nghiên cứu thành phần hóa học của loài *Dysphania ambroisioides*

Trong nhiều năm qua, tinh dầu của chi *Dysphania* được đánh giá cao bởi có tác dụng trị giun sán cho người và động vật, do đó chi này đã thu hút sự quan tâm của các nhà nghiên cứu về thành phần tinh dầu của một số loài trong chi (Bye, 1986). Sau khi phân tích các nghiên cứu cho thấy ascaridol là thành phần quan trọng có liên quan đến việc điều trị giun cho người và động vật (Sagrero-Nieves và Bartley, 1995; Owolabi và cộng sự, 2009; Jardim và cộng sự, 2010; Monzote và cộng sự, 2011).

Trên thế giới đã có rất nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học của *Dysphania ambroisioides*. Năm 2013, các nhà khoa học đã ghi nhận sự có mặt của các nhóm hợp chất chính như flavonoid, axit béo và tocopherols (Barros và cộng sự, 2013). Các hợp chất hữu cơ có trong *D. ambroisioides* là carbohydrate, axit amin, protein, flavonoid, flavon, flavonols như kaempferol, quercetin và isorhamnetin, phytosterol avenasterol và spinasterol, saponin, alkaloid, vitamin, monoterpen; chẳng hạn như β-myrcene, cis-β ocimene, geraniol, limonene, α-terpinolene, σ-cimene, carvacrol, thymol, α-terpinene,

carvone, pinocarvone, piperitone và ascaridol; sesquiterpenes β-caryophyllene và γ-curcumin, cũng như α-carotene và β-caroten (Carrillo-López và cộng sự, 2014; Carrillo-López và cộng sự, 2016). Theo nghiên cứu về tinh dầu *Dysphania ambroisioides* của Riffi và cộng sự (2020) cho thấy hàm lượng flavonoid được tách chiết đạt 20,19 mg / g thấp hơn so với giá trị được tìm thấy ở nghiên cứu của Tanzeel và cộng sự (2018) là 57 ± 1,41 µg / mg. Zago và cộng sự (2019) chỉ ra rằng chiết xuất cồn 70% trong 48 giờ chứa tannin, flavonoid, alkaloid, anthraquinon. Bên cạnh đó, *D. ambroisioides* cũng chứa saponin ở toàn bộ cây; axit hữu cơ (butyric, citric, ferulic, malic, succinic, tartaric, vanillic), tannin ở phần trên mặt đất; atethole, kaempferol, quercetin, santonin ở quả; betain, chenopodiosides, heterosides ở rễ (Pinedo và cộng sự, 1997; Alonso và Desmarchelier, 2005; Kokanova-Nedialkova và cộng sự, 2009; Ehiabhi và cộng sự, 2012).

Các nghiên cứu cho thấy tinh dầu *Dysphania ambroisioides* bao gồm một hỗn hợp phức tạp của monoterpen và sesquiterpenes, và nhiều loại andehit, axit, rượu và ceton (Koba và cộng sự, 2009). Mùi thơm của tinh dầu *D. ambroisioides* là do ascaridole chiếm hàm lượng cao từ 42-90 % (Dembitsky và cộng sự, 2008), tinh dầu *D. ambroisioides* giàu ascaridole, α-terpinene, p-cymene và caryophyllene oxide (Monzote và cộng sự, 2014). Ngoài ra tinh dầu còn chứa aritasone, camphene, β-carophyllene, p-cimol, p-cymene, n-docosane, geraniol, γ-gurjunene, n-hentriacontane, n-heptacosane, limonene, myrcene, n-octacosan, phellandrene, α- và β-pinen, pinocarvone, safrol, spinasterol, α-terpinene và γ-terpinene, terpynil-acetate, terpynil-salicylate, thymol, tri-acontyl-alcohol (Zhu và cộng sự, 2012).

Tinh dầu *Dysphania ambroisioides* tại Trung Quốc có chứa α-terpinene (32,9%), p-cymene (24,2%) (Li và cộng sự, 2020); tại khu vực Najran ở Ả Rập Xê Út, tinh dầu của loài chứa các hợp chất có hàm lượng cao như cis-ascaridole (38,1%), p-cymene (19,3%), α-terpinene (13,2%), trans-ascaridole (6,3%) (Almadiy và cộng sự, 2020). Tuy nhiên, nghiên cứu ở Bang Chaza-Niger, Nigeria cho thấy tinh dầu chứa α-terpinene (48,7%), p-cymene (21,7%), trans-β-terpinyl butanoate (17,1%), ascaridole (5,7%) (Fatokun và cộng sự, 2019). Mặc khác, tinh dầu thu được ở Bhimtal, Ấn Độ lại chứa nhiều α-terpinene (72,5%), p-cymene (20,6%), terpinolene (2,5%) (Bisht và cộng sự, 2019). Ở Togo, 11 hợp chất đã được xác định trong mẫu tinh dầu *D. ambroisioides* đại

diện cho 99,03% tổng lượng compozid được phát hiện bao gồm ascaridole (51,12%), p-cymene (19,88 %), neral (8,70%) và geraniol (7,55%) là thành phần chính (Koba và cộng sự, 2009). Ngoài ra, các thành phần đáng chú ý khác được xác định trong tinh dầu loài này là α-terpinene (6,35%), carvacrol (2,10%) (Koba và cộng sự, 2009). Tinh dầu *D. ambrosioides* bao gồm 5 hydrocacbon monoterpene (28,94%) và 6 oxygenatde monoterpene (70,09%) (Koba và cộng sự, 2009). Tại Yemen, thành phần chính của tinh dầu là monoterpenoit oxy hóa và hydrocacbon monoterpene ở nồng độ lần lượt là 85,3% và 8,8%. Ascaridole (54,2%), isoascaridole (27,7%) và p-cymene (8,1%) là các hợp chất chính trong tinh dầu (Al-kaf và cộng sự, 2016).

Tại Việt Nam, hiện chưa có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học của loài *Dysphania ambroisioides.* Năm 2020, Ngân và cộng sự đã tiến hành tách chiết tinh dầu *D. ambroisioides* ở huyện Bắc Hà, tỉnh Lào Cai đạt hiệu suất chưng cất là 0,8435%. Hiệu suất thu tinh dầu ở Việt Nam 2020 do Ngân và cộng sự thực hiện cao hơn so với hiệu suất thu tinh dầu *D. ambroisioides* ở Brazil (0,3%) và Yemen (0,52%) (Jardim và cộng sự, 2008; Al-badani và cộng sự, 2017), thấp hơn so với hiệu suất chiết tinh dầu ở Trung Quốc (2,12%) (Zhu và cộng sự, 2012). Các thành phần chính của tinh dầu thu được ở Lào Cai là được xác định là 2,3-dehydro-1,4-cineole (55%), α-terpinene (15,2%), isoascaridole (15,3%) và p-cymene (9,8%) (Ngân và cộng sự, 2020).

1.5. Tình hình nghiên cứu hoạt tính sinh học và ứng dụng của loài *Dysphania ambroisioides*

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng *Dysphania ambroisioides* có khả năng ngăn chặn hình thành khối u ở người và động vật (Nascimento và cộng sự, 2006), tiêu diệt động vật nguyên sinh (Guerra và cộng sự, 2001; Kiuchi và cộng sự, 2002; Monzote và cộng sự, 2004), thuốc kháng virus (Mokni và cộng sự, 2019), điều hòa miễn dịch (Rodrigues và cộng sự, 2021), kháng viêm (Reyes-Becerril và cộng sự, 2019), chất chống oxy hóa (Bezerra và cộng sự, 2019), và các hoạt tính sinh học khác, bao gồm, các hoạt động chống đái tháo đường, kháng khuẩn và chống huyết khối (Dembitsky và cộng sự, 2008).

Ascaridole trong tinh dầu *Dysphania ambroisioides* đã được chứng minh như một chất chống ký sinh trùng hiệu quả qua các báo cáo của Monzote và cộng sự (2014). Nghiên cứu cho thấy, các thử nghiệm trong phòng thí nghiệm với amastigotes và promastigotes của *Leishmania amazonensis* ascaridole biểu hiện tác dụng ức chế lớn

hơn so với tinh dầu thô, với giá trị IC_{50} là 1,1 lg / mL đối với amastigote, và 0,1 lg / mL đối với promastigote (Monzote và cộng sự, 2014).

Đặc biệt, xà phòng tạo bọt bổ sung thêm tinh dầu *Dysphania ambroisioides* giúp tăng tác dụng diệt khuẩn (Chiasson và cộng sự, 2004; Kouam và cộng sự, 2015). Khi dùng tinh dầu với liều lượng 200 ppm làm giảm mật độ quần thể ấu trùng *Anopheles gambiae* và vector sốt rét *Anopheles gambiae* (Bigoga và cộng sự, 2013). Theo nghiên cứu của Massebo và cộng sự thực hiện vào năm 2009 đã phát hiện ra tinh dầu loài này có khả năng diệt ấu trùng và xua đuổi các loài muỗi từ đó kết luận rằng tinh dầu *D. ambroisioides* có thể được ứng dụng nhiều hơn trong việc chống lại bệnh sốt rét (Massebo và cộng sự, 2009).

Bên cạnh những đặc tính dược lý, tinh dầu của *Dysphania ambroisioides* thể hiện hoạt tính kháng nấm *in vitro* và *in vivo* (Kumar và cộng sự 2007; Chekem và cộng sự, 2010) và kháng khuẩn (Monzote và cộng sự, 2014) chống *Entamoeba histolytica in vitro* và *in vivo* (Ávila-Blanco và cộng sự, 2014). Hoạt động kháng khuẩn tiềm năng của tinh dầu *D. ambroisioides* là do sự hiện diện của hợp chất phenol như ascaridole (Khomarlou và cộng sự, 2018). Theo nghiên cứu của Kiuchi và cộng sự năm 2002, monoterpene hydroperoxit chiết suất từ các bộ phận trên mặt đất cho thấy hoạt động chống lại *Trypanosoma cruzi* tác nhân gây bệnh Chagas trong điều kiện *in vitro*. Hoạt tính chống sốt rét của *D. ambroisioides* do tinh dầu của loài có chứa ascaridole, đây là chất ức chế mạnh đối với sự phát triển của *Plasmodium falciparum* (Pollack và cộng sự, 1990) và *Plasmodium berghei* (Misra và cộng sự, 1991). Hoạt động tiềm năng của tinh dầu *D. ambroisioides* là chống lại *Trichomonas vaginalis* - loài ký sinh ở đường tiết niệu sinh dục của cả nam và nữ (Kokanova-Nedialkova và cộng sự, 2009). Các hoạt động kháng khuẩn của loài *D. ambroisioides* đã được nghiên cứu bao gồm: chống vi khuẩn *Helicobacter pylori* (nguyên nhân của viêm dạ dày và loét), chống lại vi khuẩn *Mycobacterium tuberculosis* và vi khuẩn gây bệnh ngoài da (Lall và Meyer, 1999; Larhsini và cộng sự, 2001; Liu và cộng sự, 2012). Hoạt tính kháng virus của *D. ambroisioides* đối với bệnh cúm loại A đã được thử nghiệm (Kokanova-Nedialkova và cộng sự, 2009).

Nghiên cứu vào năm 2019 của Bezerra và cộng sự, tinh dầu của *Dysphania ambroisioides* với hợp chất chính α-terpinene cho thấy MIC thấp hơn đối với

Staphylococcus aureus (256 lg / mL) và trung bình đối với *Pseudomonas aeruginosa* (512 lg / mL) , và tinh dầu cho thấy mức độ hoạt động chống oxy hóa thấp (1024 lg / mL). Tuy nhiên, Brahim và cộng sự (2015) phát hiện ra rằng tinh dầu có tác dụng chống oxy hóa đạt mức trung bình thông qua xét nghiệm gốc tự do DPPH (2, 2- Diphenyl-1-Picryl-Hydrazyl-Hydrate). Kết quả tương tự với nghiên cứu của Santiago trước đây và cộng sự (2016) báo cáo rằng tinh dầu của *D. ambroisioides* đã chứng minh hoạt tính chống oxy hóa mạnh hơn thông qua thử nghiệm β-carotene/ axit linoleic, với IC_{50} 455,7 lg / mL. Từ các báo cáo trên, tinh dầu của *D. ambroisioides* và các thành phần chính của nó đã được ứng dụng dược lý theo nhiều cách khác nhau (Brahim và cộng sự, 2015; Santiago và cộng sự, 2016). Các nghiên cứu cho thấy rằng tinh dầu *D. ambrosioides* có tiềm năng ứng dụng trong công nghiệp y dược (Brahim và cộng sự, 2015; Santiago và cộng sự, 2016).Tuy nhiên cần thêm nhiều nghiên cứu trong lĩnh vực này để tận dụng tối đa tiềm năng mà tinh dầu Dầu giun mang lại (Brahim và cộng sự, 2015; Santiago và cộng sự, 2016).

Tinh dầu *Dyphania ambrosioides* cho thấy khả năng kháng virus CV-B4 với IC_{50} là 21,75 μg / mL, kháng khuẩn mạnh đối với các chủng vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* và *Bacillus subtilis* cũng như khả năng kháng nấm đối với chủng vi khuẩn gây bệnh *Candida albicans* (Mokni và cộng sự, 2019). Cùng năm đó, theo nghiên cứu của Kim và cộng sự đã chỉ ra rằng tinh dầu của *D. ambrosioides* được dùng như một giải pháp thay thế cho thuốc diệt nấm và thuốc trừ sâu hóa học trong việc bảo vệ cây trồng chống lại mầm bệnh và côn trùng gây hại. Tinh dầu *D. ambroisioides* chứa ascaridole, α -terpinene, p -cymene và caryophyllene oxide là các thành phần chính, và có khả năng kháng khuẩn, kháng nấm và diệt côn trùng hiệu quả chống lại sâu bệnh và mầm bệnh của các loại cây trồng quan trọng (Kim và cộng sự, 2019).

Trong nghiên cứu tác dụng giãn cơ (myorelaxant) của tinh dầu *Dysphania ambrosioides* trên chuột chứng minh tinh dầu có tiềm năng điều trị chống co thắt đường hô hấp (Pereira và cộng sự, 2020). Hai thành phần ascaridole và p-cymene trong tinh dầu thu được từ lá *Dysphania ambrosioides* có khả năng an thần thông qua thí nghiệm ở chuột kích thích được xử lý caffeine (Dougnon và cộng sự, 2020). Ascaridole và p-cymene giảm 50% chức năng vận động của chuột bị kích thích, ngoài ra còn có khả năng kéo dài thời gian ngủ do pentobarbital gây ra lần lượt là 42% và 77% (Dougnon và cộng

sự, 2020). Những tác dụng này được đối chứng bằng cách dùng chung với thuốc đối kháng thụ thể gamma-aminobutyric acid ($GABA_A$) -benzodiazepine, flumazenil (3 mg / kg), cho thấy rằng GABAergic làm trung gian cho tác dụng an thần (Dougnon và cộng sự, 2020). Cuối cùng, ascaridole và p-cymene không có tác động đến sự phối hợp vận động, như được quan sát thấy trong thử nghiệm Rota-que (Dougnon và cộng sự, 2020). Do đó, thông qua việc kích hoạt GABAergic, ascaridole và p-cymene làm trung gian cho tác dụng thúc đẩy giấc ngủ của tinh dầu *D. ambrosioides*, các kết quả cho thấy việc sử dụng chúng như các sản phẩm tự nhiên đầy tiềm năng để kiểm soát rối loạn giấc ngủ và các bệnh liên quan đến thần kinh trung ương (Dougnon và cộng sự, 2020).

Dyphania ambrosioides có hoạt tính chống ký sinh trùng và điều hòa miễn dịch chống lại các giai đoạn khác nhau của bệnh sán máng, làm giảm tình trạng viêm u hạt do nhiễm trùng và do đó, cải thiện tình trạng bệnh (Rodrigues và cộng sự, 2021). Ngoài ra, *D. ambrosioides* được chứng minh là một sản phẩm tự nhiên đầy tiềm năng để kiểm soát bệnh sán máng vì tinh dầu *D. ambrosioides* tác động lên cả vật trung gian truyền bệnh và tác nhân gây bệnh (Pereira và cộng sự, 2022). Tuy nhiên, việc sử dụng tinh dầu loài này cần cẩn thận hơn vì tinh dầu *D. ambrosioides* còn có khả năng gây độc (Pereira và cộng sự, 2022).

Ở một nghiên cứu khác của Angulo và cộng sự năm 2022, cá được cho ăn khẩu phần bổ sung 0,5%, 1% và 2 % *Dysphania ambrosioides* trong vòng năm tuần. Kết hợp chế độ ăn với 1% *D. ambrosioides* đã thúc đẩy sự phát triển của cá, cholesterol huyết thanh giảm ở cá cho ăn 1% và 2 % *D. ambrosioides* trong khi ở nhóm ăn 0,5% *D. ambrosioides* kết hợp chế độ ăn có hoạt tính diệt khuẩn cao nhất đối với *Aeromonas hydrophila* (Angulo và cộng sự, 2022). Chế độ ăn uống kết hợp *D. ambrosioides* có thể thúc đẩy sự phát triển của cá, giảm cholesterol trong huyết thanh, tăng hệ miễn dịch trong cá hồng Thái Bình Dương, nghiên cứu này cung cấp một quan điểm mới cho việc sử dụng *D. ambrosioides* như một lựa chọn để có thể giảm việc sử dụng kháng sinh ở cá nuôi (Angulo và cộng sự, 2022).

Tinh dầu *Dysphania ambrosioides* có tác dụng kháng khuẩn phổ rộng chống lại hai vi khuẩn Gram dương (*Enterococcus faecalis* và *Staphylococcus aureus*) và một vi khuẩn gây bệnh Gram âm (*E. coli*), cùng với khả năng chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH, cũng như các xét nghiệm axit β-carotene / linoleic (Bano và cộng sự, 2022). Kết

quả là, tinh dầu *D. ambrosioides* đang được nghiên cứu có thể được sử dụng trong nhiều loại thực phẩm và ứng dụng như một nguồn nguyên liệu để sản xuất chất bảo quản tự nhiên và chất chống oxy hóa (Bano và cộng sự, 2022).

CHƯƠNG II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng và địa điểm nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: loài Dầu giun (*Dysphania ambroisioides* L. Mosyakin & Clemants) (Phụ lục 1).

Địa điểm nghiên cứu: loài Dầu giun phân bố tại thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng.

2.2. Hóa chất

Mercuric chloride ($HgCl_2$), Potassium iodide (KI), Iodine (I_2)

Ancol isoamyl ($C_5H_{12}O$), Magie (Mg), Amoniac (NH_3 đậm đặc)

Iron (III) clorua ($FeCl_3$ 5%), Acid sunfuric (H_2SO_4), Silver nitrat 10% ($AgNO_3$)

Sodium hydroxide (NaOH 10%), Amoni hydroxit (NH_4OH)

α-naptol 1% ($C_{10}H_8O$), Etanol (C_2H_5OH), Axit Clohidric (HCl)

Acid picric ($C_6H_3N_3O_7$), Lead (II) acetate ($Pb(CH_3COO)_2$)

Gelatin ($C_{102}H_{151}O_{39}N_{31}$), Zinc oxide (ZnO)

Sodium sulfate (Na_2SO_4)

2.3. Thiết bị

- Hệ thống chiết Soxhlet (phụ lục 4).
- Bếp cách thủy (phụ lục 5).
- Hệ thống máy cô quay chân không IKA (phụ lục 5).
- Tủ sấy UNB 500 Memmert (phụ lục 3).
- Cân phân tích Denver Instrument MXX 212.
- Máy xay (phụ lục 3).
- Hệ thống sắc ký khí (GC).
- Hệ thống sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Thu và xử lý mẫu (phụ lục 3)

Loài Dầu giun được thu hái từ các khu vực khác nhau trên địa bàn thành phố Đà Lạt sau đó đưa về phòng thí nghiệm Tài nguyên thực vật A19.2 trường Đại học Đà Lạt (DLU). Thời gian thu hái mẫu từ tháng 11/2021 đến tháng 01/2022, mẫu cây được thu hái bao gồm các bộ phận trên mặt đất (lá, thân và quả).

Mẫu dùng để tách chiết tinh dầu được xử lý bằng cách làm sạch, loại bỏ các tạp chất; sau đó đưa ngay vào hệ thống chưng cất tinh dầu nhằm hạn chế sự thất thoát tinh dầu.

Mẫu dùng để tách chiết nhóm hợp chất thứ cấp được xử lý tạp chất và bụi bẩn sau đó sấy khô trong tủ sấy ở nhiệt độ 50^{o}C đến khi khối lượng không đổi, bảo quản trong túi zíp.

2.4.2. Phương pháp hình thái so sánh (phụ lục 1)

Mẫu cây thu được trong nghiên cứu này được định danh dựa vào các tài liệu phân loại về chi *Dysphania* ở Việt Nam và các khu vực lân cận (Hộ, 2003; Gelin và cộng sự, 2003).

2.4.3. Phương pháp cất kéo hơi nước (phụ lục 2)

Sử dụng phương pháp cất kéo hơi nước (Mayer – Warnot, 1984) để tách chiết tinh dầu của loài Dầu giun. Mẫu sau khi loại bỏ các tạp chất, bụi bẩn xong sẽ được đưa vào nồi chiết với tỉ lệ 2 kg mẫu với 5 lít nước, chưng cất tinh dầu trong 4 giờ. Thu tinh dầu, làm khan bằng Na_2SO_4 để loại bỏ hoàn toàn nước, bảo quản trong điều kiện từ 18- 25^{o}C, trong lọ tối.

2.4.4. Xác định hiệu suất tách chiết tinh dầu

Hàm lượng tinh dầu của loài Dầu giun được xác định hiệu suất giữa thể tích và khối lượng (w/w)

Hiệu suất = khối lượng tinh dầu (g) / khối lượng mẫu (g)

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

Tinh dầu của loài Dầu giun sau khi chiết sẽ được đem đi phân tích tại Trung tâm dịch vụ phân tích thí nghiệm CASE thuộc sở Khoa học và Công nghệ Tp. Hồ Chí Minh,

phân tích bằng phương pháp sắc kí khí ghép khối phổ (Gas chromatography–mass spectrometry: GC-MS).

Thiết bị : Thermo scientifie ISQ 7000 single Quad w/Trane 1310 GC-MS

Cột: Agilent DB-5MS (30m x 0,25mm x 0,25 µm)

Nhiệt độ MS tranferline: 220^{o}C

Nhiệt độ Ion source: 29-650 amu

Chương trình nhiệt: 70^{o}C (1 phút) =>12^{o}C/phút => 280^{o}C (10 phút)

Nhiệt độ inlet :220^{o}C

Tốc độ dòng :1,2ml/phút

Khí mang: He

Thể tích tiêm: 1µl

Chuẩn bị mẫu: hòa tan 20µl nguyên mẫu trong methanol và định mức thành 1ml bằng methanol.

2.4.6. Phương pháp chiết Soxhlet (phụ lục 4)

Sử dụng phương pháp chiết liên tục hồi lưu bằng hệ thống chiết Soxhlet (Soxhlet, 1879) để để tách chiết các hợp chất có trong nguyên liệu. Nguyên liệu sau khi xử lý được cho vào các túi đựng mẫu với khối lượng là 25g trên 1 lần chiết. Sau đó nguyên liệu được đưa vào hệ thống chiết Soxhlet trong 6h. Thu dịch chiết, tách dung môi bằng bếp cách thủy ở nhiệt độ 70°C. Sấy khô, bảo quản lạnh để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

2.4.7. Phương pháp định tính một số nhóm hợp chất thứ cấp trong cây (phụ lục 6)

Định tính thành phần hóa học có trong cây Dầu giun theo phương pháp của Đàn và cộng sự sử dụng năm 1985.

Cao chiết được hòa tan bằng cồn 70 ^{o}, sử dụng 0,1 g cao chiết pha loãng với 10 ml 70^{o}. Sau đó lọc qua giấy lọc thu dịch chiết, dịch chiết này sẽ được dùng để thực hiện thí nghiệm định tính.

a) Định tính nhóm Alkaloid (phụ lục 6, hình 1)

Cho 5 g bột xay nhuyễn vào dung dịch H_2SO_4 1% và đun nhẹ trong 1 giờ, sau đó lọc lấy dung dịch. Chuẩn bị 3 ống nghiệm, mỗi ống hút 1 ml dịch lọc.

Ống thứ 1 làm đối chứng.

Ống thứ 2 nhỏ vài giọt thuốc thử Mayer vào ống dịch chiết (Lyons, 1886).

Quan sát hiện tượng.

Ống thứ 3 nhỏ vài giọt thuốc thử Wagner vào ống chứa dịch chiết (Gomberg, 1896).

Quan sát hiện tượng.

b) Định tính nhóm chất Flavonoid (Phụng, 2007) (phụ lục 6, hình 2)

Thí nghiệm 1: Phản ứng Cyanidin: chuẩn bị hai ống nghiệm, cho vào ống 2ml cao chiết hòa tan trong methanol.

Ống 1 làm đối chứng.

Ống 2 cho thêm vào 1 ml alcol isoamyl, 0,5ml HCl đậm đặc; 3-5 hạt Mg kim loại. Đun nhẹ trong vài phút.

Phản ứng kiềm (NH_3 đậm đặc, NaOH 10%):

Thí nghiệm 2: Cho 2 giọt dịch chiết lên giấy lọc. Hơ khô trên ngọn lửa đèn cồn. Giọt thứ nhất làm đối chứng, giọt thứ 2 hơ trên miệng bình amoniac đậm đặc.

Quan sát hiện tượng.

Thí nghiệm 3: Chuẩn bị 2 ống nghiệm, mỗi ống cho vào 1 ml dịch chiết.

Ống 1 làm đối chứng.

Ống 2 cho vào vài giọt NaOH 10%.

Quan sát hiện tượng.

Thí nghiệm 4: Hòa tan cao chiết vào dd H_2SO_4 đậm đặc, sau đó quan sát hiện tượng.

c) Định tính nhóm chất Saponin (Phụng, 2007) (phụ lục 6, hình 3)

Phản ứng tạo bọt: cân 1g bột cây Dầu giun vào 2 ống nghiệm thêm 5ml nước cất, đun cách thủy 5 phút.

Ống 1 bổ sung 5ml HCl 0,1N (pH= 1).

Ống 2 bổ sung 5ml NaOH 0,1N (pH=13).

Lắc mạnh theo chiều dọc ống nghiệm trong 5 phút.

Quan sát cột bọt.

d) Định tính nhóm chất Tanin (Đàn, 1985) (phụ lục 6, hình 4)

Chuẩn bị 4 ống nghiệm mỗi ống cho 1 ml dịch chiết

Ống 1 làm đối chứng.

Ống 2 cho vào 5 giọt $Pb(CH_3COO)_2$ 10%.

Ống 3 cho vào 5 giọt gelatin 1%.

Ống 4 cho vào 5 giọt $FeCl_3$ 5%.

Quan sát hiện tượng.

e) Định tính nhóm chất terpenoid (Harborne, 1998) (phụ lục 6, hình 5)

Thử nghiệm Salkowski: Cao chiết dầu giun (0,01g) được thêm vào 1ml Chloroform, sau đó lắc đều cho tan mẫu cao chiết, bổ sung 100 µL dung dịch HCl được thêm vào theo phương thức nhỏ giọt và lắc đều.

Quan sát hiện tượng.

2.4.8. Xử lý số liệu:

Toàn bộ thí nghiệm được lặp lại 3 lần; xử lý thống kê số liệu bằng phần mềm Microsoft excel 2016.

CHƯƠNG III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu suất tách chiết tinh dầu

Hiệu suất tách chiết tinh dầu loài Dầu giun bằng phương pháp cất kéo hơi nước được ghi nhận ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Hiệu suất tách chiết tinh dầu loài Dầu giun thu được ở Đà Lạt

Bộ phận	Trung bình	Hiệu suất (%w/w)
Thân	2.316±0.386	0.1158%
Quả	0.6755±0.064	0.2252%

(Nguồn: Đoàn và cộng sự, 2022)

Kết quả từ bảng 3.1 cho thấy hiệu suất tinh dầu thu được trong nghiên cứu này lần lượt là 0.1158% và 0.2252% đối với thân và quả. So sánh với các nước khác trên thế giới, tinh dầu Dầu giun thu tại Đà Lạt cho hiệu suất thấp hơn (Ấn Độ: 0.35%, Nigerria: 0.25%, Ả rập xê út: 0.78%,…) và cao hơn so với Trung Quốc (0.10%). Ở Việt Nam hiệu suất tinh dầu thu được từ nghiên cứu của Ngân và cộng sự là 0.84% khi chiết 200g mẫu khô khác với nghiên cứu của chúng tôi khi chiết 2 kg mẫu tươi. Từ kết quả này cho thấy hàm lượng tinh dầu thu được ở các vùng khác nhau có sự chênh lệch đáng kể. Theo nghiên cứu của Ngân và cộng sự, mẫu được thu vào tháng 5 và tháng 6, bộ phận tách chiết là phần trên mặt đất của cây; còn nghiên cứu của chúng tôi mẫu được thu vào tháng 11 đến tháng 1 và cũng dùng bộ phận trên mặt đất của cây để tách chiết. Vì vậy, sự khác biệt về hàm lượng có thể do điều kiện khí hậu của nguồn sinh thái, khu vực, độ phì nhiêu, tình trạng nguyên liệu được sử dụng và quy trình khai thác tinh dầu (Rohloff và cộng sự, 2005). Ngoài ra, theo Đỗ Tất Lợi loài Dầu giun cho hàm lượng tinh dầu cao nhất vào khoảng tháng 5 và 6 khi đó hiệu suất đạt 0.65- 1% đối với thân và 0.35% đối với hạt mà mẫu chúng tôi thu vào khoảng tháng 11 đến tháng 1. Đây cũng là nguyên nhân chủ yếu dẫn đến hàm lượng tinh dầu thu được không đạt hiệu quả cao (Lợi, 2006).

3.2 Thành phần hóa học của tinh dầu loài *Dysphania ambróiioides* Đà Lạt

Kết quả phân tích thành phần tinh dầu loài Dầu giun thu được ở Đà Lạt bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS) được thể hiện trong bảng 3.2.

Bảng 3.2. Thành phần hóa học tinh dầu loài Dầu giun

STT	Thời gian lưu (phút)	Tên hợp chất	Tỷ lệ (%)
1	3.29	α-pinene	0.05
2	3.71	Sabinene	0.02
3	3.80	β-pinen	0.03
4	3.84	β-myrcene	0.11
5	4.13	β-ocimene	0.06
6	4.24	***α-terpinene***	***74.70***
7	4.32	δ- cymene	3.04
8	4.37	D-limonene	0.97
9	4.71	δ-tepinene	1.07
10	5.53	Cyclohexanone,2-ethyl-	0.22
11	7.00	Ascaridole	17.93
12	7.18	6-Isopropyll-3-methyl-7-oxabicyclo[4,10]heptan-2-one	0.39
13	7.25	α-citral	0.18

14	7.38	Trans-ascarridol glycol	0.40
15	7.76	Isoascaridole	0.83

Từ kết quản phân tích GC/MS tinh dầu loài Dầu giun thu được ở Đà Lạt có chứa 15 cấu tử khác nhau, với các thành phần chính là α-terpinene (74.70%) và ascaridole (17.93%), δ-cymene (3.04%) và các cấu tử còn lại chiếm dưới 1%.

So sánh với các nghiên cứu trước đây chúng tôi nhận thấy α-terpinene, ascarridole là 2 cấu tử chiếm tỷ lệ cao và là một trong những thành phần chính có trong loài Dầu giun. Tuy nhiên, ở các nghiên cứu trước đây ngoài 2 cấu tử trên còn có thêm các cấu tử khác chiếm tỷ lệ đáng kể như: p-cymene, cis- ascaridole,…. Sự khác nhau về thành phần cấu tử tinh dầu loài Dầu giun trong và ngoài nước được thể hiện trong bảng 3.3.

Bảng 3.3. So sánh thành phần cấu tử tinh dầu loài Dầu giun ở các nghiên cứu trong và ngoài nước

Khu vực nghiên cứu		Số lượng cấu tử	Thành phần chính và hàm lượng	Tài liệu tham khảo
Thế giới	Ấn Độ	34	α-terpinene (37.17%), p-cymene (11.76%), ascaridole (14.83%), iso-ascaridole (20.48%)	Bisht, 2019
	Trung Quốc	14	α-terpinene (32.89%),p-cymene (24.25%)	Li và cộng sự, 2020
	Ả rập xê-út	33	Cis- ascaridole (38.10%), α-terpinene (13.20), p-cymene (19.30%)	Almadiy và cộng sự, 2020

	Moroccan	24	α-terpinene (23.77%), ascaridole (14.48%), p-cymene (12.22%), neral (8.08%)	Brahim và cộng sự, 2015
	Nigeria	19	α-terpinene (48.68%), p-cymene (21.71%), trans-beta-terpinylbutanoate (17.15%), ascaridole (5.67%)	Fatokun và cộng sự, 2019
Việt Nam	Lào Cai	11	2,3-dehydro-1,4-cineole (55.00%), isoascaridole (15.30%), α-terpinene (15.20%)	Ngân và cộng sự, 2020
	Đà Lạt	15	α-terpienen (74.70%) và ascaridole (17.93%), δ-cymene (3.04%)	Nghiên cứu này

Bảng 3.3 cho thấy có sự khác biệt về số lượng cấu tử cũng như khác nhau về thành phần chính trong tinh dầu. Ở Việt Nam, số lượng cấu tử có trong tinh dầu ít hơn hẳn so với các nghiên cứu trên thế giới. Thành phần chính của tinh dầu loài Dầu giun ở hầu hết các nghiên cứu trong và ngoài nước là α-terpinene, p-cymene, ascarridole. α-terpinene chiếm tỷ lệ cao ở khu vực Nigeria (48.68%), thấp hơn ở Ả Rập xê-út (13.2%). Đối với cấu tử ascaridole không có trong mẫu ở Trung Quốc; tuy nhiên, tinh dầu Trung Quốc lại chứa p-cymene cao (21.71%).

So sánh với nghiên cứu trong nước nhận thấy rằng số lượng cấu tử tinh dầu ở Đà Lạt (15) nhiều hơn Lào Cai (11). Ở Lào Cai cấu tử chính là 2,3-dehydro-1,4-cineole (55%), α–terpinene (15.2%), isoascaridole (15.3%). Trong nghiên cứu của chúng tôi α –terpinene (74.70%), ascaridole (17.93%) là thành phần chính trong tinh dầu; tuy nhiên không xuất hiện cấu tử 2,3-dehydro-1,4-cineole. Hàm lượng isoascaridole cao trong tinh

dầu của Ngân và cộng sự 2020 có thể là do ascaridole có thể dễ dàng bị biến tính dưới nhiệt độ cao (150°C) để tạo thành isoascaridole (Cavalli và cộng sự, 2004).

Từ đó, có thể nhận thấy thành phần tinh dầu thu được từ loài Dầu giun có sự thay đổi về hàm lượng và thành phần hóa học phụ thuộc vào địa điểm phân bố của loài. Theo Saei và cộng sự (2010) thì thành phần hoá học của các một loài thực vật sẽ chịu ảnh hưởng của các yếu tố như sự phân bố ở các khu vực địa lý khác nhau, điều kiện khí hậu, thổ nhưỡng khác nhau. Bên cạnh đó, thời điểm thu hái, các giai đoạn phát triển của loài nguyên liệu để tách chiết tinh dầu cũng ảnh hưởng rất nhiều đến thành phần tinh dầu (Ruberto, 2000). Theo nghiên cứu của Ngân và cộng sự thời gian nghiên cứu của nhóm tác giả vào tháng 5 đến tháng 7, đây là mùa sinh trưởng và phát triển tốt nhất của loài. Còn trong nghiên cứu này thời gian thu hái vào tháng 11 đến tháng 1, tuy không phải thời gian phát triển tốt nhất của loài, tuy nhiên lại cho hàm lượng α –terpinene cao nhất.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra rằng sự có mặt của 2 cấu tử chính là α –terpinene, ascaridole; đây là cấu tử có tiềm năng trong nhiều lĩnh vực như: hương liệu, dược liệu v.v... Trong đó, α-terpinene là một trong những thành phần chính được tìm thấy trong các nghiên cứu phân tích tinh dầu của loài *Dysphania ambroisioides* (>23%) của nhiều quốc gia khác nhau bao gồm Trung Quốc, Nigeria, Ả Rập Xê út, Ấn Độ, Moroccan. Chất này được tìm thấy trong các chiết xuất từ thực vật và có mặt trong một số loại tinh dầu thường dùng (Brophy và cộng sự, 1989). α-terpinene được sử dụng như một loại thuốc thơm và có trong các loại tinh dầu khác nhau (Rudbäck và cộng sự 2012). Đây còn là một trong những thành phần có tác dụng chống oxy hóa của tinh dầu (Rudbäck và cộng sự 2012); α-terpinene là một chất chống oxy hóa vì nó tự oxy hóa nhanh chóng so với nhiều hợp chất khác, ngăn chặn chúng khỏi bị phân hủy (Rudbäck và cộng sự 2012).

Vào đầu những năm 1900, ascaridole là một trong những loại thuốc tẩy giun chính được sử dụng để điều trị bệnh giun đũa và giun móc ở người, mèo, chó, ngựa và lợn (Wautie, 1946; Guimaraes, 1927). Ascaridole đã được ghi nhận có đặc tính an thần và giảm đau cũng như hiệu quả kháng nấm (Pare, 1993). Ascaridole được tìm thấy là một chất ức chế mạnh trong ống nghiệm sự phát triển của kí sinh trùng như *Plasmodium falciparum* (Pollack, 1990), *Trypanosoma cruzi* (Kiuchi, 2002) và *Leishmania amazonensis* (Kiuchi, 2002), chống lại truyến trùng *Meloidogyne*

incognita and *Aphelenchoides besseyi* (Yen và cộng sự, 2006; Katsuno và cộng sự, 2015; Caridha và cộng sự, 2019). Ascaridole cũng cho thấy hoạt động chống lại các dòng tế bào khối u khác nhau trong ống nghiệm (CCRF-CEM, HL60, MDA-MB-231) (Efferth và cộng sự, 2002). Chính vì vậy, tinh dầu loài Dầu giun thu ở Đà Lạt là tiền đề để nghiên cứu thêm về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học, cũng như hướng ứng dụng sau này.

3.3. Khảo sát thành phần hóa học có trong cao chiết *Dysphania ambrosioides*

Bằng các phản ứng định tính đặc trưng cho một số nhóm hợp chất thứ cấp theo phương pháp của Đàn và cộng sự sử dụng năm 1985, bước đầu chúng tôi phát hiện được một số nhóm hợp chất có trong cao chiết với cồn 70 ^{o} trong 6 giờ được trình bày ở bảng 3.4.

Bảng 3.4. Bảng định tính thành phần hóa học có trong loài *Dysphania ambrosioides*

STT	Nhóm chất	Phản ứng định tính		Mẫu cao chiết với cồn 75^0
1	Alkaloid	Thuốc thử Mayer		-
		Thuốc thử Wagner		-
2	Flavonoid	Phản ứng Cyanidin		+
		Phản ứng kiềm	NH_3 đậm đặc	+
			NaOH 10%	-
		H_2SO_4		+
3	Saponin	Phản ứng tạo bọt		+
4	Tanin	$Pb(CH_3COO)_2$		+
		Gelatin		-
		$FeCl_3$ 5%		+

5	Terpenoid	Thử nghiệm Salkowski	+

(+) Phản ứng dương tính *(-) Phản ứng âm tính*

Kết quả ở bảng 3.4 cho thấy trong cao chiết *Dysphania ambrosioides* có sự hiện diện của các nhóm hợp chất thứ cấp như saponin, tanin, flavonoid. Đối với nhóm alkaloid đều cho kết quả phản ứng âm tính với 2 loại thuốc thử Mayer và Wagner. Cao chiết *Dysphania ambrosioides* cho phản ứng dương tính với $Pb(CH_3COO)_2$ và $FeCl_3$ 5%, phản ứng âm tính với Gelatin. Qua thử nghiệm Salkowski cho kết quả dương tính đã chứng minh sự có mặt của hợp chất terpenoid.

Từ kết quả định tính trên, nhóm chúng tôi tiến hành so sánh thành phần hóa học đã tìm thấy so với các nghiên cứu của khu vực khác trên thế giới.

Bảng 3.5. So sánh kết quả định tính thành phần hóa học có trong cao chiết của loài *Dysphania ambrosioides* ở Việt Nam (Đà Lạt) so với các khu vực khác trên thế giới.

	Đà Lạt, Việt Nam (2022) (Nghiên cứu này)	Bang Niger, Nigeria (2012)	Brazil (2019)	Bang Ogun, Nigeria (2010)	Dokki, Giza, Ai Cập (2021)	Bang Kwara, Nigeria (2020)
Alkaloid		**X**	**X**	**X**	**X**	**X**
Flavonoid	**X**	**X**			**X**	**X**
Saponin	**X**	**X**		**X**	**X**	**X**
Tanin	**X**	**X**	**X**	**X**	**X**	**X**
Terpenoids	**X**	**X**	**X**	**X**	**X**	**X**

Theo các nghiên cứu trước đây trên thế giới alkaloid, tanin, terpenoid, saponin đều được phát hiện trong chiết xuất từ loài Dầu giun, điển hình như các khu vực Nigeria,

Brazil, Ấn Độ. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi không xuất hiện nhóm alkaloid; kết quả định tính có mặt nhóm saponin trong nghiên cứu ở Nigeria và Ai Cập giống với kết quả định tính ở Việt Nam, nhưng chất này lại không xuất hiện với mẫu phân tích ở Brazil. Sự khác biệt trên cho thấy, các điều kiện ngoại cảnh đã ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình sinh tổng hợp chất chuyển hóa thứ cấp, hoặc những thay đổi trong quá trình sinh học khác có ảnh hưởng gián tiếp bao gồm khí hậu, ô nhiễm và khả năng tiếp xúc với sâu bệnh (Barragan Ferrer và cộng sự, 2016).

Theo nghiên cứu của Kunle và cộng sự năm 2009, flavonoid và saponin đã được báo cáo là có tác dụng chống oxy hóa, chống viêm và hạ đường huyết, và được sử dụng làm phương thuốc chống vi khuẩn, chống ung thư và chống dị ứng. Một số tannin được cho là tác nhân chống virus và chống khối u cũng như thuốc lợi tiểu. Các terpen như monoterpenes, sesquiterpenes và triterpenes có khả năng chống viêm nhiễm, chống vi khuẩn và các hoạt động nội tiết tố (WC, 2002). Các thành phần hợp chất có trong cây rất đa dạng, cùng với hoạt tính sinh học được ứng dụng rộng rãi đặc biệt là trong y học. Chính vì vậy, *Dysphania ambrosioides* phân bố tại Việt Nam nói chung và Đà Lạt nói riêng là một loài cây có tiềm năng trong việc hỗ trợ điều trị một số loại bệnh cho con người.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

- Hàm lượng tinh dầu thu được trong cây Dầu giun ở Đà Lạt lần lượt là 0.23% và 0.12% đối với mẫu quả và thân.
- Tinh dầu loài Dầu giun phân bố tại Đà Lạt thu bằng phương pháp cất kéo hơi nước gồm có 15 hợp chất (cấu tử) khác nhau, trong đó α−terpinen (74.70%) và ascarridole (17.93 %) là 2 thành phần chính.
- Bước đầu định tính được một số hợp chất có trong cao chiết của loài Dầu giun bao gồm flavonoid, saponin, tanin và terpenoid.

KIẾN NGHỊ

- Thu thập thêm mẫu tại nhiều khu vực ở Lâm Đồng và thu nhận mẫu theo từng mùa, đặc biệt là tháng 5 đến tháng 6 (mùa cây ra hoa và quả) để đánh giá hàm lượng tinh dầu cũng như thành phần hoá học của cao chiết.
- Thực hiện thêm các nghiên cứu về ứng dụng tinh dầu của cây trong sản xuất thuốc trừ sâu, dược phẩm, … .
- Tiến hành thu mẫu Dầu giun ở các giai đoạn phát triển của cây nhằm tìm ra giai đoạn cho thu tinh dầu tối ưu nhất từ đó có thể đánh giá thành phần hóa học có trong cây một cách khách quan nhất.

3.2. Thành phần hóa học của tinh dầu loài *Dysphania ambrosioides* ở khu vực

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tham khảo tiếng Anh

Al-Badani, R. N., da Silva, J. K. R., Mansi, I., Muharam, B. A., Setzer, W. N., & Awadh Ali, N. A. (2017). Chemical composition and biological activity of Lavandula pubescens essential oil from Yemen. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *20*(2), 509-515.

Al-kaf, A. G., Crouch, R. A., Denkert, A., Porzel, A., Al-Hawshabi, O. S., Ali, N. A., ... & Wessjohann, L. (2016). Chemical composition and biological activity of essential oil of *Chenopodium ambrosioides* from Yemen. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, *4*(1), 20-22.

Almadiy, A. A. (2020). Chemical profile, mosquitocidal, and biochemical effects of essential oil and major components of *Dysphania ambrosioides* against Culex quinquefasciatus Say. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*(33), 41568-41576.

Alonso, J., & Desmarchelier, C. (2005). Plantas medicinales autóctonas de la Argentina. Editorial Lola, Buenos Aires.

Andov, L. A., Karapandzova, M., Cvetkovikj, I., Stefkov, G., & Kulevanova, S. Chemical composition of *Chenopodium botrys* L.(Chenopodiaceae) essential oil. *Therapeutic effects of local drug delivery systems-PerioChip® in the treatment of periodontal disease*, 45.

Angulo, C., & Reyes-Becerril, M. (2022). Dietary Mexican *Chenopodium ambrosioides* L. improved cholesterol level, bactericidal activity, humoral and antioxidant defence parameters in Pacific red snapper (Lutjanus peru). *Aquaculture Research*.

Ávila-Blanco, M. E., Rodríguez, M. G., Moreno Duque, J. L., Muñoz-Ortega, M., & Ventura-Juárez, J. (2014). Amoebicidal activity of essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants in an amoebic liver abscess hamster model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2014*.

Bano, S., Baig, M. W., Okla, M. K., Zahra, S. S., Akhtar, N., Al-Qahtani, W. H., ... & Haq, I. U. (2022). Antioxidant, Antimicrobial, and Protein Kinase Inhibition Profiling of C. ambrosioides Seed Extracts along with RP-HPLC. *Journal of Chemistry*, *2022*.

Barragan Ferrer, D., Venskutonis, P. R., Talou, T., Zebib, B., Barragan Ferrer, J. M., & Merah, O. (2016). Potential interest of *Tussilago farfara* (L.) whole plant of Lithuanian and French origin for essential oil extraction. *American Journal of Essential Oils and Natural Products, 4(3),* 12-15.

Barros, L., Pereira, E., Calhelha, R. C., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2013). Bioactivity and chemical characterization in hydrophilic and lipophilic compounds of *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of Functional Foods*, *5*(4), 1732-1740.

Bezerra, J. W. A., Costa, A. R., de Freitas, M. A., Rodrigues, F. C., de Souza, M. A., da Silva, A. R. P., ... & Morais-Braga, M. F. B. (2019). Chemical composition, antimicrobial, modulator and antioxidant activity of essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, *65*, 58-64.

Bibiano, C. S., de Carvalho, A. A., Bertolucci, S. K. V., Torres, S. S., Corrêa, R. M., & Pinto, J. E. B. P. (2019). Organic manure sources play fundamental roles in growth and quali-quantitative production of essential oil from *Dysphania ambrosioides* L. *Industrial Crops and Products*, *139*, 111512.

Bigoga, J. D., Saahkem, P. A., Ndindeng, S. A., Ngondi, J. L., Nyegue, M., Oben, J. E., & Leke, R. G. (2013). Larvicidal and repellent potential *of Chenopodium ambrosioides* Linn essential oil against Anopheles gambiae Giles (Diptera: Culicidae). *The Open Entomology Journal*, *7*(1).

Bisht, B. S., & Kumar, A. (2019). Terpenoid composition of *Chenopodium ambrosioides* L. and its Antimicrobial activity from Uttarakhand Himalaya of India. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, *9*(4-A), 612-617.

Brahim, M. A. S., Fadli, M., Hassani, L., Boulay, B., Markouk, M., Bekkouche, K., ... & Larhsini, M. (2015). *Chenopodium ambrosioides* var. ambrosioides used in

Moroccan traditional medicine can enhance the antimicrobial activity of conventional antibiotics. *Industrial Crops and products*, *71*, 37-43.

Brophy, J. J., Davies, N. W., Southwell, I. A., Stiff, I. A., & Williams, L. R. (1989). Gas chromatographic quality control for oil of Melaleuca terpinen-4-ol type (Australian tea tree). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *37*(5), 1330-1335.

Brown, C. J., Macdonald, I. A. W., & Brown, S. E. (1985). Invasive alien organisms in South West Africa/Namibia. Foundation for Research Development: CSIR.

Boutkhil, S., El Idrissi, M., Amechrouq, A., Chbicheb, A., Chakir, S., & El Badaoui, K. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of crude, aqueous, ethanol extracts and essential oils of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. *Acta botanica gallica*, *156*(2), 201-209.

Buchbauer, G., Jirovetz, L., Wasicky, M., Walter, J., & Nikiforov, A. (1995). Headspace Volatiles of *Chenopodium botrys* (Chenopodiaceae). *Journal of Essential Oil Research*, *7*(3), 305-308.

Bye, R. A. (1986). Medicinal plants of the Sierra Madre: comparative study of Tarahumara and Mexican market plants. Economic Botany, 40(1), 103-124.

Calzada, F., Arista, R., & Pérez, H. (2010). Effect of plants used in Mexico to treat gastrointestinal disorders on charcoal–gum acacia-induced hyperperistalsis in rats. *Journal of ethnopharmacology*, *128*(1), 49-51.

Calzada, F., Velázquez, C., Cedillo-Rivera, R., & Esquivel, B. (2003). Antiprotozoal activity of the constituents of *Teloxys graveolens*. *Phytotherapy Research*, *17*(7), 731-732.

Camacho, M. D. R., Sanchez, B., Quiroz, H., Contreras, J. L., & Mata, R. (1991). Pinocembrine: a bioactive flavanone from *Teloxys graveolens*. *Journal of ethnopharmacology*, *31*(3), 383-389.

Cantoria, M. (1976). Aromatic and medicinal herbs of the Philippines. *Quarterly Journal of Crude Drug Research*, *14*(3), 97-128.

Carrillo-López, L. M., Soto-Hernández, R. M., Zavaleta-Mancera, H. A., & Vilchis-Néstor, A. R. (2016). Study of the performance of the organic extracts of *Chenopodium ambrosioides* for Ag nanoparticle synthesis. *Journal of Nanomaterials, 2016*.

Carrillo-López, L. M., Zavaleta-Mancera, H. A., Vilchis-Nestor, A., Soto-Hernández, R. M., Arenas-Alatorre, J., Trejo-Téllez, L. I., & Gómez-Merino, F. (2014). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Chenopodium ambrosioides*. *Journal of Nanomaterials, 2014*.

Cavalli, J. F., Tomi, F., Bernardini, A. F., & Casanova, J. (2004). Combined analysis of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* by GC, GC-MS and 13C-NMR spectroscopy: quantitative determination of ascaridole, a heat-sensitive compound. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, *15*(5), 275-279.

Chalabian, F., MONFARED, A., LARIJANI, K., & Saldouzi, S. (2006). Comparison of the essential oils of *Chenopodium botrys* L., Ferulago subvelutina Rech. F, *Rosa gallica* L. and antimicrobial activity of the oils against some microbes.

Chekem, M. S. G., Lunga, P. K., Tamokou, J. D. D., Kuiate, J. R., Tane, P., Vilarem, G., & Cerny, M. (2010). Antifungal properties of *Chenopodium ambrosioides* essential oil against Candida species. *Pharmaceuticals*, *3*(9), 2900-2909.

Chiasson, H., Bostanian, N. J., & Vincent, C. (2004). Acaricidal properties of a *Chenopodium*-based botanical. *Journal of economic entomology*, *97*(4), 1373-1377.

Clemants SE, Mosyakin SL (2003). Dysphania. In: Flora of North America Editorial Committee (ed) Flora of North America North of Mexico, vol 4. Oxford University Press, New York, pp 267–275

Cysne, D. N., Fortes, T. S., Reis, A. S., de Paulo Ribeiro, B., dos Santos Ferreira, A., do Amaral, F. M. M., ... & Nascimento, F. R. F. (2016). Antimalarial potential of leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. *Parasitology Research*, *115*(11), 4327-4334.

Dembitsky, V., Shkrob, I., & Hanus, L. O. (2008). Ascaridole and related peroxides from the genus *Chenopodium*. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc*, *152*(2).

Dougnon, G., & Ito, M. (2020). Role of Ascaridole and p-cymene in the sleep-promoting effects of *Dysphania ambrosioides* essential oil via the GABAergic system in a ddY mouse inhalation model. *Journal of Natural Products*, *84*(1), 91-100.

Efferth, T., Olbrich, A., Sauerbrey, A., Ross, D. D., Gebhart, E., & Neugebauer, M. (2002). Activity of ascaridol from the anthelmintic herb *Chenopodium anthelminticum* L. against sensitive and multidrug-resistant tumor cells. *Anticancer Research*, *22*(6C), 4221-4224.

Ehiabhi, S., Omoregie, H., Comfort, E., & Folashade, O. (2012). Phytochemicaland proximate analyses and thin layer chromatography fingerprinting of the aerial part of *Chenopodium ambrosioides* Linn.(Chenopodiaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, *6*(12), 2289-2294.

WC, E. (2002). Trease and Evans Pharmacognosy, 15th edition, W.B. Sanders London, pp. 214-393, 419.

Fatokun, O. T., Diyaolu, A. H., Esievo, K. B., Adamu, A., Aboh, M. O., & Okhale, S. E. (2019). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants from North Central Nigeria. *Journal of Phytomedicine and Therapeutics*, *18*(2), 304-313.

França, F., Lago, E. L., & Marsden, P. D. (1996). Plants used in the treatment of leishmanial ulcers due to Leishmania (Viannia) braziliensis in an endemic area of Bahia, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, *29*(3), 229-232.

Fu, S., Lei, M., Zhang, Y., Deng, Z., Shi, J., & Hao, D. (2019). De novo transcriptome analysis of Tibetan medicinal plant *Dysphania schraderiana*. *Genetics and molecular biology*, *42*, 480-487.

Gadano, A., Gurni, A., & Carballo, M. A. (2007). Herbal medicines: Cytotoxic effects of Chenopodiaceae species used in Argentinian folk medicine. *Pharmaceutical biology*, *45*(3), 217-222.

Gastaldi, B., Marino, G., Assef, Y., Silva Sofrás, F. M., Catalan, C. A. N., & González, S. B. (2018). Nutraceutical properties of herbal infusions from six native plants of Argentine Patagonia. *Plant foods for human nutrition*, *73*(3), 180-188.

Gelin, Z., Mosyakin, S. L., & Clemants, S. E. (2003). *Dysphania* R. Br. *Flora of China*, 5, 376-378.

Githiori, J. B., Athanasiadou, S., & Thamsborg, S. M. (2006). Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. *Veterinary parasitology*, *139*(4), 308-320.

Gomberg, M. (1896). On the action of wagner's reagent upon caffeine and a new method for the estimation of caffeine. *Journal of the American Chemical Society*, *18*(4), 331-342.

Grozeva, N., & Stoeva, M. (2006). Reports 1466–1472. *Mediterranean chromosome number reports*, *16*, 400-408.

Guerra Ordóñez, M., Torres Idavoy, D., & Martínez Pol, L. (2001). Validación del uso tradicional de plantas medicinales cultivadas en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, *6*(2), 48-51.

Guimaraes, F. (1927). Parasitotropism of essence of *Chenopodium* for Entozoarians. *Comp Rend Sean Soc Biol*, *96*, 1251-1253.

Harborne, A. J. (1998). Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. *Springer science & business media*.

Hewis, L. G., Daeli, G. B. C., Tanoto, K., Carlos, C., & Sahamastuti, A. A. T. (2020). A review of botany, phytochemical, and pharmacological effects of *Dysphania ambrosioides*. *Indonesian Journal of Life Sciences| ISSN: 2656-0682 (online)*, *2*(2), 70-82.

Hurrell, J. A. (2018). *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. In *Medicinal and Aromatic Plants of South America* (pp. 197-209). Springer, Dordrecht.

Jardim, C. M., Jham, G. N., Dhingra, O. D., & Freire, M. M. (2008). Composition and antifungal activity of the essential oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of chemical ecology*, *34*(9), 1213-1218.

Jardim, C. M., Jham, G. N., Dhingra, O. D., & Freire, M. M. (2010). Chemical composition and antifungal activity of the hexane extract of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *21*, 1814-1818.

Jiménez-Osornio, F. J., Kumamoto, J., & Wasser, C. (1996). Allelopathic activity of *Chenopodium ambrosioides* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, *24*(3), 195-205.

Katsuno, K., Burrows, J. N., Duncan, K., Van Huijsduijnen, R. H., Kaneko, T., Kita, K., ... & Slingsby, B. T. (2015). Hit and lead criteria in drug discovery for infectious diseases of the developing world. *Nature Reviews drug discovery*, *14*(11), 751-758.

Kay, M. A. (1996). Healing with plants in the American and Mexican West. *University of Arizona Press*.

Khan, M. N., & Jan, A. (2019). Evaluation of pharmacognostic features and antimicrobial activities of *Dysphania botrys* L. *Sarhad Journal of Agriculture*, *35*(4), 1234-1242.

Kletter, C., & Kriechbaum, M. (Eds.). (2001). *Tibetan medicinal plants*. CRC Press.

Khomarlou, N., Aberoomand-Azar, P., Lashgari, A. P., Tebyanian, H., Hakakian, A., Ranjbar, R., & Ayatollahi, S. A. (2018). Essential oil composition and in vitro antibacterial activity of *Chenopodium* album subsp. striatum. *Acta Biologica Hungarica*, *69*(2), 144-155.

Kim, Y., Park, J., & Chung, Y. (2019). Comparative analysis of chloroplast genome of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants understanding phylogenetic relationship in genus *Dysphania* R. Br. *Korean Journal of Plant Resources*, *32*(6), 644-668.

Kiuchi, F., Itano, Y., Uchiyama, N., Honda, G., Tsubouchi, A., Nakajima-Shimada, J., & Aoki, T. (2002). Monoterpene hydroperoxides with trypanocidal activity from *Chenopodium ambrosioides*. *Journal of Natural Products*, *65*(4), 509-512.

Kliks, M. M. (1985). Studies on the traditional herbal anthelmintic *Chenopodium ambrosioides* L.: ethnopharmacological evaluation and clinical field trials. *Social Science & Medicine*, *21*(8), 879-886.

Koba, K., Catherine, G., Raynaud, C., Chaumont, J. P., Sanda, K., & Laurence, N. (2009). Chemical composition and cytotoxic activity of *Chenopodium ambrosioides* L. essential oil from Togo. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, *44*(4), 435-440.

Kokanova-Nedialkova, Z., Nedialkov, P., & Nikolov, S. (2009). The genus *Chenopodium*: phytochemistry, ethnopharmacology and pharmacology. *Pharmacognosy Reviews*, 3(6), 280.

Kouam, M. K., Payne, V. K., Miégoué, E., Tendonkeng, F., Lemoufouet, J., Kana, J. R., ... & Mnm, B. (2015). Evaluation of in vivo acaricidal effect of soap containing essential oil of *Chenopodium ambrosioides* leaves on *Rhipicephalus lunulatus* in the Western Highland of Cameroon. *Journal of Pathogens*, *2015*.

Kumar, R., Mishra, A. K., Dubey, N. K., & Tripathi, Y. B. (2007). Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxigenic and antioxidant activity. *International journal of food microbiology*, *115*(2), 159-164.

Kunle, O. F., & Egharevba, H. O. (2009). Preliminary studies on *Vernonia ambigua*: phytochemical and antimicrobial screening of the whole plant. *Ethnobotanical Leaflets*, *2009*(10), 2.

Lall, N., & Meyer, J. J. M. (1999). In vitro inhibition of drug-resistant and drug-sensitive strains of Mycobacterium tuberculosis by ethnobotanically selected South African plants. *Journal of Ethnopharmacology*, *66*(3), 347-354.

Li, J., Yang, X., Yu, J., Li, Z., Deng, Q., Cao, Y., ... & Wang, Y. (2020). Chemical composition of the volatile oil of *Chenopodium ambrosioides* L. from Mianyang

in Sichuan Province of China and its sub-chronic toxicity in mice. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, *19*(9), 1985-1991.

Liu, J., Dong, M., Miao, S. L., Li, Z. Y., Song, M. H., & Wang, R. Q. (2006). Invasive alien plants in China: role of clonality and geographical origin. *Biological Invasions*, *8*(7), 1461-1470.

Lyons, A. B. (1886). A study of the use of mayer's reagent in the estimation of alkaloids. *American Journal of Pharmacy (1835-1907)*, *58*(12), 579.

Mata, R., Navarrete, A., Alvarez, L., Pereda-Miranda, R., Delgado, G., & de Vivarf, A. R. (1986). Flavonoids and terpenoids of *Chenopodium* graveolens. *Phytochemistry*, *26*(1), 191-193.

Massebo, F., Tadesse, M., Bekele, T., Balkew, M., & Gebre-Michael, T. (2009). Evaluation on larvicidal effects of essential oils of some local plants against *Anopheles arabiensis* Patton and *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae) in Ethiopia. *African Journal of Biotechnology*, *8*(17), 4183-4188.

McKenzie, R. A., Burren, B. G., Noble, J. W., & Thomas, M. B. (2007). Cyanide poisoning in cattle from *Dysphania glomulifera* (red crumbweed): using the internet for rapid plant identification and diagnostic advice. *Australian veterinary journal*, *85*(12), 505-509.

Meckes, M., Paz, D., Acosta, J., & Mata, R. (1998). The effects of chrysin and pinostrobin, two flavonoids isolated from *Teloxys graveolens* leaves, on isolated guinea-pig ileum. *Phytomedicine*, *5*(6), 459-463.

Misra, P., Pal, N. L., Guru, P. Y., Katiyar, J. C., & Tandon, J. S. (1991). Antimalarial activity of traditional plants against erythrocytic stages of *Plasmodium berghei*. *International Journal of Pharmacognosy*, *29*(1), 19-23.

Mito, T., & Uesugi, T. (2004). Invasive alien species in Japan: the status quo and the new regulation for prevention of their adverse effects. *Global Environmental Research*, *8*(2), 171-193.

Mokni, R. E., Youssef, F. S., Jmii, H., Khmiri, A., Bouazzi, S., Jlassi, I., ... & Hammami, S. (2019). The essential oil of Tunisian *Dysphania ambrosioides* and its

antimicrobial and antiviral properties. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *22*(1), 282-294.

Monzote, L., Nance, M. R., García, M., Scull, R., & Setzer, W. N. (2011). Comparative chemical, cytotoxicity and antileishmanial properties of essential oils from *Chenopodium ambrosioides*. *Natural Product Communications*, *6*(2), 1934578X1100600232.

Monzote, L., Pastor, J., Scull, R., & Gille, L. (2014). Antileishmanial activity of essential oil from *Chenopodium ambrosioides* and its main components against experimental cutaneous leishmaniasis in BALB/c mice. *Phytomedicine*, *21*(8-9), 1048-1052.

Morteza-Semnani, K. (2015). A Review on *Chenopodium botrys* L.: traditional uses, chemical composition and biological activities. *Pharmaceutical and Biomedical Research*, *1*(2), 1-9.

Mosyakin, S. L., & Clemants, S. E. (2008). Further transfers of glandular-pubescent species from *Chenopodium* subg. Ambrosia to *Dysphania* (Chenopodiaceae). *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 425-431.

Nascimento, F. R., Barroqueiro, E. S., Azevedo, A. P. S., Lopes, A. S., Ferreira, S. C., Silva, L. A., ... & Guerra, R. N. (2006). Macrophage activation induced by *Orbignya phalerata* Mart. *Journal of ethnopharmacology*, *103*(1), 53-58.

Ngan, T. T. K., Quan, P. M., & Toan, T. Q. (2020). Characterization of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants essential oil from Vietnam. Natural Volatiles and Essential Oils, 7(4), 34-40.

Owolabi, M. S., Lajide, L., Oladimeji, M. O., Setzer, W. N., Palazzo, M. C., Olowu, R. A., & Ogundajo, A. (2009). Volatile constituents and antibacterial screening of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. growing in Nigeria. *Natural Product Communications*, *4*(7), 1934578X0900400724.

Pace, L., & Tammaro, F. (2001). The main invasive alien plants in the protected areas in central Italy (Abruzzo). In *Global Change and Protected Areas* (pp. 495-504). Springer, Dordrecht.

Pare, P. W., Zajicek, J., Ferracini, V. L., & Melo, I. S. (1993). Antifungal terpenoids from *Chenopodium ambrosioides*. *Biochemical systematics and ecology*, *21*(6-7), 649-653.

Patrício, F. J., Costa, G. C., Pereira, P. V., Aragão-Filho, W. C., Sousa, S. M., Frazão, J. B., ... & Nascimento, F. R. (2008). Efficacy of the intralesional treatment with *Chenopodium ambrosioides* in the murine infection by *Leishmania amazonensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, *115*(2), 313-319.

Pereira, L. P. L. A., Ribeiro, E. C. G., Brito, M. C. A., Araruna, F. O. S., Araruna, F. B., Leite, J. A. C., ... & Coutinho, D. F. (2022). Molluscicidal and cercaricidal activities of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants: Implications for the control of schistosomiasis. *Acta Tropica*, *230*, 106393.

Pereira, W. S., da Silva, G. P., Vigliano, M. V., Leal, N. R., Pinto, F. A., Fernandes, D. C., ... & Coelho, M. G. (2018). Anti-arthritic properties of crude extract from *Chenopodium ambrosioides* L. leaves. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *70*(8), 1078-1091.

Pereira-de-Morais, L., de Alencar Silva, A., da Silva, R. E. R., Navarro, D. M. D. A. F., Coutinho, H. D. M., de Menezes, I. R. A., ... & Barbosa, R. (2020). Myorelaxant action of the *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants essential oil and its major constituent α-terpinene in isolated rat trachea. *Food Chemistry*, *325*, 126923.

Perth, U. (2011). *Dysphania* sect. Botryoides (Amaranthaceae s. lat.) in Asia. *Willdenowia*, *43*(1), 65-80.

Pinedo Panduro, M., Rengifo Salgado, E. L., & Cerrutti Sifuentes, T. (1997). Plantas medicinales de la Amazonía peruana, estudio de su uso y cultivo.

Pollack, Y., Segal, R., & Golenser, J. (1990). The effect of ascaridole on the in vitro development of *Plasmodium falciparum*. *Parasitology Research*, *76*(7), 570-572.

Retamar, J. A., de Iglesias, D. I. A., Di Giacomo, A., & Calvarano, M. (1975). Essential oils of Tucuman Province: essence of *Chenopodium pumilio* [Composition]. *Essenze e derivati agrumari*.

Reyes-Becerril, M., Angulo, C., Sanchez, V., Vázquez-Martínez, J., & López, M. G. (2019). Antioxidant, intestinal immune status and anti-inflammatory potential of *Chenopodium ambrosioides* L. in fish: In vitro and in vivo studies. *Fish & Shellfish Immunology*, *86*, 420-428.

Riffi, O., Fliou, J., Elhourri, M., El Idrissi, M., Amechrouq, A., Benaddi, F., & Chakir, S. (2020). Research and characterization of determinants controlling the accumulation of certain metals in the leaves of *Dysphania ambrosioides*. In *Annales: Series Historia Naturalis* (Vol. 30, No. 1, pp. 113-120). Scientific and Research Center of the Republic of Slovenia.

Rivero-Cruz, I., Alvarez-Ospina, H., & Mata, R. (2012). Chemical Composition of *Dysphania graveolens* and *Dysphania ambrosioides* Essential Oils. *Planta Medica*, *78*(05), P_97.

Rodrigues, J. G. M., Albuquerque, P. S. V., Nascimento, J. R., Campos, J. A. V., Godinho, A. S., Araújo, S. J., ... & Nascimento, F. R. (2021). The immunomodulatory activity of *Chenopodium ambrosioides* reduces the parasite burden and hepatic granulomatous inflammation in *Schistosoma mansoni*-infection. *Journal of Ethnopharmacology*, *264*, 113287.

Rohloff, J., Dragland, S., Mordal, R., & Iversen, T. H. (2005). Effect of harvest time and drying method on biomass production, essential oil yield, and quality of peppermint (Mentha× piperita L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, *53*(10), 4143-4148.

Rojas, A., Hernandez, L., Pereda-Miranda, R., & Mata, R. (1992). Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, *35*(3), 275-283.

Rossi-Bergamann, B., Costa, S. S., & Moraes, V. L. G. D. (1997). Brazilian medicinal plants: a rich source of immunomodulatory substances. *Ciênc. cult.(Säo Paulo)*, 395-401.

Ruberto, G., Baratta, M. T., Deans, S. G., & Dorman, H. D. (2000). Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. *Planta medica*, *66(08)*, 687-693.

Rudbäck, J., Bergström, M. A., Börje, A., Nilsson, U., & Karlberg, A. T. (2012). α-Terpinene, an antioxidant in tea tree oil, autoxidizes rapidly to skin allergens on air exposure. *Chemical Research in Toxicology*, *25*(3), 713-721.

Sá, R. D., Soares, L. A. L., & Randau, K. P. (2015). Óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L.: estado da arte. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, *36*(2).

Saei-Dehkordi, S. S., Tajik, H., Moradi, M., & Khalighi-Sigaroodi, F. (2010). Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss. from different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. *Food and chemical toxicology*, *48(6)*, 1562-1567.

Sagrero-Nieves, L., & Bartley, J. P. (1995). Volatile constituents from the leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of Essential Oil Research*, *7*(2), 221-223.

Santiago, J. A., das Graças Cardoso, M., Batista, L. R., de Castro, E. M., Teixeira, M. L., & Pires, M. F. (2016). Essential oil from *Chenopodium ambrosioides* L.: secretory structures, antibacterial and antioxidant activities. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, *38*(2), 139-147.

Shepherd, K. A., & Wilson, P. G. (2008). New combinations in the genus *Dysphania* (Chenopodiaceae). *Nuytsia*, *18*, 267-272.

Soares, M. H., Dias, H. J., Vieira, T. M., de Souza, M. G., Cruz, A. F., Badoco, F. R., ... & Crotti, A. E. (2017). Chemical composition, antibacterial, schistosomicidal, and cytotoxic activities of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (Chenopodiaceae). *Chemistry & biodiversity*, *14*(8), e1700149.

Soxhlet, F. (1879). Dinglers' Polyt. *J*, *232*, 461.

Sparkman DO, Penton Z, Kitson FG (17 May 2011). *Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide*. Academic Press.

Speisky, H., Rocco, C., Carrasco, C., Lissi, E. A., & López-Alarcón, C. (2006). Antioxidant screening of medicinal herbal teas. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, *20*(6), 462-467.

Stohlgren, T. J., Loope, L. L., & Makarick, L. J. (2013). Invasive plants in the United States national parks. In *Plant invasions in protected areas* (pp. 267-283). Springer, Dordrecht.

Sukhorukov, A. P. (2014). The carpology of the Chenopodiaceae with reference to the phylogeny, systematics and diagnostics of its representatives. *Grif & Co., Tula.[in Russian with English summary]*.

Sukhorukov, A. P., & Kushunina, M. A. (2014). Taxonomic revision of Chenopodiaceae in Nepal. *Phytotaxa*, *191*(1), 10-44.

Sukhorukov, A. P., Kushunina, M., El Mokni, R., Sáez Goñalons, L., El Aouni, M. H., & Daniel, T. F. (2018). Chorological and taxonomic notes on African plants, 3. *Botany Letters*, *165*(2), 228-240.

Sukhorukov, A. P., Zhang, M., & Kushunina, M. (2015). A new species of *Dysphania* (Chenopodioideae, Chenopodiaceae) from South-West Tibet and East Himalaya. *Phytotaxa*, *203*(2), 138-146.

Tanzeel, Z., M. Ovais, K.A. Talha, M. Qasim, M. Ayaz., S.Z. Khan. (2018). Extraction optimization, total phenolic, flavonoid contents, HPLC-DAD analysis and diverse pharmacological evaluations of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. *Natural Product Research, 33*, 136-142

Uotila, P. J. (1990). *Chenopodium*. In: Castroviejo S (ed) Flora Iberica, vol 2. Real Jardín Botánico- CSIC, Madrid, Madrid, pp 484–500

Uotila, P., Sukhorukov, A. P., Bobon, N., McDonald, J., Krinitsina, A. A., & Kadereit, G. (2021). Phylogeny, biogeography and systematics of Dysphanieae (Amaranthaceae). *Taxon*, *70*(3), 526-551.

Wautie, A. (1946). Prophylaxis and treatment of the chief parasitic diseases of the gastro-intestinal tract of the horse. *Parasitica*, *2*, 44-67.

Wilson, P. G. (1984). Chenopodiaceae. In 'Flora of Australia, vol. 4. Phytolaccaceae to Chenopodiaceae'.(Ed. AS George) pp. 81–317.

Yen, Y. P., Yeh, M. J., & Hsiao, W. F. (2006). Synthesis and nematocidal activity of ascaridole derivatives against *Meloidogyne incognita* and *Aphelenchoides besseyi*. *Journal of Pesticide Science*, 0612180004-0612180004.

Yossen, M. B., Lozada, M., Kuperman, M. N., González, S., Gastaldi, B., & Buteler, M. (2019). Essential oils as vespid wasp repellents: Implications for their use as a management strategy. *Journal of Applied Entomology*, *143*(6), 635-643.

Zargari, A. (1993). Medicinal plants, vol. 1-5.

Zago, P. M. W., dos Santos Castelo Branco, S. J., de Albuquerque Bogéa Fecury, L., Carvalho, L. T., Rocha, C. Q., Madeira, P. L. B., ... & Gonçalves, L. M. (2019). Anti-biofilm action of *Chenopodium ambrosioides* extract, cytotoxic potential and effects on acrylic denture surface. *Frontiers in Microbiology*, 1724.

Zamilpa, A., García-Alanís, C., López-Arellano, M. E., Hernández-Velázquez, V. M., Valladares-Cisneros, M. G., Salinas-Sánchez, D. O., & Mendoza-de Gives, P. (2019). In vitro nematicidal effect of *Chenopodium ambrosioides* and Castela tortuosa n-hexane extracts against *Haemonchus contortus* (Nematoda) and their anthelmintic effect in gerbils. *Journal of helminthology*, *93*(4), 434-439.

Zhu, W. X., Zhao, K., Chu, S. S., & Liu, Z. L. (2012). Evaluation of essential oil and its three main active ingredients of Chinese *Chenopodium ambrosioides* (Family: Chenopodiaceae) against *Blattella germanica*. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, *6*(2), 90.

Tài liệu tham khảo tiếng Việt

Bích, Đ. H., Chung, Đ. Q., Chương, B. X., Dong, N. T., Đàm, Đ. T., Hiển, P. V., ... & Toàn, T. (2006). Cây thuốc và động vật làm thuốc. *Khoa học và Kỹ thuật*.

Lợi, Đ. T. (2006). Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. chương 3. *Nhà xuất bản Y học*.

Phụng, N. K. (2007). Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. *Nhà xuất bản Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh*.

Tài liệu tham khảo Internet

http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2780223

PHỤ LỤC

Phụ lục 1: Cây Dầu giun phân bố tại Đà Lạt, Lâm Đồng

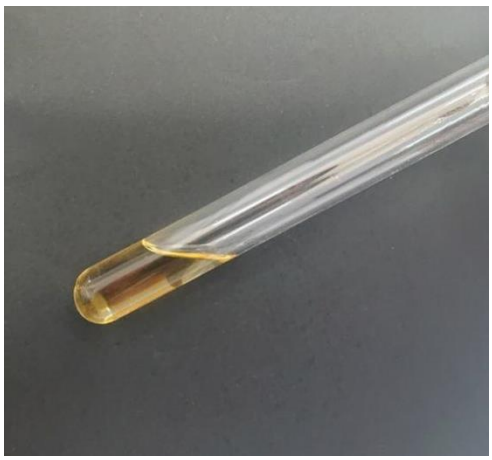




A . Hình ảnh toàn bộ cây Dầu giun B. Hình ảnh thể quả của cây Dầu giun

Phụ lục 2: Tinh dầu Dầu giun thu được từ phương pháp cất kéo hơi nước





Phụ lục 3: Quá trình xử lý mẫu



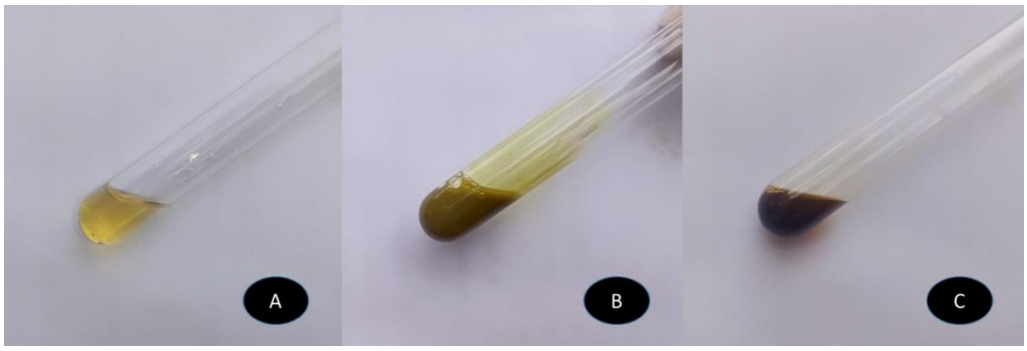
Phụ lục 4: Hình ảnh chiết Soxhlet



Phụ lục 5: Quá trình thu cao chiết trong cây Dầu giun



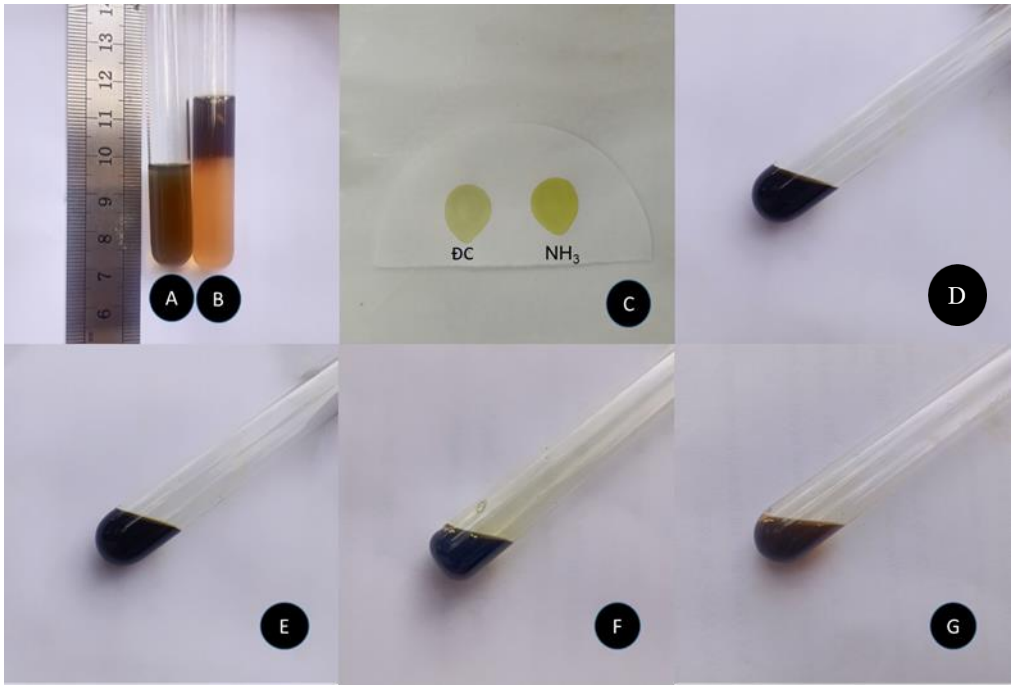
Phụ lục 6: Kết quả định tính một số hợp chất thứ cấp có trong cao chiết cây Dầu giun



Hình 1: Định tính nhóm alkaloid có trong dịch chiết *Dysphania ambroisioides*

A: Đối chứng B: Phản ứng với TT Mayer

C: Phản ứng với thuốc thử Wagner

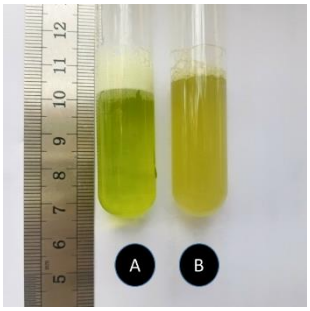


Hình 2: Định tính nhóm flavonoid có trong dịch chiết *Dysphania ambroisioides*

A: Đối chứng của phản ứng Cyanidin B: Phản ứng Cyanidin

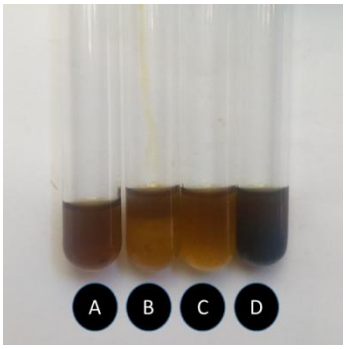
D: Đối chứng của phản ứng với NaOH E: Phản ứng kiềm với NaOH

F: Đối chứng của phản ứng với H_2SO_4 G: Phản ứng với H_2SO_4



Hình 3: Định tính nhóm saponin có trong dịch chiết *Dysphania ambroisioides*

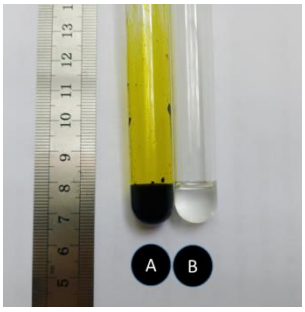
A: Phản ứng với NaOH B: Phản ứng với HCl



Hình 4: Định tính nhóm tanin có trong dịch chiết *Dysphania ambroisioides*

A: Đối chứng B: Phản ứng $Pb(CH_3COO)_2$ 10%

C: Phản ứng $C_{102}H_{151}O_{39}N_{31}$ 1% D: Phản ứng $FeCl_3$ 5%



Hình 5: Định tính nhóm terpenoid có trong dịch chiết *Dysphania ambroisioides*

A: Thử nghiệm Salkowski B: Đối chứng

Phụ lục 7: Kết quả phân tích tinh dầu cây Dầu giun

SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TP. HỒ CHÍ MINH
DEPARTMENT OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
TRUNG TÂM DỊCH VỤ PHÂN TÍCH THÍ NGHIỆM TP. HỒ CHÍ MINH
CENTER OF ANALYTICAL SERVICES AND EXPERIMENTATION HCMC

Mã số mẫu/ Sample code BN12112.28085808 MM12112.280858081	**KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM** *TEST REPORT*	BMKD 03/3 - LBH 00 Ngày/ Date: 08/01/2022

Tên khách hàng/ *Customer* : **ĐỖ NGUYỄN VIỆT HÙNG**
Địa chỉ/ *Address* : 01 PHÙ ĐỔNG THIÊN VƯƠNG, PHƯỜNG 8, THÀNH PHỐ ĐÀ LẠT, TỈNH LÂM ĐỒNG, VIỆT NAM
Tên mẫu/ *Name of sample* : **TINH DẦU BẠCH CHÂU (MẪU 1)**
Số lượng/ *Quantity* : 1
Mô tả mẫu/ *Sample description* : Dạng lỏng
Ngày nhận mẫu/ *Date of receiving* : 28/12/2021
Ngày hẹn trả KH/ *Date of issue* : 07/01/2022

STT/ *No*	Chỉ tiêu kiểm nghiệm/ *Parameters*	Đơn vị tính/ *Unit*	Kết quả/ *Result*	Phương pháp/ *Test method*
1	Định danh thành phần	%	Xem đính kèm.	CASE.NC.0135_GCMS (*)

(*) Phương pháp được VILAS công nhận/ *Method is accreditated by VILAS.*

Phụ trách phòng thử nghiệm/
Officer in charge of laboratory

Th.S. Nguyễn Thành Duy

TL.GIÁM ĐỐC/ PP.DIRECTOR
TRƯỞNG PHÒNG/ HEAD OF DIVISION

Đoàn Thị Bội Hanh

1/ KẾT QUẢ NÀY CHỈ CÓ GIÁ TRỊ TRÊN MẪU THỬ VÀ SỬ DỤNG ĐỂ PHỤC VỤ NGHIÊN CỨU. KẾT QUẢ NÀY KHÔNG CÓ GIÁ TRỊ ĐỂ ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG SẢN PHẨM, HÀNG HÓA/
THIS RESULT IS ONLY VALID ON TESTED SAMPLE, WHICH IS SERVED FOR RESEARCH. THIS RESULT IS NOT VALID TO EVALUATE THE QUALITY OF PRODUCTS AND GOODS.
2/ CASE LÀ PHÒNG THÍ NGHIỆM ĐƯỢC CÔNG NHẬN THEO ISO 17025:2017 (VILAS 092)/ *CASE IS AN ACCREDITED LABORATORY ACCORDING TO ISO 17025:2017* (VILAS 092).
3/ Thông tin về mẫu được ghi theo yêu cầu của khách hàng/ *The sample information is written as customer's request.*
4/ Không được sao chép toàn bộ hoặc một phần kết quả này dưới bất kỳ hình thức nào nếu không được sự đồng ý bằng văn bản của CASE/
No fully or partial of this result may be reproduced in any form without prior permission in writing from CASE.

SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TP. HỒ CHÍ MINH
DEPARTMENT OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
TRUNG TÂM DỊCH VỤ PHÂN TÍCH THÍ NGHIỆM TP. HỒ CHÍ MINH
CENTER OF ANALYTICAL SERVICES AND EXPERIMENTATION HCMC

KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM/ *TEST REPORT*
BN12112.28085808/ MM12112.280858082

STT/No.	THỜI GIAN LƯU/RT (PHÚT/MIN)	TÊN/NAME	KẾT QUẢ/ TEST RESULT (%)
1	3.29	α-Pinene	0.05
2	3.71	Sabinene	0.02
3	3.80	β-Pinene	0.03
4	3.84	β-Myrcene	0.11
5	4.13	β-Ocimene	0.06
6	4.24	α-Terpinene	74.70
7	4.32	o-Cymene	3.04
8	4.37	D-Limonene	0.97
9	4.71	δ-Terpinene	1.07
10	5.53	Cyclohexanone, 2-ethyl-	0.22
11	7.00	Ascaridole	17.93
12	7.18	6-Isopropyl-3-methyl-7-oxabicyclo[4.10]heptan-2-one	0.39
13	7.25	α-Citral	0.18
14	7.38	Trans-ascaridol glycol	0.40
15	7.76	Isoascaridole	0.83

❖ **ĐIỀU KIỆN PHÂN TÍCH**

- Thiết bị: Thermo Scientific ISQ 7000 Single Quad w/ Trace 1310 GC-MS
- Cột: Agilent DB-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm)
- Nhiệt độ MS tranferline: 220°C
- Nhiệt độ Ion source: 220°C
- Mass range: 29-650 amu
- Chương trình nhiệt: 70°C (1 phút) → 12°C/phút → 280°C (10 phút)
- Nhiệt độ inlet: 220°C
- Tốc độ dòng: 1,2 ml/phút
- Khí mang: Khí He
- Thể tích tiêm: 1µl
- Chuẩn bị mẫu: Hòa tan 20 µl nguyên mẫu trong methanol và định mức thành 1ml bằng methanol.

---KẾT THÚC/ *FINISH*--

1/ KẾT QUẢ NÀY CHỈ CÓ GIÁ TRỊ TRÊN MẪU THỬ VÀ SỬ DỤNG ĐỂ PHỤC VỤ NGHIÊN CỨU. KẾT QUẢ NÀY KHÔNG CÓ GIÁ TRỊ ĐỂ ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG SẢN PHẨM, HÀNG HÓA/
THIS RESULT IS ONLY VALID ON TESTED SAMPLE, WHICH IS SERVED FOR RESEARCH. THIS RESULT IS NOT VALID TO EVALUATE THE QUALITY OF PRODUCTS AND GOODS.
2/ CASE LÀ PHÒNG THÍ NGHIỆM ĐƯỢC CÔNG NHẬN THEO ISO 17025:2017 (VILAS 092)/ *CASE IS AN ACCREDITED LABORATORY ACCORDING TO ISO 17025:2017* (VILAS 092).
3/ Thông tin về mẫu được ghi theo yêu cầu của khách hàng/ *The sample information is written as customer's request.*
4/ Không được sao chép toàn bộ hoặc một phần kết quả này dưới bất kỳ hình thức nào nếu không được sự đồng ý bằng văn bản của CASE/
No fully or partial of this result may be reproduced in any form without prior permission in writing from CASE.

TRỤ SỞ CHÍNH
02 Nguyễn Văn Thủ, P. Đa Kao, Q.1, TP. HCM
18001105
(84.28) 3911 7216
casehcm@case.vn

CN CẦN THƠ
F2.67 - F2.68, Đường số 6, KDC 586, P. Phú Thứ, Cái Răng, Cần Thơ
(84.292) 3918216 - 217 - 218
(84.292) 3918219
support@case.com.vn, casecantho@case.vn

VP ĐẠI DIỆN MIỀN TRUNG
STH2718, Đường 8E, KĐT Lê Hồng Phong II, P. Phước Hải, Nha Trang, Khánh Hòa
(84.258) 246 5255
(84.258) 246 5355
vanphongmientrung@case.vn

www.case.vn