

PREDICTION OF CHEMICAL COMPONENTS THAT AFFECT THE MOSQUITO-REPELLENT ABILITY OF ESSENTIAL OILS USING MULTIPLE LINEAR REGRESSION TECHNIQUES

Nguyen Thi Minh Nguyet, Nguyen Thi Minh Xuan*

The University of Science and Technology - The University of Danang

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 16/10/2024	Personal mosquito repellent products from essential oils have been interested in recent years. However, the composition of essential oils varies according to the place of cultivation, the season, and the technology of extracting and recovering. Understanding the key influencing compositions in essential oils can help producers be more proactive in creating formulations. This study analyzed published data on the composition and duration of mosquito protection from 14 essential oils using multiple linear regression. The results show that chavibetol acetate is the most important ingredient that affects the complete protection duration of the essential oil. The experiment also found that the duration of complete protection from <i>Aedes aegypti</i> provided by betel leaf (<i>Piper Betle</i>) essential oil in rich of chavibetol is nearly 2 hours on average at a concentration of 10%, which is longer than that of eugenol-rich oils (about 55 mins). This research lays the groundwork for identifying various essential oils that are capable of repelling mosquitoes, developing effective mosquito repellent products, and assessing product quality.
Revised: 13/11/2024	
Published: 13/11/2024	
KEYWORDS	
Mosquito repellent essential oil	
Multiple linear regression	
<i>Piper Betle</i> essential oil	
Chavibetol acetate	
<i>Aedes aegypti</i>	

DỰ ĐOÁN CÁC THÀNH PHẦN HÓA HỌC ẢNH HƯỞNG ĐẾN KHẢ NĂNG ĐUỔI MUỖI CỦA TINH DẦU BẰNG KỸ THUẬT HỒI QUY TUYẾN TÍNH ĐA BIẾN

Nguyễn Thị Minh Nguyệt, Nguyễn Thị Minh Xuân*

Trường Đại học Bách khoa - ĐH Đà Nẵng

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 16/10/2024	Các sản phẩm đuổi muỗi cá nhân từ tinh dầu được quan tâm trong những năm gần đây. Tuy nhiên, thành phần của tinh dầu thay đổi theo nơi trồng, theo mùa và công nghệ chiết và thu hồi tinh dầu. Hiểu được thành phần ảnh hưởng chính trong tinh dầu có thể giúp người sản xuất chủ động hơn trong việc tạo công thức. Nghiên cứu này phân tích dữ liệu đã công bố trước đây về thành phần và thời gian bảo vệ khỏi muỗi của 14 loại tinh dầu bằng kỹ thuật hồi quy tuyến tính đa biến. Kết quả cho thấy chavibetol acetate là thành phần ảnh hưởng quan trọng nhất đến thời gian bảo vệ hoàn toàn của tinh dầu. Thực nghiệm cũng cho thấy thời gian bảo vệ hoàn toàn khỏi muỗi <i>Aedes aegypti</i> do tinh dầu lá trà (<i>Piper Betle</i>) loại giàu chavibetol trung bình là gần 2 giờ ở nồng độ 10%, lâu hơn so với tinh dầu lá trà giàu eugenol (khoảng 55 phút). Nghiên cứu này đặt nền tảng cho việc xác định các loại tinh dầu có khả năng đuổi muỗi, phát triển các sản phẩm đuổi muỗi hiệu quả và đánh giá chất lượng sản phẩm.
Ngày hoàn thiện: 13/11/2024	
Ngày đăng: 13/11/2024	
TỪ KHÓA	
Tinh dầu đuổi muỗi	
Hồi quy tuyến tính đa biến	
Tinh dầu lá trà	
Chavibetol acetate	
<i>Aedes aegypti</i>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.11345>

* Corresponding author. Email: ntmxuan@dut.udn.vn

1. Giới thiệu

Bên cạnh việc loại bỏ các nơi trú ngụ cũng như phun thuốc diệt muỗi ở quy mô cộng đồng thì các sản phẩm đuổi muỗi cá nhân vẫn có ý nghĩa lớn trong việc phòng tránh các bệnh do muỗi gây ra. Mặc dù chưa có nhiều minh chứng khoa học, những lo ngại về nguy cơ ảnh hưởng đến sức khỏe khi sử dụng các sản phẩm đuổi muỗi cá nhân có nguồn gốc hóa học vẫn ngày càng gia tăng [1]. Tinh dầu đã được sử dụng hàng ngàn năm như một loại gia vị và bài thuốc dân gian, được tin tưởng về tính an toàn của chúng. Tinh dầu là một hỗn hợp phức tạp của các hợp chất dễ bay hơi được chiết xuất từ thực vật. Tinh dầu được tạo thành từ nhiều hợp chất phân cực và không phân cực, bao gồm các hydrocarbon như monotерpen và sesquiterpen. Chúng cũng có nguồn gốc từ phenylpropanoid và các phân tử chứa lưu huỳnh hoặc nitơ [2]. Hoạt tính sinh học và thành phần hóa học của các loại tinh dầu khác nhau được công bố ngày càng rộng rãi. Trong đó, hiệu quả đuổi muỗi của tinh dầu và thành phần hóa học của chúng gần đây cũng đã thu hút được sự quan tâm của các nhà khoa học [3]. Hiểu biết về thành phần có hiệu quả đuổi muỗi có thể giúp cho việc lựa chọn loại tinh dầu cũng như xây dựng công thức phù hợp, nâng cao hiệu quả sử dụng tinh dầu. Tuy nhiên, do mức độ phong phú của các thành phần hóa học trong tinh dầu, việc tìm kiếm thành phần chính ảnh hưởng đến hiệu quả đuổi muỗi vẫn còn là câu hỏi.

Nghiên cứu này sử dụng số liệu từ bài báo đã công bố trước đây về hiệu quả đuổi muỗi của 14 loại tinh dầu khác nhau [4]. Trong cả ba loại tinh dầu cho hiệu quả tốt nhất và khác biệt hẳn với các tinh dầu còn lại thì chỉ duy nhất tinh dầu quế là sẵn có và có thể sản xuất trong nước. Hai loại tinh dầu còn lại là tinh dầu đinh hương và tinh dầu cỏ xạ hương (loại giàu geraniol) đều phải nhập ngoại. Tuy vậy, tinh dầu quế trong nước vẫn có thành phần khác biệt so với thành phần của tinh dầu quế được sử dụng trong bài báo [5] do khác giống và bộ phận chiết. Mục tiêu của nghiên cứu này là sử dụng mô hình toán và thống kê nhằm tìm kiếm thành phần hóa học chính ảnh hưởng đến hiệu quả đuổi muỗi của tinh dầu. Qua đó, giúp lựa chọn loại tinh dầu có khả năng có hoạt tính đuổi muỗi cao, rẻ tiền, phổ biến và sẵn có trong nước, thay thế cho tinh dầu nhập ngoại.

Các mô hình tính toán được sử dụng để dự đoán một biến mục tiêu từ các biến đầu vào có đủ hình dạng và hình thức, nhưng sự đánh đổi chính liên quan đến việc lựa chọn mô hình có liên quan đến độ phức tạp của mô hình. Các mô hình phức tạp hơn cho phép dự đoán tốt hơn, nhưng đòi hỏi nhiều dữ liệu hơn, khó diễn giải hơn và dễ bị quá tải. Mô hình hồi quy tuyến tính vẫn khá hữu dụng và sử dụng nhiều trong y học. Kỹ thuật này đã cho thấy nồng độ propofol trong hơi thở tương quan khá tốt với nồng độ trong mô não và huyết tương, và do đó có thể hữu ích để ước tính tác dụng của thuốc gây mê [6]. Kỹ thuật phân tích hồi quy đa biến cũng được sử dụng để xác định các yếu tố ảnh hưởng đến sự ức chế hormone kích thích tuyến giáp (TSH) ở trẻ bị suy giáp bẩm sinh (CH) sau điều trị [7]. Kỹ thuật này cũng được sử dụng trong các lĩnh vực khác như lâm nghiệp [8], nông nghiệp [9]. Trong nghiên cứu này dữ liệu được thu thập từ bài báo đã được công bố trước đó với thành phần hóa học (phân tích bằng GC-MS) và thời gian đuổi muỗi của 14 loại tinh dầu khác nhau [4]. Mô hình toán bậc một đơn giản vẫn là sự lựa chọn chính nhằm sàng lọc các thành phần hóa học ảnh hưởng đến hiệu quả đuổi muỗi của tinh dầu. Kết quả thu được từ kỹ thuật hồi quy tuyến tính được chứng minh lại bằng khảo sát thực nghiệm trên các loại tinh dầu phù hợp. Đây là tiền đề cho việc xây dựng công thức phối trộn các loại tinh dầu sẵn có trong nước tạo sản phẩm đuổi muỗi tự nhiên có thời gian tác dụng lâu dài nhất.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Dữ liệu

Nghiên cứu này dựa trên số liệu nghiên cứu của Luker và cộng sự [4] về thành phần của 14 loại tinh dầu và thời gian lưu giữ mùi của chúng (10% tinh dầu được pha trong dung môi hữu cơ). Dữ liệu cho thấy mức độ phân tán của các thành phần khá lớn, và số lượng các thành phần quá lớn. Để tìm kiếm mối tương quan, chúng tôi tiến hành loại bớt các thành phần hóa học dựa trên tiêu chí: (i) loại bỏ các thành phần hiếm gặp chỉ xuất hiện ở 1 đến 2 loại tinh dầu; (ii) các thành phần hàm

lượng đều thấp ở tất cả các loại tinh dầu; (iii) hàm lượng cao ở cả các loại tinh dầu có thời gian lưu giữ trung bình và hàm lượng thấp ở cả các loại tinh dầu có thời gian đuổi muỗi cao và thấp. Đối với các loại tinh dầu, bỏ tinh dầu tối do mùi không thích hợp cho việc tạo sản phẩm, cũng như các loại dầu nền như dầu đậu nành, dầu ngô. Phần số liệu còn lại sau sàng lọc sơ bộ bao gồm 12 loại tinh dầu và 14 thành phần hóa học) cho việc tìm kiếm tương quan và phương trình hồi quy.

2.2. Tinh dầu và công thức phối trộn

Tinh dầu lá trầu (*Piper Betle*) có thành phần giàu chavibetol (hàm lượng dao động từ 10-14% bằng GC-MS, số liệu được công bố bởi công ty) được mua từ công ty Hoa Thom Cổ Lạ, Việt Nam [10]. Nước cất lá trầu giàu eugenol được cung cấp bởi công ty TNHH Tinh dầu thiên nhiên Huyền Thoại (Quảng Trị). Để tạo ra hỗn hợp chống muỗi 10% (w/w), 0,5 g mỗi loại tinh dầu được trộn với 4,5 g dầu dừa. Dầu dừa không chứa tinh dầu được sử dụng như một đối chứng trong các thí nghiệm về hiệu quả đuổi muỗi.

2.3. Nuôi cấy muỗi

Đối với tất cả các thí nghiệm được thực hiện trong nghiên cứu này, *Aedes aegypti* cái (Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng thành phố Hồ Chí Minh) đã được sử dụng. Các lô khoảng 500 quả trứng đã được ấp trong khay nhựa $33 \times 51 \times 5$ cm chứa ba lít nước khử clo và phủ lớp vải màn để tạo điều kiện cho nở thành bọ gậy. Viên thức ăn cho mèo được cho ấu trùng ăn. Nhộng được phân loại vào cốc nhựa 200 mL và chuyển đến lồng nuôi côn trùng ($30 \times 30 \times 30$ cm). Một bình Erlenmeyer 100 ml chứa dung dịch sucrose 20% với bắc bông ở trên cùng được đặt trong lồng và thay đổi hàng tuần. Lồng được giữ trong phòng côn trùng duy trì nhiệt độ 27°C và độ ẩm 80% với chu kỳ sáng/tối lần lượt là 14/10. Muỗi trưởng thành 10 ngày tuổi được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.4. Khảo sát hiệu quả đuổi muỗi của tinh dầu

Thử nghiệm này được thực hiện trên mô hình và không sử dụng tinh nguyên viên nhằm tránh các vấn đề về y đức khi thực hiện thử nghiệm trên người. 25 con muỗi cái từ một đến hai tuần tuổi đã được chuyển vào lồng nuôi ($30 \times 30 \times 30$ cm), có các mặt là mica để dễ quan sát. Muỗi được cho bỏ đói 12h trước khi tiến hành thí nghiệm. Để thay cho tay người, màng silicone (da giả) được đặt lên cục ủ nhiệt (37°C) và có chứa dung dịch thu hút muỗi (gồm 1 g CaCO_3 , 2 mL H_2O , 1,5 mL acid lactic và đường saccharose). Một chiếc đồng hồ bấm giờ được khởi động. Nếu có muỗi đậu được ghi nhận trong vòng 60 giây, ngay lập phủ lớp da khác đã được bôi tinh dầu xung quanh vết cắt cho hỗn hợp thu hút muỗi. 150 μl hỗn hợp tinh dầu 10% được bôi lên vùng xung quanh lỗ cắt cho dung dịch thu hút muỗi. Sau khi bôi tinh dầu lên màng silicone, một bộ đếm thời gian đã được bắt đầu. Theo những thử nghiệm trước đó thì thời gian thu hút muỗi của dung dịch trên có thể duy trì được 15 phút. Nếu sau 10 phút thử nghiệm vẫn cung cấp sự bảo vệ, rút bộ thử nghiệm ra khỏi lồng và đợi cho đến khi bộ đếm thời gian đạt 30 phút và bắt đầu thử nghiệm trong khoảng thời gian 5-7 phút cứ sau 30 phút cho đến khi điều trị thất bại với việc bổ sung lại dung dịch thu hút muỗi sau mỗi 30 phút, trước khi đưa trở lại vào lồng nuôi muỗi. Xét nghiệm này đo thời gian bảo vệ hoàn toàn của tinh dầu. Thời gian bảo vệ hoàn toàn được định nghĩa là thời gian từ khi bôi tinh dầu lên lớp màng cho đến khi có muỗi đậu trên lớp màng bôi tinh dầu.

2.5. Xử lý thống kê và vẽ biểu đồ

Tất cả các tính toán được thực hiện trong phần mềm thống kê RStudio 2024.04.2 (Posit Software, PBC, Boston, Massachusetts 02210, Mỹ). Tìm kiếm tương quan hồi quy và tính toán hệ số VIF (Variance inflation factor) dựa vào các hàm lm và vif từ gói car. Lần lượt loại bỏ các thành phần có hệ số tác động kém và hệ số VIF cao cho đến khi thu được phương trình thỏa mãn các tiêu chí: hệ số $R^2 > 0,90$, hệ số R^2 hiệu chỉnh $> 0,75$, giá trị p của các hệ số tác động đều nhỏ hơn 0,1, tất cả thành phần đều có hệ số VIF nhỏ hơn 5.

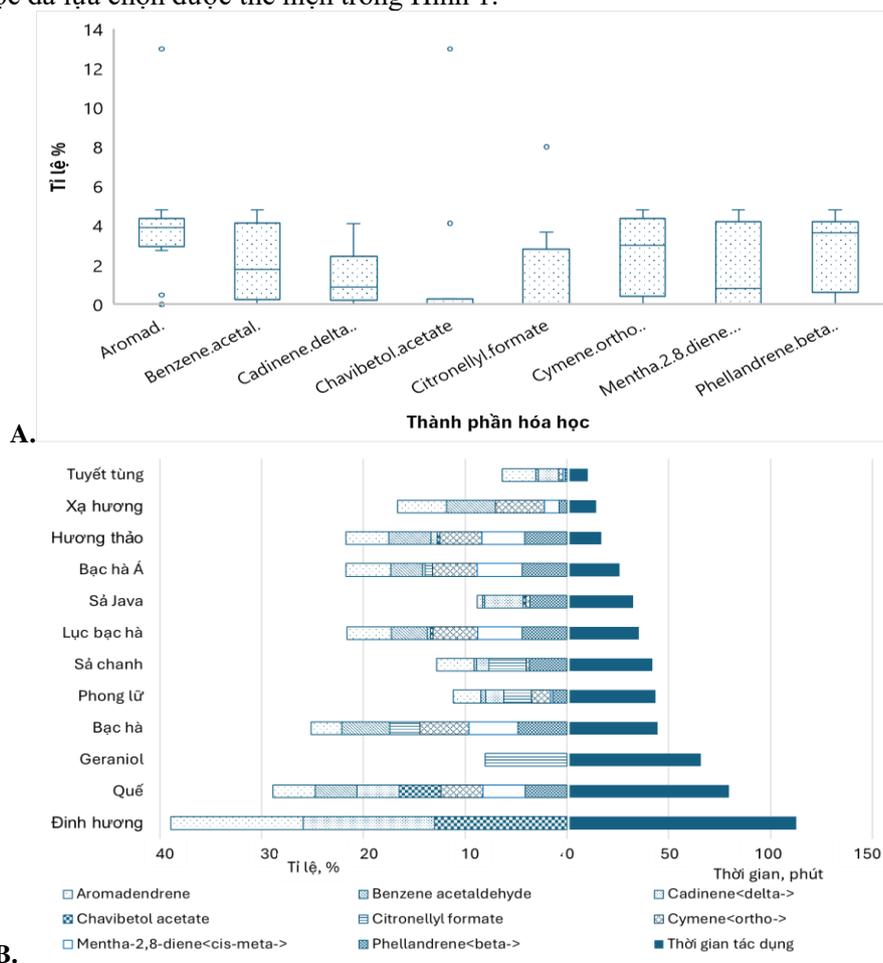
Thời gian bảo vệ hoàn toàn cho thử nghiệm muối so sánh giữa mỗi nhóm và nhóm đối chứng bằng cách sử dụng phân tích phương sai một chiều (ANOVA) và kiểm định so sánh các nhóm bằng Tukey's HSD. Sự khác biệt đáng kể giữa mỗi nhóm được xác định bằng cách sử dụng giá trị p cho mỗi so sánh theo cặp. Nếu giá trị $p < 0,05$, các nhóm khác nhau đáng kể. Kiểm định so sánh nhiều cặp của ANOVA và Tukey được tạo ra bằng cách sử dụng các hàm R cơ bản aov và TukeyHSD. Thống kê tóm tắt về kết quả cho mỗi kiểm định được tạo bằng cách sử dụng các hàm group_by và summary từ gói dplyr. Hiển thị chữ cái nhỏ gọn (để giúp báo cáo kết quả của mỗi so sánh theo cặp) được tạo bằng cách sử dụng hàm multcompLetters4 trong gói multcompView.

Biểu đồ tương quan được vẽ bằng hàm ggcorr trong gói Ggally, và biểu đồ khác sử dụng các hàm trong gói ggplot2 và MS Excel 365.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Mô hình hồi quy giữa các thành phần và thời gian tác dụng

Với mục tiêu lựa chọn được các thành phần hóa học chính trong tinh dầu ảnh hưởng đến khả năng đuổi muỗi, sử dụng kỹ thuật tương quan hồi quy và qua đó tính toán hệ số tác động của các thành phần. Dựa vào các tiêu chí lựa chọn và thuật toán như đã trình bày, đã tìm được 8 thành phần hóa học ảnh hưởng đến thời gian đuổi muỗi của tinh dầu. Tên và phân bố tỉ lệ của 8 thành phần hóa học đã lựa chọn được thể hiện trong Hình 1.



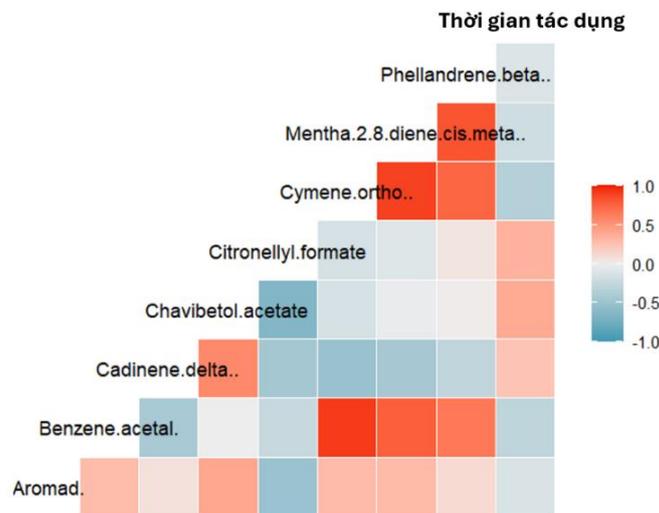
Hình 1. Tỉ lệ của 8 thành phần hóa học đã lựa chọn trong 12 loại tinh dầu được thể hiện trong biểu đồ hộp (A.). Tỉ lệ (bên trái) của các thành phần này trong các loại tinh dầu có thời gian đuổi muỗi khác nhau (bên phải, màu xanh đậm) được biểu diễn bằng biểu đồ bướm (B.)

Bảng 1. Các thông số thống kê của mô hình hồi quy tuyến tính gồm 8 thành phần ban đầu

Mô hình toán			
<i>p</i> -value	R^2	R^2 hiệu chỉnh	Sai số
0,0131	0,9838	0,9407	7,245
Thành phần (%)	Hệ số tác động	<i>p</i> -value	Hệ số VIF
Aromadendrene	-79,16	0,1278	14,591
Benzene acetaldehyde	-94,80	0,0555	25,287
Cadinene<delta->	-98,01	0,1705	164,369
Chavibetol acetate	226,48	0,2919	194,525
Citronellyl formate	24,71	0,0662	9,401
Cymene<ortho->	114,89	0,4287	27,261
Mentha-2,8-diene<cis-meta->	-61,50	0,1225	17,015
Phellandrene<beta->	57,00	0,1197	5,619

Kết quả cho thấy tỉ lệ của các thành phần này trong tinh dầu có sự dao động khá lớn (Hình 1A). Có các thành phần có thể tìm thấy ở hầu hết các loại tinh dầu như aromadendrene, cadinene <delta-> (Hình 1B) nhưng cũng có thành phần chỉ xuất hiện ở một vài tinh dầu. Các thành phần này đều có hệ số tác động lớn đến khả năng lưu giữ tác dụng đuổi muỗi của tinh dầu (Bảng 1). Các thông số thống kê khác cũng cho thấy mô hình toán là khá tốt với giá trị R^2 là 0,984, giá trị R^2 hiệu chỉnh là 0,941, và mô hình toán có giá trị $p < 0,025$.

Để đảm bảo hệ số tác động là đáng tin, và các thành phần hóa học đã lựa chọn là phù hợp cho kết luận về mức độ tác động của chúng đến hiệu quả đuổi muỗi, tiến hành kiểm tra lại bằng hệ số tương quan giữa các thành phần và tính toán hệ số VIF của chúng. Biểu đồ hộp (hình 1A) cho thấy hàm lượng các thành phần trong tinh dầu không tuân theo phân phối chuẩn, vì vậy tính toán hệ số tương quan dựa vào phương pháp tương quan Spearman. Biểu đồ tương quan được thể hiện trong hình 2.

**Hình 2.** Biểu đồ nhiệt thể hiện hệ số tương quan Spearman giữa các thành phần hóa học và giữa các thành phần hóa học với thời gian tác dụng của tinh dầu

Kết quả cho thấy có khá nhiều thành phần có mức độ tương quan cao với các thành phần khác như benzene acetaldehyde, cymene <ortho->, mentha-2,8-diene<cis-meta-> (Hình 2). Kết quả này hoàn toàn tương đồng với hệ số VIF đã tính toán (Bảng 1). Các yếu tố có hệ số VIF cao (>5) tương ứng với mức độ tương quan cao với các yếu tố khác được cho là không đáng tin để đưa vào mô hình tuyến tính bậc 1. Hệ số VIF cao giữa các thành phần với nhau cho thấy có sự lẫn tương tác. Điều này dẫn tới những đánh giá sai về sự ảnh hưởng của các thành phần đến thời gian bảo vệ của tinh dầu. Trong đó, 8 thành phần hóa học đã lựa chọn đều cho VIF lớn hơn 10, trừ

phellandrene<beta-> có VIF>5 (Bảng 1). Vì vậy tiến hành loại bỏ dần các thành phần có mức độ tương quan cao, cuối cùng tìm được mô hình toán tốt nhất với các thông số như được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Các thông số thống kê của mô hình hồi quy tuyến tính sau sàng lọc

Mô hình toán			
<i>P_value</i>	<i>R²</i>	<i>R² hiệu chỉnh</i>	<i>Sai số</i>
0,000107	0,9181	0,8874	9,988
Thành phần (%)	Hệ số tác động	<i>P_value</i>	Hệ số VIF
Chavibetol acetate	81,729	1,74741E-05	1,297594
Citronellyl formate	63,668	0,00151	1,229998
Phellandrene<beta->	36,319	0,07044	1,284792

Vậy phương trình hồi quy tuyến tính bậc 1 thể hiện mối quan hệ giữa các thành phần hóa học có tác động mạnh và thời gian lưu giữ tác dụng đuổi muỗi (y) của tinh dầu như sau:

$$y = 11,05 + 81,73 * \text{Chavibetol acetate} + 63,67 * \text{Citronellyl formate} + 36,32 * \text{Phellandrene<beta->} \text{ (phút)}$$

(Đơn vị các thành phần: %)

Mô hình toán có giá trị R^2 và R^2 hiệu chỉnh lần lượt là 0,9181 và 0,8874, giá trị $p < 0,01$ cho thấy mô hình thu được là phù hợp (Bảng 2). Kết quả tính toán cho thấy, chavibetol acetate là thành phần có tác động lớn nhất, việc thay đổi nhỏ trong hàm lượng của nó có thể ảnh hưởng lớn đến thời gian đuổi muỗi. Tiếp đó là citronellyl formate và thành phần ít có tác động nhất là phellandrene<beta->. Hệ số tác động của cả ba thành phần đều có giá trị dương thể hiện hiệu quả tác động theo chiều thuận, nghĩa là khi gia tăng hàm lượng của các thành phần sẽ làm tăng thời gian đuổi muỗi của tinh dầu. Hệ số VIF của các thành phần tương đối nhỏ (gần bằng 1), thể hiện các thành phần là đáng tin để đưa vào mô hình hồi quy dự đoán thời gian bảo vệ của tinh dầu (Bảng 2).

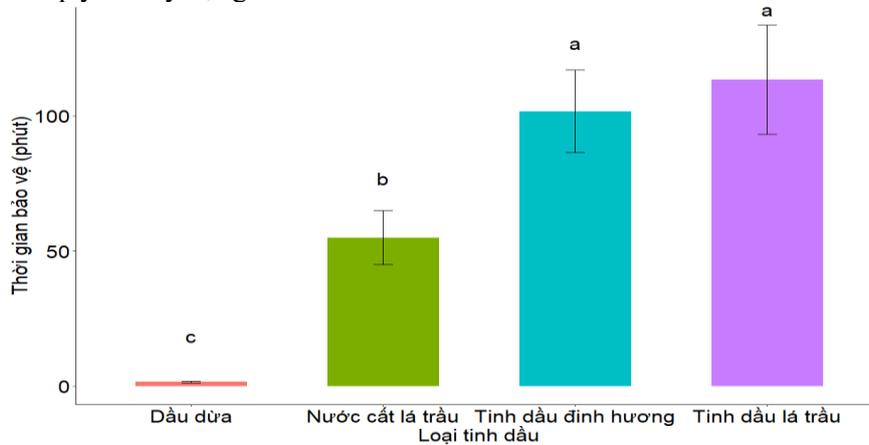
3.2. Đánh giá khả năng đuổi muỗi của tinh dầu

Dựa vào kỹ thuật tương quan-hồi quy đã xác định thành phần chính có mối tương quan tốt đến khả năng đuổi muỗi là chavibetol acetate, citronellyl formate và phellandrene<beta->. Các loại tinh dầu sẵn có trong nước chứa hàm lượng lớn các thành phần trên và đã được công bố là rất ít, hiện chỉ tìm thấy tinh dầu lá trầu (*Piper Betle L.*) được trồng tại Hóc Môn là có chứa thành phần chavibetol acetate, và phellandrene<beta->. Hàm lượng chavibetol acetate có trong tinh dầu lá trầu Hóc Môn là khá ổn định, trong hầu hết các công bố thì tỉ lệ dao động từ 15-18% [11] – [13]. Khi khảo sát thành phần tinh dầu lá trầu theo các thời điểm thu hoạch khác nhau (từ tháng 1 đến tháng 12) thì sự khác biệt của chavibetol acetate là không đáng kể. Trong đó, chavibetol acetate thấp nhất khi được thu hoạch vào tháng 6 với tỉ lệ là 14,41% và cao nhất là vào tháng 3 chiếm 18,74% [13]. Ngoài ra, tinh dầu lá trầu được sử dụng khá phổ biến và lâu đời như bài thuốc dân gian, có thể sản xuất trong nước, hoàn toàn phù hợp với các yêu cầu và mục tiêu nghiên cứu.

Để đánh giá hoạt tính đuổi muỗi của *Aedes aegypti* của tinh dầu lá trầu có kiểu hình hóa học chavibetol, nước cất lá trầu có kiểu hình hóa học eugenol (thành phần chavibetol ở dạng vết) như công bố về thành phần hóa học của công ty, và tinh dầu đinh hương, tiến hành thử nghiệm trên mô hình trong chuồng nuôi muỗi (phát triển từ lần quẩn). Kết quả lưu giữ hoạt tính đuổi muỗi của tinh dầu lá trầu nồng độ 10% khi so sánh với các loại tinh dầu khác được thể hiện trong Hình 3.

Kết quả cho thấy thời gian bảo vệ của tinh dầu lá trầu khỏi muỗi vẫn là không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với tinh dầu đinh hương ($p > 0,05$) nhưng lâu hơn đáng kể với nước cất lá trầu (Hình 3). Cả ba loại hỗn hợp đều cho hiệu quả bảo vệ cao hơn hẳn so với đối chứng là dầu dừa không bổ sung tinh dầu. Hàm lượng chavibetol trong tinh dầu lá trầu rơi vào vùng từ 10-14%, hàm lượng trung bình là 13,52% theo như công bố từ công ty [10]. Trong nghiên cứu, tinh dầu được pha loãng 10% trong dầu dừa (tương ứng với hàm lượng chavibetol là 1,352% ở công thức tinh dầu lá trầu) và cho kết quả dự đoán thời gian bảo vệ của công thức này khỏi muỗi là 122 phút. Thử nghiệm về thời gian bảo vệ của hỗn hợp tinh dầu lá trầu trên dao động từ 95 đến 135

phút, trung bình là 113 phút. Kết quả thực nghiệm là tương đối phù hợp so với tính toán lý thuyết từ mô hình hồi quy đã xây dựng.



Hình 3. Thời gian bảo vệ của các loại tinh dầu khỏi muỗi vằn

Tinh dầu sử dụng nồng độ 10%, dầu dừa không chứa tinh dầu được sử dụng như đối chứng. Các ký tự chữ cái không giống nhau thể hiện sự khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) bởi phép kiểm định TukeyHSD theo sau kiểm định oneway-anova. Giá trị trung bình của 3 lần thử nghiệm và độ lệch chuẩn được thể hiện.

3.3. Thảo luận

Trong các nghiên cứu trước đây, dự đoán khả năng đuổi muỗi thường chỉ dựa vào các thành phần có hàm lượng lớn và đều có mặt ở các loại tinh dầu có hiệu quả tốt nhất. Cách tiếp cận này hầu như không đạt được mục tiêu khi các thành phần có hàm lượng lớn lại chưa phải là thành phần có tác dụng chính, và có thể bỏ qua vai trò của các thành phần có hàm lượng thấp hơn. Điều này đã được quan sát trong trường hợp của eugenol, thành phần chính (20-80%) của tinh dầu đinh hương [14], loại tinh dầu đã được chứng minh hiệu quả trong việc kiểm soát muỗi [4]. Tuy nhiên, khi sử dụng phân đoạn chiết xuất tinh dầu giàu eugenol (50-70%) lại cho kết quả đuổi muỗi khá thấp [15]. Ngoài ra, hai thành phần khác có hàm lượng lớn ở tinh dầu đinh hương là aromadendrene và cadinene thì có mặt trong hầu hết các loại tinh dầu đã khảo sát trong công bố ở tài liệu tham khảo chính [4] (Hình 1). Trong đó, tỉ lệ aromadendrene trong thành phần bay hơi của các loại tinh dầu tương đối cao và ổn định (từ 4-5%). Tỉ lệ của cadinene có khoảng rộng hơn, tuy nhiên nhìn chung vẫn rơi vào vùng từ 1-4,5% (Hình 1). Điều này cho thấy, chúng có thể không phải là thành phần chính tạo nên khả năng đuổi muỗi của tinh dầu. Ngược lại, chavibetol acetate chỉ được tìm thấy trong các loại tinh dầu có thời gian đuổi muỗi cao, nhưng không có hoặc nồng độ rất thấp ở các loại tinh dầu có thời gian tác dụng ngắn. Trong nghiên cứu này, kỹ thuật hồi quy tuyến tính đường như là kỹ thuật tốt hơn giúp chúng ta nhìn ra sự tác động của các thành phần hóa học khác nhau đến khả năng đuổi muỗi của tinh dầu. Kết quả cho thấy hàm lượng của chavibetol acetate trong tinh dầu mới là thành phần quan trọng quyết định đến thời gian bảo vệ của tinh dầu khỏi muỗi vằn *A. aegypti* (Bảng 2) với hệ số tác động lớn có ý nghĩa thống kê.

Các kết quả phân tích dựa vào kỹ thuật tương quan hồi quy trong nghiên cứu này là phù hợp với những nghiên cứu thực nghiệm đã công bố trước đây. Chavibetol và chavibetol acetate được cho là thành phần hoạt tính chính trong lá trà (*Piper betle L.*) có khả năng ức chế sự nảy mầm và sinh trưởng của cỏ dại thông qua việc sử dụng các phân đoạn tinh dầu giàu 2 thành phần này [16]. Tinh dầu lá trà cũng đã được chứng minh là có hiệu quả đuổi muỗi tuy nhiên hiệu quả có sự khác biệt lớn trong các công bố. Mỗi quốc gia thậm chí mỗi vùng sẽ có tinh dầu lá trà với các thành phần hóa học đặc trưng, gọi là loại kiểu hình hóa học (chemotype). Sự khác biệt về kiểu hình hóa học phụ thuộc vào nồng độ chiếm ưu thế của các chất như chavicol, germanacrene D,

isoeugenol, chavibetol, eugenol, anethole, và kiểu hình hóa học safrole trong tinh dầu lá trầu [17]. Alighiri và cs. đã sử dụng tinh dầu lá trầu có kiểu hình hóa học là isoeugenol và eugenol với nồng độ chavibetol acetate ở dạng vết từ 3 tinh khác nhau của Indonesia. Trong đó, tác giả đã sử dụng hỗn hợp tinh dầu lá trầu lên tới 1 g trộn với 1 g chất mang cho hiệu quả đuổi muỗi vằn *A. aegypti* sau 1 tiếng là 71-72% ở cả 3 loại tinh dầu [18]. Trong khi đó, nghiên cứu sử dụng tinh dầu lá trầu có nguồn gốc từ thành phố Thủ Dầu Một, Bình Dương, Việt Nam, với cùng phương pháp chứng minh trên muỗi vằn *A. aegypti* hiệu quả đạt hơn 95% với nồng độ thấp hơn rất nhiều là 2,4 μ g tinh dầu trong 1 mL chất mang [19]. Điều này có thể do sự khác biệt về thành phần hóa học có trong các tinh dầu. Tuy nhiên, thành phần tinh dầu lá trầu trong nghiên cứu đuổi muỗi tại Bình Dương, Việt Nam là không được công bố. Mặc dù vậy, thành phố Thủ Dầu Một và Hóc Môn chỉ cách nhau gần 20 km, có cơ sở để tin rằng lá trầu tại 2 vùng là có cùng đặc điểm về thành phần hóa học. Trong đó, tinh dầu lá trầu Hóc Môn đã được chứng minh là thuộc kiểu hình hóa học chavibetol, nồng độ chavibetol acetate dao động từ 14-18% [12], [13].

Kết quả thực nghiệm trên các loại tinh dầu là tương ứng với dự đoán lý thuyết về ảnh hưởng của chavibetol acetate đến hiệu quả bảo vệ khỏi muỗi vằn *A. aegypti*. Nghiên cứu này sử dụng 2 loại tinh dầu lá trầu có nồng độ chavibetol/chavibetol acetate khác biệt nhau, nồng độ trong tinh dầu lá trầu cao hơn so với nước cất lá trầu. Dựa vào thành phần chính được công bố từ kết quả kiểm định của công ty cho thấy tinh dầu lá trầu có kiểu hình hóa học là chavibetol và nước cất lá trầu là eugenol. Kết quả về thời gian bảo vệ muỗi của các loại tinh dầu là tương ứng với nồng độ chavibetol/chavibetol acetate trong tinh dầu. Trong đó, thời gian đuổi muỗi của tinh dầu lá trầu là 113 ± 20 phút lâu hơn so với nước cất lá trầu chỉ có thời gian bảo vệ trung bình là 55 ± 10 phút ($p < 0,05$) (Hình 3). Nghiên cứu này đã chứng minh hàm lượng chavibetol acetate là thành phần quyết định đến hoạt tính đuổi muỗi của tinh dầu, tiền đề cho việc xây dựng công thức phối trộn tinh dầu tạo sản phẩm đuổi muỗi vằn *A. aegypti* hiệu quả từ thiên nhiên. Tuy nhiên, các nghiên cứu trên các loài muỗi khác là cần thiết cho việc tạo công thức tối ưu trên nhiều đối tượng muỗi khác nhau.

4. Kết luận

Chavibetol acetate đã được chứng minh là thành phần quan trọng trong việc duy trì thời gian bảo vệ hoàn toàn của tinh dầu khỏi muỗi vằn *A. aegypti* bằng kỹ thuật hồi quy tuyến tính đa biến và bằng thực nghiệm. Tinh dầu lá trầu (trầu *Piper Betle L.*) có kiểu hình hóa học là chavibetol có tiềm năng để bào chế kem bôi đuổi muỗi với thời gian bảo vệ hoàn toàn trung bình gần 2 tiếng ở nồng độ 10% (w/w) trong dầu dừa. Nghiên cứu này rất quan trọng đối với nỗ lực phát triển sản phẩm đuổi muỗi có nguồn gốc từ các vật liệu tự nhiên thân thiện với môi trường thay thế cho sản phẩm tổng hợp hóa học.

Lời cảm ơn

Bài báo này được tài trợ bởi Trường Đại học Bách khoa – Đại học Đà Nẵng với đề tài có mã số: T2023-02-08MSF.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] D. R. Swale *et al.*, “Neurotoxicity and Mode of Action of N, N-Diethyl-Meta-Toluamide (DEET),” *PLOS ONE*, vol. 9, no. 8, p. e103713, Aug. 2014.
- [2] S. S. Shinde *et al.*, “Chapter 20 - Bioactivity, medicinal applications, and chemical compositions of essential oils: detailed perspectives,” in *Recent Frontiers of Phytochemicals*, S. Pati, T. Sarkar, and D. Lahiri, Eds., Elsevier, 2023, pp. 353-367.
- [3] T. M. X. Nguyen *et al.*, “Herbal essential oils as the alternative repellent against mosquitoes,” *Univ. Danang - J. Sci. Technol.*, vol. 21, no. 8.2, pp. 24-30, Aug. 2023.
- [4] H. A. Luker *et al.*, “Repellent efficacy of 20 essential oils on *Aedes aegypti* mosquitoes and *Ixodes scapularis* ticks in contact-repellency assays,” *Sci. Rep.*, vol. 13, no. 1, p. 1705, Jan. 2023.

- [5] T. T. Nguyen, "Research On Chemical Composition And Antioxidant Activity Of *Cinnamomum Burmannii* Essential Oil In Bao Lac, Cao Bang Province," *Sci. J. Tan Trao Univ.*, vol. 8, no. 3, pp. 109-114, Oct. 2022.
- [6] L. M. Müller-Wirtz *et al.*, "Exhaled Propofol Concentrations Correlate With Plasma and Brain Tissue Concentrations in Rats," *Anesth. Analg.*, vol. 132, no. 1, pp. 110-118, Jan. 2021.
- [7] S. M. Ng *et al.*, "Multivariate Analysis on Factors Affecting Suppression of Thyroid-Stimulating Hormone in Treated Congenital Hypothyroidism," *Horm. Res.*, vol. 62, no. 5, pp. 245-251, Nov. 2004.
- [8] R. Safe'i *et al.*, "Factors Affecting Community-Managed Forest Health," *Environ. Ecol. Res.*, vol. 10, no. 4, pp. 467-474, Aug. 2022.
- [9] Y. Kittichotsatsawat, N. Tippayawong, and K. Y. Tippayawong, "Prediction of arabica coffee production using artificial neural network and multiple linear regression techniques," *Sci. Rep.*, vol. 12, no. 1, p. 14488, Aug. 2022.
- [10] Hoa Thom Co La, "The test report of the betel essential oil - *Piper Betle*," (in Vietnamese), *Hoà Thom Co La*, Lot#208383: PIBE2003G11. [Online]. Available: <https://hoathomcola.vn>. [Accessed Nov. 5, 2024].
- [11] T. T. T. Tran *et al.*, "Production of essential oils and sugar-rich hydrolysate from betel leaves (*Piper betle*)," *J. Agric. Dev.*, vol. 23, no. 1, pp. 64-75, Feb. 2024.
- [12] K. T. Huynh *et al.*, "Betel leaf essential oil – Phenolic content and influence on biological activities," (in Vietnamese), *Vietnam J. Public Health*, vol. 38, pp. 19-25, Dec. 2015.
- [13] H. K. Tran *et al.*, "*Piper Betel* L. Essential Oil and Bioactivity," (in Vietnamese), *J. Anal. Sci.*, vol. 20, no. 3, pp. 80-90, 2015.
- [14] J. N. Haro-González *et al.*, "Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health," *Molecules*, vol. 26, no. 21, p. 6387, Oct. 2021.
- [15] K. Tan *et al.*, "A popular Indian clove-based mosquito repellent is less effective against *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* than DEET," *PLOS ONE*, vol. 14, no. 11, p. e0224810, 2019.
- [16] P. Kemprai *et al.*, "Chavibetol: major and potent phytotoxin in betel (*Piper betle* L.) leaf essential oil," *Pest Manag. Sci.*, vol. 79, no. 11, pp. 4451-4462, 2023.
- [17] V. Dwivedi and S. Tripathi, "Review study on potential activity of *Piper betle*," *J. Pharmacogn. Phytochem.*, vol. 3, no. 4, pp. 93-98, 2014.
- [18] D. Alighiri *et al.*, "Study on the Improvement of Essential Oil Quality and Its Repellent Activity of Betel Leaves Oil (*Piper betle* l.) from Indonesia," *Orient. J. Chem.*, vol. 34, no. 6, pp. 2913-2926, Dec. 2018.
- [19] T. H. Tran *et al.*, "Anti-Mosquito activity of Essential Oils extracted from *Piper Nigrum* And *Piper Betle* Leaf against *Aedes Aegypti*," *Thu Dau Mot Univ. - J. Sci.*, vol. 2, no. 57, pp. 87-95, Jul. 2022.