

**NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH TÁCH CHIẾT TINH DẦU SẢ CHANH,
XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN HÓA HỌC, THẨM ĐÒ KHẢ NĂNG CHỐNG UNG THƯ
CỦA TINH DẦU SẢ CHANH TRỒNG TẠI XÃ SON HÙNG –
HUYỆN THANH SƠN- TỈNH PHÚ THỌ**

Đến tòa soạn 8-9-2018

Hoàng Thị Kim Vân, Hoàng Thị Lý, Trần Thị Thanh Thảo

Khoa Công nghệ kỹ thuật Hóa học, Trường Đại học Công nghiệp Việt Trì

Nguyễn Minh Quý, Đặng Ngọc Định, Vũ Thị Nha Trang, Nguyễn Thị Kim Thoa

Khoa Kỹ thuật Phân tích, Trường Đại học Công nghiệp Việt Trì

Nguyễn Hải Đăng

Trung tâm tiên tiến về Hóa sinh hữu cơ, Viện hóa sinh biển,

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Đinh Thị Thu Thủy

Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

SUMMARY

**STUDY ON THE EXTRACTION, CHEMICAL INVESTIGATION
AND CYTOTOXIC ACTIVITY EVALUATION OF ESSENTIAL OILS
OF LEMON GRASS GROWTH IN SON HUNG, THANH SON, PHU THO**

The steam distilled essential oils of Cymbopogon citratus collected in Son Hung, Thanh Son, Phu Tho were analyzed for physiochemical properties and chemical composition. The cytotoxic activity of the essential oils was evaluated against human hepatocarcinoma Hep3B cell line.

Key words: Lemongrass essential oil, chemical composition, cytotoxicity.

1. MỞ ĐẦU

- Cây sả chanh tên khoa học *Cymbopogon citratus* thuộc họ lúa Poaceae, có nguồn gốc ở vùng nhiệt đới và ôn đới ẩm. Cây sả chanh là loại cây có tinh dầu trong lá, được dùng làm gia vị và làm thuốc.

- Người ta sử dụng bẹ lá, lá, thân, rễ dùng để ướp nấu thực phẩm (cá, thịt,...). Lá sả chanh thường dùng để nấu nước gội đầu cho sạch gàu, trơn tóc, tạo mùi thơm.

- Ngoài ra khi trồng sả chanh với hệ rễ phong phú, sả chanh là cây giữ đất, phù đất, chống xói mòn ở nơi đất dốc, đất khô. Được dùng làm rau ăn, gia vị (nhân dân thường dùng ăn sống hoặc tẩm ướp cho thơm các món ăn), nước chấm.

- Trong vườn chỗ có bụi sả, rắn thường phải

tránh xa, người ta cho rằng vì sả có mùi thơm mà rắn rất kỵ.

- Theo tài liệu nước ngoài, ở Ấn Độ, sả chanh được dùng để làm thơm thức ăn, nước hãm lá sả để giải khát.

- Sả chanh còn được dùng để sản xuất tinh dầu. Năm 2012, nhóm tác giả Phùng Thị Ái Hữu đã chiết tách và xác định thành phần hóa học tinh dầu của cây sả chanh ở quận Cẩm Lệ - Đà Nẵng, đi từ nguyên liệu là củ sả và phương pháp sử dụng là chưng cất lôi cuốn hơi nước.

- Tuy nhiên các đề tài tập trung nghiên cứu nâng cao hiệu suất của tinh dầu và thành phần hóa học chưa có tài liệu nào nghiên cứu xác định thành phần hóa học và hoạt tính chống ung thư của tinh dầu sả chanh xã Sơn Hùng – Huyện Thanh Sơn – Tỉnh Phú Thọ vì vậy

chúng tôi tiến hành xác định thành phần hóa học và hoạt tính sinh học trên các dòng ung thư phổi và ung thư cổ tử cung.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chung cất lõi cuộn hơi nước

Nguyên liệu được cắt nhỏ, cho vào thiết bị chung cất lõi cuộn hơi nước, đun sôi đều, vừa phải, chung cất trong thời gian khoảng 0 đến 210 phút. Sau đó, tinh dầu được tách nước và làm khô bởi muối Na_2SO_4 khan, NaCl khan. Tinh dầu sau đó được lưu giữ ở 0-5 °C cho đến khi sử dụng.

2.2. Hiệu suất thu hồi

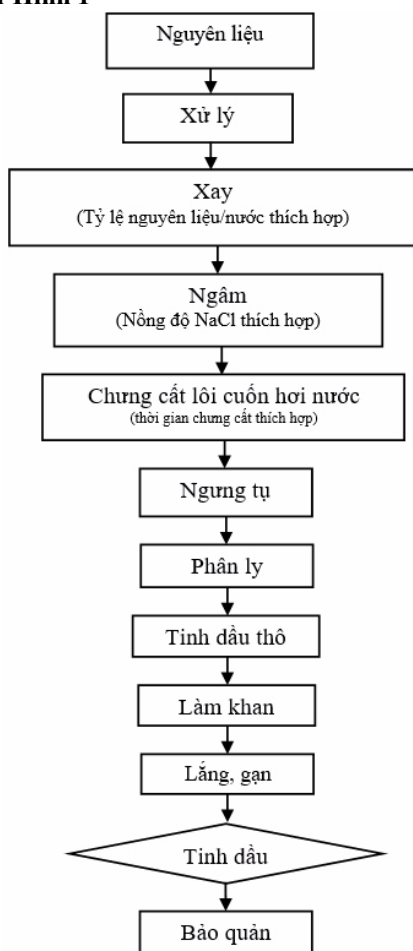
Hiệu suất thu hồi tinh dầu sả chanh được tính

theo công thức (1): $H = \frac{m_0}{m} \times 100\%$

Trong đó: H – Hiệu suất thu hồi tinh dầu (%); m_0 – khối lượng tinh dầu thu được (g); m – khối lượng nguyên liệu (g).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Quy trình chưng cất tinh dầu sả chanh như Hình 1



Hình 1. Quy trình chiết tách tinh dầu

- Thêm NaCl khan vào bình chứa tinh dầu thô, vừa thêm vừa khuấy đều cho đến khi quan sát thấy các tinh thể muối bắt đầu rời ra. - Lắng gạn- Thu tinh dầu

- Để lắng hỗn hợp trên. Cho phần tinh dầu đã làm khan bên trên chảy qua ống xi phông vào bình chứa sản phẩm.

- Bảo quản: Sản phẩm tinh dầu được cho vào các bình chứa hay lọ sẫm màu, đậy kín, bảo quản trong tối ở 2 - 40C cho đến khi đem phân phối.

3.2. Chỉ số Axit (A_x)

Là đại lượng biểu diễn số mg KOH dùng để trung hòa 1g tinh dầu.

Bảng 1. Kết quả chỉ số axit của tinh dầu

	Sả lá			Sả củ		
TN	1	2	3	1	2	3
G (g)	0.545	0.543	0.544	0.554	0.556	0.556
V (ml)	0.5	0.5	0.5	0.2	0.2	0.2
Ax	5.243	5.266	5.254	2.063	2.057	2.054
TB	5.255			2.058		

Nhận xét: Sau 3 lần thực nghiệm xác định chỉ số axit, ta được giá trị trung bình với lá cây sả chanh là 5.255, củ cây sả chanh là 2.058.

3.3. Chỉ số este (E_s)

Là số mg KOH cần thiết để xà phòng hóa những este trung tính trong tinh dầu.

Bảng 2. Kết quả chỉ số este của tinh dầu

	Sả lá			Sả củ		
TN	1	2	3	1	2	3
G(g)	0.545	0.542	0.544	0.554	0.556	0.556
V1(ml)	8.8	8.8	8.8	8.9	8.9	8.9
V2 (ml)	9.1	9.1	9.1	9.2	9.2	9.2
Es	16.587	16.661	16.621	16.312	16.265	16.247
TB	16.623			16.275		

Từ kết quả 3 lần làm thực nghiệm, ta xác định được chỉ số este trung bình trong lá là 16.623, trong củ là 16.275.

Do axit béo trong lá nhiều do đó chỉ số este cao hơn

3.4. Chỉ số xà phòng (X_p)

- Là số mg KOH dùng để xà phòng hòa hoàn toàn 1g tinh dầu.

- Chỉ số xà phòng hóa xác định được thành phần tổng cộng của các axit béo.

Bảng 3. Kết quả chỉ số xà phòng của tinh dầu

	Sả lá			Sả củ		
TN	1	2	3	1	2	3
Ax	5.243	5.266	5.254	2.063	2.057	2.054
Es	16.587	16.661	16.621	16.312	16.265	16.247
Xp	21.830	21.927	21.875	18.374	18.321	18.301
Xp TB	21.877			18.332		

Nhận xét: Ta thu được chỉ số xà phòng hóa trung bình trong tinh dầu sả lá là 21.877 tinh dầu sả củ là 18.332.

3.4. Kết quả xác định thành phần hóa học bằng GC/MS

Bảng 4. Thành phần hóa học của tinh dầu sả lá xã Sơn Hùng - Huyện Thanh Sơn- Phú Thọ

RI	Chemical name	%	RI	Chemical name	%
988	6-Methylhept-5-en-2-one	1.58	1249	Neral	33.39
993	Myrcene	10.01	1259	Geraniol	4.11
997	Cineole <dehydro-1,8->	0.20			
1039	Ocimene <(Z)-b->	0.41	1278	Geranial	42.05
1050	Ocimene <(E)-b->	0.32	1385	Geranyl acetate	0.52
1104	Linalool	1.13	1438	Caryophyllene <E-> (=Caryophyllene <b->)	0.12
1148	Lavandulol	0.25	1606	Caryophyllene oxide	0.12
1156	Citronellal	0.26			
1158	Chrysanthemol<trans->	0.30			
1168	Isoneral	0.86			
1185	Isogeranial	1.38			
1232	Citronellol	0.54			
1234	Nerol	0.34	Total		98.69

- Từ bảng kết quả 5 ta thấy, trong tinh dầu sả củ có 21 chất với hàm lượng khác nhau. Trong đó chất chiếm hàm lượng lớn trong tinh dầu sả

Phương pháp sắc kí khí khối phổ GC-MS được thực hiện tại: Phòng Phân tích hóa học - Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên – Viện Hàn lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam (18- Hoàng Quốc Việt – Quận Cầu Giấy – Hà Nội.

- Từ bảng 4 ta thấy, trong tinh dầu sả lá có 20 chất với hàm lượng khác nhau. Trong đó chất chiếm hàm lượng lớn trong tinh dầu sả lá ở huyện Thanh Sơn- Phú Thọ là neral (33.39 %) và geranial (42.05 %). So sánh với tinh dầu sả lá ở quận Cẩm Lệ - Đà Nẵng thu được hàm lượng neral (22,96 %) và geranial (32,76 %) cũng chiếm hàm lượng lớn. Ta thấy sả Thanh sơn chiếm hàm lượng neral và geranial lớn hơn.

củ ở xã Sơn Hùng huyện Thanh Sơn – Tỉnh Phú Thọ là neral (32.97%) và geranial (43.07%).

Bảng 5. Thành phần hóa học của tinh dầu sả củ xã Sơn Hùng - Huyện Thanh Sơn- Phú Thọ

RI	Chemical name	%	RI	Chemical name	%
988	6-Methylhept-5-en-2-one	1.70	1278	Geranial	43.07
993	Myrcene	4.29	1385	Geranyl acetate	0.30

RI	Chemical name	%	RI	Chemical name	%
1035	Myrcene	0.56	1438	Caryophyllene<E-> (=Caryophyllene <b->)	0.39
1039	Ocimene <(Z)-b->	1.66	1446	Bergamotene <a-trans->	0.47
1050	Ocimene <(E)-b->	0.79	1538	Cadinene <d->	0.24
1104	Linalool	0.98			
1156	Citronellal	0.47			
1167	Isoneral	1.12			
1177	Mentha-1,5-dien-8-ol <p->	0.11	1642	unknown (81, 222, RI 1642)	2.29
1179	Borneol (=Endo-Borneol)	0.25	1676	Cadinol <a->	0.42
1185	Isogeranial	1.70			
1232	Citronellol	1.17			
1234	Nerol	0.33			
1249	Neral	32.97			
1259	Geraniol	3.81			
Total		98.54			

3.5. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư

3.5.1. Thử độc tế bào

Hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư: ung thư gan người Hep3B.

Bảng 6. Kết quả thử độc tế bào của các mẫu

Mẫu	Nồng độ (µg/mL)	Hep3B	
		%TB sống	Sai số
Control		100.00	1.60
Sả củ Sơn Hùng	1	66.96	2.70
	3	61.93	0.90
	10	48.65	1.36
	30	11.57	0.94
Sả lá Sơn Hùng	1	69.07	0.09
	3	57.43	2.05
	10	51.35	2.65
	30	13.16	2.14

*Camptothecin: được sử dụng làm chất chuẩn

3.6.2. Tìm giá trị IC₅₀

Nồng độ ức chế 50%, IC₅₀ được xây dựng trên 5 nồng độ thử nghiệm. Giá trị IC₅₀ được xác định theo phương pháp hồi quy không tuyến tính trên phần mềm Graphpad Prism 5.0.

Bảng 7. Giá trị IC₅₀ của các mẫu có hoạt tính

Mẫu	Giá trị IC ₅₀ (µg/mL)
	Hep3B
Sả lá Sơn Hùng	10.72 ± 0.92
Sả củ Sơn Hùng	9.33 ± 0.67
Camptothecin(µM)*	0.12 ± 0.005

Mẫu SCSH có hoạt tính gây độc tế bào Hep3B mạnh với giá trị IC₅₀ trong khoảng 2.57 µM đến 9.33 µM. Các hợp chất còn lại cũng thể hiện hoạt tính gây độc tế bào Hep3B rất ấn tượng với IC₅₀ trong khoảng 10.72 – 18.2 µM.

4. KẾT LUẬN

1. Qua quá trình nghiên cứu và tách chiết tinh dầu sả chanh với nguyên liệu là lá sả và củ sả ở xã Sơn Hùng huyện Thanh Sơn Bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước đã thu được tinh dầu từ sả lá sả củ

2. Tinh dầu sả có màu vàng, nhẹ hơn nước, có mùi thơm mạnh, vị hơi cay

3. Xác định được các chỉ số vật lý và chỉ số hóa học của tinh dầu sả

Bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ xác định được thành phần hóa học trong tinh dầu sả thu được từ sả lá có 20 chất với hàm lượng khác nhau. Trong đó chất chiếm hàm lượng lớn trong tinh dầu là neral (33,39%), geranial (42,05 %). và thành phần hóa học trong tinh dầu sả củ có 21 chất với các hàm lượng khác nhau trong đó chất chiếm hàm lượng lớn trong tinh dầu là neral (32,97%), geranial (43,07 %). Neral và geranial có ứng dụng rất lớn trong cuộc sống.

4. Thử hoạt tính sinh học trên dòng ung thư gan người. Trong đó sả củ có hoạt tính gây độc tế bào Hep3B mạnh với giá trị IC₅₀ trong khoảng 2.57 µg/mL đến 9.33 µg/mL

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi, Vũ Văn Chuyên, Phan Nguyên Hồng, Trần Hợp, (1973), *Cây cỏ thường thấy ở Việt Nam*, tập 1, NXB KHKT.
2. Nguyễn Văn Đàn, Ngô Ngọc Khuyển, (1999), *Hợp chất thiên nhiên dùng làm thuốc*, NXB y học Hà Nội.
3. Trần Tứ Hiếu, (2015) phần 3 - *Các phương pháp phân tích công cụ*, NXBKHKHKT
4. Đỗ Tất Lợi, (1985), *Tinh dầu Việt Nam*, NXB Y học TP HCM.
5. Đỗ Tất Lợi, (1992), *Những cây thuốc và vị*

thuốc, NXB KHKT Hà Nội.

6. Lê Ngọc Thạch, (2003), *Tinh dầu*, NXB ĐHQG Hà Nội.
7. Nguyễn Quốc Châu Thanh, (2013), *Khóa luận Tốt Nghiệp Ly Trích Và Khảo sát thành phần hóa học của tinh dầu sả chanh*, Trường Đại Học Cần Thơ.
8. Dược điển Việt Nam, (2013), NXB Y học.
9. Tiêu Chuẩn Việt Nam 8450 - 201

TÁCH LOẠI AMONI, Mn(II) TRONG NƯỚC(tiếp theo tr. 96)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Tinh Dung (2009), *Hóa học phân tích, Phần II, Các phản ứng trong dung dịch*, NXB ĐHSP.
2. Ngô Thị Mai Việt, Honglatda Taochanxay, Nguyễn Thị Hằng (2018), *Hấp phụ amoni, Mn(II) trên đá ong biến tính bằng chất hoạt động bề mặt*, Tạp chí Phân tích Hóa, Lý và Sinh học, tập 23, số 2, trang 93 – 101.
3. Farhad Mazloomi, Mohsen Jalali (2015), *Ammonium removal from aqueous solutions by natural Iranian zeolite in the presence of organic acids, cations and anions*, Journal of Environmental Chemical Engineering, pp.1 – 51.
4. M.A. Shavandi, Z. Haddadian, M.H.S. Ismail, N. Abdullah, Z.Z. Abidin (2012), *Removal of Fe(III), Mn(II) and Zn(II) from*

palm oil mill effluent (POME) by natural zeolite, Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 43, pp.750-759.

5. M. Gaouar Yadi, B. Benguella, N. Gaouar-Benyelles, K. Tizaoui (2015), *Adsorption of ammonia from wastewater using low-cost bentonite/chitosan beads*, Desalination and Water Treatment, pp.1-11.
- M. U. Khobragade and A. Pal (2016), *Fixed – bed column study on removal of Mn(II), Ni(II) and Cu(II) from aqueous solution by surfactant bilayer supported alumina*, Separation Science and Technology (Philadelphia), Vol. 51, No, 8, pp.1287 – 1298.