

PHÂN ĐOẠN TINH DẦU SẢ JAVA (*Cymbopogon winterianus*) BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHUNG CẤT CHÂN KHÔNG VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH SINH HỌC CÁC PHÂN ĐOẠN THU ĐƯỢC

Đỗ Đình Nhật^{1,2,3,*}, Vũ Quang Mạnh³, Lê Ngọc Duy Tâm³,
Lê Xuân Tiến^{1,2}, Lê Thị Kim Phụng^{1,2}

TÓM TẮT

Tinh dầu sả Java (*Cymbopogon winterianus*) là một sản phẩm tự nhiên với nhiều hoạt tính sinh học và được sử dụng phổ biến trong công nghiệp thực phẩm và mỹ phẩm. Trong nghiên cứu này, các phân đoạn khác nhau của tinh dầu sả Java được phân tách khỏi tinh dầu thô bằng phương pháp chưng cất phân đoạn chân không. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chưng cất phân đoạn gồm áp suất chân không và cột chưng cất được khảo sát. Các phân đoạn tinh dầu được xác định thành phần hóa học, khả năng kháng oxy hóa và khả năng kháng khuẩn. Kết quả cho thấy, hệ chưng cất được vận hành ở áp suất chân không 40 mbar sử dụng cột đĩa 400 mm cho độ thu hồi citronella ở phân đoạn F2 đạt giá trị cao nhất là 92,8%, với hàm lượng citronella đạt 80,2% và độ thu hồi rhodinol (hỗn hợp citronellol và geraniol) ở phân đoạn F4 đạt giá trị cao nhất là 81,3% với hàm lượng 71,2%. Có sự khác biệt về thành phần và hàm lượng các hợp chất có trong từng phân đoạn so với tinh dầu thô. Hàm lượng citronellal tăng từ 32,76% từ tinh dầu thô đến 80,2% ở phân đoạn F2. Hàm lượng rhodinol từ 29,12% từ tinh dầu thô đến 71,2% ở phân đoạn F4. Các phân đoạn tinh dầu sả Java khác nhau cho thấy, khả năng kháng oxy hóa và ức chế vi khuẩn khác nhau. Phân đoạn F4 với thành phần chính gồm citronellol và genariol cho thấy khả năng kháng oxy hóa cao nhất ($7,0186 \pm 0,0254$ mg AAE/mL EO). Trong khi đó phân đoạn F2 với thành phần chính citronella cho thấy khả năng kháng khuẩn tốt nhất trong các phân đoạn và cả tinh dầu gốc ban đầu.

Từ khóa: Chưng cất phân đoạn, Java (*Cymbopogon winterianus*), tinh dầu.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tinh dầu sả Java (*Cymbopogon winterianus*) là một hỗn hợp chứa nhiều hoạt chất dễ bay hơi và có mùi thơm đặc trưng được chiết xuất bằng chưng cất hơi nước từ cây sả Java, là một nguồn nguyên liệu phổ biến trong ngành công nghiệp hương liệu mỹ phẩm, thực phẩm và dược phẩm [1]. Tinh dầu sả Java được cấu tạo chủ yếu bởi các monoterpenes, trong đó citronellal, citronellol và geraniol là những terpenoid chính được tìm thấy trong tinh dầu và là ba hoạt chất có nhu cầu thị

trường lớn và giá trị kinh tế cao [2]. Citronellal là thành phần chính của tinh dầu sả Java và có mùi thơm đặc trưng của tinh dầu này, chúng được sử dụng trong tổng hợp hóa học nhiều hợp chất khác nhau [3, 4]. Geraniol là một hợp chất không màu, có mùi dễ chịu giống hương thơm của hoa hồng, được sử dụng rộng rãi trong nước hoa và là một thành phần tạo hương vị của nhiều loại thực phẩm. Citronellol được sử dụng phổ biến trong nước hoa và các loại thuốc chống côn trùng. Ba thành phần này thường được sử dụng trong các sản phẩm thương mại như nến, nước hoa, mỹ phẩm, xà phòng và hương liệu trong công nghiệp thực phẩm [5 - 7]. Trong lĩnh vực dược phẩm, citronellal và geraniol cũng đang được quan tâm bởi các hoạt tính sinh học có giá trị của chúng như chống ung thư, chống viêm, chống oxy hóa, kháng khuẩn,

¹ Khoa Kỹ Thuật Hóa học, Trường Đại học Bách khoa thành phố HCM

² Đại học Quốc gia thành Phố Hồ Chí Minh

³ Viện Ứng dụng Công nghệ và Phát triển bền vững, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

*Email: ddnhat.sdh222@hcmut.edu.vn

cũng như tiềm năng trong ứng dụng làm thuốc chống côn trùng [8].

Mặc dù tinh dầu sả Java là nguồn nguyên liệu của nhiều ngành mỹ phẩm và dược phẩm, nhưng đã xuất khẩu thô với số lượng lớn tinh dầu sả Java trong quá khứ và hiện tại, trong khi đó lại phải nhập khẩu các thành phần tinh khiết của chúng như citronellal, geraniol trong công nghiệp sản xuất hương liệu, mỹ phẩm. Một trong những rào cản lớn gây ra hiện tượng này là công nghệ sản xuất còn thô sơ, chưa có những công nghệ đột phá để tạo lợi thế cạnh tranh cho sản phẩm về chất lượng và giá thành.

Chưng cất phân đoạn chân không là một phương pháp có thể được áp dụng trong việc phân tách, tinh chế nâng cao các hoạt chất chính trong tinh dầu. Việc sử dụng công nghệ tinh chế phân đoạn chân không để nâng cao hoạt chất chính của tinh dầu sả Java là hết sức cần thiết nhằm tạo ra dòng sản phẩm tinh dầu chất lượng cao đáp ứng theo các tiêu chuẩn TCVN, ISO và tiến tới xuất khẩu sang các thị trường quốc tế, từ đó nâng cao giá trị cây sả Java và tăng thu nhập cho người nông dân [4, 9]. Phương pháp chưng cất phân đoạn chân không tạo ra các phân đoạn tinh dầu với hàm lượng các hoạt chất được nâng cao, dẫn đến sự thay đổi về các hoạt tính sinh học so với tinh dầu thô, kết quả tạo ra các đặc tính nổi bật mới, có tiềm năng ứng dụng trong các lĩnh vực khác nhau.

Chưng cất phân đoạn chân không là một quá trình phức tạp liên quan đến các vấn đề truyền khối, truyền nhiệt, nhiều biến số liên quan đến quá trình chưng cất ảnh hưởng đến sản lượng và chất lượng sản phẩm mong muốn, do đó, cần nhiều nghiên cứu mới để bổ sung tư liệu mới, áp dụng vào thực tế [10]. Bên cạnh đó, tinh dầu sả Java được biết đến với nhiều hoạt tính sinh học, và được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau, do đó việc tìm ra các tính chất mới, khả năng sinh học mới từ tinh dầu sả Java là điều cần thiết. Trong nghiên cứu này, các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình phân đoạn chân không tinh dầu sả Java được xem xét, sau đó đánh giá khả năng kháng oxy hóa và kháng khuẩn các phân đoạn tinh dầu thu được.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Tinh dầu nguyên liệu

Tinh dầu sả Java có nguồn gốc từ huyện Mường La, tỉnh Sơn La. Đây là vùng nguyên liệu sả Java quy mô lớn của Việt Nam. Tinh dầu sả Java được thu nhận bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước vào tháng 3 năm 2023, được cung cấp bởi Công ty TNHH KHKH Suwina, thành phố Hồ Chí Minh. Tinh dầu được bảo quản trong chai tối màu, đậy kín, để trong ngăn mát (nhiệt độ từ 1 - 5°C). Trước quá trình phân đoạn, tinh dầu thô được phân tích bằng GC-MS để xác định thành phần hóa học.

2.2. Mô tả hệ thống chưng cất phân đoạn chân không

Cột chưng cất phân đoạn được sử dụng để phân đoạn tinh dầu là cột đĩa Vigreux được làm bằng thủy tinh có các chiều cao khác nhau 200, 300 và 400 mm. Đỉnh cột được kết nối với bộ phận ngưng tụ, nhiệt độ nước ngưng được kiểm soát bởi bộ điều khiển tuần hoàn lạnh (Faithful 0520). Đáy cột được kết nối với bình cầu thủy tinh đáy tròn dung tích 250 mL chứa tinh dầu sả Java thô. Việc gia nhiệt chưng cất được thực hiện bằng bếp gia nhiệt 98-II-B, tốc độ gia nhiệt được kiểm soát với bộ điều khiển công suất gia nhiệt Kawasaki. Hệ thống được kết nối với máy bơm chân không (Edwards RV5F, BOC Edwards, West Sussex, UK) có khả năng tạo áp suất cột thấp đến 5 mbar. Máy bơm này được kết nối với bộ điều khiển áp suất chân không (Bioevopeak VACC100) để đo và kiểm soát áp suất chân không của hệ thống. Nhiệt kế thủy ngân được sử dụng để theo dõi nhiệt độ giữa các giai đoạn phân tách ở đỉnh và đáy cột. Các phân đoạn tinh dầu khác nhau được thu hồi ở bộ chia phân đoạn gồm 4 bình cầu dung tích 100 mL khác nhau. Các phân đoạn tinh dầu được bảo quản lạnh (1 - 5°C) để thực hiện các phân tích tiếp theo.

2.3. Quy trình phân đoạn tinh dầu sả Java

Quá trình phân đoạn được thực hiện dưới quy mô phòng thí nghiệm bằng hệ thống thiết bị chưng cất phân đoạn chân không được mô tả ở mục 2.2, mỗi mẻ sử dụng 150 g tinh dầu thô. Trong mỗi thí nghiệm, áp suất chân không và tốc độ gia nhiệt của bình được giữ không đổi. Các

phân đoạn tinh dầu khác nhau được thu hồi theo thời gian dựa trên sự chênh lệch nhiệt độ hơi ở đỉnh cột. Sự thay đổi nhiệt độ sản phẩm đỉnh theo thời gian được ghi nhận bắt đầu từ giọt lỏng đầu tiên ngưng tụ tại bình nhận. Nhiệt độ được ghi nhận liên tục sau mỗi 1 phút. Trong quá trình chưng cất, nhiệt độ pha hơi ở sản phẩm đỉnh tăng liên tục, quá trình thí nghiệm kết thúc khi nhiệt độ pha hơi sản phẩm đỉnh giảm 10°C. Các phân đoạn được phân tách theo nhiệt độ bằng cách xoay bạch tuộc 4 cổ để thay đổi vị trí các bình nhận ứng với 4 phân đoạn khác nhau dựa vào các khoảng nhiệt độ đỉnh khác nhau. Thời gian thu hồi phân đoạn đầu tiên được tính từ giọt lỏng đầu tiên ngưng tụ ở phân đoạn 1. Các thử nghiệm được thực hiện ba lần. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chưng cất chân không phân đoạn tinh dầu sả Java bao gồm áp suất chân không (20 - 80 mbar), chiều cao cột chưng cất Vigreux (200 - 400 mm) đã được khảo sát trong nghiên cứu này.

2.4. Xác định đặc tính hóa lý, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học các phân đoạn tinh dầu sả Java

2.4.1. Xác định tính chất hóa lý và thành phần hóa học của tinh dầu sả Java

Các tính chất hóa lý gồm tính chất cảm quan được xác định theo tiêu chuẩn TCVN 8460:2010 [11]; tỷ trọng được xác định theo tiêu chuẩn TCVN 8444:2010 [12]; góc quay cực được xác định theo tiêu chuẩn TCVN 8446:2010 [13] và chỉ số khúc xạ được xác định theo tiêu chuẩn TCVN 8445:2010 [14].

Phân tích thành phần các chất có trong tinh dầu sả Java bằng phương pháp sắc ký khí ghép

khối phổ GC-MS. Hệ thống sắc ký khí ghép khối phổ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Hoa Kỳ) được sử dụng để phân tích các thành phần có trong tinh dầu sả Java là máy sắc ký khí Trace 1300 Thermo ScientificTM kết hợp với khối phổ TSQ 9000. Các chất phân tích được tách trong cột mao quản silica nung chảy không phân cực TG-5ms được phủ bằng methyl silicone (30 m x 0,25 mm i.d.), độ dày màng 0,25 µm (Thermo Fisher Scientific, Hoa Kỳ) từ Agilent. Quá trình quét MS (1 lần quét s-1) được thực hiện trong phạm vi khối lượng 50 - 550 amu với sự ion hóa tác động điện tử ở 70 eV. Heli được sử dụng làm khí mang ở tốc độ dòng 1,2 mL min⁻¹ trong một tỷ lệ phân chia 1: 250 (0,2 µL). Nhiệt độ lò cột được lập trình như sau:

- Gia nhiệt lên 60°C trong 25 giây.
- Gia nhiệt từ 60°C lên 180°C với tốc độ 6°C/phút.
- Gia nhiệt từ 180°C - 270°C với tốc độ 30°C/phút và giữ trong 5 phút.

Hầu hết các hợp chất có trong tinh dầu sả Java được xác định bằng khối phổ của chúng (bộ sưu tập thư viện NIST 2.2) và so sánh với thư viện phổ Adams như một nguồn tham khảo. Các diện tích pic riêng lẻ được ghi lại và diện tích pic tương đối (%) được tính toán để định lượng các thành phần tinh dầu.

2.4.2. Độ thu hồi hoạt chất trong phân đoạn

Độ thu hồi của hoạt chất trong mỗi phân đoạn được tính theo công thức sau:

$$(\%) \text{ Thu hồi hoạt chất} = \left(\frac{m_{\text{phân đoạn}} \times \% \text{hợp chất trong PD}}{m_{\text{mẫu thô}} \times \% \text{hợp chất trong mẫu tinh dầu thô}} \right) \times 100$$

2.4.3. Đánh giá hoạt tính chống gốc tự do DPPH[•]

Dung dịch DPPH gốc được chuẩn bị bằng cách dùng 0,024 g DPPH hòa tan với dung môi Methanol trong bình định mức 100 mL, bảo quản môi trường kín trong 24 giờ và nhiệt độ 4°C. Dung dịch DPPH gốc được mang đi hiệu chỉnh với dung môi Methanol dưới bước sóng UV-VIS cực đại 515

nm đến khi đạt độ hấp thụ $1,10 \pm 0,02$ Abs của máy Shimadzu UV-1800.

Để xác định hoạt tính khử gốc tự do DPPH[•] của mẫu tinh dầu, 2,85 mL thuốc thử DPPH đã hiệu chỉnh được bổ sung vào 0,15 mL dung dịch mẫu tinh dầu đã pha loãng 100 lần. Hỗn hợp phản ứng được ủ 30 phút trong bóng tối và đo quang phổ hấp thụ UV-VIS đo ở bước sóng cực đại 515

nm. Mẫu blank dùng để đối chứng bao gồm 2,85 mL thuốc thử DPPH và 0,15 Methanol. Hoạt tính chống gốc tự do DPPH[•] (mg AAE/mL) được tính

theo công thức của Kamkar và cs (2010)[15] với một số kết hợp:

$$\text{Hoạt tính chống gốc tự do DPPH} = \frac{(\text{OD}_{\text{blank}} - \text{OD}_{\text{mẫu}}) \times 100 - b}{\text{OD}_{\text{blank}}} \times \text{dl}$$

Dung dịch chuẩn gốc axit Ascorbic nồng độ 1.000 ppm được chuẩn bị bằng cách định mức 0,01 gam axit Ascorbic đến 10 mL bằng Methanol. Pha loãng chất chuẩn ở các nồng độ 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 ppm. Tiến hành phản ứng với thuốc thử DPPH, sau đó đo UV-VIS ở bước sóng cực đại 515 nm, dựng đường chuẩn ở dạng hồi quy tuyến tính $y=ax+b$ từ nồng độ và kết quả đo UV-VIS.

2.4.4. Đánh giá khả năng kháng khuẩn

Phương pháp khuếch tán đĩa thạch để xác định tính nhạy cảm của vi khuẩn đối với thuốc kháng sinh, còn được gọi là xét nghiệm Kirby-Bauer [16]. Mỗi đĩa thạch được đổ 20 mL môi trường MHA tiếp đó 4 chủng vi khuẩn gồm *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619)12, *Escherichia coli* (ATCC 8739) và *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 17802) có nồng độ 10⁶ CFU được bơm 100 µL và trang đều trên bề mặt đĩa thạch. Các giếng giấy lọc có đường kính 6 mm

dày 0,5 mm được đặt vào đĩa thạch mỗi giếng được bơm cùng một thể tích là 25 µL, sử dụng nước cất làm đối chứng âm, kháng sinh Ampicillin được sử dụng làm đối chứng dương có khối lượng 10 µg/giếng, cuối cùng là mẫu thử nghiệm. Kết quả được đánh giá bằng cách đo đường kính ức chế sự phát triển của vi khuẩn trên đĩa thạch trừ đi đường kính của đối chứng âm [17]. Tất cả các thí nghiệm thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.5. Phương pháp phân tích số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và thống kê bằng phần mềm SPSS 27.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định các tính chất và thành phần của tinh dầu sả Java thô

Các tính chất của tinh dầu sả Java thô được xác định bao gồm có tính chất cảm quan, tỷ trọng, góc quay cực, chỉ số khúc xạ. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Các tính chất của tinh dầu sả Java

Tính chất	Kết quả	Phương pháp đánh giá
Tính chất cảm quan	Dạng lỏng trong suốt, màu vàng, mùi thơm nồng sả đặc trưng	TCVN 8460-2010 [11]
Tỷ trọng (20°C)	0,891 ± 0,005	TCVN 8444-2010 [12]
Góc quay cực (20°C)	-2,5° ± 0,5	TCVN 8446-2010 [13]
Chỉ số khúc xạ (20°C)	1,468 ± 0,003	TCVN 8445-2010 [14]

Nhìn chung các tính chất của tinh dầu sả Java được sử dụng trong nghiên cứu đáp ứng Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 11426:2016 cũng như tiêu chuẩn ISO 3848:2016 về tinh dầu sả Java [18]. Các tính chất này cũng tương tự như loại tinh dầu sả Java ở Indonesia theo nghiên cứu của W T Eden và cs (2018) [19]. Kết quả nghiên cứu cho thấy, mẫu tinh dầu này phù hợp để sử dụng cho toàn bộ các thí nghiệm của nghiên cứu.

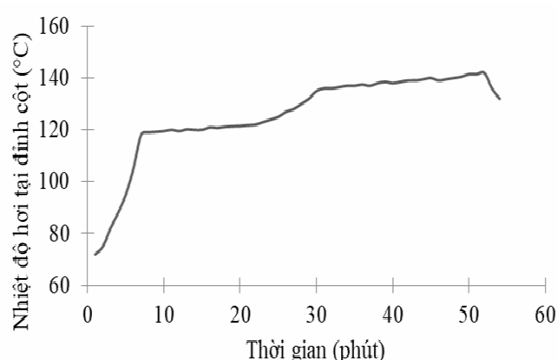
Thành phần của tinh dầu sả Java trong nghiên cứu nghiên cứu được xác định bằng phương pháp

sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS). Kết quả phân tích cho thấy có 20 cấu tử chính trong tinh dầu sả Java với 97,7% tổng thành phần được xác định là d-limonene, linalool, citronellal, isopulegol, citronellol, neral, geraniol, geranial, citronellyl acetate, eugenol, geranyl acetate, β-elemene, γ-amorphene, germacrene D, α-muurolene, δ-cadinene, α-elemol, germacrene D-4-ol, γ-eudesmol và α-cadinol. Các hợp chất vi lượng khác chiếm 2,3%. Kết quả phân tích thu được cho thấy, nồng độ cao của ba hợp chất chính quan trọng về mặt

thương mại là citronellal (32,76%), geraniol (17,29%) và citronellol (11,83%) chiếm 61,88% tổng thành phần tinh dầu. Kết quả này có sự tương đồng với một số báo cáo khác về thành phần tinh dầu sả Java với tổng thành phần 3 hợp chất này trong tinh dầu sả Java nằm trong khoảng 60 - 75% [20, 21]. Kết quả phân tích này là cơ sở để tiến hành quá trình chưng cất phân đoạn để thu hồi các phân đoạn giàu 3 cấu tử citronellal, geraniol và citronellol.

3.2. Giải đồ mô tả sự thay đổi nhiệt độ sản phẩm đỉnh theo thời gian chưng cất phân đoạn

Trong thí nghiệm này, sự thay đổi nhiệt độ sản phẩm đỉnh theo thời gian được ghi nhận bắt đầu từ giọt lỏng đầu tiên ngưng tụ tại bình nhận. Nhiệt độ được ghi nhận liên tục sau mỗi 1 phút. Trong quá trình chưng cất, nhiệt độ pha hơi ở sản phẩm đỉnh tăng liên tục, quá trình thí nghiệm kết thúc khi nhiệt độ sản phẩm đỉnh giảm 10°C. Thí nghiệm được tiến hành ở các điều kiện áp suất chân không 60 mbar, cột đĩa 300 mm, công suất bếp gia nhiệt 150 W.



Hình 1. Giải đồ nhiệt độ của tinh dầu sả Java theo thời gian chưng cất

Giải đồ nhiệt hình 1 cho thấy, sự thay đổi nhiệt độ sản phẩm đỉnh theo thời gian có thể chia thành bốn giai đoạn. Giai đoạn 1 với khoảng nhiệt độ từ 72 - 118°C với khoảng thời gian chưng cất là 7 phút, giai đoạn 2 với khoảng nhiệt độ 119 - 122°C (15 phút), giai đoạn 3 với khoảng nhiệt độ 122 - 135°C (8 phút) và giai đoạn 4 với khoảng nhiệt độ 136 - 142°C (22 phút). Giải đồ cho thấy, có hai giai đoạn khoảng nhiệt độ sản phẩm đỉnh được duy trì ổn định là giai đoạn 2 (119 - 122°C) và giai đoạn 4 (136 - 142°C). Đối chiếu với khoảng

nhiệt độ sản phẩm đỉnh theo áp suất chưng cất, giai đoạn 2 tương ứng với phân đoạn giàu citronella và giai đoạn 4 tương ứng với phân đoạn giàu citronellol và geraniol. Giai đoạn đầu tiên nhiệt độ sản phẩm đỉnh tăng rất nhanh 72 - 118°C, trong thời gian ngắn tương ứng với sự có mặt của các cấu tử nhẹ trong tinh dầu sả Java như limonene và linalool, đây là cấu tử có độ bay hơi cao có mặt trong tinh dầu sả Java ban đầu với hàm lượng thấp, do đó thời gian thu hồi rất nhanh. Sự chuyển đổi giữa 2 giai đoạn nhiệt độ ổn định ở khoảng 122 - 135°C do sự chuyển đổi giữa các thành phần từ phân đoạn 2 đến phân đoạn 4. Xu hướng biến đổi nhiệt độ sản phẩm đỉnh theo thời gian trong nghiên cứu này có sự tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Trọng Phúc Nguyên và cs (2022) [22]. Dựa vào kết quả giải đồ nhiệt, có thể phân chia quá trình này thành 4 phân đoạn khác nhau, trong đó phân đoạn 2 là phân đoạn giàu hàm lượng citronella và phân đoạn 4 là phân đoạn giàu citronellol và geraniol. Trong các thí nghiệm tiếp theo, quá trình chưng cất sẽ thu nhận 4 phân đoạn khác nhau dựa vào sự thay đổi của nhiệt độ sản phẩm đỉnh. Bốn phân đoạn này được thu hồi ở bốn bình nhận khác nhau.

3.3. Ảnh hưởng của áp suất chân không đến quá trình chưng cất phân đoạn tinh dầu

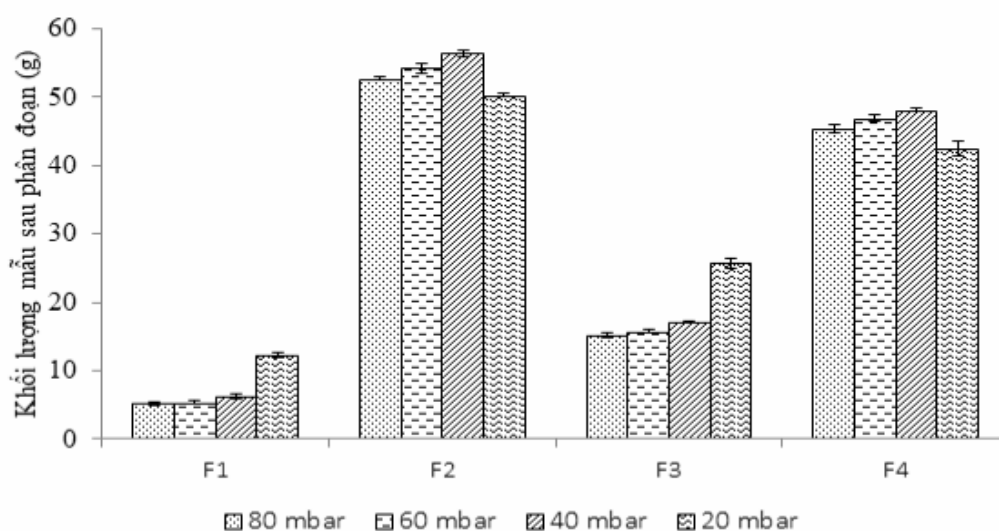
Tinh dầu nói chung không ổn định nhiệt, bị phân hủy hoặc oxy hóa ở nhiệt độ cao. Do đó, quy trình chưng cất được thực hiện ở áp suất chân không để giảm nhiệt độ bay hơi của hỗn hợp dễ bay hơi, tránh sự phân hủy các hợp chất không bền nhiệt trong tinh dầu. Trong thí nghiệm này, bốn mức áp suất chân không khác nhau là 20, 40, 60 và 80 mbar đã được khảo sát. Các thí nghiệm được thực hiện ở cột đĩa 300 mm và công suất bếp gia nhiệt 150 W. Kết quả khảo sát ở bảng 2 chỉ ra rằng việc giảm áp suất hệ thống chưng cất làm giảm thời gian chưng cất, áp suất vận hành thấp hơn làm tăng độ bay hơi của hỗn hợp chất lỏng, do đó đẩy nhanh quá trình chưng cất. Ở mức áp suất thấp nhất (20 mbar), tổng thời gian để phân đoạn các hợp chất là 36 phút, trong khi ở áp suất 40 mbar là 45 phút, ở áp suất 60 mbar là 52 phút và ở áp suất 80 mbar là 63 phút. Khoảng nhiệt độ sản phẩm đỉnh trong quá trình chưng cất tăng khi tăng

áp suất chung cất. Ở các mức áp suất 60 mbar và 80 mbar, nhiệt độ điểm sôi trong các phân đoạn dao động lần lượt từ 72 - 142°C và 76 - 148°C. Tại 2 mức áp suất này, nhiệt độ ở các phân đoạn cuối tăng cao và quan sát ở đáy bình chưng có hiện tượng đổi màu, điều này có thể được giải thích khi nhiệt độ tăng lên cao, một số hợp chất tinh dầu có thể bị phân hủy và biến tính dẫn đến chất lượng tinh dầu không ổn định. Ở các mức áp suất 20 mbar và 40 mbar, khoảng nhiệt độ thu hồi các

phân đoạn tương ứng là 60 - 118°C và 65 - 130°C. Tại 2 mức áp suất này, nhiệt độ thu hồi các phân đoạn tương đối thấp, thời gian thu hồi nhanh và không có hiện tượng phân hủy nhiệt ở đáy bình chưng, có thể cho ra các phân đoạn tinh dầu đạt chất lượng. Bên cạnh đó, thời gian chưng cất ngắn làm cho sự thất thoát tinh dầu trong quá trình chưng cất cũng thấp hơn ở hai mức áp suất 60 mbar và 80 mbar.

Bảng 2. Ảnh hưởng của áp suất đến thời gian chưng cất

Áp suất (mBar)	80	60	40	20
Thời gian (phút)	63 ± 3	52 ± 2	45 ± 2	36 ± 1
Khoảng nhiệt độ (°C)	76 - 148	72 - 142	65 - 130	60 - 118
Tổng khối lượng các phân đoạn (g)	140,0 ± 2,5	142,2 ± 2,2	146 ± 1,2	146 ± 1,4



Hình 2. Khối lượng phân đoạn thu được theo các ASCK khác nhau

Khối lượng các phân đoạn F1, F2, F3, F4 tương ứng với các mức áp suất khảo sát khác nhau được thể hiện ở hình 2.

Dựa vào hình 2 cho thấy rằng, tại ASCK ở 20 mbar, khối lượng thu hồi ở phân đoạn F1 và F3 cao hơn so với các mức áp suất còn lại, điều này có thể được giải thích, khi áp suất quá thấp, độ bay hơi của các cấu tử tăng lên, dẫn đến các hợp chất có xu hướng bị lôi cuốn theo trong quá trình chưng cất, làm giảm hiệu quả phân tách. Với mục tiêu thu hồi phân đoạn giàu citronella (F2) và phân đoạn

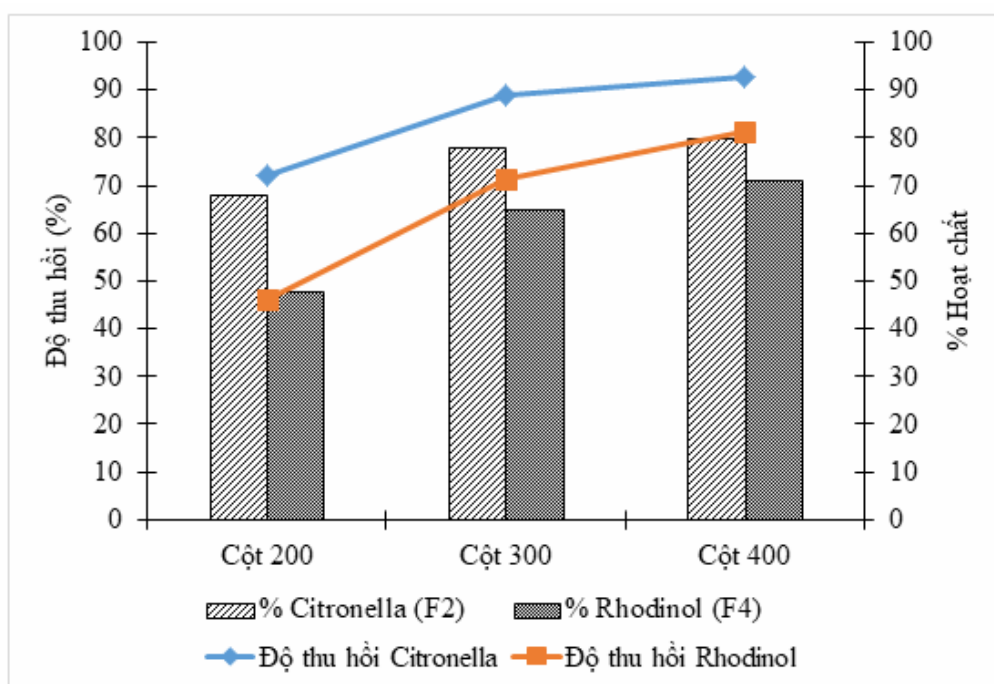
giàu hỗn hợp citronellol và geraniol (F4) nên tại áp suất 20 mbar có thể làm giảm độ thu hồi các hợp chất mục tiêu. Rõ ràng, áp suất chân không ảnh hưởng đến thời gian chưng cất phân đoạn cũng như hiệu suất thu hồi các phân đoạn mục tiêu. Điều này đã được quan sát thấy ở nghiên cứu của Beneti và cs (2011) [4] về ảnh hưởng của áp suất chân không đến việc phân tách tinh dầu sả và cam, cho thấy thời gian chưng cất thấp hơn có thể có lợi, ngoài năng suất cao hơn, các hợp chất của tinh dầu tiếp xúc với nhiệt độ cao trong thời gian ngắn hơn, do đó làm giảm khả năng phân hủy nhiệt và

đã chỉ ra rằng áp suất tối ưu để phân đoạn dầu sả là 5 mbar và tinh dầu cam là 10 mbar. Trong khi đó nghiên cứu của Đỗ Đình Nhật và cs (2021) cho thấy, áp suất 50 mmHg là phù hợp để phân đoạn tinh dầu sả chanh [23]. Từ các phân tích trên, có thể thấy trong nghiên cứu này mức áp suất 40 mbar là phù hợp để thực hiện quá trình chưng cất phân đoạn tinh dầu sả Java, vừa đảm bảo không có hiện tượng quá nhiệt, tinh dầu bị phân hủy vì nhiệt, vừa đảm bảo thu hồi tốt các phân đoạn mục

tiêu. Trong các khảo sát tiếp theo, áp suất 40 mbar được chọn để khảo sát các yếu tố ảnh hưởng khác.

3.4. Ảnh hưởng của chiều cao cột chưng cất đến quá trình phân đoạn tinh dầu

Ảnh hưởng của chiều cao cột phân đoạn chân không đến thời gian phân đoạn, hàm lượng và độ thu hồi citronella trong phân đoạn F2 và rhodinol (tổng hàm lượng hỗn hợp citronellol và geraniol) trong phân đoạn F4 đã được xem xét. Thí nghiệm được thực hiện ở áp suất chân không 40 mbar, công suất bếp gia nhiệt 150 W. Kết quả khảo sát được trình bày ở hình 3.



Hình 3. Hàm lượng và độ thu hồi citronella ở phân đoạn F2 và Rhodinol ở phân đoạn F4 khi sử dụng các cột chưng cất khác nhau (200 mm, 300 mm và 400 mm)

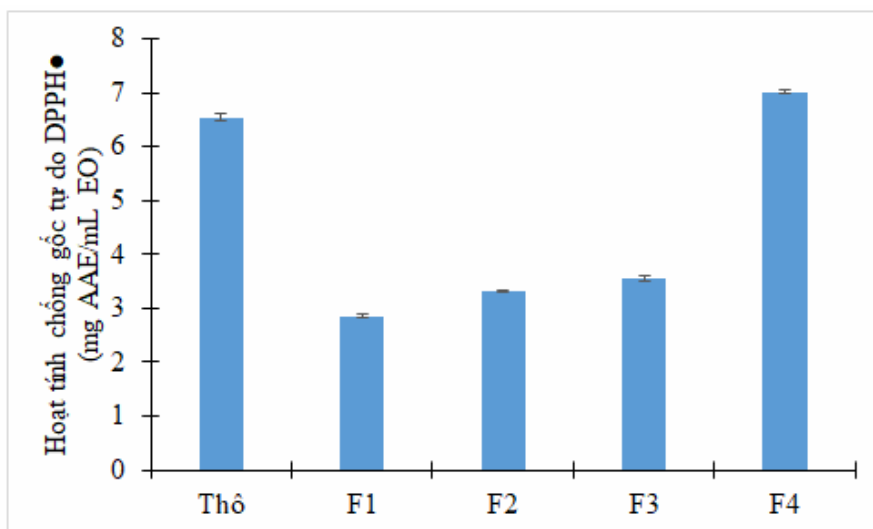
Kết quả cho thấy, cột phân đoạn càng cao thì thời gian chưng cất phân đoạn càng dài. Cụ thể, đối với các cột có chiều cao 200 mm, 300 mm và 400 mm, tổng thời gian phân đoạn lần lượt là 40, 45 và 51 phút. Đối với cột có chiều cao 200 mm, mặc dù thời gian phân tách ngắn hơn nhưng mức độ phân tách là kém nhất, dẫn đến hàm lượng citronella ở phân đoạn F2 (68,1%) và hàm lượng rhodinol ở phân đoạn F4 (48,2%) là nhỏ nhất trong 3 loại cột. Đối với cột 300 và 400 mm, khả năng phân tách tốt hơn và hàm lượng citronella ở phân đoạn F2 lần lượt là 78,1% và 80,2%, xu hướng tương

tự cũng được quan sát ở hàm lượng rhodinol thu được ở phân đoạn F4 lần lượt là 65% và 71%. Nhìn chung, cột phân tách càng cao, khả năng phân tách càng tốt, hàm lượng các hoạt chất chính trong các phân đoạn mục tiêu càng tăng khi tăng chiều cao cột. Độ thu hồi citronella ở phân đoạn F2 đạt giá trị cao nhất là 92,8% với hàm lượng citronella đạt 80,2% và độ thu hồi rhodinol ở phân đoạn F4 đạt giá trị cao nhất là 81,3% với hàm lượng 71,2% khi sử dụng cột chưng cất 400 mm. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Cahyani và cs (2019) đánh giá ảnh hưởng của chiều cao cột phân đoạn

chân không đối với thành phần phân đoạn của tinh dầu sả. Nghiên cứu cho thấy, chiều cao cột phân đoạn càng cao thì khả năng phân tách càng tốt và độ tinh khiết của các thành phần chính của dầu sả thu được càng cao [24].

3.5. Hoạt tính kháng oxy hóa của tinh dầu thô và các phân đoạn

Các mẫu được chuẩn bị cho phân tích gồm: tinh dầu nguyên liệu thô, các mẫu phân đoạn F1, F2, F3 và F4. Kết quả được trình bày ở hình 4.



Hình 4. Hoạt tính chống gốc tự do DPPH* (mg AAE/mL EO)

Hình 4 cho thấy, hoạt tính chống oxy hóa dựa trên khả năng khử gốc tự do DPPH của tinh dầu sả Java thô và 4 phân đoạn sau khi thực hiện phương pháp phân đoạn. Các phân đoạn này được khảo sát có giá trị thay đổi từ $2,8500 \pm 0,0378$ đến $7,0186 \pm 0,0254$ mg AAE/mL EO ($p < 0,05$) và sắp xếp theo thứ tự tăng dần như sau: Phân đoạn F1 ($2,8500 \pm 0,0378$ mg AAE/mL EO) < phân đoạn F2 ($3,3277 \pm 0,0186$ mg AAE/mL EO) < phân đoạn F3 ($3,5589 \pm 0,0417$ mg AAE/mL EO) < tinh dầu thô ($6,5373 \pm 0,0657$ mg AAE/mL EO) < phân đoạn F4 ($7,0186 \pm 0,0254$ mg AAE/mL EO). Phân đoạn 1 và phân

đoạn 2 có các hợp chất dễ bay hơi nhất có trong tinh dầu sả Java với thành phần chính gồm d-limonene và citronella cho thấy, khả năng kháng oxy hóa thấp nhất, thấp hơn so với tinh dầu thô ban đầu. Phân đoạn F3 với nhiều thành phần khác nhau có trong tinh dầu cũng cho thấy, khả năng kháng oxy hóa thấp hơn so với tinh dầu thô. Khả năng kháng oxy hóa tốt thể hiện ở F4, có thể liên quan đến sự có mặt của citronellol và geraniol trong phân đoạn này.

3.6. Khả năng kháng khuẩn của tinh dầu thô và các phân đoạn

Bảng 3. Kết quả kháng khuẩn của phương pháp khuếch tán đĩa thạch

Phạm vi ức chế vi khuẩn (mm)						
	Ampicillin	Thô	F1	F2	F3	F4
<i>S. aureus</i>	19,60	13,21	12,15	15,49	11,81	13,65
<i>S. pneumoniae</i>	17,27	12,58	12,05	14,03	10,84	13,76
<i>E. coli</i>	15,15	11,19	10,53	13,27	7,90	11,98
<i>V. parahaemolyticus</i>	20	14,68	12,27	15,48	11,36	14,94

Khả năng kháng khuẩn của tinh dầu sả Java và các phân đoạn (F1, F2, F3, F4) được thử nghiệm thông qua phương pháp khuếch tán đĩa thạch và chỉ tiêu xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC). Kết quả thể hiện ở bảng 3 cho thấy, các mẫu đều có tác dụng kháng khuẩn đối với cả 2 chủng gram dương (*S. aureus*, *S. pneumoniae*) và 2 chủng gram âm (*E. coli*, *V. parahaemolyticus*). Đường kính ức chế của các phân đoạn được thể hiện theo thứ tự F2>F4>Thô> F1>F3. Nhìn chung phân đoạn F4, có hàm lượng hỗn hợp rhodinol chiếm 71,2% có khả năng kháng khuẩn tốt hơn so với các phân đoạn F1, thô và F3. Phân đoạn F2, có hoạt tính kháng khuẩn tốt nhất điều này có thể là do sự hiện diện của 80,2% citronellal. Ở các phân đoạn khác nhau với các thành phần khác nhau nên dẫn đến khả năng kháng khuẩn của các phân đoạn cũng thay đổi, điều này cũng đã được báo cáo trong các nghiên cứu trước đây [25].

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, phương pháp chưng cất phân đoạn chân không được sử dụng để phân đoạn tinh dầu sả Java. Kết quả cho thấy, áp suất chân không và loại cột chưng cất ảnh hưởng đáng kể đến quá trình chưng cất phân đoạn chân không tinh dầu sả Java. Áp suất chân không 40 mbar và chiều cao cột đĩa 400 mm cho thấy, khả năng phân đoạn để thu hồi các phân đoạn giàu citronellal và rhodinol (hỗn hợp citronellol và genariol) tốt nhất với độ thu hồi citronella ở phân đoạn F2 đạt giá trị cao nhất là 92,8% với hàm lượng citronella đạt 80,2% và độ thu hồi rhodinol ở phân đoạn F4 đạt giá trị cao nhất là 81,3% với hàm lượng 71,2%. Tinh dầu sả Java thô và các phân đoạn của nó (F1, F2, F3, F4) cho thấy, sự khác biệt về hàm lượng thành phần cũng như các hoạt tính sinh học của chúng. Phân đoạn F4 với thành phần chính gồm citronellol và genariol cho thấy, khả năng kháng oxi hóa cao nhất, trong khi đó phân đoạn F2 với thành phần chính citronella cho thấy, khả năng kháng khuẩn tốt nhất trong các phân đoạn.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ từ Quỹ Giáo sư Lê Trí Viễn, trong khuôn khổ đề tài NCKH và Phát triển Công nghệ theo Quyết định số 1085/QĐ-NTT. Nhóm nghiên cứu trân trọng cảm ơn Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh và Trường Đại học Nguyễn Tất Thành đã hỗ trợ thực hiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Wany, A., Kumar, A., Nallapeta, S., Jha, S., Nigam, V. K., & Pandey, D. M. (2014). Extraction and characterization of essential oil components based on geraniol and citronellol from Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt). *Plant growth regulation*, 73, 133 - 145.
2. Verma, R. S., Verma, S. K., Tandon, S., Padalia, R. C., & Darokar, M. P. (2020). Chemical composition and antimicrobial activity of Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) essential oil extracted by different methods. *Journal of Essential Oil Research*, 32(5), 449 - 455.
3. Sharma, R., Rao, R., Kumar, S., Mahant, S., & Khatkar, S. (2019). Therapeutic potential of citronella essential oil: a review. *Current Drug Discovery Technologies*, 16(4), 330 -339.
4. Beneti, S. C., Rosset, E., Corazza, M. L., Frizzo, C. D., Di Luccio, M., & Oliveira, J. V. (2011). Fractionation of citronella (*Cymbopogon winterianus*) essential oil and concentrated orange oil phase by batch vacuum distillation. *Journal of Food Engineering*, 102(4), 348 - 354.
5. Wany, A., Jha, S., Nigam, V. K., & Pandey, D. M. (2013). Chemical analysis and therapeutic uses of citronella oil from *Cymbopogon winterianus*: A short review. *International Journal of Advanced Research*, 1(6), 504 - 521.
6. Rastogi, S. C., Johansen, J. D., & Menne, T. (1996). Natural ingredients based cosmetics: Content of selected fragrance sensitizers. *Contact Dermatitis*, 34(6), 423 - 426.

7. Rastogi, S. C., Heydorn, S., Johansen, J. D., & Basketter, D. A. (2001). Fragrance chemicals in domestic and occupational products. Contact dermatitis, 45(4), 221 - 225.
8. Medicherla, K., Sahu, B. D., Kuncha, M., Kumar, J. M., Sudhakar, G., & Sistla, R. (2015). Oral administration of geraniol ameliorates acute experimental murine colitis by inhibiting pro-inflammatory cytokines and NF- κ B signaling. Food & function, 6(9), 2984 - 2995.
9. Silvestre, W. P., Agostini, F., Muniz, L. A., & Pauletti, G. F. (2016). Fractionating of green mandarin (*Citrus deliciosa* Tenore) essential oil by vacuum fractional distillation. *Journal of Food Engineering*, 178, 90 - 94.
10. Milojević, S., Glišić, S., & Skala, D. (2010). The batch fractionation of *Juniperus communis* L. essential oil: experimental study, mathematical simulation and process economy. Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly, 16(2), 183 - 191.
11. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8460:2010 về Tinh dầu - Đánh giá cảm quan.
12. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8444:2010 về xác định tỷ trọng
13. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8446:2010 về góc quay cực
14. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8445:2010 về chỉ số khúc xạ
15. Kamkar, A., Javan, A. J., Asadi, F., & Kamalinejad, M. (2010). The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. Food and Chemical Toxicology, 48(7), 1796 - 1800.
16. Shoaib, M., Satti, L., Hussain, A., Khursheed, N., Sarwar, S., Shah, A. H., ... & Shah, A. (2021). Disc diffusion testing of azithromycin against clinical isolates of typhoidal *Salmonellae*: a diagnostic conundrum. Cureus, 13(7).
17. Yang, F., Zhang, H., Tian, G., Ren, W., Li, J., Xiao, H., & Zheng, J. (2021). Effects of molecular distillation on the chemical components, cleaning, and antibacterial abilities of four different citrus oils. *Frontiers in Nutrition*, 8, 731724.
18. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 11426:2016 (ISO 3648:2016) về tinh dầu xả Java.
19. W Eden, W. T., Alighiri, D., Cahyono, E., Supardi, K. I., & Wijayati, N. (2018, April). Fractionation of Java citronella oil and citronellal purification by batch vacuum fractional distillation. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (Vol. 349, No. 1, p. 012067). IOP Publishing.
20. Songkro, S., Hayook, N., Jaisawang, J., Maneenuan, D., Chuchome, T., & Kaewnopparat, N. (2012). Investigation of inclusion complexes of citronella oil, citronellal and citronellol with β -cyclodextrin for mosquito repellent. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 72, 339 - 355.
21. Cassel, E., & Vargas, R. M. (2006). Experiments and modeling of the *Cymbopogon winterianus* essential oil extraction by steam distillation. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 50(3), 126 - 129.
22. Nguyễn Trọng Phúc Nguyễn, Lê Minh Thành, Tống Thành Danh, Lê Xuân Tiến (2022). Chung cất phân đoạn citronellal từ tinh dầu xả java (*Cymbopogon winterianus*) và tinh dầu bạch đàn chanh (*Eucalyptus citriodora*). *Tạp chí Công thương*, vol. 3, Các kết quả nghiên cứu khoa học và ứng dụng công nghệ.
23. Do, D. N., Nguyen, D. P., Phung, V. D., Le, X. T., Le, T. M., Do, V. M., ... & Luu, X. C. (2021). Fractionating of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil by vacuum fractional distillation. *Processes*, 9(4), 593.

24. Cahyani, C. & Cahayo, M. (2019, June). Effect of Column Length in Batch Vacuum Fractionation on The Distribution of Major Components of Citronella Oil (*Cymbopogon winterianus*). In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering vol. 546, No. 2, p. 022033). IOP Publishing.

25. Do, D. N., Nguyen, H. T. T., Huynh, T. H., Nguyen, N. P. & Luu, X. C. (2021, July). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil and its fractions obtained by vacuum distillation. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (Vol. 1166, No. 1, p. 012051). IOP Publishing.

FRACTIONATING OF JAVA (*Cymbopogon winterianus*) ESSENTIAL OIL BY VACUUM DISTILLATION AND EVALUATION OF BIOACTIVITIES OF FRACTIONS

**Do Dinh Nhat^{1,2,3}, Vũ Quang Manh³, Le Ngoc Duy Tam³,
Le Xuan Tien^{1,2}, Le Thi Kim Phung^{1,2}**

¹*Faculty of Chemical Engineering, Ho Chi Minh City University of Technology (HCMUT)*

²*Vietnam National University Ho Chi Minh*

³*Institute of Applied Technology and Sustainable Development, Nguyen Tat Thanh University*

Summary

Java citronella essential oil (*Cymbopogon winterianus*) is a natural product with many biological activities and is commonly used in the food and cosmetics industries. This work aims to evaluate the use of vacuum fractional distillation to separate Java essential oil compounds, producing essential oil fractions containing high citronellal and rhodinol (mixture of citronellol and genariol) content. The effect of process parameters, namely vacuum pressure and type column on the fractionation time, content, and recovery of citronellal and rhodinol in the fractions, was investigated. The fractions were then evaluated for their antioxidant and antibacterial properties. The fractionation of Java oils successfully provided four fractions, i.e., fraction 1 (F1), fraction 2 (F2), fraction 3 (F3) and fraction 4 (F4). GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) spectra showed that the main compound contained in F2 fractions was citronella. Meanwhile, F4 was the main fraction for rhodinol recovery. The optimal conditions of the fractional distillation system included a column height of 400 mm, and pressure of 40 mbar. These conditions correspond to the highest total citronella content of 80.2%, with a recovery of 92.8% at the F2 fraction and the highest total rhodinol content of 71.2%, with a recovery of 81.3% at the F4 fraction. Different Java essential oil fractions show different anti-oxidant and anti-bacterial properties. Fraction 4 with main components including citronellol and genariol showed the highest antioxidant capacity (7.0186 ± 0.0254 mg AAE/mL EO). Meanwhile, the F2 fraction with the main ingredient citronella showed the best antibacterial ability among the fractions and the original essential oil.

Keywords: *Essential oils, Java (Cymbopogon winterianus), fractional distillation.*

Người phản biện: GS.TS. Trần Đình Thắng

Ngày nhận bài: 16/01/2024

Ngày thông qua phản biện: 19/01/2024

Ngày duyệt đăng: 29/01/2024