



# NGHIÊN CỨU CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN KHẢ NĂNG TÁCH CHIẾT TINH DẦU TỪ HẠT SA NHÂN

Trần Vũ Thị Như Lành<sup>1</sup>, Nguyễn Hiền Trang<sup>2</sup>, Nguyễn Cao Cường<sup>2</sup>, Nguyễn Đức Chung<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Trung cấp nghề số 10 – Huế

<sup>2</sup>Trường Đại Học Nông Lâm, Đại học Huế

**Tóm tắt:** Sa nhân có khoảng 13 giống với trên 100 loài được trồng ở một số nước như Ấn độ, Malaysia, Trung Quốc, Việt Nam. Sa nhân sử dụng cho nghiên cứu này là giống sa nhân *Amomum xanthioides* Wall. được trồng ở Huyện Tiên Phước, Quảng Nam. Quả sa nhân khô được bóc vỏ, xay nhỏ thành bột và chưng cất bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước để thu tinh dầu thô. Tinh dầu nguyên chất thu được bằng cách bổ sung  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  đến 5% so với thể tích tinh dầu thô sử dụng. Kết quả khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng trích ly tinh dầu cho thấy điều kiện thích hợp để trích ly là: kích thước bột sa nhân  $\leq 1\text{mm}$ , tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/7 (g/ml), chưng cất ở  $130^\circ\text{C}$  trong 4 giờ. Thành phần hóa học trong tinh dầu sa nhân được xác định bằng GC-MS với các thành phần chính phân tích được là camphene (8,67%), limonene (9,70%), camphor (31,21%) và endobornyl acetate (36,87%).

**Từ khóa:** *Amomum xanthioides* Wall., tinh dầu, chưng cất lôi cuốn hơi nước, GC-MS

## 1 Đặt vấn đề

Sa nhân (*Amomum xanthioides* Wall.) là cây thuốc quý được sử dụng trong nhiều bài thuốc đông y để kích thích tiêu hóa, chữa đầy hơi, tiêu chảy, ăn không tiêu, nôn mửa, đau bụng, đau dạ dày, đau nhức răng, tê thấp... [3]. Ngoài ra, sa nhân được biết đến như là một loại gia vị rất được ưa chuộng và có giá trị xuất khẩu lớn.

Quả sa nhân có 2-3% tinh dầu, trong tinh dầu có chứa nhiều hợp chất hóa học giá trị như: camphen,  $\beta$ -pinen, limonen, camphor, borneol, saponin... Tinh dầu sa nhân có tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm với hiệu lực ức chế cao, bên cạnh đó tinh dầu còn có khả năng chống oxy hóa mạnh nên có thể sử dụng làm chất bảo quản thực phẩm tự nhiên rất tốt [8], [10]. Ngoài tác dụng kháng khuẩn, các hợp chất trong sa nhân cũng được chứng minh là có tác dụng kìm hãm sự phát triển của tế bào ung thư [9].

Có nhiều phương pháp tách chiết tinh dầu khác nhau như: phương pháp cơ học, chưng cất lôi cuốn hơi nước, trích ly bằng dung môi dễ bay hơi, chiết xuất bằng chất lỏng siêu tới hạn ( $\text{CO}_2$ ), trích ly dưới sự hỗ trợ của vi sóng... Trong đó phương pháp tách chiết bằng chưng cất lôi cuốn hơi nước khá phổ biến, đơn giản, chi phí thấp, nhưng trích ly triệt để và chất lượng tinh dầu tốt.

Bên cạnh đó, việc tách chiết tinh dầu sa nhân ở Việt Nam ít được quan tâm và chưa có một công bố khoa học nào về quy trình công nghệ tách chiết tinh dầu sa nhân. Vì vậy, chúng tôi tiến hành khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng tách chiết tinh dầu từ hạt sa nhân.

\*Liên hệ: [nguyenducchung@huaf.edu.vn](mailto:nguyenducchung@huaf.edu.vn)

## 2 Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1 Nguyên liệu

Quả sa nhân khô (*Amomum xanthioides* Wall.) (2kg nguyên liệu) được thu mua từ huyện Tiên Phước, tỉnh Quảng Nam. Các quả to, tròn, không bị sâu mọt, mốc được lựa chọn, loại bỏ vỏ thu được hạt sa nhân (độ ẩm 12,57%) và sử dụng làm nguyên liệu cho các thí nghiệm trong nghiên cứu này.

Muối khan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  có độ tinh khiết 99,2% (Merck, Đức sản xuất).

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

Tinh dầu hạt sa nhân được tách chiết bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước theo Dược Điển Việt Nam IV (2009). Sử dụng thiết bị chưng cất Clevenger, mẫu nguyên liệu/nước được gia nhiệt cho đến khi hỗn hợp sôi, hơi nước tạo thành sẽ lôi cuốn tinh dầu đi lên. Hỗn hợp hơi lỏng tiếp tục vào hệ thống làm nguội và ngưng tụ. Thu hồi tinh dầu bằng phương pháp bổ sung muối khan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  với hàm lượng 5% khối lượng/thể tích tinh dầu.

Quá trình tách chiết tinh dầu sa nhân được mô tả ở hình 1. Mỗi thí nghiệm trong nghiên cứu sử dụng 40 g bột sa nhân từ hạt khô, dùng nước làm dung môi, thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp lại. Các thông số kỹ thuật trong quá trình tách chiết được khảo sát bao gồm:

- Trạng thái nguyên liệu: mẫu xay mịn (kích thước bột sa nhân  $\leq 1\text{mm}$ ), mẫu xay thô ( $> 1\text{mm}$ ). Tiến hành trích ly tinh dầu ở nhiệt độ  $100^\circ\text{C}$ , với tỷ lệ nguyên liệu/nước là 1/8 trong thời gian 4 giờ. Lựa chọn trạng thái nguyên liệu thích hợp dựa vào số mililit tinh dầu thu nhận được. Trạng thái nguyên liệu này được lựa chọn để tiến hành nghiên cứu các thông số khác.

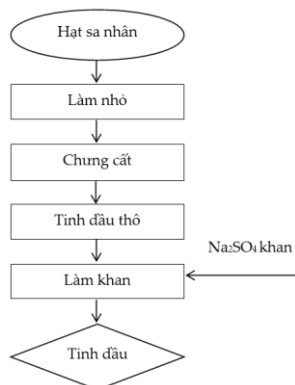
- Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi: tỷ lệ nguyên liệu (g)/dung môi (ml) được khảo sát lần lượt là 1/5, 1/6, 1/7, 1/8 và 1/9, các hỗn hợp này được chưng cất ở  $100^\circ\text{C}$  trong 4 giờ. Tỷ lệ thích hợp được lựa chọn dựa vào số mililit tinh dầu thô thành phẩm và sử dụng tỷ lệ này cho các nghiên cứu tiếp theo.

- Nhiệt độ trích ly: từ 100 đến  $140^\circ\text{C}$ , với thời gian chưng cất là 4 giờ. Sau khi xác định được nhiệt độ chiết thích hợp, chúng tôi cố định thông số này để nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian trích ly.

- Thời gian trích ly: từ các thông số kỹ thuật đã nghiên cứu (trạng thái nguyên liệu, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, nhiệt độ), chúng tôi khảo sát thời gian trích ly từ 2,5 đến 5 giờ.

Định tính thành phần hóa học của tinh dầu sa nhân bằng phương pháp phân tích sắc ký ghép khối phổ (GC-MS) theo mô tả của I.P.S Kapoor (2008) [8]. Phương pháp sắc ký GC-MS được thực hiện tại trung tâm Kiểm nghiệm Thuốc – Thực phẩm – Mỹ Phẩm, số 17 đường Trương Định, TP Huế.

Phương pháp xử lý số liệu: kết quả thí nghiệm được phân tích ANOVA và kiểm định Lsd (5%) để so sánh sự khác biệt trung bình giữa các nghiệm thức. Các phân tích thống kê được xử lý trên phần mềm tiêu chuẩn Minitab 16.2.0.



Hình 1. Quy trình tách chiết tinh dầu sa nhân

### 3 Kết quả và thảo luận

#### 3.1 Các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng trích ly tinh dầu

##### Trạng thái nguyên liệu

Để khảo sát ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu đến lượng tinh dầu thành phẩm, chúng tôi tiến hành nghiền hạt sa nhân thành bột và rây ở sàng có kích thước lỗ là 1mm. Mẫu nguyên liệu có kích thước hạt  $\leq 1\text{mm}$  và  $>1\text{mm}$  được sử dụng trong các thí nghiệm chung cất song song. Kết quả thu hồi lượng tinh dầu được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Lượng tinh dầu thu được theo trạng thái nguyên liệu

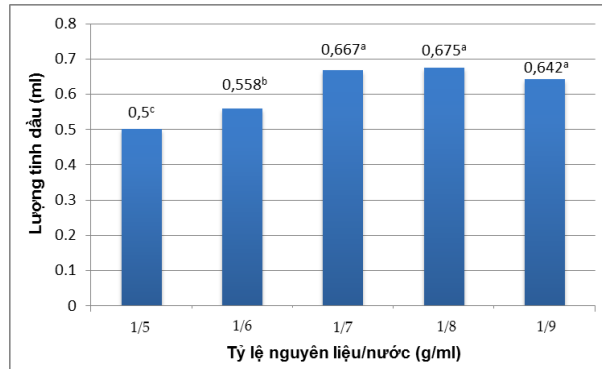
Mẫu	Trạng thái nguyên liệu (mm)	Hàm lượng tinh dầu (ml)
T1	Mịn ( $\leq 1$ )	$0,667 \pm 0,014$
T2	Thô ( $>1$ )	$0,608 \pm 0,029$

Kết quả ở bảng 1 cho thấy lượng tinh dầu thu được từ nguyên liệu đã xay mịn T1 cao hơn so với mẫu T2 (0,667 ml so với 0,608 ml). Điều này có thể giải thích là do kích thước hạt nhỏ làm tăng bề mặt tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi. Bên cạnh đó, các tế bào bị phá vỡ nhiều giúp phóng thích chất béo và các thành phần tinh dầu ra bên ngoài. Chính vì vậy, hiệu suất trích ly tinh dầu sa nhân tăng lên là điều dễ hiểu. Như vậy, kết quả này cho phép chúng tôi lựa chọn bột hạt sa nhân có kích thước  $\leq 1\text{mm}$  làm nguyên liệu cho quá trình trích ly.

##### Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (nước)

Trong quá trình trích ly bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước, khi gia nhiệt hỗn hợp nguyên liệu và nước, hơi nước thẩm thấu vào trong các lớp tế bào, làm phá vỡ túi tinh dầu và lôi cuốn tinh dầu theo hơi nước. Nếu lượng nước quá ít thì không đủ hòa tan các chất keo, muối bao bọc xung quanh túi tinh dầu, làm tinh dầu không thoát ra được. Sử dụng càng nhiều dung

môi để trích ly thì khả năng khuếch tán của tinh dầu vào dung môi càng lớn [1]. Dung môi dễ dàng thẩm thấu vào nguyên liệu và hòa tan các cấu tử cần trích ly nên lượng tinh dầu trong dung môi càng cao [4]. Tuy nhiên, ở một giới hạn nhất định lượng tinh dầu thu hồi sẽ tăng lên không đáng kể dù tăng lượng dung môi. Bên cạnh đó, lượng nước quá nhiều làm giảm hiệu quả kinh tế của quá trình chưng cất do tổn năng lượng cấp nhiệt, tăng thể tích thiết bị. Trong thí nghiệm này, chúng tôi cố định lượng nguyên liệu sử dụng (40g) và thay đổi lượng dung môi thêm vào để đạt tỷ lệ nguyên liệu/dung môi từ 1/5 đến 1/9. Kết quả được trình bày ở hình 2.



**Hình 2.** Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến lượng tinh dầu sa nhân (Các giá trị có cùng ít nhất một chữ cái thì không khác nhau ở mức 5%)

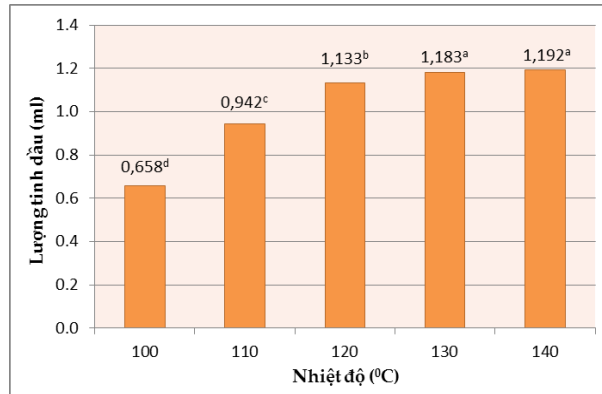
Số liệu trên hình 2 cho thấy lượng tinh dầu thu được có xu hướng tăng theo lượng tăng của dung môi sử dụng. Ở các mẫu tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1/5, 1/6, 1/7, 1/8, 1/9, lượng tinh dầu thu được tương ứng là 0,500, 0,558, 0,667, 0,675, 0,642 ml. Trong đó, lượng tinh dầu thu được ở các mẫu 1/7, 1/8, 1/9 ở mức cao và không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê. Quy luật biến thiên này cũng phù hợp với công bố trước đây của Nguyễn Hoàng Lan và cộng sự (2014) trong nghiên cứu công nghệ trích ly tinh dầu từ lá tía tô [2]; tác giả Huỳnh Thị Kim Nguyệt và cộng sự với nghiên cứu quá trình sản xuất tinh dầu từ vỏ quả chanh không hạt (*Citrus latifolia*) [5]. Từ kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi lựa chọn tỷ lệ nguyên liệu/nước là 1/7 cho các thí nghiệm tiếp theo.

### Nhiệt độ trích ly

Một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình trích ly tinh dầu là nhiệt độ. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các mức nhiệt độ khác nhau (100 - 140°C) đến lượng thu hồi tinh dầu sa nhân được trình bày trong hình 3.

Kết quả ở hình 3 cho thấy lượng tinh dầu thu nhận tăng dần theo các mức nhiệt độ 100, 110, 120, 130°C và đạt giá trị cao nhất ở 130°C với các giá trị tương ứng là 0,658, 0,942, 1,133 và 1,183ml. Điều này được giải thích như sau: nhiệt độ cao làm tăng tốc độ khuếch tán, dòng đối lưu nguyên liệu/dung môi và giảm độ nhớt của nguyên liệu; vì vậy làm tăng hiệu suất trích ly [4]. Bên cạnh đó, chúng tôi cũng tiến hành khảo sát ở nhiệt độ 140°C nhưng lượng tinh dầu thu

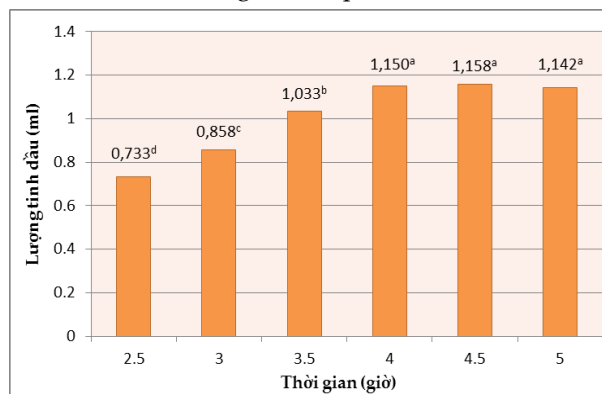
được là 1,192ml và không có sự sai khác về mặt thống kê so với mẫu chung cất ở 130°C. Do đó, nhiệt độ chung cất ở 130°C được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.



**Hình 3.** Sự biến thiên lượng tinh dầu sa nhân theo nhiệt độ trích ly (Các giá trị có cùng ít nhất một chữ cái thì không khác nhau ở mức 5%)

### Thời gian trích ly

Thời gian trích ly phụ thuộc vào các yếu tố: nguyên liệu, dung môi, nhiệt độ... Thời gian trích ly càng dài thì hàm lượng tinh dầu thu hồi càng cao [1]. Tuy nhiên, 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. Do vậy, cần xác định thời gian trích ly thích hợp. Thời gian trích ly được khảo sát là từ 2,5 đến 5 giờ. Kết quả được thể hiện ở hình 4.



**Hình 4.** Sự biến thiên lượng tinh dầu sa nhân theo thời gian trích ly (Các giá trị có cùng ít nhất một chữ cái thì không khác nhau ở mức 5%)

Số liệu ở hình 4 cho thấy: lượng tinh dầu thu hồi có xu hướng tăng theo thời gian trích ly. Cụ thể lượng tinh dầu từ các mẫu thí nghiệm chung cất ở 2,5, 3, 3,5, 4 giờ thu được tương ứng là: 0,733, 0,858, 1,033 và 1,150ml. Tuy nhiên, khi mẫu được chung cất ở 4,5 và 5 giờ thì lượng tinh dầu thu hồi hầu như không thay đổi. Kết quả này cũng phù hợp với quy luật biến thiên của lượng sản phẩm thu được khi tách chiết tinh dầu riêng theo công bố của Võ Kim Thành và

cộng sự [6]. Mặt khác, thời gian trích ly kéo dài làm tiêu hao nhiều năng lượng cho quá trình cấp nhiệt. Vì vậy, thời gian thích hợp để trích ly tinh dầu sa nhân bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước là 4h.

### 3.2 Xác định thành phần hóa học của tinh dầu sa nhân

Từ kết quả của các thí nghiệm khảo sát, chúng tôi sử dụng các điều kiện tách chiết thích hợp (trạng thái nguyên liệu  $\leq 1\text{mm}$ , tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/7, nhiệt độ  $130^{\circ}\text{C}$ , thời gian 4 giờ) để chưng cất thu tinh dầu sa nhân. Sản phẩm này được làm khan bằng  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  trước khi xác định thành phần hóa học theo phương pháp sắc ký khí GC – MS. Kết quả phân tích thể hiện ở bảng 2.

**Bảng 2.** Thành phần hóa học của tinh dầu sa nhân *Amomum xanthioides* Wall.

TT	Tên	Thời gian lưu	% diện tích
1	Tricyclene	8,145	0,29
2	Gama-Terpinene	8,345	0,04
3	Alpha-Pinene	8,555	1,24
4	Camphene	9,051	8,67
5	Beta-Pinene	10,596	3,93
6	Alpha-Phellandrene	11,012	0,21
7	1-methylethyl	11,734	0,20
8	Limonene	11,917	9,70
9	Linalool	14,565	0,52
10	Camphor	16,168	31,21
11	Borneol	16,882	1,61
12	Cyclohexen	19,643	0,23
13	Endobornyl Acetate	21,261	36,87
14	Neoalloocimene	27,275	0,43
15	Germacrene-D	28,065	0,85
16	Cadinene	28,460	0,51
17	Gamma-Cadinene	29,286	0,66
18	Nerolidol	31,439	0,66
19	Cyclopenten	38,921	0,55
	Tổng		100,00

Kết quả thực nghiệm cho thấy thành phần chiếm tỷ lệ cao nhất trong tinh dầu hạt sa nhân (*Amomum xanthioides* Wall.) là endobornyl acetate (36,87%), camphor (31,21%), limonene (9,7%) và camphene (8,67%). Số liệu phân tích này có sự khác biệt về thành phần các chất và hàm lượng của chúng so với công bố của Baby Sabulal và cộng sự khi nghiên cứu trên đối tượng *Amomum cannicarpum* ( $\beta$ -pinene 14%, elemol 10,45%,  $\alpha$ -cadinol 8,50%) [7]; Supriya A. Agnihotri và cộng sự nghiên cứu sa nhân *Amomum Subulatum* (sabinene 9,1%,  $\gamma$ -terpinene 16,2%, 1,8-cineole 63,3%) [11]. Nguyên nhân có thể do sự khác nhau về giống loài, thời điểm thu hái, điều kiện khí hậu, thổ nhưỡng ở khu vực trồng nguyên liệu.

#### 4 Kết luận

Sau quá trình khảo sát thực nghiệm với việc tách chiết tinh dầu sa nhân bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước, chúng tôi đưa ra một số kết luận như sau:

- Trạng thái nguyên liệu có ảnh hưởng đến lượng tinh dầu thu nhận từ hạt sa nhân, trong đó nguyên liệu bột sa nhân ở trạng thái xay mịn (kích thước bột  $\leq 1\text{mm}$ ) cho kết quả lượng tinh dầu thu được: 0,667ml.
- Đã xác định được các điều kiện thích hợp cho quá trình trích ly tinh dầu từ hạt sa nhân theo phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước: tỷ lệ nguyên liệu dung môi 1/7 (g/ml); nhiệt độ trích ly 130°C trong thời gian 4 giờ.
- Các thành phần chính của tinh dầu sa nhân phân tích được bao gồm: endobornyl acetate (36,87%), camphor (31,21%), limonene (9,7%), camphene (8,67%).

#### Lời cảm ơn

Các thí nghiệm trong nghiên cứu này được được hỗ trợ một phần kinh phí từ đề tài cấp Bộ GDĐT “Nghiên cứu nhân giống in vitro và nuôi cấy huyền phù tế bào sa nhân (*Amomum xanthioides* Wall.) trong hệ lên men để thu các hoạt chất sinh học.”

#### Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Bin (2005), *Các quá trình thiết bị trong công nghệ hóa chất và thực phẩm*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
2. Nguyễn Thị Hoàng Lan, Bùi Quang Thuật, Lê Danh Tuyên, Ngô Thị Huyền Trang, Đỗ Thị Trang (2014), *Nghiên cứu công nghệ trích ly tinh dầu từ lá tía tô*, Tạp chí Khoa học và Phát triển, tập 12 số (3), 404-411.
3. Đỗ Tất Lợi (1999), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. NXB. Y học, Hà Nội.
4. Lê Văn Việt Mẫn, Lại Quốc Đạt, Tôn Nữ Minh Nguyệt, Trần Thị Thu Trà (2011), *Công nghệ chế biến thực phẩm*, Đại học quốc gia TP Hồ Chí Minh.

5. Huỳnh Thị Kim Nguyệt, Nguyễn Thị Hồng Xuyên, Nguyễn Thị Kiều Xinh, Th.S Lê Phạm Tấn Quốc (2011), *Nghiên cứu quá trình sản xuất tinh dầu từ vỏ quả chanh không hạt (Citrus Latifolia)*, Tạp chí khoa học số (11), trường Đại Học Công Nghiệp TP.HCM.
6. Võ Kim Thành, Đỗ Thị Triệu Hải (2010), *Nghiên cứu chiết tách và xác định thành phần hoá học tinh dầu củ riêng ở Hội An, Quảng Nam*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại Học Đà Nẵng, Số 5(40).
7. Baby Sabulal, Mathew Dan, Nediamparambu Sukumaran Pradeep, Renju Krishna Valsamma, Varughese George (2006), *Composition and antimicrobial activity of essential oil from the fruits of Amomum cannicarpum*, Acta Pharm. (56), 473–480.
8. I.P.S Kapoor, B. Singh, G. Singh, V. Isidorov, L. Szczepaniak (2008), *Chemistry, antifungal and antioxidant activities of cardamom (Amomum subulatum) essential oil and oleoresins*, International Journal of Essential Oil Therapeutics (2), 29-40.
9. Jung Wook Choi, Ki Hyun Kim, Il Kyun Lee, Sang Un Choi, and Kang Ro Lee, (2009), *Phytochemical constituents of Amomum xanthioides*, Natural Product Science, 15(1), 44-49.
10. Krittkka Norajit, Natta Laohakunjit, Orapin Kerdchoechuen (2007), *Antibacterial effect of five Zingiberaceae essential oils*, Molecules, (12), 2047-2060.
11. Supriya A. Agnihotri, Sharad R. Wakode and Mohammed Ali (2012), *Chemical composition, Antimicrobial and Topical Anti-inflammatory Activity of essential oil of Amomum Subulatum fruits*, Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research, 69(6), 1177-1181.

## STUDY ON THE FACTORS AFFECTING THE EXTRACTION OF ESSENTIAL OIL FROM AMOMUM XANTHIOIDES SEEDS

Tran Vu Thi Nhu Lanh<sup>1</sup>, Nguyen Hien Trang<sup>2</sup>, Nguyen Cao Cuong<sup>2</sup>, Nguyen Duc Chung<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>The 10<sup>th</sup> Vocational highschool – Hue city

<sup>2</sup>College of Agriculture and Forestry, Hue University

**Abstract:** There are about about 13 varieties with over 100 species of *Amomum xanthioides* cultivated in countries, such as India, Malaysia, China, and Vietnam. The material used in this research was *Amomum xanthioides* Wall. collected in Tien Phuoc district, Quang Nam province. Dried fruits were peeled, crushed into powder and extracted by steam distillation to produce crude essential oil. Pure essential oil was obtained by drying with 5% calcinated Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (w/v). The optimal extraction parameters were as follows: the size of amomum powder smaller than 1 mm, the material/solvent ratio 1/7, distillation temperature 130 °C, and distillation time 4 hours. Amomum essential oil was analysed by GC-MS, and main components were identified as camphene (8.67%), limonene (9.70%), camphor (31.21%), and endobornyl acetate (36.87%).

**Keywords:** *Amomum xanthioides* Wall., essential oil, steam distillation, GC-MS