

## KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA TINH DẦU RAU KINH GIỚI (*Elsholtzia ciliata*) LÊN MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN GÂY BỆNH TRÊN CÁ NUÔI NƯỚC NGỌT

Tổng Nhựt Nam, Đặng Quốc Vinh, Võ Nguyễn Khánh Tuyền,  
Trần Thị Mỹ Dung, Hồ Thị Trường Thy\*, Ông Mộc Quý

Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

\*Tác giả liên hệ: [thy.hothitruong@hcmuaf.edu.vn](mailto:thy.hothitruong@hcmuaf.edu.vn)

Ngày nhận bài: 03.09.2025

Ngày chấp nhận đăng: 02.12.2025

### TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm đánh giá khả năng kháng khuẩn của tinh dầu rau kinh giới (*Elsholtzia ciliata*) trên ba chủng vi khuẩn gây bệnh cá nuôi nước ngọt: *Aeromonas hydrophila* (Att1), *Edwardsiella ictaluri* (Ecd20) và *Streptococcus agalactiae* (Svb2). Tinh dầu được chiết bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước có hỗ trợ vi sóng và phân tích thành phần hóa học bằng GC-MS. Thí nghiệm với thời gian xử lý vi sóng 2-8 phút, công suất 500W và nồng độ 5-15% cho thấy hiệu quả ức chế tăng theo nồng độ và thời gian. Ecd20 nhạy cảm nhất (31,67mm ở 15% sau 8 phút), tiếp đến Att1 (18mm), còn Svb2 kém nhạy nhưng vẫn tăng đáng kể. MIC trên Ecd20, Svb2 và Att1 lần lượt là 0,39; 0,78 và 1,56 mg/ml. Phân tích hóa học ghi nhận Linoleic acid (26,64%), Oleic acid (16,97%), Citral (10,9%), beta-cis-Ocimene (7,38%) và beta-Caryophyllene (7,56%) là các thành phần chính góp phần vào hoạt tính sinh học. Kết quả khẳng định xử lý vi sóng nâng cao hiệu quả kháng khuẩn, đặc biệt rõ ở 8 phút. Nghiên cứu cung cấp bằng chứng khoa học về mối liên hệ thành phần hoạt tính và gợi mở ứng dụng tinh dầu rau kinh giới như giải pháp sinh học thay thế kháng sinh trong nuôi cá.

Từ khóa: *Elsholtzia ciliata*, tinh dầu, vi sóng, kháng khuẩn, cá nước ngọt.

### Investigation of Antibacterial Activity of Vietnamese Oregano (*Elsholtzia ciliate*) Essential Oil Against some Pathogenic Bacteria Strains in Freshwater Fish

### ABSTRACT

This study evaluated the antibacterial activity of essential oil from Vietnamese balm (*Elsholtzia ciliata*) against three pathogenic bacteria in freshwater cultured fish: *Aeromonas hydrophila* (Att1), *Edwardsiella ictaluri* (Ecd20), and *Streptococcus agalactiae* (Svb2). The essential oil was extracted using microwave-assisted steam distillation and its chemical composition was analyzed by GC-MS. Experiments with microwave treatment times of 2-8 minutes, 500W power, and oil concentrations of 5-15% showed that antibacterial efficacy increased with both concentration and treatment duration. Ecd20 was the most sensitive strain (31.7mm inhibition zone at 15% after 8 minutes), followed by Att1 (18mm), while Svb2 was less sensitive but still showed significant inhibition. The MIC values for Ecd20, Svb2, and Att1 were 0.39, 0.78, and 1.56 mg/ml, respectively. Chemical analysis identified Linoleic acid (26.64%), Oleic acid (16.97%), Citral (10.9%), beta-cis-Ocimene (7.38%), and beta-Caryophyllene (7.56%) as major constituents likely contributing to the bioactivity. The results confirmed that microwave treatment enhances the antibacterial effect, particularly evident at 8 minutes. This study provides scientific evidence linking chemical composition and biological activity, and suggests the potential application of *E. ciliata* essential oil as a natural alternative to antibiotics in aquaculture.

Keywords: *Elsholtzia ciliata*, essential oil, microwave, antibacterial, freshwater fish.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nuôi trồng thủy sản là ngành kinh tế mũi nhọn tại Việt Nam, đặc biệt ở Đồng bằng sông Cửu Long, nơi cá tra, rô phi và điêu hồng chiếm

tỷ trọng lớn trong xuất khẩu thủy sản (Phan & cs., 2009). Cụ thể, năm 2024 kim ngạch xuất khẩu thủy sản ở Việt Nam đạt 10 tỷ USD, trong đó riêng cá tra đóng góp khoảng 2 tỷ USD, cá rô phi của Việt Nam đạt khoảng 41 triệu USD,

Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu rau kinh giới (*Elsholtzia ciliata*) lên một số chủng vi khuẩn gây bệnh trên cá nuôi nước ngọt

chiếm khoảng 20% tổng xuất khẩu thủy sản (Vasep, 2025). Tuy nhiên, ngành này đối mặt với nhiều thách thức, trong đó bệnh do vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae* và *Edwardsiella ictaluri* gây thiệt hại nặng nề (Từ Thanh Dung & cs., 2022; Erickson & cs., 2024). Tỷ lệ sử dụng kháng sinh trong nuôi cá tại Việt Nam lên tới 64% (Luu Quỳnh Hương & cs., 2021), chủ yếu là Phenicol, Tetracycline và Sulfonamide, làm gia tăng nguy cơ kháng thuốc và ô nhiễm môi trường (Suyamud & cs., 2024).

Trong bối cảnh cần giải pháp thay thế bền vững, việc ứng dụng tinh dầu thảo dược bản địa được xem là triển vọng nhờ chứa quercetin, flavonoid, tannin và lecithin có đặc tính chống oxy hóa, giải độc và kháng khuẩn (Gruber & cs., 2025). Một số nghiên cứu cho thấy tinh dầu hạt thì là đen (*Nigella sativa*) bổ sung 1% giúp giảm 12,5% tỷ lệ chết cá rô phi nhiễm *S. agalactiae* (Korsi & cs., 2024); tinh dầu lá *P. amboinicus* giàu carvacrol (> 50%) ức chế mạnh *A. hydrophila* (Silva & cs., 2024); tinh dầu quế (*Cinnamomum cassia*) cải thiện tăng trưởng và tăng sức đề kháng ở cá mè bạc (Bandeira & cs., 2022). Gần đây, tinh dầu rau kinh giới (*Elsholtzia ciliata*) được quan tâm nhờ chứa thymol, carvacrol và p-cymene đã thử nghiệm ức chế *S. aureus* và *E. coli* với MIC thấp (Li & cs., 2021). Tại Việt Nam, dịch chiết rau kinh giới đã được chứng minh hiệu quả phòng bệnh gan thận mủ và cải thiện tăng trưởng cá tra (Trần Thị Phương Dung & cs., 2022; 2024), song vẫn thiếu dữ liệu MIC trên các chủng vi khuẩn khác cũng như so sánh các phương pháp chiết khác nhau. Trong nghiên cứu này, tinh dầu rau kinh giới được chiết bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước có hỗ trợ vi sóng mục tiêu nhằm đánh giá hoạt tính kháng khuẩn trên các chủng vi khuẩn gây bệnh trên cá nuôi nước ngọt ở Việt Nam. Bên cạnh đó, xác định giá trị MIC *in vitro* và kiểm chứng các thành phần hoá học của tinh dầu có thể làm phụ gia thay thế một phần kháng sinh trong nuôi thủy sản. Kết quả kỳ vọng gợi mở tiềm năng ứng dụng tinh dầu rau kinh giới thông qua bổ sung vào khẩu phần ăn để tăng sức đề kháng và phòng bệnh cho cá.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Bột rau kinh giới: rau kinh giới được thu hoạch tại xã Vĩnh Tân, Thị Xã Tân Uyên, tỉnh Bình Dương được nhặt lấy lá, sấy khô ở 50°C sau 8 giờ mang đi xay bằng máy chuyên dụng (TrueOEM-XB304, Trung Quốc) để thành bột đạt ẩm độ < 10%.

Chủng vi khuẩn: Sử dụng 3 chủng vi khuẩn gây bệnh trên cá đã được phân lập và lưu trữ tại Phòng Thí nghiệm Bệnh học Thủy sản, Khoa Thủy sản trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh gồm: Ecd20 (*E. ictaluri*-ATCC 33202) từ cá tra bệnh gan thận mủ, Svb2 (*S. agalactiae*-ATCC 13813) từ cá rô phi bị bệnh lồi mắt, Att1 (*A. hydrophila* - DSM 30187) từ cá tra bị xuất huyết, mòn đuôi.

Môi trường, hoá chất: Tryptone Soy agar (TSA), Tryptone Soy Broth (TSB), Sodium Chloride (NaCl), kháng sinh bột ciprofloxacin, thuốc thử resazurin, Dimethyl Sulfoxide (DMSO), dung dịch độ đục chuẩn Mcfarland 0.5.

Địa điểm: Mẫu được phân tích và nghiên cứu tại Phòng Thí nghiệm Bệnh học Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 5 đến tháng 8 năm 2025

### 2.2. Thiết bị

Hệ thống bình cầu chưng cất lôi cuốn hơi nước

Máy vi sóng

Cân phân tích, cân kỹ thuật

Máy sắc khí khối phổ (GC-MS).

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1. Tách chiết tinh dầu

Khoảng 100g bột rau kinh giới khô (ẩm độ 8,6%) xay nhuyễn được trộn với nước theo tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:7 (w/v) (Trần Thanh Quỳnh Anh & Võ Thị Thu Hằng, 2022). Hỗn hợp được cho vào bình cầu, đậy kín và xử lý vi sóng ở công suất 500W trong 2, 4, 6 và 8 phút để xác định thời gian vi sóng tối ưu cho hoạt tính

kháng khuẩn (Rezvanpanah & cs., 2011; Liu & cs., 2018). Sau đó, mẫu được chưng cất bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước cho đến khi đạt điểm sôi. Hơi nước mang tinh dầu được ngưng tụ qua sinh hàn và thu vào bình chứa. Quá trình chưng cất kéo dài 90 phút kể từ khi xuất hiện nước mang tinh dầu (Liu & cs., 2018). Tinh dầu được tách bằng phễu chiết, loại bỏ phần nước, tiếp tục sử dụng pipet chuyển sang lọ tối màu và bảo quản ở 4°C cho các thí nghiệm tiếp theo.

### **2.3.2. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu rau kinh giới**

Thí nghiệm đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu kinh giới dựa trên đường kính vòng kháng khuẩn được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên (4 × 3) gồm 4 mức thời gian vi sóng xử lý nguyên liệu để ly trích tinh dầu và 3 nồng độ khác nhau: 5, 10, 15%. Biến phụ thuộc là đường kính kháng khuẩn với 12 nghiệm thức là tổ hợp giữa các mốc thời gian vi sóng và nồng độ tinh dầu. Thí nghiệm được lặp lại ba lần cho mỗi chủng.

Các chủng vi khuẩn được nuôi trên thạch TSA 24 giờ ở 30°C trước khi thử nghiệm. Huyền phù vi khuẩn được chuẩn hóa theo McFarland 0,5 và dàn đều 0,1ml lên bề mặt thạch. Trên mỗi đĩa, đặt giấy lọc 6mm, nhỏ 20μl tinh dầu pha loãng trong DMSO ở nồng độ 5%, 10% và 15%. Tiếp tục nhỏ 20μl Ciprofloxacin (0,25 mg/ml) được dùng làm đối chứng dương, trong khi DMSO làm đối chứng âm với thể tích tương đương. Sau khi để yên 30 phút cho tinh dầu khuếch tán vào thạch, các đĩa được ủ ở 30°C trong 24 giờ. Đường kính vùng ức chế được đo bằng công thức:  $r = D - d$  (mm), trong đó D là đường kính vòng kháng khuẩn và d là đường kính giấy lọc (6mm) (Bagul & Sivakumar, 2016).

### **2.3.3. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC (minimal inhibitory concentration)**

Thí nghiệm được tiến hành bằng phương pháp pha loãng trên vi giếng (Elshikh & cs., 2016). Nồng độ tinh dầu chọn từ thí nghiệm 2.3.2 có vòng kháng khuẩn  $r \geq 10$ mm (David & cs., 1971). Trong dãy giếng 96 well (G1-G12), hút 50μl tinh dầu trộn với 50μl môi trường TSB, tiến hành pha loãng liên tiếp 1:1 để thu 10 nồng

độ. Sau đó, thêm 10μl huyền phù vi khuẩn ( $10^7$  CFU/ml) vào mỗi giếng. Đối chứng âm chỉ chứa DMSO, đối chứng dương gồm vi khuẩn trong TSB. Thí nghiệm sẽ được lặp lại hai lần cho mỗi chủng vi khuẩn trong dãy giếng. Các giếng được ủ ở 30°C trong 24 giờ, sau đó nhỏ 20μl resazurin 0,01% và đọc kết quả sau 1 giờ: màu xanh - không có vi khuẩn, màu hồng - vi khuẩn còn sống (Elshikh & cs., 2016). MIC được xác định tại nồng độ thấp nhất có giếng màu xanh, không còn sự phát triển vi khuẩn.

### **2.3.4. Phân tích thành phần hoá học tinh dầu rau kinh giới**

Chọn mẫu tinh dầu kinh giới được xử lý vi sóng cho kết quả tính kháng khuẩn tốt nhất được phân tích bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ GC - MS (Gas Chromatography - Mass Spectrometry) tại Viện Công nghệ sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ.

### **2.3.5. Phương pháp thống kê**

Dữ liệu được phân tích phương sai (ANOVA) hai nhân tố (SPSS v.26) để đánh giá ảnh hưởng của thời gian vi sóng và nồng độ tinh dầu, cũng như sự tương tác giữa chúng, đối với đường kính vòng kháng khuẩn. Trong trường hợp cần thiết, ANOVA một nhân tố được dùng để so sánh sự khác biệt giữa các nồng độ trong cùng một thời gian hoặc giữa các thời gian trong cùng một nồng độ. Kiểm định Levene được sử dụng để kiểm tra tính đồng nhất phương sai và so sánh hậu nghiệm được thực hiện bằng phép Tukey hoặc Bonferroni ( $P < 0,05$ ).

## **3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

### **3.1. Kết quả hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu kinh giới bằng phương pháp đĩa khuếch tán**

Kết quả cho thấy cả nồng độ tinh dầu và thời gian xử lý vi sóng đều ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) đến đường kính vòng kháng khuẩn (Bảng 1). Trong đó, vi khuẩn Ecd20 (*E. ictaluri*) rất nhạy với tinh dầu kinh giới, với vòng kháng khuẩn 10-31mm, thuộc mức mạnh (10-20mm) đến rất mạnh ( $> 20$ mm) (David &

Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu rau kinh giới (*Elsholtzia ciliata*) lên một số chủng vi khuẩn gây bệnh trên cá nuôi nước ngọt

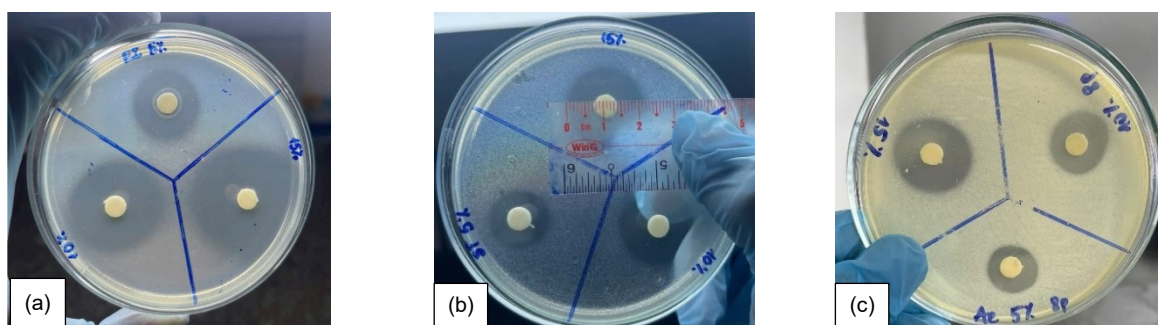
cs., 1971). Tinh dầu cũng cho hiệu quả rõ trên Att1(*A. hydrophila*:10-18mm) và Sv2 (*S. agalactiae*: 13-17mm) khi xử lý vi sóng 8 phút ở nồng độ 10-15%. Nhìn chung, đường kính kháng khuẩn tăng đáng kể và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở nồng độ cao và thời gian vi sóng dài hơn (Bảng 1, Hình 1). Đặc biệt, có sự tương tác có ý nghĩa ( $P < 0,05$ ) giữa thời gian vi sóng và nồng độ tinh dầu, khi tăng đồng thời hai yếu tố thì hiệu quả kháng khuẩn cũng tăng theo. Tuy nhiên, nếu thời gian vi sóng quá dài có thể làm giảm chất lượng tinh dầu, mất hoạt chất có lợi do

bay hơi hoặc bị huỷ bởi nhiệt (Maryam & cs., 2018). Một số nghiên cứu trước ghi nhận tinh dầu kinh giới chiết bằng hơi nước truyền thống có hoạt tính kháng khuẩn kém hơn trên *E. coli*, *Salmonella* ( $r = 13\text{mm}$ ) (Trần Thanh Quỳnh Anh & Võ Thị Thu Hằng, 2022), điều này cũng được ghi nhận trên *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* (Li & cs., 2023). Ngược lại, tinh dầu chiết bằng vi sóng cho hiệu quả kháng khuẩn và kháng nấm mạnh, ví dụ từ cây cỏ nhện (Joukar & cs., 2024) hoặc hạt đậu khấu (Mande & Sekar, 2021).

**Bảng 1. Kết quả đường kính kháng khuẩn (mm) của tinh dầu kinh giới ở các thời gian xử lý vi sóng khác nhau**

| Vi khuẩn <i>A. hydrophila</i> -Att1   | Thời gian vi sóng (phút) | Nồng độ tinh dầu (%)       |                                          |                                          |
|---------------------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|
|                                       |                          | 5                          | 10                                       | 15                                       |
|                                       | 2                        | 5,33 <sup>aA</sup> ± 0,33  | 7,00 <sup>aA</sup> ± 0,58                | 9,00 <sup>bA</sup> ± 0,00                |
|                                       | 4                        | 6,33 <sup>aA</sup> ± 0,67  | 7,67 <sup>aA</sup> ± 0,33                | 12,33 <sup>bB</sup> ± 0,33               |
|                                       | 6                        | 7,33 <sup>aA</sup> ± 0,33  | 10,00 <sup>aB</sup> ± 0,58               | 15,67 <sup>bC</sup> ± 0,88               |
|                                       | 8                        | 7,33 <sup>aA</sup> ± 0,67  | 10,00 <sup>aB</sup> ± 0,00               | 18,00 <sup>bC</sup> ± 1,00               |
| Ảnh hưởng 1 yếu tố                    | P <0,05                  | P <0,05                    |                                          |                                          |
| Ảnh hưởng 2 yếu tố                    |                          | P <0,05                    |                                          |                                          |
| Vi khuẩn <i>E. ictaluri</i> (Ecb20)   | Thời gian vi sóng (phút) | Nồng độ tinh dầu (%)       |                                          |                                          |
|                                       |                          | 5                          | 10                                       | 15                                       |
|                                       | 2                        | 10,67 <sup>aA</sup> ± 0,88 | 15,67 <sup>bA</sup> ± 0,67               | 23,67 <sup>cA</sup> ± 0,33               |
|                                       | 4                        | 10,6 <sup>aA</sup> ± 0,33  | 16,67 <sup>bA</sup> ± 0,67               | 25,67 <sup>cA</sup> ± 0,33               |
|                                       | 6                        | 13,67 <sup>aB</sup> ± 0,33 | 21,67 <sup>bA</sup> ± 1,45               | 29,33 <sup>cB</sup> ± 0,33               |
|                                       | 8                        | 13,67 <sup>aB</sup> ± 0,33 | 28,00 <sup>bB</sup> ± 0,00 <sup>bB</sup> | 31,67 <sup>cB</sup> ± 1,33               |
| Ảnh hưởng 1 yếu tố                    | P <0,05                  | P <0,05                    |                                          |                                          |
| Ảnh hưởng 2 yếu tố                    |                          | P <0,05                    |                                          |                                          |
| Vi khuẩn Sv2 ( <i>S. agalactiae</i> ) | Thời gian vi sóng (phút) | Nồng độ tinh dầu (%)       |                                          |                                          |
|                                       |                          | 5                          | 10                                       | 15                                       |
|                                       | 2                        | 5,0 <sup>aA</sup> ± 0,00   | 8,67 <sup>bA</sup> ± 0,88                | 10,00 <sup>bA</sup> ± 0,58               |
|                                       | 4                        | 5,3 <sup>aA</sup> ± 0,33   | 8,3 <sup>aA</sup> ± 0,33                 | 12,67 <sup>bAB</sup> ± 1,45 <sup>b</sup> |
|                                       | 6                        | 8,00 <sup>aB</sup> ± 0,58  | 9,3 <sup>aA</sup> ± 0,67                 | 15,67 <sup>bB</sup> ± 0,88               |
|                                       | 8                        | 8,00 <sup>aB</sup> ± 0,00  | 13,67 <sup>bB</sup> ± 0,33               | 17,00 <sup>cB</sup> ± 1,00               |
| Ảnh hưởng 1 yếu tố                    | P <0,05                  | P <0,05                    |                                          |                                          |
| Ảnh hưởng 2 yếu tố                    |                          | P <0,05                    |                                          |                                          |

Ghi chú: Giá trị thể hiện dưới dạng Mean ± SE. Trong cùng một hàng, các chữ cái mũ khác nhau (a, b, c) biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nồng độ tinh dầu ở cùng thời gian vi sóng ( $P < 0,05$ ). Trong cùng một cột, các chữ cái mũ in hoa khác nhau (A, B) biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa giữa các thời gian vi sóng ở cùng nồng độ tinh dầu ( $P < 0,05$ ).



**Hình 1. Đường kính vòng kháng khuẩn của tinh dầu kinh giới xử lý ở 8 phút vi sóng, tác dụng lên vi khuẩn *E. ictaluri* (a), *S. agalactiae* (b), *A. hydrophila* (c)**

Theo Tăng Phúc Khang & cs. (2023), rau kinh giới chứa nhiều hợp chất sinh học như elsholtzia ketone, piperitenone, limonene và  $\beta$ -caryophyllene, có hoạt tính mạnh với cả vi khuẩn Gram âm và Gram dương. Lê Thư Ngọc Anh & cs. (2025) chứng minh chiết xuất tinh dầu bằng vi sóng tạo ra nhiều hợp chất kháng khuẩn hơn so với phương pháp truyền thống. Những hợp chất này có thể xâm nhập màng lipid kép, phá vỡ cấu trúc màng, gây rò rỉ ion và protein nội bào, dẫn đến chết tế bào (Li & cs., 2023). Citral từ tinh dầu còn gây stress oxy hóa, tổn thương DNA thông qua ROS, làm gián đoạn nhân đôi, ức chế enzyme chuyển hóa năng lượng của vi khuẩn (Chueca & cs., 2017).

### 3.2. Kết quả xác định MIC (Minimal inhibition concentration) của tinh dầu rau kinh giới

MIC được xác định với tinh dầu kinh giới chiết ở vi sóng 8 phút, cho vòng kháng khuẩn lớn nhất. Kết quả (Bảng 2, Hình 2) cho thấy Ecb20 (*E. ictaluri*) nhạy cảm nhất với MIC 0,39 mg/ml - tác nhân chính gây bệnh gan thận mủ trên cá tra, kể đến là Svb2 (*S. agalactiae*), MIC 0,78 mg/ml, gây bệnh Streptococcosis trên cá rô phi và nhiều loài cá nước ngọt. Att1 (*A. hydrophila*) có MIC (1,56 mg/ml) cao hơn hai chủng còn lại, đây là vi khuẩn phổ biến trên nhiều loài cá nhưng vẫn bị ức chế. Như vậy, tinh dầu kinh giới thể hiện khả năng kháng khuẩn đáng kể trên các chủng gây bệnh quan trọng, gợi mở tiềm năng ứng dụng phòng trị bệnh trên cá nuôi.

Các nghiên cứu cho thấy, khi tinh dầu ly trích có hỗ trợ vi sóng sẽ giúp tăng thành phần hoạt chất kháng khuẩn như carbonyl, carvacrol, p-cymene, phellandrene giúp kháng khuẩn và kháng nấm khá tốt (Pudziuleviciute & cs., 2021). Nghiên cứu từ Ngô Thị Cẩm Quyên & cs. (2020) cũng cho rằng phương pháp chưng cất thủy nhiệt có sự hỗ trợ của vi sóng (MAHD) cung cấp một loại tinh dầu có hàm lượng hợp chất cao hơn và tiết kiệm chi phí đáng kể, thời gian, năng lượng, nguyên liệu thực vật. Một số nghiên cứu từ tinh dầu kinh giới cho kết quả MIC khá thấp trên một số loài vi khuẩn gây bệnh như Li & cs. (2023) xác định giá trị MIC 2  $\mu$ g/ml của kinh giới ức chế một số chủng vi khuẩn đường miệng như *Fusobacterium nucleatum* và *Porphyromonas gingivalis*. Ngoài ra, kinh giới có MIC đối với vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, *S. aureus* kháng Methicillin và *Escherichia coli* lần lượt là 0,39 mg/ml; 3,12 mg/ml và 1,56 mg/ml (Li & cs., 2021). Một số loại tinh dầu khác từ báo cáo trước đây như tinh dầu lá húng chanh (*Plectranthus amboinicus*) ly trích từ vi sóng cho MIC 400-500  $\mu$ l/l ức chế nấm *Fusarium oxysporum*. Tinh dầu từ hạt rau mùi cho hiệu quả MIC trên *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Aspergillus niger* lần lượt là 16, 2, 128 và 16 mg/ml (Ghazanfari & cs., 2020). Tinh dầu kinh giới có tiềm năng ứng dụng trong phòng trị bệnh cho cá nhờ đặc tính kháng khuẩn mạnh, tuy nhiên tính an toàn khi bổ sung vào khẩu phần ăn vẫn cần được cân nhắc. Một số nghiên cứu trước đây

Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu rau kinh giới (*Elsholtzia ciliata*) lên một số chủng vi khuẩn gây bệnh trên cá nuôi nước ngọt

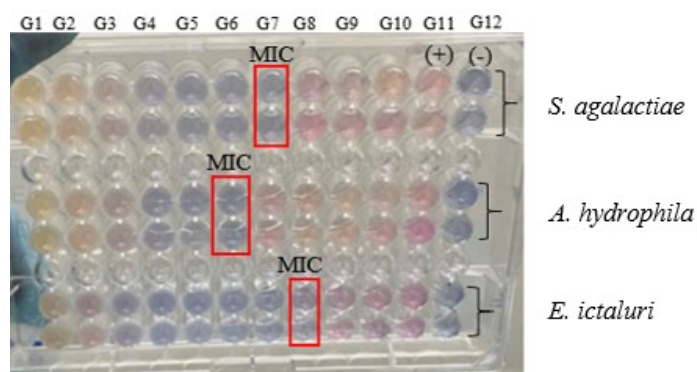
cho thấy tinh dầu thảo mộc khi sử dụng ở liều thấp (< 2% khẩu phần) có thể cải thiện miễn dịch và tăng trưởng mà không gây độc tính (Hoa & cs., 2023; de Souza & cs., 2024). Tuy nhiên, liều cao hơn có nguy cơ ảnh hưởng đến khả năng ăn và gây stress chuyển hóa, do đó cần thêm thử nghiệm *in vivo* để xác định mức an toàn tối ưu.

### 3.3. Kết quả thành phần hoá học của tinh dầu rau kinh giới

Mẫu tinh dầu nguyên chất ở thời gian xử lý vi sóng 8 phút cho hoạt tính kháng khuẩn tốt nhất trên cả 3 chủng vi khuẩn sẽ được tiếp tục gửi phân tích thành phần hoá học trên máy sắc ký khí ghép khối phổ GC-MS tại Viện Công nghệ sinh học và Thực phẩm tại Cần Thơ. Kết quả được trình bày ở hình 3, cho thấy tinh dầu chứa tổng cộng 27 hợp chất. Trong đó, một số hợp chất chiếm tỷ lệ cao bao gồm Linoleic acid (26,64%), Oleic acid (16,97%), 3-Hexen-2-one (10,84%), Citral (alpha + beta, 10,9%), beta-cis-Ocimene (7,38%) và beta-Caryophyllene (7,56%) (Bảng 3).

Kết quả này chứng tỏ tinh dầu kinh giới chứa nhiều hợp chất kháng khuẩn quan trọng

như Citral, Beta-cis-Ocimene,  $\beta$ -Caryophyllene và acid béo omega. Linoleic acid và oleic acid là acid béo không no omega-6 và omega-9, có tác dụng kháng viêm, chống oxy hóa và tăng cường miễn dịch ở cá (Wand & cs., 2025). Trong tinh dầu kinh giới, Citral (10,9%) là hợp chất bay hơi quan trọng, có khả năng kháng viêm, kháng nấm, khử mùi và ức chế vi khuẩn gây bệnh thủy sản như *Vibrio alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* và *Streptococcus agalactiae* qua cơ chế phá vỡ màng tế bào (Liu & cs., 2020; Cao & cs., 2021). Ngoài ra, 3-Hexen-2-one tạo hương thơm đặc trưng và giúp giảm stress (Yamada & cs., 2015). Beta-cis-Ocimene và  $\beta$ -Caryophyllene cũng có hoạt tính kháng khuẩn, virus và nấm (Dahham & cs., 2015; Jha & cs., 2021). Trong thủy sản, các hợp chất này hỗ trợ giảm stress trên tôm càng xanh (de Souza Valente & cs., 2024), ức chế nhiều vi khuẩn như *Edwardsiella* spp., *Vibrio* spp., *Aeromonas* spp., *Flavobacterium* spp., *Pseudomonas* spp. và *Streptococcus* spp. (Wei & cs., 2013). Hỗn hợp tinh dầu Phyto AquaBiotic (PAB) chứa  $\beta$ -Caryophyllene và Ocimene còn làm giảm tỷ lệ chết của tôm khi nhiễm *V. parahaemolyticus* (Hoa & cs., 2023).



Ghi chú: G1-G10 nồng độ lần lượt: 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; 0,78; 0,39; 0,19; 0,098 mg/ml. G11: đối chứng dương, G12: đối chứng âm.

**Hình 2. Kết quả thử nghiệm xác định MIC của tinh dầu kinh giới ly trích ở 8 phút vi sóng**

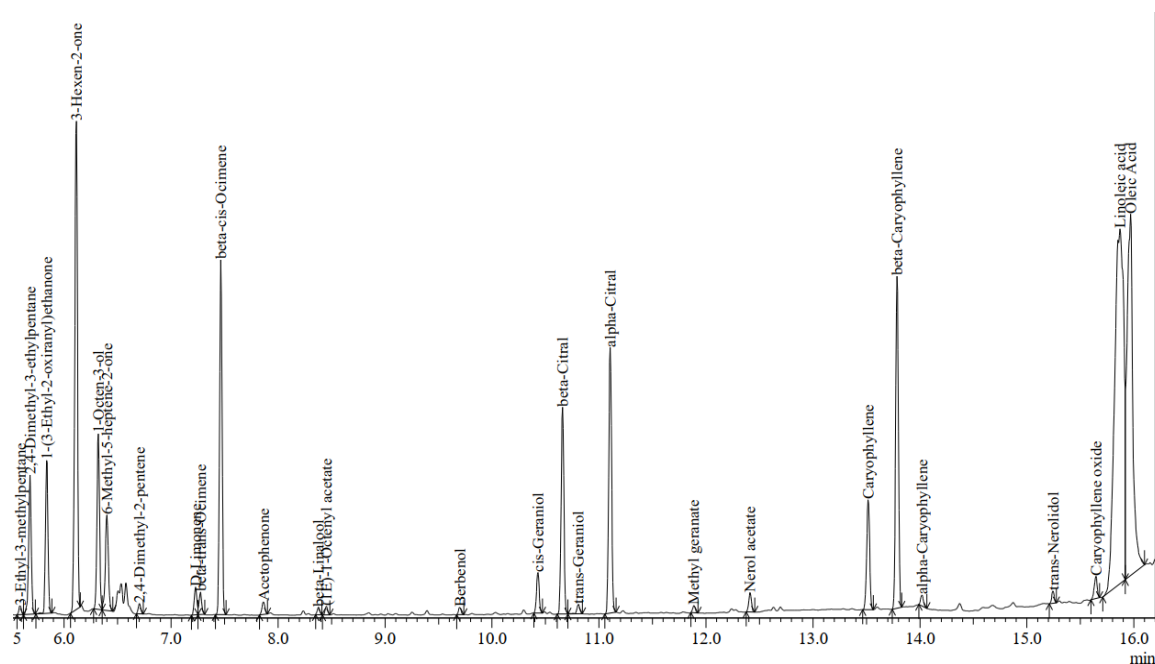
**Bảng 2. Giá trị MIC của tinh dầu kinh giới trên các chủng vi khuẩn gây bệnh**

| Chủng vi khuẩn thử nghiệm     | Giá trị MIC (mg/ml) |
|-------------------------------|---------------------|
| Ecb20 ( <i>E. ictaluri</i> )  | 0,39                |
| Svb2 ( <i>S. agalactiae</i> ) | 0,78                |
| Att1 ( <i>A. hydrophila</i> ) | 1,56                |

**Bảng 3. Danh mục các hợp chất có hàm lượng cao trong tinh dầu kinh giới**

| Tên thành phần                 | % diện tích peak |
|--------------------------------|------------------|
| Linoleic acid                  | 26,64            |
| Oleic acid                     | 16,97            |
| 3-Hexen-2-one                  | 10,84            |
| Citral (alpha + beta)          | 10,90            |
| Beta-cis-Ocimene               | 7,38             |
| Beta-Caryophyllene             | 7,56             |
| 1-(3-ethyl-2-oxiranyl) ethanol | 3,13             |
| 1-Octen-3-ol                   | 3,69             |
| 2,4 Dimethyl-3-ethylpentane    | 2,94             |
| Caryophyllene                  | 2,67             |
| Cis-Geraniol                   | 0,89             |
| D-Limonene                     | 0,6              |
| Caryophyllene oxide            | 0,53             |
| Linalool                       | 0,51             |
| Nerol acetate                  | 0,43             |
| Beta trans Ocimene             | 0,47             |
| Acetophenone                   | 0,30             |
| Trans-Nerolidol                | 0,24             |
| Alpha-Caryophyllene            | 0,25             |

Ghi chú: Kết quả (%) diện tích là tỷ lệ (%) diện tích peak thành phần trên sắc ký đồ GC-MS so với tổng diện tích peak các chất có liên quan trên sắc ký đồ đã được chọn.



**Hình 3. Sắc ký đồ GS-MS của tinh dầu rau kinh giới**



Nghiên cứu của Nguyễn Đức Duy & cs. (2022) ghi nhận limonene 12,58%,  $\beta$ -Ocimene 19,25% và  $\beta$ -Farnesene 14,17% ở mẫu Phú Thọ. Trong khi đó, Trần Thị Quỳnh Anh & Võ Thị Thu Hằng (2022) phát hiện Citral 23,65%, Isocaryophyllene 22,08% và trans-Caryophyllene 10,95% ở mẫu Huế. Một số mẫu tinh dầu thực vật khác cũng giàu hợp chất đặc trưng như húng quế chứa Linalool 61% (Hussian & cs., 2008), tía tô có Perillaldehyde 82% (Wei & cs., 2021), vỏ bưởi chứa D-limonene 55-97% (Phạm Thành Trọng & cs., 2021). Điều này cho thấy thành phần tinh dầu phụ thuộc loài, điều kiện sinh thái và phương pháp chiết xuất. Trong nuôi trồng thủy sản, sự đa dạng thành phần này mở ra tiềm năng sử dụng tinh dầu làm chất thay thế kháng sinh hoặc phụ gia thức ăn nhằm tăng sức đề kháng cho cá. Nhìn chung, nghiên cứu của chúng tôi chỉ dừng lại ở một số loài vi khuẩn và điều kiện chiết xuất chưa mở rộng, do đó cần khảo sát thêm và chuẩn hóa quy trình để đảm bảo tính ổn định và khả năng ứng dụng rộng rãi.

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu chỉ ra rằng phương pháp chưng cất tinh dầu kinh giới có sự hỗ trợ vi sóng trong thời gian 8 phút cho kết quả kháng khuẩn tốt nhất trên 3 chủng vi khuẩn gây bệnh trên cá bao gồm Ecb20 (*E. ictaluri*), Svb2 (*S. agalactiae*) và Att1 (*A. hydrophila*). Đồng thời, kết quả xác định được một số hợp chất chủ đạo như Linoleic acid, Oleic acid và Citral. Kết quả này gợi mở tiềm năng ứng dụng tinh dầu kinh giới như một tác nhân tự nhiên trong phòng trị bệnh vi khuẩn ở cá nuôi nước ngọt. Tuy nhiên, nghiên cứu mới thể hiện ở mức *in vitro*, chưa đánh giá độc tính và ảnh hưởng thực tế trên cá, do đó cần thêm các khảo sát *in vivo* để khẳng định khả năng ứng dụng trong tương lai.

#### LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn sự đóng góp trong nghiên cứu từ những sinh viên tại Phòng thí nghiệm Bệnh học thủy sản, khoa Thủy sản, Đại học Nông Lâm TP HCM và sự tài trợ kinh phí từ trường Đại học Nông Lâm TP HCM với mã số đề tài cơ sở CS-SV25-TS- 06.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Akhbari M., Masoum S., Aghababaei F. & Hamed S. (2018). Optimization of microwave assisted extraction of essential oils from Iranian *Rosmarinus officinalis* L. using RSM. *Journal of food science and technology*. 55(6): 2197-2207.
- Bagul U.S. & Sivakumar S.M. (2016). Antibiotic susceptibility testing: A review on current practices. *International Journal of Pharmacy*. 6(3): 11-17.
- Bandeira Junior, G., Bianchini, A. E., de Freitas Souza, C., Descovi, S. N., da Silva Fernandes, L., de Lima Silva, L., ... & Baldisserotto, B. (2022). The use of cinnamon essential oils in aquaculture: antibacterial, anesthetic, growth-promoting, and antioxidant effects. *Fishes*. 7(3): 133.
- Cao J., Liu H., Wang Y., He X., Jiang H., Yao J., Xia F., Zhao Y & Chen, X. (2021). Antimicrobial and antivirulence efficacies of citral against foodborne pathogen *Vibrio parahaemolyticus* RIMD2210633. *Food Control*. 120: 107-507.
- Chueca B., Pérez-Sáez E., Pagán R. & García-Gonzalo D. (2017). Global transcriptional response of *Escherichia coli* MG1655 cells exposed to the oxygenated monoterpenes citral and carvacrol. *International Journal of Food Microbiology*. 257: 49-57.
- Dahham S.S., Tabana Y.M., Iqbal M.A., Ahamed M.B., Ezzat M.O., Majid A.S. & Majid A.M. (2015). The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene  $\alpha$ -caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna*. *Molecules*. 20(7): 11808-11829.
- David W.W. & Stout T.R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. I. Factors influencing variability and error. *Apply Microbiology*. 22: 659-665.
- de Souza Valente C., dos Santos G., Becker A.G., Heinzmann B.M., Caron B.O., Baldisserotto B. & Ballester E.L. C. (2024). Anaesthetic effect of clove basil (*Ocimum gratissimum* L.) essential oil on the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*, De Man 1879) exposed to different water pHs. *Aquaculture International*. 32(2): 1493-1505.
- Elshikh M., Ahmed S., Funston S., Dunlop P., McGaw M., Marchant R. & Banat I.M. (2016). Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. *Biotechnology Letters*. 38(6): 1015-1019.
- Erickson V.I., Dung T.T., Hounmanou Y.M.G., Phu T.M. & Dalsgaard A. (2024). Genomic Insights into *Edwardsiella ictaluri*: Molecular epidemiology and antimicrobial resistance in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*)



- aquaculture in Vietnam. *Microorganisms*. 12(6): 1182.
- Gruber C., Ocelova V., Kesselring J.C. & Wein S. (2025). Phytogetic feed additives as a sustainable alternative to antibiotics: enhancing growth and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animals*. 15(3): 380.
- Hoa T.T.T., Fagnon M.S., Thy D.T.M., Chabrilat T., Trung N.B. & Kerros S. (2023). Growth performance and disease resistance against *Vibrio parahaemolyticus* of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed essential oil blend (Phyto AquaBiotic). *Animals*. 13(21): 3320.
- Hussain A.I., Anwar F., Sherazi S.T.H. & Przybylski R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food chemistry*. 108(3): 986-995.
- Janadri S., Ranjith Kumar R., Manjunatha P.M., Sharma U.R., Vada S., Madhu M.V. & Angadi P.P. (2025). A systemic review of Beta-Caryophyllene. *Defence*. 65.
- Jha N.K., Sharma C., Hashiesh H.M., Arunachalam S., Meeran M.N., Javed H., Patil C.R., Goyal S.N. & Ojha S. (2021).  $\beta$ -Caryophyllene, a natural dietary CB2 receptor selective cannabinoid can be a candidate to target the trinity of infection, immunity, and inflammation in Covid-19. *Frontiers in pharmacology*. 12: 590201.
- Joukar M., Larijani K., Farjam M.H., Givianrad M.H. & Nematollahi F. (2024). A comparative study of microwave-assisted and conventional hydro distillation methods for extracting essential oils and evaluating their antimicrobial activity from *cleome khorassanica*, novel research. *Revue roumaine de chimie*. 69(1-2): 41-48.
- Korni F.M., Mohammed A.N. & Moawad U.K. (2023). Using some natural essential oils and their nano-emulsions for ammonia management, anti-stress and prevention of streptococcosis in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture International*. 31(4): 2179-2198.
- Le N.A.T., Tran A.K., Dang H.V. & Duong H.T.G. (2025). Evaluating microwave-assisted extraction of *Elsholtzia cristata* essential oils: efficiency, chemical profile and antibacterial activity. *Current Microwave Chemistry*.
- Li Y.Q., Ren Y.S., Wang L.J., Ai J., Liang S., Zhang T.P., Liao M.C. & Li J. (2021). Preparation of nanoemulsion spray from *Moslae Herba* volatile oil and its antibacterial activity. *China Journal of Chinese Materia Medica*. 46: 4986-4992.
- Li F., Wang C., Xu J., Wang X., Cao M., Wang S., Zhang T., Xu Y., Wang J., Pan S. & Hu W. (2023). Evaluation of the antibacterial activity of *Elsholtzia ciliate* essential oil against halitosis-related *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis*. *Frontiers in Microbiology*. 14: 1219004.
- Liu B., Fu J., Zhu Y. & Chen P. (2018). Optimization of microwave-assisted extraction of essential oil from lavender using response surface methodology. *Journal of oleo Science*. 67(10): 1327-1337.
- Liu H., Wang Y., Cao J., Jiang H., Yao J., Gong G., Chen X., Xu W. & He X. (2020). Antimicrobial activity and virulence attenuation of citral against the fish pathogen *Vibrio alginolyticus*. *Aquaculture*. 515: 734-578.
- Luu Tang Phuc Khang, Nguyen Huu Tai, Cao Van Len, Nguyen Ngoc Thu Phuong, Nguyen Hoang Viet, Truong Vinh, Phan Thanh Bach, Tran Thi Phuong Dung & Nguyen Xuan Tong (2023). Chemical composition of *Elsholtzia ciliata* (thunb.) Hyland essential oil in Vietnam with multiple biological utilities: a survey on antioxidant, antimicrobial, anticancer activities. *Journal of Biology*. 45(3).
- Luu Quynh Huong, Nguyen Thi Bich Thuy, Nguyen Thi Lan Anh, Do Thi Thu Thuy, Dao Thi Ha Thanh & Pawin Padungtod. (2021). Antibiotics use in fish and shrimp farms in Vietnam. *Aquaculture Reports*. 20: 100711.
- Majolo C., Pilarski F., Chaves F.C.M., Bizzo H.R. & Chagas E.C. (2018). Antimicrobial activity of some essential oils against *Streptococcus agalactiae*, an important pathogen for fish farming in Brazil. *Journal of Essential Oil Research*. 30(5): 388-397
- Marei G.I.K., Rabea E.I. & Badawy M.E. (2018). Preparation and characterizations of chitosan/citral nanoemulsions and their antimicrobial activity. *Applied Food Biotechnology*. 5(2): 69-78.
- Ngô Thị Cẩm Quyên, Trần Thiện Hiền, Trần Thị Kim Ngân, Nguyễn Anh Thư, Mai Huỳnh Cang & Nguyễn Tường Vân (2020). Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố đến hiệu suất tinh dầu bưởi thu được bằng phương pháp có sự hỗ trợ vi sóng. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. 3(1): 5.
- Nguyễn Đức Duy, Nguyễn Thị Kim Thuý, Mai Thị Như Trang, Ninh Khắc Bầy Vân, Quách Thị Thanh Vân, Quảng Cẩm Thuý & Bùi Thị Phương Thảo (2022). Thành phần hóa học của tinh dầu cây kinh giới (*Elsholtzia ciliata* (thunb.) Hyl.) trồng tại tỉnh Phú Thọ. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Trường Đại học Hùng Vương*. 27(2): 80-84.
- Osei-Obeng P., Kiirika L.M. & Nyende A.B. (2024). *In vitro* antifungal potential of citral and nanoencapsulated citral against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *African Journal of Biotechnology*. 23(4): 131-141.

Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu rau kinh giới (*Elsholtzia ciliata*) lên một số chủng vi khuẩn gây bệnh trên cá nuôi nước ngọt

- Phạm Thành Trọng, Trần Hoàng Thiện, Nguyễn Lê Hoàng Anh Duy, Nguyễn Hải Ngân, Lê Thị Ngọc Mỹ, Cao Hoàng Phương Anh & Nguyễn Hữu Phúc & Trĩ Kim Ngọc (2021). Thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu vỏ quả bưởi [*Citrus grandis* (L.) Osbeck] và phát thủ [*Citrus medica* L. Var. *Sarcodactylis* (noot.) Swingle]. Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô. 12: 227-237.
- Phan L.T., Bui T.M., Nguyen T.T., Gooley G.J., Ingram B.A., Nguyen H.V., Nguyen P.T & de Silva S.S. (2009). Current status of farming practices of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* in the Mekong Delta, Vietnam. *Aquaculture*. 296(3-4): 227-236.
- Pudziulyte L., Jakštas V., Ivanauskas L., Laukevičienė A., Ibe C.F.D., Kursvietienė L. & Bernatoniene J. (2018). Different extraction methods for phenolic and volatile compounds recovery from *Elsholtzia ciliata* fresh and dried herbal materials. *Industrial crops and products*. 120: 286-294.
- Rezvanpanah S., Rezaei K., Golmakani M.T. & Razavi S.H. (2011). Antibacterial properties and chemical characterization of the essential oils from summer savory extracted by microwave-assisted hydrodistillation. *Brazilian Journal of Microbiology*. 42: 1453-1462.
- Silva J., Vilar F.C., Lima G.A., Souza E.M., Dutra L.M., Almeida J.R., Rolim L., Lopes N.P. & Oliveira A.P. (2024). *Plectranthus amboinicus* Essential Oil Incorporated into Fish Feed Shows Strong Antimicrobial Activity against *Aeromonas hydrophila*, an Opportunistic Bacterium of Aquaculture. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 35: e-20230087.
- Suyamud B., Chen Y., Dong Z., Zhao C. & Hu J. (2024). Antimicrobial resistance in aquaculture: Occurrence and strategies in Southeast Asia. *Science of the Total Environment*. 907: 167942.
- Trần Thanh Quỳnh Anh & Võ Thị Thu Hằng (2022). Nghiên cứu thành phần hóa học và khả năng kháng khuẩn của tinh dầu rau kinh giới (*Elsholtzia ciliata*). Tạp chí Khoa học và Công nghệ nông nghiệp Trường Đại học Nông Lâm Huế. 6(1): 2881-2890.
- Trần Thị Phương Dung, Lương Thị Lê Thọ, Nguyễn Xuân Tông & Lưu Tăng Phúc Khang (2024). Effects of Vietnamese balm (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland) essential oil on growth performance of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) juvenile stage. *Scientific Journal of Fisheries & Marine/Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 16(2).
- Trần Thị Phương Dung, Lưu Tăng Phúc Khang, Huỳnh Thị Trúc Quân & Nguyễn Thị Trúc Quyên (2022). Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết tỏi (*Allium sativum*) và kinh giới (*Elsholtzia ciliata*) lên vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). Tạp chí Khoa học. 19(9): 1472.
- Từ Thanh Dung, Lê Minh Khôi, Nguyễn Bảo Trung & Bùi Thị Bích Hằng. (2022). Giải pháp phòng chống dịch bệnh truyền nhiễm trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ. 58: 65-78.
- Vasep (2025). Xuất khẩu cá rô phi Việt Nam: Bài toán đầu tư để đa dạng hoá sản phẩm cá thịt trắng. Truy cập từ <https://vasep.com.vn/san-pham-xuat-khau/ca-tra/ca-thit-trang/xuat-khau-ca-ro-phi-viet-nam-bai-toan-dau-tu-de-da-dang-hoa-san-pham-ca-thit-trang-33055.html> ngày 11/6/2025.
- Wang Y., Jin J., Wu G., Wei W., Jin Q. & Wang X. (2025). Omega-9 monounsaturated fatty acids: a review of current scientific evidence of sources, metabolism, benefits, recommended intake, and edible safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 65(10): 1857-1877.
- Wei M.C., Wang C.S., Wei D.H. & Yang Y.C. (2021). Insights into the supercritical CO<sub>2</sub> extraction of perilla oil and its theoretical solubility. *Processes*. 9(2): 239.
- Yamada Y., Ohtani K., Imajo A., Izu H., Nakamura H. & Shiraishi K. (2015). Comparison of the neurotoxicities between volatile organic compounds and fragrant organic compounds on human neuroblastoma SK-N-SH cells and primary cultured rat neurons. *Toxicology Reports*. 2: 729-736.