

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN HỒNG OANH

**ĐÁNH GIÁ SỰ BIẾN ĐỘNG HÀM LƯỢNG VÀ THÀNH PHẦN
HÓA HỌC TINH DẦU HƯƠNG NHU TÍA (*Ocimum tenuiflorum*
L.) TRONG CÁC ĐIỀU KIỆN MÔI TRƯỜNG KHÁC NHAU**

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỮU CƠ

Hà Nội - 2023

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN HỒNG OANH

**ĐÁNH GIÁ SỰ BIẾN ĐỘNG HÀM LƯỢNG VÀ THÀNH PHẦN
HÓA HỌC TINH DẦU HƯƠNG NHU TÍA (*Ocimum tenuiflorum*
L.) TRONG CÁC ĐIỀU KIỆN MÔI TRƯỜNG KHÁC NHAU**

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 20803076

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỮU CƠ

HƯỚNG DẪN KHOA HỌC: TS. Chu Thị Thu Hà

TS. Đinh Thị Thu Thủy

Hà Nội - 2023

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận văn này là công trình nghiên cứu của riêng tôi dưới sự hướng dẫn khoa học của TS. Chu Thị Thu Hà và TS. Đinh Thị Thu Thủy. Các số liệu, kết quả nghiên cứu được trình bày trong luận văn là trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Nếu có bất kỳ sự sao chép nào từ kết quả của nghiên cứu khác hoặc có sự sai sót về số liệu nghiên cứu, tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước nhà trường và hội đồng.

Hà Nội, 28 tháng 4 năm 2023

Tác giả



Nguyễn Hồng Oanh

LỜI CẢM ƠN

Trước hết, tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới các giảng viên trong khoa Hóa học, Học viện Khoa học và Công nghệ đã tận tình giảng dạy, truyền đạt cho tôi những kiến thức, kinh nghiệm quý báu trong suốt thời gian tôi tham gia chương trình học tập.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc của mình đến TS. Chu Thị Thu Hà và TS. Đinh Thị Thu Thủy, đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo, tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi trong suốt thời gian thực hiện đề tài luận văn.

Trong quá trình thực hiện đề tài nghiên cứu, tôi đã nhận được nhiều sự giúp đỡ chân tình của các giảng viên, các nhà khoa học cũng như đồng nghiệp, bạn bè và người thân. Tôi không chỉ tiếp thu thêm nhiều kiến thức chuyên môn bổ ích mà còn học tập được tinh thần làm việc cũng như thái độ nghiên cứu khoa học nghiêm túc, hiệu quả từ các thế hệ nhà khoa học đi trước, đây là những điều rất quý giá đối với tôi trong quá trình học tập và công tác sau này.

Sau cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành đến gia đình, bạn bè đã luôn động viên, khích lệ tinh thần, đóng góp ý kiến, giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn tốt nghiệp.

Luận văn được tiến hành trong khuôn khổ đề tài QG.22.60 “Nghiên cứu ứng dụng công nghệ chiếu sáng LED kết hợp chế độ phân bón nhằm tăng năng suất và chất lượng tinh dầu cây Hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum* L.) và Hương nhu tím (*Ocimum tenuiflorum* L.)” do Đại học Quốc gia Hà Nội tài trợ.

Tôi xin chân thành cảm ơn những sự giúp đỡ quý báu!

HỌC VIÊN CAO HỌC



Nguyễn Hồng Oanh

Danh mục các ký hiệu và chữ viết tắt

Kí hiệu	Tên viết tắt
B	Blue – Xanh dương
CRD	Completely Randomized Design - Bố trí kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên
CTL	Công thức chiếu sáng bổ sung bằng đèn LED
CTP	Công thức bón phân
DLI	Daily light integral - Tích phân ánh sáng hàng ngày (tổng bức xạ ánh sáng trong dải quang hợp (dải PAR từ 400nm đến 700nm) cung cấp cho 1 đơn vị diện tích trong 1 ngày đêm (24 giờ). Đơn vị của DLI là $mol \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$)
DW	Dry weight – Khối lượng khô
FID	Flame ionization detector - Đầu dò ion hóa ngọn lửa
FR	Farred – Đỏ xa
FW	Fresh weight – Khối lượng tươi
G	Green – Xanh lá cây
GC-MS	Gas chromatography- mass spectrometry - Sắc ký khí ghép khối phổ
KPH	Không phát hiện
LSD 5%	Least significant difference 5% - Sai biệt nhỏ nhất có ý nghĩa ở mức 5%
R	Red – Đỏ
UV	Ultraviolet – Cực tím, tử ngoại
v/w	Volumn/weight – tỉ lệ thể tích/khối lượng

Danh mục các bảng

Bảng 2.1. Bố trí thí nghiệm ngẫu nhiên cho các các lần lặp lại của 10 công thức chiếu sáng đa phổ bổ sung LED	38
Bảng 2.2. Bố trí thí nghiệm ngẫu nhiên cho các các lần lặp lại của 4 công thức bón phân	38
Bảng 2.3. Các công thức chiếu sáng đa phổ bổ sung LED được thiết kế và sử dụng đối với Hương nhu tím	40
Bảng 2.4. Các công thức bón phân được sử dụng đối với Hương nhu tím	42
Bảng 3.1. Sinh khối khô, hàm lượng tinh dầu, và năng suất tinh dầu của Hương nhu tím trồng trong các công thức chiếu sáng bổ sung LED khác nhau	57
Bảng 3.2. Tỷ lệ tăng các chỉ tiêu sinh khối khô, hàm lượng tinh dầu và năng suất tinh dầu của Hương nhu tím ở công thức có giá trị cao nhất (CTL7 và CTL8) so với các công thức còn lại	58
Bảng 3.3. Tỷ lệ tăng các chỉ tiêu sinh khối khô, hàm lượng tinh dầu và năng suất tinh dầu của Hương nhu tím ở các công thức khác so với ở công thức đối chứng CTL10	60
Bảng 3.4. Một số chỉ số hóa lý của tinh dầu Hương nhu tím trồng trong các công thức chiếu sáng bổ sung LED khác nhau	66
Bảng 3.5. Thành phần hóa học của tinh dầu Hương nhu tím trong các công thức chiếu sáng bổ sung LED khác nhau	67
Bảng 3.6. Sinh khối khô, hàm lượng tinh dầu và năng suất tinh dầu của Hương nhu tím trồng trong các công thức bón phân khác nhau	80
Bảng 3.7. Tỷ lệ tăng các chỉ tiêu sinh khối khô, hàm lượng tinh dầu và năng suất tinh dầu của Hương nhu tím ở công thức có giá trị cao nhất (CTP2) so với các công thức còn lại	81

Bảng 3.8. Tỷ lệ tăng các chỉ tiêu sinh khối khô, hàm lượng tinh dầu và năng suất tinh dầu của Hương nhu tím ở các công thức khác so với ở công thức đối chứng CTP1.....	82
Bảng 3.9. Một số chỉ số hóa lý của tinh dầu Hương nhu tím trồng trong các công thức bón phân khác nhau.....	86
Bảng 3.10. Thành phần hóa học của tinh dầu Hương nhu tím trồng trong các công thức bón phân khác nhau.....	87

Danh mục các hình vẽ, đồ thị

Hình 1.1. Hình ảnh cây Hương nhu tía	3
Hình 1.2. Nguyên lý hoạt động của máy GC-MS	21
Hình 2.1. Cây Hương nhu tía trồng thí nghiệm năm 2022.....	37
Hình 2.2. Hệ thống chưng cất tinh dầu bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước	46
Hình 2.3. Bình tỷ trọng thủy tinh pycnometer (trái) và cân phân tích (phải)	51
Hình 2.4. Máy khúc xạ kế Abbe (trái) và máy đo quay cực kế (phân cực kế) (phải)	52
Hình 2.5. Máy sắc kí khí khối phổ GC-MS	53
Hình 3.1. Hương nhu tía thí nghiệm tại Khu nghiên cứu và triển khai công nghệ Cổ Nhuế năm 2022.....	57
Hình 3.2. Cấu trúc hóa học của chavibetol (<i>m</i> -eugenol).....	70
Hình 3.3. Tỷ lệ biến đổi hợp chất chính chavibetol (<i>m</i> -eugenol) của tinh dầu Hương nhu tía ở công thức CTL6 so với ở các công thức còn lại và giữa các công thức có chiếu sáng bổ sung LED với công thức đối chứng CTL10 (%)	74
Hình 3.4. Cấu trúc hóa học của (<i>E</i>)- β -Caryophyllene.....	75
Hình 3.5. Tỷ lệ biến đổi hợp chất chính Chavibetol (<i>m</i> -Eugenol) của tinh dầu Hương nhu tía ở công thức CTP2 so với ở các công thức còn lại và giữa các công thức có bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh với công thức đối chứng CTP1 (%).....	90

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	1
LỜI CẢM ƠN	2
Danh mục các ký hiệu và chữ viết tắt	3
Danh mục các bảng	4
Danh mục các hình vẽ, đồ thị.....	6
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. GIỚI THIỆU VỀ CÂY HƯƠNG NHU TÍA	3
1.2. TÁC DỤNG CỦA CÂY HƯƠNG NHU TÍA	4
1.3. THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA CÂY HƯƠNG NHU TÍA.....	5
1.4. TỔNG QUAN VỀ TINH DẦU	14
1.4.1. Định nghĩa.....	14
1.4.2. Phân loại tinh dầu.....	15
1.4.2.1. Phân loại tinh dầu theo nguồn gốc.....	15
1.4.2.2. Phân loại tinh dầu theo thành phần hoá học	16
1.4.3. Thành phần hóa học của tinh dầu	16
1.4.3.1. Terpenoid	17
1.4.3.2. Dẫn xuất phenol	18
1.4.4. Tính chất của tinh dầu	19
1.4.4.1. Tính chất vật lý	19
1.4.4.2. Tính chất hóa học.....	19
1.5. TỔNG QUAN SẮC KÍ KHÍ-KHỐI PHỔ	20
1.5.1. Định nghĩa.....	20
1.5.2. Nguyên tắc hoạt động của hệ thống GC/MS	21
1.5.3. Phân tích kết quả sắc kí khí ghép khối phổ.....	21
1.5.4. Ứng dụng của sắc kí khí ghép khối phổ.....	22
1.6. TỔNG QUAN TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VỀ HƯƠNG NHU TÍA.....	22

1.6.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới về Hương nhu tía.....	22
1.6.1.1. Các nghiên cứu trên thế giới về công nghệ chiếu sáng LED đối với Hương nhu tía và một số loài khác	23
1.6.1.2. Các nghiên cứu trên thế giới về phân bón đối với Hương nhu tía và một số loài khác	30
1.6.2. Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam	32
1.6.2.1. Các nghiên cứu ở Việt Nam về công nghệ chiếu sáng LED đối với Hương nhu tía và một số loài khác	32
1.6.2.2. Các nghiên cứu ở Việt Nam về phân bón đối với Hương nhu tía và một số loài khác.....	34
1.7. SỰ CẦN THIẾT PHẢI TIẾN HÀNH NGHIÊN CỨU	34
1.8. MỤC TIÊU CỦA ĐỀ TÀI	36
CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	37
2.1. ĐỐI TƯỢNG, ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU	37
2.2. PHƯƠNG PHÁP BỐ TRÍ THÍ NGHIỆM VÀ CHĂM SÓC HƯƠNG NHU TÍA.....	38
2.3. PHƯƠNG PHÁP THIẾT KẾ VÀ SỬ DỤNG HỆ ĐÈN LED ĐA PHỔ	40
2.4. PHƯƠNG PHÁP BÓN PHÂN, CHỨNG LOẠI VÀ LIỀU LƯỢNG PHÂN BÓN.....	41
2.5. THU MẪU VÀ XỬ LÝ MẪU.....	44
2.6. HÓA CHẤT, THIẾT BỊ VÀ DỤNG CỤ PHÂN TÍCH	44
2.6.1. Hóa chất	44
2.6.2. Dụng cụ	44
2.6.3. Thiết bị	45
2.7. CÁC PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	45
2.7.1. Phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước	45
2.7.1.1. Nguyên lý hoạt động.....	45
2.7.1.2. Những yếu tố ảnh hưởng trong chưng cất lôi cuốn hơi nước	47
2.7.1.3. Ưu nhược điểm của phương pháp.....	49

2.7.2. Phương pháp xác định các chỉ số vật lý của tinh dầu	50
2.7.2.1. Xác định tỷ trọng tương đối ở 20°C.....	50
2.7.2.2. Xác định chỉ số chiết quang.....	51
2.7.2.3. Xác định độ quay cực	52
2.7.3. Xác định thành phần hóa học của tinh dầu bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS).....	52
2.7.4. Công thức tính các giá trị sinh khối khô và năng suất tinh dầu....	54
2.7.5. Phương pháp xử lý số liệu.....	54
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	56
3.1. SỰ BIẾN ĐỔI VỀ HÀM LƯỢNG, THÀNH PHẦN HÓA HỌC TINH DẦU HƯƠNG NHU TÍA DƯỚI CÁC ĐIỀU KIỆN CHIẾU SÁNG BỔ SUNG LED.....	56
3.1.1. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng bổ sung LED đến hàm lượng và năng suất tinh dầu Hương nhu tía	56
3.1.2. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng bổ sung LED đến các chỉ số hóa lý tinh dầu Hương nhu tía	66
3.1.3. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng bổ sung LED đến thành phần hóa học tinh dầu Hương nhu tía	66
3.2. SỰ BIẾN ĐỔI VỀ HÀM LƯỢNG, THÀNH PHẦN HÓA HỌC TINH DẦU HƯƠNG NHU TÍA DƯỚI CÁC ĐIỀU KIỆN BÓN PHÂN.....	79
3.2.1. Ảnh hưởng của các điều kiện bón phân đến hàm lượng và năng suất tinh dầu Hương nhu tía	79
3.2.2. Ảnh hưởng của các điều kiện bón phân đến các chỉ số hóa lý tinh dầu Hương nhu tía.....	86
3.2.3. Ảnh hưởng của các điều kiện bón phân đến thành phần hóa học tinh dầu Hương nhu tía.....	86
CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	94
4.1. KẾT LUẬN.....	94
4.2. KIẾN NGHỊ	95
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	96

PHỤ LỤC I. SẮC KÝ ĐỒ PHÂN TÍCH TINH DẦU HƯƠNG NHU TÍA TRONG THÍ NGHIỆM CHIẾU SÁNG BỔ SUNG LED.....	I
PHỤ LỤC II. SẮC KÝ ĐỒ PHÂN TÍCH TINH DẦU HƯƠNG NHU TÍA TRONG THÍ NGHIỆM BÓN PHÂN.....	VI

MỞ ĐẦU

Từ xa xưa, tinh dầu và các loại cây dược liệu chứa tinh dầu đều là các sản vật của thiên nhiên đã được con người biết đến và sử dụng rộng rãi trong đời sống hàng ngày. Theo thời gian, tinh dầu được dùng nhiều để làm thuốc, dược phẩm, mỹ phẩm hoặc dùng trong công nghiệp với phạm vi quy mô lớn. Ngày nay, con người có xu hướng sử dụng nhiều những sản phẩm, dược phẩm, mỹ phẩm có nguồn gốc thiên nhiên nhằm đảm bảo cho sức khỏe khi sử dụng. Các hoạt động mua bán, sản xuất thương mại tinh dầu đang diễn ra rất mạnh mẽ tại nhiều nước trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Có nước đã phát triển ngành công nghiệp tinh dầu và xuất khẩu thành công ra nhiều quốc gia khác, điển hình như Ấn Độ với sản lượng tinh dầu hàng năm đứng đầu trên thế giới. Việt Nam là một quốc gia có khí hậu nhiệt đới gió mùa với hệ thực vật vô cùng phong phú, điều kiện thổ nhưỡng khí hậu phù hợp cho phát triển nhiều loài cây dược liệu chứa tinh dầu. Việc mở rộng quy mô, diện tích canh tác các loài cây dược liệu nói chung và cây chứa tinh dầu nói riêng ngày càng được chú trọng ở trong nước và quốc tế. Do vậy những loại tinh dầu quý, có ứng dụng cao trong sản xuất cũng như trong đời sống đã được các nhà khoa học quan tâm và nghiên cứu nhằm nâng cao giá trị sử dụng cho con người.

Trên thực tế, loài cây Hương nhu tía - một loại thảo dược có nguồn gốc từ Ấn Độ - là một trong những nguyên liệu để sản xuất tinh dầu ngày càng trở nên phổ biến đã và đang được thế giới và Việt Nam quan tâm nghiên cứu, bởi giá trị rất lớn của tinh dầu loài cây này trong lĩnh vực y dược, kinh tế. Rất nhiều lợi ích chữa bệnh trong đời sống thực tế của Hương nhu tía đã được công bố như tác dụng hạ đường huyết, chống tăng lipid máu, chống oxy hóa, chống viêm loét, ngăn ngừa hoại tử cơ tim, chống căng thẳng thần kinh, bảo vệ chống lại tổn thương gan, hạ huyết áp, giảm đau, tẩy giun, chống mất trí nhớ, chống đục thủy tinh thể, chống độc, điều hòa miễn dịch, chữa lành vết thương, v.v. (Aggarwal & Mali, 2015) [1].

Với tình hình triển vọng của ngành sản xuất tinh dầu, điều kiện thuận lợi cho canh tác trồng trọt của nước ta và giá trị sử dụng rất đa dạng của cây Hương nhu tía, đề tài này được thực hiện với mục đích đánh giá sự biến động

về hàm lượng và thành phần hóa học tinh dầu Hương nhu tía trồng dưới các điều kiện chiếu sáng đèn LED đa phổ bổ sung và phân bón khác nhau để nhằm nâng cao chất lượng cũng như năng suất tinh dầu của loài cây dược liệu quý này. Các kết quả nghiên cứu được mong đợi có ý nghĩa khoa học góp phần vào hệ thống cơ sở dữ liệu, tài liệu tham khảo cho việc học tập và nghiên cứu trong lĩnh vực chuyên ngành hóa học, sinh học và các lĩnh vực khác liên quan. Đồng thời, kết quả nghiên cứu sẽ mang lại ý nghĩa thực tiễn giúp các nhà sản xuất ứng dụng điều kiện phù hợp hơn nhằm tăng năng suất và chất lượng tinh dầu cho cây Hương nhu tía.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. GIỚI THIỆU VỀ CÂY HƯƠNG NHU TÍA

Cây Hương nhu tía có tên khoa học: *Ocimum tenuiflorum* L., các tên đồng nghĩa gồm: *Ocimum anisodorum* F.Muell., *Ocimum sanctum* L., *Ocimum tomentosum* Lam., *Lumnitzera tenuiflora* (L.) Spreng., v.v., và các tên gọi tiếng Việt gồm: É đỏ, é rừng, é tía. Đây là một loài cây thuộc chi Hương nhu (*Ocimum* L.), họ Bạc hà/Hoa môi (*Lamiaceae* Lindl.).



Hình 1.1. Hình ảnh cây Hương nhu tía

Cây Hương nhu tía có nguồn gốc từ Ấn Độ đã được nghiên cứu sử dụng từ nhiều năm tại Việt Nam và nhiều quốc gia trên thế giới. Hương nhu tía là dạng cây bụi nhỏ, cao 50-150 cm, sống hàng năm hoặc sống lâu năm. Thân gần như vuông, phân non màu đỏ tía, có lông mịn, mềm. Lá cây mọc đối, có cuống dài, hình mác hoặc thuôn, dài 3-6 cm, rộng 1-3 cm, mép khía răng, hai mặt màu tím nhạt, có lông mềm (Vũ Xuân Phương, 2000) [2]. Đây là một loài khỏe mạnh và không có sâu bệnh nghiêm trọng nào được báo cáo ngoại trừ thỉnh thoảng xuất hiện bệnh thối rễ trong điều kiện ngập úng (Malav et al., 2015) [3].

Phân bố: Hương nhu tía vốn là cây cỏ nhiệt đới châu Á, được trồng ở Ấn Độ, Trung Quốc, Lào, Campuchia, Philippin, Indonesia, và các nước châu Phi, châu Úc. Ở Việt Nam, Hương nhu tía có phân bố tự nhiên ở các tỉnh Bắc Giang, Hòa Bình, Hà Nội, Hải Phòng, Ninh Bình, Thừa Thiên-Huế, Đà Nẵng, Khánh Hòa, Ninh Thuận, TP. Hồ Chí Minh, An Giang, và được trồng ở một số tỉnh, thành phố, cũng như trong vườn các gia đình hoặc các cơ sở chữa bệnh theo y học cổ truyền ở nhiều địa phương. Cây ưa khí hậu nhiệt đới nóng và ẩm; nhiệt độ trung bình năm khoảng 25 – 30°C, lượng mưa 1800- 2600 mm/năm, thích hợp với đất phù sa, đất thịt (Vũ Xuân Phương, 2000; Đỗ Huy Bích và cs., 2004) [2,4].

1.2. TÁC DỤNG CỦA CÂY HƯƠNG NHU TÍA

Hương nhu tía có vị cay, mùi thơm, tính ấm. Theo y học cổ truyền của Việt Nam, tác dụng của Hương nhu tía gồm: giải cảm; chữa cảm nắng, nhức đầu; trị đau bụng, đi ngoài; chữa tức ngực; chữa nôn mửa; trị chuột rút; trị phù thũng ú nước; chữa hôi miệng. Bộ phận trên mặt đất của Hương nhu tía được dùng làm thuốc để hạ sốt, chữa cảm nắng, say nắng, nhức đầu, đau bụng, đi ngoài, nôn mửa, phù thũng. Lá Hương nhu tía được dùng giã đắp trị thấp khớp. Ngoài ra, Hương nhu tía còn chứa nhiều hợp chất thuộc nhóm flavonoid rất có giá trị trong y dược (Đỗ Huy Bích và cs., 2004; Võ Văn Chi, 2012) [4,5].

Hương nhu tía được trồng và dùng làm thuốc tại nhiều quốc gia vì thành phần hóa học của nó chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học (Gupta et al., 2000; Dharsono et al., 2022) [6,7]. Các nghiên cứu từ nhiều quốc gia trên thế giới cho thấy cây Hương nhu tía có rất nhiều tác dụng đã được ghi nhận tổng hợp lại gồm: chống viêm, bảo vệ gan, chống khối u, kháng viêm, tăng cường miễn dịch, chống phóng xạ, diệt côn trùng, ấu trùng, giảm căng thẳng, kháng oxy hóa, hạ sốt, giảm đau, chống lở loét, làm lành vết thương, tăng cường trí nhớ, ngừa đục nhân mắt (Aggarwal & Mali, 2015) [1]. Hương nhu tía còn được dùng để điều trị tiêu chảy, sốt mãn tính, sốt rét, bệnh ngoài da, viêm phế quản, kiết lỵ, côn trùng cắn, viêm khớp, hen phế quản (Dharsono et al., 2022) [7].

Đặc biệt, tinh dầu của Hương nhu tía đã được sử dụng phổ biến trong chế biến thực phẩm như phụ gia hương vị, trong dược phẩm và mỹ phẩm và là đối tượng của nhiều nghiên cứu (Mahapatra et al., 2011; Chiu et al., 2012; Stefan et al., 2013; Keziah et al., 2015; Irondi et al., 2016; Verma, 2016; Gupta et al., 2022) [6, 8-13].

1.3. THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA CÂY HƯƠNG NHU TÍA

Tinh dầu là thành phần đáng chú ý và có giá trị nhất trong thành phần hóa học các hợp chất của Hương nhu tía. Theo Dược điển Việt Nam V (Bộ Y tế, 2017) [14], dược liệu Hương nhu tía phải chứa ít 0,5% tinh dầu (tính theo dược liệu khô tuyệt đối). Tinh dầu Hương nhu tía được phân chia thành các nhóm hóa học như sau:

- Nhóm methyl eugenol: có 72,7% methyl eugenol, 17,3% caryophyllen (ở thứ lá tía); 70,9% methyl eugenol, 20,4% caryophyllene (ở thứ lá xanh).

- Nhóm eugenol và methyleugenol: có 82,8% eugenol, 2,5% methyleugenol, 6,7% caryophyllen (ở thứ lá xanh).

Tại Việt Nam, Hương nhu tía chứa 30-40% eugenol trong thành phần hóa học của tinh dầu, ngoài ra có chứa α -pinene, sabinene, β -pinene, myrcene, 1-8 cineole, linalool, camphor, borneol, linalyl acetate, terpinen-4-ol, α -terpineol, geraniol, citral, eugenol, methyleugenol và β -caryophyllene, α -humulene, methyl iso eugenol, β -elemene, δ -elemene, sequyterpene. Eugenol (trên 70%), methyl eugenol (trên 12%) và β -caryophyllene được ghi nhận là các thành phần chính trong tinh dầu Hương nhu tía Việt Nam, giống như tinh dầu Hương nhu tía Ấn Độ. Acid ursolic cũng là một thành phần quan trọng và có hàm lượng cao trong Hương nhu tía (Đỗ Tất Lợi, 1995; Đỗ Huy Bích và cs., 2004) [4, 15].

Tác dụng dược lý của tinh dầu Hương nhu phụ thuộc chính vào thành phần hóa học của tinh dầu. Ở Việt Nam, một nghiên cứu về Hương nhu trắng (một loài cùng chi với Hương nhu tía) cho thấy thành phần hóa học của tinh dầu này chứa 23 hợp chất, chiếm 99,99% tổng số tinh dầu. Eugenol trong tinh dầu có hàm lượng đạt tới 80,38% và là thành phần chính của tinh dầu. Hoạt

tính chống oxy hóa của tinh dầu này rất mạnh, đạt giá trị EC50 bằng $17,85 \pm 1,05 \mu\text{g/ml}$ (EC50 của chất tham chiếu chỉ đạt $9,97 \pm 0,25 \mu\text{g/ml}$). Hương nhu là thảo dược giàu nguồn eugenol tự nhiên – nguồn chống oxy hóa tự nhiên nên có tiềm năng ứng dụng phát triển nguồn tinh dầu vào trong các sản phẩm chăm sóc sức khỏe con người và bảo vệ nông sản. (Nguyễn Phương Hạnh và cs., 2022) [16].

Trong một nghiên cứu của Võ Thị Thanh Tuyền và Nguyễn Thị Mỹ Biên (2019) cũng chỉ ra rằng tinh dầu Hương nhu tía được trồng ở tỉnh Bình Định có hàm lượng 0,61% và thành phần hóa học của tinh dầu được xác định chứa một số thành phần chính gồm eugenol có hàm lượng lớn nhất (71,21%), β -caryophyllen (12,96%) và cis- β -elemen (9,67%). Tinh dầu thu được này có khả năng ức chế mạnh sự phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus fermentum* và *Staphylococcus aureus* và có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Bacillus subtilis* và vi khuẩn *Pseudomonasa eruginosa*. (Võ Thị Thanh Tuyền, Nguyễn Thị Mỹ Biên, 2019) [17].

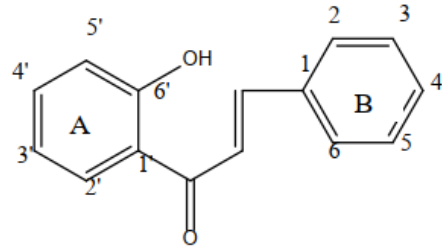
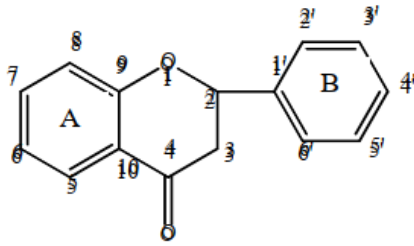
Hương nhu tía gồm một số những hợp chất đã được các nhà nghiên cứu tìm ra và thống kê sơ bộ thành các nhóm chính như sau:

Các hợp chất phenol

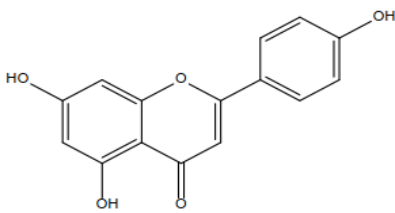
Trong các hợp chất này có vòng benzene mang một hoặc nhiều nhóm chức hydroxyl – OH. Trong tự nhiên, các hợp chất phenol gồm: flavoid, coumarin, xanthan, quynon, các phenol đa vòng, các polyphenol (lignin, tannin,...)

Flavoinoid

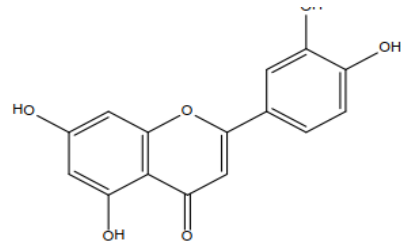
Flavovoid là những chất có màu phenol thực vật, nó tạo nên màu của nhiều hoa, quả, rau,... Thông thường các flavonoid có màu vàng, một số có màu xanh, tím, đỏ không màu. Flavonoid thường mang một hoặc nhiều nhóm –OH ở vị trí số 5 và 7 trên nhân A và ở vị trí số 3,4,5 trên nhân B.



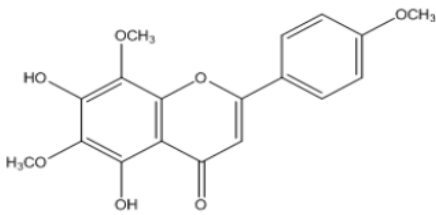
Một số các flavonoid đã phân lập được từ cây Hương nhu tía (Bhatnagar et al., 1993; Skaltsa et al., 1999; Mondello et al., 2002) [18-20]:



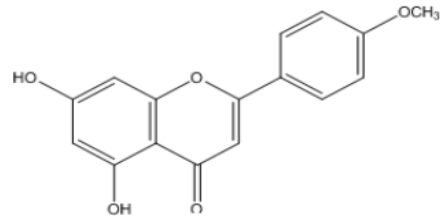
Apigenin



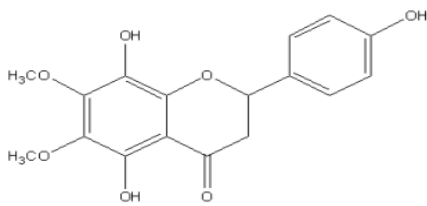
Luteolin



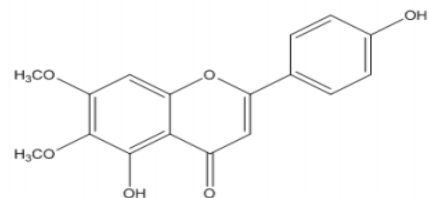
Navadensin



Acacetin

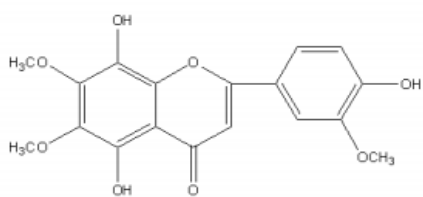


Cirsimaritin

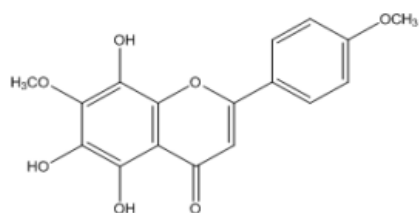


Isothymusin

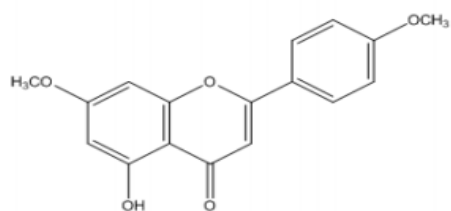
Navadensin



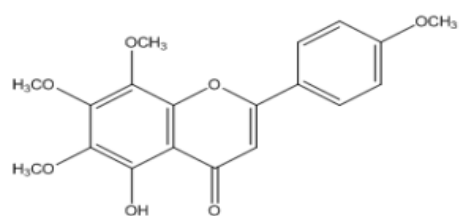
Acacetin



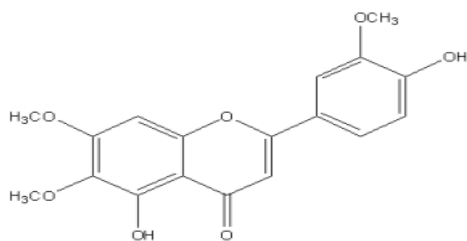
Isothymonin



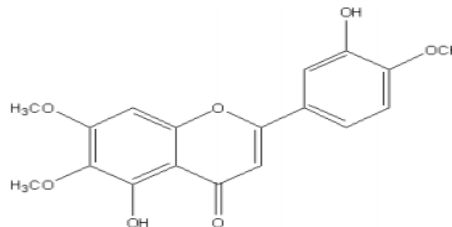
Gardenin B



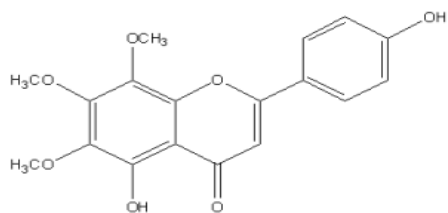
Genkwanin



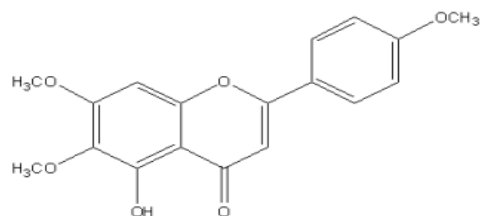
Ladanein



Cirsilineol

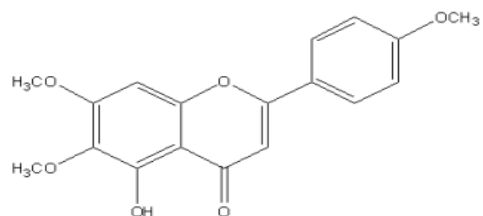


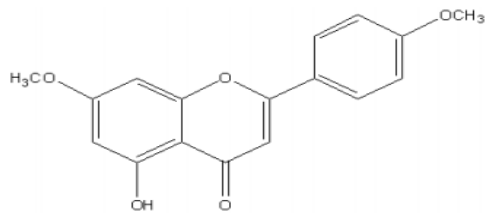
Euparotin



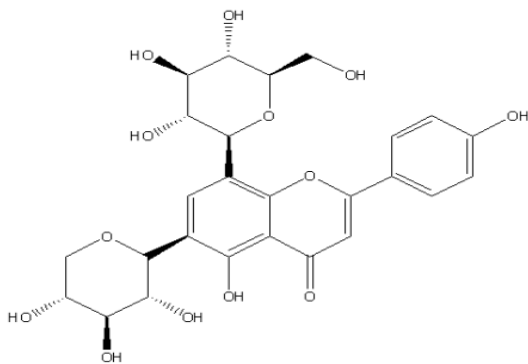
Xanthomicrol

Salvigenin

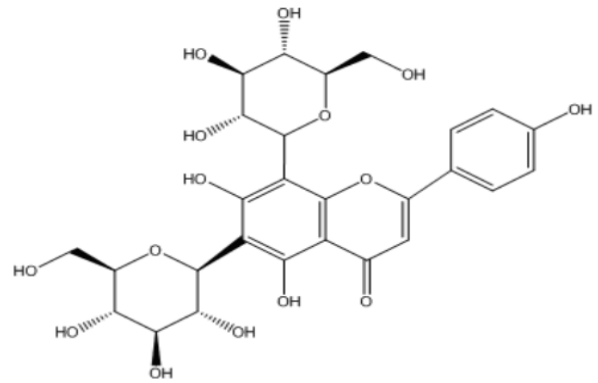




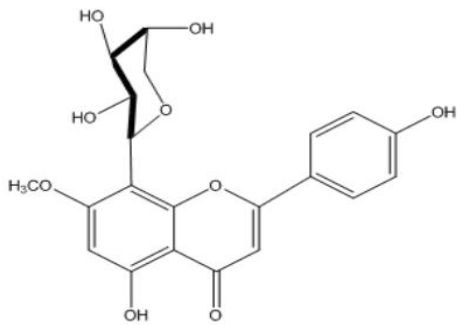
Apigenin-7,4'-dimethyl

Dạng glucoside:

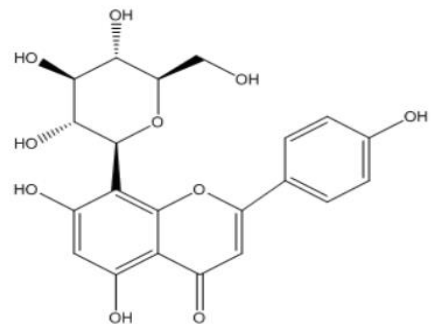
Vicenin-1



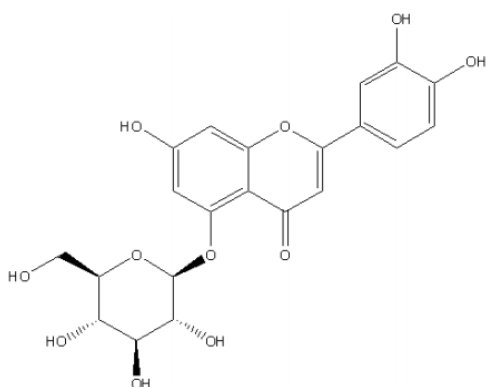
Vicenin-2



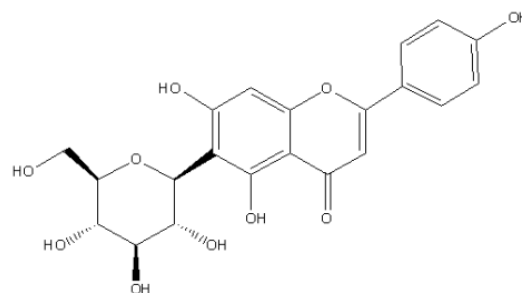
Molludistin



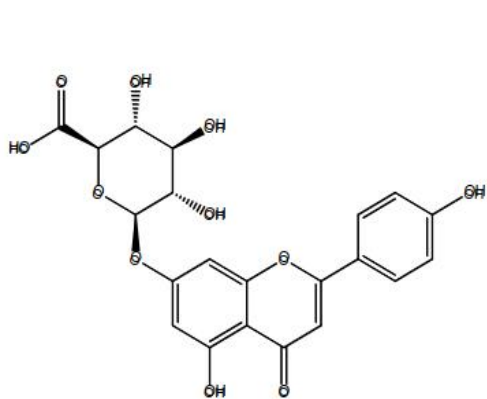
Vitexin



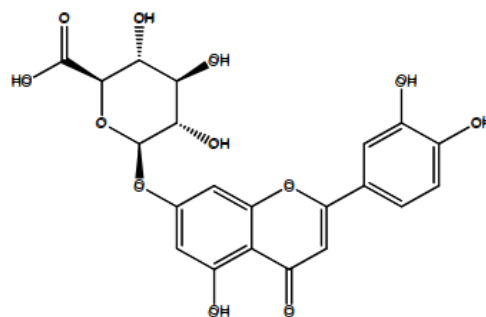
Galuteolin



Isovitexin



Apigenin-7-glucuronide



Luteolin-7-glucuronide

Loại C₆C₃ (Phenylpropanoid):

Loại này được chia thành nhiều nhóm, bao gồm: nhóm trực tiếp, nhóm đóng vòng, nhóm được este hóa, nhóm các hợp chất ligan.

Nhóm trực tiếp: nhiều hợp chất trong nhóm này như eugenol, anethole, safrole,... là thành phần chủ yếu của các loại tinh dầu.

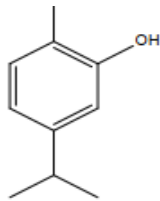
Nhóm được este hóa: gồm các hợp chất thường gặp trong giới thực vật, ví dụ: acid chlorogenic có tính chất gần giống như tannin, acid rosmarinic được xem là “tannin của họ Bạc hà ”...

Nhóm đóng vòng: dẫn xuất o-hydroxycinnamate đóng vòng tạo thành coumarin, coumarin cộng thêm một đơn vị isoprene thành furocoumarin, cũng có thể cộng thêm hai đơn vị isoprene,... Các mạch nhánh isopren rất hoạt

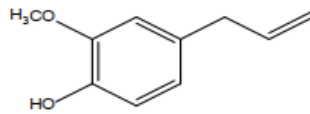
tính, có thể được epoxy hóa, hydroxyl hóa, đóng vòng... tạo ra những hợp chất khác nhau.

Nhóm các hợp chất ligan: tạo thành khi hai đơn vị phenylpropanoid nối lại với nhau qua một nối carbon-carbon.

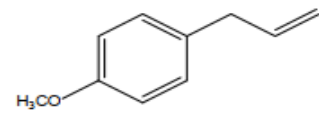
Một số hợp chất phenol C_6C_3 đã được phân lập từ Hương nhu tía (Harishkumar et al., 2019) [21]:



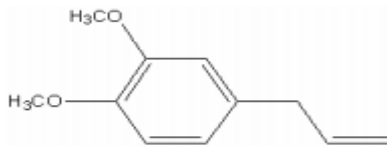
Carvacrol



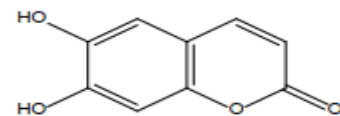
Eugenol



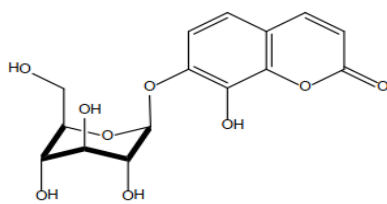
Estragol



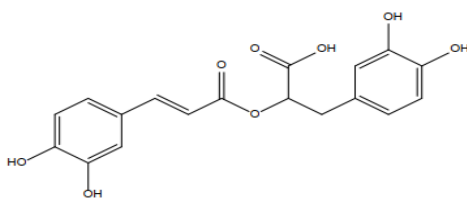
Methyl eugenol



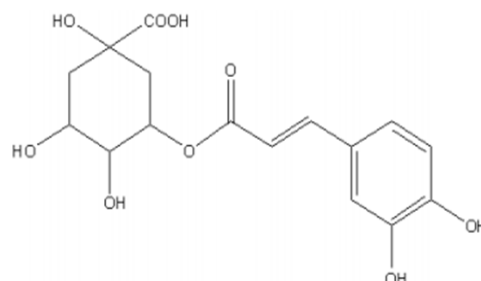
Aeculectin



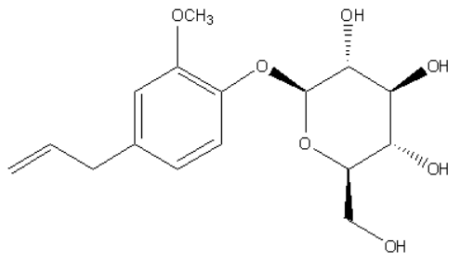
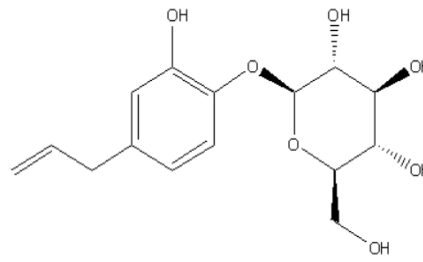
Aeculin



Rosmarinic acid



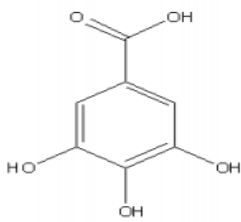
Chlorogenic acid

Eugenyl- β -D-glucoside4-allyl-1-O- β -D glucopyranosyl-2-hydroxybenzene

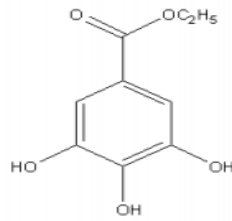
Loại C_6C_1 và C_6C_2 :

Các hợp chất này do sự β -oxy hóa đã cắt ngắn mạch nhánh của cinamate, cùng các dẫn xuất của nó có mang hydroxyl $-OH$ hoặc methoxy $-OCH_3$:

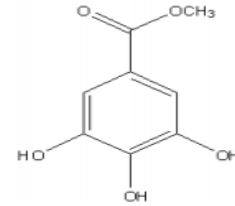
Một số hợp chất loại C_6C_1 và C_6C_2 đã phân lập được gồm:



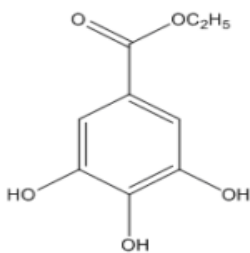
Gallic acid



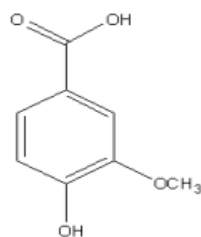
Protocatechuic



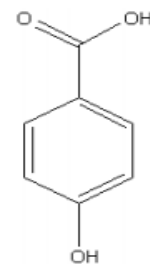
Gallic acid methyl ester



Gallic acid ethyl ester



Vanillic acid

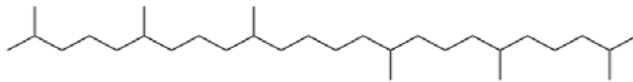


4-hydroxybenzoic acid

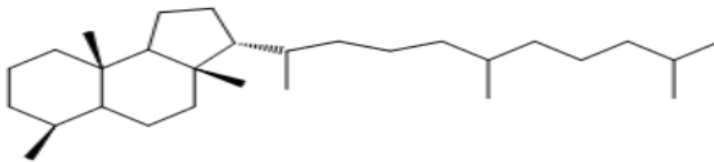
Triterpene:

Công thức tổng quát của triterpen là $C_{30}H_{48}$, có farnesyl pyrophosphate là chất liệu cơ bản để sinh tổng hợp. Triterpene ở dạng tự do hoặc glycoside, phân bố rộng rãi trong giới động vật và thực vật.

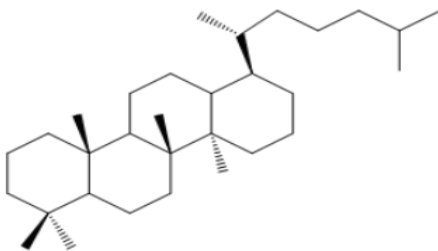
Cấu trúc của triterpene có thể là mạch hở, 3 vòng, 4 vòng hoặc 5 vòng. Một số dạng khung sườn của triterpene như sau:



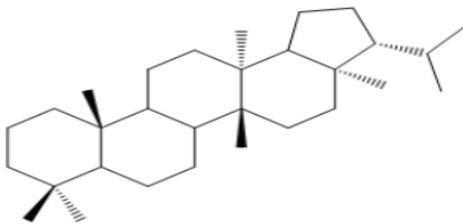
Loại mạch hở



Loại 3 vòng

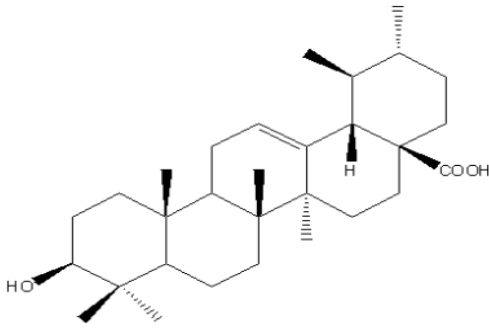


Loại 4 vòng

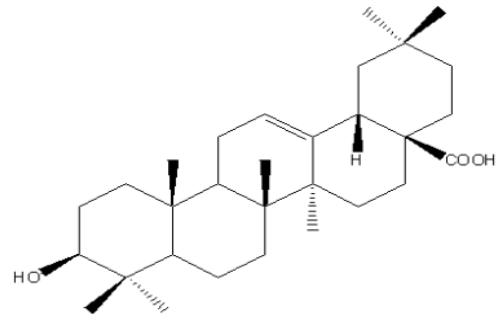


Loại 5 vòng

Các triterpen đã phân lập được:

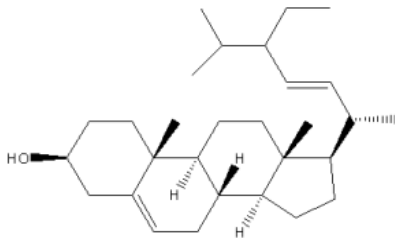


Ursolic acid

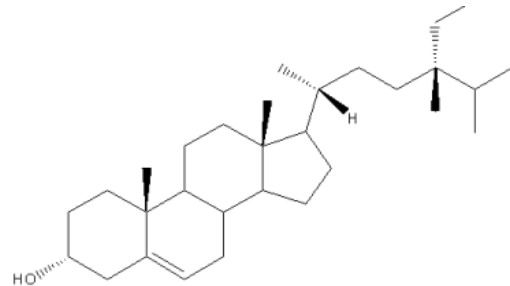


Oleanolic acid

Các Sterol:



Stigmasterol

 β -sitosterol

1.4. TỔNG QUAN VỀ TINH DẦU

1.4.1. Định nghĩa

Tinh dầu (còn được gọi là chất thơm, hương thơm,...) là hỗn hợp của nhiều chất thơm dễ bay hơi, có mùi riêng biệt có nguồn gốc từ thực vật, được thu được bằng nhiều phương pháp nhau, ví dụ như:

- Phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước
- Phương pháp chiết vi sóng
- Phương pháp chiết dung môi
- Phương pháp ép lạnh

Tinh dầu được ví như nhựa sống của cây, vì chúng mang lại nhiều năng lượng tinh khiết của thảo dược từ thiên nhiên, mạnh hơn 50-100 lần các loại thảo dược sấy khô (thảo mộc). Hầu hết các loại tinh dầu đều ở dạng lỏng trong suốt.

Sự phân bố tinh dầu: cây chứa tinh dầu được phân bố rộng khắp trong nhiều họ thực vật. Trong cây trồng, tinh dầu khu trú ở nhiều bộ phận khác nhau, như: lá, hoa, quả, rễ, thân gỗ. Thành phần tinh dầu trong mỗi bộ phận có thể giống hoặc khác nhau, ví dụ: thành phần tinh dầu lá sả khác với tinh dầu củ sả; hay thành phần tinh dầu lá quế khác với tinh dầu vỏ quế. Tinh dầu có thể ở nội bào hoặc ngoại bào tế bào thực vật, do đó cách xử lý mẫu thực vật để lấy được tinh dầu ra cũng rất phong phú.

Vai trò của tinh dầu:

- Trong cơ thể thực vật, tinh dầu tồn tại ở dạng tự do và liên kết với các hợp chất khác nhau trong các mô của tế bào thực vật, nó tham gia vào quá trình chuyển hóa, các quá trình trao đổi chất, quá trình sinh hóa, sinh lý.

- Tinh dầu còn giúp bảo vệ cây bằng bản chất chống nấm và kháng khuẩn của chúng. Vì thế, tinh dầu ngăn cản sự phát triển của các loài vi sinh vật có hại cho cây. Cây có chứa tinh dầu sẽ ít bị bệnh do sinh vật gây nên.

- Vai trò quan trọng của tinh dầu là duy trì sự tồn tại và phát triển của thực vật, đặc biệt là tinh dầu của các loài hoa, dựa vào đó mà các loại côn trùng như ong, bướm thụ phấn từ hoa này sang hoa khác giúp quá trình thụ phấn của cây thêm kết quả.

1.4.2. Phân loại tinh dầu

Tinh dầu được chia làm hai cách phân loại: (i) theo nguồn gốc và (ii) theo thành phần hóa học chính của tinh dầu.

1.4.2.1. Phân loại tinh dầu theo nguồn gốc

Cách này dựa vào nguyên liệu sản xuất tinh dầu để gọi tên. Tên tinh dầu và mùi của tinh dầu xuất phát từ nguyên liệu đó. Đây là cách gọi tên đặc trưng cho nguyên liệu sản xuất tinh dầu và mùi hương của nó, tạo sự thuận lợi

để nhớ cho người sử dụng. Ví dụ tinh dầu của hương nhu tía là tinh dầu hương nhu tía, mùi của tinh dầu hương nhu tía là mùi của cành lá hoa hương nhu tía.

1.4.2.2. Phân loại tinh dầu theo thành phần hoá học

Thành phần hoá học chính của tinh dầu là thành phần hợp chất có hàm lượng lớn nhất hay tổng các thành phần có hàm lượng lớn và căn cứ thành phần chính người ta gọi tên cho loại tinh dầu đó.

Ví dụ: Tinh dầu màng tang (*Litsea cubeba*) là tinh dầu terpenoid vì thành phần chính của nó là citral chiếm trên 60% hàm lượng tinh dầu, đây là một dẫn xuất oxy của monoterpene. Tinh dầu thảo quả (*Amomum aromaticum*) có hàm lượng các dẫn xuất isoprene (C_5) chiếm tới 80% đến 85%, trong đó 1,8-cineole chiếm hàm lượng đặc biệt lớn, nên tinh dầu thảo quả được gọi là tinh dầu terpenoid. Tinh dầu xá xị (*Cinnamomum porrectum*) có thành phần chính là safrol - một dẫn xuất của phenylpropan – được gọi là tinh dầu phenylpropanoid (C_6-C_3). Tinh dầu hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum*) có thành phần chính là eugenol, chiếm từ 60% đến 80% hàm lượng tinh dầu, đây là một dẫn xuất của phenylpropan, nên nó cũng được gọi là tinh dầu phenylpropanoid.

Cách phân loại này rất thuận tiện cho nhận thức và định hướng sử dụng tinh dầu của người tiêu dùng vì nó không chỉ cho biết thành phần chính của tinh dầu mà còn cho biết thành phần chính thuộc loại hợp chất gì.

Tuy vậy, cách phân loại tinh dầu theo thành phần hoá học như trên chỉ là tương đối vì có nhiều loại tinh dầu không những có thành phần terpenoid mà còn có cả thành phần phenylpropanoid nữa. Ví dụ tinh dầu bạch đậu khấu (*Mefristica fragram*), ngoài thành phần terpenoid như pinerycamphene còn có cả dẫn xuất của phenylpropan là hợp chất myristicene nữa.

1.4.3. Thành phần hóa học của tinh dầu

Tinh dầu là hỗn hợp của nhiều hợp chất khác nhau: các hydrocacbon béo hoặc thơm, các dẫn xuất của chúng như ancol, andehyde, ketone, ester,

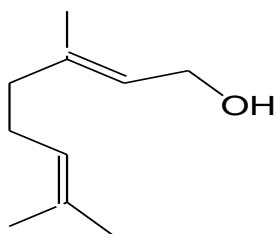
ete,... nhưng chung quy lại chúng có hai nhóm chính là terpenoid và các dẫn xuất của phenol. Nhóm terpenoid chủ yếu là monoterpene, và sesquyterpene.

1.4.3.1. Terpenoid

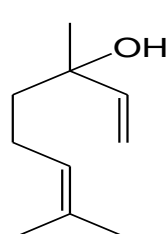
- Monoterpene (C₁₀)

Dựa vào đặc điểm cấu trúc, có thể chia thành 3 nhóm chính là: loại không vòng (như geraniol), có 1 vòng (như limonene) và 2 vòng (như pinene). Trong mỗi nhóm có thể là loại không có nhóm chức hoặc có thể có nhóm chức (ancol, andehyde, ketone,...). Ví dụ:

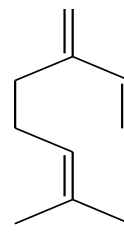
- Hợp chất không vòng:



Geraniol

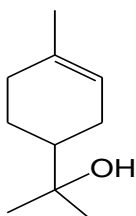
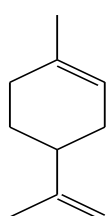


linalol

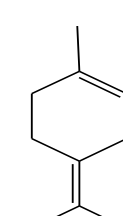


myrcen

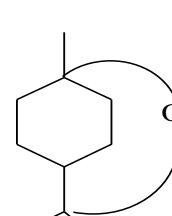
- Hợp chất 1 vòng:

 α -terpineol

limonen

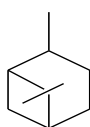
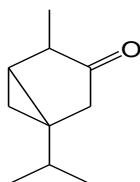


terpinolen

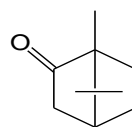


1,8-xineol

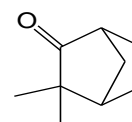
- Hợp chất hai vòng :

 α -pinen

thujon



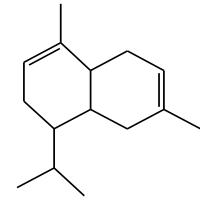
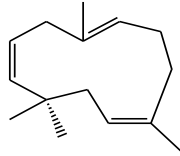
camphor



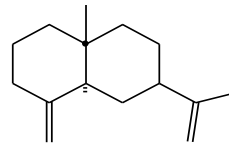
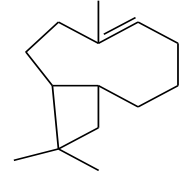
fenchon

- Sesquyterpene (C₁₅)

Sesquyterpene luôn có mặt cùng với monoterpene trong tinh dầu. Sesquyterpene trong tinh dầu có nhiệt độ sôi trên 200°C, do đó khi chưng cất thì chúng có hàm lượng không cao. Một số sesquyterpene có trong tinh dầu là:

 α -Cadinen

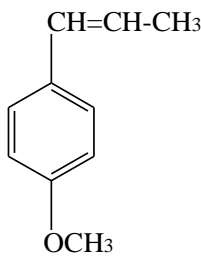
Humulen

 β -Selinen

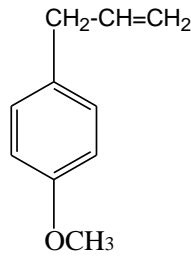
Caryophyllen

1.4.3.2. Dẫn xuất phenol

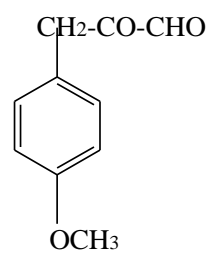
Nhóm dẫn xuất phenol là thành phần chủ yếu trong tinh dầu của một số cây trong họ Hoa tán/Cà rốt (Apiaceae/Umbeliferae), ví dụ các cây: tiêu, hồi, mùi, thì là, v.v. Đa số hợp chất của nhóm này là loại phenyl propanoid có cấu trúc C₆-C₃ có một hay nhiều nhóm OH tự do hay bị thay thế H của OH. Vì vậy về bản chất chúng là hợp chất phenol. Một số hợp chất thường gặp:



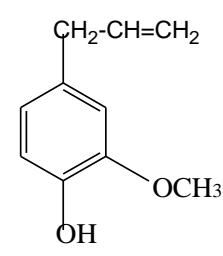
Anetol



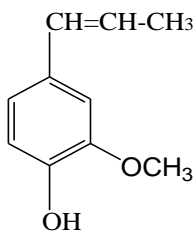
Estragol



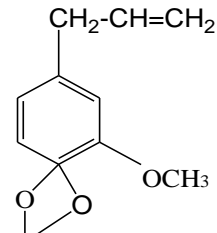
Anison



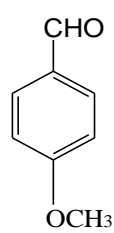
Eugenol



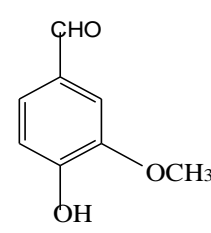
Isoeugenol



Mirislixin



Anisandehit



Vanilin

Đặc điểm của các phenol này khác với phần lớn các hợp chất phenol khác là chúng có thể tan được trong dầu béo.

Thành phần của tinh dầu tuy khác nhau nhưng thường có nguồn gốc sinh tổng hợp từ một số tiền chất nhất định. Vì vậy mỗi loại tinh dầu đều có một thành phần chủ yếu và một số thành phần phụ có cấu trúc tương tự.

1.4.4. Tính chất của tinh dầu

1.4.4.1. Tính chất vật lý

Ở nhiệt độ thường, tinh dầu chủ yếu ở thể lỏng, trừ một số trường hợp ở thể rắn, như: menthol, borneol, camphor, vanilin, heliotropin. Chúng bay hơi được ở nhiệt độ thường, rất ít tan trong nước, tan trong cồn hay các dung môi hữu cơ, dầu mỡ.

Tinh dầu ban đầu thường không màu hoặc màu vàng nhạt. Tuy nhiên, trong quá trình bảo quản tinh dầu có thể bị sẫm màu do hiện tượng oxy hoá .

Đa số tinh dầu có mùi thơm dễ chịu, một số có mùi hắc, khó chịu, ví dụ như: tinh dầu giun.

Tinh dầu có vị cay, hắc, một số tinh dầu có vị ngọt ví dụ như: tinh dầu quế, tinh dầu hồi, tinh dầu sả java.

Tinh dầu hầu hết có tỷ trọng nhỏ hơn 1. Một số tinh dầu có tỷ trọng lớn hơn 1, do tỷ lệ các thành phần chính có tỷ trọng lớn hơn 1 (aldehyde, cinnamic, eugenol, safrole, asarone, methyl salicylate, ...) quyết định tỷ trọng tinh dầu. Ví dụ như: tinh dầu quế, tinh dầu đinh hương, tinh dầu hương nhu. Nếu hàm lượng các thành phần chính có tỷ trọng lớn hơn 1 nói trên thấp, những tinh dầu này có thể trở thành nhẹ hơn nước.

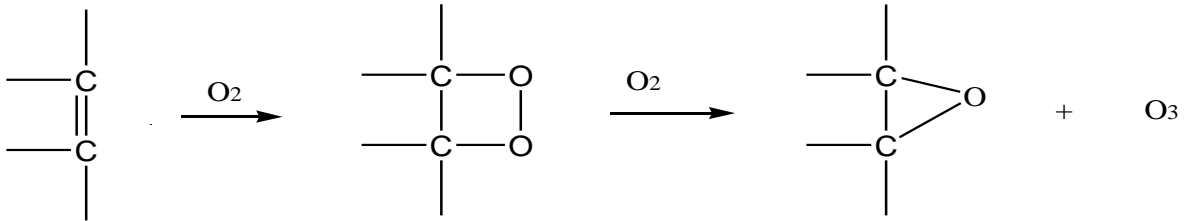
Độ sôi của tinh dầu phụ thuộc vào thành phần cấu tạo của các hợp chất trong tinh dầu, có thể dùng phương pháp cất phân đoạn để tách riêng từng thành phần trong tinh dầu. Tinh dầu có điểm sôi cao: ở 150-180°C là thành phần monoterpene, 250-280°C là thành phần của sesquyterpene và trên 300°C nếu là thành phần của politerpene. Một số tinh dầu có thể phát quang dưới ánh sáng tử ngoại (eugenol, andehyde, cinnamic).

1.4.4.2. Tính chất hóa học

Các yếu tố môi trường như nhiệt độ, ánh sáng, không khí, nước,... làm ảnh hưởng đến chất lượng, thành phần hóa học của tinh dầu, do tinh dầu dễ bị oxy hóa và một phần trong đó biến thành các chất keo nhựa.

Tinh dầu khi bị oxy hóa sẽ bị thay đổi: làm ancol chuyển thành andehyde, acid; làm andehyde chuyển thành acid,...

Một số hợp chất có dây nối đôi dễ bị oxy hóa:



1.5. TỔNG QUAN SẮC KÍ KHÍ-KHỐI PHỔ

1.5.1. Định nghĩa

Sắc ký khí ghép phối khối (GC/MS) là một phương pháp kết hợp được kế thừa những tính chất của cả hai kỹ thuật gốc là: Sắc ký khí (GC) và Khối phổ (MS).

Sắc ký khí (Gas Chromatography - GC): Là một kỹ thuật thực hiện trong phòng thí nghiệm dùng để tách và phân tích hợp chất có thể bay hơi mà không bị phân hủy dưới điều kiện nhiệt độ cao. Phương pháp này có thể giúp kiểm tra độ tinh khiết của một chất, tách các thành phần trong mẫu, xác định hợp chất và điều chế chất tinh khiết từ hỗn hợp.

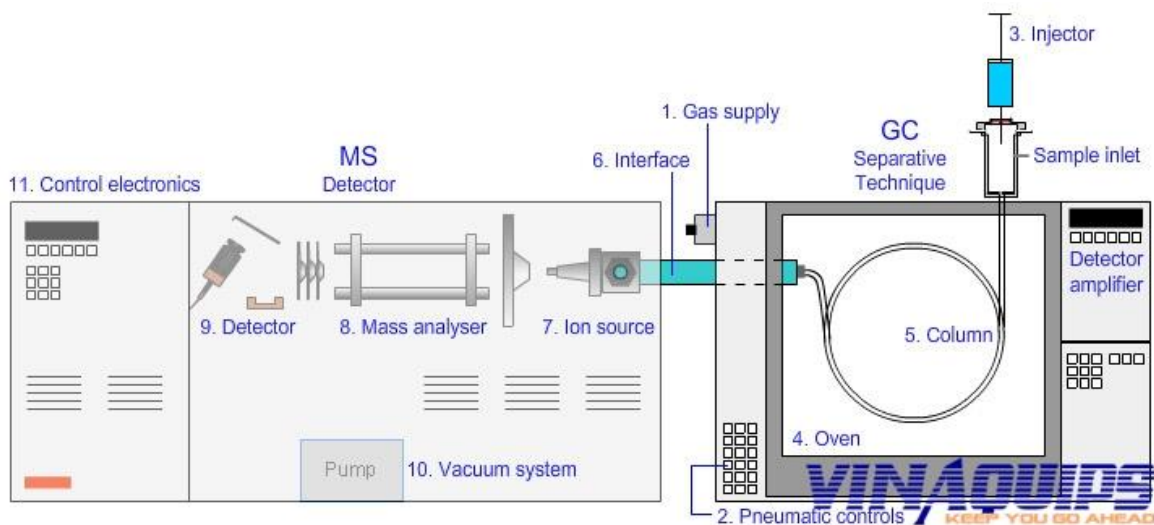
Khối phổ (Mass spectrometry - MS): Là kỹ thuật dùng để đo khối lượng dựa trên điện tích của ion, kỹ thuật này có rất nhiều ứng dụng trong nghiên cứu và phân tích. Ví dụ như: Dùng để xác định cấu trúc, thuộc tính của hợp chất, định lượng hợp chất trong mẫu, v.v.

Sử dụng phương pháp GC/MS có thể giúp đánh giá, phân tích định tính và định lượng và có cách giải quyết đối với các hóa chất một cách nhanh chóng và dễ dàng.

1.5.2. Nguyên tắc hoạt động của hệ thống GC/MS

Hệ thống GC/MS được cấu tạo bởi các bộ phận như sau: nguồn cung cấp khí, lò cột, bộ phận tiêm mẫu, cột phân tích, đầu dò phối khổ, bộ phận ghi nhận tín hiệu và bộ phận in dữ liệu phân tích.

Nguyên tắc hoạt động: Các cấu tử của mẫu nghiên cứu sẽ tách ra khỏi cột mao quản và đi vào trong đầu dò khối phổ. Quá trình ion hóa với các kiểu ion hóa khác nhau như: ion hóa tại áp suất khí quyển (Atmospheric Pressure Ionization – API), ion hóa tia điện (Electrospray Ionization – ESI), hay ion hóa bằng photon tại áp suất khí quyển (Atmospheric Pressure Photoionization – APPI) sẽ diễn ra tùy thuộc vào bản chất của loại chất cần phân tích. Sau đó, đầu dò ghi nhận các ion này. Với các mẫu tinh dầu thì hệ thống khối phổ được chuẩn hóa trên toàn thế giới, dùng kiểu ion hóa điện tử (Electronic Ionization – EI), với thế bắn mảnh tiêu chuẩn 70eV. Việc chuẩn hóa này giúp xây dựng thư viện của các chất bay hơi trong tinh dầu dễ dàng và thống nhất trên toàn thế giới.



Hình 1.2. Nguyên lý hoạt động của máy GC-MS

1.5.3. Phân tích kết quả sắc kí khí ghép khối phổ

Máy GC/MS có thể phân tích các hỗn hợp các chất phức tạp, nhiều thành phần như: không khí, nước,... và cho ra kết quả chi tiết về thành phần, hàm lượng của mỗi chất có trong hỗn hợp.

Mỗi hợp chất được phân tích bằng máy GC/MS sẽ cho ra một mô hình đồ thị có trục X là số lượng, trục Y là cường độ. Sau đó, phối khổ thu được sẽ được các nhà nghiên cứu mang đi so sánh với một thư viện phối khổ đã được xác định trước. Trên cơ sở đó có thể giúp xác định được loại hợp chất này là gì nếu so sánh thu được kết quả tương đương với hợp chất đã có trong thư viện, hoặc là cơ sở để xác định một loại hợp chất mới nếu so sánh không thu được kết quả tương đương với bất kỳ một hợp chất nào có trong thư viện.

1.5.4. Ứng dụng của sắc khí ghép khối phổ

Máy GC/MS được sử dụng để nghiên cứu trong rất nhiều lĩnh vực như: (i) Thực phẩm – có thể phân tích mẫu gạo, cà phê, sữa, tôm, cá, thịt, v.v.; (ii) Môi trường – mẫu đất, bùn, nước sông, trầm tích, v.v.; (iii) Y tế - mẫu bệnh phẩm, thuốc, v.v.; (iv) Nhiều lĩnh vực khác.

Mục đích phân tích bằng phương pháp GC/MS để giải quyết vấn đề sau:

- Phân tích, định danh, định lượng các thành phần có trong mẫu. Cụ thể như: Phân tích hàm lượng các chất độc hại có trong thực phẩm, ví dụ: 3-MCPD, 1,3-DCP, Phytosterol, v.v.; phân tích dư lượng các hợp chất PCBs, PAHs, VOCs, POPs trong các nền mẫu thực phẩm, nước, v.v. theo yêu cầu của các cơ quan quản lý có thẩm quyền.

- Bên cạnh đó, còn rất nhiều ứng dụng khác của GC/MS.

1.6. TỔNG QUAN TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VỀ HƯƠNG NHU TÍA

1.6.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới về Hương nhu tía

Tại nhiều nước trên thế giới, các nhà khoa học cũng rất quan tâm nghiên cứu về Hương nhu tía. Loài cây này đã được khẳng định là có hiệu quả trong việc điều trị một số bệnh, như tại Ấn Độ, nước hãm của lá Hương nhu tía được dùng chữa đau dạ dày ở trẻ em, sốt rét. Dịch ép từ lá Hương nhu tía chữa nôn mửa và giun móc, chữa rắn độc cắn. Tại Myanmar, nước sắc của lá Hương nhu tía chữa đầy hơi và tiêu chảy ở trẻ em; hạt Hương nhu tía chữa bệnh thận. Ở Malaysia, dịch hãm từ lá Hương nhu tía chữa viêm đường hô hấp và rối loạn kinh nguyệt. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng năng suất, chất

lượng, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của tinh dầu Hương nhu tía phụ thuộc vào thời gian trồng, mùa vụ, khu vực canh tác, điều kiện canh tác (như mật độ trồng, loại và liều lượng phân bón, nước tưới, cường độ ánh sáng, độ muối, độ khô hạn, các thứ/giống cây Hương nhu tía khác nhau,... (Sims et al., 2014; Fuller et al., 2018; Rastogi et al., 2019) [22-24].

1.6.1.1. Các nghiên cứu trên thế giới về công nghệ chiếu sáng LED đối với Hương nhu tía và một số loài khác

Công nghệ chiếu sáng LED đã và đang tạo ra một cơ hội lớn trong chiếu sáng nông nghiệp nói chung và chiếu sáng các loại cây thảo mộc, cây tinh dầu nói riêng nhờ vào thế mạnh như tuổi thọ cao, kích thước nhỏ, hiệu suất cao, bức xạ nhiệt ít, đặc biệt là tính linh hoạt trong ứng dụng chiếu sáng nông nghiệp của đèn LED (Hasan et al., 2017) [25]. Các LED có màu sắc khác nhau có tác động khác nhau đến quá trình sinh trưởng, phát triển và các phản ứng quang hợp của cây. Đèn LED bức xạ ánh sáng đỏ (R) và xanh dương (B) được đánh giá là có hiệu quả cao vì các ánh sáng này phù hợp với đỉnh hấp thụ của chất diệp lục và phytochromes (Sager et al., 1988) [26]. Vì thế chúng thường được sử dụng trong chiếu sáng nông nghiệp nhằm cung cấp năng lượng cần thiết cho sự tăng trưởng và phát triển của cây thông hoạt động qua quang hợp, điều chỉnh quá trình phát sinh hình thái như tăng chiều cao của cây, tăng kích thước, mở khí khổng, tạo nhịp sinh học và điều khiển sự ra hoa. Các ánh sáng đỏ xa (FR) (Chia & Kubota., 2010) [27], xanh lá cây (G) (Wang & Folta, 2013) [28], và vùng cực tím – tử ngoại (UV) (Sakalauskaite et al., 2012) [29] có hiệu quả thấp hơn. Tuy nhiên, bổ sung lượng vừa các vùng đỏ, đỏ xa và cực tím đủ sẽ tăng cường các thành phần trong tinh dầu, hoặc ức chế hoạt động của gen sinh trưởng làm cây chuyển sang giai đoạn ra hoa, nảy chồi. Ánh sáng xanh lá cây tuy có năng suất lượng tử thấp nhất, nhưng nó có thể xuyên sâu hơn vào tán cây do có khả năng truyền qua hoặc phản xạ cao, nên tăng cường cho những lá cây dưới các tán lá (Paradiso et al., 2011) [30].

Các nghiên cứu về ảnh hưởng của chiếu sáng đèn LED lên tính chất, hàm lượng tích lũy các hợp chất của cây tinh dầu đã được nghiên cứu nhiều

trên thế giới. Các báo cáo chỉ ra rằng ánh sáng đỏ, xanh dương và tử ngoại làm tăng cường tích lũy hàm lượng tinh dầu so với ánh sáng trắng hoặc ánh sáng mặt trời và mức độ tăng cường khác nhau giữa các loài và các thành phần tinh dầu khác nhau. Trong nghiên cứu tác động ánh sáng lên thành phần tinh dầu ở cây bạc hà á, Nishioka et al. (2008) [31] đã thu được thành phần l-menthol cao hơn 1,4 lần dưới ánh sáng đỏ so với ánh sáng xanh dương hoặc xanh lá cây với chế độ chiếu sáng giống nhau ở $150\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$; 16 giờ/ngày trong 28 ngày, trong khi nồng độ axit glycyrrhizic trong mô rễ của cam thảo Trung Quốc cao nhất dưới ánh sáng đỏ và thấp nhất dưới ánh sáng xanh dương với chế độ chiếu sáng giống nhau ở $300\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$; 16 giờ/ngày trong 3 tháng (Afreen et al., 2005) [32]. Với húng quế, Morrow (2008) [33] chỉ ra rằng tổng lượng tinh dầu dưới ánh sáng xanh cao hơn 1,2 và 4,4 lần so với cây trồng dưới ánh sáng trắng và thấp nhất dưới ánh sáng đỏ. Mặc dù ánh sáng UV bổ sung thường ức chế sự phát triển của thực vật, nó có thể làm tăng lượng tinh dầu, dẫn đến tăng cường khả năng bảo vệ thực vật chống lại tia UV. Bổ sung UV-A và UV-B kết hợp với ánh sáng trắng làm tăng hàm lượng l-menthol và limonene trong bạc hà á (Hikosaka et al., 2010) [34], và tăng hàm lượng chất tinh dầu, axit glycyrrhizic, liquyritin, liquyritigenin và isoliquyritigenin trong cam thảo Trung Quốc (Sun et al., 2012) [35]. Các hợp chất phenolic, flavonoid và anthocyanins trong các loại thảo dược cũng có thể được làm giàu bằng ánh sáng màu đỏ, xanh dương hoặc tia cực tím. Trong một vài nghiên cứu, sử dụng ánh sáng đỏ, xanh dương và trắng chiếu sáng cho cây địa hoàng (Manivannan et al., 2015) [36], và cây tía tô (Lee et al., 2014) [37], kết quả ánh sáng đỏ và xanh dương làm tăng đáng kể nồng độ của tổng số các hợp chất phenolic, flavonoid, và anthocyanins so với màu trắng, và ánh sáng xanh dương hiệu quả hơn ánh sáng đỏ. Tuy nhiên, lượng rosmarinic axit trong húng quế ngọt, dưới chiếu sáng liên tục bởi màu đỏ và trắng làm tăng lên gấp đôi so với dưới ánh sáng xanh dương. Trong khi hàm lượng axit chicoric cao nhất dưới ánh sáng trắng, tiếp theo là xanh lá và ánh sáng đỏ tương ứng (Shiga et al., 2009; Shojji et al., 2009) [38, 39]. Như vậy, việc bổ sung ánh sáng đỏ và / hoặc xanh dương có thể tăng cường sự tích tụ các hợp chất phenolic trong một số loài thảo dược. Kết quả tương tự đã thu

được khi bổ sung đèn UV-B làm các hợp chất phenolic và nồng độ anthocyanin trong húng quế tăng lên (Sakalauskaite et al., 2012) [29]. Mức độ axit caffeic và axit rosmarinic của tía tô được bổ sung UV-A cao hơn bảy đến tám lần so với của tía tô trồng dưới ánh sáng mặt trời (Iwai et al., 2010) [40]. Các nghiên cứu cho rằng bổ sung ánh sáng UV có thể tăng sinh tổng hợp các hợp chất phenolic trong các loại thảo dược.

Ánh sáng cũng ảnh hưởng mạnh mẽ đến các hợp chất chống oxy hóa trong thực vật. Tương tự với hiệu ứng tăng trưởng thực vật, một số chất chuyển hóa thứ cấp hiệu quả hơn khi kết hợp màu đỏ và xanh dương so với ánh sáng đơn sắc. Hoạt động chống oxy hóa cao hơn là 2,0, 1,6 và 1,5 lần đối với cây mùi theo tỷ lệ đỏ: xanh là 5:1, 10:1 và 19:1 tương ứng, so với các cây cùng loài dưới ánh sáng đỏ đơn sắc (Naznin et al., 2016) [41]. Ánh sáng UV bổ sung tăng cường các hoạt động chống oxy hóa của các lá trên của cây bạc hà á. Người ta cũng đã có kết luận rằng, các phương pháp chiếu sáng bằng ánh sáng đỏ, xanh dương và tia UV có thể được sử dụng để tăng cường sinh tổng hợp các hợp chất chống oxy hóa cho thảo dược. Điều rất quan trọng là phải nghiên cứu đánh giá được sự thay đổi về hàm lượng và thành phần hợp chất chính của cây dược liệu cũng như cây chứa tinh dầu vì nó có liên quan đến sự thay đổi về đặc tính dinh dưỡng, dược liệu và khả năng chống oxy hóa của chúng. Các nhà khoa học tin rằng thành phần hóa học của tinh dầu và khả năng sản xuất các chất chuyển hóa thứ cấp trong các loài cây chứa tinh dầu có liên quan đến sinh lý của cây, giai đoạn phát triển, loài thực vật và các yếu tố thí nghiệm khác nhau ví dụ như các nguồn ánh sáng khác nhau (Yu et al., 2005; Mashkani et al., 2018) [42, 43]. Hàm lượng và thành phần của tinh dầu thực vật bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố, bao gồm điều kiện môi trường (Ízgi et al. 2017) [44], chu kỳ ánh sáng, cường độ ánh sáng và quang phổ ánh sáng (Li & Kubota 2009) [45]. Quang phổ ánh sáng hoạt động như một chức năng quan trọng trong việc kiểm soát hình thái, quá trình tăng trưởng và hoạt động quang hợp ở thực vật (Wang et al. 2016) [46]. Bên cạnh đó, hầu hết các loài thực vật có thể thúc đẩy hệ thống thích nghi để đối phó với các ánh sáng khác nhau, bao gồm cả việc thay đổi hàm lượng tinh dầu của chúng, điều này có thể là một trong những cơ chế mà thực vật phản ứng với căng thẳng (Zhang et

al., 2003) [47]. Ivanitskikh & Tarakanov (2014)[48] công bố rằng những thay đổi trong phổ ánh sáng có thể được sử dụng cho quá trình sinh tổng hợp các hợp chất thiên nhiên ở thực vật bao gồm tinh dầu. Cường độ ánh sáng cũng có thể làm thay đổi quá trình sản xuất tinh dầu bằng cách kích thích các tế bào nhạy cảm với ánh sáng, enzyme cần thiết cho con đường acid mevalonic. Do đó, bức xạ có thể ảnh hưởng trực tiếp đến việc tạo ra các chất tinh dầu, hoặc gián tiếp, thông qua việc tăng sinh khối thực vật (Pegoraro et al., 2010) [49]. Tăng số lượng lá và trichomes, hiệu ứng ánh sáng về sự biểu hiện của gen chi phối quá trình tổng hợp tinh dầu (Urbonavičiūtė et al. 2008) [50], và tăng số lượng chất trung gian tham gia vào quá trình sinh tổng hợp tinh dầu như IPP (Selmar & Kirinwächter 2013) [51] là một số cơ chế khác cho thấy vai trò của ánh sáng tự nhiên trong việc tăng hàm lượng tinh dầu. Gần đây, có một xu hướng toàn cầu về các vấn đề khô hạn ở các khu vực trên thế giới bao gồm cả Iran, đó là sử dụng nhà kính và các cơ sở trong nhà thay vì ở đồng ruộng để phát triển loài dược liệu do thiếu nước tưới (Mesgaran & Azadi, 2018) [52]. Trong những điều kiện này, đèn LED có thể được sử dụng làm nguồn sáng bổ sung hoặc nguồn sáng duy nhất để thúc đẩy quá trình quang hợp và tăng cường tích lũy chất chuyển hóa. Như Darko et al. (2014) [53] đã nêu, đèn LED đèn có thể bắt chước hiệu ứng của ánh sáng tự nhiên, và do đó, không có gì lạ khi kỳ vọng rằng đèn LED có thể cũng làm tăng các hợp chất này theo cơ chế tương tự với những gì được giải thích về ảnh hưởng của ánh sáng tự nhiên đối với việc tăng hàm lượng tinh dầu trong cây.

Ngày nay, chiến lược toàn cầu trong sản xuất cây thuốc và cây lấy tinh dầu nhằm cải thiện hàm lượng, chất lượng của chúng, và do sự xuất hiện của các tác dụng phụ của hóa chất được sử dụng trong canh tác nông nghiệp, chẳng hạn như phân bón và thuốc trừ sâu, xu hướng sử dụng các phương pháp lành mạnh hơn và thân thiện hơn với môi trường đang gia tăng. Về vấn đề này, việc sử dụng công nghệ chiếu sáng bổ sung bằng đèn LED cung cấp cho cây trồng sự tăng trưởng và sản lượng, chất lượng tốt hơn, đồng nghĩa với việc tăng cao hiệu quả canh tác, cũng giúp bảo vệ môi trường tốt hơn. Cường độ ánh sáng cũng có thể làm thay đổi quá trình sản xuất tinh dầu bằng cách kích thích các tế bào enzyme nhạy cảm với ánh sáng, cần thiết cho con đường

sinh tổng hợp acid mevalonic. Do đó, bức xạ có thể ảnh hưởng trực tiếp đến việc tạo ra tinh dầu, hoặc gián tiếp, thông qua việc tăng sinh khối thực vật.

Riêng đối với cây Hương nhu tía (*Ocimum tenuiflorum* L.), là một trong những cây giàu tinh dầu sử dụng cho dược phẩm, nước hoa và mỹ phẩm. Các nghiên cứu đánh giá tác động của cường độ ánh sáng đến sự tăng trưởng, hàm lượng tinh dầu cũng như sản lượng và thành phần hóa học của cây đã được thực hiện nhiều trên thế giới. Trong nghiên cứu của Harakotr et al. (2019) [54], sử dụng kết hợp ánh sáng đỏ (638 và 665 nm), xanh (445 nm) và đỏ xa (735 nm) với các mật độ chiếu sáng LED (photo-synthetically active flux density (PPFD) là 110, 220, 330 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ và đối chứng sử dụng đèn huỳnh quang với mật độ chiếu sáng là 45 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, thời gian chiếu sáng là 16 giờ/ngày vào hiệu suất, sản lượng chất chống oxy hóa và khả năng chống oxy hóa của cây Hương nhu tía. Kết quả chỉ ra rằng, giá trị sinh khối khô tăng lên 1,9 lần, tổng hàm lượng phenolics tăng lên 10,20 lần và flavonoid tăng lên 1,22 ÷ 1,37 lần ở 330 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ so với đối chứng. Tổng chất chống oxy hóa và khả năng chống oxy hóa cũng cao nhất ở mật độ chiếu sáng là 330 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ với mức tăng là 2.3 và 2.5 lần, tương ứng so với đối chứng. Kết hợp ánh sáng đỏ và xanh dương bổ sung thêm ánh sáng xanh lá cây cho cây Hương nhu tía đã được báo cáo bởi Chutimanukul et al. (2022) [55]. Các hoạt động quang hợp của cả hai giống Hương nhu tía (cây màu đỏ và cây màu xanh) đều đạt cực đại trong điều kiện 3R:1B. Tuy nhiên, các giá trị khối lượng tươi (FW) và khối lượng khô (DW) cao nhất của Hương nhu tía xanh được ghi nhận ở 3R:1B và 2R:1G:2B, cao hơn đáng kể so với những điều kiện ánh sáng khác. Đối với Hương nhu tía đỏ, FW và DW cao nhất được ghi nhận dưới 1R:3B. Hơn nữa, ở 2R:1G:2B thúc đẩy sắc tố (diệp lục và caroten) trong Hương nhu tía xanh, trong khi Hương nhu tía đỏ được tìm thấy giàu cả hai sắc tố ở tỷ lệ 3R:1B. Khả năng chống oxy hóa cũng bị tác động bởi quang phổ ánh sáng, dẫn đến tổng hàm lượng phenolic lớn hơn ở cả hai giống cây trồng dưới 1R:3B. Hàm lượng favonoid cao nhất trong Hương nhu tía xanh được phát hiện ở 1R:1B; trong khi đó, ở 1R:3B thúc đẩy đáng kể hàm lượng favonoid trong Hương nhu tía đỏ. Ngoài ra, hàm lượng anthocyanin tăng ở

Hương nhu tía đỏ ở 1R:3B. Nhìn chung, tỷ lệ phổ ánh sáng cụ thể gây ra thành phần hóa học phản ứng khác nhau trong mỗi loại giống cây trồng và ở mỗi giai đoạn phát triển. Những kết quả này cho thấy rằng 3R:1B thích hợp cho sự tích lũy sinh khối và phản ứng quang hợp ở cây Hương nhu tía xanh, trong khi 1R:3B cung cấp tích lũy chất chống oxy hóa. Đối với canh tác Hương nhu tía đỏ, 1R:3B mang lại sự phát triển tối ưu, thúc đẩy cải thiện sinh khối thực vật, khả năng sinh lý và chống oxy hóa. Trong một nghiên cứu khác về ảnh hưởng của các quang phổ ánh sáng khác nhau đến sự sinh trưởng thời kỳ ban đầu của cây Hương nhu tía được thực hiện bởi Thongtip et al. (2022) [56] đánh giá ảnh hưởng của bốn quang phổ ánh sáng đối với sự nảy mầm của hạt và đặc điểm của cây con dưới các chế độ ánh sáng đơn khác nhau: trắng, đèn xanh dương ($\lambda=400-500$ nm, cực đại ở 450 nm), lục ($\lambda=500-600$ nm, cực đại ở 525 nm) và đỏ ($\lambda=600-700$ nm, cực đại ở bước sóng 660 nm) ở cường độ sáng $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ với PPFD với chu kỳ quang 12 giờ/ ngày, độ ẩm tương đối $70\pm 5\%$ (RH), nồng độ CO_2 $1000\pm 300 \mu\text{mol mol}^{-1}$ (ppm) và nhiệt độ 25 ± 1 °C. Số lượng hạt nảy mầm được ghi lại hàng ngày trong khoảng thời gian 15 ngày, trong môi trường kiểm soát. Khi hạt giống nảy mầm, tức là khi lá mầm nhô ra khỏi vỏ hạt và cây con được chuyển sang hệ thống thủy canh để đánh giá các thông số về năng suất của cây con sau khi chiếu các loại ánh sáng đơn sắc khác nhau trong 15 ngày. Kết quả cho thấy rằng quang phổ màu xanh lá cây ảnh hưởng tích cực đến chiều dài chồi và rễ, và giảm thời gian nảy mầm khi so sánh với các công thức chiếu bằng loại ánh sáng khác. Ngoài ra, cây con được trồng trước dưới quang phổ màu xanh lá cây cho thấy sự cải thiện đáng kể về sự phát triển của cây con đối với tất cả các giống Hương nhu tía vào ngày 15 sau khi cấy bằng cách thúc đẩy chiều dài thân cây, đường kính thân, chiều rộng cây, trọng lượng tươi của chồi và rễ, trọng lượng khô của chồi và rễ. Những phát hiện này có thể hữu ích trong việc phát triển phương pháp xử lý bằng ánh sáng với hạt giống để tăng cường hạt giống nảy mầm và chất lượng cây con Hương nhu tía dẫn đến tăng năng suất của cây được trồng tại các hệ thống trong nhà với ánh sáng nhân tạo (The plant factory with artificial light (PFAL)).

Ảnh hưởng của lưới che nắng có màu khác nhau (đỏ, xanh dương, đen, xanh lá cây, lưới trắng) và đối chứng (không có lưới) đối với các phản ứng sinh hóa và tăng trưởng cây Hương nhu tím (*O. tenuiflorum* L.) và Hương nhu trắng (*O. gratissimum* L.) đã được thực hiện bởi Lavanya et al. (2022) [57]. Kết quả cho thấy cây trồng dưới lưới đỏ luôn vượt trội so với các lưới khác. Sự tăng trưởng và sinh khối cao hơn đáng kể. Tổng sinh khối tươi ($158,17 \pm 12,82$ g/cây) và tổng sinh khối khô ($63,88 \pm 1,37$ g/cây) tăng lên khoảng 4,17 và 5,16% cho cả 2 loài Hương nhu. Hàm lượng tổng số phenol đạt ($127,50 \pm 2,95$ mg/g DW), flavonoid ($18,33 \pm 2,71$ mg/g DW) và alkaloid ($32,31 \pm 2,87$ mg/g DW) tăng 9,68, 14,10 và 28,18% tương ứng.

Việc chiếu bổ sung sUV-B cho cây Hương nhu tím trồng ngoài cánh đồng cho thấy hiệu quả sinh học của nó thông qua việc đánh giá sự gia tăng các tuyến dầu chuyên biệt cũng như số lượng và chất lượng của tinh dầu. Tổng sản lượng tinh dầu tăng đáng kể 42,0% sau khi xử lý bằng sUV-B. Phân tích sắc ký khí - khối phổ cho thấy hầu hết các hợp chất có mùi hương quan trọng như β -caryophyllene, germacrene-D, ethyl linoleolate, β -elemene và camphenol tăng lên đáng kể sau khi xử lý sUV-B. Hơn nữa, hàm lượng của hợp chất chính là eugenol không bị ảnh hưởng. Phân tích bằng kính hiển vi điện tử quét cho thấy sự gia tăng của các tuyến dầu sau khi tiếp xúc với sUV-B và điều này có mối tương quan tỉ lệ thuận với sản lượng tinh dầu. Kết quả này rất đáng được quan tâm bởi sUV-B có thể đã tác động đến việc sinh tổng hợp tích lũy tinh dầu trong cây Hương nhu tím (Kumari & Agrawal, 2011) [58]. Một nghiên cứu khác của Walters & Currey (2018) [59] cho thấy lượng ánh sáng cho cây Hương nhu tím sinh trưởng tốt nhất nằm trong khoảng 12 đến 20 mol/m²/ngày, rất phù hợp với thời kỳ thích hợp cho bắt đầu trồng cây trong giai đoạn vào khoảng mùa xuân đến hè (từ tháng 1- tháng 7 hàng năm). Trong thời kỳ này, tổng năng lượng mặt trời trung bình ở vùng sóng 400nm-700nm vào khoảng 10-15 mol/ m²/ ngày. Các kết quả nghiên cứu tác động của chiếu sáng LED cho cây tinh dầu nói chung và cây Hương nhu tím nói riêng nhằm tăng cường hàm lượng, chất lượng và năng suất tinh dầu cho thấy hướng nghiên cứu này mở ra rất có triển vọng.

1.6.1.2. Các nghiên cứu trên thế giới về phân bón đối với Hương nhu tía và một số loài khác

Quá trình sinh tổng hợp các chất có hoạt tính sinh học ở thực vật đều chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố nông học và môi trường khác nhau. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng năng suất, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của tinh dầu Hương nhu tía phụ thuộc vào nhiều yếu tố nông học (nguồn gốc, giống cây trồng,...), thời vụ gieo trồng, vị trí địa lý, điều kiện môi trường (mật độ gieo trồng, loại và liều lượng phân bón, nước tưới, cường độ ánh sáng, độ mặn, độ khô hạn, v.v.) (Zheljazkov et al., 2008; Beatović et al., 2013; Sims et al., 2014; Fuller et al., 2018; Rastogi et al., 2019) [22-24, 60,61]. Chúng loại và liều lượng phân bón được xem là có tác động không nhỏ đến hàm lượng và chất lượng của các hợp chất có hoạt tính sinh học ở thực vật (Khalil et al., 2007; Saradhi et al., 2007; Osuagwu, 2008) [62-64].

Nghiên cứu về ảnh hưởng của hàm lượng phân bón và mật độ trồng cây lên sự sinh trưởng và hàm lượng tinh dầu của cây Hương nhu tía cũng cho thấy khi bón phân vô cơ N, P, K với tỉ lệ 175:95:80 kg/ha đã ghi nhận chiều cao cây tăng đáng kể (đạt 85,33 cm). Ở công thức bón 150:85:70 kg NPK/ha, sinh khối cây tươi đạt 15,18 tấn/ha, hàm lượng tinh dầu chiếm 0,40% và hàm lượng eugenol đạt 60,69%. Tại thời điểm thu hoạch, khoảng cách cây trồng 45 x 30 cm ghi nhận chiều cao cây đạt cao nhất (81,12 cm) và sinh khối tươi đạt trên 15,72 tấn/ha. Trong khi đó, những cây trồng ở khoảng cách rộng hơn 45 x 60 cm lại ghi nhận chiều cao cây dao động từ 68,74 cm đến 70,14 cm, hàm lượng dầu là 0,30% và hàm lượng eugenol đạt 54,75% (Pooja et al., 2018) [65].

Nghiên cứu về tác động của các nguồn phân hữu cơ khác nhau lên sự sinh trưởng, năng suất và chất lượng của Hương nhu tía đã được thực hiện thông qua các công thức bón phân sử dụng nhóm phân hữu cơ từ phân xanh (phân xanh từ nguồn phế phụ phẩm cây đậu đũa (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), và cây đậu chùm (*Cyamopsis tetragonoloba* L. Taub)) và nhóm phân hữu cơ từ động vật kết hợp chế phẩm phân bón vi sinh. Kết quả cho thấy có sự khác nhau đáng kể về các thông số tăng trưởng thực vật như chiều cao, tán

cây, số lượng cành và năng suất sinh khối khô, năng suất tinh dầu Hương nhu tía ở các công thức khác nhau. Đối với nhóm phân xanh, sinh khối khô khi sử dụng phân xanh từ cây đậu chùm cho kết quả cao hơn so với khi sử dụng phân xanh từ cây đậu đũa và đối chứng (sinh khối khô đạt 5,03 tấn/ha, hàm lượng tinh dầu đạt 1,35% và sản lượng tinh dầu đạt 6,97 kg/ha). Trong số các công thức sử dụng phân chuồng, công thức bón phân 100% N phân chuồng + phân bón vi sinh hỗn hợp (bao gồm các vi khuẩn cố định N, vi khuẩn hòa tan lân và kẽm, các vi khuẩn kích thích sinh trưởng thực vật) cho năng suất thảo mộc khô tối đa được ghi nhận là 6,30 tấn/ha), hàm lượng tinh dầu đạt 1,71% và sản lượng tinh dầu đạt 10,79 kg/ha). Như vậy, trong quá trình canh tác cây Hương nhu tía, nếu sử dụng nguồn phân bón hữu cơ cùng với với phân vi sinh sẽ giúp làm tăng đáng kể sinh khối khô cũng như hàm lượng tinh dầu của chúng (Smitha et al., 2019) [66].

Chế phẩm phân bón vi sinh đơn lẻ hoặc hỗn hợp các vi sinh vật hệ rễ cũng được áp dụng trong trồng cây Hương nhu tía để nghiên cứu tác động của từng loại phân bón này lên năng suất và hàm lượng tinh dầu. Các phân bón có sự kết hợp từ 2 chủng vi sinh vật trở lên (như sự kết hợp của *Bacillus megaterium* + *P. fluorescens* và sự kết hợp của *B. megaterium* + *P. fluorescens* + *Trichoderma viride*) đã cho thấy hàm lượng tinh dầu đạt cao nhất 27,27% so với việc sử dụng chế phẩm vi sinh đơn lẻ và đối chứng. Trong tinh dầu, hàm lượng eugenol đã tăng cao nhất 58,5% so với 42,9% của đối chứng (Saikia & Pandey, 2014) [67].

Một cuộc khảo sát ở Ấn Độ cũng báo cáo rằng phân hữu cơ và phân bón sinh học đã ảnh hưởng đến Hương nhu tía về các chỉ tiêu năng suất. Năng suất tươi cao nhất thu được từ nghiệm thức 10 tấn/ha phân chuồng + 10 tấn/ha vi khuẩn phân giải lân + 1,5 tấn/ha bánh Neem + 6 kg/ha vi khuẩn *Azotobacter*. Trong khi đó, nghiệm thức 6,0 kg/ha *Azotobacter* + 6,0 kg/ha nấm *Mycorrhiza* kết hợp phân hữu cơ và phân bón cho năng suất lá tươi và khô thấp hơn (Ram et al., 2019) [68]. Việc bón kết hợp các vi sinh vật như *Azotobacter* (25%), *Azospirillum* (25%), vi khuẩn phân giải lân (25%) và nấm *Mycorrhizae* (25%) cho kết quả tốt hơn so với việc bón riêng lẻ các chỉ

tiêu sinh trưởng của Hương nhu tía (Harishkumar et al., 2019) [21].

1.6.2. Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam

1.6.2.1. Các nghiên cứu ở Việt Nam về công nghệ chiếu sáng LED đối với Hương nhu tía và một số loài khác

Những công trình công bố trên thế giới cho thấy tiềm năng tăng cả năng suất, hàm lượng và chất lượng tinh dầu, chất chống oxy hóa thông qua việc chiếu sáng bổ sung LED trong canh tác cho các cây dược liệu và cây tinh dầu là rất lớn. Ở Việt Nam, trong vài năm gần đây, nhiều nhóm nghiên cứu ứng dụng chiếu sáng LED trong nông nghiệp đã có một số kết quả khả quan, như trong chiếu sáng điều khiển sự ra hoa của cây hoa cúc, hoa lan, cây thanh long.... Tuy nhiên, các nghiên cứu ứng dụng chiếu sáng LED bổ sung cho cây dược liệu, cây tinh dầu ở Việt Nam để tăng cường giá trị kinh tế vẫn đang còn rất hạn chế, và đối với cây Hương nhu tía hầu như chưa có nghiên cứu nào. Trong nghiên cứu gần đây về ảnh hưởng chiếu sáng bổ sung cho cây Húng quế trồng trong nhà lưới của Chu et al. (2022) [69], cho thấy các điều kiện ánh sáng bổ sung gây ra sự khác biệt đáng kể trong năng suất tinh dầu với giá trị cao nhất (tăng khoảng 1,8 lần so với đối chứng) được tìm thấy trong hai điều kiện: (i) 71% Đỏ (660 nm): 20% Xanh dương (445 nm): 9,0% UVA (365 nm) ở $120 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ trong 6 h/ngày và (ii) 43,5% Đỏ (660 nm): 43,5% Xanh dương (445 nm): 8,0% Xanh lục (530 nm): 5,0% Đỏ xa (730 nm) ở $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ trong 6 h/ngày. Nghiên cứu cũng cho thấy hàm lượng hợp chất chính hầu như không thay đổi và tăng nhẹ khi thành phần ánh sáng xanh cao hơn, cụ thể là trường hợp chiếu sáng (ii) cho thành phần Methyl chavicol (hợp chất chính trong tinh dầu Húng quế) cao hơn. Những kết quả này cho thấy khả năng nghiên cứu phát triển ứng dụng diện rộng công nghệ chiếu sáng LED trong việc tối ưu hóa, nâng cao chất lượng sản xuất cây tinh dầu ở các loài cây dược liệu chứa tinh dầu làm tăng hàm lượng, chất lượng và năng suất tinh dầu là rất tiềm năng, hứa hẹn mang lại giá trị kinh tế cao. Đặc biệt, trong bối cảnh hiện nay, ngành sản xuất và chiết suất tinh dầu tại nước ta đã và đang có những chuyển biến rất tích cực và là một ngành công nghiệp vô

cùng tiềm năng, nhận được nhiều sự quan tâm từ phía các nhà đầu tư kinh doanh cũng như từ phía Nhà nước.

Hiện nay, giá thành 1 lit tinh dầu Hương nhu tía trên thị trường tại Việt Nam vào khoảng 1.500.000 đ - 2.000.000 đ, ước tính 1 ha trồng Hương nhu tía với 3-5 lứa thu hoạch/năm sẽ mang lại doanh thu sau khi trừ hết các khoản chi phí là khoảng 60 triệu đồng. Với quy mô và giá trị kinh tế của cây Hương nhu tía tăng lên đáng kể như vậy, phương thức trồng trọt, canh tác hiện nay chủ yếu vẫn dựa trên kinh nghiệm về chế độ chăm sóc phân bón và nước tưới, các nghiên cứu liên quan đến sử dụng điều kiện chiếu sáng để tăng cường giá trị kinh tế của cây Hương nhu tía còn rất hạn chế. Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng kết hợp ánh sáng mặt trời và đèn LED lên sinh trưởng, phát triển và chất lượng tinh dầu của cây Hương nhu tía nhằm tăng chất lượng, năng suất và hàm lượng tinh dầu là rất cần thiết, có ý nghĩa góp phần tạo cơ sở khoa học và thực tiễn cho việc chọn lựa điều kiện chiếu sáng phù hợp nhằm nâng cao hiệu quả cây tinh dầu, tiến tới góp phần phát triển ngành công nghiệp sản xuất tinh dầu phục vụ đời sống.

Ngoài ra, các nghiên cứu kết hợp ánh sáng tự nhiên và ánh sáng nhân tạo LED trong chiếu sáng là rất cần thiết gắn liền với ứng dụng thực tiễn, tận dụng năng lượng tự nhiên và bổ sung năng lượng nhân tạo phù hợp trong sản xuất nông nghiệp nhằm tăng sản lượng nông nghiệp về cả số lượng và chất lượng, đồng thời giảm chi phí tiêu thụ điện năng. Đặc biệt hiện nay mô hình ứng dụng công nghệ cao trong nông nghiệp đang được Đảng và Nhà Nước ta chú trọng nhằm tăng năng suất và chất lượng sản lượng nông nghiệp. Xuất phát từ nhu cầu đó, chúng tôi đề xuất nghiên cứu phát triển hệ thống chiếu sáng kết hợp LED và ánh sáng mặt trời nhằm tăng sinh trưởng, phát triển và chất lượng tinh dầu của cây Hương nhu tía trên cơ sở kết hợp ánh sáng mặt trời với ánh sáng đèn LED. Trên cơ sở đó đưa ra lựa chọn chế độ tối ưu của chiếu sáng kết hợp ánh sáng tự nhiên và ánh sáng LED để đạt được các chỉ số tối đa về sinh khối, cũng như hàm lượng và năng suất tinh dầu ở cây Hương nhu tía.

1.6.2.2. Các nghiên cứu ở Việt Nam về phân bón đối với Hương nhu tía và một số loài khác

Như đã đề cập ở trên, những nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy việc áp dụng liều lượng và loại phân bón khác nhau khi trồng tọt cây tinh dầu nói chung và cây Hương nhu tía nói riêng đã mang lại triển vọng về tăng năng suất và chất lượng tinh dầu. Tuy nhiên, các nghiên cứu về ảnh hưởng của chế độ phân bón lên năng suất và chất lượng cây tinh dầu ở nước ta cũng còn rất hạn chế, và hầu như chưa có nghiên cứu nào đối với cây Hương nhu tía.

Nhìn chung, tại Việt Nam, phương thức trồng tọt, canh tác Hương nhu tía hiện nay chủ yếu vẫn dựa trên kinh nghiệm về chế độ chăm sóc phân bón và nước tưới mà vẫn chưa áp dụng các công nghệ trong trồng tọt, điều chỉnh quy trình canh tác để mang lại năng suất và chất lượng sản phẩm tối ưu nhất.

Giá trị lớn nhất của Hương nhu tía là thành phần và hàm lượng tinh dầu, do đó, việc nghiên cứu và ứng dụng công nghệ nuôi trồng để nâng cao hàm lượng và chất lượng tinh dầu là cần thiết, đặc biệt là ứng dụng các chủng loại và liều lượng phân bón khác nhau. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung đánh giá tác động của các điều kiện bón phân khác nhau đến sinh khối, hàm lượng và thành phần hóa học của tinh dầu Hương nhu tía trồng trên đồng ruộng ở Hà Nội, Việt Nam nhằm lựa chọn công thức phù hợp cho sinh trưởng của Hương nhu tía mang lại năng suất tinh dầu cao.

1.7. SỰ CẦN THIẾT PHẢI TIẾN HÀNH NGHIÊN CỨU

Hương nhu có vai trò ứng dụng đa dạng trong sản xuất dược phẩm, thực phẩm và mỹ phẩm nên giá trị về mặt y dược và kinh tế mang lại là rất lớn. Vì vậy việc nghiên cứu, ứng dụng các công nghệ trong canh tác, điều chỉnh quy trình canh tác đối với cây Hương nhu tía nhằm mục đích nâng cao năng suất và chất lượng tinh dầu là vấn đề cần được quan tâm nghiên cứu.

Các điều kiện sinh trưởng của thực vật như quang phổ ánh sáng, nhiệt độ, tưới nước và chất dinh dưỡng đóng vai trò rất quan trọng trong sự sinh trưởng, năng suất và tích lũy hợp chất thứ cấp trong cây thảo mộc. Trong số này, ánh sáng là chìa khóa yếu tố phi sinh học thúc đẩy quá trình quang hợp

tạo ra năng lượng hóa học nội sinh và điều chỉnh các phản ứng tín hiệu sinh lý ở thực vật. Các phản ứng sơ cấp và thứ cấp được kích hoạt bởi những thay đổi về chất lượng quang phổ ánh sáng (400–700 nm), cường độ và chu kỳ chiếu sáng. Chất lượng ánh sáng cũng ảnh hưởng đến các phản ứng phức tạp trong sinh lý học, hình thái và biểu hiện gen của thực vật bằng cách bắt đầu truyền tín hiệu của phytochrom, phototropin và cryptochromes trong tế bào cảm quang để điều chỉnh sự phát triển của thực vật, các quá trình hình thái, tích lũy lục lạp và sinh tổng hợp chất chuyển hóa thứ cấp. Bên cạnh đó, chủng loại và liều lượng phân bón đã được nhiều nghiên cứu công bố là có tác động không nhỏ đến hàm lượng và chất lượng của các hợp chất có hoạt tính sinh học ở thực vật nói chung và ở cây Hương nhu tía nói riêng.

Trên cơ sở tìm hiểu những công trình nghiên cứu trên thế giới về ứng dụng của ánh sáng LED và phân bón nhằm tăng năng suất và chất lượng tinh dầu của cây dược liệu nói chung và cây Hương nhu tía nói riêng cho thấy việc ứng dụng công nghệ chiếu sáng LED đã chứng minh có khả năng làm tăng năng suất và chất lượng tinh dầu Hương nhu tía. Mặt khác, nhiều nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh phân bón với các thành phần và liều lượng bón khác nhau, trong đó có sử dụng phân bón vi sinh trong quá trình canh tác cây lấy tinh dầu đã giúp tăng đáng kể năng suất, hàm lượng và chất lượng tinh dầu, đặc biệt là tinh dầu của cây Hương nhu tía. Ở Việt Nam, nghiên cứu ứng dụng công nghệ chiếu sáng đèn LED ở các dải phổ khác nhau kết hợp các điều kiện bón phân đối với cây lấy tinh dầu nói chung và cây Hương nhu tía nói riêng còn chưa được quan tâm nghiên cứu. Trong khi đó, cây Hương nhu được xem là loài cây có nhiều công dụng trong y dược, đặc biệt tinh dầu Hương nhu tía chứa nhiều chất có hoạt tính sinh học, ứng dụng rộng rãi trong y dược mang lại nhiều giá trị kinh tế. Thực tế, nhiều địa phương ở Việt Nam đã tiếp cận chuyển đổi cơ cấu cây trồng, đưa cây Hương nhu tía vào sản xuất nông nghiệp nhằm gia tăng giá trị kinh tế trên một đơn vị diện tích đất nông nghiệp, gia tăng thu nhập nhiều hơn so với việc trồng một số cây ngắn ngày khác. Chính vì vậy, việc nghiên cứu, ứng dụng các công nghệ trong quá trình canh tác cây Hương nhu tía nhằm tăng hàm lượng tinh dầu là hướng đi mang ý nghĩa thực tiễn cao. Giải pháp thay đổi quy trình canh tác (cụ thể chiếu sáng

LED bổ sung, và chế độ phân bón) để nhằm tăng hàm lượng tinh dầu so với quy trình canh tác Hương nhu tía truyền thống sẽ mở ra triển vọng cho các nghiên cứu và ứng dụng trên cây lấy tinh dầu khác.

Xuất phát từ các vấn đề nêu trên, việc thực hiện đề tài nghiên cứu: “Đánh giá sự biến động hàm lượng và thành phần hóa học tinh dầu Hương nhu tía trong các điều kiện thổ nhưỡng khác nhau” với mục tiêu nghiên cứu ứng dụng công nghệ LED chiếu sáng bổ sung kết hợp với chế độ bón phân hợp lý trong quá trình canh tác Hương nhu tía nhằm nâng cao năng suất, hàm lượng và chất lượng tinh dầu cho loài cây này.

1.8. MỤC TIÊU CỦA ĐỀ TÀI

Đánh giá sự biến động về hàm lượng và thành phần hóa học của tinh dầu Hương nhu tía được trồng dưới các điều kiện chiếu sáng bổ sung và chế độ phân bón khác nhau.

CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG, ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU

Hương nhu tía tươi được gieo trồng dưới các điều kiện chiếu sáng đa phổ bổ sung LED và các điều kiện bón phân khác nhau tại Khu nghiên cứu và triển khai công nghệ Cổ Nhuế thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, tại phường Cổ Nhuế, Quận Bắc Từ Liêm, Hà Nội từ tháng 3 năm 2022 (bắt đầu gieo hạt) đến tháng 8 năm 2022 (thu hoạch lúc hoa nở rộ). Hạt giống được mua từ công ty TNHH Đức Thắng tại Hà Nội.



Hình 2.1. Cây Hương nhu tía trồng thí nghiệm năm 2022

2.2. PHƯƠNG PHÁP BỐ TRÍ THÍ NGHIỆM VÀ CHĂM SÓC HƯƠNG NHU TÍA

Các công thức chiếu sáng đa phổ bổ sung LED và các công thức bón phân được thực nghiệm độc lập và bố trí ngẫu nhiên (Completely Randomize Design - CRD) (Bảng 2.1 và 2.2).

Bảng 2.1. Bố trí thí nghiệm ngẫu nhiên cho các các lần lặp lại của 10 công thức chiếu sáng đa phổ bổ sung LED

CTL8	CTL7	CTL3
CTL6	CTL10	CTL2
CTL5	CTL1	CTL10
CTL9	CTL4	CTL5
CTL7	CTL8	CTL7
CTL2	CTL9	CTL1
CTL10	CTL3	CTL6
CTL1	CTL5	CTL8
CTL4	CTL2	CTL4
CTL3	CTL6	CTL9

Bảng 2.2. Bố trí thí nghiệm ngẫu nhiên cho các các lần lặp lại của 4 công thức bón phân

CTP4	CTP2	CTP1
CTP2	CTP3	CTP4
CTP1	CTP4	CTP3
CTP3	CTP1	CTP2

Diện tích mỗi công thức thí nghiệm chiếu sáng đa phổ bổ sung LED hoặc bón phân tương đương 18 m², với các thông số cụ thể như sau:

- Mỗi công thức 90 cây = 30 cây/1 ô thí nghiệm × 3 lần lặp lại/1 công thức.

- Diện tích một ô thí nghiệm = 1,2 m x 5 m = 6 m².

- Khoảng cách giữa các ô thí nghiệm (chiều rộng rãnh): 40 cm.

- Khoảng cách trồng cây: 40 x 50 cm (mỗi hai hàng cách nhau 50 cm, mỗi hai cây cách nhau 40 cm).

- Chiều rộng ô thí nghiệm: 1,2 m. Mỗi hàng ngang trồng 3 cây, khoảng cách giữa các cây là 0,4 m, phủ bì mỗi bên cách mép ngang của ô thí nghiệm là 0,2 m (0,4 m x 2 khoảng cách + 0,2 m x 2 đầu mép = 1,2 m).

- Chiều dài ô thí nghiệm: 5 m. Mỗi ô trồng 10 hàng cây, khoảng cách giữa các hàng là 0,5 m, phủ bì mỗi bên cách mép dọc của ô thí nghiệm là 0,25 m (0,5 m x 9 khoảng cách + 0,25 m x 2 đầu mép = 5 m).

Kỹ thuật canh tác cây Hương nhu tía (làm đất, gieo trồng, chăm bón, thu hoạch,...) dựa theo Tài nguyên thực vật chứa tinh dầu ở Việt Nam của Lã Đình Mỗi và cs. (2001) [70] (áp dụng tương tự theo một số loài trong chi Hương nhu *Ocimum*) và Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam của Đỗ Huy Bích và cs. (2004) [4].

Thời gian chiếu sáng bổ sung LED: Sử dụng các đèn LED đa bước sóng đã được chế tạo chiếu sáng cho cây Hương nhu tía trong các công thức thử nghiệm trong khoảng thời gian 90 ngày từ giai đoạn cây con đã bén rễ (cây cao khoảng 20-30 cm) cho đến thời điểm cây ra hoa rộ. Cụ thể từ tháng 5 đến tháng 8 năm 2022.

Thời gian theo dõi thí nghiệm bón phân: 90 ngày từ giai đoạn cây con đã bén rễ (cây cao khoảng 20-30 cm) sau khi trồng và bón lót, cho đến thời điểm cây ra hoa rộ. Cụ thể từ tháng 5 đến tháng 8 năm 2022.

2.3. PHƯƠNG PHÁP THIẾT KẾ VÀ SỬ DỤNG HỆ ĐÈN LED ĐA PHỔ

Thiết kế và sử dụng hệ thống đèn LED có phổ ánh sáng, cường độ và thời gian chiếu sáng phù hợp với sự sinh trưởng và phát triển của cây Hương nhu tía nhằm đánh giá mức độ ảnh hưởng đến cây trồng, từ đó chọn ra phương pháp tối ưu nhất đối với cây trồng dưới tác dụng của điều kiện chiếu sáng có sử dụng đèn LED đa bước sóng. Vị trí bố trí các công thức thí nghiệm đảm bảo không có ánh sáng giao thoa giữa các công thức.

Chi tiết các thông số về 10 công thức thí nghiệm chiếu sáng đa phổ bổ sung LED được thiết kế và sử dụng đối với cây Hương nhu tía được trình bày trong bảng 2.3.

Bảng 2.3. Các công thức chiếu sáng đa phổ bổ sung LED được thiết kế và sử dụng đối với Hương nhu tía

Công thức	Tổng thời gian chiếu sáng bổ sung (giờ)	Cường độ-PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Khung thời gian chiếu sáng bổ sung
CTL1: 75% Đỏ (635 nm)- 20% Xanh dương (460 nm)- 5% UVA (365 nm)	8	120 ± 10	1:00-5:00 và 19:00-23:00
CTL2: 75% Đỏ (635 nm)- 20% Xanh dương (460 nm)- 5% UVA (365 nm)	6	120 ± 10	2:00-5:00 và 19:00-22:00
CTL3: 75% Đỏ (635 nm)- 20% Xanh dương (460 nm)- 5% UVA (365 nm)	4	120 ± 10	3:00-5:00 và 19:00-21:00
CTL4: 75% Đỏ (635 nm)- 20% Xanh dương (460 nm)- 5% Xanh lá cây (520 nm)	8	120 ± 10	1:00-5:00 và 19:00-23:00
CTL5: 75% Đỏ (635 nm)-	6	120 ± 10	2:00-5:00 và

Công thức	Tổng thời gian chiếu sáng bổ sung (giờ)	Cường độ-PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Khung thời gian chiếu sáng bổ sung
20% Xanh dương (460 nm)- 5% Xanh lá cây (520 nm)			19:00-22:00
CTL6: 75% Đỏ (635 nm)- 20% Xanh dương (460 nm)- 5% Xanh lá cây (520 nm)	4	120 ± 10	3:00-5:00 và 19:00-21:00
CTL7: 70% Đỏ (635 nm)- 20% Xanh dương (460 nm)- 5% Xanh lá cây (520 nm)- 5% Đỏ xa (730 nm)	6	200 ± 10	2:00-5:00 và 19:00-22:00
CTL8: 70% Đỏ (635 nm)- 20% Xanh dương (460 nm)- 5% Xanh lá cây (520 nm) - 5% Đỏ xa (730 nm)	6	150 ± 10	2:00-5:00 và 19:00-22:00
CTL9: 70% Đỏ (635 nm)- 20% Xanh dương (460 nm)- 5% Xanh lá cây (520 nm) - 5% Đỏ xa (730 nm)	6	100 ± 10	2:00-5:00 và 19:00-22:00
CTL10: Mặt trời	0	Đối chứng	0

2.4. PHƯƠNG PHÁP BÓN PHÂN, CHỦNG LOẠI VÀ LIỀU LƯỢNG PHÂN BÓN

Bố trí thời gian, chủng loại và liều lượng phân bón phù hợp nhằm đánh giá mức độ ảnh hưởng của phân bón đến quá trình sinh trưởng và phát triển của cây Hương nhu tía, từ đó chọn ra phương pháp tối ưu nhất đối với cây trồng dưới tác dụng của điều kiện bón phân.

Chi tiết các thông số về 4 công thức thí nghiệm bón phân sử dụng đối với cây Hương nhu tía được trình bày trong bảng 2.4.

Bảng 2.4. Các công thức bón phân được sử dụng đối với Hương nhu tía

Ký hiệu công thức	Liều lượng, thành phần phân bón (/ha)	Hình thức bón phân	Giai đoạn bón	Ghi chú
CTP1 (Đối chứng)	10 tấn phân chuồng + 150 kg lân + 75 kg kali	Bón lót	Khi bắt đầu trồng cây con (cây con cao 10-15 cm)	Theo Đỗ Huy Bích và cs. (2004); Lã Đình Mối và cs. (2001) [4, 70]
	200 kg đạm + 75 kg kali	Bón thúc	Chia 3 lần hòa với nước để tưới: -Khi cây bén rễ (cây cao khoảng 20-30cm) -Cây phân cành -Cây chuẩn bị ra hoa	
CTP2	10 tấn phân chuồng + 15 kg chế phẩm phân bón vi sinh + 150 kg lân + 75 kg kali	Bón lót	Khi bắt đầu trồng cây con (cây con cao 10-15 cm)	- Theo tài liệu, kali có tác dụng tăng hàm lượng tinh dầu nên lượng kali được giữ nguyên hoặc giảm ít trong các công thức thí nghiệm
	200 kg đạm + 75kg kali	Bón thúc	Chia 3 lần hòa với nước để tưới: -Khi cây bén rễ (cây cao khoảng 20-30cm) -Cây phân cành -Cây chuẩn bị ra hoa	
CTP3	10 tấn phân chuồng + 20 kg chế phẩm phân bón	Bón lót	Khi bắt đầu trồng cây con (cây con cao 10-15 cm)	- Khi sử dụng chế phẩm

	vi sinh+100kg lân +50kg kali			phân bón vi sinh có thể thay thế 50-70% phân bón hóa học
	100kg đạm + 50kg kali	Bón thúc	Chia 3 lần, hòa với nước để tưới: -Khi cây bén rễ (cây cao khoảng 20-30cm) -Cây phân cành -Cây chuẩn bị ra hoa	
CTP4	10 tấn phân chuồng + 25 kg chế phẩm phân bón vi sinh+75kg lân +50kg kali	Bón lót	Khi bắt đầu trồng cây con (cây con cao 10-15 cm)	
	50kg đạm + 50kg kali	Bón thúc	Chia 3 lần hòa với nước để tưới: -Khi cây bén rễ (cây cao khoảng 20-30cm) -Cây phân cành -Cây chuẩn bị ra hoa	

Thông tin về các loại phân bón trong các thí nghiệm gồm:

- + Phân đạm: Nts 46,3%; Biuret 1%; Độ ẩm 0,4%
- + Phân lân: Lân hữu hiệu (P_2O_5 hh) 16%; Hàm lượng axit tự do (% khối lượng quy về P_2O_5 ts) 4%; Cadimi (Cd) 12mg/kg; Lưu huỳnh (S) 10%
- + Phân kali: Kali hữu hiệu (K_2O hh) 61%
- + Chế phẩm phân bón vi sinh: Chế phẩm vi sinh đa chức năng chứa $>10^8$ CFU/g gồm các chủng vi sinh vật cố định đạm, phân giải các hợp chất hữu cơ, sinh chất kích thích sinh trưởng, đối kháng.

+ Chế độ chiếu sáng: Sử dụng ánh sáng tự nhiên (ánh sáng mặt trời)

2.5. THU MẪU VÀ XỬ LÝ MẪU

Thu mẫu: Sau khi kết thúc 90 ngày thí nghiệm, thu hoạch toàn bộ phần sinh khối của Hương nhu tía trên mặt đất. Mỗi mẫu được tính hàm lượng nước bằng cách sử dụng cân xác định độ ẩm chuyên dụng A&D Weighing AD-4714A (General purpose moisture determination balance). Các bước tiến hành như sau: Cân 3-5g mẫu, cho vào đĩa cân bằng inox chứa mẫu của cân xác định độ ẩm chuyên dụng, đặt chế độ sấy ở 105°C trong 30 phút.

Cân xác định độ ẩm chuyên dụng sẽ tự tính ra độ ẩm dựa trên khối lượng tươi trước khi sấy và khối lượng khô sau khi sấy đối với từng mẫu Hương nhu tía ở các công thức thí nghiệm khác nhau. Phương pháp tính độ ẩm của mẫu theo nguyên lý sau:

$$\% \text{ Độ ẩm} = \frac{(m_0 - m_1) \times 100}{m_0}$$

Trong đó:

m_0 : Khối lượng mẫu trước khi sấy (g)

m_1 : Khối lượng mẫu sau khi sấy (g)

2.6. HÓA CHẤT, THIẾT BỊ VÀ DỤNG CỤ PHÂN TÍCH

2.6.1. Hóa chất

- Các dung môi tinh khiết của hãng Merck dùng cho phân tích như: C₆H₁₄, MeOH, CH₂Cl₂.
- Các hoá chất Na₂SO₄ khan loại tinh khiết dùng cho phân tích.
- Khí Heli tinh khiết 99,99% dùng làm khí mang.

2.6.2. Dụng cụ

- Dao thái mẫu, bếp điện, giá sắt, kẹp sắt, v.v.
- Các dụng cụ thủy tinh như: cốc, ống đong, pipet, lọ đựng tinh dầu, lọ đựng mẫu phân tích sắc khí khí, v.v.

2.6.3. Thiết bị

- Thiết bị sắc kí khí GCMS sử dụng máy GC-Agilent 7890A , máy phổ khối 5975C, cột sắc ký HP5MS 60m*0.25mm*0.25 μ m.

- Tủ lạnh lưu trữ mẫu tinh dầu, hệ thống chưng cất tinh dầu bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước.

- Cân phân tích, cân xác định độ ẩm A&D Weighing AD-4714A, máy đo độ quay cực, máy đo chiết quang.

2.7. CÁC PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.7.1. Phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước

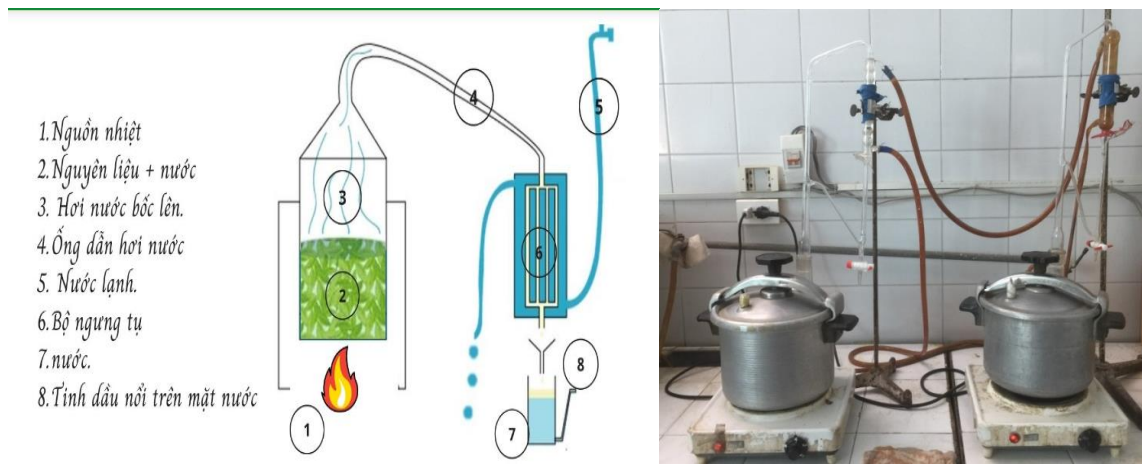
2.7.1.1. Nguyên lý hoạt động

Chưng cất lôi cuốn hơi nước là phương pháp cổ điển và đơn giản nhất, được dùng để chưng cất các chất hữu cơ tự nhiên dễ phân hủy ở nhiệt độ cao, khi thêm nước vào hỗn hợp, nhiệt độ sôi của hỗn hợp giảm xuống, cho phép các chất hóa học hóa hơi ở nhiệt độ thấp hơn.

Phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước dựa vào sự khuếch tán, thẩm thấu, hòa tan và lôi cuốn theo hơi nước của những hợp chất hữu cơ trong tinh dầu chứa trong các mô thực vật, khi tiếp xúc với hơi nước ở nhiệt độ cao. Nguyên lý của quá trình này là hỗn hợp 2 chất lỏng không hòa tan khi được chưng cất sẽ có nhiệt độ sôi thấp hơn nhiệt độ sôi riêng phần của từng chất lỏng, do đó, các hợp chất hóa học trong tinh dầu được chưng cất lôi cuốn cùng hơi nước sẽ có nhiệt độ sôi dưới 100°C, thấp hơn nhiều so với nhiệt độ sôi của tinh dầu, như vậy tránh được sự phân hủy bởi nhiệt. Sau đó, hỗn hợp hơi được làm lạnh, ngưng tụ, tách thành 2 pha là pha nước và pha hữu cơ, dễ dàng cho quá trình tách tinh dầu. Ngoài ra, chưng cất còn được định nghĩa là: “sự tách rời các cấu phần của một hỗn hợp nhiều hợp chất lỏng dựa trên sự khác biệt về áp suất hơi của chúng”.

Trong trường hợp đơn giản, khi chưng cất một hỗn hợp gồm hai hợp chất lỏng không hòa tan vào nhau với áp suất hơi tổng cộng là tổng của hai áp suất hơi riêng phần. Do đó, nhiệt độ sôi của hỗn hợp sẽ tương ứng với một áp

suất hơi tổng cộng xác định, không phụ thuộc vào thành phần phần trăm của hỗn hợp, miễn là lúc đó hai pha lỏng vẫn còn tồn tại. Nếu vẽ đường cong áp suất hơi của từng hợp chất theo nhiệt độ, áp theo đường cong áp suất hơi tổng cộng, thì ứng với mỗi áp suất ta dễ dàng suy ra nhiệt độ sôi tương ứng của hỗn hợp và nhận thấy là nhiệt độ sôi của hỗn hợp luôn luôn thấp hơn nhiệt độ sôi của từng hợp chất. Điểm ưu việt của phương pháp này là người ta có thể điều chỉnh áp suất, nhiệt độ như mong muốn để tận thu sản phẩm, nhưng phải giữ nhiệt độ ở mức giới hạn để tinh dầu không bị phân hủy. Chính vì những đặc tính làm giảm nhiệt độ sôi này mà từ lâu phương pháp chưng cất hơi nước là phương pháp đầu tiên dùng để tách tinh dầu ra khỏi nguyên liệu thực vật.



Hình 2.2. Hệ thống chưng cất tinh dầu bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước

Phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước (hydrodistillation) thường sử dụng bộ thiết bị kiểu cleverger. Đây là một trong những phương pháp chiết xuất tinh dầu phổ biến và hiệu quả được sử dụng rộng rãi để chiết xuất tinh dầu từ các bộ phận khác nhau của cây. Quá trình chưng cất tinh dầu có thể kéo dài từ 1 đến 10h. Hiệu suất tinh dầu được tách ra phụ thuộc vào thời gian chưng cất, nhiệt độ, áp suất và loại nguyên liệu thực vật. Thường thì các loại tinh dầu có tỉ trọng lớn hơn nước, khi chưng cất hơi nước trong thiết bị áp suất cao, cho hiệu suất chiết cao trong thời gian chưng cất ngắn.

Mẫu Hương nhu tía tươi sau khi thu hoạch được lấy mẫu đại diện và đưa ngay về phòng thí nghiệm, cắt nhỏ, chưng cất tinh dầu bằng cách sử dụng

hệ thống chưng cất lôi cuốn hơi nước dựa theo phương pháp của Dược điển Việt Nam V (Bộ Y tế, 2017) [14].

Hàm lượng tinh dầu thu được sau khi chưng cất được tính theo công thức:

Hàm lượng tinh dầu (% , v/w tính trên khối lượng mẫu khô) = (số mL tinh dầu thu được x 100* x 0,9/ số g mẫu tươi chưng cất) x (100/(100% - % độ ẩm**)). Trong đó:

0,9: giá trị thông thường của tỷ trọng tinh dầu.

*100: để tính sang đơn vị % hàm lượng tinh dầu (số mL tinh dầu thu được từ 100 gam mẫu tươi).

**100/(100% - % độ ẩm): để tính từ hàm lượng tinh dầu trong mẫu tươi sang hàm lượng tinh dầu trong mẫu khô.

2.7.1.2. Những yếu tố ảnh hưởng trong chưng cất lôi cuốn hơi nước

- Sự khuếch tán

Ngay sau khi nguyên liệu được làm vỡ vụn thì chỉ có một số mô chứa tinh dầu là bị vỡ và cho tinh dầu thoát tự do theo hơi nước lôi cuốn ra ngoài. Phần lớn tinh dầu còn lại trong các mô thực vật sẽ tiến dần ra khỏi bề mặt nguyên liệu bằng sự hoà tan và thẩm thấu.

Von Rechenberg đã mô tả quá trình chưng cất lôi cuốn hơi nước như sau: “Ở nhiệt độ nước sôi, một phần tinh dầu hòa tan vào trong nước có sẵn trong tế bào thực vật. Dung dịch này sẽ thẩm thấu dần ra bề mặt nguyên liệu và bị hơi nước lôi cuốn đi. Còn nước đi vào nguyên liệu theo chiều ngược lại và tinh dầu lại tiếp tục hòa tan vào lượng nước này. Quy trình này lặp đi lặp lại cho đến khi tinh dầu trong các mô thoát hết ra ngoài”.

Như vậy, sự hiện diện của nước rất cần thiết cho quá trình này. Do vậy, trong trường hợp chưng cất sử dụng hơi nước quá nhiệt, phòng tránh tình trạng để nguyên liệu bị khô. Nhưng nếu lượng nước sử dụng quá mức sẽ dẫn đến trường hợp tinh dầu có chứa những cấu phần tan dễ trong nước.

Ngoài ra, vì nguyên liệu được làm vỡ vụn ra càng nhiều càng tốt, cần làm cho lớp nguyên liệu có một độ xốp nhất định để hơi nước có thể đi xuyên ngang lớp này đồng đều và dễ dàng.

Vì các cấu phân tinh dầu được chưng cất hơi nước theo nguyên tắc nói trên cho nên thông thường những hợp chất nào dễ hòa tan trong nước sẽ được lôi cuốn trước.

Ví dụ: khi chưng cất tinh dầu vỏ bưởi, nguyên liệu được nghiền ra thành các hạt, không nghiền nhỏ như bột, để các túi tinh dầu vỡ ra, đồng thời vẫn tạo độ xốp cho cho hơi nước đi qua.

Bên cạnh đó, cũng có trường hợp, nguyên liệu cần làm vỡ vụn, sử dụng máy xay để nghiền nguyên liệu thành bột, để có thể chưng cất được một cách dễ dàng, làm cho nguyên liệu được tách chiết tinh dầu một cách triệt để nhất. Ví dụ: khi chưng cất mẫu quế, hầu hết nguyên liệu được xay thành bột nhỏ để cất lấy tinh dầu, thời gian cất cũng lâu hơn những nguyên liệu khác.

- Sự thủy phân

Những cấu phân ester trong tinh dầu thường dễ bị thủy phân cho ra acid và alcol khi đun nóng trong một thời gian dài với nước. Do đó, để hạn chế hiện tượng này, sự cất hơi nước phải được thực hiện trong một thời gian càng ngắn càng tốt.

- Nhiệt độ

Đây là một trong những điều kiện quan trọng trong phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước. Bởi vì, nhiệt độ trong khi chưng cất phải duy trì trong giới hạn nhất định, nếu nhiệt độ thấp quá sẽ dẫn đến tình trạng tinh dầu không thể tách ra khỏi nguyên liệu, nếu nhiệt độ cao quá sẽ làm hỏng tinh dầu dẫn đến sự thay đổi mùi của tinh dầu hoặc thu phải những hợp chất không như mong muốn và không phải hợp chất thơm.

Bên cạnh đó, nhiệt độ cao sẽ làm phân hủy tinh dầu, hầu hết các tinh dầu đều kém bền dưới tác dụng của nhiệt nên việc giảm thời gian chưng cất để thu tách tinh dầu ở nhiệt độ cao là việc đáng được lưu ý.

Do đó, khi cần thiết phải dùng hơi nước quá nhiệt (trên 100°C), ta nên thực hiện việc này trong giai đoạn cuối cùng của sự chưng cất, sau khi các cấu phần dễ bay hơi đã lôi cuốn đi hết. Một lợi thế của quá trình chưng cất luôn cuốn hơi nước, đó là: ta có thể điều chỉnh liên tục và được kiểm soát chính xác nhiệt độ để đảm bảo hệ thống luôn duy trì nhiệt độ tối ưu. Các yếu tố trên đều có mối liên hệ lẫn nhau khi tăng nhiệt độ thì sự khuếch tán thẩm thấu sẽ tăng, sự hòa tan tinh dầu trong nước cũng sẽ tăng và sự phân hủy tinh dầu cũng sẽ tăng theo.

- **Thời gian:** Phụ thuộc vào nguyên liệu chứa tinh dầu mà ta chọn thời gian chưng cất khác nhau. Đối với những tinh dầu ở trong lá, hoa và chứa những thành phần có nhiệt độ bay hơi thấp thì thời gian chưng cất rơi vào khoảng 3-4 tiếng, nhưng đối với những tinh dầu ở trong gỗ và có chứa thành phần với nhiệt độ bay hơi cao thì thời gian chưng cất sẽ lâu hơn ví dụ như: tinh dầu quế, tinh dầu trầm hương... Thời gian chưng cất ảnh hưởng đến hiệu suất, thành phần và hoạt tính sinh học của tinh dầu.

Tóm lại, các yếu tố ảnh hưởng trên được xem xét độc lập nhưng trên thực tế, chúng có liên quan mật thiết với nhau và quy về ảnh hưởng của nhiệt độ. Khi tăng nhiệt độ, sự khuếch tán thẩm thấu sẽ tăng, sự hòa tan tinh dầu trong nước cũng tăng và sự phân hủy cũng tăng theo.

2.7.1.3. Ưu nhược điểm của phương pháp

- Ưu điểm:

Thiết bị nhỏ gọn, dễ chế tạo, quy trình kỹ thuật tương đối đơn giản và chi phí rẻ. Thời gian thực hiện tương đối nhanh.

Phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước không sử dụng dung môi công nghiệp, là phương pháp chưng cất thân thiện với môi trường, giúp việc chưng cất tinh dầu trở nên an toàn giúp tinh dầu thu được đạt chất lượng tốt, tạo nên giá trị cao cho tinh dầu. Bên cạnh đó, đây là phương pháp đã được sử dụng rộng rãi và đặc biệt là sản xuất công nghiệp với phạm vi quy mô lớn.

- Nhược điểm:

Chất lượng tinh dầu có thể bị ảnh hưởng nếu trong tinh dầu chứa thành phần dễ bị phân hủy bởi nhiệt độ, áp suất; trong quá trình chưng cất có thể mất các hợp chất dễ bay hơi và làm thay đổi một số thành phần hóa học trong tinh dầu do hiệu ứng nhiệt và thủy phân.

Hiệu suất tinh dầu thu được bị thấp đối với tinh dầu có nhiệt độ sôi cao.

Không có khả năng tách các thành phần khó bay hơi hoặc không bay hơi trong thành phần từ nguyên liệu ban đầu mà trên thực tế những thành phần này rất cần thiết vì chúng có tính chất xác định mùi hương rất cao như sáp, nhựa thơm, v.v.

2.7.2. Phương pháp xác định các chỉ số vật lý của tinh dầu

Để đánh giá được chất lượng của tinh dầu, thông thường ta dựa vào các chỉ số vật lý, như: tỉ trọng, chỉ số chiết quang, độ quay cực cũng như hàm lượng và thành phần hóa học của tinh dầu đó.

2.7.2.1. Xác định tỷ trọng tương đối ở 20°C

Tỷ trọng tương đối ở 20°C là tỷ số giữa khối lượng của một thể tích xác định của tinh dầu ở 20°C đối với khối lượng của cùng một thể tích nước cất ở cùng điều kiện. Tỷ trọng là một trong những chỉ tiêu rất quan trọng trong việc đánh giá chất lượng các mẫu tinh dầu. Tỷ trọng của tinh dầu được đo chính xác đến bốn số sau dấu phẩy.

Tỷ trọng tương đối của các mẫu tinh dầu được xác định ở 20°C sử dụng phương pháp cân trọng lượng (picnomet 1ml) ở 20°C bằng cân phân tích.



Hình 2.3. Bình tỷ trọng thủy tinh pycnometer (trái) và cân phân tích (phải)

2.7.2.2. Xác định chỉ số chiết quang

Tỷ lệ giữa tốc độ ánh sáng trong không khí và tốc độ của ánh sáng trong một chất hay tỷ số giữa sin góc tới và sin góc khúc xạ gọi là chỉ số chiết quang của chất đó. Chỉ số chiết quang là hằng số đặc tính của vật chất, có quan hệ mật thiết đến cấu tạo phân tử của nó. Trong phân tích tinh dầu, chỉ số chiết quang là chỉ tiêu quan trọng. Dựa vào chỉ số này, ta có thể phát hiện được những chất pha trộn trong mẫu đo, xác định được nồng độ của chất tan trong dung dịch cần đo thông qua việc tra bảng liên quan giữa chỉ số khúc xạ và nồng độ chất tan.

Chỉ số chiết quang được đo bằng khúc xạ kế Abbe. Chỉ số khúc xạ của tinh dầu thường dao động từ 1,4500 - 1,5600.

Nguyên tắc hoạt động: Khúc xạ kế Abbe dựa trên nguyên tắc phản xạ toàn phần. Cụ thể là xác định góc tới hạn của sự phản xạ toàn phần của tia sáng đi từ môi trường có chỉ số khúc xạ cao (như thủy tinh) vào môi trường có chỉ số khúc xạ bé hơn của chất cần đo.



Hình 2.4. Máy khúc xạ kế Abbe (trái) và máy đo quay cực kế (phân cực kế) (phải)

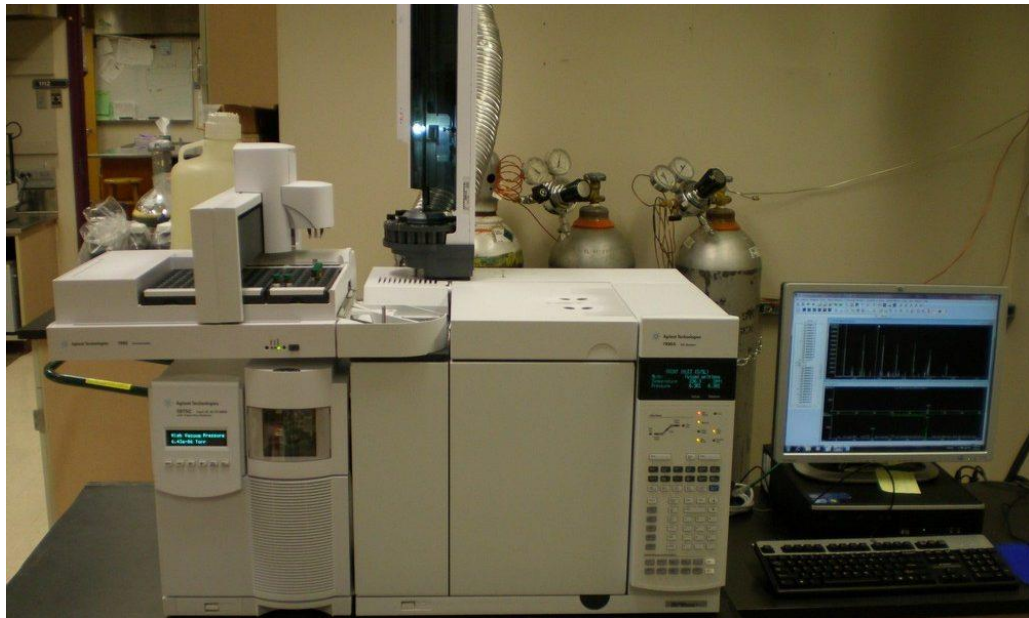
2.7.2.3. Xác định độ quay cực

Độ quay cực là góc tạo ra bởi mặt phẳng phân cực phát quang ở bước sóng 589,3 nm. Nguồn sáng sử dụng trong phân cực kế thường sử dụng đèn hơi natri để tạo ra tia D sử dụng để đo, ứng với vạch D của natri khi ánh sáng đi qua lớp tinh dầu dày 100mm dưới điều kiện nhiệt độ 20⁰C với tỷ trọng chất lỏng (hay nồng độ của dung dịch tính bằng g.mL) góc quay cực riêng được ký hiệu là $[\alpha]_{D_{20}}$. Độ quay cực của tinh dầu là một trong những hằng số vật lý quan trọng để đánh giá chất lượng của tinh dầu. Phương pháp này được sử dụng để định tính, thử độ tinh khiết của các chất hoạt quang bằng cách đo năng suất quay cực của chúng và so sánh với các chỉ tiêu trong các tài liệu. Kỹ thuật định lượng bằng phân cực kế cũng được áp dụng dựa vào quan hệ giữa góc quay cực và nồng độ của các dung dịch chất hoạt quang.

2.7.3. Xác định thành phần hóa học của tinh dầu bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS)

Các tinh dầu được xác định thành phần hóa học bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS) tại Phòng phân tích Hóa học, Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên.

Tinh dầu được thu bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn theo hơi nước có hồi lưu trong 4-6 giờ được phân tích các thành phần hóa học bằng phương pháp sắc ký khí - khối phổ liên hợp (GC/MS) trên hệ thống thiết bị GC-MS, sử dụng máy GC-Agilent 7890A, máy phổ khối 5975C, cột HP5MS với các điều kiện sắc ký như: cột HP5-MS (60 m x 0,25 mm, độ dày màng 0,25 μ m). Nhiệt độ inlet 250 °C. Chương trình nhiệt độ: 60 °C - 4 °C/phút - 240 °C (giữ 5 phút). Khí mang Helium với tốc độ dòng 1ml/phút. Thể tích bơm mẫu là 1 μ l tinh dầu, chế độ chia dòng 100:1. Detector MSD, máy đo phổ khối chạy ở chế độ EI-MS, năng lượng ion hóa là 70 eV, nhiệt độ 280 °C, khối lượng quét phạm vi 35-450 amu trong toàn bộ quá trình quét.



Hình 2.5. Máy sắc ký khí khối phổ GC-MS

Phương pháp GC-FID được thực trong điều kiện tương tự như phương pháp GC-MS.

Các chất được nhận dạng bằng cách so sánh phổ khối lượng và chỉ số thời gian lưu của chúng với các dữ liệu có trong các ngân hàng dữ liệu GC-MS bao gồm NIST 08, Wiley 09 và HPCH1607. Phần mềm xử lý số liệu phổ Mass Finder 4.0.

Thành phần hóa học và hàm lượng các chất trong tinh dầu phần sinh khối trên mặt đất của Hương nhu tía được phân tích bởi hệ thống sắc ký khí

nối ghép khối phổ (GC-MS) và sắc kí khí với detector ion hóa ngọn lửa (GC-FID).

2.7.4. Công thức tính các giá trị sinh khối khô và năng suất tinh dầu

Sinh khối khô của phần trên mặt đất của cây Hương nhu tía được tính trên cơ sở giá trị hàm lượng nước của sinh khối trên mặt đất và khối lượng trung bình phần trên mặt đất của cây trong thí nghiệm, với số lượng ước tính 39.000 cây/1 ha trồng với mật độ 40×50 cm. Công thức tính sinh khối khô:

Sinh khối khô (tấn/ha) = sinh khối tươi \times (100% - % hàm lượng nước)/100. Trong đó:

Sinh khối tươi (tấn/ha) = khối lượng tươi trung bình cây (g/cây) \times 39.000 cây/ha/1.000.000 (đổi từ đơn vị gam sang đơn vị tấn)

Hàm lượng tinh dầu (%) = (% v/w tính trên khối lượng mẫu khô) = (Thể tích tinh dầu chiết xuất được (ml) \times 100* \times tỉ trọng tinh dầu (từ 0,9-1,0)/Khối lượng mẫu tươi chung cất (g) \times (100/ (100% - % Hàm lượng nước)**

Trong đó: 100* - đơn vị tính % hàm lượng tinh dầu (số mL tinh dầu thu được từ 100 gam mẫu tươi);

100/ (100% - % Hàm lượng nước) ** - để tính từ hàm lượng tinh dầu trong mẫu tươi sang hàm lượng tinh dầu trong mẫu khô.

Năng suất tinh dầu (L/ha) = % hàm lượng tinh dầu \times sinh khối khô (tấn/ha) \times 1.000 (đổi từ đơn vị tấn sang đơn vị kg tương đương đơn vị lít)/100.

2.7.5. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, giá trị được thể hiện trong báo cáo bằng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn SD. Kết quả được phân tích bằng phân tích phương sai hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố (ANOVA) khi so sánh kết quả từ các công thức thí nghiệm chiếu sáng LED bổ sung và bón phân. Đối với các giá trị quan trọng, các giá trị trung bình được phân tách

bằng phép thử chênh lệch nhỏ nhất có ý nghĩa (LSD) ở $p \leq 0,05$ bằng cách sử dụng phần mềm IRRISTAT ver. 5.0 (International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines - Viện Nghiên cứu Lúa gạo Quốc tế, Los Baños, Philippines)

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. SỰ BIẾN ĐỔI VỀ HÀM LƯỢNG, THÀNH PHẦN HÓA HỌC TINH DẦU HƯƠNG NHU TÍA DƯỚI CÁC ĐIỀU KIỆN CHIẾU SÁNG BỔ SUNG LED

3.1.1. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng bổ sung LED đến hàm lượng và năng suất tinh dầu Hương nhu tía

Sau 90 ngày thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của các phổ ánh sáng chiếu bổ sung bằng đèn LED khác nhau và các loại phân bón khác nhau lên sinh trưởng, hàm lượng tinh dầu và thành phần hóa học của tinh dầu Hương nhu tía, cây được thu hoạch toàn bộ phần sinh khối trên mặt đất, sau đó cân khối lượng tươi của từng cây, lấy mẫu đại diện cân tại chỗ 30 g/1 mẫu và chuyển về phòng thí nghiệm để xác định hàm lượng nước trong cây nhằm tính được sinh khối khô của phần trên mặt đất của cây.





Hình 3.1. Hương nhu tím thí nghiệm tại Khu nghiên cứu và triển khai công nghệ Cổ Nhuế năm 2022

Mẫu Hương nhu tím sau khi thu hoạch được đưa ngay về phòng thí nghiệm để chưng cất tinh dầu và phân tích thành phần hóa học của tinh dầu. Tinh dầu Hương nhu tím thu được có màu vàng nhạt. Các kết quả thí nghiệm được trình bày lần lượt dưới đây.

Bảng 3.1. Sinh khối khô, hàm lượng tinh dầu, và năng suất tinh dầu của Hương nhu tím trồng trong các công thức chiếu sáng bổ sung LED khác nhau

CT	Sinh khối khô của cây (tấn/ha)*	Hàm lượng tinh dầu (%)	Năng suất tinh dầu (L/ha)*
CTL1	4,01 ± 0,03 ^e	0,607 ± 0,014 ^g	24,32 ± 0,19 ⁱ
CTL2	3,75 ± 0,01 ^g	0,730 ± 0,012 ^e	27,37 ± 0,08 ^f
CTL3	4,71 ± 0,05 ^b	0,588 ± 0,007 ^h	27,71 ± 0,28 ^e
CTL4	3,90 ± 0,01 ^f	0,685 ± 0,013 ^f	26,74 ± 0,04 ^g
CTL5	4,61 ± 0,03 ^c	0,879 ± 0,012 ^c	40,54 ± 0,26 ^b
CTL6	4,08 ± 0,00 ^d	0,781 ± 0,015 ^d	31,88 ± 0,03 ^d
CTL7	4,93 ± 0,02 ^a	0,957 ± 0,019 ^b	47,21 ± 0,19 ^a
CTL8	3,32 ± 0,01 ^h	0,997 ± 0,021 ^a	33,08 ± 0,08 ^c
CTL9	3,13 ± 0,03 ⁱ	0,792 ± 0,017 ^d	24,80 ± 0,22 ^h
CTL10	4,73 ± 0,01 ^b	0,431 ± 0,020 ⁱ	20,35 ± 0,05 ^k
LSD 5%	0,0371	0,0221	0,2715

Ghi chú: LSD 5% là giá trị sai khác nhỏ nhất đáng kể ở mức ý nghĩa 5% (độ tin cậy 95%). Những chữ cái khác nhau (a, b, c, ...) đứng sau các giá trị ở cùng một cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa ở mức 5%. Kết quả TB±SD

với số lần lặp lại $n=3$. *Giá trị ước tính trên cơ sở giá trị khối lượng trung bình cây trong thí nghiệm, độ ẩm của mẫu và mật độ trồng cây và/hoặc hàm lượng tinh dầu.

Sinh khối khô của cây trồng ở công thức CTL7 sau 90 ngày thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED cho giá trị trung bình cao nhất, đạt 4,93 tấn/ha, trong số các công thức chiếu sáng bổ sung LED ở nghiên cứu này. Tiếp theo, sinh khối khô của Hương nhu tím trồng ở công thức CTL10 đạt giá trị 4,73 tấn/ha. Công thức CTL3 có giá trị sinh khối cây trung bình lớn thứ 3, đạt 4,71 tấn/ha. Trong 7 công thức còn lại, giá trị trung bình sinh khối khô của cây dao động từ 3,13 tấn/ha đến 4,61 tấn/ha. Thứ tự so sánh về sinh khối khô của phần trên mặt đất của cây Hương nhu tím ở 10 công thức thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED như sau: CTL7 > CTL10 > CTL3 > CTL5 > CTL6 > CTL1 > CTL4 > CTL2 > CTL8 > CTL9 (Bảng 3.1.). Giá trị trung bình của sinh khối khô của Hương nhu tím ở các công thức chiếu sáng bổ sung LED có sự khác biệt rõ ràng có ý nghĩa ($p < 0,001$).

Bảng 3.2. Tỷ lệ tăng các chỉ tiêu sinh khối khô, hàm lượng tinh dầu và năng suất tinh dầu của Hương nhu tím ở công thức có giá trị cao nhất (CTL7 và CTL8) so với các công thức còn lại

CT	Tỷ lệ tăng sinh khối khô của Hương nhu tím ở công thức CTL7 so với các công thức khác (%)	Tỷ lệ tăng hàm lượng tinh dầu của Hương nhu tím ở công thức CTL8 so với các công thức khác (%)	Tỷ lệ tăng năng suất tinh dầu của Hương nhu tím ở công thức CTL7 so với các công thức khác (%)
CTL1	23,04	64,19	94,09
CTL2	31,52	36,65	72,49
CTL3	4,77	69,59	70,34
CTL4	26,35	45,62	76,55
CTL5	6,97	13,37	16,43

CT	Tỉ lệ tăng sinh khối khô của Hương nhu tía ở công thức CTL7 so với các công thức khác (%)	Tỉ lệ tăng hàm lượng tinh dầu của Hương nhu tía ở công thức CTL8 so với các công thức khác (%)	Tỉ lệ tăng năng suất tinh dầu của Hương nhu tía ở công thức CTL7 so với các công thức khác (%)
CTL6	20,94	27,68	48,09
CTL7	-	4,21	-
CTL8	48,64	-	42,68
CTL9	57,55	25,82	90,35
CTL10	4,39	131,21	131,66

Tính về tỉ lệ, mức độ tăng sinh khối khô của Hương nhu tía trồng ở công thức CTL7 cao hơn so với ở các công thức CTL1, CTL2, CTL3, CTL4, CTL5, CTL6, CTL8, CTL9 và CTL10 tương ứng 23,04%, 31,52%, 4,77%, 26,35%, 6,97%, 20,94%, 48,64%, 57,55% và 4,39% (Bảng 3.2). Như vậy, việc chiếu sáng bổ sung LED ở công thức CTL7 (70% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)-5% Xanh lá cây (520 nm)-5% Đỏ xa (730 nm) trong thời gian 6 tiếng/ngày đêm ở cường độ $200 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) là phù hợp nhất cho cây sinh trưởng đạt giá trị sinh khối cao nhất trong số các công thức thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED ở nghiên cứu này.

So với công thức đối chứng CTL10 không chiếu sáng bổ sung LED, cây chỉ nhận được ánh sáng tự nhiên từ mặt trời chiếu xuống, mức độ tăng/giảm sinh khối khô của Hương nhu tía trồng ở các công thức từ CTL1 đến CTL9 cao hơn/thấp hơn tương ứng -15,15%, -20,63%, -0,36%, -17,38%, -2,41%, -13,68%, 4,39%, -29,77% và -33,74% (Bảng 3.3).

Bảng 3.3. Tỷ lệ tăng các chỉ tiêu sinh khối khô, hàm lượng tinh dầu và năng suất tinh dầu của Hương nhu tím ở các công thức khác so với ở công thức đối chứng CTL10

CT	Tỷ lệ tăng sinh khối khô của Hương nhu tím ở các công thức khác so với ở công thức CTL10 (%)	Tỷ lệ tăng hàm lượng tinh dầu của Hương nhu tím ở các công thức khác so với ở công thức CTL10 (%)	Tỷ lệ tăng năng suất tinh dầu của Hương nhu tím ở các công thức khác so với ở công thức CTL10 (%)
CTL1	-15,15	40,82	19,36
CTL2	-20,63	69,19	34,30
CTL3	-0,36	36,33	35,99
CTL4	-17,38	58,77	31,21
CTL5	-2,41	103,95	98,96
CTL6	-13,68	81,09	56,43
CTL7	4,39	121,86	131,66
CTL8	-29,77	131,21	62,36
CTL9	-33,74	83,76	21,70
CTL10	-	-	-

Như vậy, việc chiếu sáng bổ sung LED ở tất cả 9 công thức từ CTL1 đến CTL9 trong nghiên cứu này đều có tác dụng làm biến đổi tăng sinh khối khô của cây Hương nhu tím so với công thức CTL10 chỉ sử dụng ánh sáng mặt trời tự nhiên. Kết quả trong nghiên cứu này thể hiện cường độ chiếu sáng mạnh ($200 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) làm tăng sinh khối cây so với cường độ chiếu sáng yếu hơn ($150 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ và $100 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), tức là sinh khối Hương nhu tím trong công thức CTL7 > CTL8 > CTL9. Kết quả nghiên cứu hiện tại phù hợp với một số nghiên cứu trước đây khẳng định vai trò của chiếu sáng LED bổ sung làm tăng sinh khối của Hương nhu tím. Cụ thể, các

tác giả trước đây đã báo cáo cường độ chiếu sáng bổ sung ($110 \pm 1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $220 \pm 1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, và $330 \pm 1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) làm tăng sinh khối cây Hương nhu tía đáng kể so với đối chứng, cao nhất ở công thức chiếu bổ sung $330 \pm 1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ làm sinh khối khô của rau mầm Hương nhu tía cao hơn 1,9 lần (Harakotr et al., 2019) [54]. Cường độ chiếu sáng mạnh hơn tương đương tổng năng lượng ánh sáng cung cấp đến cho cây trong một ngày lớn hơn ($\text{DLI } 15 \text{ mol.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) đã được ghi nhận làm tăng sinh khối cây Hương nhu tía đáng kể so với cường độ chiếu sáng yếu hơn tương đương tổng năng lượng ánh sáng cung cấp đến cho cây trong một ngày nhỏ hơn ($\text{DLI } 7 \text{ mol.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$) như sau: sinh khối tươi cao hơn 3,07 lần, sinh khối khô cao hơn 3,6 lần (Walters & Currey, 2018) [59].

Khác với thứ tự về giá trị sinh khối khô của cây, hàm lượng tinh dầu trong bộ phận trên mặt đất của Hương nhu tía trồng ở công thức CTL8 sau 90 ngày thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED cho giá trị trung bình cao nhất 0,997 % (v/w), tính trên khối lượng khô của cây trên cơ sở xác định hàm lượng nước của mẫu thu hoạch. Tiếp theo sau, Hương nhu tía trồng ở công thức CTL7 đứng thứ 2 về hàm lượng tinh dầu, đạt giá trị trung bình 0,957% (v/w), tính trên khối lượng khô của cây. Trong khi đó, hàm lượng tinh dầu trung bình của cây đạt giá trị thấp nhất trong CTL10 (0,431 %). Trong 7 công thức còn lại, giá trị trung bình hàm lượng tinh dầu của cây dao động từ 0,588 % đến 0,897%. Thứ tự so sánh về hàm lượng tinh dầu của phần trên mặt đất của cây Hương nhu tía ở 10 công thức thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED như sau: CTL8 > CTL7 > CTL5 > CTL9 > CTL6 > CTL2 > CTL4 > CTL1 > CTL3 > CTL10 (Bảng 3.1). Các giá trị trung bình về hàm lượng tinh dầu của Hương nhu tía trồng trong công thức CTL6 và CTL9 không khác nhau đáng kể nhưng so với mỗi công thức còn lại có sự khác biệt rõ ràng có ý nghĩa ($p < 0,001$).

Tính về tỉ lệ, mức độ tăng hàm lượng tinh dầu của Hương nhu tía trồng ở công thức CTL8 cao hơn so với ở các công thức CTL1, CTL2, CTL3, CTL4, CTL5, CTL6, CTL7, CTL9 và CTL10, tương ứng 64,25%, 36,58%, 69,56%, 45,55%, 13,42%, 27,66%, 4,18%, 25,88% và 131,32% (Bảng 3.2).

Như vậy, việc chiếu sáng bổ sung LED ở công thức CTL8 (70% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)-5% Xanh lá cây (520 nm)-5% Đỏ xa (730 nm) trong thời gian 6 tiếng/ngày đêm ở cường độ $150 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) là phù hợp nhất cho cây sinh tổng hợp và tích lũy tinh dầu ở bộ phận trên mặt đất của cây đạt giá trị hàm lượng tinh dầu cao nhất trong số các công thức thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED ở nghiên cứu này.

So với công thức đối chứng CTL10 không chiếu sáng bổ sung LED, cây chỉ nhận được ánh sáng tự nhiên từ mặt trời chiếu xuống, mức độ tăng hàm lượng tinh dầu của Hương nhu tía trồng ở các công thức từ CTL1 đến CTL9 cao hơn tương ứng 40,82%, 69,19%, 36,33%, 58,77%, 103,95%, 81,09%, 121,86%, 131,21% và 83,76% (Bảng 3.3).

Như vậy, việc chiếu sáng bổ sung LED ở 9 công thức từ CTL1 đến CTL9 trong nghiên cứu này đều có tác dụng làm biến đổi tăng cường hoạt động sinh tổng hợp và tích lũy tinh dầu ở bộ phận trên mặt đất của cây Hương nhu tía so với công thức CTL10 chỉ sử dụng ánh sáng mặt trời tự nhiên.

Các nghiên cứu trước đây cho thấy hàm lượng tinh dầu Hương nhu tía đa số dao động trên dưới 1%, cụ thể Hương nhu tía tại Ấn Độ có hàm lượng tinh dầu đạt 1,20% khối lượng khô (Joshi, 2013) [71], Hương nhu tía thuộc các kiểu hóa học khác nhau được trồng vào các tháng 4, 5 và 6 trong năm cho hàm lượng tinh dầu từ 0,4% đến 0,9% khối lượng khô, với màu sắc đa dạng từ không màu đến màu vàng nhạt, vàng lục, nâu, trong đó sản lượng tinh dầu cao nhất đối với kiểu hóa học PI 652056 (kiểu chứa nhiều eugenol) là 0,9% ở vụ trồng tháng 6 và thu hoạch sau đó 60 ngày, đối với kiểu hóa học PI 652057 (kiểu chứa nhiều β -caryophyllene) là 0,9% ở vụ trồng tháng 6 và thu hoạch sau đó 60 ngày, đối với kiểu hóa học PI 288779 (kiểu chứa nhiều eugenol vào cuối giai đoạn phát triển) là 1,2% ở vụ trồng tháng 4 và thu hoạch sau đó 90 ngày (Sims et al., 2014) [22]. Hàm lượng tinh dầu loài Hương nhu tía biến động đáng kể giữa các mùa sinh trưởng và các giống cây trồng có kiểu hóa học khác nhau đã được báo cáo trong nghiên cứu của Fuller et al. (2018) [23] với năm 2015 trong khoảng từ 0,5% đến 1,1% và sự gia tăng mạnh vào năm 2016 trong khoảng từ 0,0% đến 2,2%.

Tương tự với chiều hướng về thứ tự sinh khối khô, năng suất tinh dầu của bộ phận trên mặt đất của cây Hương nhu tía trồng ở công thức CTL7 sau khi thu hoạch cao nhất trong số các công thức chiếu sáng bổ sung LED được thí nghiệm, đạt giá trị trung bình 47,21 L/ha. Tiếp theo, khác với chiều hướng về thứ tự sinh khối khô và thứ tự về hàm lượng tinh dầu, năng suất tinh dầu Hương nhu tía trồng ở công thức CTL5 lớn thứ 2, đạt 40,54 L/ha. Trong khi, năng suất tinh dầu của cây đạt giá trị thấp nhất trong CTL10, chỉ được 20,35 L/ha. Nhìn chung, giá trị trung bình của năng suất tinh dầu dao động từ 24,32 L/ha đến 33,08 L/ha trong 7 công thức chiếu sáng bổ sung LED còn lại. Thứ tự so sánh về năng suất tinh dầu của phần trên mặt đất của cây Hương nhu tía ở 10 công thức thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED như sau: CTL7 > CTL5 > CTL8 > CTL6 > CTL3 > CTL2 > CTL4 > CTL9 > CTL1 > CTL10 (Bảng 3.1). Giá trị trung bình của năng suất tinh dầu giữa các công thức thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED trong nghiên cứu này khác biệt nhau đáng kể ($p < 0,001$).

Tính về tỉ lệ, mức độ tăng về năng suất tinh dầu của Hương nhu tía trồng ở công thức CTL7 cao hơn so với ở các công thức CTL1, CTL2, CTL3, CTL4, CTL5, CTL6, CTL8, CTL9 và CTL10 tương ứng 94,09%, 72,49%, 70,34%, 76,55%, 16,43%, 48,09%, 42,68%, 90,35% và 131,66% (Bảng 3.2). Như vậy, việc chiếu sáng bổ sung LED ở công thức CTL7 (70% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)-5% Xanh lá cây (520 nm)-5% Đỏ xa (730 nm) trong thời gian 6 tiếng/ngày đêm ở cường độ $200 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) là phù hợp nhất cho cây sinh tổng hợp và tích lũy tinh dầu ở bộ phận trên mặt đất của cây đạt giá trị năng suất tinh dầu cao nhất trong số các công thức thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED ở nghiên cứu này.

So với công thức đối chứng CTL10 không chiếu sáng bổ sung LED, cây chỉ nhận được ánh sáng tự nhiên từ mặt trời chiếu xuống, mức độ tăng năng suất tinh dầu của Hương nhu tía trồng ở các công thức từ CTL1 đến CTL9 cao hơn tương ứng 19,36%, 34,30%, 35,99%, 31,21%, 98,96%, 56,43%, 131,66%, 62,36% và 21,70% (Bảng 3.3).

Như vậy, việc chiếu sáng bổ sung LED ở 9 công thức từ CTL1 đến CTL9 trong nghiên cứu này đều có tác động làm biến đổi tăng cường năng suất tinh dầu ở bộ phận trên mặt đất của cây Hương nhu tía so với công thức CTL10 chỉ sử dụng ánh sáng mặt trời tự nhiên. Trong đó CT7 có thể nói là tối ưu nhất cho việc gia tăng sinh khối khô, hàm lượng tinh dầu và năng suất tinh dầu của Hương nhu tía.

Nhận xét:

Chế độ chiếu sáng bổ sung LED đã tác động trực tiếp đến quá trình sinh trưởng, sinh tổng hợp và tích lũy tinh dầu trong cây Hương nhu tía. Khi thay đổi các loại phổ ánh sáng bổ sung với bước sóng khác nhau, thời gian chiếu bổ sung khác nhau, mức độ sinh trưởng và sinh tổng hợp, tích lũy tinh dầu ở phần trên mặt đất của Hương nhu tía đã biến đổi theo. Trừ công thức đối chứng CTL10 không chiếu sáng bổ sung LED, tất cả 9 công thức còn lại từ CTL1 đến CTL9 đều được chiếu bổ sung ánh sáng đỏ và xanh dương với tỉ lệ lớn (75%:20% hoặc 70%:20%), chỉ còn lại 5%-10% ánh sáng khác biệt trong 3 nhóm: Nhóm 1 gồm các công thức từ CTL1 đến CTL3 được bổ sung 75% Đỏ - 20% Xanh dương - 5% UVA với cùng một cường độ $120 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ và thời gian chiếu tương ứng 8, 6, 4 giờ/1 ngày đêm; nhóm 2 gồm các công thức từ CTL4 đến CTL6 được bổ sung 75% Đỏ - 20% Xanh dương - 5% Xanh lá cây với cùng một cường độ $120 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ và thời gian chiếu tương ứng 8, 6, 4 giờ/1 ngày đêm; nhóm 3 gồm các công thức từ CTL7 đến CTL9 được bổ sung 70% Đỏ - 20% Xanh dương - 5% Xanh lá cây - 5% Đỏ xa với cùng thời gian chiếu 6 giờ /1 ngày đêm và cường độ tương ứng $200 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $150 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $100 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Xét trong từng nhóm phổ ánh sáng bổ sung, khi trong thành phần ánh sáng có UVA, thời gian phù hợp cho cây sinh trưởng và đạt năng suất tinh dầu cao nhất là chiếu 4 giờ/1 ngày đêm (CTL3). Trong khi đó, khi trong thành phần ánh sáng có xanh lá cây, thời gian phù hợp cho cây sinh trưởng và đạt năng suất tinh dầu cao nhất là chiếu 6 giờ/1 ngày đêm (CTL5). Còn khi trong thành phần ánh sáng có xanh lá cây + đỏ xa, đồng thời giảm ánh sáng đỏ bớt đi 5%, thời

gian chiếu đều là 6 giờ/1 ngày đêm, cường độ ánh sáng phù hợp cho cây sinh trưởng và đạt năng suất tinh dầu cao nhất là $200 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (CTL7).

Như vậy, chiếu sáng bổ sung LED đã làm biến đổi rất rõ rệt các chỉ số sinh trưởng và tích lũy tinh dầu trong phần trên mặt đất của cây Hương nhu tía. Trong số các công thức thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED được thực hiện đối với cây Hương nhu tía ở nghiên cứu này, công thức CTL7 (70% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)-5% Xanh lá cây (520 nm)-5% Đỏ xa (730 nm) trong thời gian 6 tiếng/ngày đêm ở cường độ $200 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) là phù hợp nhất cho cây sinh trưởng, sinh tổng hợp và tích lũy tinh dầu ở bộ phận trên mặt đất của cây đạt giá trị sinh khối khô (4,93 tấn/ha) và năng suất tinh dầu (47,21 L/ha) cao nhất trong số các công thức sau 90 ngày thí nghiệm chiếu sáng bổ sung. Hàm lượng tinh dầu trong phần trên mặt đất của Hương nhu tía trồng ở công thức CTL7 này cao thứ 2 - đạt 0,957% (v/w), đứng ngay sau công thức CTL8 - đạt 0,997 % (v/w). Công thức CTL8 (70% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)-5% Xanh lá cây (520 nm)-5% Đỏ xa (730 nm) trong thời gian 6 tiếng/ngày đêm ở cường độ $150 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) tuy là phù hợp nhất cho cây sinh tổng hợp và tích lũy tinh dầu ở bộ phận trên mặt đất của cây đạt giá trị hàm lượng tinh dầu cao nhất trong số các công thức thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED ở nghiên cứu này, nhưng do sinh khối khô của cây ở công thức này thấp chỉ đứng thứ 8/10 trong tổng số 10 công thức thí nghiệm, nên năng suất tinh dầu của cây chỉ đứng thứ 3/10. Công thức CTL3 tuy có sinh khối khô của Hương nhu tía cao thứ 3 sau CTL7 và CTL10, đạt 4,71 tấn/ha nhưng do hàm lượng tinh dầu thấp chỉ đứng thứ 9/10 công thức thí nghiệm nên năng suất tinh dầu của cây không cao, chỉ đứng thứ 5/10. Công thức CTL5 (75% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)-5% Xanh lá cây (520 nm) trong thời gian 6 tiếng/ngày đêm ở cường độ $120 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) cho sinh khối khô và hàm lượng tinh dầu ở phần trên mặt đất của Hương nhu tía đứng thứ 4/10 và thứ 3/10 trong tổng số 10 công thức thí nghiệm và năng suất tinh dầu của cây được xếp thứ 2 ngay sau công thức CTL7 (Bảng 3.1).

3.1.2. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng bổ sung LED đến các chỉ số hóa lý tinh dầu Hương nhu tía

Tỷ trọng tương đối của tinh dầu cây Hương nhu tía trồng ở 10 công thức chiếu sáng bổ sung LED từ CTL1 đến CTL10 được xác định bằng phương pháp tiêu chuẩn ISO 279:1998 có giá trị khác nhau không nhiều, dao động từ 0,9794 đến 1,0126. Chỉ số khúc xạ của tinh dầu được xác định bằng phương pháp tiêu chuẩn ISO 280:1998 cũng có giá trị không khác nhau nhiều, dao động từ 1,5085 đến 1,5207. Độ quay cực của tinh dầu Hương nhu tía được xác định bằng phương pháp tiêu chuẩn ISO 592:1998 dao động lớn hơn, từ $[-]6,13^\circ$ đến $[-]1,48^\circ$ (Bảng 3.4).

Bảng 3.4. Một số chỉ số hóa lý của tinh dầu Hương nhu tía trồng trong các công thức chiếu sáng bổ sung LED khác nhau

Chỉ số hóa lý, Phương pháp Công thức	Tỷ trọng tương đối (d^{20})	Chỉ số khúc xạ (n^{20})	Độ quay cực ($[\alpha]^{20}_D$)
	ISO 279:1998	ISO 280:1998	ISO 592:1998
CTL1	0,9863	1,5150	$[-]5,58$
CTL2	0,9880	1,5165	$[-]4,55$
CTL3	0,9845	1,5085	$[-]5,59$
CTL4	0,9794	1,5088	$[-]6,13$
CTL5	1,0095	1,5169	$[-]4,95$
CTL6	1,0126	1,5185	$[-]1,48$
CTL7	1,0054	1,5192	$[-]2,49$
CTL8	1,0099	1,5207	$[-]1,98$
CTL9	1,0004	1,5183	$[-]3,50$
CTL10	0,9942	1,5161	$[-]2,51$

3.1.3. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng bổ sung LED đến thành phần hóa học tinh dầu Hương nhu tía

Thành phần hóa học của Hương nhu tía được xác định bằng phương pháp như đã mô tả ở trên. Kết quả được trình bày chi tiết trong bảng 3.5.

Bảng 3.5. Thành phần hóa học của tinh dầu Hương nhu tím trong các công thức chiếu sáng bổ sung LED khác nhau

STT	RI ^a	Hợp chất ^b	Hàm lượng ^c (%)									
			CTL1	CTL2	CTL3	CTL4	CTL5	CTL6	CTL7	CTL8	CTL9	CTL10
1	852	(Z)-Hex-3-en-1-ol	0,4	0,4	0,4	0,5	KPH	KPH	KPH	KPH	KPH	0,1
2	940	α -Pinene	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2	0,0	0,2	0,2	0,2	0,1
3	956	Camphene	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
4	985	β -Pinene	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1
5	1004	n-Octanal	0,1	0,1	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0
6	1049	(E)- β -Ocimene	0,5	0,5	0,5	0,5	0,2	0,2	0,3	0,3	0,0	0,3
7	1069	n-Octanol	0,2	0,3	0,3	0,2	0,1	KPH	0,2	0,1	0,2	0,2
8	1176	Borneol (=Endo-Borneol)	0,6	0,6	0,6	0,7	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5
9	1178	Menthol	KPH	KPH	KPH	KPH	KPH	0,2	KPH	KPH	KPH	KPH
10	1370	Chavibetol (<i>m</i>-Eugenol)	47,6	51,4	42,1	42,2	64,8	69,4	65,8	66,9	60,4	56,3
11	1405	cis- β -Elemene	0,2	0,2	0,3	0,3	KPH	KPH	KPH	0,2	KPH	0,3
12	1409	Methyl eugenol	1,5	1,5	1,5	1,4	1,1	0,9	1,0	0,8	1,2	0,9
13	1431	α -Barbatene	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
14	1441	(E)-β-Caryophyllene	43,8	40,6	48,9	48,3	29,9	26,1	29,1	28,2	33,6	37,3
15	1467	β -Barbatene	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2

STT	RI ^a	Hợp chất ^b	Hàm lượng ^c (%)									
			CTL1	CTL2	CTL3	CTL4	CTL5	CTL6	CTL7	CTL8	CTL9	CTL10
16	1473	α -Humulene	2,6	2,4	2,8	2,8	1,8	1,5	1,7	1,7	2,0	2,2
17	1538	δ -Cadinene	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
18	1543	(E)- γ -Bisabolene	0,2	0,1	0,2	0,2	KPH	KPH	KPH	KPH	KPH	0,1
19	1564	Elemol	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
20	1606	Caryophyllene oxide	0,8	0,6	0,7	0,8	0,5	0,4	0,4	0,4	0,6	0,6
		Total	100	100	99,99	99,80	100	99,79	99,89	99,99	100	100
		Monoterpene hydrocarbon	1,3	1,1	1,3	1,3	0,7	0,4	0,7	0,8	0,5	0,7
		Monoterpene chứa oxy	49,7	53,4	44,2	44,2	66,3	70,7	67,2	68,0	62,1	57,7
		Sesquyterpene hydrocarbon	47,2	43,8	52,7	52,3	32,1	28,0	31,2	30,4	36,0	40,4
		Sesquyterpene chứa oxy	1,0	0,9	1,0	1,1	0,8	0,7	0,7	0,7	0,9	0,9
		Khác	0,8	0,8	0,8	0,9	0,1	0,0	0,2	0,1	0,5	0,3
		Benzenoids	49,1	52,9	43,6	43,6	65,9	70,2	66,8	67,6	61,6	57,2
		Số lượng hợp chất phát hiện được	19	19	19	19	16	16	16	17	16	19

Ghi chú: ^aRI = retention index = hệ số lưu giữ của hợp chất trên cột HP-5MS; ^bThứ tự các hợp chất được rửa giải trên cột HP-5MS; ^cNồng độ tương đối của các hợp chất thành phần được tính toán dựa trên diện tích cực đại của sắc ký FID không kèm chất chuẩn; KPH = không phát hiện được.

Bằng phương pháp sắc ký khí khối phổ (GC/MS) kết hợp đầu dò ion hóa ngọn lửa (FID) đã xác định được thành phần hóa học tinh dầu của bộ phận trên mặt đất của Hương nhu tím ở các công thức chiếu sáng bổ sung LED khác nhau gồm từ 16 đến 20 hợp chất chiếm từ 99,79 đến 100% hàm lượng tinh dầu (Bảng 3.5). Trong đó, các hợp chất chính của tinh dầu loài cây này gồm có: (1) Chavibetol (*m*-Eugenol) có hàm lượng cao nhất trong tinh dầu Hương nhu tím ở 8 công thức chiếu sáng bổ sung, ngoại trừ 2 công thức CTL3 và CTL4, với giá trị dao động từ 47,6% đến 69,4%; (2) (*E*)- β -Caryophyllene có hàm lượng cao thứ 2 trong tinh dầu Hương nhu tím ở 8 công thức chiếu sáng bổ sung, ngoại trừ 2 công thức CTL3 và CTL4, với giá trị dao động từ 26,1% đến 43,8%.

Chiều hướng ngược lại được phát hiện ở 2 công thức CTL3 và CTL4, với hàm lượng (*E*)- β -caryophyllene trong tinh dầu Hương nhu tím đạt cao nhất tương ứng 48,9% và 48,3%, đứng thứ 2 là hàm lượng chavibetol có giá trị tương ứng 42,1% và 42,2%. Các hợp chất có hàm lượng tương đối cao tiếp theo gồm có: α -Humulene với giá trị hàm lượng ở các công thức dao động từ 1,5% đến 2,8%; methyl eugenol với giá trị hàm lượng trong tinh dầu cây dao động trên dưới 1%. Các hợp chất còn lại trong tinh dầu cây được xác định có hàm lượng nhỏ, dao động từ 0,1% - 0,8%.

Nhóm các hợp chất monoterpene chứa oxy chiếm hàm lượng trội nhất trong tinh dầu Hương nhu tím ở các công thức thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED ở nghiên cứu này, với giá trị đạt từ 44,2% đến 70,7%. Trong đó các hợp chất chứa nhân thơm benzen gồm hai hợp chất thuộc nhóm phenylpropanoids trong mẫu nghiên cứu (chavibetol và methyl eugenol) chiếm từ 43,6% đến 70,2%. Tiếp theo, nhóm các hợp chất sesquiterpene hydrocarbon chiếm hàm lượng cao thứ hai trong tinh dầu Hương nhu tím ở nghiên cứu này, với giá trị đạt từ 28,0% đến 52,7%. Ba nhóm còn lại là nhóm các hợp chất monoterpene hydrocarbon, nhóm các hợp chất sesquiterpene chứa oxy và nhóm các hợp chất khác chiếm tỉ lệ rất nhỏ trong tinh dầu Hương nhu tím ở các công thức thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED khác nhau (Bảng 3.5).

Nghiên cứu trước cũng chỉ ra, nhóm các hợp chất monoterpene hydrocarbon, nhóm các hợp chất sesquiterpene chứa oxy trong tinh dầu Hương nhu tía chiếm tỉ lệ nhỏ (Joshi, 2013) [71].

Chavibetol là hợp chất chính chiếm hàm lượng cao nhất trong đa số mẫu tinh dầu Hương nhu tía ở thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED. Đây là một hợp chất thuộc nhóm phenolic, có công thức phân tử là $C_{10}H_{12}O_2$ và khối lượng phân tử 164,20 g. Cấu trúc hóa học của Chavibetol được thể hiện ở hình 3.2.



Hình 3.2. Cấu trúc hóa học của chavibetol (*m*-eugenol)

Chavibetol là một phenolic tự nhiên có hoạt tính sinh học dễ bay hơi, thuộc nhóm sản phẩm tự nhiên phenylpropanoids. Đây là hợp chất có tính acid yếu, ít tan trong nước và tan trong dung môi hữu cơ. Nó là một chất lỏng trong suốt đến màu vàng nhạt với mùi đặc trưng dễ chịu và vị cay nồng. Nó thường được tìm thấy trong nhiều loại cây thảo mộc có mùi thơm như đinh hương, hương nhu, quế, nhục đậu khấu và hạt tiêu. Hợp chất này nổi tiếng với những ứng dụng đa dạng trong nhiều lĩnh vực khác nhau như dược phẩm, thực phẩm, hương liệu, mỹ phẩm, nông nghiệp và nhiều ngành công nghiệp khác. Chavibetol được công nhận tốt về các đặc tính dược lý của nó, bao gồm: kháng khuẩn, chống ung thư, chống oxy hóa, chống viêm và giảm đau. Bên cạnh đó, chavibetol được sử dụng trong y học như một chất gây tê cục bộ và sát trùng. Bên cạnh nhiều ứng dụng, hợp chất này cũng cho thấy nhiều tác dụng phụ khác nhau, đặc biệt nếu dùng quá liều lượng khuyến cáo, nó có thể gây buồn nôn, chóng mặt, co giật và nhịp tim nhanh.

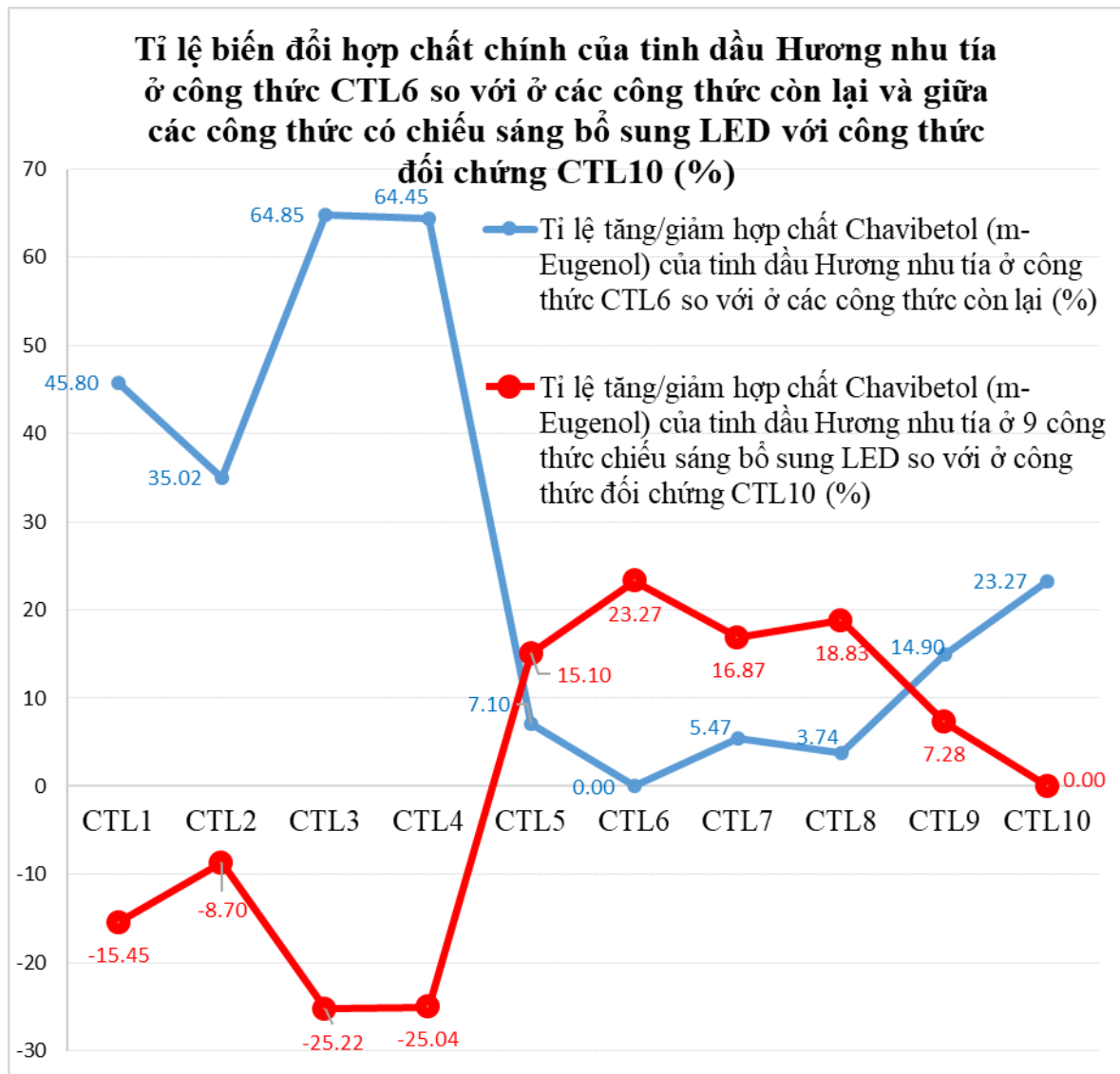
Nhiều tài liệu đã báo cáo về giá trị công dụng của hợp chất eugenol như kháng khuẩn, đặc biệt ức chế hoàn toàn vi khuẩn Gram âm *Pseudomonas aeruginosa* ở nồng độ 2.000 ppm. Sự ức chế này cao so với ampicillin (1 mg/mL) được sử dụng như một biện pháp kiểm soát dương tính. (Singh et al., 2007) [72]. Cơ chế hoạt động của eugenol đã được nghiên cứu để đánh giá tác động lên màng của một số chủng vi khuẩn như: *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* và *Escherichia coli* bằng cách quan sát những thay đổi trong thành phần màng và theo dõi sự rò rỉ protein và lipid. Nghiên cứu tiết lộ rằng eugenol gây ra sự ly giải tế bào thông qua rò rỉ hàm lượng protein và lipid. Ngoài ra, cả thành tế bào và màng của vi khuẩn Gram âm và Gram dương được thử nghiệm đều bị hư hại đáng kể và eugenol gây rò rỉ hàm lượng protein cao sau 120 phút tiếp xúc (Oyedemi et al., 2009) [73]. Eugenol có thể được áp dụng cho các sản phẩm thực phẩm như một chất chống vi trùng thực phẩm mới để ức chế sự phát triển của vi khuẩn và ngăn chặn việc sản xuất ngoại độc tố của *Staphylococcus aureus*, do nó làm giảm một cách phụ thuộc liều lượng các hoạt động gây tan máu và gây hoại tử của chất nổi trên bề mặt nuôi cấy và làm giảm đáng kể việc sản xuất enterotoxin A của tụ cầu khuẩn (Qiu et al., 2010) [74]. Eugenol đã được đánh giá in vivo để dự phòng và điều trị bệnh nấm candida âm đạo thực nghiệm trên chuột bị ức chế miễn dịch. Kết quả chỉ ra rằng điều trị dự phòng bằng eugenol sau 10 ngày cấy đã làm giảm 98,9% số lượng khuẩn lạc *Candida albicans* trong âm đạo của chuột bị nhiễm bệnh (Chami et al., 2004) [75]. Hoạt tính kháng nấm in vivo của các hạt nano lipid chứa eugenol được đánh giá bằng cách sử dụng mô hình nhiễm nấm miệng ở chuột bị ức chế miễn dịch. Sự cải thiện đáng kể đã đạt được đối với tất cả các nhóm vào ngày thứ 8 với giá trị log CFU (đơn vị hình thành khuẩn lạc) đối với dung dịch eugenol thấp hơn một chút ($3,39 \pm 0,08$) so với nhóm đối chứng được xử lý bằng nước muối ($3,89 \pm 0,03$) (Garg & Singh, 2011) [76]. Trong một nghiên cứu khác, hoạt tính kháng nấm của eugenol thể hiện ở giá trị nồng độ ức chế tối thiểu MIC là 0,5 mg/mL. Khả năng can thiệp của eugenol vào cấu trúc của lớp vỏ *C. albicans* đã được nghiên cứu thêm. Tiếp xúc với eugenol (0,5 mg/mL) đã được ghi nhận là tạo ra một sự thay đổi đáng kể trong hình thái vỏ bên ngoài. Điều này cản trở khả

năng kết dính và chuyển đổi sang dạng sợi nấm, do đó làm giảm khả năng *C. albicans* xâm chiếm các mô của vật chủ (Braga et al., 2007) [77]. Phương pháp giết theo thời gian được sử dụng để đánh giá tác dụng ức chế của eugenol và các terpenoid khác. Eugenol có độc tính cao đối với *C. albicans*, giết chết 99,9% chủng này trong vòng bảy phút sau khi tiếp xúc. Người ta đã chứng minh rằng hợp chất này hoạt động bằng cách ảnh hưởng đến tính toàn vẹn của màng và gây ra sự ngừng hoạt động của chu kỳ tế bào (Zore et al., 2011) [78]. Hoạt tính kháng vi-rút trong ống nghiệm của eugenol đã được thử nghiệm chống lại vi-rút herpes simplex-1 (HSV-1) và HSV-2. Sự nhân lên của những vi-rút này bị ức chế với các giá trị IC_{50} lần lượt là 25,6 $\mu\text{g/mL}$ và 16,2 $\mu\text{g/mL}$ đối với HSV-1 và HSV-2. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng việc áp dụng eugenol đã làm chậm sự phát triển của bệnh viêm giác mạc do vi rút herpes ở mô hình chuột (Benencia & Courrges, 2000) [79]. Hoạt tính chống viêm và chống oxy hóa của eugenol cũng được nhiều tác giả quan tâm nghiên cứu. Nói chung, ở nồng độ thấp eugenol có tác dụng chống oxy hóa và chống viêm, trong khi ở nồng độ cao, nó hoạt động như một chất tiền oxy hóa, dẫn đến tổn thương mô do tăng cường tạo ra các gốc tự do (Chogo & Crank, 1981) [80]. Nhiều nghiên cứu cũng cho thấy hoạt tính chống ung thư của eugenol trên các dòng tế bào ung thư cổ tử cung "đột biến" HeLa, tế bào ung thư bạch cầu HL-60 (Hussain et al., 2011; Jaganathan et al., 2011) [81, 82].

Do những công dụng và tác dụng dược lý của Hương nhu tía và các hợp chất thiên nhiên có trong thành phần của cây mang lại, nhất là hợp chất eugenol, Hương nhu tía có thể được dùng vào nhiều mục đích khác nhau trong đời sống hàng ngày. Cụ thể, nhiều nghiên cứu đã minh chứng các tác dụng của eugenol và của tinh dầu Hương nhu tía như giảm tiêu chảy (Bennett et al., 1988) [83], chống co thắt ruột non trên chuột (Trailovic et al., 2009) [84], chống cơn thắt cơ trơn đường thở trên chuột (Lima et al., 2011) [85], hạ sốt rõ rệt khi được tiêm tĩnh mạch và trong dạ dày thỏ (Feng & Lipton, 1987) [86], diệt côn trùng hại gạo và ngũ cốc (Miyazawa & Hisama, 2001) [87], diệt vi khuẩn, nấm men và nấm mốc (Krist et al., 2007) [88].

Trong bảng kết quả phân tích thành phần hóa học của các mẫu tinh dầu Hương nhu tía trồng ở các công thức chiếu sáng bổ sung LED khác nhau, nổi lên một điều rất đáng được chú ý: Ở công thức CTL6 (75% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)- 5% Xanh lá cây (520 nm) trong thời gian 4 tiếng/ngày đêm ở cường độ $120 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), hàm lượng chavibetol (*m*-eugenol) đạt cao nhất (69,4%), cao hơn từ 3,74% (CTL8) đến 64,85% (CTL3) (Hình 3.3) so với ở các công thức còn lại tương đương hàm lượng dao động từ 42,1% (CTL3) đến 66,9% (CTL8) (Bảng 3.5). Thứ tự về hàm lượng chavibetol trong tinh dầu Hương nhu tía ở 10 công thức thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED ở nghiên cứu này như sau: CT6 > CT8 > CT7 > CT5 > CT9 > CT10 > CT2 > CT1 > CT4 > CT3.

So với công thức đối chứng CTL10 không chiếu sáng bổ sung LED, chỉ nhận ánh sáng mặt trời tự nhiên, hàm lượng chavibetol tích lũy trong phần trên mặt đất của Hương nhu tía ở các công thức chiếu sáng bổ sung LED có tỉ lệ dao động từ giảm 25,22% đến tăng 23,27% (Hình 3.3) tương đương hàm lượng đạt từ 74,78% (CTL3) đến 123,27% (CTL6) (Bảng 3.5). Điều này thể hiện tác động phân hóa của các phổ ánh sáng khác nhau đối với sự sinh tổng hợp và tích lũy hợp chất quan trọng của tinh dầu trong cây Hương nhu tía. Cụ thể, nhóm ánh sáng có bổ sung 5% UVA chiếu cùng cường độ trong 8 hay 6 hay 4 giờ/1 ngày đêm (CTL1, CTL2, CTL3) đều làm giảm sự sinh tổng hợp và tích lũy hợp chất chavibetol của tinh dầu Hương nhu tía; nhóm ánh sáng có bổ sung 5% xanh lá cây khi chiếu ở thời gian 8 giờ/1 ngày đêm (CTL4) làm giảm sự sinh tổng hợp và tích lũy hợp chất này, nhưng lại làm tăng khi chiếu cùng cường độ ở 6 hay 4 giờ/1 ngày đêm (CTL5, CTL6) và tăng mạnh nhất ở thời gian chiếu 4 giờ/1 ngày đêm (CTL6); nhóm ánh sáng có bổ sung 5% xanh lá cây + 5% đỏ xa và giảm 5% đỏ, chiếu ở 3 cường độ khác nhau 200, 150 và $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ trong 6 giờ/1 ngày đêm (CTL7, CTL8, CTL9) đều làm tăng sự sinh tổng hợp và tích lũy hợp chất chavibetol của tinh dầu Hương nhu tía và tăng mạnh nhất ở cường độ chiếu $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (CTL8) (Bảng 3.5, Hình 3.3).



Hình 3.3. Tỉ lệ biến đổi hợp chất chính chavibetol (*m*-eugenol) của tinh dầu Hương nhu tía ở công thức CTL6 so với ở các công thức còn lại và giữa các công thức có chiếu sáng bổ sung LED với công thức đối chứng CTL10 (%)

Hàm lượng phenylpropanoids tổng số trong tinh dầu Hương nhu tía ở nghiên cứu hiện tại gồm 2 hợp chất chavibetol và methyl eugenol biến đổi dưới các điều kiện chiếu sáng khác nhau theo thứ tự CTL6 > CTL8 > CTL7 > CTL5 > CTL9 > CTL10 > CTL2 > CTL1 > CTL3 = CTL4. Điều này thể hiện rõ khi trong thành phần ánh sáng bổ sung có UVA với tỉ lệ 5%, cường độ $120 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, và thời gian chiếu ở cả 4, 6 hay 8 giờ/ngày đêm thì đều làm giảm sự tích lũy phenylpropanoids tổng số trong tinh dầu Hương nhu tía.

(*E*)- β -Caryophyllene (BCP) là một hợp chất thuộc nhóm hydrocarbon sesquiterpene tự nhiên có trong hàng trăm loài thực vật. BCP đã được chứng minh là có tiềm năng ứng dụng lớn đối với các tình trạng bệnh lý khác nhau, nó sở hữu một số hoạt động dược lý quan trọng, từ điều trị đau đến rối loạn thần kinh và chuyển hóa. Hợp chất này có công thức phân tử $C_{15}H_{24}$ và khối lượng phân tử 204,35 g. Cấu trúc hóa học của (*E*)- β -caryophyllene được thể hiện ở hình 3.4.



Hình 3.4. Cấu trúc hóa học của (*E*)- β -Caryophyllene

Nhiều nghiên cứu báo cáo tác dụng có lợi của BCP đối với hệ thần kinh trung ương, đặc biệt là chống lại các bệnh lý thoái hóa thần kinh và viêm thần kinh, giảm đau (Ojha et al., 2016; Sousa et al., 2008) [89,90], giải lo âu và an thần (Rabbani et al., 2015) [91], chống co giật, làm giảm stress oxy hóa và quá trình chết theo chương trình của tế bào thần kinh (Machado et al., 2018) [92]. BCP đã làm giảm đáng kể sự gia tăng của hai dòng tế bào ung thư ruột kết, HT-29 và HCT-116, và dòng tế bào ung thư tuyến tụy, PANC-1. Hơn nữa, nó đã khá thành công trên các loại tế bào ung thư khác (Dahham et al., 2015) [93] như dòng tế bào ung thư ruột CaCo-2 (Ambrož et al., 2015) [94], tế bào ung thư vú MCF-7 ở người (Legault & Pichette, 2007) [95]. Nhiều nghiên cứu đã tiết lộ rằng BCP tăng cường hiệu quả của thuốc chống ung thư (Legault & Pichette, 2007; Fidyt et al., 2016) [95, 96]. BCP đã tạo ra kết quả mạnh mẽ chống lại các tác động tiêu cực của rối loạn lipid máu và viêm mạch máu ở chuột (Youssef et al., 2019) [97]. Bên cạnh đó, BCP có hoạt tính kháng khuẩn đối với cả vi khuẩn gram dương, chẳng hạn như *Staphylococcus aureus*

và vi khuẩn Gram âm, bao gồm cả *Escherichia coli* (Yoo & Jwa, 2018) [98]. BCP tác động lên các mô khác nhau, như mô xương, tăng cường quá trình khoáng hóa nguyên bào xương, thúc đẩy quá trình tạo xương và ức chế tạo mỡ, đây là một đặc tính thú vị cho ứng dụng tiềm năng trong điều trị loãng xương, đặc biệt là bệnh liên quan đến béo phì và tiểu đường (Yamaguchi & Levy, 2016) [99]. Tuy nhiên, hợp chất này cũng có độc tính. BCP được phân loại theo OECD (Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế) hướng dẫn 423 là chất loại năm (độc hại ở liều lượng lớn hơn 2000 mg/kg) (European Food Safety Authority (EFSA), 2009) [100]. Các nghiên cứu về độc tính cấp tính đã được thực hiện. Dùng đường uống 2000 mg/kg phân tử ở chuột Thụy Sĩ cái không gây ra tác dụng độc hại (da Silva Oliveira et al., 2018) [101], trong khi ở chuột cống LD50 lớn hơn 5000 mg/kg đã được ghi nhận (Schmitt et al., 2016) [102].

Trong bảng kết quả phân tích thành phần hóa học của các mẫu tinh dầu Hương nhu tía trồng ở các công thức chiếu sáng bổ sung LED khác nhau, hai công thức CTL3 (75% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)- 5% UVA (365 nm) trong thời gian 4 tiếng/ngày đêm ở cường độ $120 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) và CTL4 (75% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)-5% Xanh lá cây (520 nm) trong thời gian 8 tiếng/ngày đêm ở cường độ $120 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) có hàm lượng (*E*)- β -caryophyllene đạt cao nhất 48,9% và 48,3% so với ở 8 công thức còn lại. Điều đáng chú ý, đây là hai công thức chiếu sáng bổ sung LED đã mang lại hiệu quả sinh tổng hợp và tích lũy chavibetol ở hàm lượng thấp nhất trong tinh dầu của phần trên mặt đất của Hương nhu tía như đã phân tích ở trên (Bảng 3.5). Thứ tự về hàm lượng (*E*)- β -caryophyllene trong tinh dầu Hương nhu tía ở 10 công thức thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED ở nghiên cứu này trái ngược hoàn toàn với thứ tự về hàm lượng chavibetol (CT6 > CT8 > CT7 > CT5 > CT9 > CT10 > CT2 > CT1 > CT4 > CT3), cụ thể như sau: CT3 > CT4 > CT1 > CT2 > CT10 > CT9 > CT5 > CT7 > CT8 > CT6.

So với một số kết quả nghiên cứu trước đây, thành phần hợp chất chính của Hương nhu tía trong nghiên cứu này gồm chavibetol và (*E*)- β -

caryophyllene có sự khác biệt. Thành phần chính trong tinh dầu Hương nhu tía có thể dao động theo thời gian sinh trưởng của cây, cụ thể, giai đoạn sinh trưởng 30 ngày đầu có thể thu được hàm lượng β -caryophyllene cao, và giai đoạn sinh trưởng 60 ngày thì eugenol trở thành thành phần tinh dầu chiếm ưu thế (Sims et al., 2014) [22]. Bên cạnh đó, thời tiết cũng đóng vai trò quan trọng trong việc sinh tổng hợp tích lũy thành phần hợp chất chính của tinh dầu Hương nhu tía, cụ thể trong mùa ít mưa và nắng nóng kéo dài thì hàm lượng eugenol tăng lên (Fuller et al., 2018) [23]. Các giống cây trồng khác nhau và khu vực địa lý với điều kiện khí hậu, thổ nhưỡng khác nhau cũng cho thành phần hợp chất chính trong tinh dầu khác nhau. Nghiên cứu của Bunrathep et al. (2007) [103] cho thấy thành phần chính trong tinh dầu Hương nhu tía cây màu đỏ và cây màu xanh tại Thái Lan là methyl eugenol có hàm lượng cao nhất đạt 47,18% và 53,67%, và β -caryophyllene có hàm lượng cao thứ hai đạt 37,83% và 35,2%. Tương tự, nghiên cứu của Chutimanukul et al. (2022) [55] cũng ghi nhận hai hợp chất chính trong tinh dầu Hương nhu tía cây màu đỏ và cây màu xanh tại Thái Lan như sau: methyl eugenol có hàm lượng cao nhất đạt 78,76-80,77% và 78,19%-87,52%, caryophyllene có hàm lượng cao thứ hai đạt 12,01%-14,53% và 7,77%-13,11%, tùy điều kiện chiếu sáng bổ sung khác nhau. Trong khi đó, Hương nhu tía tại Ấn Độ có thành phần chính trong tinh dầu là methyl eugenol đạt đến 92,4%, riêng eugenol (2,4%) và β -caryophyllene (1,3%) chiếm hàm lượng rất nhỏ (Joshi, 2013) [71]. Nghiên cứu khác lại cho thấy thành phần chính trong tinh dầu Hương nhu tía tại Ấn Độ gồm 3 hợp chất eugenol, methyl chavicol và caryophyllene (Saikia & Pandey, 2014) [67]. Gần đây, thành phần chính trong tinh dầu Hương nhu tía tại 2 khu vực khác nhau là Bishoftu và Debre Berhan thuộc Ethiopia được báo cáo gồm các hợp chất với hàm lượng tương ứng như sau: β -bisabolene (31,38% và 24,45%), 4-[(1Z)-1,5-dimethyl-1,4-hexadien-1-yl]-1- methyl xiclohexen (25,56% và 19,61%), eucalyptol (17,12% và 13,42%).

Nhận xét:

Chế độ chiếu sáng bổ sung LED đã tác động trực tiếp đến khả năng sinh tổng hợp, tích lũy các hợp chất đặc biệt là hợp chất chính chavibetol

trong tinh dầu trong cây Hương nhu tía. Khi thay đổi các loại phổ ánh sáng bổ sung với bước sóng khác nhau, thời gian chiếu bổ sung khác nhau, mức độ sinh tổng hợp, tích lũy hợp chất chính chavibetol trong tinh dầu ở phần trên mặt đất của Hương nhu tía đã biến đổi theo. Như ở trên đã đề cập, trừ công thức đối chứng CTL10 không chiếu sáng bổ sung LED, tất cả 9 công thức còn lại từ CTL1 đến CTL9 đều được chiếu bổ sung ánh sáng đỏ và xanh dương với tỉ lệ lớn (75%:20% hoặc 70%:20%), chỉ còn lại 5%-10% ánh sáng khác biệt trong 3 nhóm: Nhóm 1 gồm các công thức từ CTL1 đến CTL3 được bổ sung 75% Đỏ - 20% Xanh dương - 5% UVA với cùng một cường độ $120 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ và thời gian chiếu tương ứng 8, 6, 4 giờ/1 ngày đêm; nhóm 2 gồm các công thức từ CTL4 đến CTL6 được bổ sung 75% Đỏ - 20% Xanh dương - 5% Xanh lá cây với cùng một cường độ $120 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ và thời gian chiếu tương ứng 8, 6, 4 giờ/1 ngày đêm; nhóm 3 gồm các công thức từ CTL7 đến CTL9 được bổ sung 70% Đỏ - 20% Xanh dương - 5% Xanh lá cây - 5% Đỏ xa với cùng thời gian chiếu 6 giờ /1 ngày đêm và cường độ tương ứng $200 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $150 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $100 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Xét trong từng nhóm phổ ánh sáng bổ sung, khi trong thành phần ánh sáng bổ sung có UVA, thời gian phù hợp cho cây sinh tổng hợp, tích lũy hợp chất chính chavibetol trong tinh dầu cao nhất là chiếu 6 giờ/1 ngày đêm (công thức CTL2), tiếp theo là 8 giờ/1 ngày đêm (công thức CTL1) và thấp nhất là chiếu 4 giờ/1 ngày đêm (công thức CTL3). Khác với trường hợp bổ sung ánh sáng UVA, khi trong thành phần ánh sáng có xanh lá cây, thời gian phù hợp cho cây sinh tổng hợp, tích lũy hợp chất chính chavibetol trong tinh dầu cao nhất là chiếu 4 giờ/1 ngày đêm (công thức CTL6), tiếp theo là 6 giờ/1 ngày đêm (công thức CTL5) và thấp nhất là chiếu 8 giờ/1 ngày đêm (công thức CTL4). Khi trong thành phần ánh sáng có xanh lá cây + đỏ xa, đồng thời giảm ánh sáng đỏ bớt đi 5%, thời gian chiếu đều là 6 giờ/1 ngày đêm, cường độ ánh sáng phù hợp cho cây sinh tổng hợp, tích lũy hợp chất chính chavibetol trong tinh dầu cao nhất là $150 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (công thức CTL8), tiếp theo là $200 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (công thức CTL7) và thấp nhất là $100 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (công thức CTL9).

Chế độ chiếu sáng bổ sung LED cũng đã ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng sinh tổng hợp, tích lũy hợp chất chính cao thứ hai trong tinh dầu trong cây Hương nhu tía là (*E*)- β -caryophyllene đứng sau chavibetol. Tuy nhiên, thứ tự về hàm lượng của hợp chất này được ghi nhận là ngược lại hoàn toàn so với thứ tự về hàm lượng chavibetol trong tinh dầu Hương nhu tía.

Như vậy, chiếu sáng bổ sung LED đã làm biến đổi rất rõ rệt hiệu quả sinh tổng hợp, tích lũy hàm lượng hai hợp chất chính chavibetol và (*E*)- β -caryophyllene trong tinh dầu trong phần trên mặt đất của cây Hương nhu tía. Trong số các công thức thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED được thực hiện đối với cây Hương nhu tía ở nghiên cứu này, công thức CTL6 (75% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)-5% Xanh lá cây (520 nm) trong thời gian 4 tiếng/ngày đêm ở cường độ $120 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) là phù hợp nhất cho cây sinh tổng hợp và tích lũy hàm lượng hợp chất chính chavibetol trong tinh dầu ở bộ phận trên mặt đất của cây đạt cao nhất 69,4% sau 90 ngày thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED. Ngược lại, công thức CTL3 (75% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)- 5% UVA (365 nm) trong thời gian 4 tiếng/ngày đêm ở cường độ $120 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) là phù hợp nhất cho cây sinh tổng hợp và tích lũy hàm lượng hợp chất chính thứ hai (*E*)- β -caryophyllene trong tinh dầu ở bộ phận trên mặt đất của cây đạt cao nhất 48,9% sau 90 ngày thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED.

3.2. SỰ BIẾN ĐỔI VỀ HÀM LƯỢNG, THÀNH PHẦN HÓA HỌC TINH DẦU HƯƠNG NHU TÍA DƯỚI CÁC ĐIỀU KIỆN BÓN PHÂN

3.2.1. Ảnh hưởng của các điều kiện bón phân đến hàm lượng và năng suất tinh dầu Hương nhu tía

Sinh khối khô riêng phần trên mặt đất của cây Hương nhu tía được tính trên cơ sở giá trị hàm lượng nước của sinh khối trên mặt đất, khối lượng trung bình phần trên mặt đất của cây trong thí nghiệm, với số lượng ước tính 39.000 cây/1 ha trồng với mật độ 40×50 cm. Sinh khối khô của Hương nhu tía trồng ở công thức CTP2 sau 90 ngày thí nghiệm bón phân cao nhất trong số các công thức bón phân ở nghiên cứu này, đạt giá trị trung bình là 4,73 tấn/ha. Sinh khối khô của Hương nhu tía trồng ở công thức CTP1 có giá trị trung

bình lớn thứ 2, đạt 4,62 tấn/ha và khác biệt không đáng kể so với ở công thức CTP1. Tiếp theo, trong công thức CTP3, và công thức CTP4 lần lượt có giá trị sinh khối khô trung bình là: 3,37 tấn/ha và 2,94 tấn/ha. Thứ tự so sánh về sinh khối khô của phần trên mặt đất của cây Hương nhu tía ở 4 công thức thí nghiệm phân bón thu được là: CTP2 > CTP1 > CTP3 > CTP4 (Bảng 3.6). Giá trị trung bình của sinh khối khô của Hương nhu tía ở các công thức CTP1 và CTP2 khác biệt đáng kể so với ở công thức CTP3, và CTP4 ($p < 0,001$).

Bảng 3.6. Sinh khối khô, hàm lượng tinh dầu và năng suất tinh dầu của Hương nhu tía trồng trong các công thức bón phân khác nhau

CT	Sinh khối khô của cây (tấn/ha)*	Hàm lượng tinh dầu (%)	Năng suất tinh dầu (L/ha)*
CTP1	4,62 ± 0,10 ^a	0,425 ± 0,011 ^d	19,63 ± 0,42 ^{bc}
CTP2	4,73 ± 0,03 ^a	0,831 ± 0,015 ^a	39,29 ± 0,21 ^a
CTP3	3,37 ± 0,02 ^b	0,588 ± 0,010 ^b	19,85 ± 0,09 ^b
CTP4	2,94 ± 0,09 ^c	0,524 ± 0,016 ^c	15,41 ± 0,45 ^d
LSD 5%	0,15	0,025	0,75

*Ghi chú: LSD 5% là giá trị sai khác nhỏ nhất đáng kể ở mức ý nghĩa 5% (độ tin cậy 95%). Những chữ cái khác nhau (a, b, c,...) đứng sau các giá trị ở cùng một cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa ở mức 5%. Kết quả TB±SD với số lần lặp lại n=3. *Giá trị ước tính trên cơ sở giá trị khối lượng trung bình cây trong thí nghiệm, độ ẩm của mẫu và mật độ trồng cây hoặc hàm lượng tinh dầu.*

Tính về tỉ lệ, mức độ tăng sinh khối của Hương nhu tía trồng ở công thức CTP2 cao hơn so với ở các công thức CTP1, CTP3 và CTP4 tương ứng 2,29%, 40,14% và 60,71% (Bảng 3.7). Như vậy, việc bón kết hợp chế phẩm phân bón vi sinh cùng với phân chuồng hoai mục và các loại phân N, P, K với liều lượng ở công thức CTP2 (1 ha bón lót 10 tấn phân chuồng + 15 kg chế phẩm phân bón vi sinh+150 kg lân +75 kg kali, và bón thúc 200 kg đạm +

75kg kali) là phù hợp nhất cho cây sinh trưởng đạt giá trị sinh khối cao nhất trong số các công thức thí nghiệm bón phân ở nghiên cứu này.

Bảng 3.7. Tỷ lệ tăng các chỉ tiêu sinh khối khô, hàm lượng tinh dầu và năng suất tinh dầu của Hương nhu tía ở công thức có giá trị cao nhất (CTP2) so với các công thức còn lại

CT	Tỷ lệ tăng sinh khối khô của Hương nhu tía ở công thức CTP2 so với các công thức khác (%)	Tỷ lệ tăng hàm lượng tinh dầu của Hương nhu tía ở công thức CTP2 so với các công thức khác (%)	Tỷ lệ tăng năng suất tinh dầu của Hương nhu tía ở công thức CTP2 so với các công thức khác (%)
CTP1	2,29	95,81	100,13
CTP2	-	-	-
CTP3	40,14	41,31	97,90
CTP4	60,71	58,51	154,87

So với công thức đối chứng CTP1 không bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh, mức độ biến đổi sinh khối khô của Hương nhu tía trồng ở công thức CTP2 cao hơn 2,29%, nhưng ở các công thức CTP3 và CTP4 lại thấp hơn tương ứng 27,01% và 36,35% do lượng dinh dưỡng các nguyên tố đa lượng N, P, K đều đã bị giảm (Bảng 3.8). Như vậy, việc bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh làm tăng sinh khối khô của phần trên mặt đất của Hương nhu tía nhưng khi giảm lượng phân bón N, P, K thì dù tăng lượng chế phẩm phân bón vi sinh thì sinh khối khô của cây vẫn bị giảm. Kết quả của nghiên cứu hiện tại cũng phù hợp với báo cáo về tác dụng của sự kết hợp phân bón đa lượng với phân bón sinh học đã được ghi nhận làm tăng sinh khối khô của Hương nhu tía ở Ấn Độ (Smitha et al., 2019) [66]. Điều này có thể do nhóm vi sinh vật cung cấp các vi khuẩn vùng rễ đã thúc đẩy tăng trưởng thực vật, tạo điều kiện thuận lợi cho sự sẵn có/dễ tiêu và hấp thu chất dinh dưỡng và cuối cùng làm tăng năng suất trong nhiều loại cây trồng.

Bảng 3.8. Tỷ lệ tăng các chỉ tiêu sinh khối khô, hàm lượng tinh dầu và năng suất tinh dầu của Hương nhu tía ở các công thức khác so với ở công thức đối chứng CTP1

CT	Tỷ lệ tăng sinh khối khô của Hương nhu tía ở các công thức khác so với ở công thức CTP1 (%)	Tỷ lệ tăng hàm lượng tinh dầu của Hương nhu tía ở các công thức khác so với ở công thức CTP1 (%)	Tỷ lệ tăng năng suất tinh dầu của Hương nhu tía ở các công thức khác so với ở công thức CTP1 (%)
CTP1	-	-	-
CTP2	2,29	95,81	100,13
CTP3	-27,01	38,56	1,13
CTP4	-36,35	23,53	-21,48

Tương tự với chiều hướng ở sinh khối khô của cây, hàm lượng tinh dầu của Hương nhu tía trồng ở công thức CTP2 sau 90 ngày thí nghiệm bón phân cao nhất trong số các công thức bón phân ở nghiên cứu này, đạt giá trị trung bình 0,831% (v/w), tính trên khối lượng khô của cây trên cơ sở xác định hàm lượng nước của mẫu thu hoạch. Tiếp theo sau, Hương nhu tía trồng ở công thức CTP3 có hàm lượng tinh dầu đứng thứ 2, khác với thứ tự về giá trị sinh khối khô của cây, rồi đến công thức CTP4, công thức CTP1, với giá trị hàm lượng tinh dầu lần lượt là: 0,588 %, 0,524% và 0,425% (v/w), tính trên khối lượng khô của cây (Bảng 3.6). Các giá trị trung bình về hàm lượng tinh dầu của Hương nhu tía trồng trong 4 công thức bón phân khác nhau đều khác biệt nhau đáng kể ($p < 0,001$).

Tính về tỉ lệ, mức độ tăng hàm lượng tinh dầu của Hương nhu tía trồng ở công thức CTP2 cao hơn so với ở các công thức CTP1, CTP3 và CTP4 tương ứng 95,81%, 41,33% và 58,51% (Bảng 3.7). Như vậy, việc bón kết hợp chế phẩm phân bón vi sinh cùng với phân chuồng hoai mục và các loại phân N, P, K với liều lượng ở công thức CTP2 (1 ha bón lót 10 tấn phân chuồng +

15 kg chế phẩm phân bón vi sinh+150 kg lân +75 kg kali, và bón thúc 200 kg đạm + 75kg kali) là phù hợp nhất cho cây sinh tổng hợp và tích lũy tinh dầu ở bộ phận trên mặt đất của cây đạt giá trị hàm lượng tinh dầu cao nhất trong số các công thức thí nghiệm bón phân ở nghiên cứu này.

So với công thức đối chứng CTP1 không bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh, mức độ biến đổi hàm lượng tinh dầu của Hương nhu tía trồng ở các công thức từ CTP2 đến CTP4 cao hơn tương ứng 95,81%, 38,56%, và 23,53% (Bảng 3.8). Như vậy, việc bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh làm tăng quá trình sinh tổng hợp và tích lũy hàm lượng tinh dầu trong phần trên mặt đất của Hương nhu tía ngay cả khi giảm lượng phân bón N, P, K. Kết quả của nghiên cứu hiện tại cũng phù hợp với báo cáo về tác dụng của sự kết hợp phân bón đa lượng với phân bón sinh học đã được ghi nhận làm tăng hàm lượng tinh dầu của Hương nhu tía ở Ấn Độ (Smitha et al., 2019) [66].

Tương tự với chiều hướng về thứ tự sinh khối khô và hàm lượng tinh dầu, năng suất tinh dầu của cây Hương nhu tía trồng ở công thức CTP2 sau khi thu hoạch cao nhất trong số các công thức bón phân được thí nghiệm, đạt giá trị trung bình là 39,29 L/ha. Tương tự với chiều hướng về thứ tự hàm lượng tinh dầu, năng suất tinh dầu Hương nhu tía trồng ở công thức CTP3 lớn thứ 2, đạt 19,85 L/ha. Tuy nhiên, do sinh khối khô của Hương nhu tía trồng ở công thức CTP1 cao hơn nhiều so với ở công thức CTP4, nên mặc dù hàm lượng tinh dầu thấp hơn, cây trồng ở công thức CTP1 có năng suất tinh dầu cao hơn ở công thức CTP4, đạt tương ứng 19,63 L/ha so với 15,41 L/ha (Bảng 3.6). Giá trị trung bình của năng suất tinh dầu giữa các công thức thí nghiệm bón phân trong nghiên cứu này khác biệt nhau đáng kể ($p < 0,001$).

Tính về tỉ lệ, mức độ tăng năng suất tinh dầu của Hương nhu tía trồng ở công thức CTP2 cao hơn so với ở các công thức CTP1, CTP3 và CTP4 tương ứng 100,13%, 97,90% và 154,87% (Bảng 3.7). Như vậy, việc bón kết hợp chế phẩm phân bón vi sinh cùng với phân chuồng hoai mục và các loại phân N, P, K với liều lượng ở công thức CTP2 (1 ha bón lót 10 tấn phân chuồng + 15 kg chế phẩm phân bón vi sinh + 150 kg lân + 75 kg kali, và bón thúc 200 kg đạm + 75kg kali) là phù hợp nhất cho cây sinh tổng hợp và tích lũy tinh dầu ở bộ

phần trên mặt đất của cây đạt giá trị năng suất tinh dầu cao nhất trong số các công thức thí nghiệm bón phân ở nghiên cứu này.

So với công thức đối chứng CTP1 không bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh, mức độ biến đổi năng suất tinh dầu của Hương nhu tía trồng ở các công thức CTP2 và CTP3 cao hơn tương ứng 100,13%, và 1,13%. Tuy nhiên, năng suất tinh dầu của Hương nhu tía trồng ở công thức CTP4 giảm đi đáng kể 21,48% (Bảng 3.8). Như vậy, việc bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh làm tăng năng suất tinh dầu trong phần trên mặt đất của Hương nhu tía ngay cả khi giảm một phần lượng phân bón N, P, K ở công thức CTP3, nhưng khi giảm lượng lớn phân bón N, P, K ở công thức CTP4 thì vai trò của chế phẩm phân bón vi sinh không bù đắp lại được và dẫn đến năng suất tinh dầu của cây bị giảm mạnh. Kết quả của nghiên cứu hiện tại cũng phù hợp với báo cáo về tác dụng của sự kết hợp phân bón đa lượng với phân bón sinh học đã được ghi nhận làm tăng năng suất tinh dầu của Hương nhu tía ở Ấn Độ (Smitha et al., 2019) [66]. Các giá trị về năng suất tinh dầu tăng lên có thể là do sự gia tăng các thông số tăng trưởng hoặc sinh tổng hợp, tích lũy tinh dầu trong cây, điều này có thể dẫn đến cải thiện sự hấp thu các chất dinh dưỡng và các hoạt động quang hợp, tổng hợp các hợp chất hữu cơ trong đó có các hợp chất dễ bay hơi là tinh dầu của cây.

Nhận xét:

Chế độ bón phân đã tác động trực tiếp đến quá trình sinh trưởng và sinh tổng hợp, tích lũy sinh dầu trong cây Hương nhu tía. Khi liều lượng phân bón được thay đổi khác nhau, mức độ sinh trưởng và sinh tổng hợp, tích lũy tinh dầu ở phần trên mặt đất của Hương nhu tía đã biến đổi theo. Trong số các công thức thí nghiệm bón phân được thực hiện đối với cây Hương nhu tía ở nghiên cứu này, công thức CTP2 (1 ha bón lót 10 tấn phân chuồng + 15 kg chế phẩm phân bón vi sinh + 150 kg lân + 75 kg kali, và bón thúc 200 kg đạm + 75kg kali) mang lại hiệu quả tốt nhất về sinh khối khô, hàm lượng và năng suất tinh dầu. Trong khi đó, ở các công thức CTP3 và CTP4, với lượng chế phẩm phân bón vi sinh tăng và lượng phân bón vô cơ N, P, K giảm thì sinh khối khô của cây giảm đáng kể (chỉ đạt 3,37 tấn/ha và 2,94 tấn/ha) so với ở

công thức CTP1 và CTP2 (đạt 4,62 tấn/ha và 4,73 tấn/ha) được bón lượng N, P, K nhiều hơn. Điều này thể hiện vai trò quan trọng của các nguyên tố đa lượng N, P, K đối với sự sinh trưởng tăng sinh khối của cây. Tuy nhiên, vai trò của chế phẩm phân bón vi sinh được thể hiện rất hiệu quả đối với hoạt động sinh tổng hợp và tích lũy tinh dầu ở phần trên mặt đất của Hương nhu tía. Cụ thể, ở công thức CTP1 không sử dụng chế phẩm phân bón vi sinh, hàm lượng tinh dầu chỉ đạt 0,425% so với ở các công thức CTP2, CTP3 và CTP4 đạt tương ứng 0,831%, 0,588% và 0,524%. Việc thay thế một phần phân bón vô cơ N, P, K bằng chế phẩm phân bón vi sinh vẫn đảm bảo năng suất tinh dầu của Hương nhu tía được tương đương, thậm chí cao hơn một chút ở công thức CT3 (1 ha bón lót 10 tấn phân chuồng + 20 kg chế phẩm phân bón vi sinh + 100kg lân + 50kg kali, và bón thúc 100kg đạm + 50kg kali) – đạt 19,85 L/ha so với ở công thức CTP1 (1 ha bón lót 10 tấn phân chuồng + 150 kg lân + 75 kg kali, và bón thúc 200 kg đạm + 75 kg kali) – đạt 19,63 L/ha.

Như vậy, sử dụng phân bón kết hợp các loại: phân chuồng hoai mục, phân bón N, P, K đa lượng và chế phẩm phân bón vi sinh mang lại hiệu quả tối ưu nhất cho sinh trưởng và sinh tổng hợp tích lũy tinh dầu ở Hương nhu tía trong số các công thức bón phân được sử dụng ở nghiên cứu này, thể hiện ở công thức CTP2. Lượng chế phẩm phân bón vi sinh được bổ sung ở mức 20 kg có thể được sử dụng để thay thế một lượng phân bón vô cơ được giảm đi gồm 100kg phân đạm (Nts 46,3%) + 50 kg lân (P_2O_5 hh 16%) + 50 kg kali (K_2O hh 61%) cho mỗi ha trồng Hương nhu tía mà năng suất tinh dầu vẫn tăng hơn 1,13% (19,85 L/ha so với 19,63 L/ha). Tuy nhiên khi giảm lượng lớn phân bón vô cơ ở mức 150kg phân đạm (Nts 46,3%) + 75 kg lân (P_2O_5 hh 16%) + 50 kg kali (K_2O hh 61%) cho mỗi ha trồng Hương nhu tía, mặc dù lượng chế phẩm phân bón vi sinh được bổ sung 25 kg thì vẫn không bù đắp lại được và kết quả là so với công thức CTP1, năng suất tinh dầu của Hương nhu tía ở công thức CTP4 giảm 21,48% (15,41 L/ha so với 19,63 L/ha).

3.2.2 Ảnh hưởng của các điều kiện bón phân đến các chỉ số hóa lý tinh dầu Hương nhu tía

Bảng 3.9. Một số chỉ số hóa lý của tinh dầu Hương nhu tía trồng trong các công thức bón phân khác nhau

STT	Chỉ số hóa lý	Phương pháp	CTP 1	CTP 2	CTP 3	CTP 4
1	Tỷ trọng tương đối (d^{20})	ISO 279:1998	0.9999	1.0090	0.9973	0.9933
2	Chỉ số khúc xạ (n^{20})	ISO 280:1998	1.5143	1.5190	1.5149	1.5151
3	Độ quay cực ($[\alpha]^{20}_D$)	ISO 592:1998	[-]5.00	[-]3.96	[-]4.01	[-]3.52

Tỷ trọng tương đối của tinh dầu cây Hương nhu tía trồng ở 4 công thức bón phân khác nhau được xác định bằng phương pháp tiêu chuẩn ISO 279:1998 có giá trị khác nhau không nhiều, dao động từ 0,9933 đến 1,0090. Chỉ số khúc xạ của tinh dầu được xác định bằng phương pháp tiêu chuẩn ISO 280:1998 cũng có giá trị không khác nhau nhiều, dao động từ 1,5143 đến 1,5190. Trong khi đó, độ quay cực của tinh dầu cây Hương nhu tía trồng ở 4 công thức bón phân CTP1 đến CTP4 được xác định bằng phương pháp tiêu chuẩn ISO 592:1998 dao động lớn hơn, có giá trị lần lượt là: $-5,00^\circ$, $-3,96^\circ$, $-4,02^\circ$, và $-3,96^\circ$ (Bảng 3.9).

3.2.3 Ảnh hưởng của các điều kiện bón phân đến thành phần hóa học tinh dầu Hương nhu tía

Bằng phương pháp sắc ký khí khối phổ (GC/MS) kết hợp đầu dò ion hóa ngọn lửa (FID) đã xác định được thành phần hóa học tinh dầu của Hương nhu tía ở 4 công thức bón phân khác nhau gồm 18 hợp chất trong công thức CTP1 và CTP3, 15 hợp chất trong công thức CTP2, và 17 hợp chất trong công thức CTP4 (Bảng 3.10). Các thành phần hợp chất xác định được trong tinh dầu Hương nhu tía ở nghiên cứu này chiếm từ 99,9 đến 100% hàm lượng tinh dầu. Trong đó, các hợp chất chính của tinh dầu Hương nhu tía trong thí

thí nghiệm bón phân này gồm có: (1) Chavibetol có hàm lượng cao nhất trong tinh dầu Hương nhu tía trồng ở tất cả các công thức từ CTP1 đến CTP4, với giá trị lần lượt là 53,5%, 63,1%, 56%, 54,7%; (2) (*E*)- β -caryophyllene có hàm lượng cao thứ 2, với giá trị hàm lượng trong tinh dầu cây ở tất cả các công thức CTP1 đến CTP4 lần lượt là: 39,1%, 31,7%, 37,2%, và 38,5%. Đây là điểm khác biệt so với thành phần 2 hợp chất chính trong tinh dầu Hương nhu tía ở thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED với hai công thức CTL3 và CTL4 có hàm lượng (*E*)- β -caryophyllene cao hơn hàm lượng chavibetol bên cạnh 8 công thức còn lại có chiều hướng giống ở thí nghiệm phân bón. So sánh hàm lượng hai hợp chất chính là chavibetol và (*E*)- β -caryophyllene trong tinh dầu Hương nhu tía ở công thức đối chứng CTL10 trong thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED với ở công thức đối chứng CTP1 trong thí nghiệm phân bón cho thấy sự tương quan tương đối đồng đều, đạt 56,3% và 37,3% so với 53,5% và 39,1%. Các hợp chất có hàm lượng tương đối cao tiếp theo gồm có: α -Humulene với giá trị hàm lượng ở các công thức CTP1 đến CTP4 lần lượt là: 2,3%, 1,9%, 2,2%, và 2,2%; methyl eugenol và caryophyllene oxide với giá trị hàm lượng trong tinh dầu cây dao động trên dưới 1%. Trong đó, tinh dầu Hương nhu tía ở công thức CTP1 có hàm lượng 2 hợp chất này cao hơn rõ rệt so với ở các công thức khác, có giá trị là: 1,1% và 1% tương ứng. Các hợp chất còn lại trong tinh dầu cây được xác định có hàm lượng nhỏ, dao động từ 0,1% - 0,6%.

Bảng 3.10. Thành phần hóa học của tinh dầu Hương nhu tía trồng trong các công thức bón phân khác nhau

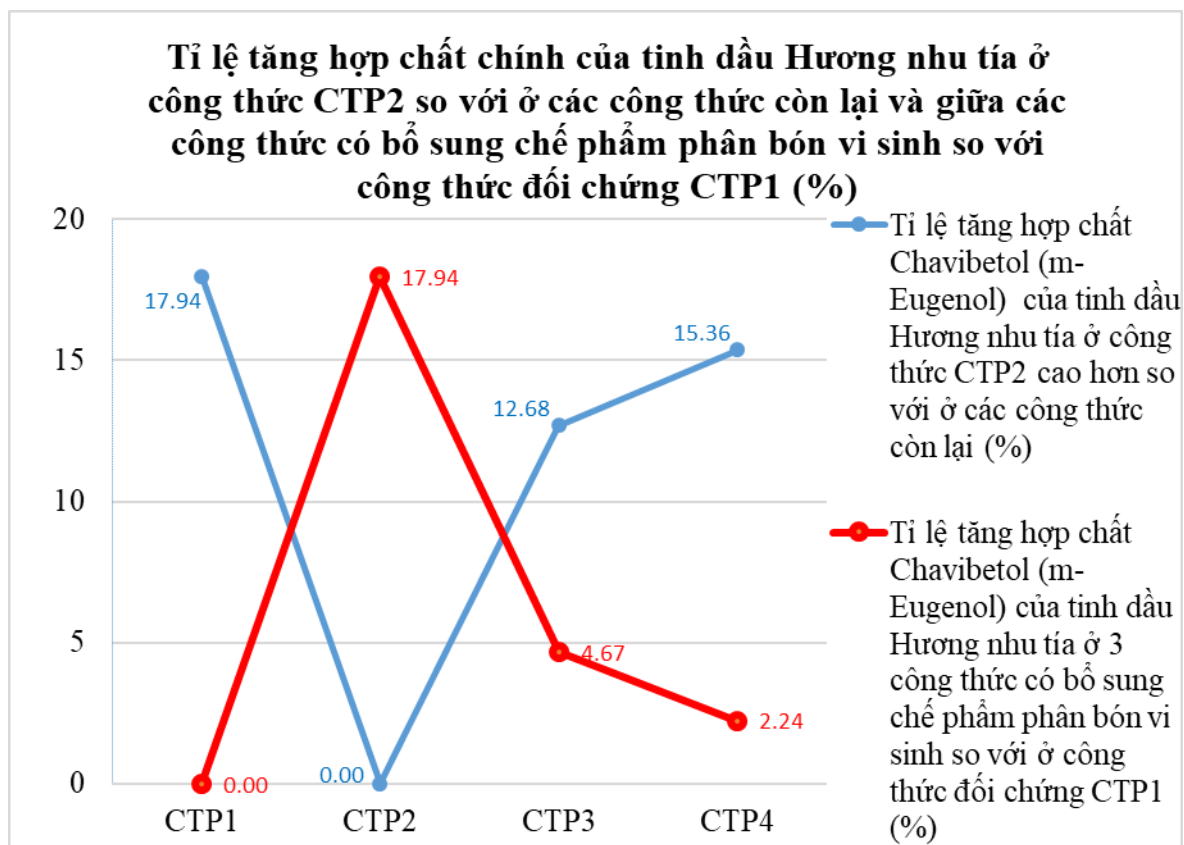
STT	RI ^a	Hợp chất ^b	Hàm lượng ^c (%)			
			CTP1	CTP2	CTP3	CTP4
1	855	(Z)-Hex-3-en-1-ol	0,3	KPH	0,3	KPH
2	939	α -Pinene	0,2	0,1	0,2	0,2
3	955	Camphene	0,2	0,1	0,2	0,2
4	984	β -Pinene	0,1	KPH	0,1	0,2
5	1050	(E)- β -Ocimene	0,3	0,3	0,2	0,4

STT	RI ^a	Hợp chất ^b	Hàm lượng ^c (%)			
			CTP1	CTP2	CTP3	CTP4
6	1071	n-Octanol	0,2	0,2	0,1	0,3
7	1177	Borneol (=Endo-Borneol)	0,5	0,4	0,6	0,6
8	1373	Chavibetol (<i>m</i>-Eugenol)	53,5	63,1	56,0	54,7
9	1404	cis- β -Elemene	0,3	0,3	0,3	0,3
10	1410	Methyl eugenol	1,1	0,6	0,9	0,8
11	1430	α -Barbatene	0,2	0,1	0,2	0,2
12	1437	(<i>E</i>)-β-Caryophyllene	39,1	31,7	37,2	38,5
13	1465	β -Barbatene	0,2	0,2	0,2	0,2
14	1472	α-Humulene	2,3	1,9	2,2	2,2
15	1537	δ -Cadinene	0,1	0,1	0,1	0,1
16	1542	(<i>E</i>)- γ -Bisabolene	0,1	KPH	0,2	0,1
17	1564	Elemol	0,3	0,3	0,3	0,2
18	1605	Caryophyllene oxide	1,0	0,6	0,7	0,7
Tổng số			100,0	100,0	100,0	99,9
Monoterpene hydrocarbon			0,8	0,5	0,7	1,0
Monoterpene chứa oxy			55,1	64,1	57,5	56,1
Sesquyterpene hydrocarbon			42,3	34,3	40,4	41,6
Sesquyterpene chứa oxy			1,3	0,9	1,0	0,9
Khác			0,5	0,2	0,4	0,3
Benzenoids			54,6	63,7	56,9	55,5
Số lượng hợp chất phát hiện được			18	15	18	17

Ghi chú: ^aRI = retention index = hệ số lưu giữ của hợp chất trên cột HP-5MS; ^bThứ tự các hợp chất được rửa giải trên cột HP-5MS; ^cNồng độ tương đối của các hợp chất thành phần được tính toán dựa trên diện tích cực đại của sắc ký FID không kèm chất chuẩn; KPH = không phát hiện được.

Tương tự với chiều hướng thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED, nhóm các hợp chất monoterpene chứa oxy chiếm hàm lượng trội nhất trong tinh dầu Hương nhu tía ở thí nghiệm bón phân trong nghiên cứu này, với giá trị đạt tương ứng ở 4 công thức bón phân CTP1 đến CTP4 lần lượt là: 55,1%, 64,1%, 57,5%, và 56,1%. Trong đó các hợp chất chứa nhân thơm benzen chiếm tương ứng 54,6%, 63,7%, 56,9%, và 55,5% tương ứng tổng hàm lượng của hai hợp chất thuộc nhóm phenylpropanoids (chavibetol và methyl eugenol) trong tinh dầu cây ở nghiên cứu này. Tiếp theo, nhóm các hợp chất sesquiterpene hydrocarbon chiếm hàm lượng cao thứ hai trong tinh dầu Hương nhu tía ở nghiên cứu này, với giá trị đạt tương ứng ở các công thức bón phân CTP1 đến CTP4 lần lượt là: 42,3%, 34,3%, 40,4%, và 41,6%. Ba nhóm còn lại là nhóm các hợp chất monoterpene hydrocarbon, nhóm các hợp chất sesquiterpene chứa oxy và nhóm các hợp chất khác chiếm tỉ lệ rất nhỏ trong tinh dầu Hương nhu tía ở 4 công thức bón phân khác nhau (Bảng 3.10).

Chavibetol là hợp chất chính chiếm hàm lượng cao nhất trong tinh dầu Hương nhu tía ở thí nghiệm này đã được nhiều nghiên cứu báo cáo về giá trị, công dụng rất đa dạng, như đã đề cập ở trên. Trong bảng kết quả phân tích thành phần hóa học của các mẫu tinh dầu Hương nhu tía trồng ở các công thức bón phân khác nhau, nổi lên một điều rất đáng được chú ý: Trong công thức bón phân CTP2 (1 ha bón lót 10 tấn phân chuồng + 15 kg chế phẩm phân bón vi sinh + 150 kg lân + 75 kg kali, và bón thúc 200 kg đạm + 75 kg kali), hàm lượng chavibetol đạt cao nhất (63,1%), cao hơn từ 12,68% đến 17,94% so với ở các công thức còn lại (hàm lượng dao động từ 53,3%-56,0%). Thứ tự về hàm lượng chavibetol trong tinh dầu Hương nhu tía ở 4 công thức thí nghiệm bón phân ở nghiên cứu này như sau: CT2 > CT3 > CT4 > CT1 (Bảng 3.10).



Hình 3.5. Tỉ lệ biến đổi hợp chất chính Chavibetol (*m*-Eugenol) của tinh dầu Hương nhu tím ở công thức CTP2 so với ở các công thức còn lại và giữa các công thức có bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh với công thức đối chứng CTP1 (%)

So với công thức đối chứng CTP1 không bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh, hàm lượng chavibetol tích lũy trong phần trên mặt đất của Hương nhu tím ở các công thức có bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh có tỉ lệ tăng từ 2,24% đến 17,94% (Hình 3.15), tương đương hàm lượng dao động từ 54,7% (CTP4) đến 63,1% (CTP2) (Bảng 3.10). Điều này thể hiện tác động tích cực của chế phẩm phân bón vi sinh kết hợp với phân bón vô cơ và hữu cơ đối với sự sinh tổng hợp và tích lũy hợp chất quan trọng chavibetol của tinh dầu trong cây Hương nhu tím. Nghiên cứu trước đây cũng đã khẳng định vai trò của chế phẩm vi sinh vật đối với việc tăng năng suất, hàm lượng tinh dầu và thành phần hợp chất chính trong tinh dầu cây Hương nhu tím. Cụ thể, công thức kết hợp 2 chủng vi khuẩn vùng rễ *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas fluorescens* hoặc cả 2 chủng này cùng với chủng nấm *Trichoderma viride* đã mang lại sự

tăng cường tới đa 27,27% hàm lượng tinh dầu so với công thức đối chứng, đồng thời hàm lượng hợp chất chính là eugenol tăng tới đa 58,5% so với 42,9% ở công thức đối chứng, bên cạnh việc tăng sinh khối lá sau 90 ngày thí nghiệm tại Ấn Độ (Saikia & Pandey, 2014) [67].

Tuy nhiên, chiều hướng ngược lại đã được ghi nhận đối với hợp chất chính thứ 2 của tinh dầu Hương nhu tía là (*E*)- β -caryophyllene – một hợp chất đã được chứng minh là có tiềm năng ứng dụng lớn đối với các tình trạng bệnh lý khác nhau. Trong bảng kết quả phân tích thành phần hóa học của các mẫu tinh dầu Hương nhu tía trồng ở các công thức bón phân khác nhau, công thức CTP1 (1 ha bón lót 10 tấn phân chuồng +150 kg lân +75 kg kali, và bón thúc 200 kg đạm + 75kg kali) có hàm lượng (*E*)- β -caryophyllene đạt cao nhất 39,1% so với ở 3 công thức còn lại. Điều đáng chú ý, đây là công thức bón phân đã mang lại hiệu quả sinh tổng hợp và tích lũy chavibetol ở hàm lượng thấp nhất trong tinh dầu của phần trên mặt đất của Hương nhu tía như đã phân tích ở trên (Bảng 3.10). Thứ tự về hàm lượng (*E*)- β -caryophyllene trong tinh dầu Hương nhu tía ở 4 công thức thí nghiệm bón phân ở nghiên cứu này trái ngược hoàn toàn với thứ tự về hàm lượng chavibetol (CT2 > CT3 > CT4 > CT1), cụ thể như sau: CT1 > CT4 > CT3 > CT2.

Nhận xét:

Chế độ bón phân đã tác động trực tiếp đến khả năng sinh tổng hợp, tích lũy các hợp chất đặc biệt là hợp chất chính chavibetol trong tinh dầu trong cây Hương nhu tía. Khi thay đổi liều lượng và số lượng các loại phân bón khác nhau, mức độ sinh tổng hợp, tích lũy hợp chất chính chavibetol trong tinh dầu ở phần trên mặt đất của Hương nhu tía đã biến đổi theo. Như ở trên đã đề cập, trừ công thức đối chứng CTP1 không bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh, tất cả 3 công thức còn lại từ CTP2 đến CTP4 đều được chiếu bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh với liều lượng 15 kg, 20 kg và 25 kg mỗi ha, đồng thời liều lượng phân bón đa lượng N + P + K cũng giảm dần từ 200 kg + 150 kg + 150 kg ở công thức CT1 và công thức CT2 xuống 100 kg + 100 kg + 100 kg ở công thức CT3 và 50 kg + 75 kg + 100 kg ở công thức CT4. Trong khi đó, liều lượng phân chuồng được duy trì giống nhau ở cả 4 công thức là 10 tấn

mỗi ha. Xét về yếu tố liều lượng và chủng loại phân bón, công thức bón phân CTP2 (1 ha bón lót 10 tấn phân chuồng + 15 kg chế phẩm phân bón vi sinh + 150 kg lân + 75 kg kali, và bón thúc 200 kg đạm + 75kg kali) đầy đủ số lượng và khối lượng phân bón nhất đã thể hiện là điều kiện môi trường phù hợp nhất cho cây sinh tổng hợp, tích lũy hợp chất chính chavibetol trong tinh dầu cao nhất 63,1%, trong khi ở các công thức còn lại, hàm lượng dao động từ 53,3%-56,0%. Đồng thời, ở các công thức CTP3 và CTP4 có bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh, hàm lượng hợp chất chính chavibetol trong tinh dầu Hương nhu tía đều cao hơn so với ở công thức đối chứng CTP1 không bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh. Vậy có thể thấy rõ tác động của chế phẩm phân bón vi sinh thúc đẩy quá trình sinh tổng hợp, tích lũy hợp chất chính chavibetol trong tinh dầu Hương nhu tía ở nghiên cứu này. Tuy nhiên mức độ tăng tích lũy chavibetol trong tinh dầu cây không tỉ lệ thuận với liều lượng chế phẩm phân bón vi sinh được bổ sung (thực tế là đang tỉ lệ nghịch), mà nó cần phải được đánh giá trong mối quan hệ hiệp đồng với liều lượng phân bón đa lượng N, P, K. Khi liều lượng phân bón N, P, K giảm đi ở công thức CTP3 và CTP4 so với ở công thức CTP2 thì mức độ tích lũy chavibetol trong tinh dầu cũng giảm đi.

Chế độ bón phân cũng đã tác động trực tiếp đến khả năng sinh tổng hợp và tích lũy hợp chất chính cao thứ hai trong tinh dầu trong cây Hương nhu tía là (*E*)- β -caryophyllene đứng sau chavibetol. Tuy nhiên, thứ tự về hàm lượng của hợp chất này được ghi nhận là ngược lại hoàn toàn so với thứ tự về hàm lượng chavibetol trong tinh dầu Hương nhu tía. Cụ thể, ở tất cả 3 công thức CTP2, CTP3 và CTP4 có bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh, hàm lượng (*E*)- β -caryophyllene được tích lũy trong tinh dầu cây thấp hơn so với ở công thức CTP1 không bổ sung chế phẩm phân bón vi sinh.

Như vậy, chế độ bón phân đã làm biến đổi rất rõ rệt hiệu quả sinh tổng hợp, tích lũy hàm lượng hai hợp chất chính chavibetol và (*E*)- β -caryophyllene trong tinh dầu trong phần trên mặt đất của cây Hương nhu tía. Trong số các công thức thí nghiệm bón phân được thực hiện đối với cây Hương nhu tía ở nghiên cứu này, công thức CTP2 (1 ha bón lót 10 tấn phân chuồng + 15 kg

ché phẩm phân bón vi sinh + 150 kg lân + 75 kg kali, và bón thúc 200 kg đạm + 75kg kali) là phù hợp nhất cho cây sinh tổng hợp và tích lũy hàm lượng hợp chất chính chavibetol (*m*-eugenol) trong tinh dầu ở bộ phận trên mặt đất của cây đạt cao nhất 63,1% sau 90 ngày thí nghiệm bón phân. Ngược lại, công thức CTP1 (1 ha bón lót 10 tấn phân chuồng + 150 kg lân + 75 kg kali, và bón thúc 200 kg đạm + 75kg kali) là phù hợp nhất cho cây sinh tổng hợp và tích lũy hàm lượng hợp chất chính thứ hai (*E*)- β -caryophyllene trong tinh dầu ở bộ phận trên mặt đất của cây đạt cao nhất 39,1% sau 90 ngày thí nghiệm bón phân (Bảng 3.10).

CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. KẾT LUẬN

Chiếu sáng bổ sung LED đã làm biến đổi rất rõ rệt các chỉ số sinh khối khô, sinh tổng hợp và tích lũy tinh dầu trong phần trên mặt đất của cây Hương nhu tía. Cụ thể:

- 9 công thức thí nghiệm có chiếu sáng bổ sung LED đều làm tăng sinh khối khô, tăng hàm lượng tinh dầu và tăng năng suất tinh dầu so với đối chứng không chiếu sáng bổ sung LED.

- Công thức CTL7 (70% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)-5% Xanh lá cây (520 nm)-5% Đỏ xa (730 nm) trong thời gian 6 tiếng/ngày đêm ở cường độ $200 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) phù hợp nhất cho cây sinh trưởng, sinh tổng hợp và tích lũy tinh dầu: sinh khối khô đạt 4,93 tấn/ha, năng suất tinh dầu đạt 47,21 L/ha, cao nhất trong số các công thức sau 90 ngày thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED. Công thức CTL8 (70% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)-5% Xanh lá cây (520 nm)-5% Đỏ xa (730 nm) trong thời gian 6 tiếng/ngày đêm ở cường độ $150 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) có sự tích lũy tinh dầu cao nhất nhưng chỉ cao hơn một chút so với ở công thức CTL7.

- 5% ánh sáng đỏ xa trong công thức CT7 và CT8 thể hiện vai trò của được bổ sung có tác dụng trong việc biến đổi làm tăng năng suất sinh khối và hàm lượng tinh dầu cũng như năng suất tinh dầu của Hương nhu tía.

- Chiếu sáng bổ sung LED đã làm biến đổi rất rõ rệt hiệu quả sinh tổng hợp, tích lũy hàm lượng các hợp chất thành phần, nhất là hợp chất chính chavibetol trong tinh dầu trong phần trên mặt đất của cây Hương nhu tía: công thức CTL6 (75% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)-5% Xanh lá cây (520 nm) trong thời gian 4 tiếng/ngày đêm ở cường độ $120 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) là phù hợp nhất cho cây sinh tổng hợp và tích lũy hàm lượng hợp chất chính chavibetol (đạt cao nhất 69,4%) sau 90 ngày thí nghiệm chiếu sáng bổ sung LED. Công thức CTL3 (75% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)-5% UVA (365 nm) chiếu trong 4 giờ ở cường độ $120 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) và CTL4 (75% Đỏ (635 nm)-20% Xanh dương (460 nm)-5% Xanh lá cây (520 nm)

trong thời gian 8 tiếng/ngày đêm ở cường độ $120 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) làm giảm rõ rệt hiệu quả sinh tổng hợp và tích lũy hàm lượng hợp chất chính chavibetol trong tinh dầu (chỉ đạt 42,1% và 42,2% hàm lượng tinh dầu, tương tương giảm tỉ lệ 25,22% và 25,04% so với công thức đối chứng CTL10).

- Chế độ bón phân đã ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng sinh trưởng, sinh tổng hợp và tích lũy sinh dầu trong cây Hương nhu tía: công thức CTP2 (1 ha bón lót 10 tấn phân chuồng + 15 kg chế phẩm phân bón vi sinh + 150 kg lân + 75 kg kali, và bón thúc 200 kg đạm + 75kg kali) mang lại hiệu quả tốt nhất về sinh khối khô, hàm lượng tinh dầu và năng suất tinh dầu của cây.

- Ở các công thức phân bón có bổ sung chế phẩm vi sinh, hàm lượng Chavibetol tích lũy trong phần trên mặt đất của Hương nhu tía có tỉ lệ tăng từ 2,24% đến 17,94%, tương đương hàm lượng dao động từ 54,7% đến 63,1% so với đối chứng không sử dụng chế phẩm phân bón vi sinh.

4.2. KIẾN NGHỊ

Kết quả của nghiên cứu này cho thấy vai trò của phân bón và ánh sáng thực sự có tác động lớn đến sự biến đổi trong quá trình sinh trưởng, sinh tổng hợp và tích lũy tinh dầu của cây Hương nhu tía. Trên cơ sở này, trong tương lai cần triển khai mở rộng phạm vi nghiên cứu để đánh giá được nhiều khía cạnh toàn diện hơn, nhằm chọn lựa các yếu tố môi trường phù hợp nhất cho sự sinh trưởng và sinh tổng hợp, tích lũy tinh dầu nói riêng và các hợp chất thiên nhiên hữu ích trong cây trồng nói chung, mang lại giá trị sử dụng cao hơn cho con người, cụ thể như sau:

- Đánh giá ảnh hưởng của nhiều vùng phổ ánh sáng, thời gian chiếu sáng bổ sung và cường độ chiếu sáng bổ sung khác nhau đối với cây Hương nhu tía.
- Đánh giá tác động của nhiều chủng loại và liều lượng khác nhau của phân bón hữu cơ, vô cơ, vi sinh đối với cây Hương nhu tía.
- Mở rộng nghiên cứu tương tự đối với các loài cây dược liệu chứa tinh dầu khác cùng họ Bạc hà và các họ khác, cũng như các cây có giá trị kinh tế và đời sống khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aggarwal A. & Mali R.R., 2015, *Ocimum tenuiflorum*-A medicinal plants with its versatile uses, *International Journal of Advanced Science and Technology*, 2(2), pp. 1-10.
2. Vũ Xuân Phương, 2000, Thực vật chí Việt Nam, tập 2: Họ Bạc hà – Lamiaceae Lindl. (Họ Hoa môi – Labiatae Juss.). NXB Khoa học và Kỹ thuật, tr. 86-87.
3. Malav P., Pandey A., Bhatt K. C., Gopala Krishnan S. & Bisht I. S., 2015, Morphological variability in holy basil (*Ocimum tenuiflorum* L.) from India, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 62, pp. 1245-1256.
4. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mẫn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, & Trần Toàn, 2004, Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. Tập I, NXB Khoa học và Kỹ thuật, tr. 1027-1029.
5. Võ Văn Chi, 2012, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, tập 1, NXB Y học, tr. 1174-1175.
6. Gupta S.K., Prakash J. and Srivastava S., 2000, Validation of claim of Tulsi (*Ocimum sanctum* L) as a Medicinal plant, *Indian Journal of Experimental Biology*, 40(7)pp. 765-773.
7. Dharsono H.D.A., Putri S.A., Kurnia D., Dudi D., Satari M.H., 2022, *Ocimum* Species: A Review on Chemical Constituents and Antibacterial Activity, *Molecules*, 27, 6350.
8. Mahapatra S.K., Chakraborty S.P., and Roy S., 2011, Immunomodulatory role of *Ocimum gratissimum* and ascorbic acid against nicotine-induced murine peritoneal macrophages in vitro, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 734319, 11 pages.
9. Chiu C.C., Huang C.Y., Chen T.Y., Kao S.H., Liu J.Y., Wang Y.W., Tzang B.S., and Hsu T.C., 2012, Beneficial effects of *Ocimum*

- gratissimum* aqueous extract on rats with CCl₄-induced acute liver injury. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 736752, 9 pages.
10. Stefan M., Zamfirache M.M., Padurariu C., Trută E. & Gostin I., 2013, The composition and antibacterial activity of essential oils in three *Ocimum* species growing in Romania, *Central European Journal of Biology*, 8(6), pp. 600-608.
 11. Keziah E.A., Nukenine E.N., Danga S.P.Y., Younoussa L., and Esimone C.O., 2015, Creams formulated with *Ocimum gratissimum* L. and *Lantana camara* L. crude extracts and fractions as mosquito repellents against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae), *Journal of Insect Science*, 15(1), 45.
 12. Irondi E.A., Agboola S.O., Oboh G., Boligon A.A., 2016, Inhibitory effect of leaves extracts of *Ocimum basilicum* and *Ocimum gratissimum* on two key enzymes involved in obesity and hypertension *in vitro*, *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5(4), pp. 396-402.
 13. Verma S., 2016, Chemical constituents and pharmacological action of *Ocimum sanctum* (Indian holy basil-Tulsi), *The Journal of Phytopharmacology*, 5(5), pp. 205-207.
 14. Bộ Y Tế, 2017, Dược điển Việt Nam V. Hội đồng Dược điển Việt Nam, Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam, tr. 1202-1204.
 15. Đỗ Tất Lợi, 1995, Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 829- 831.
 16. Nguyễn Phương Hạnh, Nguyễn Quốc Bình, Đinh Thị Thu Thủy, 2022, Thành phần hóa học của tinh dầu Hương nhu trắng *Ocimum gratissimum* L. trồng ở Hà Nội, Việt Nam, *TNU Journal of Science and Technology*, 227(14): 130 - 136).
 17. Võ Thị Thanh Tuyền, Nguyễn Thị Mỹ Biên, 2019, Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh của tinh dầu hương nhu tía (*Ocimum*

- Sanctum* L.) ở Bình Định, *Tạp chí Khoa học Đại học Quy Nhơn*, 13(3), 83-90)
18. Bhatnagar M., Kapur K.K., Jalees S., Sharma S.K., 1993, Laboratory evaluation of insecticidal properties of *O. basilicum* Lin. and *O. sanctum* Lin. plant essential oil and their major constituents against vector mosquito species, *Journal of Entomological Research*, 17, pp. 21–26.
 19. Skaltsa H., Tzakou O., Singh M., 1999, Note polyphenols of *Ocimum sanctum* from suriname, *Pharmaceutical Biology*, 37(1), pp. 92–94.
 20. Mondello L., Zappia G., Cotroneo A., Bonaccorsi I., Chowdhury J.U., Yusuf M., Dugo J., 2002, Studies on the essential oil-bearing plants of Bangladesh. Part VIII. Composition of some *Ocimum* oils *O. basilicum* L. var. *purpurascens*; *O. sanctum* L. green; *O. sanctum* L. purple; *O. americanum* L., citral type; *O. americanum* L., camphor type, *Flavour and fragrance journal*, 17, pp. 335–340.
 21. Harishkumar J. M., Karishmaa C., Meenaloshini N., Nagavalli K., Pavithra P., Sowbejan A., Aruna S. J. & Theradimani, M., 2019, Effect of biofertilizers and vesicular arbuscular mycorrhizae on holy basil (*Ocimum sanctum*), *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(6), pp. 1316-1326.
 22. Sims C. A., Juliani H. R., Mentreddy S. R. & Simon J. E., 2014, Essential oils in holy basil (*Ocimum tenuiflorum* L.) as influenced by planting dates and harvest times in North Alabama, *Journal of Medicinally Active Plants*, 2(3), pp. 33-41.
 23. Fuller N. J., Pegg R. B., Affolter J. & Berle D., 2018, Variation in growth and development, and essential oil yield between two *Ocimum* species (*O. tenuiflorum* and *O. gratissimum*) grown in Georgia, *HortScience*, 53(9), pp. 1275-1282.
 24. Rastogi S., Shah S., Kumar R., Vashisth D., Akhtar M.Q., Kumar A., Dwivedi U.N., Shasany A.K., 2019, *Ocimum* metabolomics in response to abiotic stresses: Cold, flood, drought and salinity, *PLOS ONE*, 14(2),

e0210903.

25. Hasan M., Bashir T., Ghosh R., Lee S. K. & Bae H., 2017, An overview of LEDs' effects on the production of bioactive compounds and crop quality, *Molecules*, 22(9), 1420.
26. Sager J.C., Smith W.O., Edwards J.L., Cyr K.L., 1988, Photosynthetic efficiency and phytochrome photoequilibria determination using spectral data, *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, 31, pp. 1882–1889.
27. Chia P.L., Kubota C., 2010, End-of-day far-red light quality and dose requirements for tomato rootstock hypocotyl elongation, *HortScience*, 45, pp. 1501–1506.
28. Wang Y., Folta K.M., 2013, Contributions of green light to plant growth and development, *American Journal of Botany*, 100, pp. 70–78.
29. Sakalauskaite J., Viškeli, P., Duchovskis P., Dambrauskiene E., Sakalauskiene S., Samuoliene G. & Brazaityte A., 2012, Supplementary UV-B irradiation effects on basil (*Ocimum basilicum* L.) growth and phytochemical properties, *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10(3&4), pp. 342-346.
30. Paradiso R., Meinen E., Snel J.F., De Visser P., Van Ieperen W., Hogewoning S.W., Marcelis L.F., 2011, Spectral dependence of photosynthesis and light absorptance in single leaves and canopy in rose, *Scientia Horticulturae*, 127, pp. 548–554.
31. Nishioka N., Nishimura T., Ohyama K., Malayeri S. H., Goto E., Sumino M., Inagaki N., Morota T., 2008, Light quality affected growth and contents of essential oil components of Japanese mint plants, *Acta Horticulturae*, 97, pp. 431-436.
32. Afreen F.; Zobayed S.; Kozai T., 2005, Spectral quality and UV-B stress stimulate glycyrrhizin concentration of *Glycyrrhiza uralensis* in hydroponic and pot system, *Plant Physiology and Biochemistry*, 43, pp. 1074–1081.

33. Morrow R. C., 2008, LED lighting in horticulture, *HortScience*, 43(7), pp. 1947-1950.
34. Hikosaka S., Ito K., Goto E., 2010, Effects of ultraviolet light on growth, essential oil concentration, and total antioxidant capacity of Japanese mint, *Environmental Control in Biology*, 48, pp. 185–190.
35. Sun R., Hikosaka S., Goto E., Sawada H., Saito T., Kudo T., Ohno T., Shibata T., Yoshimatsu K., 2012, Effects of UV irradiation on plant growth and concentrations of four medicinal ingredients in Chinese licorice (*Glycyrrhiza uralensis*), In *Proceedings of the VII International Symposium on Light in Horticultural Systems*, Wageningen, The Netherlands, 15–18/10/2012, pp. 643–648.
36. Manivannan, A.; Soundararajan, P.; Halimah, N.; Ko, C.H.; Jeong, B.R., 2015, Blue LED light enhances growth, phytochemical contents, and antioxidant enzyme activities of *Rehmannia glutinosa* cultured in vitro. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 56, pp. 105–113.
37. Lee J.S., Lee C.A., Kim Y.H., Yun S.J., 2014, Shorter wavelength blue light promotes growth of green perilla (*Perilla frutescens*), *International Journal of Agriculture And Biology*, 16, 6.
38. Shiga T., Shoji K., Shimada H., Hashida S., Goto F., Yoshihara T., 2009, Effect of light quality on rosmarinic acid content and antioxidant activity of sweet basil, *Ocimum basilicum* L., *Plant Biotechnology*, 26(2), pp. 255–259.
39. Shoji K., Goto E., Hashida S., Goto F., Yoshihara T., 2009, Effect of light quality on the polyphenol content and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.), In *Proceedings of the VI International Symposium on Light in Horticulture*, Tsukuba, Japan, 15–19/11/2009; 907, pp. 95–99.
40. Iwai M., Ohta M., Tsuchiya H., Suzuki T., 2010, Enhanced accumulation of caffeic acid, rosmarinic acid and luteolin-glucoside in red perilla

- cultivated under red diode laser and blue LED illumination followed by UV-A irradiation, *Journal of Functional Foods*, 2, pp. 66–70.
41. Naznin M., Lefsrud M., Gravel V., Hao X., 2016, Different ratios of red and blue LED light effects on coriander productivity and antioxidant properties. In *Proceedings of the VIII International Symposium on Light in Horticulture*, East Lansing, MI, USA, 22–26 May 2016, pp. 223–230.
42. Yu K.W., Murthy H.N., Hahn E.J. & Paek K.Y., 2005, Ginsenoside production by hairy root cultures of *Panax ginseng*: influence of temperature and light quality, *Biochemical Engineering Journal*, 23(1), pp. 53-56.
43. Mashkani M.R.D., Larijani K., Mehrafarin A., Badi H.N., 2018, Changes in the essential oil content and composition of *Thymus daenensis* Celak. under different drying methods, *Industrial Crops and Products*, 112, pp.389–395.
44. İzgi M.N., Telci İ., Elmastaş M., 2017, Variation in essential oil composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) varieties cultivated in two different ecologies, *Journal of Essential Oil Research*, 29, pp. 494–498.
45. Li Q., Kubota C., 2009, Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce, *Environmental and Experimental Botany*, 67, pp. 59–64.
46. Wang J., Lu W., Tong Y., Yang Q., 2016, Leaf morphology, photosynthetic performance, chlorophyll fluorescence, stomatal development of lettuce (*Lactuca sativa* L.) exposed to different ratios of red light to blue light, *Frontiers in plant science*, 7, 250.
47. Zhang S., Ma K., Chen L., 2003, Response of photosynthetic plasticity of *Paeonia suffruticosa* to changed light environments, *Environmental and Experimental Botany*, 49, pp. 121–133.

48. Ivanitskikh A.S., Tarakanov I.G., 2014, Effect of light spectral quality on essential oil components in *Ocimum basilicum* and *Salvia officinalis* plants, *International Journal of Secondary Metabolite*, 1, 19.
49. Pegoraro R.L., Falkenberg M.d.B., Voltolini C.H., Santos M., Paulilo M.T.S., 2010, Produção de óleos essenciais em plantas de *Mentha x piperita* L. var. *piperita* (Lamiaceae) submetidas a diferentes níveis de luz e nutrição do substrato (Production of essential oils in plants of *Mentha x piperita* L. var. *piperita* (Lamiaceae) submitted to different light levels and nutrition of the substratum), *Revista Brasileira de Botânica (Brazilian Journal of Botany)*, 33, pp. 631–637.
50. Urbonavičiūtė A., Samuoliene G., Brazaityte A., Ulinskaite R., Jankauskiene J., Duchovskis P., Zukauskas A., 2008, The possibility to control the metabolism of green vegetables and sprouts using light emitting diode illumination, *Sodinink Darzinink*, 27, pp. 83–92.
51. Selmar D., Kirinwächter M., 2013, Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants, *Industrial Crops and Products*, 42, pp. 558–566.
52. Mesgaran M.B., Azadi P., 2018, A national adaptation plan for water scarcity in Iran, In *Working paper 6, Stanford Iran 2040 Project, Stanford University, August 2018*.
53. Darko E., Heydarizadeh P., Schoefs B., Sabzalian M.R., 2014, Photosynthesis under artificial light: the shift in primary and secondary metabolism. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 369, 20130243.
54. Harakotr B., Srijunteuk S., Rithichai P., & Tabunhan S., 2019, Effects of light-emitting diode light irradiance levels on yield, antioxidants and antioxidant capacities of indigenous vegetable microgreens, *Science & Technology Asia*, pp. 59-66.
55. Chutimanukul P., Wanichananan P., Janta S., Toojinda T., Darwell C. T. & Mosaleeyanon K., 2022, The influence of different light spectra on

- physiological responses, antioxidant capacity and chemical compositions in two holy basil cultivars, *Scientific reports*, 12(1), 588.
- 56.Thongtip A., Mosaleeyanon K., Korinsak S., Toojinda T., Darwell C.T., Chutimanukul P. & Chutimanukul P., 2022, Promotion of seed germination and early plant growth by KNO₃ and light spectra in *Ocimum tenuiflorum* using a plant factory, *Scientific Reports*, 12(1), 6995.
- 57.Lavanya V. I. J., Sharma R. & Chhabra R., 2022, Influence of Coloured Shade Nets On Growth And Biochemical Constituents In Four Species of *Ocimum*, *Bangladesh Journal of Botany*, 51(3), pp. 547-554.
- 58.Kumari R., Agrawal S. B., 2011. Comparative analysis of essential oil composition and oil containing glands in *Ocimum sanctum* L. (Holy basil) under ambient and supplemental level of UV-B through gas chromatography–mass spectrometry and scanning electron microscopy. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, pp. 1093–1101.
- 59.Walters K.J. & Currey C.J., 2018, Effects of nutrient solution concentration and daily light integral on growth and nutrient concentration of several basil species in hydroponic production, *HortScience*, 53(9), pp. 1319-1325.
- 60.Zheljazkov V.D., Cantrell C.L., Evans W.B., Ebelhar M.W., Coker C., 2008, Yield and Composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum sanctum* L. Grown at Four Locations, *Hortscience*, 43(3), pp. 737–741.
- 61.Beatović D., Jelačić S., Oparnica Č., Krstić-Milošević D., Glamočlija J., Ristić M., Šiljegović J., 2013, Chemical Composition, Antioxidative and Antimicrobial Activity of Essential Oil *Ocimum sanctum* L., *Hemijska Industrija*, 67(3), pp. 427–435.
- 62.Khalil M.Y., Moustafa A.A., Naguib M.Y., 2007, Growth, phenolic compounds and antioxidant activity of some medicinal plants grown under organic farming condition, *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(4), pp. 451-457.

- 63.Saradhi V.S.P., Salma K., Shivananda B.Y., Kumar T.V., Shivananda TN., 2007, Effect of NPK fertilizers on chemical constituents of Aloe vera leaves. *Journal of Natural Remedies*, 7(2), pp. 258-262.
- 64.Osuagwu G.G.E., 2008, The effect of rate of application of poultrymanure on the phenol, flavonoid and steroid potential of the leaves of *Ocimum gratissimum*, *Journal of Sustainable Agriculture and Environment*, 10(2), pp. 106-111.
- 65.Pooja M.R., Hiremath J.S., Nadukeri S., Mahantesh P.S., Nishchitha M. and Lokesh C.H., 2018, Influence of inorganic fertilizer and spacing on yield and quality of sacred basil (*Ocimum sanctum* Linn.), *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(3S), pp. 05-08.
- 66.Smitha G.R., Basak B.B., Thondaiman V., Saha A., 2019, Nutrient management through organics, bio-fertilizers and crop residues improves growth, yield and quality of sacred basil (*Ocimum sanctum* Linn), *Industrial Crops & Products*, 128, pp. 599–606.
- 67.Saikia S.K. & Pandey R., 2014, Rhizospheric Microflora Escalating Aroma Constituents and Yield Attributes in *Ocimum tenuiflorum* (L.) cv. CIM-Ayu, *Advances in Agriculture*, Article ID 621912.
- 68.Ram R., Prasad V. M., Bahadur V., Dowsan J., Swaroop N. & Kumar A., 2019, Influence of Organic Manures and Bio-fertilizers on Growth and Yield of Indian Basil (*Ocimum sanctum* L.) cvs. Cim-Ayu and Cim-Angana, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(10), pp. 2385-2392.
- 69.Chu H.T.T., Vu T.N., Dinh T.T.T., Do P.T., Chu H.H., Tien T.Q., Tong Q.C, Nguyen M.H., Ha T.Q. & Setzer W.N., 2022, Effects of Supplemental Light Spectra on the Composition, Production and Antimicrobial Activity of *Ocimum basilicum* L. Essential Oil, *Molecules*, 27(17), 5599.
- 70.Lã Đình Mỗi, Lưu Đàm Cư, Trần Minh Hợi, Nguyễn Thị Thuỷ, Nguyễn Thị Phương Thảo, Trần Huy Thái, Ninh Khắc Bản, 2001, Tài nguyên thực

- vật có tinh dầu ở Việt Nam, tập 1, NXB Nông nghiệp, Hà Nội, tr. 135-163.
71. Joshi R. K., 2013, Chemical composition, in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Ocimum gratissimum*, *O. sanctum* and their major constituents, *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 75(4), 457.
72. Singh G., Maurya S., de Lampasona M.P., Catalan C.A.N., 2007, A comparison of chemical, anti-oxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents, *Food and Chemical Toxicology*, 45, pp. 1650–1661.
73. Oyedemi S.O., Okoh A.I., Mabinya L.V., Pirochenva G., Afolayan A.J., 2009, The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol, α -terpineol and g-terpinene against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*, *African Journal of Biotechnology*, 8, pp. 1280–1286.
74. Qiu J., Feng H., Lu J., Xiang H., Wang D., Dong J., Wang J., Wang X., Liu J., Deng X., 2010, Eugenol reduces the expression of virulence-related exoproteins in *Staphylococcus aureus*, *Applied and Environmental Microbiology*, 76, pp. 5846–5851.
75. Chami F., Chami N., Bennis S., Trouillas J., Remmal A., 2004, Evaluation of carvacrol and eugenol as prophylaxis and treatment of vaginal candidiasis in an immunosuppressed rat model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54, pp. 909–914.
76. Garg A., Singh S., 2011, Enhancement in antifungal activity of eugenol in immunosuppressed rats through lipid nanocarriers, *Colloid Surface B*, 87, pp. 280–288.
77. Braga P.C., Sasso M.D., Culici M., Alfieri M., 2007, Eugenol and thymol, alone or in combination, induce morphological alterations in the envelope of *Candida albicans*, *Fitoterapia*, 78, pp. 396–400.

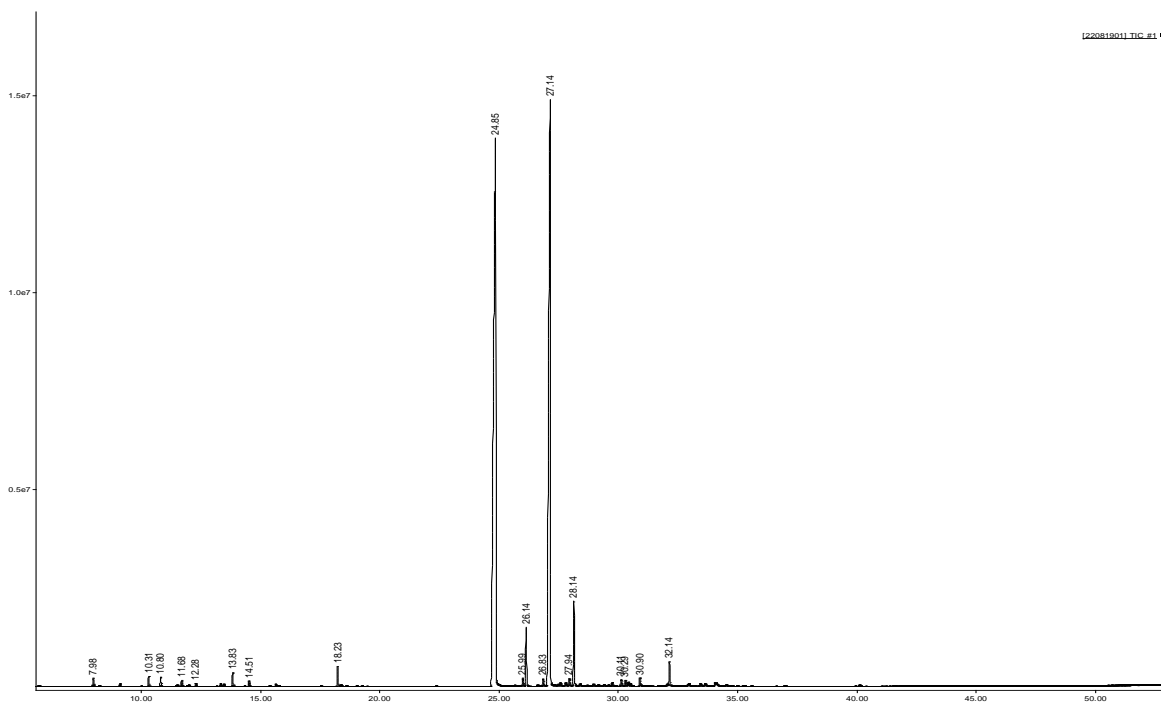
- 78.Zore G.B., Thakre A.D., Jadhav S., Karuppayil S.M., 2011, Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle, *Phytomedicine*, 18, pp. 1181–1190.
- 79.Benencia F., Courrges M.C., 2000, *In vitro* and *in vivo* activity of eugenol on human herpesvirus, *Phytotherapy Research*, 14, pp. 495–500.
- 80.Chogo J.B., Crank G., 1981, Chemical composition and biological activity of the Tanzanian plant *Ocimum suave*. *Journal of Natural Products*, 42, pp. 308–311.
- 81.Hussain A., Brahmhatt K., Priyani A., Ahmed M., Rizvi T.A., Sharma C., 2011, Eugenol enhances the chemotherapeutic potential of gemcitabine and induces anticarcinogenic and anti-inflammatory activity in human cervical cancer cells, *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 26, pp. 519–527.
- 82.Jaganathan S.K., Mazumdar A., Mondhe D., Mandal M., 2011, Apoptotic effect of eugenol in human colon cancer cell lines, *Cell Biology International*, 35, pp. 607–615.
- 83.Bennett A., Stamford I.F., Tavares I. A., Jacobs S., Capasso F., Mascolo N., Autore G., 1988, The biological activity of eugenol, a major constituent of nutmeg [*Myristica fragrans*]: Studies on prostaglandins, the intestine and other tissues, *Phytotherapy Research*, 2, pp. 124–130.
- 84.Trailović M.S., Robertson P.A. & Nedeljković-Trailović J., 2009, Inhibitory effect of eugenol on rat ileal motility in vitro. *Acta Veterinaria-Beograd*, 59(2-3), pp. 123-131.
- 85.Lima F.C., Peixoto-Neves D., Gomes M.D., Coelho-de-Souza A.N., Lima C.C., Araújo Zin W., Magalhães P.J.C., Saad L., Leal-Cardoso J.H., 2011, Antispasmodic effects of eugenol on rat airway smooth muscle, *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 25, pp. 690–699.
- 86.Feng J., Lipton J.M., 1987, Eugenol: Antipyretic activity in rabbits, *Neuropharmacology*, 26, pp. 1775–1778.

87. Miyazawa M., Hisama M., 2001, Suppression of chemical mutagen-induced SOS response by alkylphenols from clove (*Syzygium aromaticum*) in *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002 umu test, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, pp. 4019–4025.
88. Krist S., Halwachs L., Sallaberger G., Buchbauer G., 2007, Effects of scents on airborne microbes, part I: thymol, eugenol, *trans*-cinnamaldehyde and linalool, *Flavour and Fragrance Journal*, 22, pp. 44–48.
89. Ojha S., Javed H., Azimullah S., & Haque M. E., 2016, β -Caryophyllene, a phytocannabinoid attenuates oxidative stress, neuroinflammation, glial activation, and salvages dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson disease, *Molecular and cellular biochemistry*, 418, pp. 59-70.
90. Sousa O.V., Silvério M.S., Del-Vechio-Vieira G., Matheus F.C., Yamamoto C.H., & Alves M.S., 2008, Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the essential oil from *Eremanthus erythropappus* leaves, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 60(6), pp. 771-777.
91. Rabbani M., Sajjadi S. E. & Vaezi A., 2015, Evaluation of anxiolytic and sedative effect of essential oil and hydroalcoholic extract of *Ocimum basilicum* L. and chemical composition of its essential oil, *Research in pharmaceutical sciences*, 10(6), pp. 535 –543.
92. Machado K.D.C., Islam M.T., Ali E.S., Rouf R., Uddin S.J., Dev S., Shilpi J.A., Shill M.C., Reza H.M., Das A.K., Shaw S., Mubarak M.S., Mishra S.K. & Melo-Cavalcante A.A.D.C., 2018, A systematic review on the neuroprotective perspectives of beta-caryophyllene, *Phytotherapy research*, 32(12), pp. 2376-2388.
93. Dahham S.S., Tabana Y.M., Iqbal M.A., Ahamed M.B., Ezzat M.O., Majid A.S. & Majid A.M., 2015, The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene β -caryophyllene from the essential oil of *Aquylaria crassna*, *Molecules*, 20(7), pp. 11808-11829.

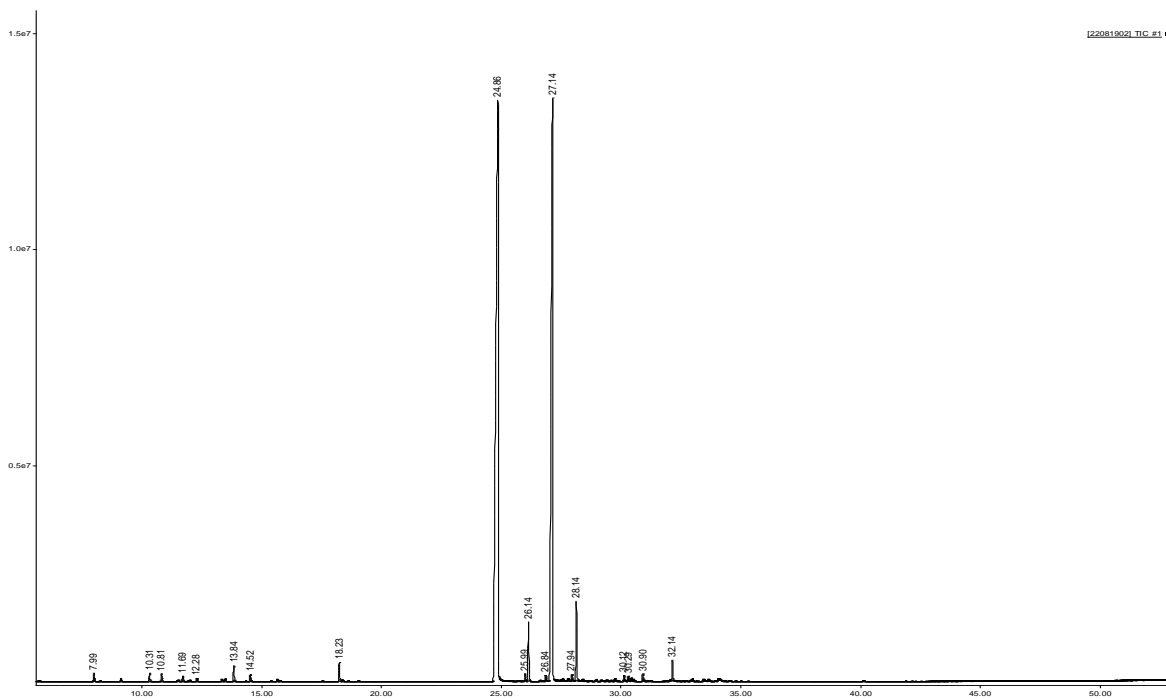
94. Ambrož M., Boušová I., Skarka A., Hanušová V., Králová V., Matoušková P., Szotakova B & Skálová L., 2015, The influence of sesquiterpenes from *Myrica rubra* on the antiproliferative and pro-oxidative effects of doxorubicin and its accumulation in cancer cells, *Molecules*, 20(8), pp. 15343-15358.
95. Legault J. & Pichette A., 2007, Potentiating effect of β -caryophyllene on anticancer activity of α -humulene, isocaryophyllene and paclitaxel, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(12), pp. 1643-1647.
96. Fidyt K., Fiedorowicz A., Strzdała L. & Szumny A., 2016, β -caryophyllene and β -caryophyllene oxide—natural compounds of anticancer and analgesic properties, *Cancer medicine*, 5(10), pp. 3007-3017.
97. Youssef D.A., El-Fayoumi H.M. & Mahmoud M.F., 2019, Beta-caryophyllene protects against diet-induced dyslipidemia and vascular inflammation in rats: Involvement of CB2 and PPAR- γ receptors, *Chemico-Biological Interactions*, 297, pp. 16-24.
98. Yoo H.J. & Jwa S.K., 2018, Inhibitory effects of β -caryophyllene on *Streptococcus mutans* biofilm, *Archives of oral biology*, 88, pp. 42-46.
99. Yamaguchi M. & Levy R. M., 2016, β -Caryophyllene promotes osteoblastic mineralization, and suppresses osteoclastogenesis and adipogenesis in mouse bone marrow cultures in vitro, *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12(6), pp. 3602-3606.
100. European Food Safety Authority (EFSA), 2009, Flavouring Group Evaluation 78 (FGE. 78 Rev2): Consideration of Aliphatic and alicyclic and aromatic hydrocarbons evaluated by JECFA (63rd meeting) structurally related to aliphatic and aromatic hydrocarbons evaluated by EFSA in FGE. 25-Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC), *EFSA Journal*, 7(1), 931.

101. da Silva Oliveira G.L., Machado K.C., Machado K.C., Feitosa C.M. & de Castro Almeida F.R., 2018, Non-clinical toxicity of β -caryophyllene, a dietary cannabinoid: Absence of adverse effects in female Swiss mice, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 92, pp. 338-346.
102. Schmitt D., Levy R. & Carroll B., 2016, Toxicological evaluation of β -caryophyllene oil: subchronic toxicity in rats, *International journal of toxicology*, 35(5), pp. 558-567.
103. Bunrathep S., Palanuvej C. & Ruangrunsi N., 2007, Chemical compositions and antioxidative activities of essential oils from four *Ocimum* species endemic to Thailand, *Journal of Health Research*, 21(3), pp. 201-206.

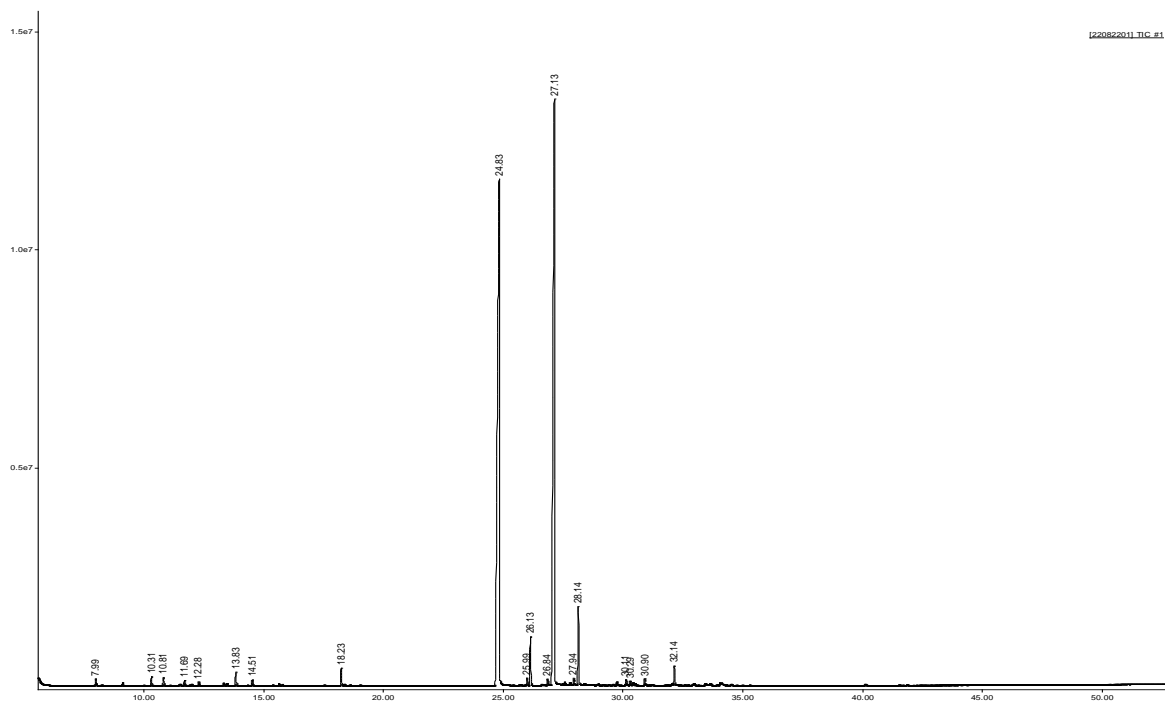
PHỤ LỤC I. SẮC KÝ ĐỒ PHÂN TÍCH TINH DẦU HƯƠNG NHU TÍA TRONG THÍ NGHIỆM CHIẾU SÁNG BỔ SUNG LED



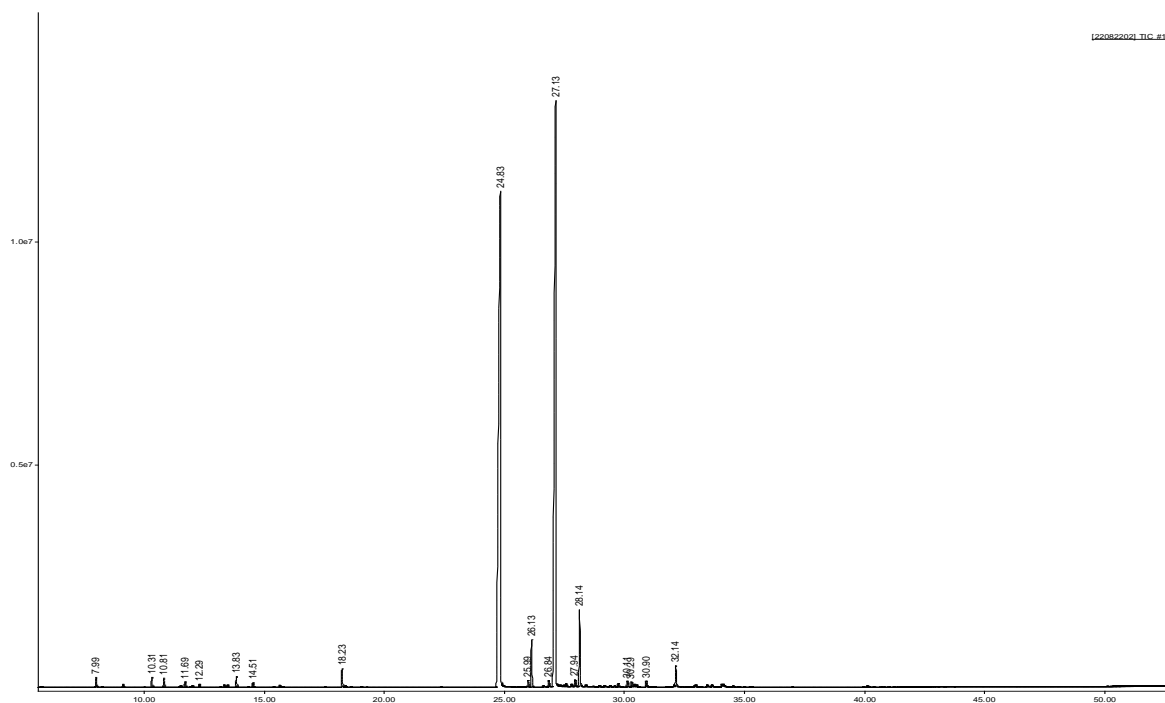
Hình I.1. Sắc ký đồ phân tích tinh dầu mẫu Hương nhu tía ở công thức CTL1



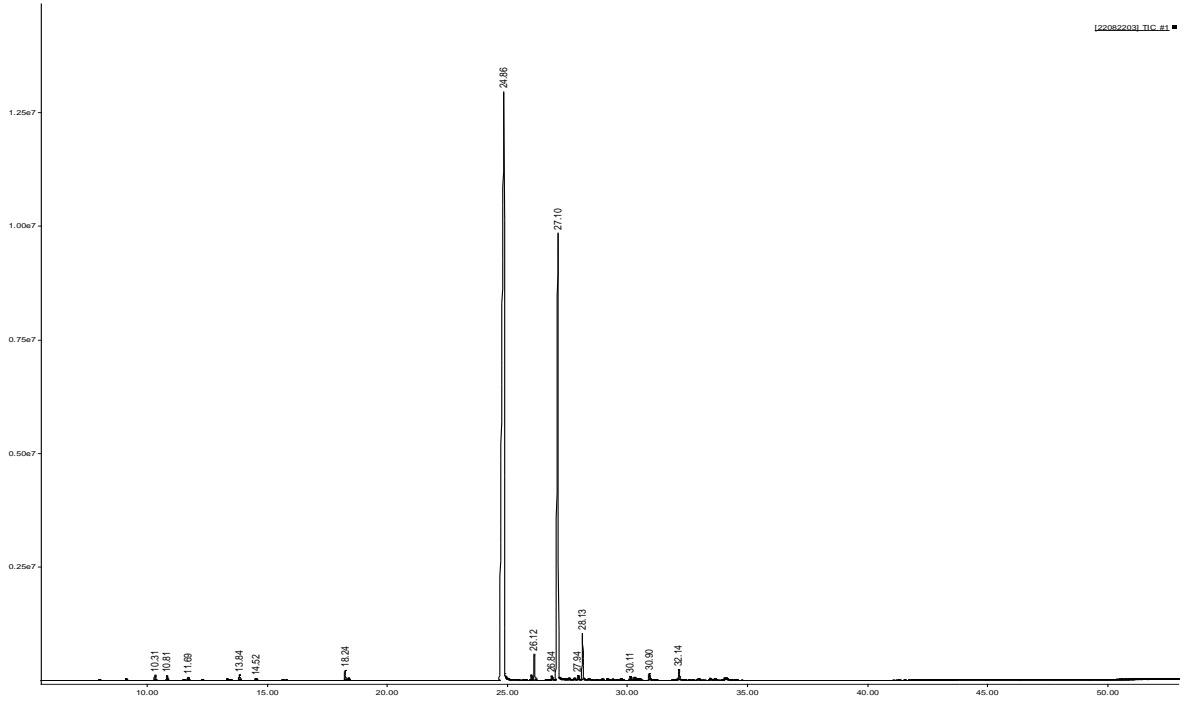
Hình I.2. Sắc ký đồ phân tích tinh dầu mẫu Hương nhu tía ở công thức CTL2



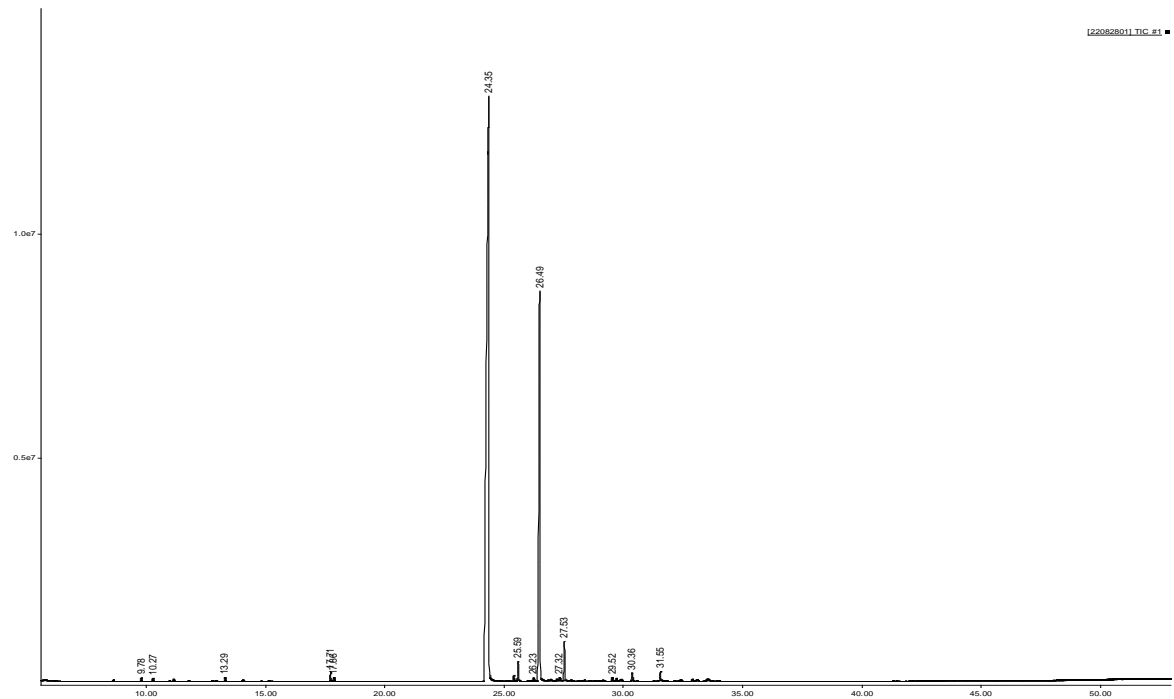
Hình I.3. Sắc ký đồ phân tích tinh dầu mẫu Hương nhu tía ở công thức CTL3



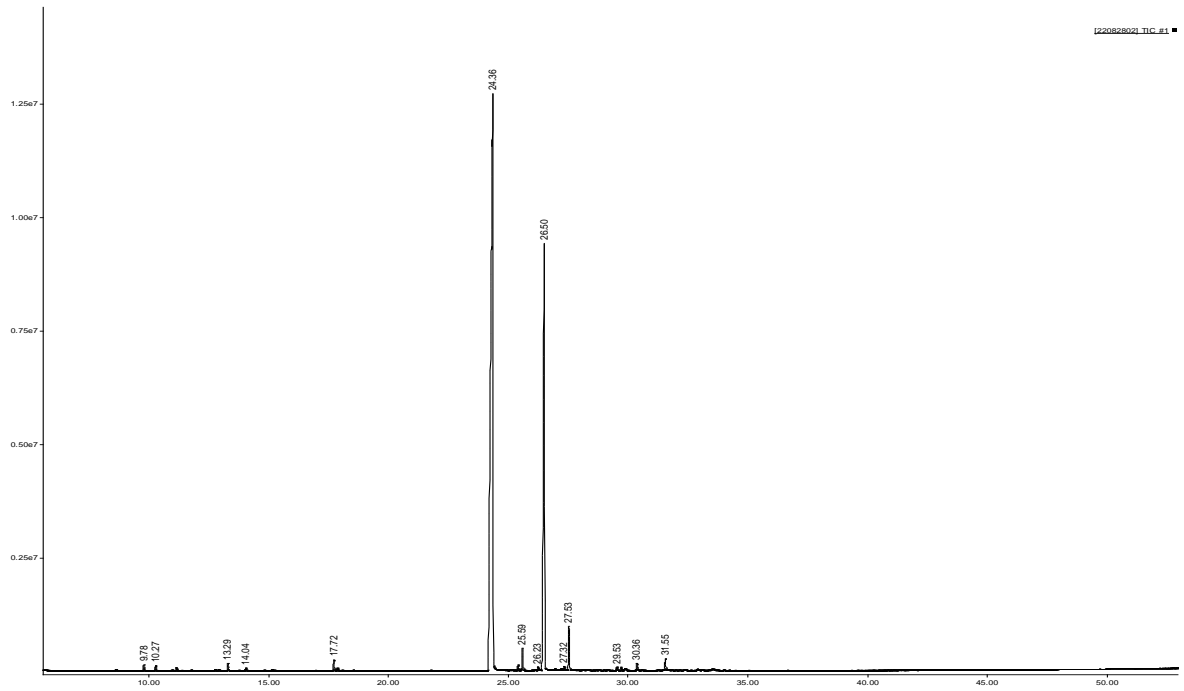
Hình I.4. Sắc ký đồ phân tích tinh dầu mẫu Hương nhu tía ở công thức CTL4



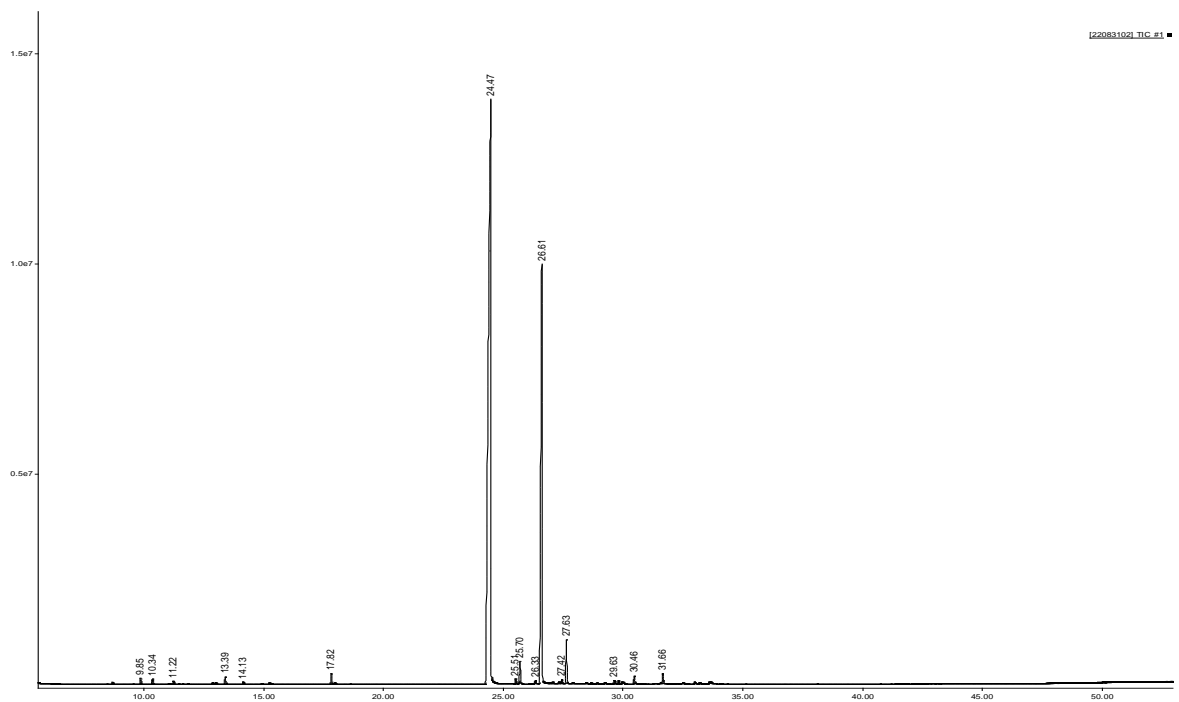
Hình I.5. Sắc ký đồ phân tích tinh dầu mẫu Hương nhu tím ở công thức CTL5



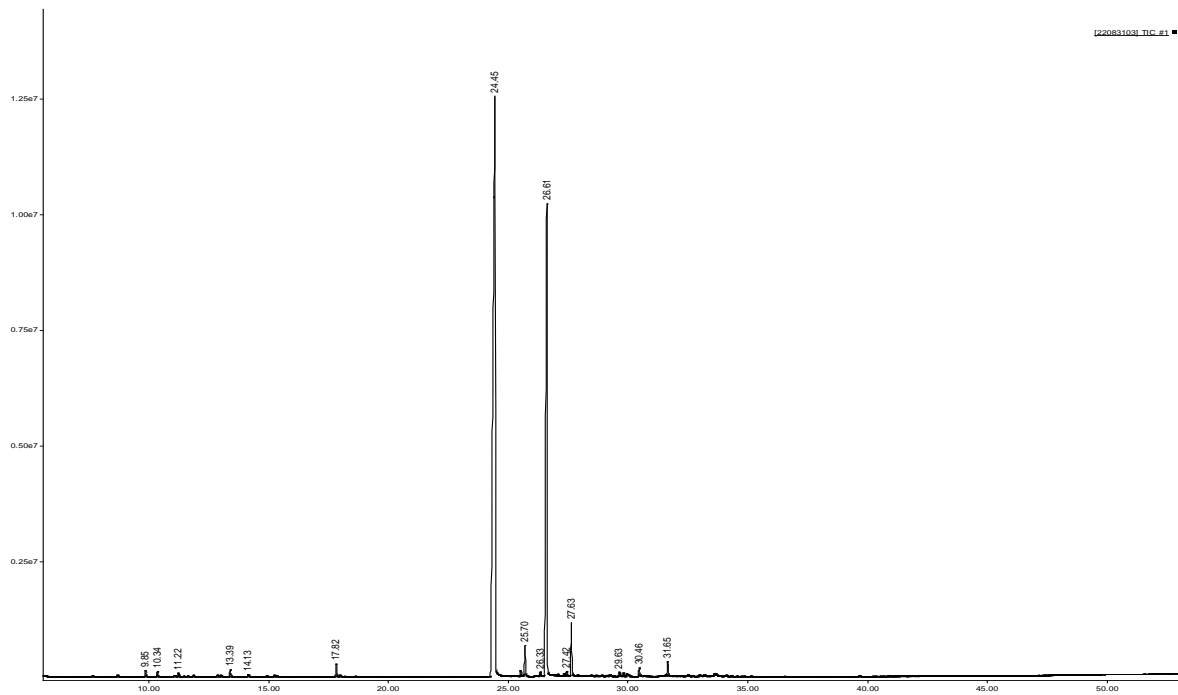
Hình I.6. Sắc ký đồ phân tích tinh dầu mẫu Hương nhu tím ở công thức CTL6



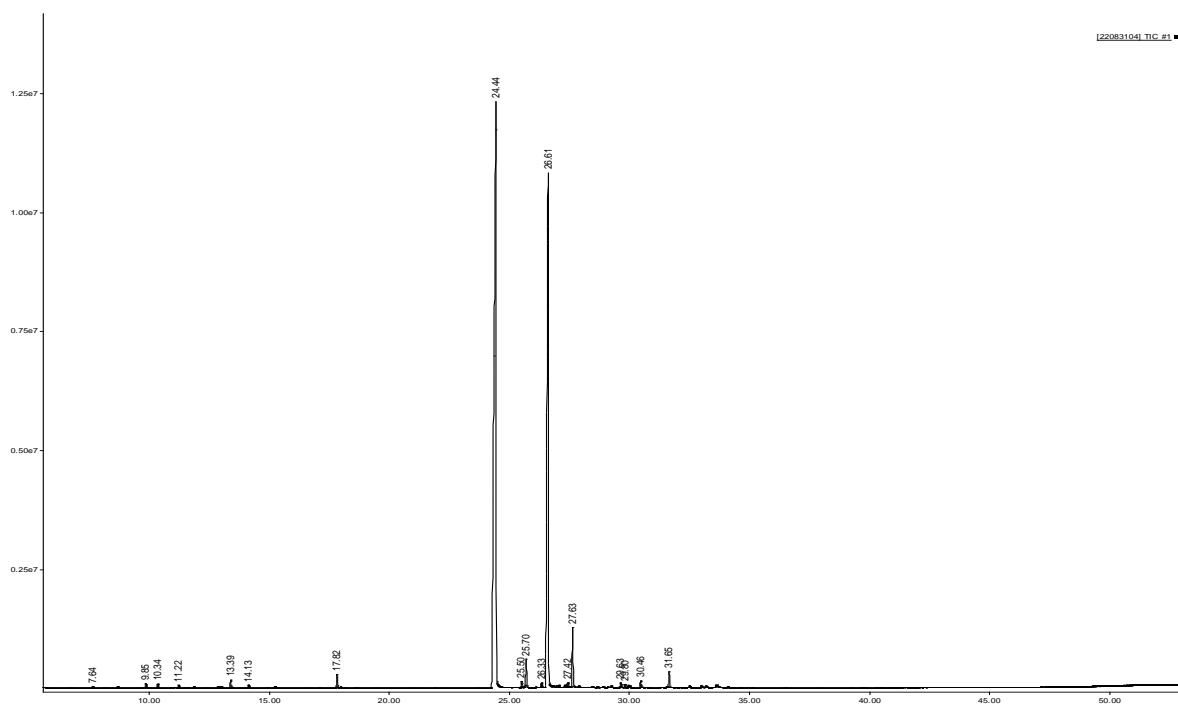
Hình I.7. Sắc ký đồ phân tích tinh dầu mẫu Hương nhu tía ở công thức CTL7



Hình I.8. Sắc ký đồ phân tích tinh dầu mẫu Hương nhu tía ở công thức CTL8

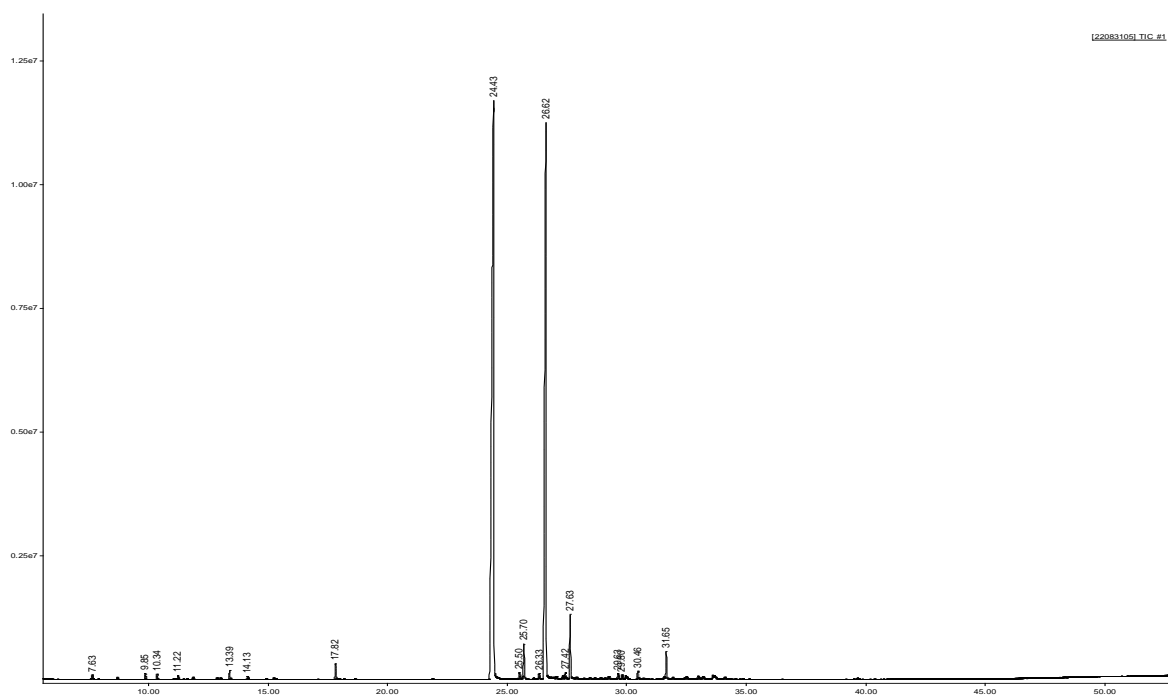


Hình I.9. Sắc ký đồ phân tích tinh dầu mẫu Hương nhu tía ở công thức CTL9

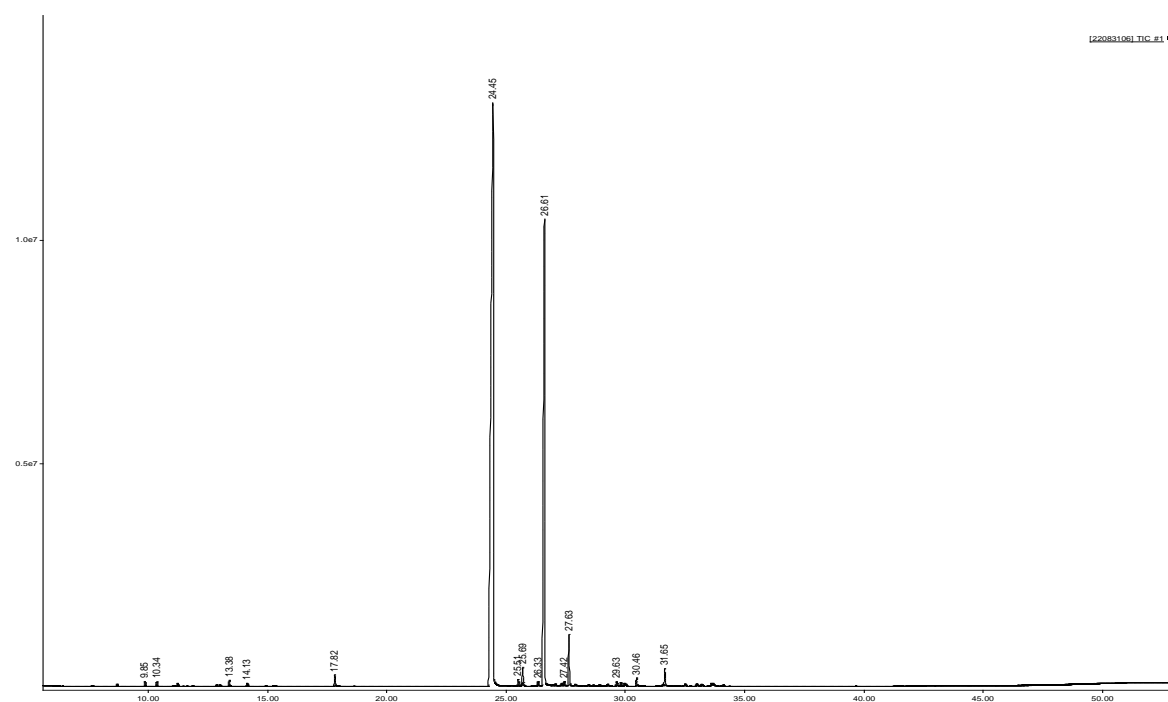


Hình I.10. Sắc ký đồ phân tích tinh dầu mẫu Hương nhu tía ở công thức CTL10

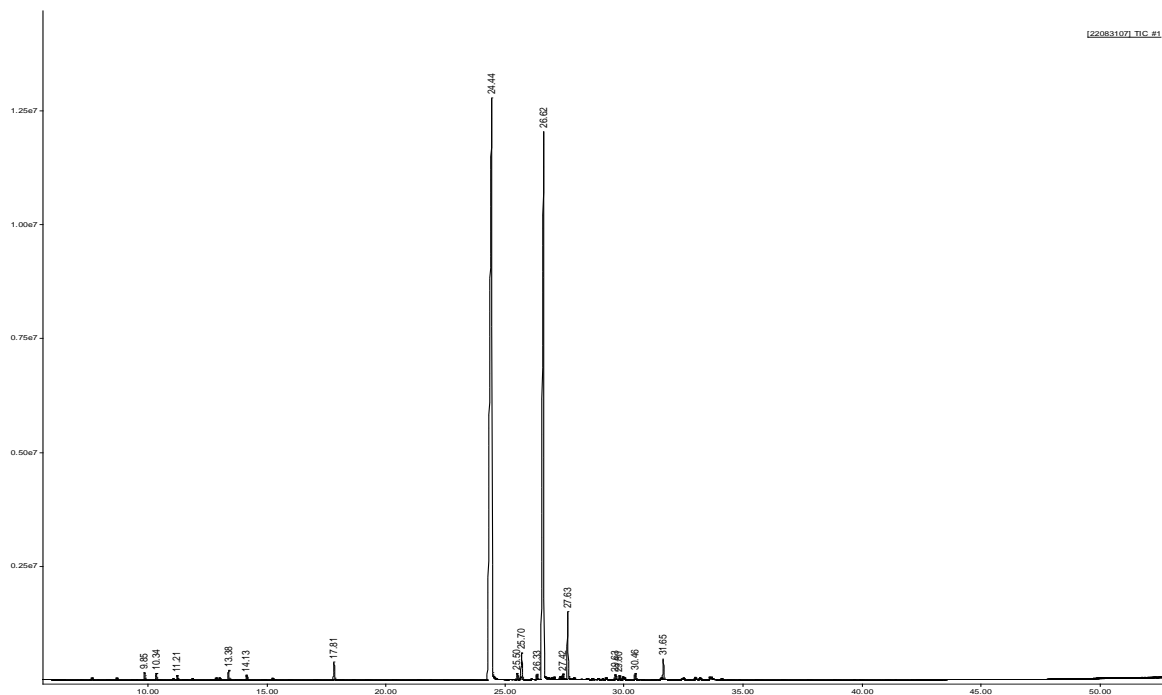
PHỤ LỤC II. SẮC KÝ ĐỒ PHÂN TÍCH TINH DẦU HƯƠNG NHU TÍA TRONG THÍ NGHIỆM BÓN PHÂN



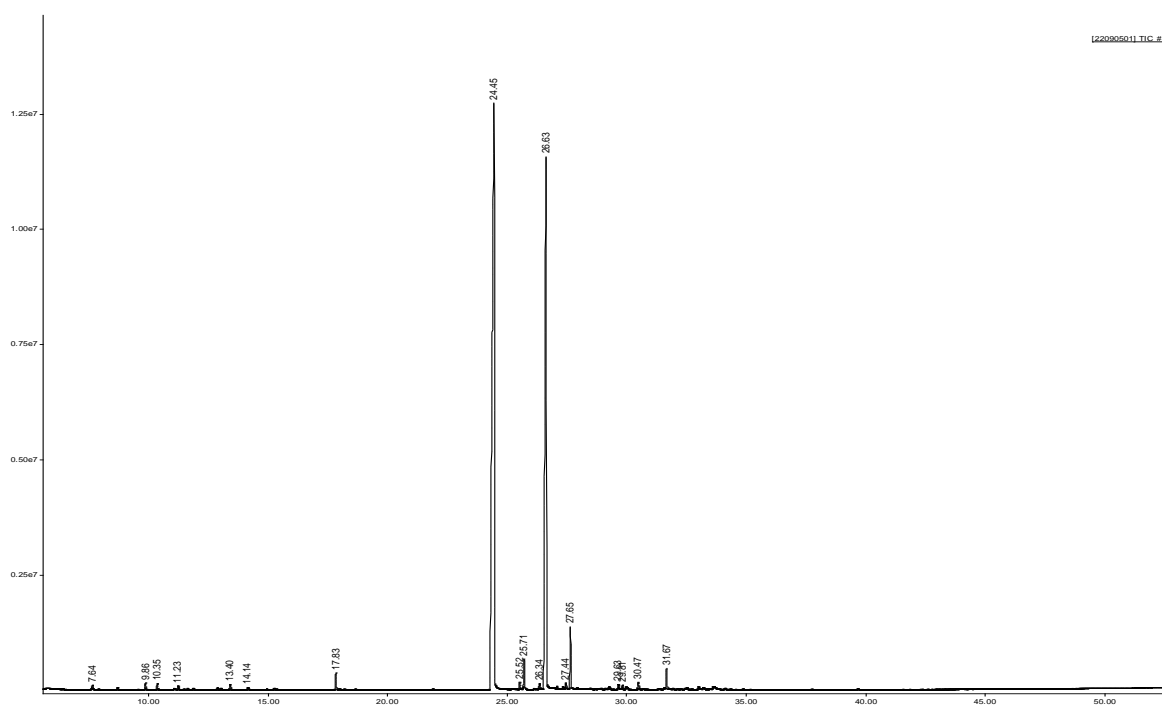
Hình II.1. Sắc ký đồ phân tích tinh dầu mẫu Hương nhu tía ở công thức CTP1



Hình II.2. Sắc ký đồ phân tích tinh dầu mẫu Hương nhu tía ở công thức CTP2



Hình II.3. Sắc ký đồ phân tích tinh dầu mẫu Hương nhu tía ở công thức CTP3



Hình II.4. Sắc ký đồ phân tích tinh dầu mẫu Hương nhu tía ở công thức CTP4