

# Định lượng eugenol trong tinh dầu hương nhu tía bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao

Phan Nguyễn Thu Xuân\*, Bùi Thế Vinh và Võ Sỹ Nhật

Trường Đại học Quốc Tế Hồng Bàng

## TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Tinh dầu hương nhu tía và thành phần eugenol từ tinh dầu hương nhu (*Ocimum tenuiflorum* L. hay *Ocimum sanctum* L.) có nhiều ứng dụng trong dược, mỹ phẩm. Eugenol có tác dụng kháng viêm, kháng khuẩn và nhiều dược tính khác, được sử dụng làm hoạt chất chính trong nhiều sản phẩm dược. Mục tiêu nghiên cứu: Nghiên cứu nhằm phát triển một phương pháp đơn giản, độ tin cậy cao để định lượng eugenol trong tinh dầu hương nhu tía bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Tiến hành thẩm định quy trình định lượng: tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ đúng và độ chính xác. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Tinh dầu hương nhu tía thu được bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước từ cây được thu hái tại Vườn bảo tồn Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh sau đó tiến hành định lượng eugenol trong tinh dầu với điều kiện sắc ký: HPLC Shimadzu Prominence-i LC-2030, Cột sắc ký: Shimadzu C18 (250 x 4.6 mm, 5  $\mu$ m). Dung môi pha động: methanol : nước (80:20, tt/tt), kiểu rửa giải: đẳng dòng, tốc độ dòng: 1.0 mL/phút, thể tích tiêm mẫu: 20  $\mu$ L, bước sóng phát hiện: 281 nm. Kết quả: Tính tuyến tính của phương pháp đạt trong khoảng nồng độ 2.25 - 50  $\mu$ g/mL. Giới hạn phát hiện (LOD) là 0.112  $\mu$ g/mL, giới hạn định lượng (LOQ) là 0.370  $\mu$ g/mL. Độ đúng của phương pháp được xác định bằng % tỷ lệ phục hồi trong khoảng: 98.3 - 101.8%. Độ chính xác có RSD% = 0.56%. Hàm lượng eugenol trong tinh dầu là 84.7%. Kết luận: Các kết quả khảo sát đều đạt yêu cầu về các chỉ tiêu tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ đúng, độ chính xác. Phương pháp này có thể áp dụng để xác định hàm lượng eugenol trong tinh dầu hương nhu tía.

**Từ khóa:** eugenol, hương nhu tía, HPLC-UV, thẩm định quy trình định lượng

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Eugenol của hương nhu tía (*Ocimum tenuiflorum* L. hay *Ocimum sanctum* L.) đã được sử dụng rộng rãi và thường xuyên để chữa các bệnh như sốt rét, viêm phế quản, hen phế quản, kiết lỵ, tiêu chảy, viêm khớp, bệnh ngoài da, bệnh đau mắt, sốt mẩn tính, v.v. Ngoài ra nó cũng đã được chứng minh là có tác dụng chống ung thư, ngừa thai, kháng nấm, trị đái tháo đường, kháng khuẩn, bảo vệ tim mạch, bảo vệ gan, giảm đau, chống nôn, chống co thắt [1]. Eugenol là một chất ức chế monoamine oxidase (MAO) và chất chống oxy hóa phổ biến, đồng thời nó cũng được biết đến là có đặc tính bảo vệ thần kinh [2]. Eugenol có khả năng loại bỏ các gốc tự do, ức chế tạo ra các oxygen và nitrogen, từ đó tăng khả năng chống oxy hóa của tế bào và bảo vệ chức năng của DNA và protein của vi sinh vật. Ngoài ra nó có thể loại bỏ các tế bào bị hư hại và

ngăn ngừa khả năng phát triển ung thư [3].

Một nghiên cứu gần đây đã được tiến hành chiết tinh dầu trên cây hương nhu tía ở Bình Định bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước thu được lượng tinh dầu trong lá tươi 0.61%. Thành phần hóa học của tinh dầu được xác định bằng phương pháp GC-MS. Những chất chiếm hàm lượng cao trong tinh dầu là eugenol (71.21%),  $\beta$ -caryophyllen (12.96%) và cis- $\beta$ -elemen (9.67%) [4]. Ngoài ra, có thể tham khảo các nghiên cứu khác về phân tích định lượng eugenol trong tinh dầu đinh hương bằng phương pháp HPLC đầu dò DAD cho thấy độ chính xác trong ngày tốt (%RSD 0.08-0.27%) và độ chính xác giữa các ngày (%RSD 0.32-1.19%). Phương pháp này được áp dụng để phân tích eugenol từ cây đinh hương được trồng

Tác giả liên hệ: Phan Nguyễn Thu Xuân

Email: [xuanpnt@hiu.vn](mailto:xuanpnt@hiu.vn)

ở nhiều quốc gia khác nhau (Indonesia, Singapore và Trung Quốc) [5]. Một nghiên cứu khác dùng phương pháp sắc ký khí với đầu dò ion hóa ngọn lửa để xác định eugenol trong dịch chiết ethanol tinh dầu đinh hương, giới hạn phát hiện là 64.31 ng/mL và tỷ lệ thu hồi là 98.1% [6]. Hoặc có thể sử dụng phương pháp sắc ký lớp mỏng hiệu năng cao (HPTLC) để phân tích định lượng eugenol trong đinh hương Sự tách sắc ký được thực hiện trên các tấm nhôm TLC phủ sẵn gel silica 60F254, sử dụng methanol : nước cất (6:4, v/v) làm pha động. Phân tích định lượng được thực hiện bằng phương pháp đo mật độ ở bước sóng 280 nm [7].

Để có nguồn hoạt chất eugenol chất lượng, giá thành hợp lý thì ngoài việc chiết eugenol từ đinh hương có thể tìm một nguồn nguyên liệu rẻ và được trồng phổ biến hơn ở trong nước, đối tượng nghiên cứu chính là cây hương nhu tía với quy trình chiết xuất tinh dầu đơn giản thu được tinh dầu có hàm lượng eugenol cao. Vì vậy nghiên cứu này nhằm phát triển một phương pháp đơn giản, độ tin cậy cao để định lượng eugenol trong tinh dầu hương nhu tía bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), nhằm phát triển mạnh hơn việc sản xuất eugenol chất lượng và giá thành hợp lý.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tinh dầu hương nhu tía, cây được thu hái tại Vườn bảo tồn cây thuốc của Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp.HCM được định danh bởi KS. Cao Ngọc Giang thuộc phòng Tài Nguyên và Phát triển Dược Liệu - Trung Tâm Sâm và Dược liệu Tp.HCM. Cây được thu hái về được xác định độ ẩm dược liệu tươi là 87.5% và độ ẩm dược liệu khô là 12.6%, đạt yêu cầu nguyên

liệu theo chuyên luận trong Dược điển Việt Nam V [8].

### 2.2. Hóa chất, thiết bị

**Chất chuẩn:** Chất chuẩn eugenol (>98%, HPLC), Sultan Chemists, USA, Cat. # 10502.

**Hóa chất:** Methanol loại dùng cho HPLC, nước cất 2 lần.

**Thiết bị:** HPLC Shimadzu Prominence-i LC-2030, đầu dò UV, Cột sắc ký Shimadzu C18 (250 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m), cân phân tích có độ chính xác 0,1mg, các dụng cụ thủy tinh sử dụng trong phòng thí nghiệm, micropipette: 100 - 1000  $\mu$ L và 20 - 100  $\mu$ L.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1. Chuẩn bị mẫu thử

Sau khi thu hái, tiến hành rửa sạch với vòi nước chảy nhẹ, tách lá và thân non, thái nhỏ khoảng 1 cm. Lấy 200 g hương nhu tía đã qua xử lí, rồi cho vào bình cầu đáy tròn dung tích 2000 mL. Thêm 1000 mL dung dịch NaCl 3% đến khoảng 2/3 bình cầu. Lắp ống sinh hàn và nhánh hứng có thiết bị hồi lưu hơi nước. Sự chiết xuất này được thực hiện với bộ chưng cất tinh dầu Cleverger 2000 mL.

Cân 100 mg tinh dầu cho vào bình định mức 20 mL. Thêm methanol đến vạch. Hút 100  $\mu$ L cho vào bình định mức 20 mL, định mức bằng methanol. Lọc qua màng lọc 0.45  $\mu$ m cho vào vial.

- Mẫu trắng: Methanol lọc qua màng lọc 0.45  $\mu$ m.

#### 2.3.2. Chuẩn bị dung dịch chuẩn

**Chuẩn cấp 1:** Cân 30 mg pha vào bình định mức 10 mL, định mức đến vạch bằng methanol thu được chuẩn 3000  $\mu$ g/mL.

**Chuẩn cấp 2:** Hút 3 mL dung dịch chuẩn cấp 1 cho vào bình định mức 10 mL, định mức bằng methanol thu được chuẩn 900  $\mu$ g/mL.

Từ chuẩn 900  $\mu$ g/mL pha dãy chuẩn làm việc với nồng độ từ 2.25 - 50  $\mu$ g/mL, pha chuẩn như Bảng 1.

**Bảng 1.** Dãy chuẩn làm việc

STT	Thể tích hút ( $\mu$ L)	Bình định mức (mL)	Nồng độ ( $\mu$ g/mL)
1	50	20	2.25
2	50	10	4.5
3	100	10	9
4	200	10	18
5	555	20	25
6	400	10	36
7	555	10	50

**2.3.3. Điều kiện sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC-UV)**

- + Shimadzu C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 μm)
- + Thành phần pha động: methanol : nước (80:20, tt/tt)
- + Kiểu rửa giải: đẳng dòng, tốc độ dòng: 1.0 mL/phút.
- + Bước sóng: 281 nm
- + Nhiệt độ buồng cột: 30°C
- + Thể tích tiêm: 20 μL.

**2.3.4. Thẩm định quy trình định lượng theo hướng dẫn của ASEAN [9]**

tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, khoảng tuyến tính, độ đúng, độ lặp lại, giới hạn định lượng và giới hạn phát hiện. Phương pháp xử lý số liệu: Sử

dụng phần mềm Microsoft Excel. Sử dụng quy trình đã thẩm định: Định tính dựa vào sắc ký đồ và thời gian lưu của dung dịch thử, dung dịch chuẩn eugenol phải tương ứng với nhau. Định lượng dựa trên diện tích pic thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn, tính hàm lượng eugenol trong tinh dầu hương nhu tía.

**3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN**

**3.1. Tính tương thích của hệ thống sắc ký:** Tiến hành tiêm lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn eugenol có nồng độ 25 μg/mL vào hệ thống HPLC-UV. Kết quả như Bảng 2:

**Bảng 2.** Tính tương thích hệ thống sắc ký

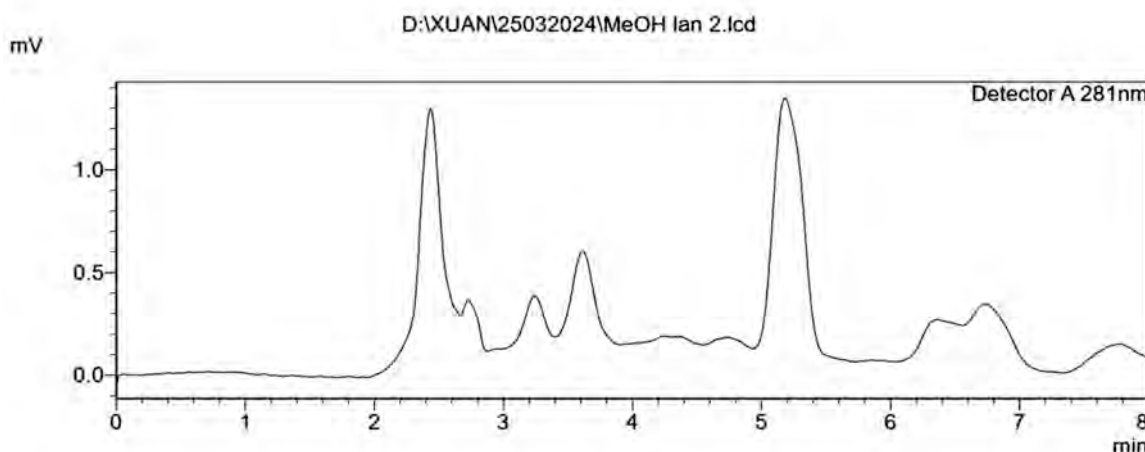
Lần bơm	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic
1	4.67	461919
2	4.68	431731
3	4.69	431238
4	4.68	431334
5	4.67	431172
6	4.68	433314
<b>TB</b>	<b>4.68</b>	<b>431559</b>
<b>RSD (%)</b>	<b>0.10</b>	<b>0.22</b>
<b>A<sub>s</sub></b>	<b>1.089</b>	
<b>Số đĩa lý thuyết</b>	<b>4080</b>	

Như vậy, hệ thống sắc ký có độ lặp lại với RSD (%) của thời gian lưu là 0.1% < 1% và diện tích pic là 0.22% < 2%, hệ số bất đối xứng 1.089 đạt yêu cầu định lượng eugenol.

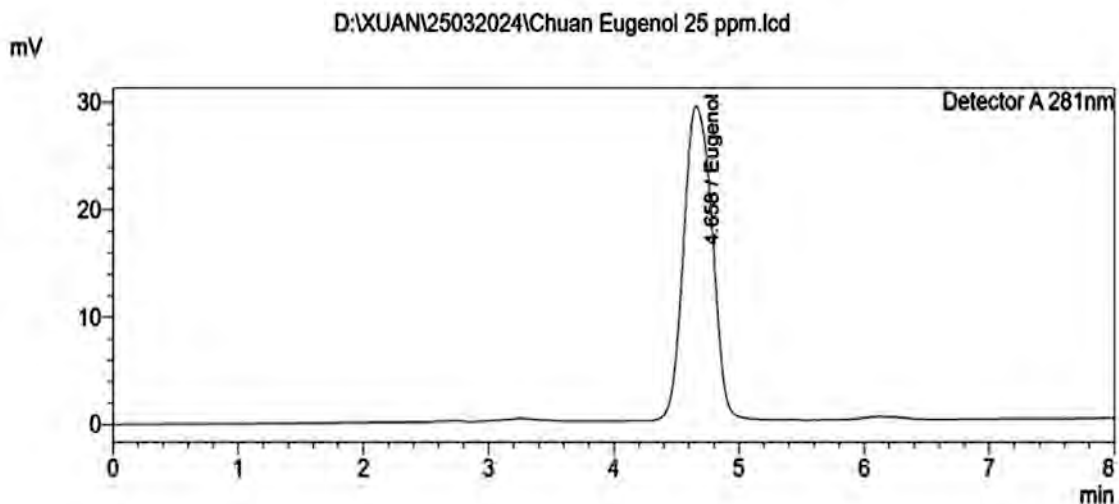
**3.2. Tính đặc hiệu**

**Tiến hành:** tiêm các mẫu trắng, mẫu chuẩn và mẫu

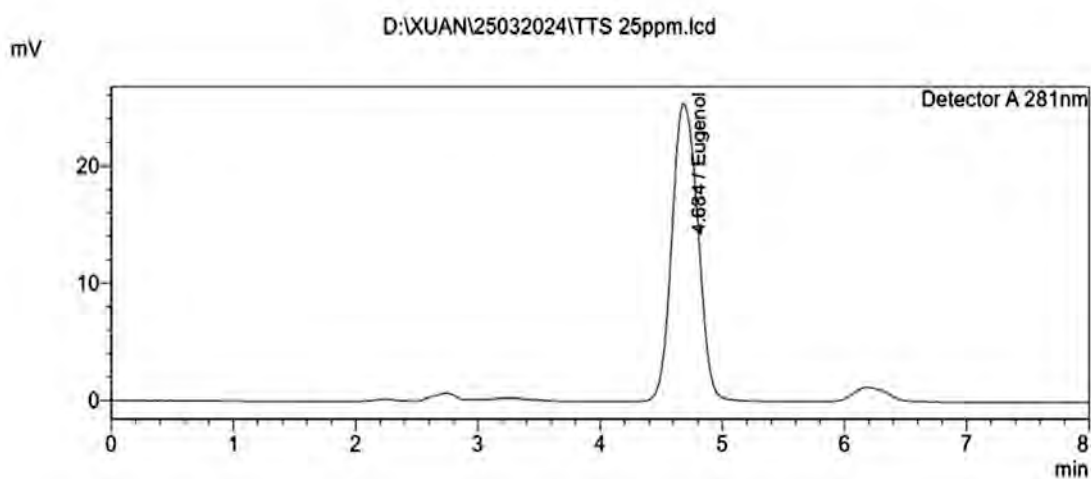
thử vào hệ thống sắc ký theo điều kiện đã nêu trên. Kết quả phân tích cho thấy, trên sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của eugenol. Dung dịch thử cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic eugenol thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.



**Hình 1.** Sắc ký đồ mẫu trắng



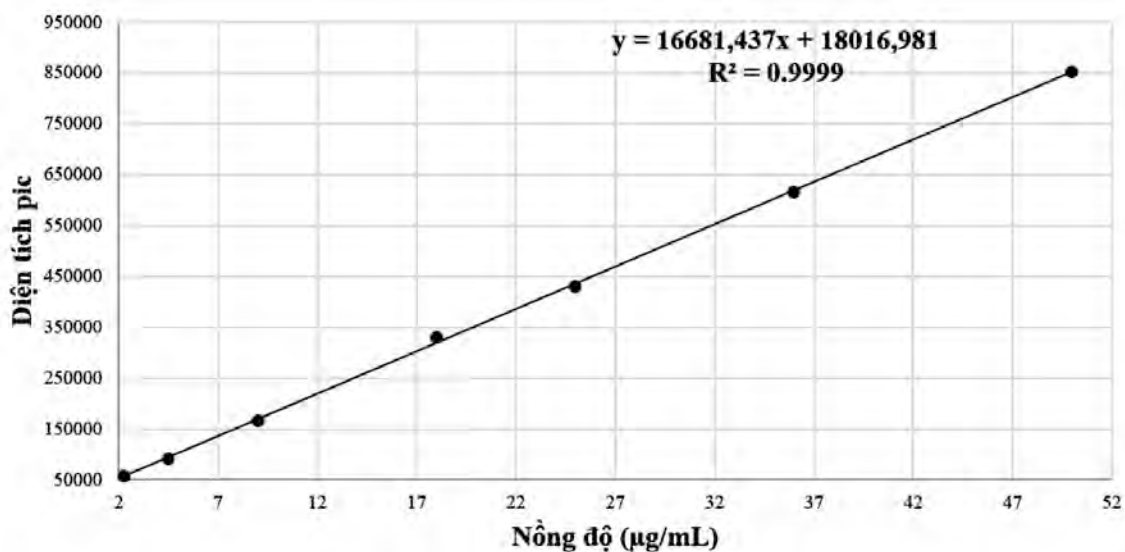
Hình 2. Sắc ký đồ chuẩn eugenol 25 µg/mL



Hình 3. Sắc ký đồ mẫu thử

### 3.3. Tính tuyến tính

Pha một dãy các dung dịch chuẩn trong methanol có nồng độ từ 2.25 µg/mL đến 50 µg/mL. Tiến hành chạy sắc ký các dung dịch chuẩn theo điều kiện đã nêu. Kết quả thể hiện ở Bảng 3 và Hình 4.



Hình 4. Đồ thị khảo sát sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic eugenol

**Bảng 3.** Khoảng tuyến tính của eugenol

STT	C (µg/mL)	Diện tích pic
1	2.25	56557
2	4.5	90996
3	9	167111
4	18	330751
5	25	435052
6	36	616041
7	50	852088

+ Phương trình hồi quy:

$$y = 16681.437x + 18061.981$$

+ Hệ số tương quan:  $R^2 = 0.9999$

Kết quả cho thấy có sự phụ thuộc tuyến tính giữa nồng độ eugenol với diện tích pic trong khoảng khảo sát từ 2.25 µ 50 µg/mL, có hệ số tương quan  $R^2 = 0.9999$ . Khoảng xác định 80 µ120% của nồng

độ định lượng, tương ứng với nồng độ trong dung dịch thử từ 20.0 µ 30.0 µg/mL eugenol: nằm trong khoảng tuyến tính.

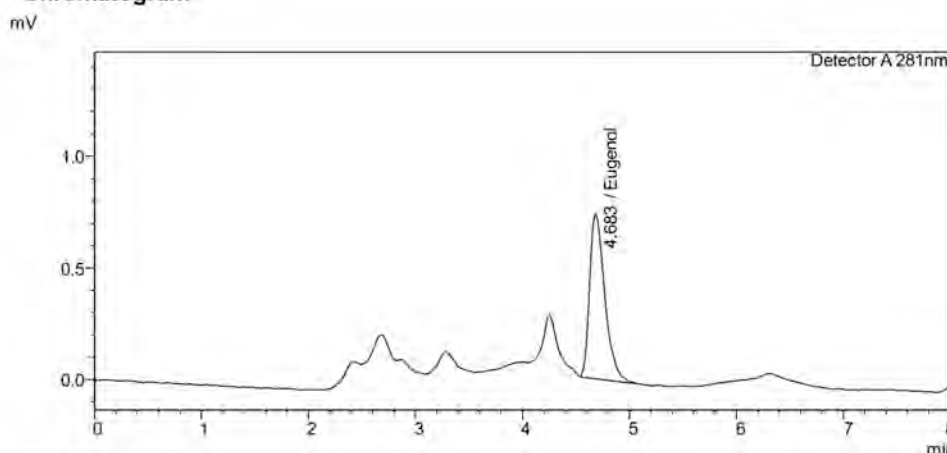
**3.4. Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)**

Xác định giới hạn phát hiện: nồng độ tối thiểu chất phân tích có thể phát hiện được, dựa vào tỷ lệ đáp ứng so với nhiễu (S/N) nằm trong khoảng 3:1 hoặc 2:1 thường được chấp nhận để thiết lập giới hạn phát hiện.

Xác định giới hạn định lượng: nồng độ tối thiểu chất phân tích có thể định lượng được, dựa vào tỷ lệ đáp ứng so với nhiễu (S/N) thường là 10:1 hoặc 3.3 X LOD thường được chấp nhận để thiết lập giới hạn định lượng.

Tiến hành pha loãng chuẩn 2.25 µg/mL nhiều lần và tiêm vào hệ thống HPLC, cho đến khi thu được sắc ký đồ có thông số S/N đạt yêu cầu thì dừng lại, tại nồng độ đó chính là LOD của phương pháp.

<Chromatogram>



<Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Conc.	Height	Name	S/N
1	4.683	7220	0.112	688	Eugenol	3.12
Total		7220		688		

**Hình 5.** Sắc ký đồ khảo sát giới hạn phát hiện: chuẩn eugenol 0.112 µg/mL

Qua hình 5, ta thấy được tín hiệu của chuẩn eugenol 0.112 µg/mL có tỷ lệ đáp ứng so với nhiễu (S/N) là 3.12 nên ta thiết lập nồng độ này là giới hạn phát hiện. Suy ra:

**Giới hạn phát hiện:** LOD = 0.112 µg/mL.

**Giới hạn định lượng:** LOQ = 3.3 X LOD = 0.370 µg/mL.

**3.5. Độ chính xác**

Là độ lặp lại được khảo sát trong các điều kiện giống nhau (phương pháp phân tích, phòng thí nghiệm, người phân tích, dụng cụ). Đánh giá trên

kết quả của tối thiểu 6 lần định lượng ở nồng độ thử 100%. Yêu cầu: RSD ≤ 2%. Nồng độ eugenol được tính theo phương trình hồi quy.

Cân 100 mg tinh dầu cho vào bình định mức 20 mL. Thêm methanol đến vạch. Hút 100 µL cho vào bình định mức 20 mL, định mức bằng methanol. Lọc qua màng lọc 0.45 µm cho vào vial.

$$\text{Hàm lượng eugenol (\%)} = \frac{C_{\text{Eugenol thử}}}{m_{\text{tinh dầu}}} \times 10^{-3} \times \text{ĐPL} \times 100; \text{ĐPL}=4000$$

**Bảng 4.** Kết quả khảo sát độ chính xác đối với eugenol trong mẫu thử tinh dầu hương nhu tía

STT	Khối lượng cân tinh dầu (mg)	Diện tích pic	Nồng độ eugenol ( $\mu\text{g/mL}$ ) trong tinh dầu ( $C_t$ )	Hàm lượng eugenol (%) trong tinh dầu
1	100.4	373100	21.29	84.8
2	99.3	368738	21.03	84.7
3	99.7	369293	21.06	84.5
4	100.6	370128	21.11	83.9
5	98.9	367128	20.93	84.6
6	98.7	369472	21.07	85.4
<b>Trung bình</b>				<b>84.7</b>
<b>RSD (%)</b>				<b>0.56</b>

Kết quả cho thấy hàm lượng eugenol (%) trong tinh dầu hương nhu tía là 84.7% và có độ lặp lại tốt RSD (%) = 0.56% (<2%), đáp ứng yêu cầu định lượng.

### 3.6. Độ đúng

**Tiến hành:** Dùng phương pháp thêm chuẩn vào

mẫu thử, nồng độ mẫu chuẩn thêm vào lần lượt là 80%, 100%, 120%. Thực hiện 9 lần chuẩn bị mẫu thêm chuẩn (mỗi nồng độ 3 mẫu). Tính toán % tỷ lệ phục hồi và đánh giá kết quả.

Trong đó: Hàm lượng eugenol trong tinh dầu (mg) = Khối lượng cân tinh dầu x 84.7%

**Bảng 5.** Kết quả khảo sát độ đúng đối với eugenol trong mẫu thử tinh dầu hương nhu tía

Mức thêm vào (%)	Khối lượng cân tinh dầu (mg)	Hàm lượng eugenol trong tinh dầu (mg)	Khối lượng chất chuẩn thêm vào (mg)	Diện tích pic thu được	Nồng độ eugenol theo đường chuẩn ( $\text{mg/mL}$ )	Hàm lượng eugenol tổng (mg)	Tỷ lệ phục hồi (%)	Tỷ lệ phục hồi (%) Trung bình
80	101.3	85.80	68.7	657580	38.34	153.36	98.3	99.5
	99.7	84.45	67.6	647728	38.41	151.00	98.5	
	99.2	84.02	67.2	653712	38.11	152.44	101.8	
100	100.6	85.21	85.2	731293	42.76	171.04	100.7	100.0
	98.9	83.77	83.8	713922	41.72	166.87	99.2	
	99.5	84.28	84.3	721239	42.16	168.63	100.1	
120	99.6	84.36	101.2	793722	46.50	186.01	100.4	100.1
	100.3	84.95	102.4	803728	47.10	188.41	101.0	
	100.8	85.38	102.7	797729	46.74	186.97	98.9	

Kết quả cho thấy phương pháp thêm chuẩn eugenol vào mẫu thử có khả năng thu hồi từ 98.3 - 101.8% nằm trong giới hạn cho phép trong thẩm định độ đúng của phương pháp (98-102%).

## 4. BÀN LUẬN

Khảo sát tinh dầu hương nhu tía cho kết quả hàm lượng eugenol trong tinh dầu được thu hái tại Vườn bảo tồn cây thuốc của Trung tâm Sâm và

Dược liệu Tp.HCM là 84.7%, hàm lượng tinh dầu có trong hương nhu tía được chiết bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước là 0.7% (tt/kl) đạt theo yêu cầu trong chuyên luận của Dược Điển Việt Nam [2] là 0.5% tinh dầu. Kết quả hàm lượng eugenol thu được cao hơn so với một vài nghiên cứu trước đây, cụ thể là hàm lượng eugenol trong tinh dầu hương nhu tía ở Bình Định - Việt Nam được chiết bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước thu được 0.61%

tinh dầu trong lá tươi và phân tích bằng phương pháp GC-MS cho kết quả hàm lượng eugenol là 71.21% [4]. Cũng giống nhau về phương pháp chiết tinh dầu và phân tích GC-MS nhưng các mẫu thu hái tại Ấn Độ lại cho lượng tinh dầu thấp hơn dao động từ 0.13 - 0.45% trong đó hàm lượng eugenol chiếm từ 1.94 - 60.20% [10], ở Cu Ba là 34.4% [11]. Một nghiên cứu khác về tinh dầu hương nhu tía được lấy mẫu ở Đông Bắc Brazil cho sản lượng tinh dầu thấp chỉ 0.3%, nhưng hàm lượng eugenol trong tinh dầu đạt 81.91%, cũng trong nghiên cứu này đã chứng minh được hàm lượng eugenol trong tinh dầu càng cao thì khả năng chống oxy hóa của tinh dầu đó càng tốt [12]. Qua các kết quả so sánh sơ bộ, cho thấy dược liệu hương nhu tía đang được trồng và bảo tồn tại Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp.HCM có lượng tinh dầu với hàm lượng eugenol cao, dễ dàng được chiết xuất với phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước và có thể phân tích bằng phương pháp HPLC đầu dò UV, phương pháp tốn ít chi phí hơn GC/MS nhưng vẫn cho kết quả cao.

## 5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng được phương pháp

phân tích hoàn chỉnh, giúp định lượng eugenol trong tinh dầu hương nhu tía bằng phương pháp HPLC đã đáp ứng các tiêu chí về: Tính tuyến tính của phương pháp đạt trong khoảng nồng độ 2.25 - 50 µg/mL. Giới hạn phát hiện (LOD) là 0.112 µg/mL, giới hạn định lượng (LOQ) là 0.370 µg/mL. Độ đúng của phương pháp được xác định bằng % tỷ lệ phục hồi trong khoảng: 98.3 - 101.8%. Độ chính xác có RSD% = 0.56%. Do đó có thể tham khảo phương pháp này để xây dựng quy trình định lượng eugenol trong các loại tinh dầu khác như đinh hương, hương nhu trắng, húng quế, ...

Định hướng cho nghiên cứu tiếp theo: Cần khảo sát thêm điều kiện chiết tinh dầu và làm sạch eugenol trong tinh dầu hương nhu tía, dùng phương pháp HPLC đánh giá kết quả làm sạch eugenol. So sánh lượng tinh dầu và hàm lượng eugenol trong hương nhu tía được thu hái từ nhiều vùng miền khác nhau.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng cấp kinh phí thực hiện dưới mã số đề tài GVTC17.44.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. K. Shasany, "The Holy Basil (*Ocimum sanctum* L.) and its Genome," *Indian Journal of History of Science*, vol. 51, no. 2.2, pp. 343-350, 2016.
- [2] H. Kabuto, M. Tada and M. Kohno, "Eugenol [2-Methoxy-4-(2-propenyl) phenol] Prevents 6-Hydroxydopamine-Induced Dopamine Depression and Lipid Peroxidation Inductivity in Mouse Striatum," *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 30, no. 3, pp. 423-427, 2007.
- [3] M. Ulanowska and B. Olas, "Biological Properties and Prospects for the Application of eugenol - A Review," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 7, pp. 3671, 2021.
- [4] V. T. T. Tuyền, N. T. M. Biên, "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 Trường Đại Học Quy Nhơn*, pp. 83-90, 2019.
- [5] S.M. Yun, M.H. Lee, K.J. Lee, H.O. Ku, S.W. Son, Y.S. Joo, "Quantitative analysis of eugenol in clove extract by a validated HPLC method", *J AOAC Int*, 93(6), pp.1806-10, 2010.
- [6] B. Y. K. Sruthi, B. M. Gurupadayya, K. Venkata Sairam, T. Narendra Kumar, "Development and validation of GC method for the estimation of eugenol in clove extract", *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(2), pp. 473-476, 2014.
- [7] Deepika Yadav, "Quantitative Analysis of Eugenol in Clove Extract and Nanoparticle Formulation by a Validated High-Performance Thin-layer Chromatographic Method", *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11(2), pp. 115-119, 2021.
- [8] Bộ Y Tế, Chuyên luận dược liệu, *Dược Điển Việt Nam V, Tập 2*, Hà Nội, NXB Y Học, pp. 1202-1203, 2018.
- [9] Hướng dẫn của ASEAN về thẩm định quy trình phân tích.
- [10] P. Raina, A. Kumar, M. Dutta, "Chemical

characterization of aroma compounds in essential oil isolated from "Holy Basil" (*Ocimum tenuiflorum* L.) in India", *Genet Resour Crop Evol*, 60(5), pp. 1727, 2013.

[11] J. A. Pino, A. Rosado, M. Rodriguez, D. Garcia, "Composition of the Essential Oil of *Ocimum tenuiflorum* L. Grown in Cuba", *Journal of Essential*

*Oil Research*, 10(4), pp. 437,1998.

[12] C. de Oliveira, S. M. de Morais, H. A. de Sousa, ... J. O. B. Carioca, "Chemical composition and antioxidant potential of essential oils from different *Ocimum* species (Basil)", *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, vol.7, no.3, pp. 24422-24442, 2021.

---

## Determination of eugenol in *Ocimum tenuiflorum* L. essential oil by high-performance liquid chromatography

Phan Nguyen Thu Xuan, Bui The Vinh and Vo Sy Nhat

### ABSTRACT

*Background: Basil essential oil and its component eugenol (from *Ocimum tenuiflorum* L. or *Ocimum sanctum* L.) have numerous applications in pharmaceuticals and cosmetics. Eugenol possesses anti-inflammatory, antibacterial, and various other medicinal properties, making it a key active ingredient in various pharmaceutical products. Objectives: This study aims to develop a simple, reliable method for quantifying eugenol in the essential oil of holy basil using high-performance liquid chromatography (HPLC). The quantification process will be validated by assessing system compatibility, specificity, linearity, accuracy, and precision. Materials and Method: The essential oil of holy basil was obtained by steam distillation from plants collected at the Conservation Garden of the Ho Chi Minh City Center for Ginseng and Medicinal Materials. Eugenol quantification in the essential oil was carried out under the following HPLC conditions: Shimadzu Prominence-i LC-2030 HPLC system, Shimadzu C18 column (250 x 4.6 mm, 5  $\mu$ m), mobile phase: methanol: water (80:20, v/v), isocratic elution, flow rate: 1.0 mL/min, injection volume: 20  $\mu$ L, detection wavelength: 281 nm. Results: The method demonstrated linearity in the concentration range of 2.25 - 50  $\mu$ g/ml. The limit of detection (LOD) was 1.201  $\mu$ g/ml, and the limit of quantification (LOQ) was 3.641  $\mu$ g/ml. The method's accuracy was determined by a recovery rate of 98.3 - 101.8%, and its precision was indicated by an RSD% of 0.56%. Eugenol content in essential oil is 84.7% Conclusion: The results meet the requirements for system suitability, specificity, linearity, accuracy, and precision. This method can be applied to determine the eugenol content in basil essential oil.*

**Keywords:** Eugenol, *Ocimum tenuiflorum* L., HPLC-UV, Quantitative Method Validation

---

Received: 27/03/2024

Revised: 29/04/2024

Accepted for publication: 02/05/2024