ẢNH HƯỞNG CÁC ĐIỀU KIỆN CHƯNG CẤT BẰNG PHƯƠNG PHÁP LÔI CUỐN HƠI NƯỚC CÓ HỖ TRỢ SÓNG SIÊU ÂM VÀ PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TINH DẦU BẠC HÀ NHẬT (*Mentha arvensis* L.)

Phan Phước Hiền[1], Mã Bích Như[1*], Bùi Thị Ái My[2]

TÓM TẮT

Ngày nay, chiết xuất tinh dầu bạc hà Nhật được thực hiện bằng các phương pháp thông thường đòi hỏi tốn nhiều năng lượng, dung môi và thời gian trích ly kéo dài. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chiết xuất tinh dầu bạc hà được thực hiện bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có hỗ trợ sóng siêu âm để rút ngắn thời gian và tiêu hao năng lượng. Các yếu tố trong quá trình chưng cất tinh dầu được khảo sát như thời gian, công suất xử lý sóng siêu âm, thời gian chưng cất, thể tích dung môi được khảo sát. Tinh dầu sau khi thu được sẽ được phân tích thành phần hóa học bằng phương pháp sắc kí khí ghép khối phổ GC-MS. Kết quả cho thấy, thời gian và công suất xử lí với sóng siêu âm là 60 phút và 250 W, thời gian chưng cất là 60 phút và thể tích dung môi là 400 ml sẽ cho hàm lượng tinh dầu thu được cao nhất.

Từ khóa: *Bạc hà Nhật, chưng cất lôi cuốn hơi nước, hỗ trợ với sóng siêu âm.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bạc hà Nhật (*Mentha arvensis* L.), là loài cây thảo mộc lưu niên thuộc chi Mentha và họ Lamiaceae, hiện được nhiều quốc gia trên thế giới sử dụng rộng rãi trong công nghệ dược phẩm, mỹ phẩm và hương liệu [1]. Ở các quốc gia phát triển, bạc hà được sử dụng để tạo hương liệu cho dược phẩm, nước giải khát, kem đánh răng và nước xúc miệng. Theo đông y, cây bạc hà không chỉ là nguyên liệu ẩm thực, còn là vị thuốc được sử dụng rộng rãi để điều trị như chữa cảm mạo phong nhiệt, nhức đầu, viêm họng, đầy bụng, đau mắt đỏ, viêm loét ở miệng…

Ở nước ta, trước đây hoàn toàn phải nhập Menthol và tinh dầu bạc hà để phục vụ cho nhu cầu ngành dược. Đứng trước nhu cầu cấp bách đó, sau một thời gian dài nhập nội và thuần hóa, do cây bạc hà có giá trị kinh tế cao nên trong những năm gần đây bạc hà Nhật hiện nay được trồng nhiều nơi ở nước ta như: Yên Bái, Lai Châu, Nghệ An… [2]

Có nhiều phương pháp khác nhau để trích tinh dầu như chiết bằng dung môi dễ bay hơi, chiết bằng CO_2 ở trạng thái siêu tới hạn, chiết bằng nước ở trạng thái siêu tới hạn, chiết vi mô đến pha tĩnh, chiết có hỗ trợ siêu âm, chiết có hỗ trợ vi sóng nhưng phương pháp thường được sử dụng nhất là chưng cất lôi cuốn hơi nước [3]. Các nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy, việc chiết tinh dầu bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có hỗ trợ sóng siêu âm có hiệu quả rút ngắn được thời gian chưng cất và tăng khối lượng tinh dầu thu được [3], [4]. Tuy nhiên, ở Việt Nam nghiên cứu về kỹ thuật trích ly tinh dầu bạc hà bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có hỗ trợ sóng siêu âm nói riêng còn khá ít. Mục đích của nghiên cứu này là xác định sự ảnh hưởng của một số thông số công nghệ trong quá trình trích ly tinh dầu bạc hà bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước có hỗ trợ sóng siêu âm đến hiệu suất thu hồi tinh dầu xác định thành phần hóa học của tinh dầu thu được bằng phương pháp sắc kí khí ghép khối phổ GC-MS.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Nguyên liệu chính: lá bạc hà Nhật (*Mentha arvensis* L.) tươi được trồng tại vườn ươm Viện Nghiên cứu Công nghệ sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh. Nguyên liệu bạc hà tươi được trồng và thu hoạch vào tháng 5 đến tháng 9 năm 2020. Nguyên liệu còn tươi gồm và thân và cành được xử lý sơ bộ, loại bỏ tạp chất, rễ, rửa sạch, cắt nhỏ hoặc xay nhuyễn trước khi đem đi chưng cất tinh dầu.

Hóa chất: Na_2SO_4. Thiết bị: Bộ chưng cất hơi nước Clevenger, cân điện tử 4 số, máy siêu âm dạng

[1] Viện Khoa học Công nghệ Ứng dụng, Trường Đại học Văn Lang
[*]Email: nhu.mb@vlu.edu.vn
[2] Bộ môn Công nghệ hóa học, Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh

bể (power sonic 510), pipet, bình cầu 1.000 ml, ống đong.

2.2. Bố trí thí nghiệm

50 g bạc hà Nhật tươi gồm lá và thân xay nhỏ, sau đó đưa đi xử lí bằng máy siêu âm (power sonic 510) với điều kiện khảo sát là cường độ và thời gian siêu âm. Nguyên liệu sau khi xử lí với sóng siêu âm được mang đi ly trích tinh dầu bạc hà bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước ở nhiệt độ 120°C với các điều kiện khảo sát là các yếu tố: thời gian trích ly, nhiệt độ trích ly. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.2.1. Ảnh hưởng của thời gian và cường độ xử lí nguyên liệu với sóng siêu âm.

Thực hiện chiết xuất tinh dầu bạc hà kết hợp với sóng siêu âm với thời gian xử lí thay đổi: 0, 20, 40, 60, 80 phút và công suất siêu âm thay đổi: 100, 250, 500 W ở thời gian trích ly là 60 phút, dung môi là 400 ml nước cất.

2.2.2. Ảnh hưởng của thời gian trích ly

Để tìm ra thời gian chiết xuất tinh dầu từ bạc hà đạt kết quả cao, đã lựa chọn chiết xuất từ bạc hà với các mốc thời gian sau: 30, 45, 60, 75, 90 phút ở dung môi là 400 ml nước cất. Giá trị công suất và thời gian siêu âm lấy từ kết quả từ thí nghiệm 2.2.1

2.2.3. Ảnh hưởng của thể tích dung môi

Thí nghiệm được tiến hành với thể tích dung môi thay đổi là: 200, 300, 400, 500, 600 ml. Giá trị công suất và thời gian siêu âm lấy kết quả từ thí nghiệm 2.2.1. Giá trị thời gian trích ly lấy kết quả từ thí nghiệm 2.2.2.

2.3. Phương pháp phân tích

Phương pháp tính hàm lượng tinh dầu thu được theo ml/g VCK. Xác định ẩm độ nguyên liệu ban đầu theo cơ sở ướt:

$$W_b = \frac{m_{bd} - m_{ss}}{m_{bd}} . 100\%$$

Từ đó suy ra ẩm độ theo cơ sở khô:

$$d_b = 100\% - W_b$$

Cân m_1 (g) khối lượng nguyên liệu đem chưng cất, tính hàm lượng VCK có trong m_1 (g).

$$VCK_1 = m_1 . d_{b1} \text{ (g)}$$

Đọc thể tích tinh dầu thu được (sau khi chưng cất m_1 (g) khối lượng nguyên liệu).

Từ đó suy ra, hàm lượng tinh dầu có trong 1 g VCK là:

$$h = \frac{1.v}{VCK} \left(\frac{ml}{g} VCK\right)$$

Trong đó: h là hàm lượng tinh dầu có trong 1g VCK (ml/g VCK); v là thể tích tinh dầu đọc được (ml); W_b là ẩm độ nguyên liệu theo cơ sở ướt (%); m_{bd} là khối lượng nguyên liệu tươi ban đầu (g); m_{ss} là khối lượng nguyên liệu sau khi sấy (g); d_b là ẩm độ nguyên liệu theo cơ sở khô (%); VCK là khối lượng vật chất khô (g).

- Sau ly trích thu được tinh dầu thô, tách tinh dầu và tinh chế bằng cách: Tách lấy tinh dầu thô, sau đó đem tinh dầu đi chưng lần thứ hai với 400 ml nước cất. Gạn lấy tinh dầu sau đó làm khan với Na_2SO_4. Hút lấy tinh dầu thu được tinh dầu đã tinh chế.

- Đem tinh dầu đi phân tích trên thiết bị GC-MS để xác định thành phần hóa học của tinh dầu bạc hà.

2.4. Xác định thành phần hóa học tinh dầu bạc hà

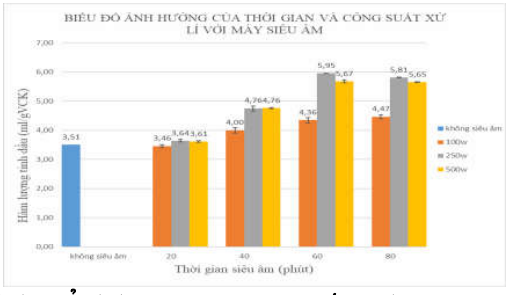
Tiến hành phân tích thành phần có trong tinh dầu bạc hà bằng GC-MS (máy GC Agilent 6890N, MS 5973 inert), 1 ml mẫu được gửi và thực hiện tại Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng (Phòng phân tích hóa lý). Mẫu tinh dầu (25 µl) pha trong 1,0 ml n-hexan (Meck). Tiêm mẫu: 1,0 µl, tỉ lệ chia dòng 1:50.Cột HP5-MS (0,2 5µm, 0,25 mm, 30 m), áp suất He đầu cột 9,3 psi. Chương trình nhiệt cho mẫu: 50°C giữ trong 2 phút sau đó tăng 2°C/phút đến 80°C, tăng 5°C/phút đến 150°C, tiếp tục tăng 10°C/phút đến 200°C, tăng 20°C/phút đến 300°C giữ trong 5 phút.

2.5. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần và sử dụng phần mềm Statgraphic và Excel để phân tích và xử lý số liệu thống kê. Kết quả của tất cả các thí nghiệm được thể hiện dưới dạng trung bình $\pm$ SD của hai lần lặp lại. Ý nghĩa thống kê ở mức tin cậy ($p<0,05$).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của công suất và thời gian xử lí mẫu với máy siêu âm tới hàm lượng tinh dầu

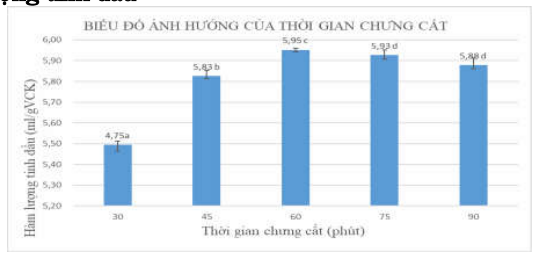


Hình 1. Ảnh hưởng của công suất và thời gian xử lí mẫu với máy siêu âm

Hình 1 cho thấy sử dụng sóng siêu âm hỗ trợ có ảnh hưởng đến hàm lượng thu hồi tinh dầu thu được. Khi tăng thời gian siêu âm từ 0 đến 60 phút, thì lượng tinh dầu thu hồi tăng lên có khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với mẫu đối chứng (không siêu âm). Vì khi kéo dài thời gian siêu âm sẽ làm tăng mức độ phá vỡ tế bào, có lợi cho việc giải phóng tinh dầu và khuếch tán vào nước, làm tăng hiệu suất thu hồi tinh dầu [5]. Nhưng khi tiếp tục kéo dài thời gian thì hiệu suất thu hồi không có ý nghĩa về mặt thống kê bởi vì mất các thành phần dễ bị bay hơi và các thành phần bị suy giảm [6]. Ngoài ra lượng tinh dầu trong nguyên liệu là có giới hạn nên khi siêu âm đến một thời gian nhất định thì hiệu suất thu hồi sẽ không tăng [4]. Vì vậy, chọn thời gian siêu âm là 60 phút cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bên cạnh đó, khi tăng công suất siêu âm từ 0 lên 250 W thì hiệu suất thu hồi tăng lên so với mẫu không siêu âm. Đó là do công suất siêu âm càng lớn thì hiện tượng xâm thực khí càng mạnh [7] do mô và cấu trúc thành tế bào bị phá vỡ nhiều hơn và hiệu suất trích ly tăng lên [8]. Nhưng khi tiếp tục tăng công suất siêu âm từ 250 W lên 500 W thì hàm lượng tinh dầu thu được không có ý nghĩa về mặt thống kê. Vì hàm lượng tinh dầu trong nguyên liệu có giới hạn và hiệu suất thu hồi tinh dầu chỉ tăng đến một giá trị nhất định. Vì vậy chọn công suất siêu âm cho các thí nghiệm tiếp theo là 250 W.

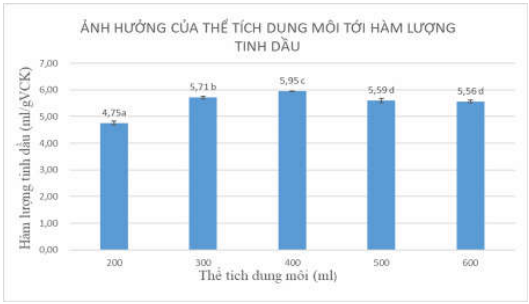
3.2. Ảnh hưởng của thời gian trích ly tới hàm lượng tinh dầu



Hình 2. Ảnh hưởng của thời gian trích ly

Hình 2 cho thấy, thời gian trích ly có ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu thu được. Cụ thể là hàm lượng tinh dầu tăng dần trong 60 phút đầu sau đó giảm dần. Thời gian 60 phút (hàm lượng tinh dầu thu được 5,95ml/gVCK) và 75 phút (hàm lượng tinh dầu thu được 5,93ml/gVCK) không khác biệt với nhau về mặt thống kê. Vì khi kéo dài thời gian đến một giới hạn nhất định thì lượng tinh dầu thu được không tăng nữa, đồng thời có thể ảnh hưởng xấu đến chất lượng sản phẩm. Mặt khác, thời gian trích ly kéo dài cũng làm tiêu hao năng lượng cho quá trình cấp nhiệt. Vì vậy thời gian trích ly thích hợp cho quá trình chưng cất là 60 phút.

3.3. Ảnh hưởng của thể tích dung môi tới hàm lượng tinh dầu thu được

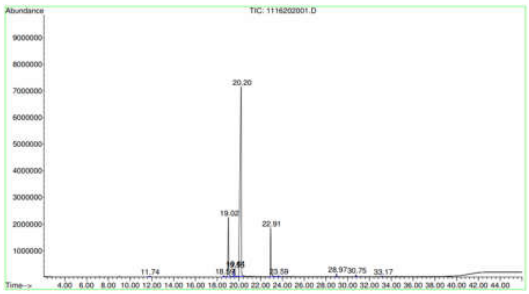


Hình 3. Ảnh hưởng của thể tích dung môi

Hình 3 cho thấy, thể tích dung môi ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu thu được. Ứng với thể tích 200 ml, hàm lượng tinh dầu thu được là 4,75 ml/g VCK, đến thể tích 400 ml hàm lượng tinh dầu thu được cao nhất là 5,95 ml/g VCK, nhưng đến thể tích 500 ml và 600 ml thì lại giảm dần xuống 5,59 ml/g VCK và 5,56 ml/g VCK. Từ đó, lựa chọn thể tích dung môi phù hợp cho quá trình trích ly là 400 ml.

3.4. Xác định các thành phần hóa học trong tinh dầu bạc hà

Phổ GC-MS của tinh dầu được thể hiện ở hình4.



Hình 4. Sắc kí đồ phân tích GC-MS của tinh dầu bạc hà

Kết quả phân tích GC-MS, thành phần của tinh dầu bạc hà được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần tinh dầu bạc hà phân tích bằng GC - MS

TT	Rt (phút)	Tên chất	Hàm lượng (%)	Độ tương hợp khối phổ (%)
1	11,74	D-Limonene	0,11	74
2	18,60	Isopulegol	0,32	81
3	19,02	Menthone	11,55	93
4	19,55	Isomenthone	1,09	93
5	19,61	Neomenthol	1,98	88
6	20,20	Menthol	75,00	96
7	22,92	Pulegone	8,70	91
8	23,58	Piperitone	0,35	71
9	28,97	Caryophyllene	0,47	88
10	30,75	Không xác định	0,29	-
11	33,17	Caryophyllene oxide	0,14	73

Ghi chú: "-" không quy định

Bảng 1 cho thấy, kết quả phân tích thành phần hóa học chính của tinh dầu bạc hà là menthol (75%), menthone (11,55%), pulegone (8,7%). So sánh với kết quả nghiên cứu của Panday et al (2003) [9] về giống bạc hà trồng ở Ấn Độ với lượng menthol (74,58%), menthone (13,46%), kết quả thay đổi không đáng kể nhưng hàm lượng pulegon trong thí nghiệm (8,7%) cao hơn nhiều so với kết quả của Pandey *et al.* (2003)[9](4,12%). Qua đó cho thấy hàm lượng và thành phần hóa học của tinh dầu có thể khác nhau do điều kiện thổ nhưỡng, khí hậu, điều kiện dinh dưỡng chăm sóc cây của từng vùng khác nhau. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu này cho thấy, chưng cất lôi cuốn hơi nước có hỗ trợ sóng siêu âm thu được hàm lượng tinh dầu tăng, thời gian cũng như năng lượng trích ly giảm đáng kể so với các kết quả nghiên cứucủa Pandey *et al.* (2003)[9].

4. KẾT LUẬN

- Điều kiện thích hợp để chưng cất tinh dầu bạc hà bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có hỗ trợ sóng siêu âm là: thời gian xử lý siêu âm: 60 phút, cường độ xử lý siêu âm: 250 W, thời gian trích ly: 60 phút, thể tích dung môi: 400 ml.

- Bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS), đã phân tích định tính và định lượng các cấu tử hương trong tinh dầu bạc hà gồm 11 cấu tử bay hơi, trong đó cấu tử chiếm hàm lượng lớn nhất là menthol (75%), kế đó là menthone (11,55%) và thứ 3 là pulegone (8,7%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Edris, A. E., Shalaby, M, A., Fradel and Wahab. (2003). *Evaluation of a chemotype of spearmint (Mentha spicata* L.*) grown in Siwa Oasis, Egypt.European Food Research and Technology,* 218(1), 74-78.

2. Mai Hải Châu, Nguyễn Thị Mai, Tường Thị Thu Hằng (2017). *Ảnh hưởng của mật độ và thời gian thu hoạch đến sinh trưởng và năng suất tinh dầu bạc hà (Mentha piperita* L.*). Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp, 6, 1 - 6.*

3. Kowalski, R., Kowalska, G., Jamroz, J., Nawrocka, A., & Metyk, D. (2015). Effect of the ultrasound-assisted preliminary maceration on the efficiency of the essential oil distillation from selected herbal raw materials. *Ultrasonics sonochemistry, 24*, 214-220.

4. Kowalski, R., & Wawrzykowski, J. (2009). Effect of ultrasound – assisted maceration on the quality of oil from the leaves of thyme *Thymus vulgaris* L.*Flavour and Fragrance Journal, 24* (2), 69 - 74.

5. Chen, G., Sun, F., Wang, S., Wang, W., Dong, J., & Gao, F. (2020). Enhanced extraction of essential oil from Cinnamomum cassia bark by ultrasound assisted hydrodistillation. *Chinese Journal of Chemical Engineering*.

6. Bahmani, L., Aboonajmi, M., Arabhosseini, A., & Mirsaeedghazi, H. (2018). Effects of ultrasound

pre-treatment on quantity and quality of essential oil of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) leaves. *Journal of applied research on medicinal and aromatic plants, 8*, 47-52.

7. Li, J.-w., Ding, S.-d., & Ding, X.-l. (2007). Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from Zizyphus jujuba cv. jinsixiaozao. *Journal of food engineering, 80* (1), 176 - 183.

8. Toma, M., Vinatoru, M., Paniwnyk, L., & Mason, T. J. (2001). Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. *Ultrasonics sonochemistry, 8* (2), 137-142.

9. Pandey, A., Rai, M., & Acharya, D. (2003). Chemical composition and antimycotic activity of the essential oils of corn mint (*Mentha arvensis*) and lemon grass (*Cymbopogon flexuosus*) against human pathogenic fungi. *Pharmaceutical Biology,* 41(6), 421-425.

EFFECT OF ULTRASOUND - ASSISTED HYDRODISTILLATION ON CHEMICAL PROPERTIES OF ESSENTIAL OIL FROM JAPANESE MINT LEAVES (*Mentha arvensis* L.)

Phan Phuoc Hien[1], Ma Bich Nhu[1*], Bui Thi Ai My[2]

[1]Institute of Applied Science and Technology,

Van Lang University, Ho Chi Minh city, Vietnam

[*]Email: nhu.mb@vlu.edu.vn

[2]Department of Chemistry, Nong Lam University, Ho Chi Minh city, Vietnam

Summary

Nowadays, Japanese mint oil extraction is carried out using conventional methods although methods require large amount of energy, solvent and long duration. Therefore, in this study, Japanese mint oil extraction was done using an ultrasound assisted hydro - distillation method. In addition, to optimize the extraction process of mint oil, effect of extraction conditions (time, solvent volume, sonication time and power) on physical and chemical properties were investigated. The results showed that duration and power with ultrasonic waves were obtained 60 minutes and 250 W, respectively. The highest oil content of the extract was obtained at 60 min and 400 ml for solvent volume. The volatile compounds in mint oil were determined by GC-MS: menthol (76.98%), menthone (12.64%) and pulegone (8.7%).

Keywords: *Ultrasound assisted, hydro-distillation, Mentha arvensis L.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thanh Hằng

Ngày nhận bài: 23/6/2021

Ngày thông qua phản biện: 23/7/2021

Ngày duyệt đăng: 30/7/2021