

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH TÁCH CHIẾT TINH DẦU SẢ CHANH, XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ THĂM DÒ HOẠT TÍNH CHỐNG UNG THƯ

Đến tòa soạn 20-11-2019

**Hoàng Thị Kim Vân, Trần Thị Hằng, Vũ Thị Nha Trang, Lê Thị Minh Hằng,
Nguyễn Thị Phương Thùy, Đặng Ngọc Định, Nguyễn Thị Minh Hải**

Trường Đại học Công nghiệp Việt Trì

Đinh Thị Thu Thủy

Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm KH và CN Việt Nam

SUMMARY

STUDY THE PROCESS OF EXTRACTING ESSENTIAL OILS CYMPOBOGON CITRATUS AND DETERMINATION OF CHEMICAL COMPOSITION, DETECTION OF ANTI-CANCER ACTIVITIES

Lemongrass was purchased from Hy Cuong Commune, Viet Tri City, Phu Tho Province, and lemongrass oil was extracted by steam distillation. Then determine the chemical and biological activity of the lung and cervical cancer.

Key words: *Lemongrass essential oil, bioactive.*

1. MỞ ĐẦU

Cây sả chanh tên khoa học Cymbopogon Citratus [1], 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 [5]. 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, phủ 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 [4]. 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. Năm 2011, nhóm tác giả Phan Thị Minh Tâm và Nguyễn Thị Bích Hằng cũng đã tiến hành nghiên cứu quy trình chưng cất lôi cuốn hơi nước tuy nhiên các đề tài tập trung nhiều về nghiên cứu nâng cao hiệu suất của tinh dầu chứ chưa đi phân tích sâu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của tinh dầu sả chanh ở các vùng miền khác nhau vì vậy chúng tôi tập trung nghiên cứu xác định thành phần hóa học và hoạt tính sinh học trên các dòng ung thư phổi và ung thư cổ tử cung. Của tinh dầu sả chanh trồng tại xã hy cương thành phố Việt Trì Tỉnh Phú Thọ

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu Sả chanh được thu mua tại xã hy cương thành phố Việt Trì Tỉnh Phú Thọ được đem về phải được làm sạch và cắt nhỏ.

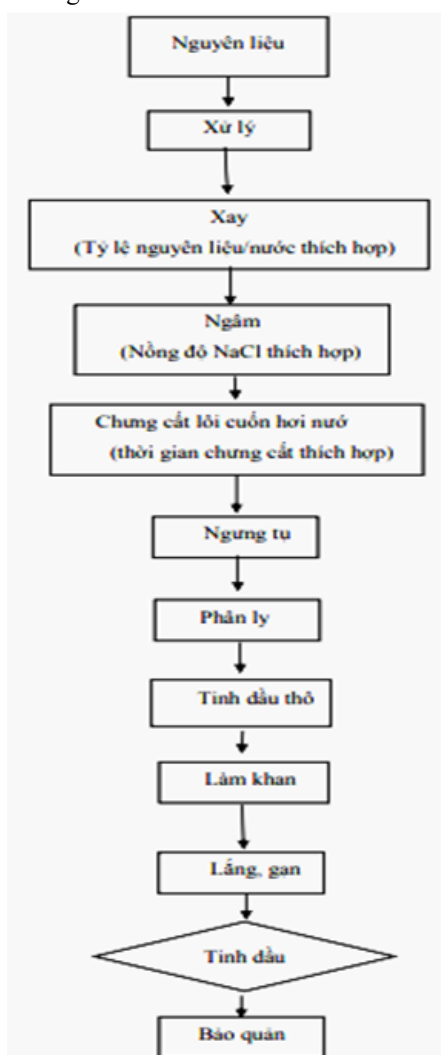
2.2. Chung cất

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 180 phút. Sau đó, tinh dầu được tách nước và làm khô bởi muối Na_2SO_4 khan. Tinh dầu sau đó được lưu giữ ở $0-5^\circ\text{C}$ cho đến khi sử dụng.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Quy trình chung cất tinh dầu sả chanh (Hình 1)

Chung cất lõi cuộn hơi nước



Hình 1. Quy trình chiết tách tinh dầu

Thêm Na_2SO_4 khan vào bình chứa tinh dầu thô, vừa thêm vừa khuấy đều cho đến khi quan

sát thấy các tinh thể muối Na_2SO_4 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 xiphông 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 $2-40^\circ\text{C}$ cho đến khi đem phân phối.

3.2. Chỉ số Axit (A_x) [9, 10]

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

Bảng 1. Kết quả chỉ số axit của tinh dầu

TN	Sả lá			Sả củ		
	1	2	3	1	2	3
G(g)	0.596	0.601	0.617	0.563	0.566	0.563
V(ml)	0.65	0.65	0.7	0.55	0.55	0.55
A_x	6.231	6.177	6.485	5.584	5.552	5.577
TB	6.297			5.571		

Nhận xét: Sau 3 lần thực nghiệm xác định chỉ số axit, ta được giá trị trung bình với lá cây sả chanh là 6.2973, củ cây sả chanh là 5.571.

3.3. Chỉ số este (E_s) [9, 10]

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

TN	Sả lá			Sả củ		
	1	2	3	1	2	3
G(g)	0.5959	0.6011	0.6166	0.5626	0.5659	0.5633
V1	9.3	9.3	9.4	9.5	9.5	9.5
V2	9.7	9.7	9.8	9.8	9.8	9.8
E_s	19.08	18.916	18.591	15.158	15.069	15.139
TB	18.863			15.122		

Từ kết quả 3 lần làm thực nghiệm, ta xác định được chỉ số este trung bình trong lá là 18.8625, trong củ là 15.1219. Do axit béo trong lá nhiều do đó chỉ số este cao hơn

3.4. Chỉ số xà phòng (Xp) [9,10]

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

TN	Sả lá			Sả củ		
	1	2	3	1	2	3
Ax	6.231	6.177	6.485	5.584	5.5515	5.577
Es	19.080	18.916	18.591	15.158	15.069	15.139
Xp	25.311	25.092	25.0756	20.742	20.621	20.716
TB	25.1598			20.6928		

Nhận xét: Ta thu được chỉ số xà phòng hóa trung bình trong tinh dầu sả lá là 25.1598 tinh dầu sả củ là 20.6928.

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

Bằng phương pháp sắc kí khí khối phổ (GC-MS) đã xác định được thành phần hóa học của tinh dầu. 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).

Bảng 4. Thành phần hóa học phân tích bởi GC/MS của tinh dầu sả lá Hy Cương- Phú Thọ

RI	Chemical name	%	RI	Chemical name	%
956	Camphene	0.17	1249	Neral	33.25
988	6-Methylhept-5-en-2-one	0.96	1259	Geraniol	3.79
993	Myrcene	8.44	1278	Geranial	42.21
1.39	Ocimene <(Z)-b->	1.07	1296	Undecanone <2->	0.14
1050	Ocimene <(E)-b->	0.56	1385	Geranyl acetate	0.52
1104	Linalool	1.26	1438	Caryophyllene <E> (=Caryophyllene <b->)	0.32
1148	Lavandulol	0.18	1446	Bergamotene <a-trans->	0.22
1156	Citronellal	0.26	1498	2-Tridecanone	0.15
1158	Chrysanthemol<trans->	0.19	1606	Caryophyllene oxide	0.32
1167	Isoneral	0.77	1626	Eudesmol <5-epi-7-epi-a->	0.20
1185	Isogeranial	1.10	1642	unknown (81, 222, RI 1642)	1.53
1232	Citronellol	0.74	1676	Cadinol <a->	0.42
1234	Nerol	0.36		Total	99.13

Từ bảng kết quả ta thấy, trong tinh dầu sả lá có 25 chất với hàm lượng khác nhau. Trong đó chất chiếm hàm lượng lớn trong tinh dầu sả lá ở huyện Hy Cương- Phú Thọ là neral (33.25 %) và geranial (42.21 %).Hoặc đối với tinh dầu sả lá ở quận Cẩm Lệ - Đà Nẵng cũng thu được hàm lượng neral (22,96 %) và geranial (32,76 %) cũng chiếm hàm lượng lớn.

Bảng 5. Thành phần hóa học phân tích bởi GC/MS của tinh dầu sả củ Hy Cương - Phú Thọ

RI	Chemical name	%	RI	Chemical name	%
940	Pinene<a->	0.27	1278	Geranial	34.87
956	Camphene	0.58	1385	Geranyl acetate	0.31
988	6-Methylhept-5-en-2-one	0.72	1438	Caryophyllene<E> (=Caryophyllene <b->)	0.60
993	Myrcene	5.44	1446	Bergamotene <a-trans->	0.41
1039	Ocimene <(Z)-b->	3.80	1499	Germacrene D	0.23
1050	Ocimene <(E)-b->	1.72	1506	Selinene<d->	0.31
1104	Linalool	1.42	1528	Dihydroagarofuran <cis->	0.32
1156	Citronellal	0.56	1531	Cadinene <g->	0.27

RI	Chemical name	%	RI	Chemical name	%
1167	Isoneral	0.67	1538	Cadinene <d->	0.69
1177	Mentha-1,5-dien-8-ol <p->	0.19	1543	Bisabolene <E-g->	0.39
1179	Borneol (=Endo-Borneol)	0.25	1626	Eudesmol <5-epi-7-epi-a->	0.78
1185	Isogeranial	1.04	1642	unknown (81, 222, RI 1642)	6.13
1201	Terpineol <a->	0.20	1657	Valerianol	0.48
1232	Citronellol	1.81	1663	Muurolol <epi-a-> (=T-Muurolol)	0.87
1234	Nerol	0.32	1666	Hinesol	0.33
1249	Neral	26.72	1676	Cadinol <a->	1.56
1259	Geraniol	3.10	1685	Intermedeol <neo->	1.07
				Total	98.43

Từ bảng kết quả ta thấy, trong tinh dầu sả củ có 34 chất với hàm lượng khác nhau. Trong đó chất chiếm hàm lượng lớn trong tinh dầu sả củ ở huyện Hy Cương – Phú Thọ là neral (26.27 %) và geranial (34.87 %).

3.6. Hoạt tính sinh học chống ung thư

3.6.1. Thử độc tế bào

Hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư: ung thư phổi người A549 và ung thư gan người Hep3B.

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

Mẫu	N.độ (µg/mL)	TB sống sót (CS%)			
		Hep3B		A549	
		% TB sống	Sai số	% TB sống	Sai số
Control		100.00	1.60	100.00	2.54
Sả lá	1	70.59	2.27	89.03	1.61
	3	63.67	2.10	61.06	0.32
	10	51.41	0.44	54.89	2.31
Sả củ	1	65.84	2.17	74.59	1.07
	3	60.04	0.49	60.01	2.55
	10	53.09	2.43	49.82	0.21
	30	9.40	1.28	25.18	1.90
Camptothecin *	0.1	90.83	3.02	64.94	0.43
	10	43.88	1.33	33.93	0.28

*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)	
	A549	Hep3B
Sả lá	14.45 ± 1.61	10.72 ± 0.25
Sả củ	9.77 ± 0.65	11.48 ± 1.21
Camptothecin (µM)*	1.62 ± 0.05	0.12 ± 0.005

Mẫu sả củ Hy Cương có hoạt tính gây độc tế bào ung thư phổi A549 với giá trị IC50 là 9.77 μ M. Các hợp chất còn lại cũng thể hiện hoạt tính gây độc tế bào 2 dòng A549 và Hep3B rất ấn tượng với IC50 trong khoảng 10.72 – 18.2 μ M.

Như vậy tất cả các mẫu tinh dầu sả đều có hoạt tính gây độc tế bào hai mẫu ung thư.

4. KẾT LUẬN

Qua quá trình nghiên cứu và tách chiết tinh dầu sả chanh với nguyên liệu là lá sả và củ sả ở thị xã Phú Thọ ta tìm được hiệu suất tối ưu là 0,57% lượng tinh dầu tối ưu thu được là 6,66ml.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi, Vũ Văn Chuyên, Phan Nguyễn Hồng, Trần Hợp, “*Cây cỏ thường thấy ở Việt Nam*”, tập 1, NXB KHKT, (1973).

2. Nguyễn Văn Đàn, Ngô Ngọc Khuýn, “*Hợp chất thiên nhiên dùng làm thuốc*”, NXB y học Hà Nội, (1999).

3. Trần Tứ Hiúu, “*Các phương pháp phân tích công cụ - Phần 3*” NXB KHKT Hà Nội, (2007).

4. Đổ Tất Lợi, “*Tinh dầu Việt Nam*”, NXB Y học TP HCM, (1985) .

5. Đổ Tất Lợi, “*Những cây thuốc và vị thuốc*”, NXB KHKT Hà Nội, (1992).

6. Lê Ngọc Thạch, “*Tinh dầu*”, NXB ĐHQG Hà Nội, (2003).

7. Nguyễn Quốc Châu Thanh, Khóa luận Tốt Nghiệp, “*Ly Trích Và Khảo sát thành phần hóa học của tinh dầu sả chanh*”, Trường Đại Học Cần Thơ, (2013).

8. Dược điển Việt Nam, NXB Y học.

9. Tiêu Chuẩn Việt Nam 8450 - 2010

TỔNG HỢP VÀ TÍNH CHẤT PHỨC HỖN HỢP PHỐI TỬ BENZOATTiếp theo Tr. 5

2. Desheng Zhu, Congkai Wang, FengJiang, (2018), “White light-emitting Ba_{0.05}Sr_{0.95}WO₄:Tm³⁺ Dy³⁺ phosphors”, *Journal of Rare Earths*, Vol. 36 (4), pp 346-352.

3. Seira Shintoyo, Takeshi Fujinami, Naohide Matsumoto, Masanobu Tsuchimoto, Marek Weselski, Alina Bienko, Jerzy Mrozinski (2015), “Synthesis, crystal structure, luminescent and magnetic properties of europium(III) and terbium(III) complexes with a bidentate benzoate and a tripod N₇ ligand containing three imidazole, [Ln^{III}(H₃L)benzoate](ClO₄)₂·H₂O·2MeOH (Ln^{III} = Eu^{III} and Tb^{III}; H₃L: tris[2-((imidazol-

4-yl)methylidene)amino)ethyl]amine))”, *Polyhedron*, Vol. 91, pp. 28-34.

4. Na Zhao, Shu-Ping Wang, Rui-Xia Ma, Zhi-Hua Gao, Rui-Fen Wang, Jian-Jun Zhang, (2007), “Synthesis, crystal structure and properties of two ternary rare earth complexes with aromatic acid and 1,10-phenanthroline”, *Journal of Alloys and Compounds*, Vol. 463, pp. 338-342.

5. Kotova O. V., Eliseeva S. V., Lobodin V. V., Lebedev A. T., Kuzmina N. P. (2008) "Direct laser desorption/ionization mass spectrometry characterization of some aromatic lanthanide carboxylates", *Journal of Alloys and Compound*, Vol. 451, pp. 410-413.