

NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT TINH DẦU VÀ CÁC CAO CHIẾT CÓ KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HOÁ TỪ PHẾ PHẨM CỦA QUẢ TRÌNH SẢN XUẤT TINH DẦU QUẢ HỒI (*Illicium verum* Hook. F.)

Đến toà soạn: 02-07-2024

Lê Xuân Tiến^{1,2*}, Phan Nguyễn Quỳnh Anh^{1,2}

¹Bộ môn Kỹ thuật Hoá hữu cơ, Khoa Kỹ thuật Hoá học, Trường Đại học Bách Khoa TP.HCM

²Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

*Email: tien.le@hcmut.edu.vn

SUMMARY

STUDY ON THE EXTRACTION OF ESSENTIAL OILS AND ANTIOXIDANT-RICH EXTRACTS FROM BY-PRODUCTS OF STAR ANISE (*Illicium verum* Hook. f.) OIL PRODUCTION

Investigating extraction conditions for essential oils and active compounds from Star Anise (*Illicium verum* Hook. f.) and evaluating their physicochemical properties and biological activities was investigated to achieve the suitable extraction results. The raw material was ground using a hammer mill to achieve a particle size of 8 mm. The essential oil distillation process was carried out for 3 hours with a solid-to-solvent ratio of 1/8, and the heat source temperature was 130°C. GC-MS results showed that the star anise contained over 90% anethole. The star anise residue was extracted with ethanol under the optimal conditions of: number of extractions (2 times), extraction time (75 minutes), temperature (50°C), ethanol concentration (60%), and a solid-to-solvent ratio of 1/6. The total phenolic content of the star anise extract was 120.69 ± 0.97 mg GAE/g dry extract. The antioxidant activity of the star anise extract and the residue extract was high ($IC_{50} = 37.82 \pm 0.396$ μ g/mL and 162.21 ± 0.27 μ g/mL, respectively). The essential oil of star anise exhibited weaker DPPH radical scavenging activity ($IC_{50} = 4816.17 \pm 0.31$ μ g/mL). Overall, star anise contains many compounds with high biological activity, and its residue can be utilized for producing natural-derived products.

Keywords: star anise, *Illicium verum* Hook. F., essential oil, residue.

1. GIỚI THIỆU

Hôi là một loại thảo dược quý giá, được sử dụng rộng rãi trong cả y học cổ truyền và hiện đại. Từ thời xa xưa, hồi đã được biết đến không chỉ là gia vị mà còn là một loại dược liệu an toàn, không độc hại, thường được dùng trong y học cổ truyền Trung Quốc để điều trị các bệnh như nôn mửa, đau dạ dày, mất ngủ, phỏng da và đau khớp [1,2]. Quả hồi có khả năng nâng cao sức đề kháng của cơ thể, giúp chống lại nhiều loại virus cúm và các tác nhân gây hại khác. Acid shikimic, một hợp chất

có trong quả hồi, được dùng để sản xuất thuốc điều trị cúm. Thêm vào đó, quả hồi cũng có tác dụng an thần, hỗ trợ giấc ngủ. Dầu hồi không chỉ có tác dụng trong việc điều trị các vấn đề như thấp khớp và đau lưng, mà còn giúp làm sạch hơi thở một cách tự nhiên. Một trong những hoạt chất nổi bật với khả năng kháng oxy hóa trong quả hồi là Linalool. Theo một nghiên cứu đăng trên tạp chí Dược điển và thực vật học, chiết xuất từ cây hồi cho thấy khả năng kháng oxy hóa mạnh, bảo vệ tế bào khỏi sự tổn hại do H_2O_2 hoặc tổn thương

DNA [3]. Các nghiên cứu cũng chỉ ra rằng quả hồi chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học; ví dụ, nhóm nghiên cứu của Linlin và cộng sự đã phát hiện 44 hợp chất từ cao chiết xuất của quả hồi, được xác định bằng phương pháp GC-MS, trong đó trans-anethole là thành phần chính [4].

Tại Việt Nam, các nghiên cứu về cây hồi vẫn còn hạn chế, chủ yếu tập trung vào việc chiết xuất tinh dầu. Vì vậy, việc nghiên cứu trích ly tinh dầu và khai thác các chiết xuất từ phế phẩm trong quá trình này là rất cần thiết, mở ra nhiều cơ hội mới cho việc ứng dụng nguồn dược liệu quý này trong các sản phẩm chăm sóc cá nhân.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Nguyên liệu: Quả hồi thu hoạch tại Lạng Sơn, được phơi khô và bảo quản để sử dụng nghiên cứu.

Hóa chất: Cồn tuyệt đối, Na_2SO_4 , Glycerol, DPPH, DMSO (Trung Quốc), H_2SO_4 , Folin-Ciocalteu, Na_2CO_3 , acid gallic, acid ascorbic (Mỹ).

2.2. Phương pháp chưng cất tinh dầu và trích ly cao chiết từ phế phẩm chưng cất



Hình 1. Quả hồi khô

Quả hồi (hình 1) được nghiền nhỏ bằng máy xay dược liệu khô và tiến hành quá trình chưng cất lôi cuốn hơi nước gián

tiếp sử dụng thiết bị có gắn ống Clevenger trong 3 giờ. Tinh dầu, do nhẹ hơn nước, sẽ được giữ lại, trong khi nước sẽ được hồi lưu để tiếp tục quy trình chưng cất. Sau đó, hỗn hợp tinh dầu và nước sẽ được tách ra, và tinh dầu sẽ được làm khan bằng Na_2SO_4 .

Tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của các thông số đến hiệu suất quá trình chưng cất tinh dầu, bao gồm kích thước nguyên liệu, thể tích nước chưng cất, nhiệt độ của chất tải nhiệt và khối lượng nguyên liệu ban đầu. Hiệu quả của quá trình chưng cất tinh dầu được đánh giá dựa trên tỷ lệ phần trăm tinh dầu hồi tính theo khối lượng nguyên liệu khô tuyệt đối.

Bã hồi sau đó được chiết kiệt bằng ethanol thông qua phương pháp tách chiết lỏng – rắn. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất của quá trình tách chiết bao gồm nồng độ cồn, tỷ lệ rắn lỏng, nhiệt độ, thời gian và số lần chiết. Cuối cùng, dịch chiết sẽ được lọc và cô quay chân không để thu hồi cao tổng ethanol, cao tổng này sẽ được bảo quản trong lọ kín ở -20°C để chuẩn bị cho các nghiên cứu hoạt tính tiếp theo.

2.3. Phương pháp đánh giá tính chất tinh dầu

Để đánh giá các đặc tính của tinh dầu, tiến hành xác định ngoại quan (bao gồm màu sắc và độ trong suốt), tỷ trọng của tinh dầu. Bên cạnh đó, thành phần các chất trong tinh dầu được phân tích bằng phương pháp sắc ký ghép khối phổ GC-MS với các điều kiện như sau:

- Máy sử dụng: GC-MS hiệu SCION SQ 456-GC.
- Cột: Rxi-5ms hiệu RESTEK (30 m x 0.25 mm (id), 0.25 μm df).
- Lò cột: Nhiệt độ ban đầu 50°C , giữ yên trong 1 phút, sau đó tăng $30^\circ\text{C}/\text{phút}$ lên 80°C , tăng $5^\circ\text{C}/\text{phút}$ đến 230°C , và

cuối cùng tăng 25°C/phút đến 280°C rồi giữ yên ở nhiệt độ này trong 3 phút.

- Khí mang: Helium.
- Tốc độ dòng: 1 mL/phút.
- Nhiệt độ injector: 250°C.
- Tỷ lệ chia dòng: 30:1.
- Khối quang phổ: năng lượng ion hóa 70 eV, nhiệt độ nguồn ion hóa 250°C.

2.4. Phương pháp đánh giá hàm lượng polyphenol tổng từ phế phẩm bã hồi

Các hợp chất hiện diện trong cao chiết từ bã hồi được đánh giá bằng phương pháp sơ bộ hóa thực vật [5]. Hàm lượng tổng các hợp chất polyphenol được xác định theo được điển Việt Nam V [6]. Hoạt tính kháng oxy hóa áp dụng phương pháp bắt gốc tự do DPPH do Brand – Williams và cộng sự phát triển (năm 1995), với một số điều chỉnh cho phù hợp [7]. Tất cả mẫu được đo trên thiết bị quang phổ hấp thụ V730 / Jasco - Nhật.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát quá trình chưng cất tinh dầu quả hồi



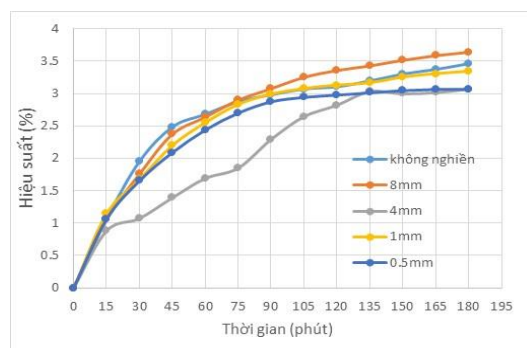
Không nghiền 4mm 8mm 1mm 0.5mm

Hình 2. Ngoại quan của nguyên liệu sau khi xử lý

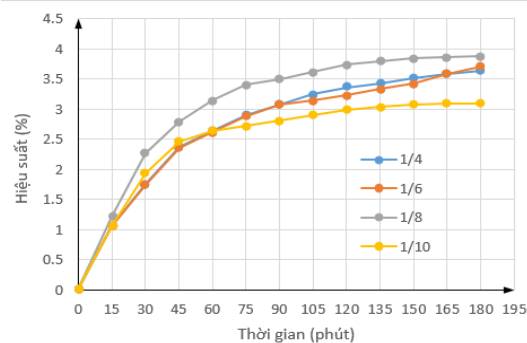
Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng bằng phương pháp luân phiên từng biến, như thể hiện trong hình 3, cho thấy rằng nguyên liệu với kích thước 8 mm (hình 2), tỉ lệ nguyên liệu so với dung môi là 1:8, nhiệt độ của chất tải nhiệt là 130°C, và hệ số nén nguyên liệu là 0% (tỉ lệ giữa thể tích nguyên liệu trước và sau khi nén) để đạt hiệu suất tách tinh dầu tốt nhất (khối lượng nguyên liệu: 50g/mẻ). Tinh dầu thu được có màu vàng nhạt, trong suốt, với hương thơm đặc trưng của hồi

và tỷ trọng đạt 0.9854 g/mL.

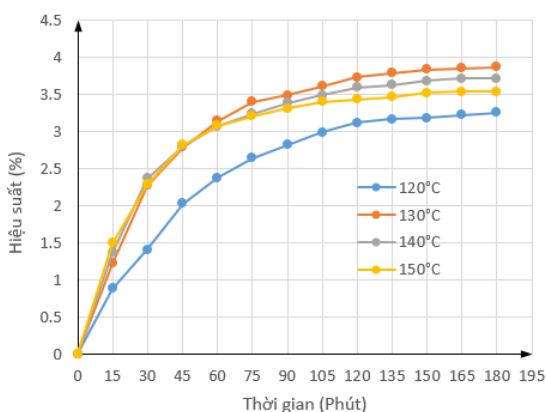
Hiệu suất quá trình chiết xuất tinh dầu ở điều kiện tối ưu là 3.87%. Các thành phần chính trong tinh dầu bao gồm anethole (94.748%), aubepine (2.748%), và estragole (0.312%). So với nghiên cứu của Gurdip Singh và cộng sự (2006), tinh dầu hồi Ấn Độ chứa nhiều hợp chất hơn so với hồi Việt Nam [8], cho thấy rằng thành phần tinh dầu phụ thuộc vào nguồn gốc, giống và khu vực trồng dược liệu.



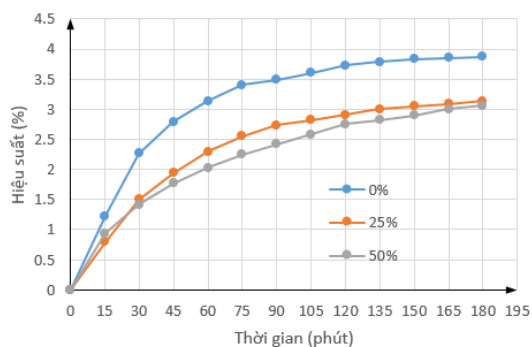
Tác động của kích thước nguyên liệu



Tác động của tỉ lệ rắn: lỏng (nguyên liệu: dung môi)



Tác động của nhiệt độ chất tải nhiệt



Tác động của hệ số nén của nguyên liệu

Hình 3. Các yếu tố tác động đến hiệu suất của quá trình tách chiết tinh dầu quả hồi

Bảng 1. Thành phần tinh dầu quả hồi

TT	Thời gian lưu	Tên chất	Hàm lượng	Mass	Độ tương hợp khối phổ
1	5.077	1R- α -Pinene	0.292	136	923
2	6.766	D-Limonene	0.253	136	921
3	6.840	Eucalyptol	0.161	154	935
4	8.212	Linalool	0.292	154	889
5	10.157	Terpinen-4-ol	0.138	154	862
6	10.462	α -Terpineol	0.137	154	914
7	10.629	Estragole	0.312	148	935
8	12.030	Aubepine	2.748	136	937
9	12.910	Anethole	94.748	148	961
10	15.172	3-Guaiacyl propanol	0.410	166	748
11	15.266	Anisketone	0.160	164	927
12	16.610	(Z,E)- α -Famesene	0.249	204	916
13	22.200	1-[(3-Methyl-2-butenoxy)-4-(1-propenyl)benzene	0.098	202	863

3.2. Khảo sát định tính các hoạt chất từ quả hồi và bã hồi

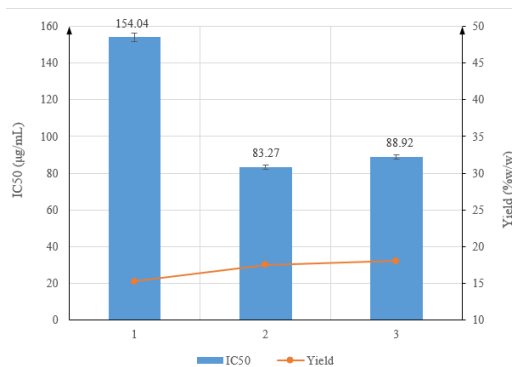
Nguyên liệu hồi và bã hồi sau khi trải qua quá trình chưng cất được chiết xuất bằng cồn sẽ được đánh giá thành phần hoạt chất thông qua phương pháp sơ bộ hóa thực vật.

Bảng 2. Kết quả xác định sơ bộ thành phần hoá thực vật

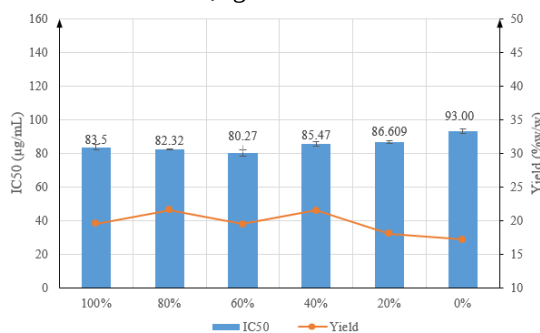
	Thuốc thử	Trước khi chưng	Sau khi chưng
Carotenoid	H ₂ SO ₄ đặc	-	-
Alkaloid	Dragendorff	+	+
Flavonoid	Phản ứng Cyanidin	++	+
Saponin	Liebermann-Burchard	-	-
Polyphenol	FeCl ₃ 5%	+++	++
Tanin	Gelatin 1%	+	+

Trong đó: (-) âm tính; (+) dương tính; (++) dương tính rõ; (+++) dương tính rất rõ

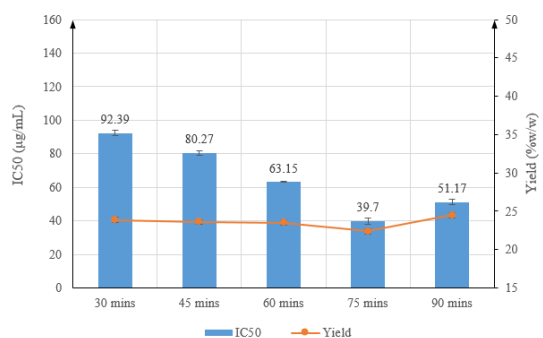
Theo bảng 2, cao tổng EtOH có thể chứa các hợp chất như polyphenol và flavonoid. Cụ thể, trước khi chưng cất, hàm lượng flavonoid và polyphenol khá cao. Tuy nhiên, quá trình chưng cất làm giảm lượng các hoạt chất này, mặc dù vẫn còn đáng kể, cho thấy cần thiết phải thực hiện quá trình chiết xuất.



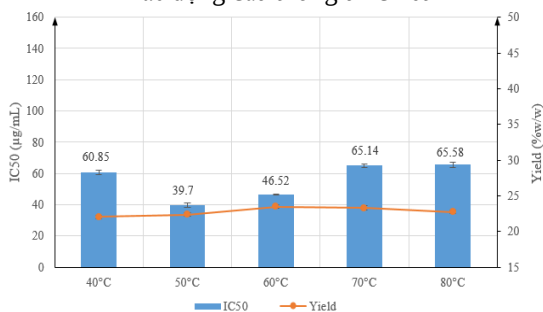
Tác động của số lần chiết



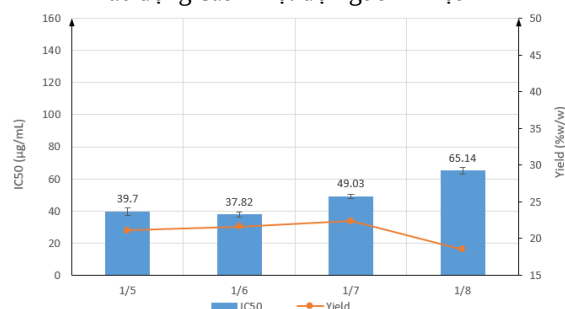
Tác động của nồng độ cồn



Tác động của thời gian chiết



Tác động của nhiệt độ nguồn nhiệt



Tác động của tỉ lệ lỏng: rắn (nguyên liệu: dung môi)

Điều kiện tách chiết tối ưu: Số lần chiết: 2 lần; Thời gian chiết: 75 phút; Nhiệt độ nguồn nhiệt: 50°C; Nồng độ cồn: 60%; Tỉ lệ nguyên liệu: dung môi: 1/6

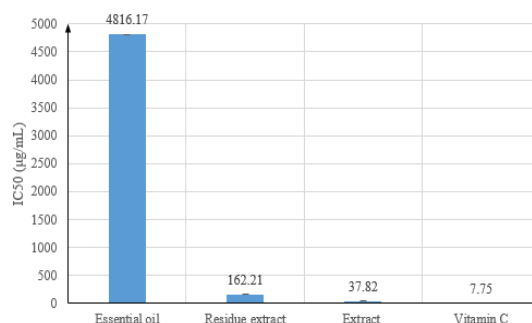
Hình 4. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất thu cao chiết từ quả hồi

Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thu cao chiết từ quả hồi được khảo sát như trong hình 4. Điều kiện tối ưu cho quá trình chiết được lựa chọn dựa trên hiệu suất chiết. Ví dụ như nhiệt độ tăng thì tốc độ khuếch tán cũng như độ hòa tan của các hoạt chất tự nhiên có xu hướng tăng lên. Tuy nhiên, nhiệt độ chiết phù hợp cũng phụ thuộc vào dung môi và thành

phần hóa học có nguyên liệu chiết. Nhiệt độ chiết quá cao có thể làm phân hủy các hoạt chất sinh học ảnh hưởng đến hiệu suất tách chiết.

Tương tự kế thừa từ điều kiện trích ly hoạt chất từ quả hồi thì sau khi tách tinh dầu, bã hồi được chiết tạo ra dịch chiết có màu nâu và mùi thơm đặc trưng của hồi. Cao chiết thu được có màu nâu đen và độ nhầy cao.

Về hoạt tính kháng oxy hóa (theo phương pháp bắt gốc tự do DPPH), giá trị IC₅₀ của tinh dầu, cao chiết bã hồi, cao chiết nguyên liệu và vitamin C như hình 5 lần lượt là 4816.17 ± 0.31 µg/mL, 162.21 ± 0.27 µg/mL, 36.75 ± 0.396 µg/mL và 7.75 ± 0.11 µg/mL. Cao chiết nguyên liệu và cao chiết bã hồi vẫn có hoạt tính kháng oxy hóa cao đáng kể.



Hình 5. Hoạt tính kháng oxy hóa của tinh dầu và cao chiết

Quá trình kiểm tra hàm lượng của cao chiết từ bã hồi của mẫu tối ưu đạt 120.69 ± 0.97 mg GAE/g cao chiết, cao hơn so với cao chiết bằng cồn và methanol trong nghiên cứu của Soher và cộng sự (tương ứng là 112.4 và 96.3 mg GAE/g cao khô) [9].

Kết quả này cho thấy, mặc dù quá trình chưng cất ảnh hưởng đến khả năng kháng oxy hóa của bã hồi, nhưng cao bã hồi vẫn duy trì hoạt tính khá cao, cho phép khai thác để chiết xuất các hợp chất có khả năng kháng oxy hóa.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã phát triển thành công trong quy trình chiết xuất tinh dầu và cao chiết hoạt chất từ quả hồi và bã hồi. Kết quả cho thấy bã hồi sau chưng cất tinh dầu vẫn còn lượng hoạt chất đáng kể và có hoạt tính sinh học khá cao. Khả năng kháng oxy hoá cùng với hàm lượng hợp chất phenolic trong chiết xuất từ bã hồi cho thấy tiềm năng ứng dụng của quả hồi trong các sản phẩm tự nhiên có lợi cho sức khỏe con người.

Lời cảm ơn: Xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ nghiên cứu của Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP.HCM cho công trình này. Chúng tôi cũng xin gửi lời cảm ơn tới PGS.TS. Lê Thị Kim Phụng và các sinh viên Nguyễn Anh Tuấn, Trình Yến Nhi đã cùng đồng hành và hỗ trợ nhóm trong việc hoàn thành nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Itoigawa, M., et al., (2004). Cancer chemopreventive activity of phenylpropanoids and phytoquinoids from *Illicium* plants. *Cancer letters*, **214**(2), 165-169.
- [2] Lin, Q., (1997). Systematics and evolution of the family Illiciaceae. Unpublished Ph. D. thesis, Forestry College, South China Agricultural University, Guangzhou, PRC.[In Chinese].
- [3] Dinesha, R., et al., (2014). The antioxidant and DNA protectant activities of Star Anise (*Illicium verum*) aqueous extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, **2**(5).
- [4] Linlin Wei, et al., (2014). Chemical composition and biological activity of star anise *Illicium verum* extracts against maize weevil, *Sitophilus zeamais* adults. *Journal of Insect Science*, **14**, 1-12.
- [5] Nguyễn Kim Phi Phụng, (2007). Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.
- [6] Authors, (2019). *Vietnam Pharmacopoeia V*.
- [7] Brand-Williams, W., M.-E. Cuvelier, and C. Berset, (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, **28**(1), 25-30.
- [8] Gurdip Singh, et al., (2006). Chemical constituents, antimicrobial investigations and antioxidative potential of volatile oil and acetone extract of star anise fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **86**, 111-121.
- [9] Aly S. E., et al., (2014). Assessment of antimycotoxigenic and antioxidant activity of star anise (*Illicium verum*) *in vitro*. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, **15**, 20-27.