

NGHIÊN CỨU HIỆU QUẢ KHÁNG VI KHUẨN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* KHI SỬ DỤNG KẾT HỢP CÁC LOẠI TINH DẦU VIỆT NAM

Vũ Thu Trang*, Nguyễn Thị Hoa

*Viện Công nghệ sinh học và Công nghệ thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội,
Số 1 Đại Cồ Việt, Hai Bà Trưng, Hà Nội*

*Email: *trang.vuthu@hust.edu.vn; thutrangvu1981@yahoo.com*

Đến Tòa soạn: 9/7/2014; Chấp nhận đăng: 6/6/2015

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu này là nghiên cứu hoạt tính kháng vi khuẩn Gram dương *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), vi khuẩn gây bệnh và gây hư hỏng sản phẩm phổ biến, khi sử dụng riêng lẻ và kết hợp các loại tinh dầu thực vật Việt Nam (Hương Nhu, Quế, Bạc hà, Mắc khén, Màng tang, Dầu giun, Tràm) nhằm lựa chọn những cặp tinh dầu có khả năng tương tác cộng hưởng ứng dụng trong y dược và thực phẩm. Hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu được xác định theo phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Kết quả nghiên cứu cho thấy cả bảy loại tinh dầu khảo sát đều có khả năng kháng *S. aureus* với đặc tính kháng khuẩn rất khác biệt. Đường kính kháng khuẩn giao động từ 13 mm (tinh dầu Tràm) tới 60 mm (tinh dầu Màng tang). Kết quả khảo sát định tính sự tương hợp của 42 cặp tinh dầu bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch cho thấy tinh dầu Tràm, Dầu giun, Bạc Hà không thể hiện tương tác cộng hưởng với các tinh dầu khác khi kháng *S. aureus*. Các tinh dầu Màng tang, Quế chi, dầu Giun thể hiện khả năng kháng khuẩn cộng hưởng mạnh với nhau hứa hẹn khả năng ứng dụng cao khi sử dụng kết hợp hai trong ba loại tinh dầu này trong lĩnh vực y dược và thực phẩm.

Từ khóa: hoạt tính kháng khuẩn, tinh dầu thực vật, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), tương tác cộng hưởng.

1. MỞ ĐẦU

Một trong những thành tựu của y học hiện đại là phát triển các chất kháng sinh. Kháng sinh là phương thức quan trọng trong việc điều trị các bệnh truyền nhiễm do vi sinh vật. Tuy nhiên việc lạm dụng thuốc kháng sinh đã trở thành yếu tố chính cho sự xuất hiện phổ biến của các chủng vi sinh vật gây bệnh kháng đa thuốc. Vì vậy, việc nghiên cứu, lựa chọn các hợp chất kháng khuẩn tự nhiên như tinh dầu thay các chất kháng sinh đang rất được quan tâm trên thế giới [1]. Việt Nam là một trong những nước có tài nguyên di truyền thực vật phong phú và đa dạng. Những nghiên cứu về hoạt tính kháng sinh từ các cây dược liệu và khai thác nguồn dược phẩm tự nhiên này đang là mối quan tâm của nhiều nhà khoa học Việt Nam. Bên cạnh ứng dụng trong y học, trên thế giới đã có rất nhiều nghiên cứu về hiệu quả của tinh dầu chống lại các tác

nhân gây bệnh truyền nhiễm qua thực phẩm và vi khuẩn gây hư hỏng sản phẩm thực phẩm [2]. Ý tưởng ứng dụng khả năng kháng khuẩn của một số loại tinh dầu để bảo quản thực phẩm đã được một số nhà khoa học trên thế giới đề xuất như bảo quản sữa bằng tinh dầu quế tại Pháp. Tại Việt Nam, nghiên cứu về khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh có nguồn gốc thực phẩm hoặc vi khuẩn hư hỏng thực phẩm và ứng dụng bảo quản thực phẩm bằng tinh dầu tự nhiên là hướng nghiên cứu đang được quan tâm.

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) hay tụ cầu vàng được xem là một trong ba tác nhân chính của các vụ ngộ độc thực phẩm ở nhiều nước chỉ sau *Salmonella* và *Clotstridium perfringens*. *S. aureus* là những vi khuẩn hình cầu, gram dương, đường kính 0,5 - 1,5 μ m, tế bào xếp thành hình chùm nho, không di động, là sinh vật kị khí hay kỵ khí tùy nghi. Tụ cầu có khả năng nhiễm vào thực phẩm và gây bệnh rất lớn do chúng phân bố khắp nơi và có khả năng sinh độc tố [3]. *S. aureus* là vi khuẩn có mặt trong hầu hết các loại thực phẩm như thịt, cá, gà và sản phẩm của chúng, rau cải, trứng, nấm, sữa và sản phẩm từ sữa, kem, phomai, thực phẩm lên men. Chúng vừa có khả năng phát triển trong thực phẩm làm biến đổi các thành phần thực phẩm, vừa là tác nhân gây bệnh khi tiêu thụ phải thực phẩm nhiễm chủng vi khuẩn này. Đặc biệt là nước sử dụng sản phẩm thịt tươi chủ yếu như Việt Nam với hệ thống giết mổ không đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm, khi thực phẩm đã nhiễm tụ cầu, chúng sẽ tăng nhanh về số lượng. Điều đáng lo ngại là độc tố được tạo ra trong suốt quá trình phát triển của tụ cầu nhưng lại không gây ảnh hưởng đến cảm quan của thực phẩm, do đó ít được chú ý [4]. Tại Việt nam, đây cũng là một trong những loại vi khuẩn chỉ thị để xác định mức độ an toàn của một sản phẩm thực phẩm (46/2007/QĐ-BYT “Quy định giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm của Bộ Y tế). Chính vì thế chúng tôi lựa chọn *S. aureus* là đối tượng nghiên cứu cho đề tài này.

Xu hướng sử dụng các hợp chất kháng khuẩn tự nhiên thay các chất kháng sinh đang rất được quan tâm trên thế giới. Chính vì vậy, tinh dầu cũng có thể được sử dụng như một nguồn kháng khuẩn tự nhiên để thay thế một phần chất kháng sinh trong điều trị nhiễm khuẩn *S. aureus*, giảm thiểu sự gia tăng của các vi khuẩn kháng thuốc như methicillin-resistant *S. aureus* vốn là vấn đề nghiêm trọng mà thế giới phải đối mặt trong ba thập kỉ qua [5]. Với mong muốn tăng hiệu quả kháng khuẩn, giảm giá thành, giảm liều lượng tinh dầu sử dụng trong điều trị bệnh nhiễm khuẩn, hay làm giảm tác động của tinh dầu tới giá trị cảm quan của sản phẩm thực phẩm mà vẫn đạt được kết quả diệt khuẩn tương tự, chúng tôi tiến hành nghiên cứu hiệu quả kháng *S. aureus* khi sử dụng kết hợp các loại tinh dầu Hương Nhu, Bạc hà, Mắc khén, Màng tang, Dầu giun, Bạc Hà, Tràm để từ đó đề xuất hướng ứng dụng trong y dược và bảo quản thực phẩm bằng sản phẩm an toàn có nguồn gốc tự nhiên.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và tinh dầu sử dụng

Môi trường Mueller-Hinton broth (MHB) và đĩa giấy lọc (6 mm) mua từ công ty Becton, Dickinson and Company (New Jersey, USA). Tất cả thuốc thử khác đều thuộc loại tinh khiết. Nước Milli-Q hoặc nước tiệt trùng được sử dụng trong tất cả thí nghiệm.

Các loại tinh dầu Hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum*), Tràm lá dài (*Melaleuca leucadendra*), Quế chi (*Cinamomum loureirii*), Mắc khén (*Zanthoxylum rhetsa*), Màng tang (*Litsea cubeba*), Dầu Giun (*Chenopodium ambrosioides*), Bạc hà (*Mentha arvensis*) mua từ công ty Aromasia Indochine, Việt Nam. Các loại tinh dầu này được sản xuất bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước từ nguyên liệu thu hái tại Việt nam.

2.2. Chủng vi khuẩn sử dụng và điều kiện nuôi cấy

Chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* ATCC ® 25923™ (*S. aureus*) mua từ bộ sưu tập chủng giống Hoa Kỳ. Chủng được hoạt hóa trên đĩa thạch MHB bổ sung 1,4 % aga và nuôi cấy ở 37 °C trong điều kiện hiếu khí trong 24 giờ. Trong thí nghiệm xác định nồng độ ức chế tối thiểu riêng lẻ và hiệu quả ức chế khi sử dụng kết hợp, MHB môi trường lỏng được sử dụng trong nghiên cứu này.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp khuếch tán đĩa thạch

Xác định khả năng ức chế của tinh dầu đối với sự phát triển của vi khuẩn *S. aureus* bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch sử dụng rộng rãi để nghiên cứu hoạt tính sinh học của các hợp chất [6]. Chủng vi khuẩn sử dụng được hoạt hóa trước ở 37 °C trong 24 giờ trong môi trường MHB. Sau đó, vi khuẩn được hòa tan trong nước muối sinh lý 0,9 % đã tiệt trùng, vortex đều, và đo mật độ quang ở 600 nm. Dịch vi khuẩn được điều chỉnh sao cho OD = 0,1 (tương đương mật độ khuẩn lạc là 10^8 CFU/ml). Cấy 100 µl dịch vi khuẩn lên đĩa thạch MHB đã được chuẩn bị trước, trang đều và để khô. Nhỏ 10µl tinh dầu lên khoanh giấy tiệt trùng đặt trên đĩa thạch đã cấy vi khuẩn. Sau đó các đĩa được nuôi cấy trong tủ ấm 37 °C trong điều kiện hiếu khí trong 24 giờ. Đường kính vòng kháng khuẩn được xác định là giá trị trung bình của ít nhất ba lần thí nghiệm lặp.

2.3.3. Phương pháp xác định sự tương tác của các loại tinh dầu

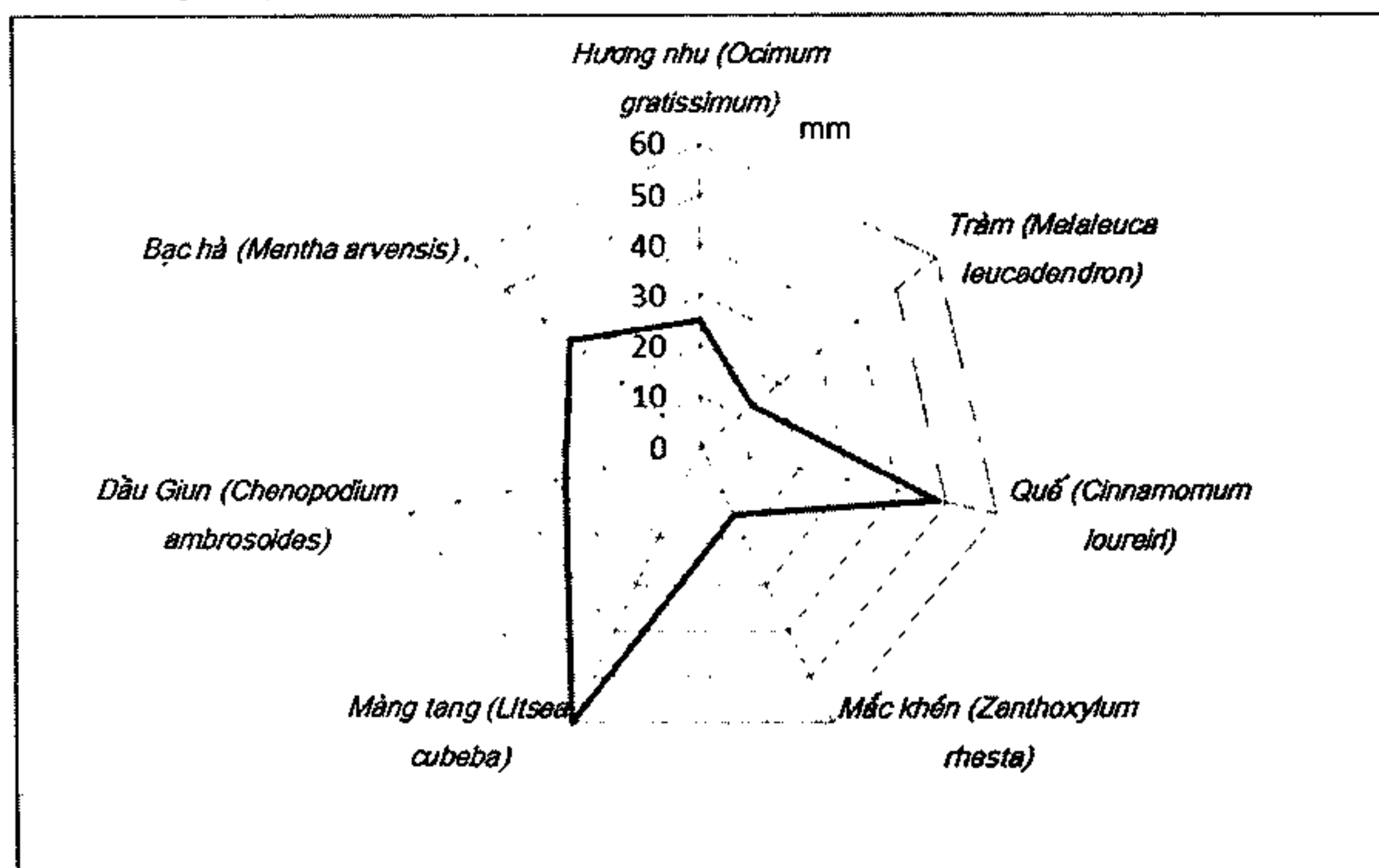
Thí nghiệm kiểm tra sự tương tác và tác dụng tương hợp của 7 loại tinh dầu với nhau (42 cặp tinh dầu) được tiến hành bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch [6]. Tinh dầu trên khoanh giấy lọc sẽ khuếch tán trên môi trường thạch dinh dưỡng. Càng xa trung tâm, nồng độ tinh dầu càng giảm dần. Khả năng kháng khuẩn của tinh dầu sẽ thể hiện bằng một vòng tròn kháng khuẩn sau khi nuôi cấy, trong đó nồng độ tinh dầu tại biên của vòng tròn kháng khuẩn chính là nồng độ ức chế tối thiểu của tinh dầu với chủng vi khuẩn thử nghiệm [7]. Dựa vào nguyên tắc đó, vùng giao thoa của hai vùng ức chế vi khuẩn thể hiện ảnh hưởng của tương hỗ của hai loại tinh dầu thử nghiệm [8]. Hai đĩa giấy lọc tiệt trùng ($\varphi = 6$ mm) có chứa hai loại tinh dầu khác nhau được đặt lên trên đĩa thạch đã cấy chủng vi khuẩn *S. aureus*. Sau đó các đĩa được nuôi cấy trong tủ ấm 37 °C trong điều kiện hiếu khí trong 24 giờ và quan sát vùng giao thoa giữa hai vòng tròn kháng khuẩn của hai loại tinh dầu xác định khả năng tương tác giữa các loại tinh dầu [8].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng kháng khuẩn của các loại tinh dầu

Khả năng kháng *S. aureus* của 7 loại tinh dầu được thể hiện trên Hình 1. Kết quả nghiên cứu cho thấy cả 7 loại tinh dầu sử dụng trong nghiên cứu đều có khả năng kháng *S. aureus* với đường kính kháng khuẩn từ 13 ± 2 mm (tinh dầu Tràm) đến 60 mm (tinh dầu Màng tang). Các loại tinh dầu khác nhau thể hiện hoạt tính kháng *S. aureus* rất khác biệt. Tinh dầu Tràm (13 ± 2 mm) và Mắc khén ($15 \pm 3,2$ mm) thể hiện hoạt tính yếu nhất và cao nhất là tinh dầu Quế (48 ± 2 mm) và Màng tang (60 mm). Một số nhà nghiên cứu trên thế giới cũng đã chứng minh rằng các mono và sesquiterpenoids, terpenes, aldoketons với các nhóm chức iphatic hydrocarbons, acids,

alcohols, aldehydes, acyclic esters or lactones là các thành phần kháng khuẩn chính trong tinh dầu [9]. Cơ chế kháng khuẩn của tinh dầu đã được một số nhà khoa học trên thế giới đề xuất [10]. Màng bao vi khuẩn Gram (+) như *S. aureus* không có các phân tử lipopolysaccharide để ngăn cản sự xâm nhập của các thành phần ưa béo như tinh dầu. Chính vì thế, các thành phần kỵ nước của tinh dầu có khả năng kết hợp trực tiếp với lớp phospholipid kép của màng tế bào tăng tính thấm ion gây rối loạn trao đổi chất hai bên màng tế bào và rò rỉ của các thành phần trong tế bào vi khuẩn, hoặc làm suy giảm hệ thống enzyme của vi khuẩn [11]. Với Quế chi, các hoạt chất có được tính quan trọng nằm chủ yếu trong tinh dầu của lá, vỏ cây và quả quế với 90 % là cinnamaldehyde. Hợp chất này có hoạt tính kháng khuẩn cao đối với cả vi khuẩn Gram (+) và vi khuẩn Gram (-) nhờ ức chế quá trình tổng hợp ATP và gây ra sự giảm việc sản xuất ATP nội bào. Các thành phần với hàm lượng thấp trong tinh dầu Bạc Hà, Hương Nhu như là α -pinene, β -pinene, thymol, γ -terpinen, terpinolene, perillene cũng là tác nhân kháng khuẩn chủ yếu của tinh dầu đó. Hoạt tính kháng *S. aureus* của dầu Giun Brazil cũng đã được tác giả Sousa và cộng sự công bố năm 2012. Tinh dầu Màng tang thể hiện hoạt tính kháng khuẩn do chứa các thành phần có hoạt tính sinh học cao như neral, geranial, α -pinene, β -pinene, methyl, heptenone, β -myrcene, D-limonene, cineole, linalool, citronellal, verbenol, isopulegone, α -terpineol, (R)-citronellol, piperitone, geraniol, β -caryophyllene and caryophyllene oxide [12]. Mười ba thành phần có hoạt tính trong tinh dầu Dầu Giun cũng đã được công bố α -terpinene, *p*-cymene, benzyl alcohol, *p*-cresol, *p*-mentha-1,3,8-triene, *p*-cimen-8-ol, α -terpineol, (Z)-ascaridole, piperitone, carvacrol, (E)-ascaridole, (E)-piperitol acetate và (Z)-carvyl acetate [13]. Mặc dù thành phần chính của các loại tinh dầu Việt Nam mà chúng tôi sử dụng chưa được phân tích. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu đã chứng minh khả năng kháng vi khuẩn Gram dương *S. aureus* hiệu quả của các loại tinh dầu này, trong đó, tinh dầu Quế chi và Màng tang với hoạt tính kháng khuẩn mạnh nhất hứa hẹn ứng dụng triển vọng trong y dược và thực phẩm.

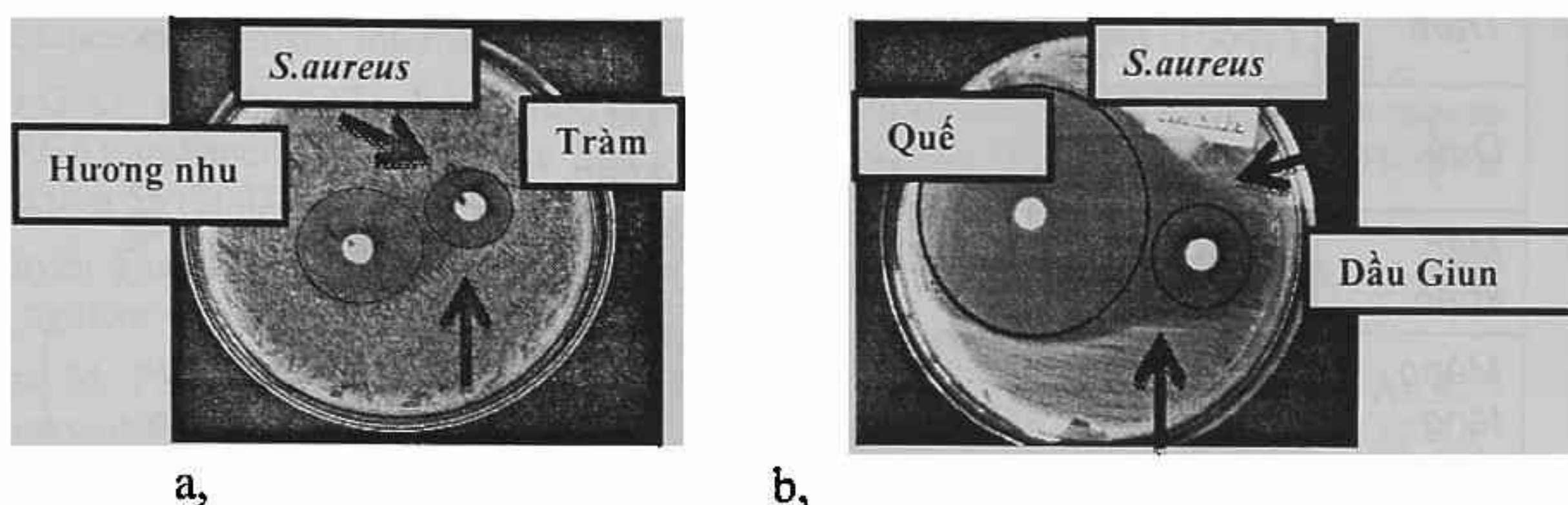


Hình 1. Khả năng kháng *Staphylococcus aureus* ATCC ® 25923™ của các loại tinh dầu

*đường kính vòng tròn vô khuẩn thể hiện khả năng ức chế vi khuẩn (≥ 6 mm : có khả năng kháng khuẩn).

3.2. Khả năng kháng khuẩn khi sử dụng kết hợp các loại tinh dầu

Với những kết quả bước đầu về khả năng kháng khuẩn của 7 loại tinh dầu trên, chúng tôi tiếp tục quan sát hiệu quả kháng *S. aureus* khi sử dụng kết hợp giữa 2 trong 7 loại tinh dầu bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. Vùng giao thoa giữa hai vòng tròn kháng khuẩn của 2 loại tinh dầu thể hiện hiệu quả tương hợp của hai loại tinh dầu đó, hai loại tinh dầu có khả năng cộng hưởng thì vùng giao thoa giữa hai vòng tròn kháng khuẩn sẽ được mở rộng [8]. Tiến hành bắt cặp 2 trong 7 loại tinh dầu trên, với 42 cặp mẫu thí nghiệm trên cả hai chủng *S. aureus*, kết quả nghiên cứu cho thấy không có tương tác đối kháng trên bất kì cặp mẫu thí nghiệm nào.



Hình 1. Hiệu quả kháng *S. aureus* khi sử dụng kết hợp hai loại tinh dầu
A: không cộng hợp; b: cộng hợp mạnh.

Theo kết quả Hình 1b, vùng giao thoa giữa hai vòng tròn kháng khuẩn của tinh dầu Quế và Dầu Giun mở rộng tại điểm tiếp xúc giữa hai vùng kháng khuẩn của hai loại tinh dầu thể hiện rất rõ khả năng cộng hưởng cao giữa hai loại tinh dầu này. Một số cặp tinh dầu không thể hiện sự ảnh hưởng nào lẫn nhau như Tràm và Hương nhu thể hiện qua vùng giao thoa rõ nét giữa hai đường kính vòng tròn kháng khuẩn trên Hình 1a. Hiệu quả tác động khi sử dụng hai loại tinh dầu được thể hiện trên Bảng 2. Mặc dù đã có một vài nghiên cứu trên thế giới công bố tương tác giữa hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu và kháng sinh, giữa các hợp chất kháng khuẩn ứng dụng trong bảo quản thực phẩm [9]. Tại Việt Nam, ý tưởng nghiên cứu này còn khá mới hứa hẹn khả năng ứng dụng cao trong nhiều lĩnh vực y, dược và thực phẩm. Quan sát trên cả 42 cặp mẫu với chủng *S. aureus*, nhận thấy các cặp mẫu đều không thể hiện sự ức chế lẫn nhau (Antagonism) làm giảm khả năng kháng khuẩn. Hoạt tính kháng *S. aureus* của các cặp tinh dầu rất khác nhau. Các tinh dầu Tràm, Dầu giun, Bạc hà ít tương tác với các tinh dầu khác (cộng hợp (additive/synergy effect) hoặc không cộng hợp) (Bảng 2). Tinh dầu Màng tang thể hiện tác động cộng hưởng với hầu hết các loại tinh dầu. Khi sử dụng kết hợp các loại tinh dầu, tinh dầu Màng tang, Quế chỉ, dầu Giun thể hiện khả năng kháng khuẩn cộng hưởng mạnh. Do đó, thay vì sử dụng một loại tinh dầu ở nồng độ cao, có thể sử dụng kết hợp hai loại tinh dầu với nhau ở nồng độ nhỏ hơn mà vẫn cho hiệu quả tương tác cộng hưởng tương tự. Tuy nhiên, cần phải tiến hành những nghiên cứu sâu hơn như chỉ số nồng độ ức chế riêng phần (FIC-fractional inhibitory concentration indices) sau khi xác định được nồng độ ức chế tối thiểu của từng loại tinh dầu để khẳng định chính xác tương tác giữa các loại tinh dầu đó. Cho tới nay, kết quả nghiên cứu về tương tác giữa các loại tinh dầu chưa được công bố, chính vì thế, cơ chế của quá trình cộng hợp này cũng chưa được làm sáng tỏ. Tuy nhiên tác động cộng hưởng mạnh giữa các loại tinh dầu sẽ làm tăng hiệu quả kháng khuẩn đáng kể trong điều trị và chữa bệnh nhiễm khuẩn cũng như trong ứng dụng bảo

quản thực phẩm. Điều này không những giảm được giá thành sản phẩm và cũng giảm sự tác động về mùi lên giá trị cảm quan của sản phẩm thực phẩm.

Bảng 2. Tương quan hiệu quả kháng *S. aureus* khi sử dụng kết hợp hai loại tinh dầu.

	Hương nhu	Tràm	Quế	Mắc khén	Màng tang	Dầu Giun	Bạc hà
Hương nhu							
Tràm	-						
Quế	+	+					
Mắc khén	+	+	++				
Màng tang	+++	++	+++	+++			
Dầu Giun	-	+	++	-	+++		
Bạc hà	-	-	+	-	+++	+	

(- : không cộng hợp ; + : cộng hợp ; ++ : cộng hợp mạnh ; +++ : cộng hợp rất mạnh)

Việt Nam là một trong những nước có tài nguyên di truyền thực vật phong phú và đa dạng, sử dụng một số loại tinh dầu hay dịch chiết từ các cây dược liệu và khai thác nguồn dược phẩm tự nhiên tại Việt Nam là một hướng đi đầy triển vọng. Với mong muốn giảm chi phí, liều lượng sử dụng trong y dược và giảm thiểu ảnh hưởng tới tính chất cảm quan của sản phẩm thực phẩm khi ứng dụng tinh dầu trong bảo quản thực phẩm, việc nghiên cứu tìm ra được các loại tinh dầu có hoạt tính kháng khuẩn cộng hưởng khi sử dụng kết hợp có ý nghĩa rất lớn.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này xác định hoạt tính kháng vi khuẩn *S. aureus* của 7 loại tinh dầu thực vật Việt nam khi sử dụng riêng lẻ và kết hợp. Trong các loại tinh dầu sử dụng, Màng tang và Quế chỉ thể hiện hoạt tính kháng *S. aureus* vượt trội. Trong thử nghiệm tương tác của 42 cặp tinh dầu, sự kết hợp của hai trong ba loại tinh dầu Quế chi, Màng tang và dầu Giun thể hiện khả năng tương tác mạnh nhất đem lại hiệu quả kháng *S. aureus* vượt trội so với sử dụng tinh dầu đơn lẻ. Với kết quả khả quan của đề tài, khả năng ứng dụng kết quả nghiên cứu này là rất lớn trong cả lĩnh vực y dược và bảo quản thực phẩm. Mặc dù đây là hướng nghiên cứu rất mới, cần tiến hành nhiều nghiên cứu nữa để làm sáng tỏ tương tác giữa các loại tinh dầu và định lượng được tương tác cộng hưởng này. Bên cạnh đó, nghiên cứu về tương tác giữa tinh dầu và chất kháng sinh sử dụng trong điều trị bệnh do *S. aureus* hoặc nghiên cứu tương tác giữa tinh dầu và các thành phần thực phẩm đóng vai trò quan trọng để ứng dụng kết quả của đề tài trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Masoud E. A. and Gouda H. A. - Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: Efficacy, synergistic potential and interactions with food components, *Food Microbiology* **26** (2009)142–150.
2. Burt S. - Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review, *International Journal of Food Microbiology* **94** (2004) 223-253.
3. Bremer P. J., Fletcher G. C., and Osborne - C. *Staphylococcus aureus*. New Zealand Institute for Crop and Food Research, 2004.
4. Brul S., and Coote P. - Preservative agents in food: Mode of action and microbial resistance mechanism, *International Journal of Food Microbiology* **50** (1999) 1-17.
5. Rao G. G., and Wong J. - Interaction between methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), *Journal of Hospital Infection* **55** (2003) 116-118.
6. Nguyễn Thanh Hà - Phương pháp kỹ thuật khoan giấy kháng sinh khuếch tán, Kỹ thuật xét nghiệm vi sinh vật Y học, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 1991, tr. 329-338.
7. Dore M. P., Osato M. S., Realdi G., Mura I., Graham D. Y., and Sepulveda A. R. - Amoxycillin tolerance in *Helicobacter pylori*, *Journal of Chemotherapy* **43** (1999) 47–54.
8. Trang V., Takeuchi H., Kudo H., Katsuno S., Shimamura T., Kashiwagi T., Son V. H., Sugiura T., and Ukeda H. - In vitro antimicrobial activity of Amioreductone against pathogenic bacteria Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **59** (2011) 8953-8960.
9. Fei Lv., Liang H., Yuan Q., and Li C. - In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms, *Food Research International* **44** (2011) 3057–3064.
10. Gao C., Tian C., Lu Y., Xu J., Luo J., and Guo X. - Essential oil composition and antimicrobial activity of *Sphallerocarpus gracilis* seeds against selected food-related bacteria, *Food Control* **22** (2011) 517-522.
11. Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology*
12. Yang G., Wang G., Li X. and Zhang M. Study on New Extraction Technology and Chemical Composition of *Litsea Cubeba* Essential Oil, *The Open Materials Science Journal* **5** (2011) 93-99.
13. Jardim C. M., Jham G. M., Dhingra O. D., and Freire M. M. - Chemical composition and antifungal activity of the hexane extract of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L., *Journal of the Brazilian Chemical Society* **21** (10) (2010) 1814-1818.

ABSTRACT

INHIBITIONS OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BY USING THE COMBINATION OF VIETNAMESE ESSENTIAL OILS

Vu Thu Trang*, Nguyen Thi Hoa

School of Biotechnology and Food Technology, Hanoi University of Science and Technology, No 1 Dai Co Viet, Hanoi, Vietnam

*Email: *trang.vuthu@hust.edu.vn; thutrangvu1981@yahoo.com*

The purpose of this research is to screen the antimicrobial activity of essential oils (EO) *Ocimum gratissimum*, *Melaleuca leucadendra*, *Cinnamomum loureirii*, *Zanthoxylum rhetsa*, *Litsea cubeba*, *Chenopodium ambrosioides*, *Mentha arvensis* in individual and in combination against Gram positive *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), a common food-spoilage and food-borne pathogen. This study was carried in order to select the essential oils which presented the additon and synergy effect to medical applications and food products. The antibacterial activity of the essential oil was determined by agar disc diffusion method. The results showed that all tested essential oils presented the effectively antimicrobial effect against *S. aureus*. The inhibition zones ranged from 13 mm (*Melaleuca leucadendra* EO) and of 60 mm (*Litsea cubeba* EO). The qualitative study of 42 essential oils combination by agar disc diffusion method indicated that the *Melaleuca leucadendra* and *Mentha arvensis* did not show any additive effect with others. In construct, the combination of *Litsea cubeba*, *Cinnamomum loureiri* and *Chenopodium ambrosioides* EOs showed synergy effects against *S. aureus* promising the high application in food and medicine.

Keywords: antimicrobial activity, plant essential oils, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), synergistic effect.