

KHẢO SÁT NHỮNG THÔNG SỐ THÍCH HỢP CHO QUÁ TRÌNH CHUNG CẤT VÀ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TINH DẦU LÁ TRÀM CỪ *MELALEUCA CAJUPUTI POWELL*

STUDY ON SUITABLE PARAMETERS OF DISTILLATION PROCESS AND CHEMICAL COMPOSITIONS OF *MELALEUCA CAJUPUTI POWELL LEAVES*

Nguyễn Thị Bích Thuyền*, Cao Lưu Ngọc Hạnh, Lê Hoàng Lãm, Trần Nhật Anh

Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam¹

*Tác giả liên hệ / Corresponding author: ntbthuyen@ctu.edu.vn

(Nhận bài / Received: 02/4/2023; Sửa bài / Revised: 12/6/2023; Chấp nhận đăng / Accepted: 03/7/2023)

Tóm tắt - Trong nghiên cứu này, lá và cành gần lá của tràm cừ *Melaleuca cajuputi* Powell thu hái ở An Giang được rửa sạch và để ráo. Phần lá và cành được giải phẫu bằng phương pháp nhuộm màu và quan sát dưới kính hiển vi điện tử để biết bộ phận nào của cây chứa nhiều tinh dầu nhất. Lấy bộ phận chứa nhiều tinh dầu đem chưng cất tinh dầu bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước. Quá trình chưng cất được khảo sát các thông số thích hợp cho hiệu suất chưng cất tinh dầu cao nhất. Tinh dầu sau chưng cất được loại nước, xác định các chỉ số hóa lý và thành phần hóa học. Thành phần hoá học chính của tinh dầu lá tràm cừ gồm Eugenol methyl ether (34,64%), Caryophyllene oxide (9,08%), β -Cymene (8,53%), α -Eudesmol (7,34%), γ -Terpinene (6,86%), Terpinolene (5,88%) và champaca camphor (5,23%).

Từ khóa – Cây tràm cừ; chưng cất tinh dầu; thành phần hóa học tràm cừ

1. Đặt vấn đề

Các loại tinh dầu từ lâu đã được chứng minh có hoạt tính sinh học như kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng virus, diệt côn trùng [1]. Nhờ những tính chất này mà tinh dầu được sử dụng trong nhiều lĩnh vực: Trong ngành công nghiệp mỹ phẩm, tinh dầu đóng một vai trò quan trọng trong các loại nước hoa, trong khi trong ngành công nghiệp thực phẩm thì chúng được sử dụng làm chất bảo quản thực phẩm. Song song đó, các thành phần tinh dầu được ứng dụng nhiều cho ngành dược phẩm như hoạt tính chống oxy hóa, chống viêm, kháng khuẩn, chữa lành vết thương, giảm lo âu ... [2].

Trong số các cây có tinh dầu thì một số giống tràm cũng được nghiên cứu như tràm gió (*Folium melaleuca*) [3] và nhiều nhất là tràm trà (*Melaleuca alternifolia*) [4-8]. Trong các giống tràm, thì tràm cừ còn gọi là tràm ta hay tràm cau, có tên khoa học là *Melaleuca cajuputi* Powell [9]. Đồng bằng Sông Cửu Long có 176.295 hecta đất tràm cừ [10] thì phần lá bị bỏ hoàn toàn sau khi lấy thân cây dùng xây nhà. Tuy nhiên, trong lá tràm cừ có chứa tinh dầu nhưng các công bố nghiên cứu tinh dầu tràm cừ còn rất hạn chế. Vì vậy nghiên cứu này bước đầu góp phần cung cấp dữ liệu khoa học của cây tràm cừ như xác định các thông số thích hợp của quá trình chưng cất để đạt hiệu suất cao nhất và xác định thành phần hóa học của tinh dầu lá tràm cừ, để lá tràm cừ có thể được tận dụng khai thác sản xuất tinh dầu.

Abstract - In this study, *Melaleuca Cajuputi* Powell leaves and branches collected in An Giang province were washed and dried then dissected by the method of staining and observed under the microscope to know which part contains most essential oils. Take the most essential oil-containing part to distill the essential oil by steam distillation. The distillation process was investigated for suitable parameters for the highest efficiency of essential oil. After distilling, the essential oil is dewatered, investigated physicochemical indexes and chemical compositions. The main chemical components of *Melaleuca* essential oil are Eugenol methyl ether (34.64%), Caryophyllene oxide (9.08%), β -Cymene (8.53%), α -Eudesmol (7.34%), γ -Terpinene (6.86%), Terpinolene (5.88%) and Champaca camphor (5.23%).

Key words - *Melaleuca Cajuputi* Powell; chemical compositions of *Melaleuca Cajuputi* Powell; steam distillation.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Giải phẫu bộ phận cây

Nguyên liệu nghiên cứu là tràm cừ ở An Giang, phần lá và cành gần lá được rửa sạch, để ráo. Sau đó, đem giải phẫu để quan sát túi chứa tinh dầu theo phương pháp nhuộm son phen - lục iod. Lá và cành gần lá được cắt thành lát mỏng, ngâm khoảng 20 phút trong nước Javel nguyên chất. Sau thời gian 20 phút, mẫu được rửa bằng nước cất cho đến hết Javel. Mẫu tiếp tục được ngâm trong dung dịch acid acetic 0,5% khoảng 20 phút để giữ cho vách tế bào vững, rửa lại bằng nước cất để loại hết acid acetic và ngâm mẫu trong son phen - lục iod với thời gian 10 phút, sau đó rửa mẫu bằng nước cất, chọn mẫu rõ đẹp quan sát dưới kính hiển vi quang học Olympus CH20 [11].

2.2. Chưng cất tinh dầu

Tinh dầu được chưng cất bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước trên bộ chưng cất Clevenger (xuất xứ Việt Nam). Quá trình chưng cất được khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng hiệu suất chưng cất tinh dầu bao gồm (bộ phận cây, kích cỡ nguyên liệu, thời gian chưng cất và tỉ lệ rắn/lỏng). Các yếu tố ảnh hưởng hiệu suất chưng cất tinh dầu theo thông số một biến, thí nghiệm được thực hiện 3 lần và lấy kết quả trung bình. Sử dụng phương pháp thống kê *T-test thí nghiệm giả định hai phương sai bằng nhau* của phần mềm excel 2013 để xem xét ở những điểm có sự thay đổi đáng kể hoặc không đáng kể. Hiệu suất chưng cất (%) được tính

¹ Can Tho University, Vietnam (Nguyen Thi Bích Thuyen, Cao Lưu Ngọc Hạnh, Lê Hoàng Lãm, Trần Nhật Anh)

trên số mL tinh dầu thu được/100 g nguyên liệu tươi.

Tinh dầu sau chưng cất được làm khan bằng Na_2SO_4 và được khảo sát chỉ số hóa lý và thành phần hóa học.

2.3. Xác định chỉ số hóa lý

- Cảm quan: Cho tinh dầu vào ống nghiệm thủy tinh trong suốt, ghi nhận màu sắc và mùi nếu có [12]

- Xác định tỉ trọng: Sử dụng dụng cụ đo tỉ trọng chất lỏng để xác định tỉ trọng của tinh dầu [13]

- Chỉ số khúc xạ: Nhỏ 1 giọt tinh dầu lên bề mặt kính của khúc xạ kế, đợi kết quả ổn định và ghi nhận giá trị [14]

- Chỉ số acid: Cân 1 g tinh dầu vào erlen 125 mL, thêm 5 mL ethanol và vài giọt dung dịch phenolphthalein, thực hiện phương pháp chuẩn độ bằng dung dịch kali hydroxit theo TCVN 8450:2010. Chỉ số acid được tính theo công thức:

$$IA = V \times c \times x \quad (56,11/m)$$

Trong đó:

V là thể tích dung dịch KOH đã dùng để chuẩn độ (mL);

c là nồng độ dung dịch KOH (mol/L);

m là khối lượng mẫu thử (g) [15].

2.4. Thành phần hóa học

Thành phần hóa học được xác định bằng kỹ thuật sắc ký khí ghép khối phổ, sử dụng cột TG-SQC; 15m x 0,25mm x 0,25 μm , khí mang Heli, tốc độ dòng 0,8 mL/phút, chế độ ion hóa EI, vùng khối phổ 35-400 amu, nhiệt độ 240°C, thể tích tiêm 1 μL [16].

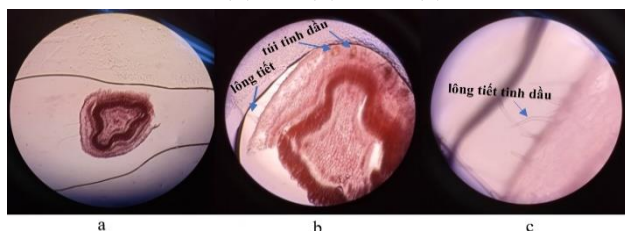
3. Kết quả và thảo luận

3.1. Quan sát túi chứa tinh dầu

So sánh với kết quả giải phẫu trên cây lá lốt, thì mô tiết tinh dầu lá lốt hình tròn, phân bố thành từng cụm và nằm sâu bên trong lá [11]. Trong nghiên cứu này, mô tiết tinh dầu lá trầm cừ bao gồm lông tiết và túi tiết hình đa giác tập trung nhiều thành lớp bên trên 2 bề mặt của lá (Hình 1)



Hình 1. Kết quả giải phẫu lá trầm cừ ở các độ phóng đại 4X (a), 10X (b) và 40X (c)



Hình 2. Kết quả giải phẫu cành trầm cừ ở các độ phóng đại 4X (a), 10X (b) và 40X (c)

Phần cành nhỏ (bộ phận gần lá) của trầm cừ cũng được quan sát túi tinh dầu. Kết quả được thể hiện ở Hình 2.

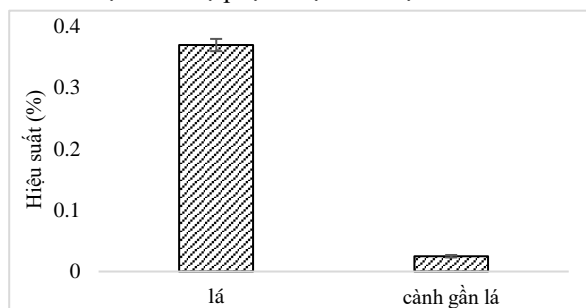
Hình 2b cho thấy, cành trầm cừ có túi tiết hình đa giác tập trung thành từng nhóm và lông tiết tinh dầu hình que,

nhưng mật độ rất ít so với bộ phận lá (Hình 1).

3.2. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng hiệu suất chưng cất tinh dầu

3.2.1. Bộ phận của cây (lá và cành gần lá)

Cho 200g nguyên liệu tươi (lá hoặc cành gần lá), cắt nhỏ (khoảng 3 – 5 mm) vào bình cầu 2000 mL, tỉ lệ nguyên liệu và nước cất là 2:5 (g/mL), tiến hành chưng cất với bộ chưng cất Clevenger trong 6 giờ. Hiệu suất chưng cất tinh dầu thu được theo bộ phận được thể hiện ở Hình 3.

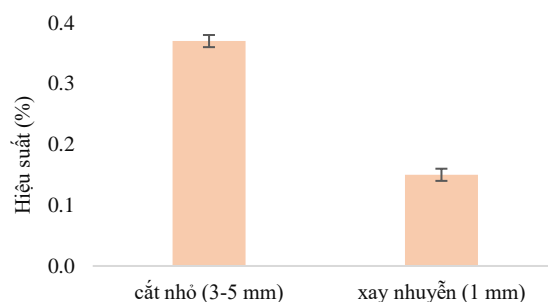


Hình 3. Hiệu suất chưng cất tinh dầu thu được theo bộ phận lá và cành

Kết quả khảo sát hiệu suất chưng cất tinh dầu theo bộ phận cây cho biết, 200g lá trầm tươi thu được $0,74 \pm 0,01$ mL tinh dầu (hiệu suất 0,37%) là cao gấp 6,1 lần so với lượng tinh dầu có trong lá lốt của Thuỳ và cộng tác viên [16]. Tuy nhiên lượng tinh dầu có trong phần cành thấp hơn 14,8 lần so với phần lá. Kết quả này phù hợp với kết quả giải phẫu ở Hình 1 và 2. Vì vậy bộ phận lá được chọn để chưng cất tinh dầu trong các thí nghiệm tiếp theo.

3.2.2. Kích cỡ nguyên liệu

Cho 200g lá trầm tươi đã cắt nhỏ (khoảng 3 – 5 mm) hoặc xay nhuyễn (khoảng 0,5-1 mm) vào bình cầu 2000 mL, tỉ lệ nguyên liệu và nước cất là 2:5 (g/mL), tiến hành chưng cất trong 6 giờ. Hiệu suất chưng cất tinh dầu thu được theo kích cỡ nguyên liệu được thể hiện ở Hình 4

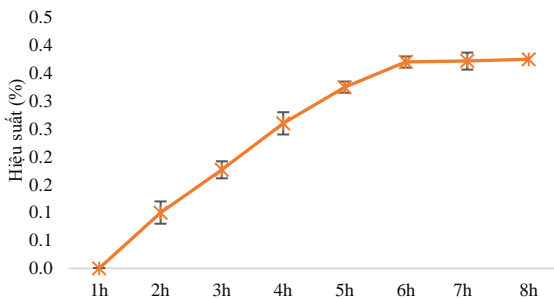


Hình 4. Ảnh hưởng của kích cỡ nguyên liệu lên hiệu suất chưng cất tinh dầu

Trong thí nghiệm này, nguyên liệu có kích thước khoảng 3-5 mm cho hiệu suất cao hơn nguyên liệu xay nhuyễn. Nguyên nhân do khi xay nguyên liệu có kích thước quá nhỏ (khoảng 1mm) thì trong quá trình chưng cất, nguyên liệu nổi lên trên bề mặt của bình chưng cất và tạo thành một lớp dày đặc làm cản trở quá trình bay hơi của nước và tinh dầu dẫn đến hiệu suất thấp hơn. Quan sát này tương tự với quá trình chưng cất của tinh dầu húng lủi [17]. Trong thí nghiệm này, hiệu suất chưng cất cao nhất là 0,37% ($\pm 0,01$) khi mẫu được cắt nhỏ ở kích cỡ khoảng 3-5 mm. Vì thế cỡ mẫu này được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.2.3. Khảo sát hiệu suất chung cất tinh dầu thu được theo thời gian chưng cất

Cho 200g lá trà tươi đã cắt nhỏ (khoảng 3 – 5 mm) vào bình cầu 2000 mL, tỉ lệ nguyên liệu và nước cất là 2:5 (g/mL), tiến hành chưng cất trong khoảng thời gian (1-8h). Hiệu suất chung cất tinh dầu thu được theo thời gian được thể hiện ở Hình 5.



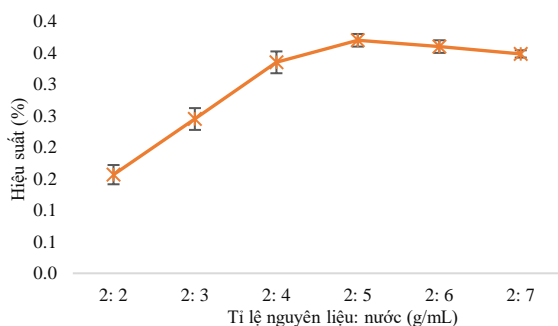
Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian chưng cất (giờ) lên hiệu suất chung cất tinh dầu

Hình 5 cho biết tinh dầu thu được tăng dần cùng với tăng thời gian chưng cất. Một giờ đầu của quá trình chưng cất chưa đủ thời gian để các túi tinh dầu bên trong vật liệu bị vỡ nên hiệu suất chung cất bằng 0. Sau 2 giờ trở đi, các túi tinh dầu bắt đầu bị vỡ và được nước lôi cuốn ra ngoài, vì vậy lượng tinh dầu tăng dần từ 0,2 mL ($\pm 0,02$) – 0,65 mL ($\pm 0,01$) trong khoảng thời gian từ 2 – 5 giờ chưng cất và đạt cao nhất là 0,74 mL ($\pm 0,01$) trong 6 giờ chưng cất. Sau thời gian 6 giờ, lượng tinh dầu không tăng do tinh dầu đã được nước lôi cuốn ra khỏi lá trà hoàn toàn trong 6 giờ đầu.

Trong thí nghiệm này, hiệu suất chưng cất trong khoảng thời gian 6 giờ - 8 giờ là chênh lệch không đáng kể ($P > 0,05$), mặt khác để tiết kiệm năng lượng và thời gian thì 6 giờ là thời gian tối ưu để chưng cất tinh dầu lá trà tươi.

3.2.4. Khảo sát hiệu suất chung cất tinh dầu thu được theo tỉ lệ nguyên liệu và nước

Cho 200g lá trà tươi đã cắt nhỏ (khoảng 3 – 5 mm) vào bình cầu 2000 mL, chưng cất trong 6 giờ, tiến hành khảo sát lượng tinh dầu thu được theo tỉ lệ nguyên liệu và nước (g/mL). Kết quả được trình bày ở Hình 6



Hình 6. Ảnh hưởng tỉ lệ nguyên liệu và nước (g/mL) lên hiệu suất chung cất tinh dầu

Một trong những yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất chưng cất tinh dầu là tỉ lệ rắn lỏng. Trong báo cáo kết quả nghiên cứu tinh dầu lá lốt [16], khảo sát quá trình chưng cất tinh dầu lá lốt với tỉ lệ nguyên liệu: nước từ 1: 1,4 – 1: 1,24 (g/mL) kết quả khảo sát cho thấy, lượng tinh dầu lá lốt đạt cực đại ở tỉ lệ 1: 2 (g/mL), việc tăng thêm lượng nước cũng không cải

thiện hiệu suất chưng cất tinh dầu lá lốt. Trong nghiên cứu này, Hình 6 cho biết hiệu suất chưng cất cao nhất ở tỉ lệ 2: 5 (g/mL) là 0,37% và hiệu suất giảm xuống 0,34% nếu tăng lượng nước đến tỉ lệ 2: 7. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu trên tinh dầu lá lốt [16] và trên tinh dầu húng lủi [17]. Điều này có thể được giải thích như sau: Các túi tinh dầu bên trong tế bào lá trà trương phồng lên khi nguyên liệu được đun trong nước nóng, sau đó nó bị vỡ và thoát ra ngoài khỏi lớp tế bào lá. Khi lượng nước quá ít (1: 2) thì nước không đủ để hòa tan và thấm thấu vào bên trong tế bào, do đó vẫn còn một lượng lớn tinh dầu chưa được lôi cuốn ra ngoài dẫn đến hiệu suất không cao. Mặt khác khi lượng nước quá ít và thời gian chưng cất 6 giờ đã làm cho một phần nguyên liệu bị khét làm hiệu suất thấp. Nhưng nước quá nhiều (tỉ lệ 2: 6 hoặc 2:7) thì tinh dầu chưa được lôi cuốn ra khỏi nguyên liệu trong 6 giờ chưng cất nên hiệu suất chưng cất không cao so với tỉ lệ 2:5 (g/mL) trong 6 giờ chưng cất. Trong thí nghiệm này, tỉ lệ tối ưu được chọn là 2: 5 (g/mL).

Tóm lại, thông số tối ưu cho quá trình chưng cất tinh dầu lá trà tươi là kích cỡ nguyên liệu (khoảng 3-5 mm); tỉ lệ rắn: lỏng (2:5) (g/mL), thời gian chưng cất (6 giờ) và bộ phận lá sẽ cho hiệu suất cao nhất là 0,37% $\pm 0,01$.

3.3. Xác định chỉ số hóa lý

Tinh dầu lá trà tươi thu được có màu vàng, một số chỉ số được thể hiện ở Bảng 1:

Bảng 1. Kết quả xác định chỉ số hóa lý

Chỉ số	Tràm cừ (NC này)	Tràm trà [6]	Tràm trà [18]
Cảm quan	màu vàng, mùi thơm đặc trưng, nồng	-	màu vàng, mùi thơm
Tỉ trọng (d_{25}^{25}) g/cm ³	0,927	0,899	0,906
Chỉ số khúc xạ (n_D^t)	1,48	-	-
Chỉ số acid	0,53	-	-

Ghi chú: (-): không có dữ liệu

Nhận xét: Tinh dầu tràm cừ có tỉ trọng nhỏ hơn 1, phù hợp với kết quả thực nghiệm (tinh dầu nhẹ và nổi trên mặt nước), tỉ trọng chênh lệch so với tràm trà ở Thổ Nhĩ Kỳ [6] và Úc [18]. Tinh dầu có chỉ số acid thấp cho biết tinh dầu có chất lượng tốt, ít bị biến đổi theo thời gian [16].

3.4. Xác định thành phần hóa học

Thành phần hóa học tinh dầu tràm cừ được thể hiện ở Bảng 2.

Kết quả phân tích GC – MS cho thấy, hành phân hóa học chính trong tinh dầu tràm cừ là Eugenol methyl ether (34,64%), Caryophyllene oxide (9,08%), β – Cymene (8,53%), α -Eudesmol (7,34%), γ -Terpinene (6,86%), Terpinolene (5,88%) và champaca camphor (5,23%). Eugenol methyl ether là hợp chất thơm phổ biến trong các loài cây có dược tính như sả, dóng sanh, thì là, chàm mèo, thùy xương bồ, bình bát... [19], Caryophyllene oxide là một sesquiterpenoid oxide phổ biến trong dầu chanh và bạch đàn [20], hợp chất này đóng vai trò là chất chống nấm phổ rộng trong bảo vệ thực vật và là chất diệt côn trùng, chống ăn mòn và là chất diệt nấm [20]. β -cymene, α -phellandrene, β -pinene và thymol có mặt trong tinh dầu thì là đen trồng ở 5 khu vực gồm Ấn Độ Saudi Arabia, Morocco và Syria và được chứng minh các chất này có tính kháng sinh [21].

Bảng 2. Thành phần hóa học của tinh dầu trầm cừ

STT	Thành phần	Phần trăm (%)
1	α -Phellandrene	0,71
2	α -Pinene	1,08
3	α -Terpinene	0,48
4	β-Cymene	8,53
5	γ -Terpinene	6,86
6	Terpinolene	5,88
7	1-Terpinen-4-ol	4,18
8	α -Terpineol	1,49
9	Eugenol methyl ether	34,64
10	Caryophyllene	8,19
11	α -Caryophyllene	4,21
12	γ -Gurjunene	2,1
13	Caryophyllene oxide	9,08
14	Champaca camphor	5,23
15	α -Eudesmol	7,34

Bảng 3. So sánh thành phần hóa học chính của tinh dầu trầm ở các vùng miền

TT	Trầm cừ An Giang (NC này)	Trầm trà Thổ Nhĩ Kỳ [6]	Trầm trà Tunisia [7]
01	Eugenol methyl ether (34,64%)	α -pinene (21,64 %)	Terpinene-4-ol (40,44%)
02	Caryophyllene oxide (9,08%),	γ -Terpinene (21,09%)	γ -terpinene (19,54%)
03	β -Cymene (8,53%)	terpinene-4-ol (17,31 %)	α -terpinene (7,69%)
04	Eudesmol (7,34%)	Limonene (9,37 %)	1,8-cineole (5,20%)
05	γ -Terpinene (6,86%)	α -cymene (6,54 %)	α -pinene (2,67%)

Bảng 3 so sánh thành phần hóa học chính của tinh dầu trầm ở các vùng trong và ngoài nước cho biết, γ -Terpinene có mặt trong tinh dầu trầm kê cả trầm cừ và trầm trà từ 6,86-21,09%, tuy nhiên chất này không phải là chất chiếm tỉ lệ lớn nhất trong tinh dầu. Các thành phần chính trong các loại trầm là khác nhau, cụ thể Eugenol methyl ether là thành phần chính trong trầm cừ An Giang, trong khi α -pinene là chính trong trầm trà Thổ Nhĩ Kỳ [6] và terpinene-4-ol là chính trong trầm trà Tunisia [7]. Điều này chứng minh thành phần trong tinh dầu là khác nhau tùy theo giống cây và vị trí địa lý.

4. Kết luận

Quá trình giải phẫu thực vật cho biết tinh dầu trầm cừ tập trung nhiều ở bộ phận lá. Kết quả khảo sát tìm được thông số tốt nhất cho quá trình chưng cất tinh dầu trầm cừ: kích cỡ nguyên liệu (khoảng 3-5 mm); tỉ lệ rắn: lỏng (2:5) (g/mL), thời gian chưng cất (6 giờ) và bộ phận lá cho hiệu suất cao. Với điều kiện này, hiệu suất chưng cất tinh dầu lá trầm cừ (0,37%) là cao gấp 6,1 lần so với lượng tinh dầu có trong lá lốt và gấp 2,5 lần so với tinh dầu lá húng lũi. Thành phần hóa học chính trong tinh dầu chứa Eugenol methyl ether (34,64%), Caryophyllene oxide (9,08%), β -Cymene (8,53%), α -Eudesmol (7,34%), γ -Terpinene (6,86%), Terpinolene (5,88%) và champaca camphor (5,23%) là những chất được chứng minh có được tính. Kết quả nghiên

cứu mở ra triển vọng cho việc khai thác lá trầm cừ vào các sản phẩm ứng dụng như tinh dầu, mỹ phẩm hay dược phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] L. N. Thach, *Essential oils*, Vietnam National University Ho Chi Minh City Publishing House, 2003.
- [2] M. S. D. Oliveira and E. H. D. A. Andrade, *Essential Oils - Advances in Extractions and Biological Applications*. Biochemistry, IntechOpen, 2022.
- [3] T. T. Thao and V. V. Leo, "Research on the chemical composition of antioxidant effects of Melaleuca leaves (*Folium Melaleucae*)", *Vietnam Journal Online*, vol. 59, no. 3, pp. 36-39, 2019.
- [4] L. T. Khang, N. T.T. Huong and L. T. T. Tien, "Extraction and application of tea tree essential oil (*Melaleuca alternifolia*) in antimicrobial activity against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, *National Conference on Biotechnology*, 2020, pp. 834-839.
- [5] D. M. Hoa, V. H. Duy, and N. T. D. Chi, "Study on extraction, chemical component investigation and initial application of Melaleuca alternifolia (Tea tree) oil in mouthwash production". *CTU Journal of Science*, vol. 45, no. 2016, pp. 90-96, 2016.
- [6] R. Sevik, G. Akarca, M. Kilinc, and C. Ascioglu, "Chemical Composition of Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*) (Maiden & Betche) Cheel Essential Oil and Its Antifungal Effect on Foodborne Molds Isolated from Meat Products", *Journal of Essential oil bearing plants*, vol. 24, no. 3, pp. 561-570, 2021.
- [7] E. Noumi *et al.*, "Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of Melaleuca alternifolia (tea tree) and Eucalyptus globulus essential oils against oral Candida species", *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 5, no. 17, pp. 4147-4156, 2011.
- [8] M. Liao *et al.*, "Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of Melaleuca alternifolia essential oil on the Helicoverpa armigera", *Journal of applied entomology*, vol. 41, pp. 721-727, 2017.
- [9] T. Phuc, "Melaleuca planting techniques", *Vietnam Academy of Forest Sciences*, 2014, [Online] Available: <http://vafs.gov.vn/vn/ky-thua-trong-tram-ta/>, [Accessed: March 29, 2023].
- [10] T. Q. Huy and C. T. Linh, "Experimental Research on the Bearing Capacity of Cajuput Piles in Reinforcing the Softsoil below the Rural Roads and Low Level Houses in Tra Vinh Province". *The University of Danang - Journal of Science and Technology*, vol. 5, no. 126, pp. 23-26, 2018.
- [11] N. T. B. Thuyen, H. Q. Phong, L. D. Duy, T. T. N. Tram, "Study on bioactivities of Piper lolot C.DC. Essential oil", *Journal of Science and Technology, University of Science, Hue university*, vol. 18, no. 2, 2021, 123-132.
- [12] Ministry of Science and Technology, *Vietnamese Standard TCVN 8460:2010, Essential oils - sensory evaluation*, 2010.
- [13] Ministry of Science and Technology, *Vietnamese standard TCVN 8444:2010, Essential oils - density determination*, 2010.
- [14] Ministry of Science and Technology, *Vietnamese Standard TCVN 8445:2010, Essential oils - determination of refractive index*, 2010.
- [15] Ministry of Science and Technology, *Vietnamese standard TCVN 8450:2010, Essential oils - determination of acid value*, 2010.
- [16] N. T. B. Thuyen, C. L. N. Hanh, and T. T. N. Tram, "Investigating Optimal Parameters for Distilling Piper Lolot C.DC. Essential Oil and Studying Its Chemical Composition". *The University of Danang - Journal of Science and Technology*, vol. 18, no. 11.1, pp. 7-10, 2020.
- [17] T. N. G. Bao and N. H. H. Khai, "Research on the chemical composition and biological activity of spearmint essential oil", Graduate thesis, Can Tho University, 2020.
- [18] C.F. Carson, K. A. Hammer, and T.V. Riley, "Melaleuca alternifolia (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties". *Clin Microbiol Rev*, vol. 19, no. 1, pp. 50-62, 2006.
- [19] K. H. Tan and R. Nishida, "Methyl eugenol: Its occurrence, distribution, and role in nature, especially in relation to insect behavior and pollination". *Journal of Insect Science*, vol. 12, no. 56, pp. 1-7, 2012.
- [20] E. B. Russo and J. Marcu, *Caryophyllene oxide*, in *Advances in Pharmacology*, ScienceDirect, 2017
- [21] M. Dalli *et al.*, "Molecular Composition and Antibacterial Effect of Five Essential Oils Extracted from *Nigella sativa* L. Seeds against Multidrug-Resistant Bacteria: A Comparative Study", *Research Article*, vol. 2021, 2021.