Cuộc thi khoa học kĩ thuật cấp quốc gia dành cho học sinh trung học

năm học 2013-2014

****

ĐƠN VỊ DỰ THI

Tên dự án dự thi

TRÍCH LY TINH DẦU TỪ LÁ CÂY NGÒ GAI (*ERYNGIUM FOETIDUM* LINN)

THUỘC HỌ THỰC VẬT HOA TÁN (Apiaceae)

Lĩnh vực dự thi

Nhóm lĩnh vực: Hóa học – Lĩnh vực cụ thể: Hóa học hữu cơ

MỤC LỤC

Trang

Mục lục 1
Lời cảm ơn 3
Tóm tắt nội dung dự án 4
Giới thiệu và tổng quan về vấn đề nghiên cứu 6
Giả thuyết khoa học và mục đích nghiên cứu 7
Phương pháp nghiên cứu 8
Phần I. Tổng quan tài liệu 8
I.1. Sơ lược về cây ngò gai 8
I.2. Tinh dầu 10
Phần II. Thực nghiệm 16
II.1. Thiết bị, dụng cụ 16
II.2. Hóa chất 16
II.3. Nguyên liệu nghiên cứu 17
II.4. Phương pháp thực nghiệm 17
Kết quả nghiên cứu 21
Phân tích số liệu 23
Kết luận 24
Tài liệu tham khảo 25
Phụ lục 26

DANH SÁCH BẢNG

Bảng II.1. Kết quả phân tích MSM: 13111969 – NCT 01 21
Bảng II.2. Kết quả kiểm định hoạt tính kháng vi sinh vật 22

DANH SÁCH HÌNH

Hình I.1. Cây ngò gai 9
Hình I.2. Lá cây ngò gai 9
Hình II.3. Sơ đồ trích ly tinh dầu từ lá cây ngò gai 17
Hình P.1. Nguyên liệu thô 26
Hình P.2. Nguyên liệu được cắt nhỏ 26

Hình P.3. Hệ thống chưng cất..... 26
Hình P.4. Bình hút ẩm..... 26
Hình P.5. Tinh dầu lá ngò gai trước và sau khi làm khan 26
Hình P.6. Sản phẩm tinh dầu lá ngò gai..... 27
Hình P.7. Kết quả thử nghiệm tỷ lệ thành phần GC/MS 28
Hình P.8. Kết quả phân tích MSM: 13111969 – NCT 01..... 29
Hình P.9 đến hình 22. Phổ MS của mẫu tinh dầu 31
Hình P.23. Phiếu trả lời kết quả hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của mẫu tinh dầu 44
Hình P.24. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của mẫu tinh dầu 46

TÓM TẮT NỘI DUNG DỰ ÁN

1. Đề tài **Trích ly tinh dầu từ lá cây ngò gai (*Eryngium foetidum* Linn) thuộc họ thực vật hoa tán (Apiaceae)** được thực hiện từ ý tưởng:

Trong những lần bị cảm ho lâu ngày không hết, bố mẹ hay cho chúng em uống nước lá ngò gai, bố mẹ bảo đây là bài thuốc dân gian do ông bà ta truyền lại. Từ những kinh nghiệm dân gian, công dụng gần gũi của ngò gai và thông tin trên sách báo, chúng em nhận thấy ngò gai là một loài cây rất có ích cho sức khỏe con người, thường được dùng làm phụ liệu gia vị cho các món ăn như: phở, canh chua,…. Đồng thời, ngò gai cũng rất dễ tìm mua, dễ thực hiện nghiên cứu, phù hợp với mục đích đề ra:

- Tận dụng được nguồn nguyên liệu thiên nhiên rẻ tiền, dễ trồng, có thể điều chế thuốc trị nhiều loại bệnh thông dụng, không độc tố là Ngò gai - một loài thực vật đang có tiềm năng nhưng chưa được khai thác và tận dụng đúng mức.

- Tinh dầu nguyên chất từ thảo mộc có công dụng trị liệu tương đương thuốc, lại được cơ thể hấp thụ nhanh và hiệu quả hơn, giúp nâng cao sức đề kháng của cơ thể, phòng bệnh quay trở lại, tuyệt đối an toàn.

2. Đề tài được thực hiện dựa trên:

- Phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước với quy mô phòng thí nghiệm; khảo sát một số tính chất vật lý của tinh dầu lá ngò gai (tỷ khối, độ tan), chỉ số axit.

- Dùng GC-MS để xác định các thành phần trong tinh dầu lá ngò gai trích ly được.

- Thử hoạt tính sinh học của tinh dầu lá ngò gai sản phẩm.

3. Kết quả đạt được:

- Đã trích ly được tinh dầu lá ngò gai (chất lỏng, màu vàng) với hàm lượng khoảng 0,04% (tương đương 0,5ml/1kg lá ngò gai tươi).

- Xác định tỷ khối, độ tan trong etanol, chỉ số axit của tinh dầu và đã xác định được khoảng 13 chất có trong tinh dầu lá ngò gai bằng phổ GC/MS.

- Thử hoạt tính sinh học của tinh dầu lá ngò gai và đã kiểm định được sản phẩm của đề tài có hoạt tính kháng 7 chủng vi sinh vật.

- Điều chế một số sản phẩm đơn giản từ tinh dầu lá ngò gai trích ly được như: nước súc miệng diệt khuẩn, viên nén ngậm trị ho.

Từ kết quả phân tích thành phần và kết quả kiểm định hoạt tính kháng vi sinh vật của sản phẩm – tinh dầu lá ngò gai – có thể khẳng định khả năng chữa được một số bệnh trong dân gian như: cảm mạo, đau ngực, ho, ăn không tiêu, ăn mất ngon, trẻ em lên sởi, bệnh đái tháo đường, hạ cholesterol trong máu, bệnh tưa lưỡi ở trẻ sơ sinh, bệnh phụ khoa,...của tinh dầu trích từ lá ngò gai.

Chúng em hy vọng có thể ứng dụng kết quả thực nghiệm trên vào việc sản xuất một số dược phẩm như viên ngậm, viên dầu, nước súc miệng,... điều trị một số bệnh thông thường như ho, cảm, đẹn (tưa lưỡi)...hoặc thuốc trị bệnh phụ khoa – có giá thành thấp – từ tinh dầu lá ngò gai.

GIỚI THIỆU VÀ TỔNG QUAN VỀ VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU

Tinh dầu làm nguồn hương liệu, dược phẩm có nguồn gốc từ cây cỏ thiên nhiên ngày càng được con người đặc biệt chú ý và ưa chuộng vì không có độc tố, không có chất bảo quản hóa học nên đảm bảo sạch, tinh khiết và không có tác dụng phụ đối với sức khoẻ và cơ thể. Tinh dầu nguyên chất được coi là giải pháp trị liệu thay thế thuốc vì nó có công dụng trị liệu tương đương, lại được cơ thể hấp thụ nhanh và hiệu quả hơn, tuyệt đối an toàn. Bên cạnh đó, tinh dầu nguyên chất từ thảo mộc còn giúp nâng cao sức đề kháng của cơ thể, phòng bệnh quay trở lại. [6]

Ngò gai là một loài thực vật đang có tiềm năng nhưng chưa được khai thác và tận dụng đúng mức, hầu như nó chỉ được dùng như một loại rau quen thuộc và gần gũi trong cuộc sống hằng ngày. Qua các công trình nghiên cứu cho thấy ngò gai có khả năng chữa được một số bệnh như: trị cảm mạo, đau ngực, ho, ăn không tiêu, ăn mất ngon, trẻ em lên sởi, bệnh đái tháo đường, hạ cholesterol trong máu. Ngò gai còn là nguồn nguyên liệu rất phổ biến, dễ trồng, rẻ tiền nên rất có giá trị về kinh tế. [1]

Tinh dầu trích từ lá ngò gai có thể điều chế thuốc trị nhiều loại bệnh thông dụng. Hiện nay, trong nước đã có một số đề tài nghiên cứu xác định thành phần chất trong ngò gai cũng như giá trị dược liệu của loại thảo mộc này như:

- Hoạt chất chính trong ngò gai là những tinh dầu dễ bay hơi (0.02-0.04%) trong đó có các pyranocoumadins, các monoterpenes glycosides loại cyclohexanol, các anđehit như 2,4,5-trimetylbenzanđehit, đecanal, furfural.. Ngoài ra còn có α-pinene, p-cymene; các axit hữu cơ như axit benzoic, axit capric..; các flavonoids.

- Nhóm hoạt chất thứ nhì mới được nghiên cứu trong phần trích bằng hexan là nhóm terpenic chứa α-cholesterol, brassicasterol, campe sterol, stigmasterol, clerosterol, β-sito sterol, δ-5-aveasterol..

- Trong rễ có các Saponins loại triterpene, các este của axit caffeic,…

Một số nghiên cứu mới về ngò gai [1]:

- Rễ ngò gai có khả năng trị các chứng sưng bàng quang, sạn thận và sưng đường tiểu.

- Tác dụng chống sưng viêm cấp tính và kinh niên: Nghiên cứu trên chuột tại Khoa Dược Đại học Universidad de Sevilla (Tây Ban Nha) ghi nhận khả năng chống sưng của phần trích bằng hexan từ lá ngò gai. Tác dụng chống sưng mạnh hơn stigmasterol và tương đối hiệu nghiệm trên các chứng sưng đỏ tại chỗ.

GIẢ THUYẾT KHOA HỌC VÀ MỤC ĐÍCH NGHIÊN CỨU

Trên cơ sở nghiên cứu lý thuyết về cây ngò gai, tinh dầu, cùng kiến thức thực hành được trang bị trong chương trình chuyên sâu Hóa học, với trang thiết bị của phòng thí nghiệm trường phổ thông và trường Đại học, nhóm tác giả tin tưởng sẽ trích ly được tinh dầu lá ngò gai với hàm lượng tối ưu, đồng thời khảo sát một số đại lượng vật lý, chỉ số hóa lý đơn giản. Mẫu tinh dầu trích ly được sẽ được xác định thành phần bằng phổ GC/MS và được kiểm định hoạt tính vi sinh vật để khẳng định giá trị của đề tài.

Đây là một nghiên cứu mới, với mục đích nghiên cứu quy trình sản xuất một loại tinh dầu thiên nhiên đi từ một loài thực vật phổ biến, dễ trồng, rẻ tiền; với hy vọng trong tương lai, tinh dầu ngò gai sẽ được sử dụng phổ biến với công dụng chữa bệnh cho người thay vì chỉ là phụ liệu cho các món ăn. Nhóm tác giả mong muốn nghiên cứu khoa học này sẽ góp phần tăng thêm nguồn nguyên liệu thiên nhiên rẻ tiền cho công nghiệp dược phẩm, góp phần sản xuất thuốc có giá thành thấp điều trị các bệnh dân gian.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Tìm hiểu lý thuyết về cây ngò gai, tinh dầu lá cây ngò gai.

2. Sử dụng các phương pháp thực nghiệm đơn giản được học trong chương trình chuyên (phần thực hành) như: phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước với quy mô phòng thí nghiệm; khảo sát một số tính chất vật lý của tinh dầu lá ngò gai (tỉ khối, độ tan), chỉ số axit. Các thí nghiệm được tiến hành trong phòng thí nghiệm trường THPT chuyên Lý Tự Trọng và phòng thí nghiệm Hóa Hữu cơ – Khoa sư phạm – Trường Đại học Cần Thơ.

3. Dùng GC-MS để xác định các thành phần trong tinh dầu ngò gai ly trích được (gửi mẫu phân tích).

4. Thử hoạt tính sinh học (gửi mẫu phân tích).

5. Điều chế một số sản phẩm đơn giản từ tinh dầu lá ngò gai trích ly được như: nước súc miệng diệt khuẩn, viên nén ngậm trị ho.

PHẦN I. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

I.1. Sơ lược về cây ngò gai

Ngò gai hay mùi gai, mùi tàu hoặc ngò tây, tên khoa học là Eryngium foetidum Linn, thuộc họ hoa tán (*Apiaceae)*. Cây này có nguồn gốc từ châu Mỹ. Tại Trung Hoa, rau có tên Thích Nguyên tuy (Ci-yan sui), Dương Nguyên tuy (Yang yan sui) và Sơn Nguyên tuy (Shan yan sui). Tại Thái Lan, rau tên là pak chee farang (cây ngò ngoại quốc). Tại Hoa Kỳ, rau có khá nhiều tên, từ tên gốc tại Trung Mỹ như Culantro, Stinkweed đến tên tượng hình nhất là Saw leaf herb. Tại Pháp, ngò gai có tên Chardon étoile (star thistle) hay Chardon étoile fetide. Tại Đức, rau tên Stinkdistel. Tại Mexico, rau có tên Culantro de burro, Culantro de coyote.[2]

Phân bố và sinh thái: Cây mọc hoang dã khắp nơi, nhiều ở vùng ẩm mát, vùng đồi núi. Ngò gai còn được trồng phổ biến để làm cây gia vị.

Hình I.1. Cây ngò gai

Hình I.2. Lá cây ngò gai

I.1.1. Mô tả

Ngò gai thuộc loại cây thân thảo mọc thẳng đứng, lưỡng niên, phân nhánh ở ngọn, cao khoảng 20-40cm. Rễ hình thoi, thân có khía, toàn thân có mùi khá hăng. Lá mọc sát đất thành hình hoa thị ở gốc, lá có hình mũi mác thuôn dài, nhẵn, lớn cỡ 10-20cm x 2-3,5cm. Lá không có cuống, mép khía với nhiều răng cưa có gai. Lá trên thân, càng lên càng nhỏ dần, có nhiều răng cưa hơn và gai sắc hơn. Hoa màu trắng lục, mọc thành từng cụm rẽ làm ba, rồi chia thành xim. Hoa không cuốn, cánh hoa màu trắng xanh. Trái nhỏ cỡ 2mm, hình cầu, hơi dẹt, có vẩy. Khi trưởng thành, hạt rụng và phát tán. Toàn cây có tinh dầu, nên có mùi thơm như rau mùi.

I.1.2. Thành phần hóa học có trong cây ngò gai

*** Thành phần dinh dưỡng:**

100 gam lá ngò gai chứa:

+ Calories: 31;
+ Chất đạm: 1,24 gam;
+ Chất béo: 0,20 gam;
+ Các khoáng chất: Ca: 49 mg, Mg: 17 mg, P: 50 mg, K: 414 mg;
+ Vitamin: B1: 0,010 mg, B2: 0,032 mg; B6: 0,047 mg, C: 120 mg.

*** Hoạt chất:**

- Hoạt chất chính trong ngò gai là những tinh dầu dễ bay hơi (0,02 – 0,04%), trong đó có các pyranocoumadins, các monoterpenes glycosides loại cyclohexanol, các anđehit như 2,4,5-trimetylbenzanđehit, đecanal, furfural.. Ngoài ra còn có α-pinene, p-cymene; các axit hữu cơ như axit benzoic, axit capric..; các flavonoids.

- Nhóm hoạt chất thứ nhì mới được nghiên cứu trong phần trích bằng hexan là nhóm terpenic chứa α-cholesterol, brassicasterol, campe sterol, stigmasterol, clerosterol, β-sito sterol,δ-5-aveasterol..

- Trong rễ có các Saponins loại triterpene, các este của axit caffeic,…

I.1.3. Công dụng

Trong thực phẩm: Lá ngò gai có mùi thơm dễ chịu nên được sử dụng như một loại rau mùi giúp làm tăng mùi vị của các món ăn như: phở, canh chua, sofrito (Mễ)…

Trong y học: Theo Đông y, ngò gai có vị cay, hơi đắng, tính ấm, có khả năng trị được một số bệnh thông thường như: trị hôi miệng, trị cảm mạo, cảm cúm, sổ mũi, sốt nhẹ do nhiễm lạnh, chướng khí thở mệt, long đờm, đau bụng, tiêu chảy, ngực bụng đầy trướng đau ngực, ho, đầy hơi ăn không tiêu, kích thích tiêu hóa, ăn mất ngon, trẻ em lên sởi, bệnh đái tháo đường, hạ cholesterol trong máu, sưng đau té ngã, đái dầm ở trẻ nhỏ, nổi mụn, đỏ ngứa ở mặt, rong kinh, trĩ, thoát giang, chống sưng viêm cấp tính và kinh niên, viêm kết mạc, mụn bọc, mụn trứng cá, giảm đau nhức …Rễ ngò gai có khả năng trị các chứng sưng bàng quang, sạn thận và sưng đường tiểu. Lá ngò gai có tác dụng chống sưng viêm cấp tính và kinh niên.

Trà ngò gai trị tiêu chảy, cúm, sốt, ói mửa, tiểu đường, táo bón.

Trong y học truyền thống, ngò gai trị phỏng, đau tay, các bệnh sốt, huyết áp cao, táo bón, lên cơn, suyễn, những bệnh đau dạ dày, trùng giun, biến chứng vô sinh, vết rắn cắn, tiêu chảy sốt rét, động kinh.

Công dụng chi tiết của các chất có trong thành phần tinh dầu lá cây ngò gai:

α-Pinene : thuốc giãn phế quản rất sinh học đến 60% được phổi hấp thụ giúp cho quá trình chuyển hóa các chất diễn ra nhanh chóng.

Những andehit có trong ngò gai như: Decanal, Dodecanal, 2- Dodecanal là những thành phần quan trọng có trong tinh dầu lá ngò gai và là lí do của việc ứng dụng trong kỹ nghệ dầu thơm nước hoa và hương vị.

n-Dodecanoic acid: trong các thí nghiệm vitro cho rằng nó có tác dụng trong việc điều trị mụn trứng cá, nhưng chưa có thí nghiệm lâm sàng nào thực hiện.

1-Undecanol: nó có mùi cam, quýt, hương vị béo và được sử dụng trong như một hương liệu trong thực phẩm.

I.2. Tinh dầu [6]

I.2.1. Trạng thái tự nhiên

Tinh dầu là một hỗn hợp nhiều hợp chất dễ bay hơi, có mùi đặc trưng tùy thuộc vào nguồn gốc nguyên liệu cung cấp tinh dầu. Về mặt thực hành, tinh dầu có thể xem như một hỗn hợp thiên nhiên có mùi, phần lớn có nguồn gốc từ thực vật, chỉ có một số ít tinh dầu từ nguồn gốc động vật, thường là thể lỏng ở nhiệt độ phòng, bay hơi hoàn toàn mà không bị phân hủy.[2]

I.2.2. Phân bố

** Phân bố theo thực vật*:

Tinh dầu được phân bố khá rộng, hiện diện trong gần 300 họ, trong đó có 87 họ có giá trị kinh tế.

Sau đây là 3 họ có nhiều cây tinh dầu:

+ Họ cúc (Asteraceae): bao gồm hơn 1.000 giống và 25.000 loài chủ yếu trong vùng bán khô cằn nhiệt đới, cận nhiệt đới, hầu hết trong vùng Địa Trung Hải, ôn đới..

+ Họ hoa môi (Lamiaceae): có mặt khắp nơi trên thế giới, bao gồm khoảng 200 giống và từ 2.000 đến 5.000 loài.

+ Họ hoa tán, ngò (Umbelliferae, Apiaceae): bao gồm khoảng hơn 300 giống và 3.000 loài, được phân bố khắp nơi, một số loài tập trung ở vùng ôn đới.

** Phân bố theo bộ phận*:

Tất cả các bộ phận của cây, trên nguyên tắc, đều có thể chứa tinh dầu như: rễ, thân, cành, lá, hoa, trái, hạt..

+ Lá: Khuynh diệp, bạc hà, tía tô, xả, tràm, hương nhu, kinh giới…

+ Thân: Trầm hương, long não, quế…

+ Rễ: Gừng, nghệ, hành tỏi, xuyên khung, đương quy….

+ Quả: Cam, chanh, bưởi, hồi, sa nhân…

+ Hoa: Hoa hồng, hoa lan, hoa cúc, hoa nhài, hoa quế…

Tinh dầu ở mỗi bộ phận trên cùng một cây có thể giống nhau hoặc khác nhau rất nhiều về thành phần hóa học và hàm lượng tinh dầu. Hàm lượng tinh dầu phụ thuộc vào giống, di truyền, đất đai, phân bón, thời tiết, ánh sáng, lượng mưa, thời điểm thu hoạch…

I.2.3. Vai trò của tinh dầu đối với đời sống thực vật

Vấn đề về vai trò của tinh dầu trong đời sống của cây đã được đề cập tới trong rất nhiều công trình nghiên cứu. Theo quan niệm được trình bày trong các công trình khác nhau, vai trò của tinh dầu được quy tụ trong các nội dung sau đây (Ph. X. Tanaxienco, 1985):

- Bảo vệ cây khỏi các tác động của sâu bệnh.
- Che phủ các vết thương ở cây gỗ.
- Ngăn chặn các bệnh do nấm.
- Biến đổi sức căng bề mặt của nước trong cây, thúc đẩy sự vận chuyển nước, tăng hiệu quả của các phản ứng enzym.

Phân tích các giả thuyết về vai trò của tinh dầu trong đời sống thực vật, Coxtrisep X. P. (1937) cho rằng tinh dầu có thể được xếp vào 2 nhóm chức năng:

- Nhóm các tinh dầu có chức năng sinh lý được cây sử dụng trong quá trình sinh trưởng.

- Nhóm các tinh dầu không có chức năng sinh lý, không được cây sử dụng, chúng đơn thuần chỉ là các chất tiết của cơ thể và được tích lũy trong các bể chứa tinh dầu.

I.2.4. Công dụng của tinh dầu

Tinh dầu hiện nay là nguồn nguyên liệu không thể thiếu trong nhiều lĩnh vực:

- Thực phẩm: Gia vị làm sẵn, thức ăn nhanh, nước ngọt, đồ hộp, kem lạnh, bánh kẹo, nước chấm…

- Dược phẩm: Dùng làm thuốc chữa một số bệnh thông thường, hương vị liệu pháp, át mùi thuốc, …

- Mỹ phẩm: Dầu thơm, kem dưỡng da, chất khử mùi, dầu gội đầu, son môi,…

I.2.5. Tính chất đặc trưng của tinh dầu

Tinh dầu là hợp chất hữu cơ hòa tan lẫn nhau, có mùi đặc trưng, ở nhiệt độ thường hầu hết tinh dầu ở thể lỏng, có khối lượng riêng nhỏ hơn 1 (trừ một số tinh dầu như quế, đinh hương có khối lượng riêng lớn hơn 1).

Qua các bằng chứng thực nghiệm, có thể thấy rằng, nhiều thành phần hóa học của tinh dầu, ví dụ một số axit có phân tử lượng thấp, ancol, các anđehit mạch vòng … là những nguyên liệu khởi đầu để tổng hợp hàng loạt các chất có hoạt tính sinh học. Trong thành phần của tinh dầu, có thể gặp hàng loạt các chất khởi nguyên nói trên: các axit hữu cơ thường gặp gồm: axit axetic, axit valerianic, axit isovalerianic …, và các ancol tương ứng với chúng; ngoài ra còn thường gặp các anđehit, các este, một số terpenoid như geraniol, linalool, pharnesol, nerolydol … Đó là những hợp chất liên quan tới nhiều kiểu cấu trúc hóa học khác nhau và tham gia vào các hệ thống đồng hóa khác nhau. Trong thành phần tinh dầu còn thường thấy các hợp chất có nhân thơm như aneton, pheniletilnol, benzanđehit, vanilin, thậm chí cả các hợp chất có chứa nitơ và lưu huỳnh.

Tinh dầu thường không màu hay có màu vàng, một số có màu nâu sẫm (như tinh dầu quế), đa số có mùi dễ chịu, một số có mùi hắc khó chịu, thường có vị cay, một số có vị ngọt…

Tinh dầu dễ bị bay hơi, không tan trong nước, tan trong dung môi hữu cơ.

Tinh dầu dễ bị oxi hóa, thường xảy ra khi trùng hợp hóa.

Mỗi tinh dầu có các hằng số vật lý đặc trưng như: tỷ trọng (d), góc quay cực (α), chỉ số khúc xạ, độ hòa tan, chiết suất, điểm đông…và các chỉ số hóa học như: chỉ số axit, chỉ số este hóa, chỉ số iot, chỉ số xà phòng hóa,…Qua các chỉ số đó người ta có thể đánh giá sơ bộ tinh dầu.

I.2.6. Phương pháp sản xuất tinh dầu [6]

- Phương pháp cơ học.
- Phương pháp tẩm trích.
- Phương pháp hấp thu.
- Phương pháp chưng cất hơi nước.
- Các phương pháp mới trong việc ly trích tinh dầu: dung môi CO_2, vi sóng.

Mỗi phương pháp có những ưu, nhược điểm khác nhau, nhưng dù có tiến hành theo bất cứ phương pháp nào, quy trình sản xuất đều có những điểm chung sau đây:

- Tinh dầu thu được phải có mùi thơm tự nhiên như nguyên liệu.
- Quy trình khai thác phải phù hợp nguyên liệu.
- Tinh dầu phải được lấy triệt để khỏi nguyên liệu, với chi phí thấp nhất.

Nguyên tắc ly trích của tất cả các phương pháp nói trên đều dựa vào những đặc tính của tinh dầu như:

- Dễ bay hơi.
- Lôi cuốn theo hơi nước ở nhiệt độ dưới 100^oC.
- Hòa tan dễ dàng trong dung môi hữu cơ.
- Dễ bị hấp thu ngay ở thể khí.

I.3. Phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước

Phương pháp này dựa trên sự thẩm thấu, hòa tan, khuếch tán và lôi cuốn theo hơi nước của những hợp chất hữu cơ trong tinh dầu chứa trong các mô khi tiếp xúc với hơi nước ở nhiệt độ cao. Sự khuếch tán sẽ dễ dàng khi tế bào chứa tinh dầu trương phồng do nguyên liệu tiếp xúc với hơi nước bão hòa trong một thời gian nhất định. Trường hợp mô thực vật có chứa sáp, nhựa, axit béo chi phương dây dài thì khi chưng cất phải được thực hiện trong một thời gian dài vì những hợp chất này làm giảm áp suất hơi chung của hệ thống và làm cho sự khuếch tán trở nên khó khăn.

I.3.1. Lý thuyết chưng cất

Chưng cất có thể được định nghĩa là: "Sự tách rời các cấu phần của một hỗn hợp nhiều chất lỏng dựa trên sự khác biệt về áp suất hơi của chúng". Trong trường hợp đơn giản, khi chưng cất một hỗn hợp gồm hai chất lỏng không hòa tan vào nhau, áp suất hơi tổng cộng là tổng của hai áp suất hơi riêng phần. Do đó, nhiệt độ sôi của hỗn hợp sẽ tương ứng với áp suất hơi tổng cộng xác định, không tùy thuộc vào thành phần bách phân của hỗn hợp, miễn là lúc đó hai pha lỏng vẫn còn tồn tại. Nếu vẽ đường cong áp suất hơi của từng chất theo nhiệt độ, rồi vẽ đường cong áp suất hơi tổng cộng, thì ứng với một áp suất, ta dễ dàng suy ra nhiệt độ sôi tương ứng của hỗn hợp và nhận thấy là

nhiệt độ sôi của hỗn hợp luôn luôn thấp hơn nhiệt độ sôi của từng hợp chất. Thí dụ, ở áp suất 760 mmHg nước sôi ở 100^{o}C và benzen sôi ở 80^{o}C và chúng là hai chất lỏng không tan vào nhau. Thực hành cho thấy, nếu đun hỗn hợp này dưới áp suất 760 mmHg nó sẽ sôi ở 69^{o}C cho đến khi nào còn hỗn hợp hai pha lỏng với bất kì tỉ lệ nào. Giản đồ nhiệt độ sôi theo áp suất cho thấy, tại 69^{o}C, áp suất hơi của nước là 225 mmHg và benzen là 535 mmHg.

Chính vì đặc tính làm giảm nhiệt độ sôi này mà từ lâu phương pháp chưng cất hơi nước là phương pháp đầu tiên dùng để tách tinh dầu ra khỏi nguyên liệu thực vật.

I.3.2. Những ảnh hưởng chính trong sự chưng cất hơi nước

*** Sự khuếch tán**

Ngay khi nguyên liệu được làm vỡ vụn thì chỉ có một số mô chứa tinh dầu bị vỡ và cho tinh dầu thoát tự do ra ngoài theo hơi nước lôi cuốn đi. Phần lớn tinh dầu còn lại trong các mô thực vật sẽ tiến dần ra ngoài bề mặt nguyên liệu bằng sự hòa tan và thẩm thấu. Von Rechenberg đã mô tả quá trình chưng cất hơi nước như sau: "Ở nhiệt độ nước sôi, một phần tinh dầu hòa tan vào trong nước có sẵn trong tế bào thực vật. Dung dịch này sẽ thẩm thấu dần ra bề mặt nguyên liệu và bị hơi nước cuốn đi. Còn nước đi vào nguyên liệu theo chiều ngược lại và tinh dầu lại tiếp tục bị hòa tan vào lượng nước này. Quy trình này lặp đi lặp lại cho đến khi tinh dầu trong các mô thoát ra ngoài hết".

Như vậy, sự hiện diện của nước rất cần thiết, cho nên trong trường hợp chưng cất sử dụng hơi nước quá nhiệt, chú ý tránh đừng để nguyên liệu bị khô. Nhưng nếu lượng nước sử dụng thừa quá thì cũng không có lợi, nhất là trong trường hợp tinh dầu có chứa những cấu phần tan dễ trong nước.

Ngoài ra, vì nguyên liệu được làm vỡ vụn ra càng nhiều càng tốt, cần làm cho lớp nguyên liệu có một độ xốp nhất định để hơi nước có thể đi xuyên ngang lớp này đồng đều và dễ dàng.

Vì các cấu phần trong tinh dầu được chưng cất hơi nước theo nguyên tắc nói trên cho nên thông thường những hợp chất nào dễ hòa tan trong nước sẽ được lôi cuốn trước. Thí dụ, khi chưng cất hơi nước hạt caraway nghiền nhỏ và không nghiền, đối với hạt không nghiền thì carvon (nhiệt độ sôi cao nhưng tan nhiều trong nước) sẽ ra trước, còn limonen (nhiệt độ sôi thấp, nhưng ít tan trong nước) sẽ ra sau. Nhưng với hạt caraway nghiền nhỏ thì kết quả chưng cất ngược lại.

*** Sự thủy phân**

Những cấu phần este trong tinh dầu thường dễ bị thủy phân cho ra axit và ancol khi đun nóng trong một thời gian dài với nước. Do đó, để hạn chế hiện tượng này, sự chưng cất hơi nước phải được thực hiện trong một thời gian càng ngắn càng tốt.

*** Nhiệt độ**

Nhiệt độ cao làm phân hủy tinh dầu. Do đó, khi cần thiết phải dùng hơi nước quá nhiệt (trên 100^{o}C) nên thực hiện việc này trong giai đoạn cuối cùng của sự chưng cất, sau khi các cấu phần dễ bay hơi đã lôi cuốn đi hết. Thực ra, hầu hết các tinh dầu đều kém bền dưới tác dụng của nhiệt nên vấn đề là làm sao cho thời gian chịu nhiệt độ cao của tinh dầu càng ngắn càng tốt.

Tóm lại, dù ba ảnh hưởng trên được xem xét độc lập nhưng thực tế thì chúng có liên quan với nhau và quy về ảnh hưởng của nhiệt độ. Khi tăng nhiệt độ, sự khuếch tán thẩm thấu sẽ tăng, sự hòa tan tinh dầu trong nước sẽ tăng nhưng sự phân hủy cũng tăng theo.

Trong công nghiệp, dựa trên thực hành, người ta chia các phương pháp chưng cất hơi nước ra thành ba loại chính:

- Chưng cất bằng nước.
- Chưng cất bằng nước và hơi nước.
- Chưng cất bằng hơi nước.

Chúng em chọn phương pháp chưng cất bằng nước để trích ly tinh dầu từ lá ngò gai.

I.3.3. Chưng cất bằng nước

Trong trường hợp này, nước phủ kín nguyên liệu, nhưng phải chừa một khoảng không gian tương đối lớn phía bên trên lớp nước, để tránh khi nước sôi mạnh làm văng chất nạp qua hệ thống hoàn lưu. Nhiệt cung cấp có thể đun trực tiếp bằng củi lửa hoặc bằng hơi nước dẫn từ nồi hơi vào (sử dụng bình có hai lớp đáy). Trong trường hợp chất nạp quá mịn, lắng chặt xuống đáy nồi, lúc đó nồi phải trang bị những cánh khuấy trộn đều bên trong trong suốt thời gian chưng cất.

Sự chưng cất này không thích hợp với những tinh dầu dễ bị thủy phân. Những nguyên liệu xốp và rời rạc rất thích hợp cho phương pháp này. Những cấu phần có nhiệt độ sôi cao, dễ tan trong nước sẽ khó hóa hơi trong khối lượng lớn nước phủ đầy, khiến cho tinh dầu sản phẩm sẽ thiếu những chất này. Thí dụ điển hình là mùi tinh dầu hoa hồng thu được từ phương pháp chưng cất hơi nước kém hơn sản phẩm tẩm trích vì eugenol và ancol phenetil nằm lại trong nước khá nhiều, vì thế người ta chỉ dùng phương pháp này khi không thể sử dụng các phương pháp khác.

* *Ưu điểm*:

- Quy trình kỹ thuật tương đối đơn giản.
- Thiết bị gọn, dễ chế tạo.
- Không đòi hỏi vật liệu phụ như các phương pháp tẩm trích, hấp thụ.
- Thời gian tương đối nhanh.

* *Khuyết điểm*:

- Không có lợi đối với những nguyên liệu có hàm lượng tinh dầu thấp.
- Chất lượng tinh dầu có thể bị ảnh hưởng nếu trong tinh dầu có những cấu phần dễ bị phân hủy.
- Không lấy được các loại nhựa và sáp có trong nguyên liệu (đó là những chất định hương thiên nhiên rất có giá trị).
- Trong nước chưng luôn luôn có một lượng tinh dầu tương đối lớn.
- Những tinh dầu có nhiệt độ sôi cao thường cho hiệu suất rất kém.

PHẦN II. THỰC NGHIỆM

II.1. Thiết bị, dụng cụ

- Tỉ trọng kế.
- Cân phân tích có độ chính xác tới 0,0001 gam.
- Nhiệt kế chia vạch $0,2^0$C.
- Chậu thủy tinh.
- Giá đỡ.
- Đèn cồn.
- Ống nhỏ giọt 25 ml, 50ml.
- Ống hút có ngấn chuẩn hoặc chia vạch 1 ml.
- Nhiệt kế chia độ nhỏ nhất là 0,2 hay $0,1^0$C.
- Erlenmeyer 500 ml (C), 100ml.
- Ống nghiệm đường kính khoảng 30 mm, dài 125 mm có gắn nút cao su (B).
- Ống nghiệm đường kính khoảng 20mm, dài 100 mm (A).
- Đũa khuấy đặt trong ống A.
- Ống đong 5ml.
- Ống nhỏ giọt 25ml, độ chia 0,1 ml.
- Phễu chiết.
- Ống chứa mẫu tinh dầu.

II.2. Hóa chất

- Etanol 95%.

- Dung dịch phenolphtalein.
- Na_2SO_4 khan.
- Dung dịch KOH 0,1N.
- Dung dịch HCl 10%.
- Dung dịch $AgNO_3$ 0,1M.
- Dung dịch NaCl 0,0002M.
- HNO_3 đậm đặc.
- Nước cất.

II.3. Nguyên liệu nghiên cứu

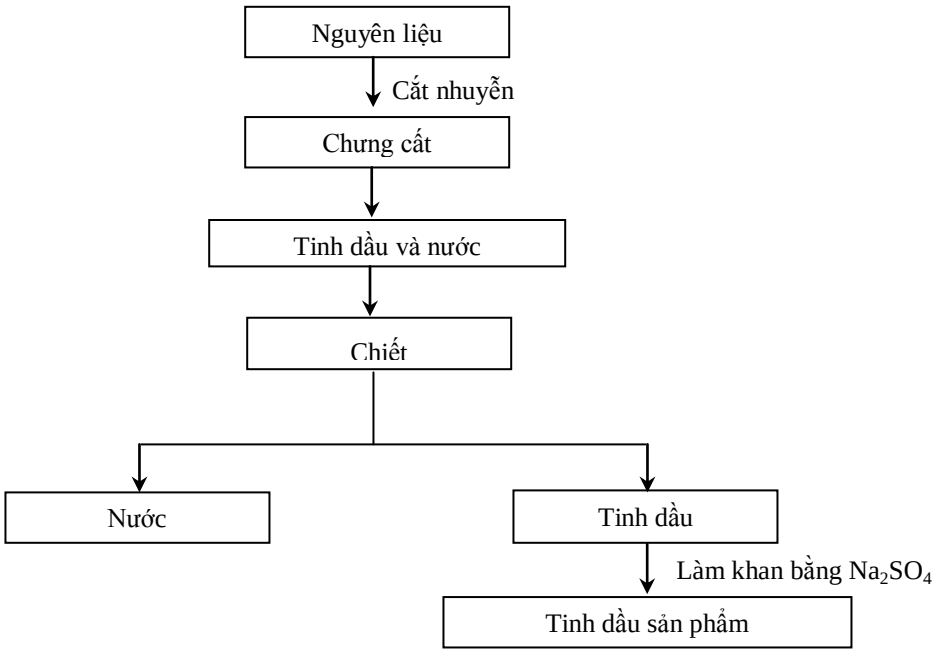
Ngò gai mua tại chợ Xuân Khánh, TP. Cần Thơ.

II.4. Phương pháp thực nghiệm

II.4.1. Thu và xử lí mẫu

Ngò gai được mua tại chợ Xuân Khánh. Khi mua chọn ngò gai tươi, lá xanh, không bị vàng úa, lấy phần trên mặt đất gồm cuống và lá của ngò gai. Nguyên liệu sau khi mua về loại bỏ lá úa, lá vàng, lá sâu,…, sau đó rửa sạch, cắt nhỏ. Ngò gai được bảo quản tươi cho đến khi tiến hành thí nghiệm chưng cất lôi cuốn hơi nước để trích ly tinh dầu.

II.4.2. Sơ đồ trích ly tinh dầu từ lá cây ngò gai



Hình II.3. Sơ đồ trích ly tinh dầu từ lá cây ngò gai

II.4.3. Khảo sát một số chỉ số vật lí và hóa lý

Tinh dầu trích ly được đem xác định tỉ trọng, độ tan và chỉ số axit như sau:

a. Tỉ trọng

- Tỉ trọng tương đối của tinh dầu tại 20^0C: d_{20}^{20} là tỉ số khối lượng tinh dầu ở 20^0C trên khối lượng của cùng một thể tích nước cất cũng ở 20^0C.

- Tỉ trọng của tinh dầu dao động từ 0,7-1,2. Hầu hết tinh dầu có tỉ trọng nhỏ hơn nước, trừ một vài tinh dầu như tinh dầu hương nhu, long não, quế…

- Tỉ trọng tinh dầu thường phụ thuộc vào thành phần hóa học của tinh dầu. Những tinh dầu có chứa nhiều hợp chất hiđrocacbon thường có tỉ trọng nhỏ hơn 0.9. Những tinh dầu có chứa nhiều hợp chất chứa oxi, hợp chất hương phương thường có tỉ trọng lớn hơn 1.

- Ở 20^0C, nước có tỉ trọng 0,99823g/ml.

* *Cách tiến hành*:

Đầu tiên tỉ trọng kế phải được rửa sạch, tráng lại bằng etanol hoặc axeton. Sấy khô.

Cân tỉ trọng kế rỗng (m_0).

Cho nước cất vào đầy tới cổ bình, đậy nút, lau khô phần nước trào. Cân khối lượng cả bình và nước cất (m_1).

Thay nước cất bằng tinh dầu cũng theo cách thức như trên.

Cân khối lượng cả bình và tinh dầu (m_2).

* *Tính toán kết quả theo công thức*:

$$\mathbf{d_{20}^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}}$$

Với:

m_0: khối lượng tỉ trọng kế rỗng (gam)

m_1: khối lượng tỉ trọng kế và nước (gam)

m_2: khối lượng tỉ trọng kế và tinh dầu (gam)

Nếu xác định tinh dầu ở nhiệt độ khác 20^0C, tỉ trọng của tinh dầu phải được hiệu chỉnh về d_{20}^{20} tùy từng loại tinh dầu; từ 0,00042 đến 0,00084/^{0}C.

b. Độ tan

Độ tan của tinh dầu là số thể tích dung dịch etanol-nước vừa đủ để hòa tan một thể tích tinh dầu thành dung dịch trong suốt ở nhiệt độ 20^0C.

Có ba trường hợp xảy ra khi hòa tan tinh dầu vào dung dịch etanol-nước:

- Một thể tích tinh dầu khi thêm vào V thể tích dung dịch etanol-nước cho một dung

dịch trong suốt và giữ nguyên như vậy khi tiếp tục thêm vào cho đến 20 thể tích etanol-nước.

- Một thể tích tinh dầu khi thêm vào V thể tích dung dịch etanol-nước cho một dung dịch trong suốt, nhưng khi thêm dung dịch etanol-nước lên đến V' thì đục và giữ nguyên như vậy khi thêm đến 20 thể tích dung dịch etanol-nước.
- Một thể tích tinh dầu khi thêm vào V thể tích dung dịch etanol-nước cho một dung dịch trong suốt, thêm dung dịch etanol-nước lên đến V' thì đục, nhưng nếu tiếp tục thêm etanol vào đến V'' thì trong suốt lại, thể tích tổng cộng phải dưới 20 thể tích dung dịch etanol-nước.

Nếu rơi vào hai trường hợp sau, ta thay dung dịch etanol-nước có nồng độ etanol cao hơn.

* *Cách tiến hành*:

Pha dung dịch etanol-nước theo tỉ lệ thể tích: 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95%. Nhỏ từ từ dung dịch etanol-nước từ ống nhỏ giọt vào tinh dầu (thường lấy 1ml), khuấy đều trong lúc thử. Chất chuẩn đục: Cho 0,5ml $AgNO_3$ 0,1M vào 50ml NaCl 0,0002M; thêm 1 giọt HNO_3 đậm đặc.

c. Xác định chỉ số axit

Chỉ số axit (I_A, indice d'acid) là số mg KOH cần thiết để trung hòa các axit béo tự do có trong một gam tinh dầu.

KOH trung hòa các axit béo tự do trong tinh dầu theo phản ứng:

$$RCOOH + KOH \longrightarrow RCOOK + H_2O$$

* *Cách tiến hành*:

- Cân 1 gam bột Phenolphthalein hòa tan trong cồn, sau đó thêm cồn cho đủ 100 gam.

- Cân 5,6 gam KOH 0,1N hòa tan trong cồn 96^0 (trong bình định mức), sau đó thêm cồn cho đủ 1 lít.

- Cho vào erlen 100ml 10ml etanol, thêm vào 3 giọt phenolphthalein. Chuẩn độ dung dịch bằng dung dịch KOH 0,1 N cho đến khi xuất hiện màu hồng bền trong 30 giây. Cho tiếp vào 1 đến 2 ml tinh dầu trích ly từ lá ngò gai (trước khi cho tinh dầu phải đem cân để biết khối lượng của tinh dầu), lắc đều cho dầu tan hoàn toàn. Tiếp tục chuẩn độ dung dịch bằng dung dịch KOH 0,1N cho đến khi xuất hiện màu hồng bền trong 30 giây. Tiến hành chuẩn độ ba lần, ghi thể tích KOH đã chuẩn độ, lấy giá trị trung bình.

* *Tính toán kết quả theo công thức*:

$$\mathbf{I_A} = \frac{5,6.V}{m}$$

Với:

I_A: chỉ số axit

m: khối lượng mẫu tinh dầu (gam)

V: thể tích dung dịch KOH (ml).

Từ lượng KOH sử dụng, biết được khối lượng mẫu tinh dầu, suy ra chỉ số axit.

II.4.4. Kiểm nghiệm tỷ lệ thành phần GC/MS bằng phương pháp sắc ký khí - khối phổ GC/MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry): dựa trên cơ sở máy sắc ký khí với một máy khối phổ để xác định một cấu tử nào đó trong hỗn hợp chất cần phân tích. Đây là phương pháp nhanh và rất hiệu quả trong việc xác định thành phần của các chất tổng hợp được. Chúng em đã gửi mẫu phân tích tại Trung tâm dịch vụ phân tích thí nghiệm TP. Hồ Chí Minh.

Kết quả: *Phụ lục đính kèm*.

II.4.5. Kiểm định hoạt tính kháng vi sinh vật: Gửi mẫu phân tích tại Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam – Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên – Phòng Sinh học thực nghiệm

Kết quả: *Phụ lục đính kèm*.

II.4.6. Bảo quản sản phẩm tinh dầu ngò gai trích ly được: Bảo quản trong những chai nhỏ chuyên dụng, có màu nâu cánh gián, được tráng một lớp bảo vệ tránh tia cực tím nhằm giữ chất lượng tinh dầu luôn trung thực.

II.4.7. Điều chế một số sản phẩm đơn giản từ tinh dầu lá ngò gai trích ly được:

Tinh dầu sản phẩm được gửi một phần đến Xí nghiệp Dược Hậu Giang để sản xuất viên nén ngậm trị ho, một phần được chúng em pha thành nước súc miệng diệt khuẩn – thực nghiệm được tiến hành trong phòng thí nghiệm trường THPT chuyên Lý Tự Trọng.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đã trích ly được tinh dầu lá ngò gai (chất lỏng, màu vàng) với hàm lượng khoảng 0,04% (tương đương 0,5ml/1kg lá ngò gai tươi).
2. Xác định tỉ trọng, độ tan trong etanol, chỉ số axit của tinh dầu lá ngò gai:
   + Tỉ trọng: khoảng 0,7-1,2 g/ml.
   + Tinh dầu lá ngò gai tan một phần trong dung môi etanol.
   + Chỉ số axit: khoảng 8,9.
3. Xác định được khoảng 13 chất có trong tinh dầu lá ngò gai bằng phổ GC-MS, một chất chưa được nhận danh.

Bảng II.1. Kết quả phân tích MSM: 13111969 – NCT 01

STT	RT	Tên chất	%
1	9.09	α-Pinene	0.13
2	12.55	Decanal	3.69
3	13.56	Undecanal	0.31
4	13.87	2,4,6-Trimethylbenzaldehyde	0.45
5	14.17	1-Undecanol	1.06
6	14.29	2,4,5-Trimethylbenzaldehyde	8.37
7	14.5	Dodecanal	18.94
8	14.9	Xem phổ	1.35
9	15.12	2- Dodecanal	45.10
10	15.88	n-Dodecanoic acid	5.38
11	16.18	Xem phổ	2.98
12	16.33	Carotol	0.50
13	16.68	2-Tridecenal	11.74

4. Thử hoạt tính sinh học của tinh dầu lá ngò gai.

Bảng II.2. Kết quả kiểm định hoạt tính kháng vi sinh vật

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC: µg/ml)							
Vi khuẩn Gr(-)		**Vi khuẩn Gr(+)**		**Nấm mốc**		**Nấm men**	
E. coli	*P. aeruginosa*	*B. subtillis*	*S. aureus*	*A. niger*	*F. oxysporum*	*S. cerevisiae*	*C. albicans*
(-)	**200**	**200**	**200**	**50**	**200**	**100**	**50**

5. Sản xuất viên ngậm trị ho, nước súc miệng diệt khuẩn.

PHÂN TÍCH SỐ LIỆU

- Tinh dầu trích ly được ở dạng lỏng, màu vàng, nhẹ hơn nước, có mùi thơm đặc trưng của lá ngò gai - phù hợp với màu sắc và tính chất của tinh dầu thiên nhiên.

- Một số chỉ tiêu vật lý, chỉ số axit của tinh dầu lá ngò gai – sản phẩm của đề tài phù hợp với các chỉ tiêu tương ứng của tinh dầu thương phẩm, bảo đảm an toàn sử dụng.

- Kết quả thử nghiệm của phương pháp sắc ký phổ khối GC/MS tại Trung tâm dịch vụ phân tích thí nghiệm TP. Hồ Chí Minh xác định đầy đủ các chất thành phần có trong tinh dầu lá ngò gai – sản phẩm của đề tài phù hợp với thành phần được xác định theo lý thuyết.

- Kết quả kiểm định hoạt tính kháng vi sinh vật tại Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam – Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên – Phòng Sinh học thực nghiệm xác nhận tinh dầu lá ngò gai – sản phẩm của đề tài có hoạt tính kháng 7 chủng vi sinh vật như:

+ *P. aeruginosa (trực khuẩn mủ xanh):* Làm suy giảm hệ miễn dịch và viêm nhiễm, ví dụ như: viêm phổi, nhiễm trùng huyết, nhiễm trùng đường niệu, nhiễm trùng da và mô mềm, nhiễm trùng đường tiêu hóa.

+ *B. subtillis (trực khuẩn):* Làm hỏng thức ăn, bệnh ăn không tiêu.

+ *S. aureus(Tụ cầu vàng):* Nhiễm khuẩn, nhiễm trùng, oxi hóa, ngộ độc thực phẩm.

+ *A. niger:* Gây bệnh đái tháo đường.

+ *C. albicans:* Một loại nấm men gây bệnh tưa lưỡi ở trẻ sơ sinh và gây viêm nhiễm âm đạo phụ nữ. [10]

Kết quả trên cho thấy tinh dầu trích ly được có khả năng điều trị một số bệnh thông thường như ho, cảm,...phù hợp với lý thuyết. Đồng thời, theo kết quả kiểm định hoạt tính kháng vi sinh vật của mẫu sản phẩm, tinh dầu trích từ lá ngò gai có tính kháng nấm *C. albicans* - một loại nấm ký sinh gây viêm nhiễm trùng âm đạo phụ nữ. Đây là một phát hiện mới về công dụng của lá ngò gai, có thể điều trị bệnh đẹn (tưa lưỡi) ở trẻ em và bệnh phụ khoa ở phụ nữ.

KẾT LUẬN

Vì điều kiện thiết bị thí nghiệm và thời gian thực nghiệm có giới hạn nên chúng em chưa khảo sát hết các chỉ số vật lý, hóa lý, cũng như tìm ra hiệu suất tối ưu cho quá trình trích ly tinh dầu từ lá ngò gai.

Với kết quả phân tích trên, nhóm tác giả chúng em kết luận có khả năng trích ly tinh dầu từ lá ngò gai và có thể ứng dụng kết quả thực nghiệm trên vào việc sản xuất một số dược phẩm như viên ngậm, viên dầu, nước súc miệng,... – có giá thành thấp – điều trị một số bệnh thông thường như ho, cảm,...từ tinh dầu lá ngò gai. Đồng thời, chúng em hy vọng đây cũng là bước tiền đề để ngành dược phẩm nghiên cứu có thể dùng tinh dầu trên để sản xuất nước, sữa vệ sinh phụ nữ (hiện nay, trong thành phần sữa vệ sinh phụ nữ có cúc hoa, trà xanh, bạc hà) giúp ngăn ngừa các nguy cơ gây viêm nhiễm âm đạo, âm hộ, huyết trắng và các bệnh phụ khoa do nấm; tiến tới có thể tổng hợp các loại dược phẩm rẻ tiền trị bệnh phụ khoa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Đỗ Tất Lợi, 1993. *Các phương pháp sơ chế tinh dầu*. Hà Nội: Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật.
[2] Đỗ Tất Lợi, 1995. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Hà Nội: Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật.
[3] Đỗ Đình Rãng và cộng sự, 2006. *Hóa học hữu cơ 1, 2, 3*. Thái Nguyên: Nhà xuất bản Giáo dục.
[4] Nguyễn Ngọc Sương, 2000. *Cơ sở lý thuyết Hóa hữu cơ 2*. TP Hồ Chí Minh: Nhà xuất bản Đại học Quốc gia.
[5] Đặng Như Tại và Ngô Thị Thuận, 2011. *Hóa học hữu cơ tập 2*. Hà Nội: Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam.
[6] Lê Ngọc Thạch, 2003. *Tinh dầu*. TP Hồ Chí Minh: Nhà xuất bản Đại học Quốc gia.
[7] Lê Ngọc Thạch, 2003. *Sổ tay dung môi hữu cơ*. TP Hồ Chí Minh: Nhà xuất bản Giáo dục.
[8] Thái Doãn Tĩnh, 2003. *Cơ sở Hóa học hữu cơ tập 1, 2, 3*. Hà Nội: Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật.
[9] Nguyễn Đình Triệu, 2008. *Hóa học hữu cơ tập 1, 2*. Hà Nội: Nhà xuất bản Đại học Quốc gia.
[10] Phạm Văn Ty, 2009. *Tài liệu giáo khoa chuyên Sinh học trung học phổ thông Vi sinh vật học*. Hà Nội: Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam.

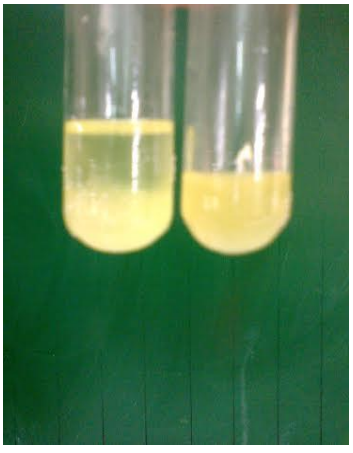
PHỤ LỤC

Hình P.1. Nguyên liệu thô

Hình P.2. Nguyên liệu được cắt nhỏ

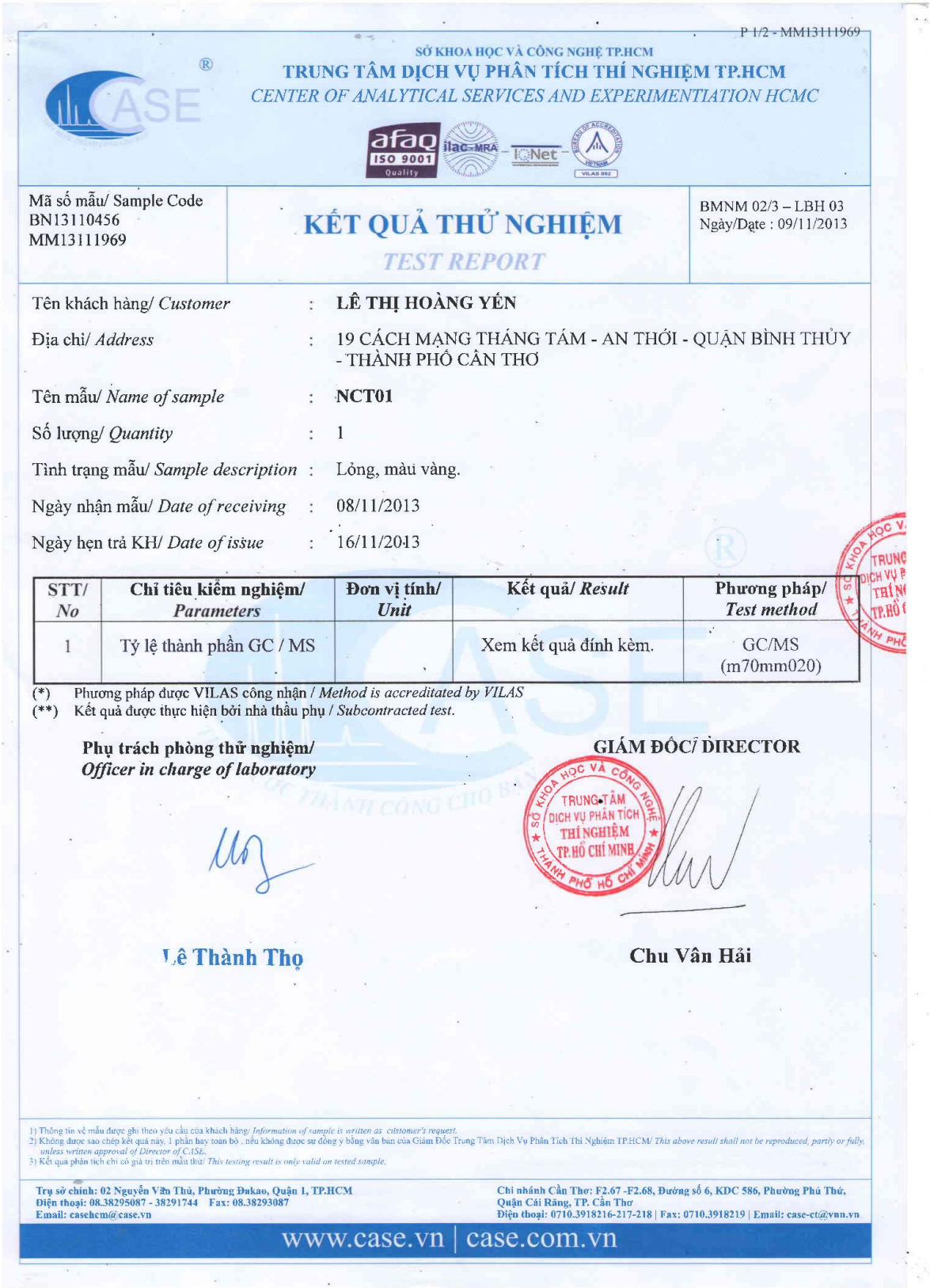
Hình P.3. Hệ thống chưng cất

Hình P.4. Bình hút ẩm



Hình P.5. Tinh dầu lá ngò gai trước khi làm khan (trái) và sau khi làm khan (phải)

Hình P.6. Sản phẩm tinh dầu lá ngò gai



P 1/2 - MM13111969

SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TP.HCM
TRUNG TÂM DỊCH VỤ PHÂN TÍCH THÍ NGHIỆM TP.HCM
CENTER OF ANALYTICAL SERVICES AND EXPERIMENTATION HCMC

Mã số mẫu/ Sample Code
BN13110456
MM13111969

KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM
TEST REPORT

BMNM 02/3 – LBH 03
Ngày/Date : 09/11/2013

Tên khách hàng/ *Customer* : **LÊ THỊ HOÀNG YẾN**

Địa chỉ/ *Address* : 19 CÁCH MẠNG THÁNG TÁM - AN THỚI - QUẬN BÌNH THỦY - THÀNH PHỐ CẦN THƠ

Tên mẫu/ *Name of sample* : **NCT01**

Số lượng/ *Quantity* : 1

Tình trạng mẫu/ *Sample description* : Lỏng, màu vàng.

Ngày nhận mẫu/ *Date of receiving* : 08/11/2013

Ngày hẹn trả KH/ *Date of issue* : 16/11/2013

STT/ *No*	Chỉ tiêu kiểm nghiệm/ *Parameters*	Đơn vị tính/ *Unit*	Kết quả/ *Result*	Phương pháp/ *Test method*
1	Tỷ lệ thành phần GC / MS		Xem kết quả đính kèm.	GC/MS (m70mm020)

(*) Phương pháp được VILAS công nhận / *Method is accreditated by VILAS*
(**) Kết quả được thực hiện bởi nhà thầu phụ / *Subcontracted test.*

Phụ trách phòng thử nghiệm/
Officer in charge of laboratory

Lê Thành Thọ

GIÁM ĐỐC/ DIRECTOR

Chu Văn Hải

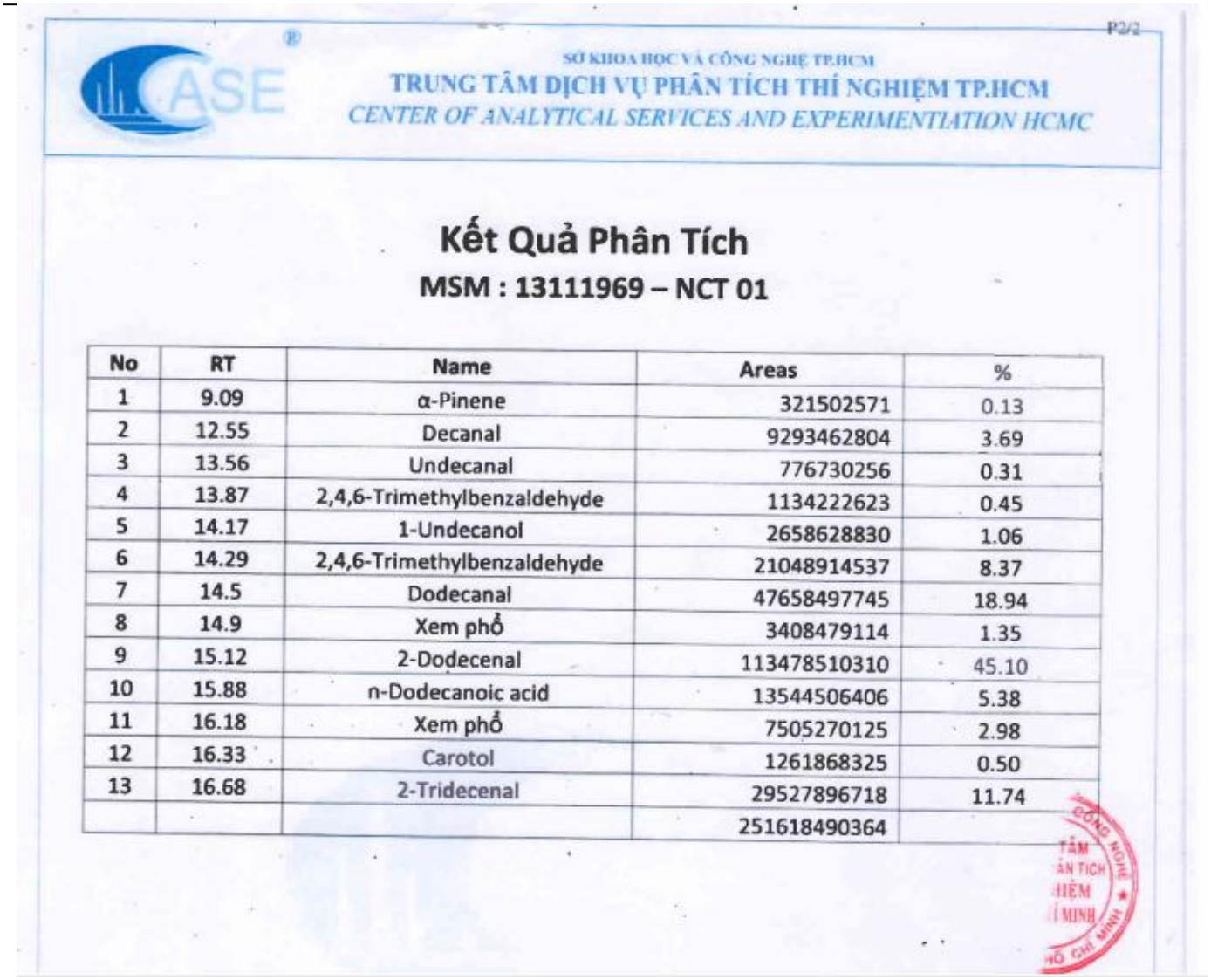
1) Thông tin về mẫu được ghi theo yêu cầu của khách hàng/ *Information of sample is written as cutstomer's request.*
2) Không được sao chép kết quả này, 1 phần hay toàn bộ , nếu không được sự đồng ý bằng văn bản của Giám Đốc Trung Tâm Dịch Vụ Phân Tích Thí Nghiệm TP.HCM/ *This above result shall not be reproduced, partly or fully, unless written approval of Director of CASE.*
3) Kết quả phân tích chỉ có giá trị trên mẫu thử/ *This testing result is only valid on tested sample.*

Trụ sở chính: 02 Nguyễn Văn Thủ, Phường Đakao, Quận 1, TP.HCM
Điện thoại: 08.38295087 - 38291744 Fax: 08.38293087
Email: casehcm@case.vn

Chi nhánh Cần Thơ: F2.67 -F2.68, Đường số 6, KDC 586, Phường Phú Thứ, Quận Cái Răng, TP. Cần Thơ
Điện thoại: 0710.3918216-217-218 | Fax: 0710.3918219 | Email: case-ct@vnn.vn

www.case.vn | case.com.vn

Hình P.7. Kết quả thử nghiệm tỷ lệ thành phần GC/MS



P2/2

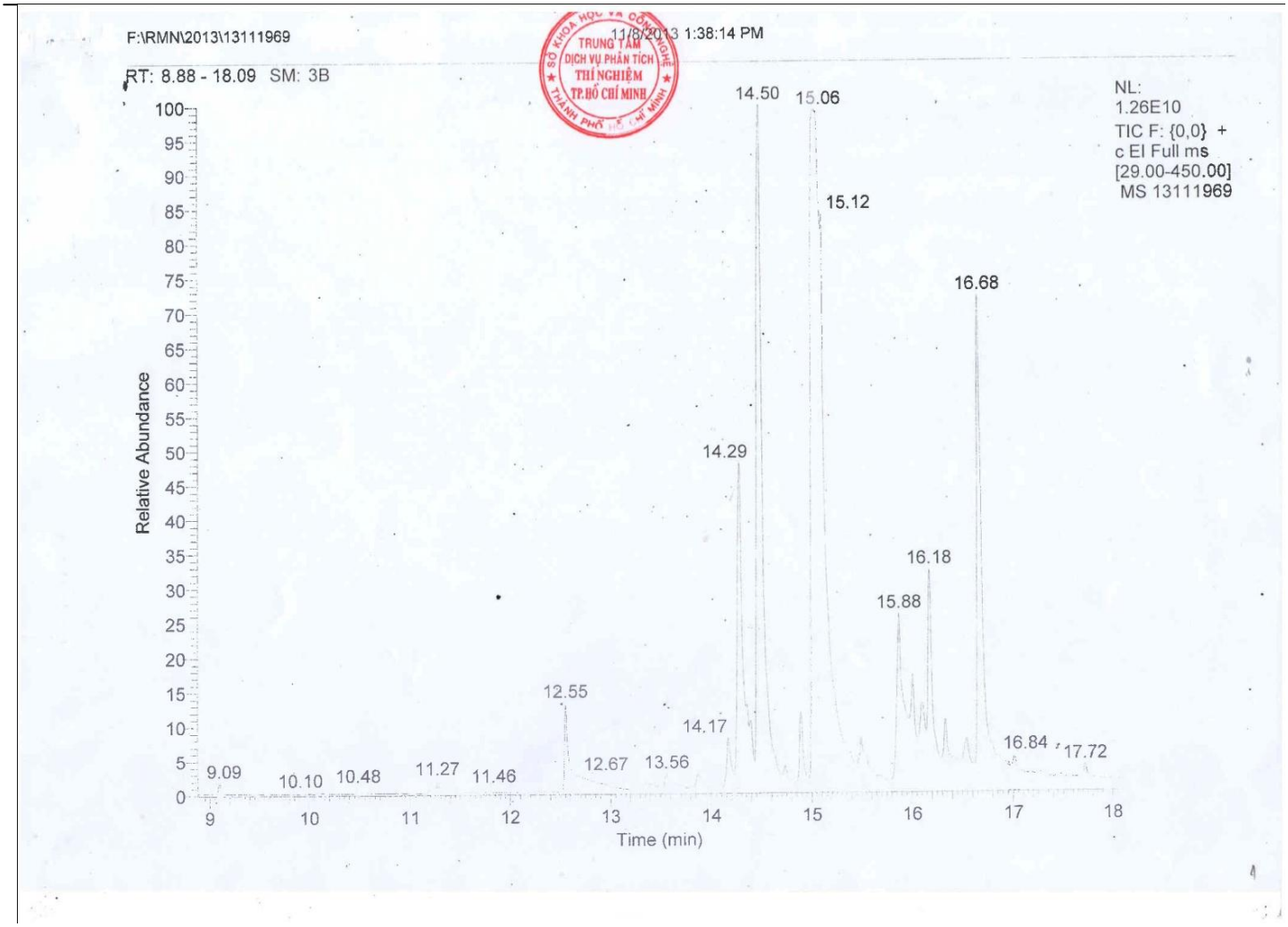
SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TP.HCM
TRUNG TÂM DỊCH VỤ PHÂN TÍCH THÍ NGHIỆM TP.HCM
CENTER OF ANALYTICAL SERVICES AND EXPERIMENTATION HCMC

Kết Quả Phân Tích

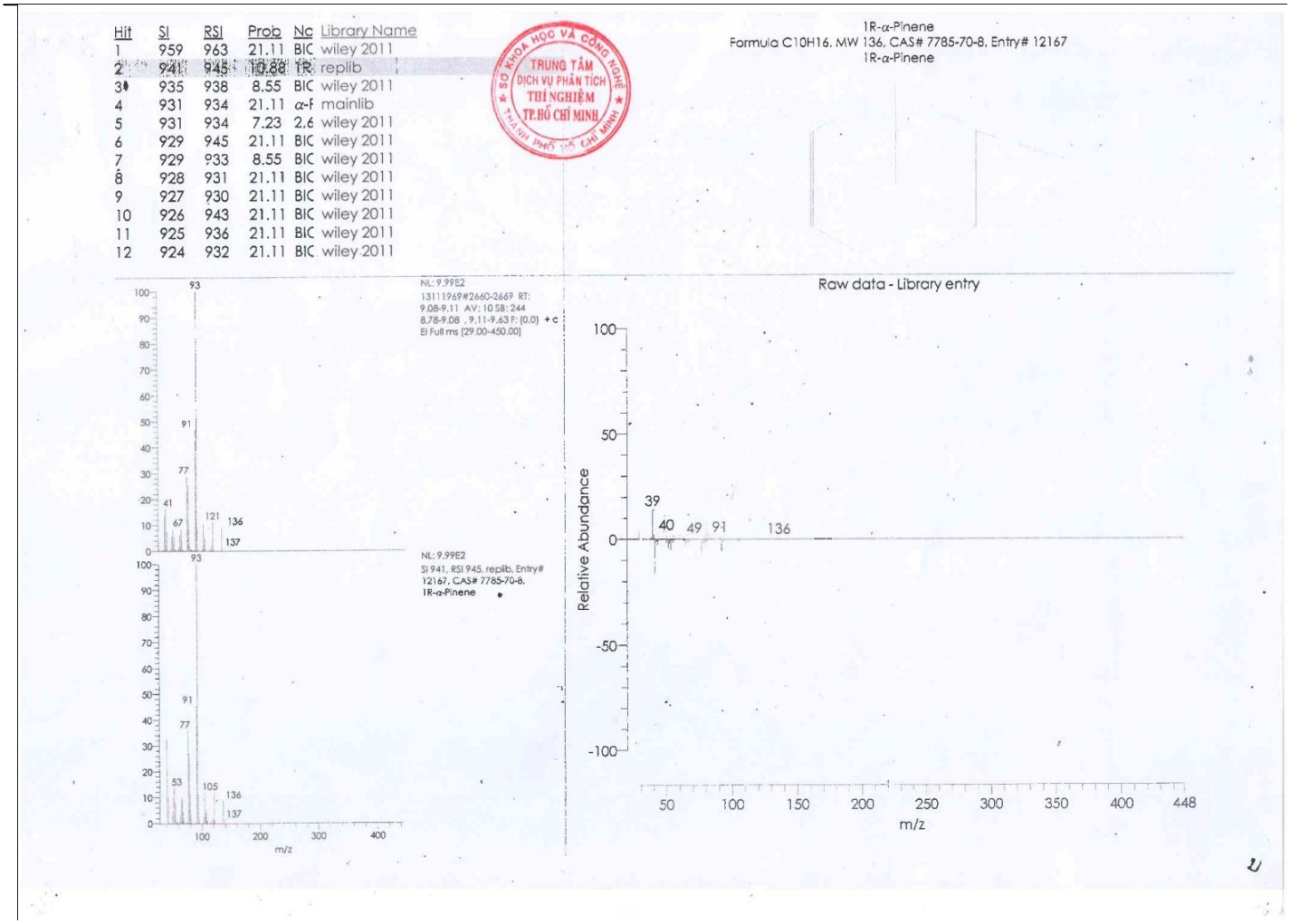
MSM : 13111969 – NCT 01

No	RT	Name	Areas	%
1	9.09	α-Pinene	321502571	0.13
2	12.55	Decanal	9293462804	3.69
3	13.56	Undecanal	776730256	0.31
4	13.87	2,4,6-Trimethylbenzaldehyde	1134222623	0.45
5	14.17	1-Undecanol	2658628830	1.06
6	14.29	2,4,6-Trimethylbenzaldehyde	21048914537	8.37
7	14.5	Dodecanal	47658497745	18.94
8	14.9	Xem phổ	3408479114	1.35
9	15.12	2-Dodecenal	113478510310	45.10
10	15.88	n-Dodecanoic acid	13544506406	5.38
11	16.18	Xem phổ	7505270125	2.98
12	16.33	Carotol	1261868325	0.50
13	16.68	2-Tridecenal	29527896718	11.74
			251618490364	

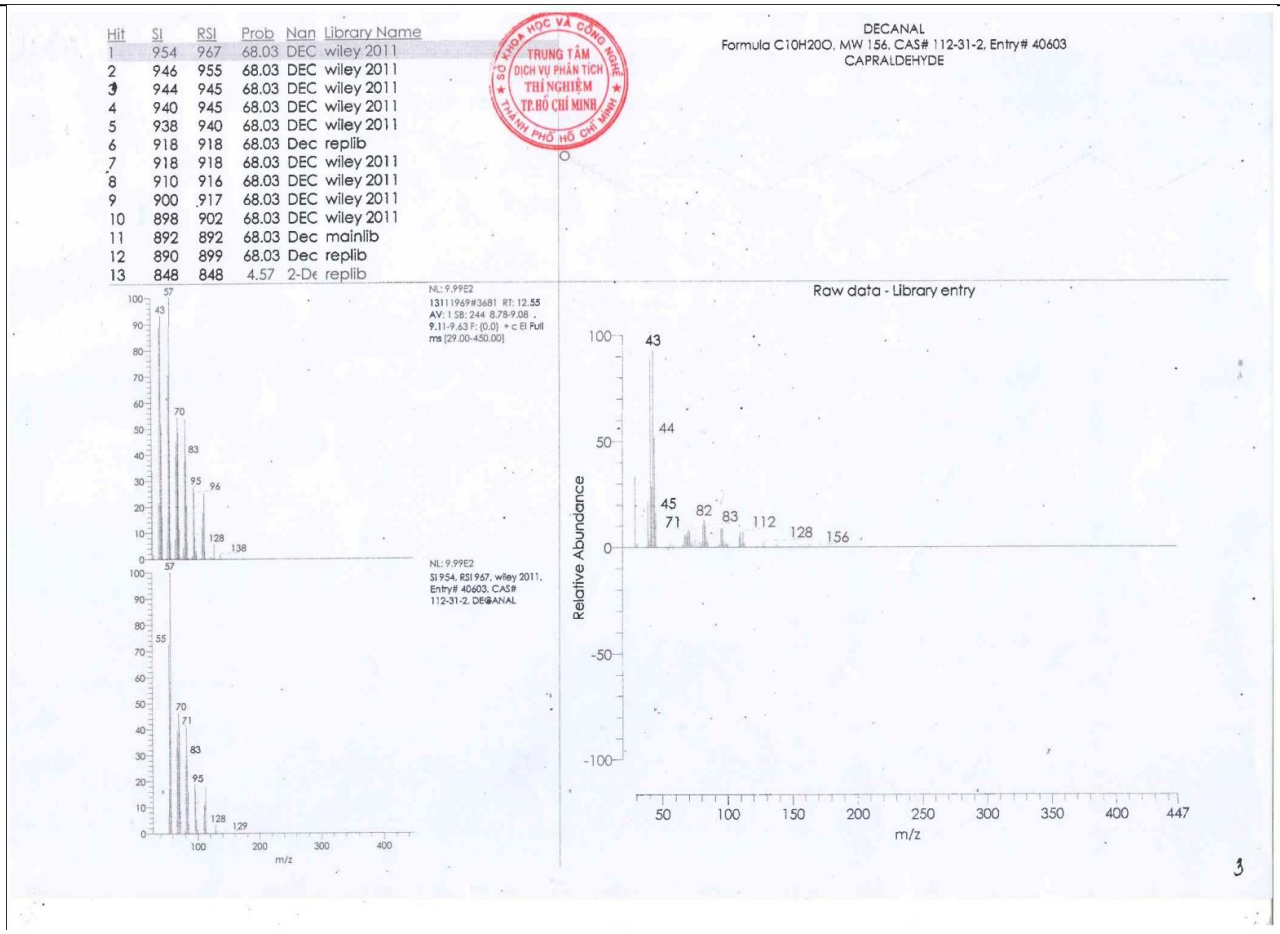
Hình P.8. Kết quả phân tích MSM: 13111969 – NCT 01



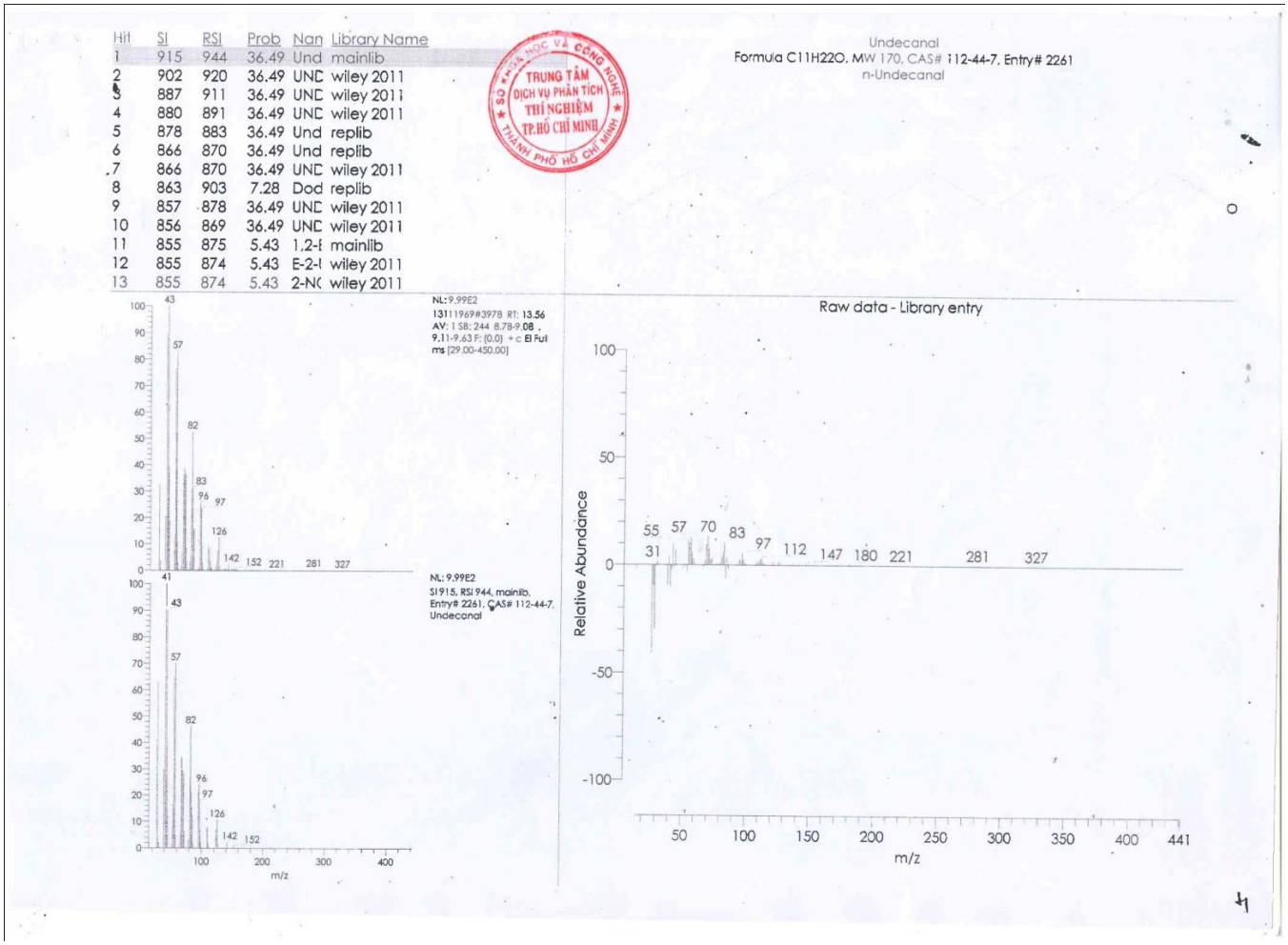
Hình P.9. Phổ MS của mẫu tinh dầu



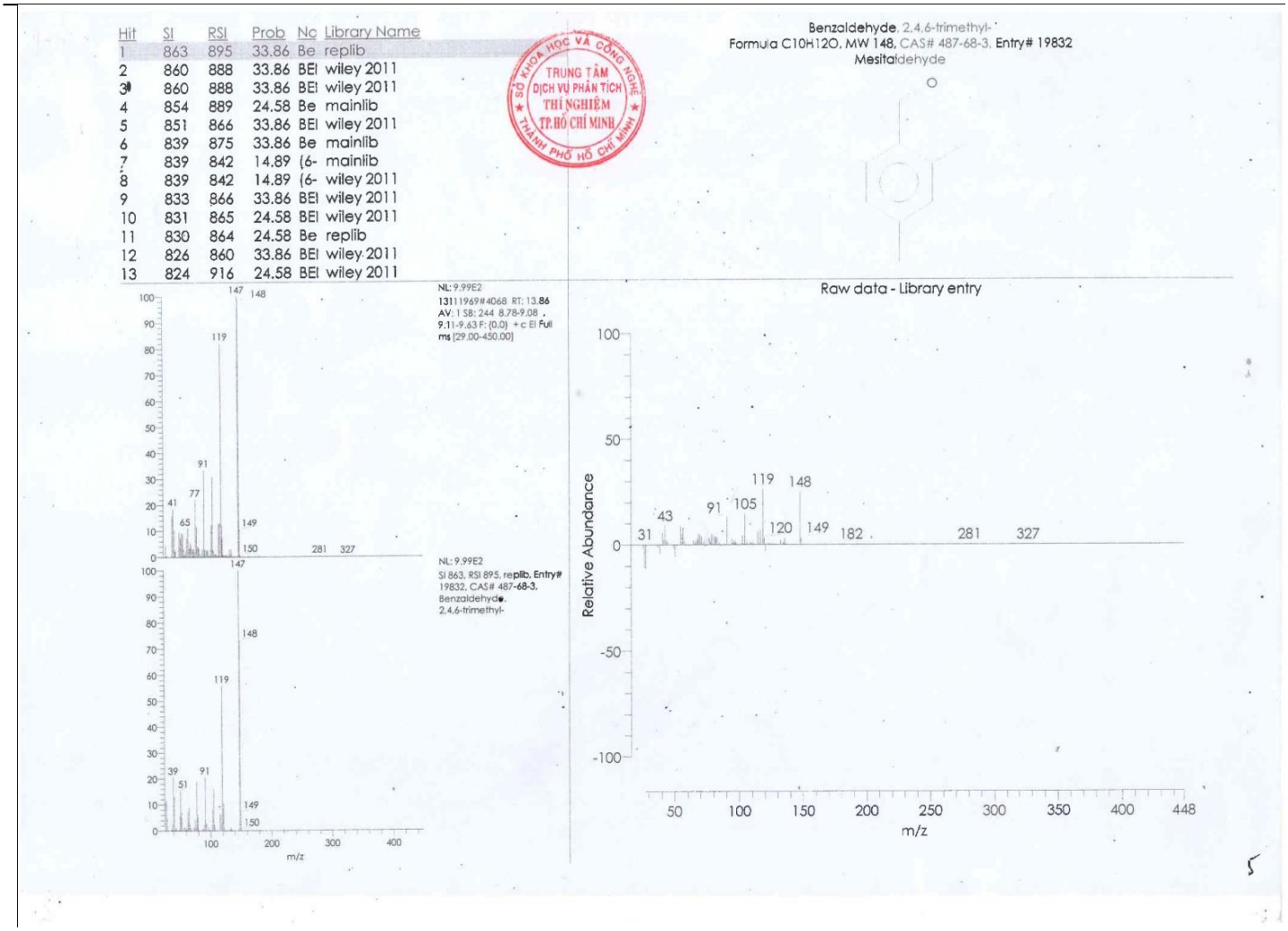
Hình P.10. Phổ MS của mẫu tinh dầu



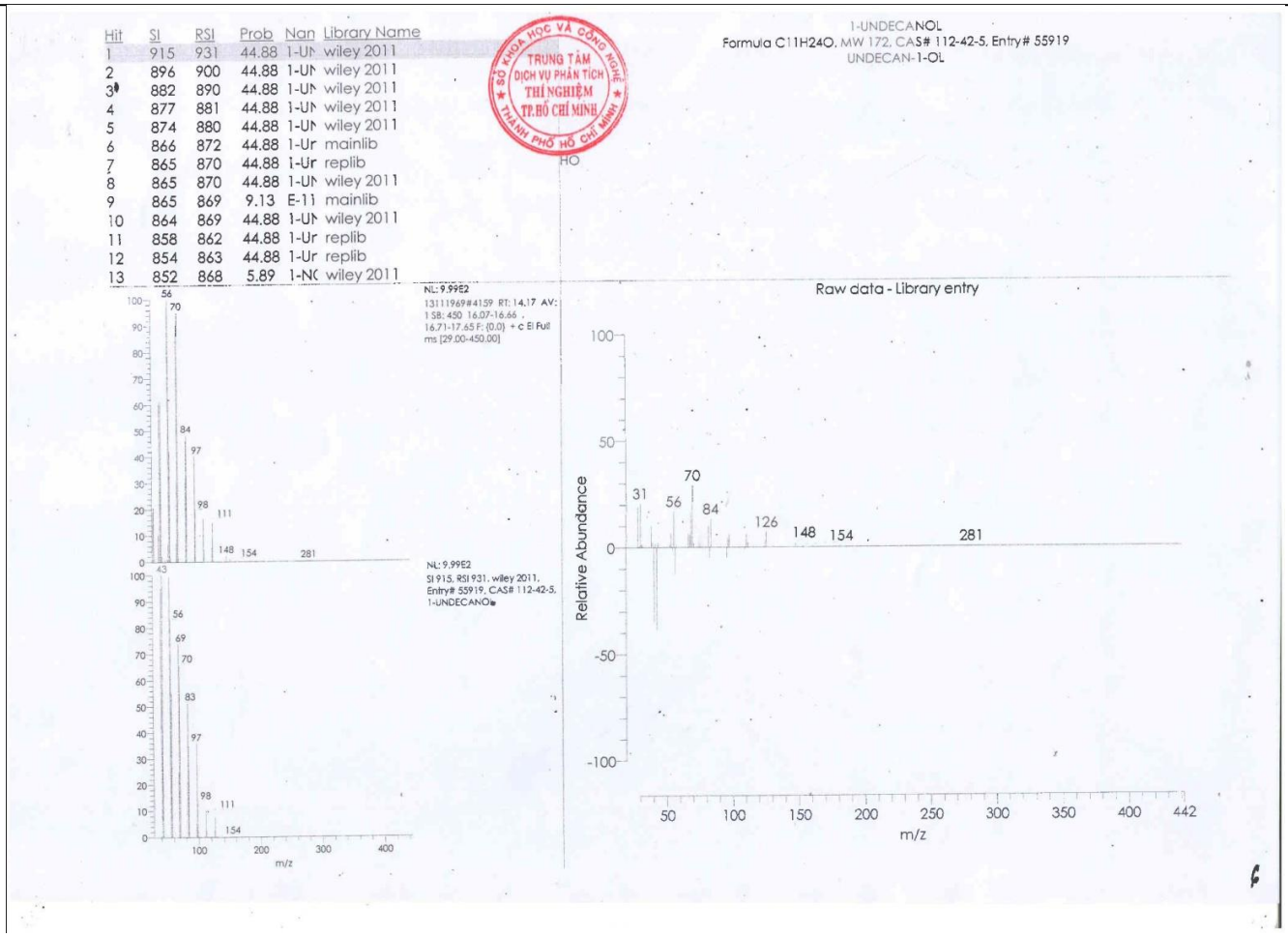
Hình P.11. Phổ MS của mẫu tinh dầu



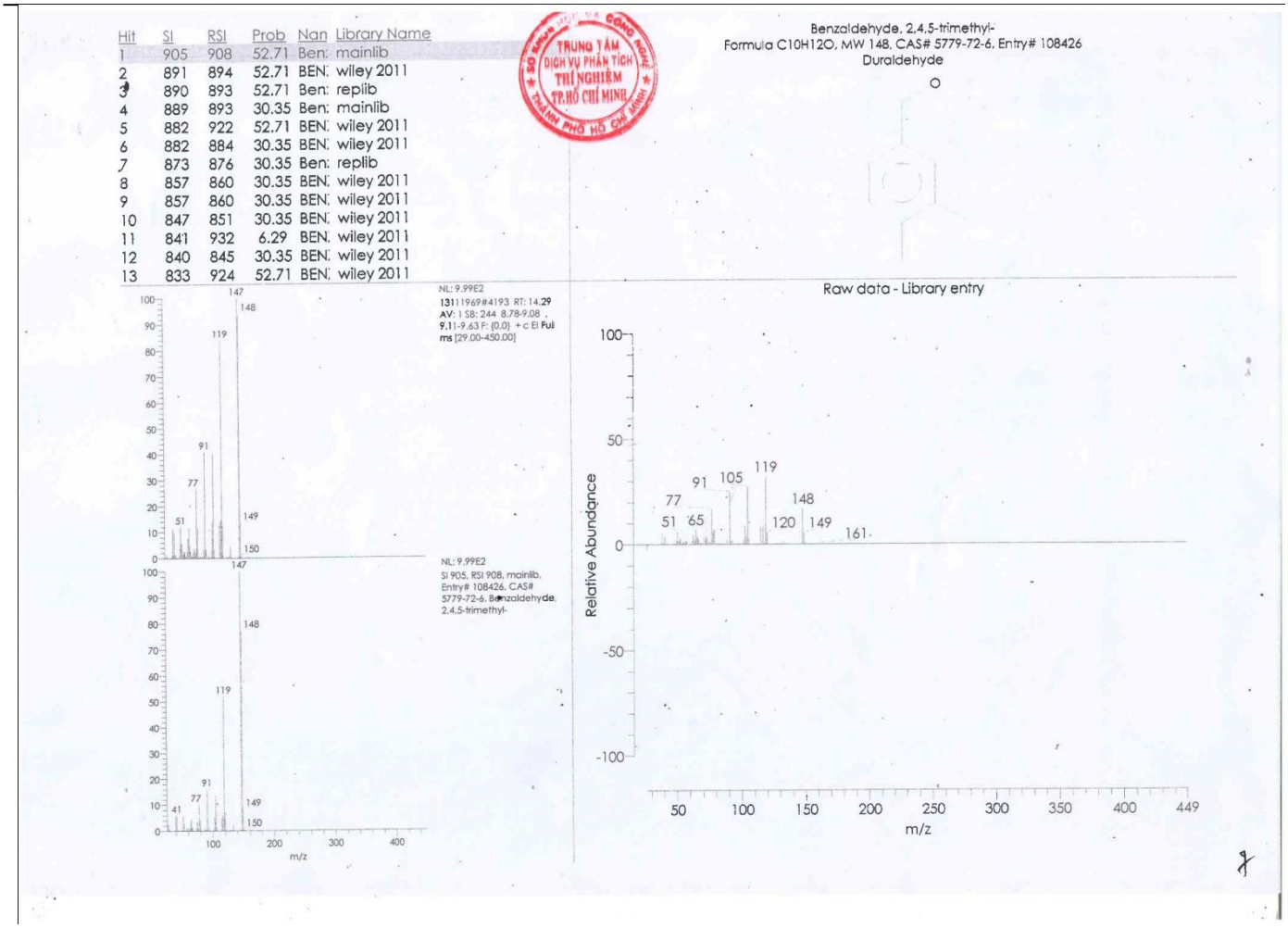
Hình P.12. Phổ MS của mẫu tinh dầu



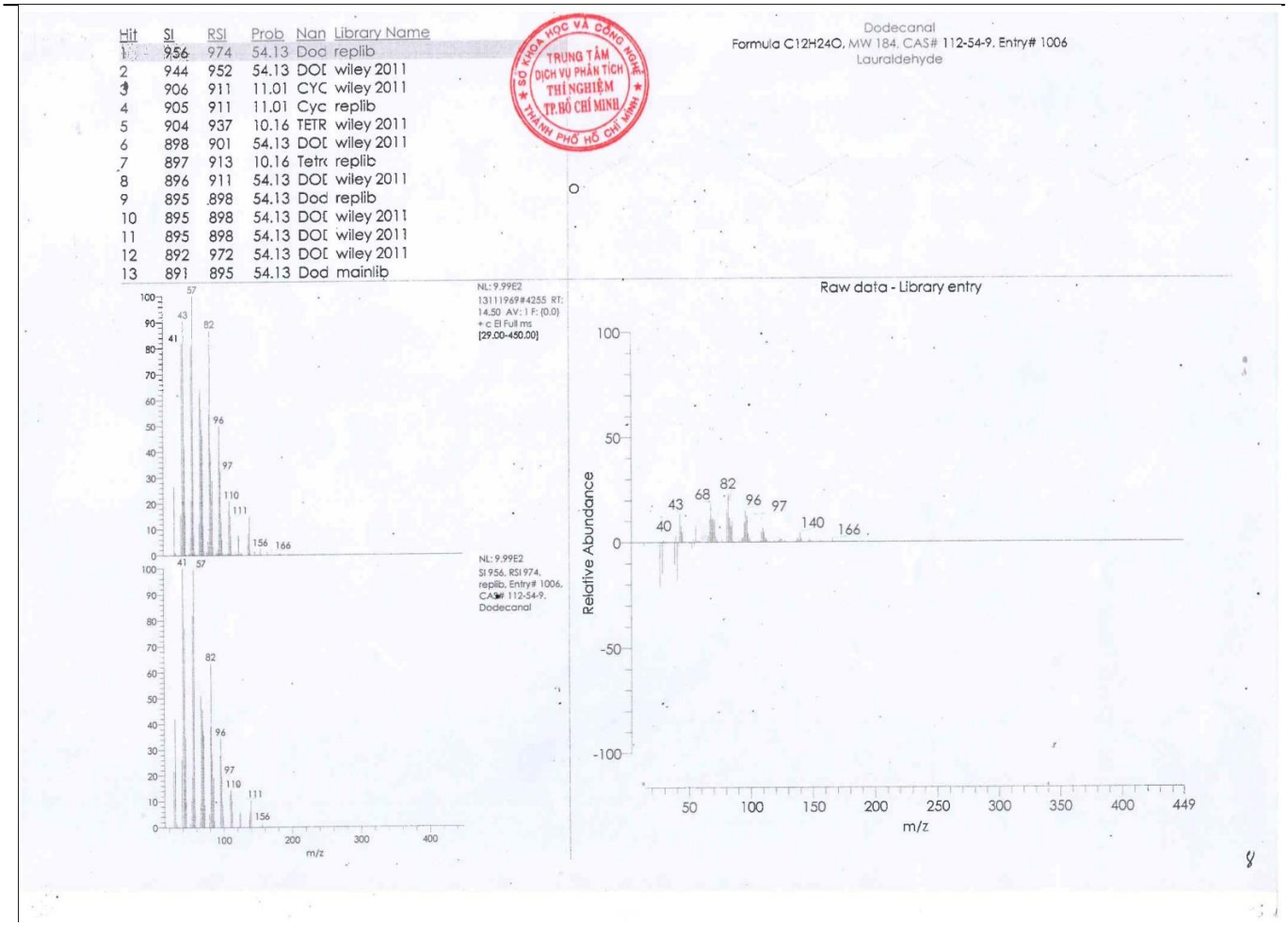
Hình P.13. Phổ MS của mẫu tinh dầu



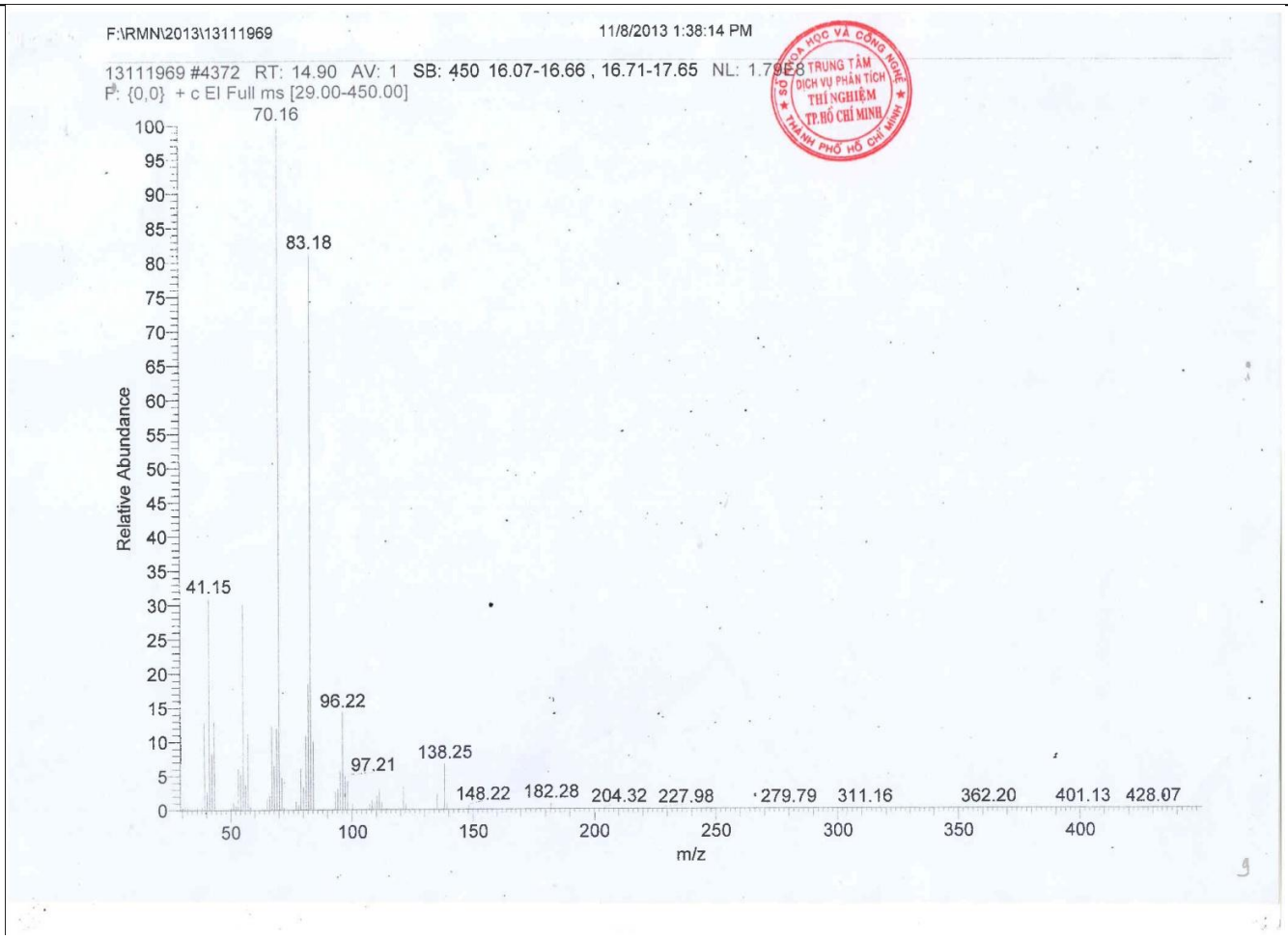
Hình P.14. Phổ MS của mẫu tinh dầu



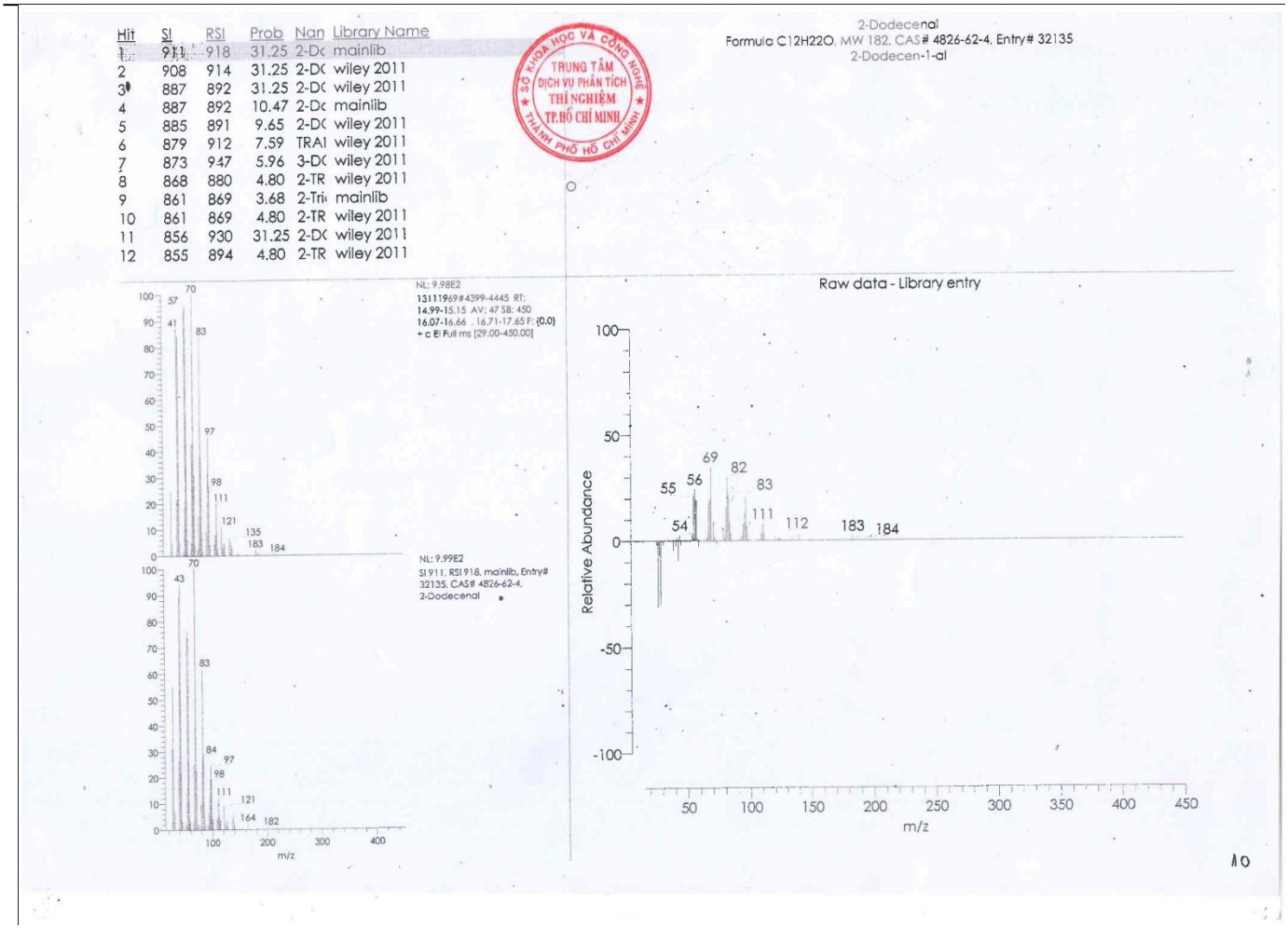
Hình P.15. Phổ MS của mẫu tinh dầu



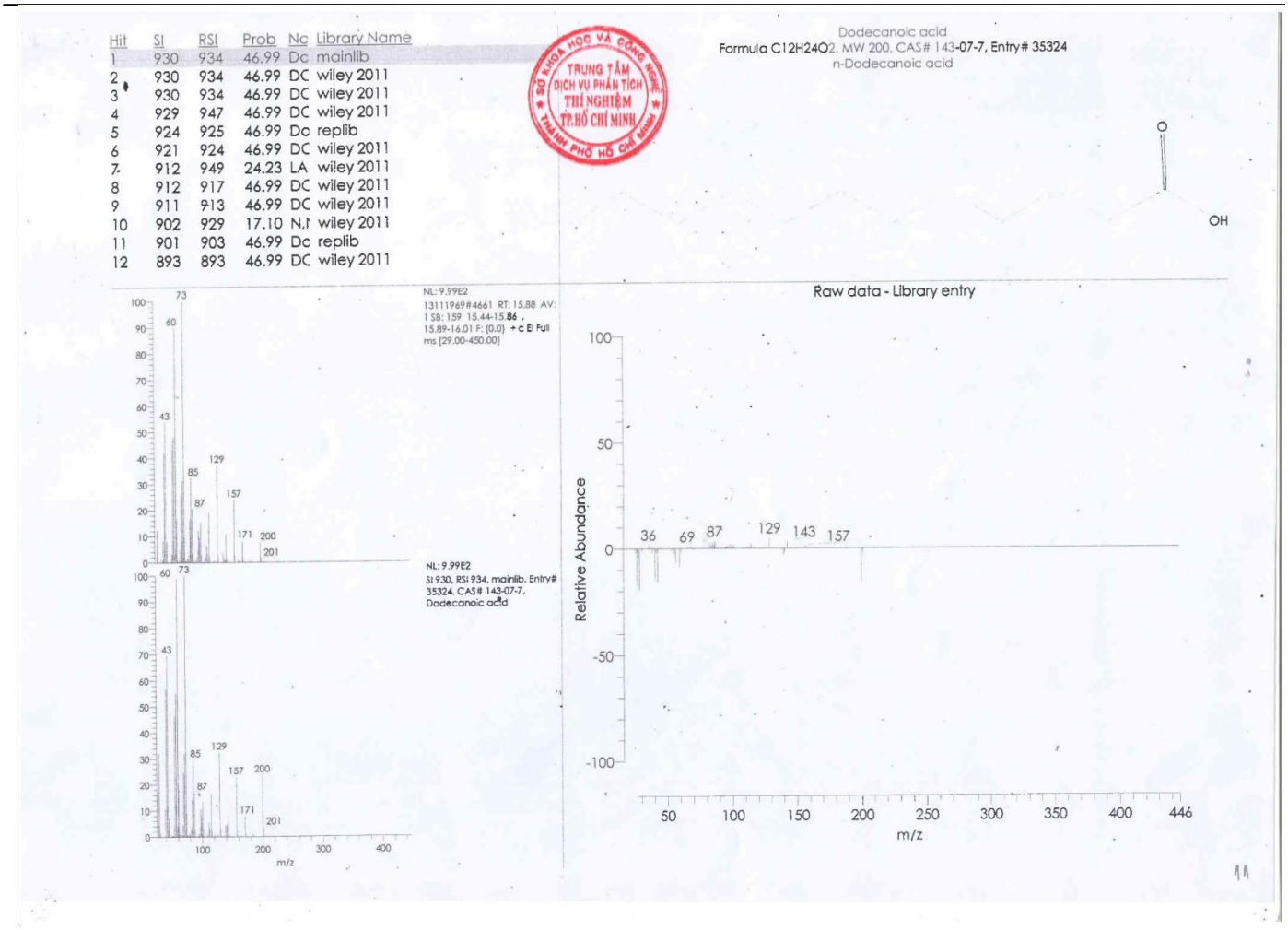
Hình P.16. Phổ MS của mẫu tinh dầu



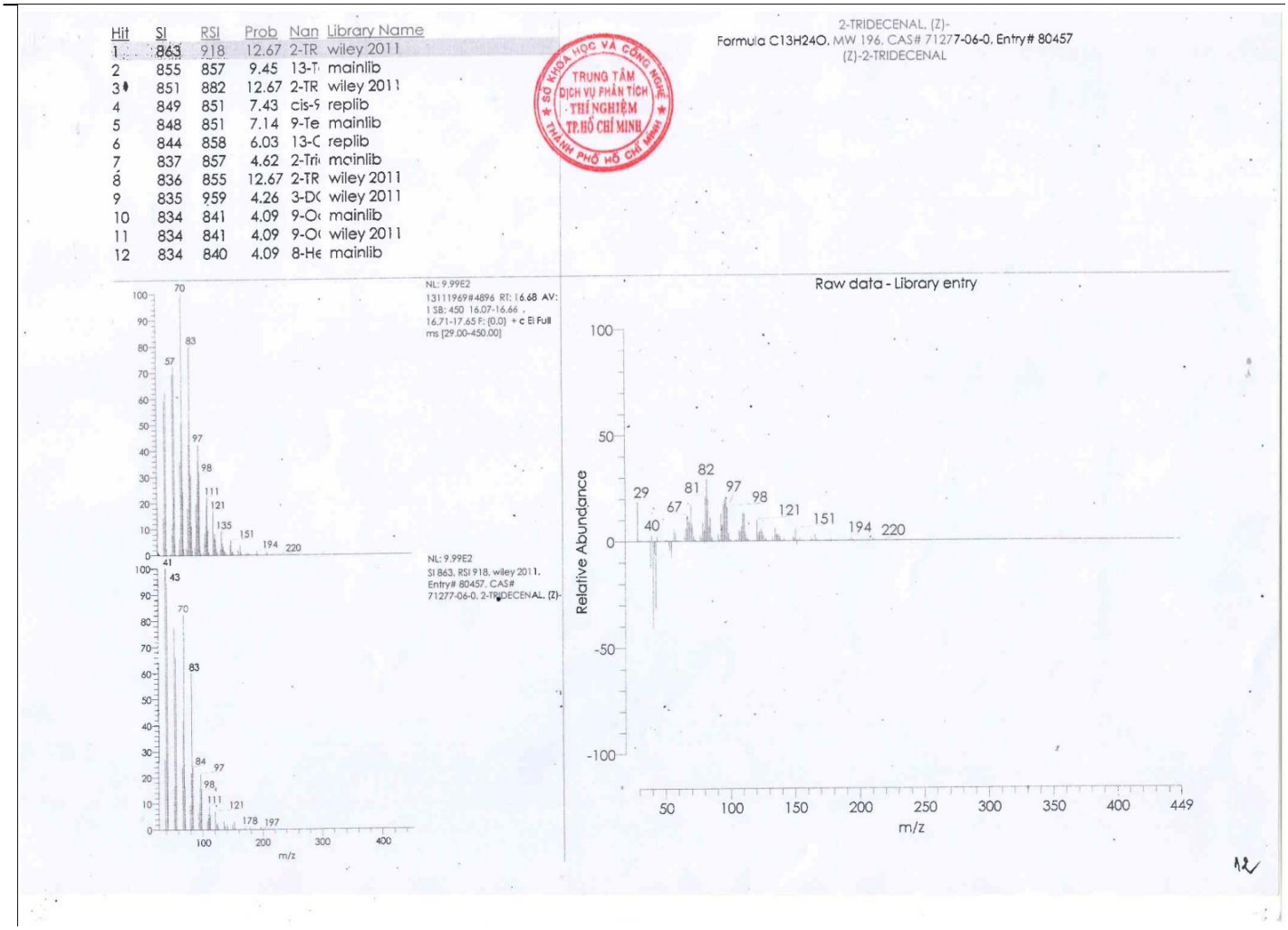
Hình P.17. Phổ MS của mẫu tinh dầu



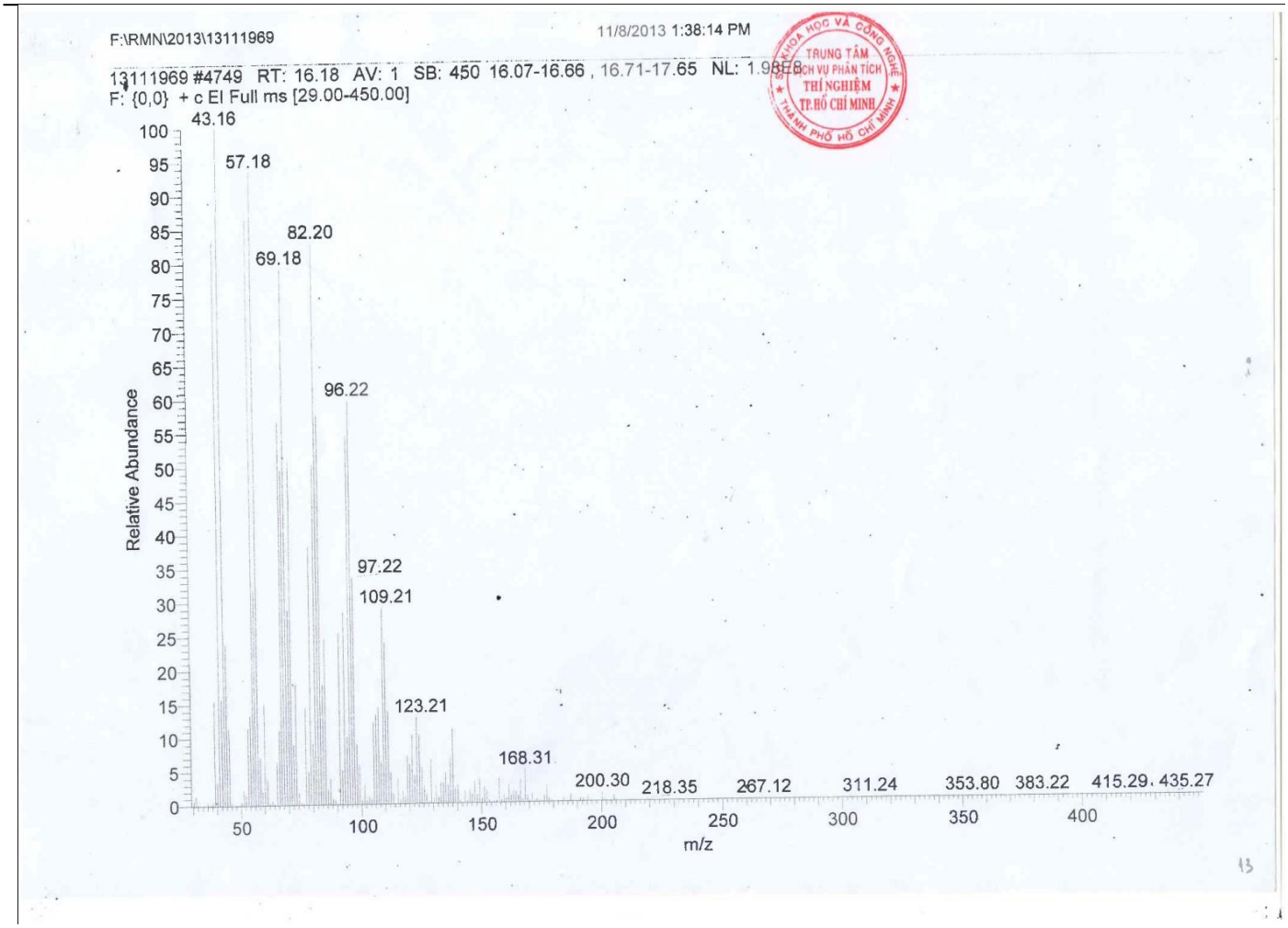
Hình P.18. Phổ MS của mẫu tinh dầu



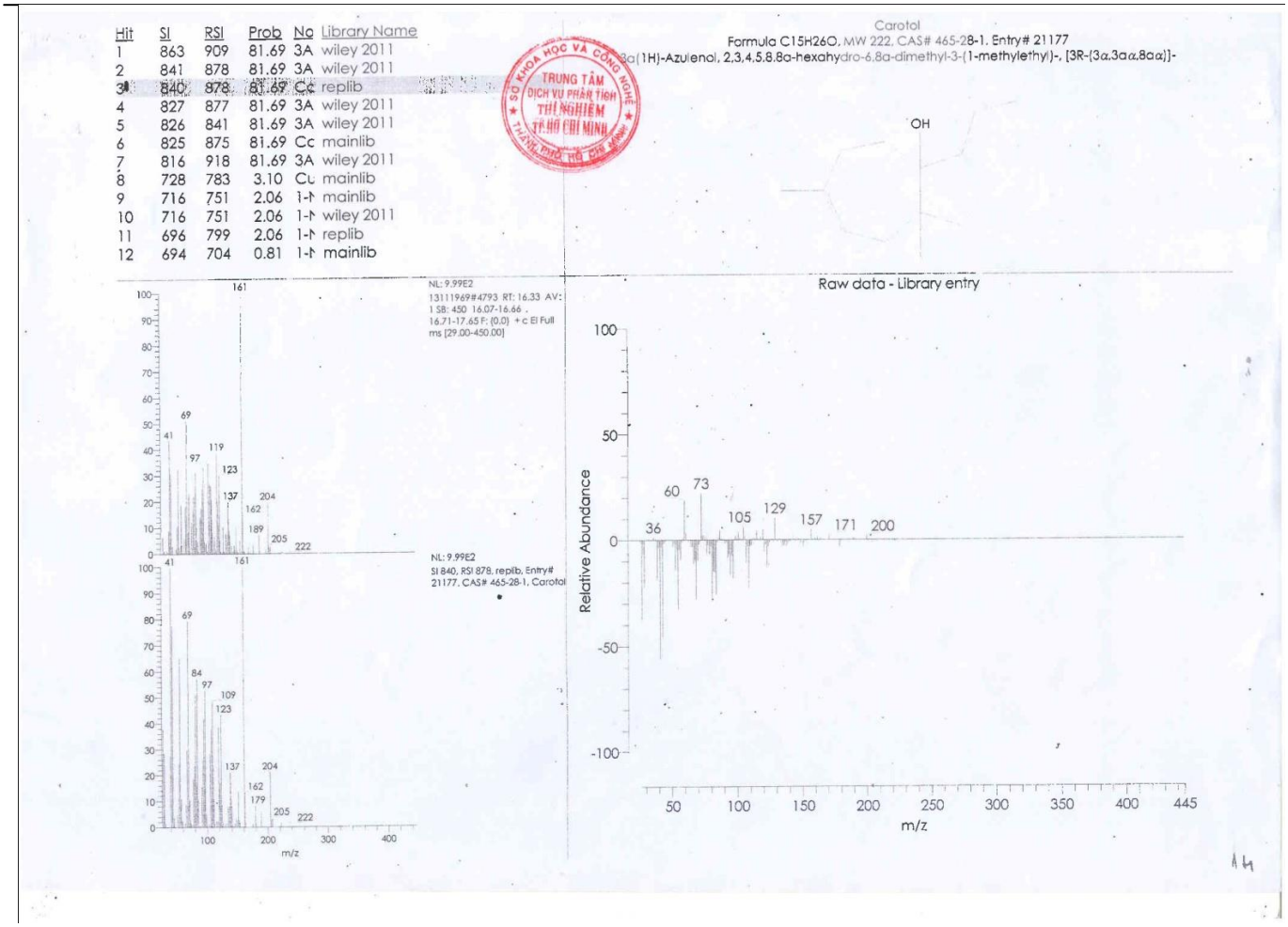
Hình P.19. Phổ MS của mẫu tinh dầu



Hình P.20. Phổ MS của mẫu tinh dầu



Hình P.21. Phổ MS của mẫu tinh dầu



Hình P.22. Phổ MS của mẫu tinh dầu

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN HOÁ HỌC CÁC HỢP CHẤT THIÊN NHIÊN
Phòng Sinh học thực nghiệm
Institute of Natural Products Chemistry (INPC)
Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi, Vietnam (VAST)
The Bioassay Lab.
18 Hoàng Quốc Việt- Cầu Giấy- Hà Nội- Việt Nam
Tel: 844-8361899; Fax: 844-7564390; Email: sinhocthucnghiem@yahoo.com

Số: /TLKQ

PHIẾU TRẢ LỜI KẾT QUẢ
HOẠT TÍNH KHÁNG VI SINH VẬT KIỂM ĐỊNH
(ANTIMICROBIAL ASSAY)

Người gửi mẫu: Lê Thị Hoàng Yến
Địa chỉ : ĐH Cần Thơ
Số mẫu gửi : 01 mẫu Loại mẫu: mẫu thô
Ngày nhận mẫu: 29/10/2013 Ngày trả kết quả: 20/11/2013

PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH

Hoạt tính kháng Vi sinh vật kiểm định được tiến hành để đánh giá hoạt tính kháng sinh của các mẫu chiết được thực hiện trên các phiến vi lượng 96 giếng (96-well microtiter plate) theo phương pháp hiện đại của Vander Bergher và Vlietlinck (1991), và McKane, L., & Kandel (1996).

Các chủng vi sinh vật kiểm định:

-Vi khuẩn Gr (-): *Escherichia coli* (ATCC 25922)
Pseudomonas aeruginosa (ATCC 25923)
- Vi khuẩn Gr *(+): Bacillus subtillis* (ATCC 27212)
Staphylococcus aureus (ATCC12222)
- Nấm sợi: *Aspergillus niger* (439)
Fusarium oxysporum (M42)
- Nấm men: *Candida albicans* (ATCC 7754)
Saccharomyces cerevisiae (SH 20)

Page **1** of **3**

Hình P.23. Phiếu trả lời kết quả hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của mẫu tinh dầu

Chứng dương tính:

+ Streptomycin cho vi khuẩn Gr(+)

+ Penicillin cho vi khuẩn Gr(-)

+ Nystatin hoặc Amphotericin B cho nấm sợi và nấm men.

Kháng sinh pha trong DMSO10% với nồng độ thích hợp: Streptomycin: 4mM; Penicillin: 50mM; Nystatin: 4mM

Chứng âm tính:

Vi sinh vật kiểm định không trộn kháng sinh và chất thử

Môi trường nuôi cấy vi sinh vật:

- Môi trường duy trì và bảo tồn giống: Saboraud Dextrose Broth (SDB-Sigma) cho nấm men và nấm mốc. Trypcase Soya Broth (TSB-Sigma) cho vi khuẩn.

- Môi trường thí nghiệm: Eugon Broth (Difco, Mỹ) cho vi khuẩn, Mycophil (Difco, Mỹ) cho nấm

Tiến hành thí nghiệm:

- Các chủng kiểm định được hoạt hoá và pha loãng tới nồng độ 0,5 đơn vị Mc Fland rồi tiến hành thí nghiệm.

- Các phiến thí nghiệm trong tủ ấm 37^0C/24 giờ cho vi khuẩn và 30^0C/48 giờ đối với nấm sợi và nấm men.

Tính kết quả

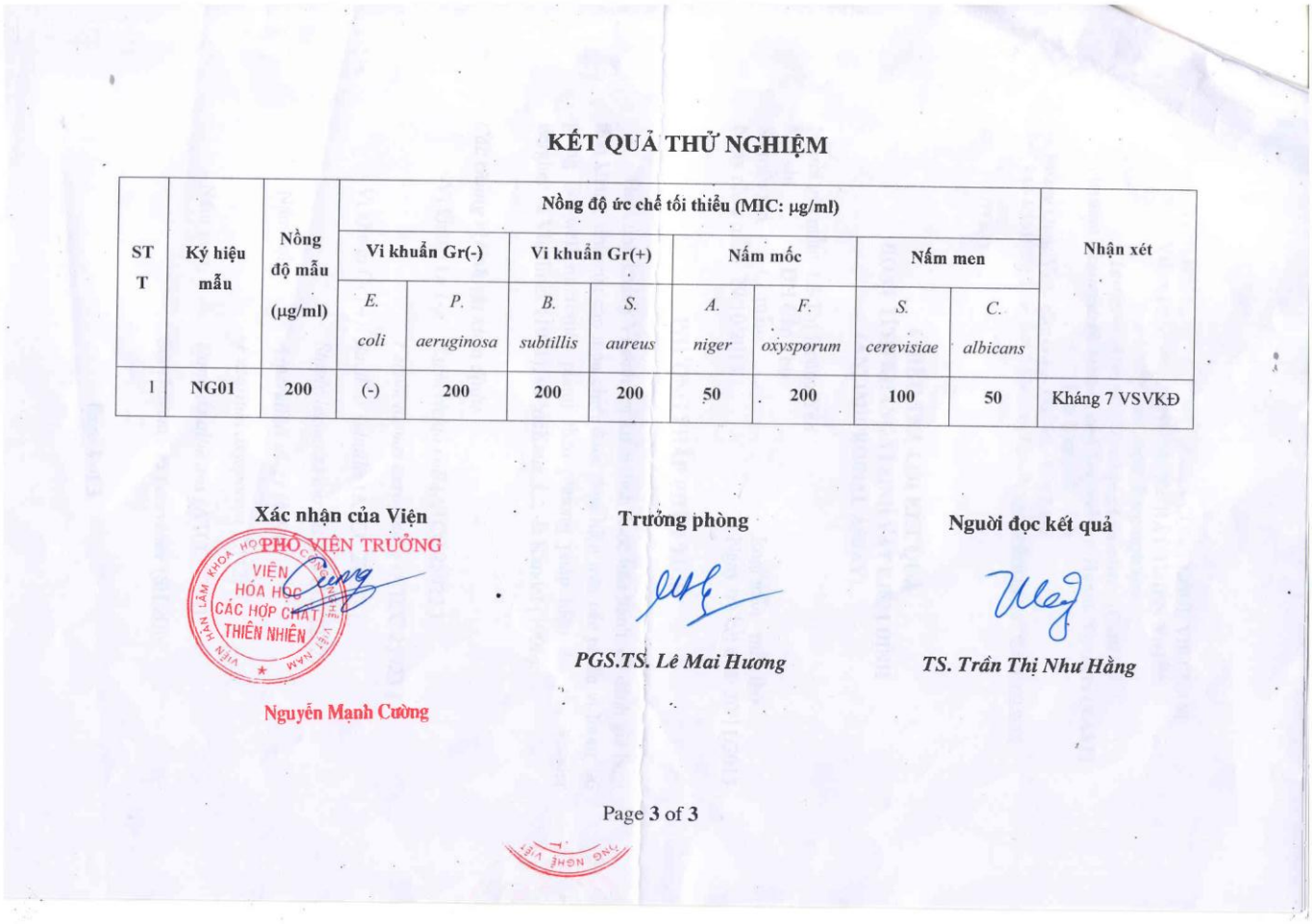
Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC-Minimum Inhibitory concentration) của mẫu:

Các mẫu được pha loãng theo các thang nồng độ thấp dần, từ (5- 10) thang nồng độ để tính giá trị nồng độ tối thiểu mà ở đó vi sinh vật bị ức chế phát triển gần như hoàn toàn.

Mẫu thô có MIC ≤ 200µg/ml; mẫu tinh có MIC ≤ 50µg/ml là có hoạt tính.

Nồng độ ức chế 50% vi sinh vật (IC_{50}) của mẫu có hoạt tính

Các mẫu có hoạt tính được pha loãng theo 10 thang nồng độ. Giá trị IC_{50} được xác định bằng chương trình Table curve theo thang giá trị logarit của đường cong phát triển của vi sinh vật và nồng độ chất thử để tính giá trị IC_{50}.



KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM

STT	Ký hiệu mẫu	Nồng độ mẫu (µg/ml)	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC: µg/ml)								Nhận xét
			Vi khuẩn Gr(-)		Vi khuẩn Gr(+)		Nấm mốc		Nấm men		
			E. coli	*P. aeruginosa*	*B. subtillis*	*S. aureus*	*A. niger*	*F. oxysporum*	*S. cerevisiae*	*C. albicans*	
1	NG01	200	(-)	200	200	200	50	200	100	50	Kháng 7 VSVKĐ

Xác nhận của Viện
PHÓ VIỆN TRƯỞNG
VIỆN HÓA HỌC CÁC HỢP CHẤT THIÊN NHIÊN
Nguyễn Mạnh Cường

Trưởng phòng
PGS.TS. Lê Mai Hương

Người đọc kết quả
TS. Trần Thị Như Hằng

Page 3 of 3

Hình P.24. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của mẫu tinh dầu