

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG THIẾT BỊ SOXHLET-VI SÓNG LY TRÍCH MỘT SỐ HỢP CHẤT THIÊN NHIÊN

Phạm Thành Lộc, Lê Ngọc Thạch

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 02 tháng 11 năm 2008, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 10 tháng 03 năm 2009)

TÓM TẮT: Lò vi sóng gia dụng được chuyển đổi thành thiết bị ly trích Soxhlet-Vi sóng, sử dụng vào việc ly trích hợp chất thiên nhiên. Việc nghiên cứu sử dụng được thực hiện trên: - cafein từ búp trà, *Camellia sinensis* L.; - steviosid từ cỏ ngọt, *Stevia rebaudiana* (Bert.) Hemsl.; - artemisinin từ hoa thanh hao hoa vàng, *Artemisia annua* L.; - rutin từ hoa hòe, *Sophora japonica* L.; - tinh dầu trái đại hồi, *Illicium verum* Hook. f.; - tinh dầu hạt thì là, *Anethum graveolens* L.. Các sự ly trích nói trên cũng được thực hiện song song trên hệ thống Soxhlet đun nóng truyền thống. Sự so sánh hai phương pháp kích hoạt được thực hiện dựa trên thời gian, hiệu suất và phẩm chất của sản phẩm ly trích.

Từ khóa: Hệ thống ly trích Soxhlet-Vi sóng, ly trích hợp chất thiên nhiên, *Camellia sinensis*, *Stevia rebaudiana*, *Artemisia annua*, *Sophora japonica*, *Illicium verum*, *Anethum graveolens*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lò vi sóng do Percy Spencer phát minh đầu tiên năm 1947.^[1] Tuy nhiên, mãi đến năm 1978 Michael J. Collin mới thiết kế lò vi sóng đầu tiên áp dụng cho phòng thí nghiệm phân tích.^[2] Sau đó hàng loạt thiết bị vi sóng được phát minh để phục vụ vào nghiên cứu cũng như phục vụ sản xuất công nghiệp.^[3-9]

Việc áp dụng năng lượng vi sóng hỗ trợ thực hiện phản ứng hóa học và ly trích hợp chất thiên nhiên hiện đang rất được quan tâm.^[10] Các thiết bị vi sóng chuyên dụng rất đắt tiền nên việc trang bị các loại thiết bị này không đơn giản đối với các phòng thí nghiệm ở Việt Nam. Trong điều kiện đó, lò vi sóng gia dụng trở thành lựa chọn ưu tiên vì chi phí trang bị và chuyên đổi công năng thấp. Hiện nay nhiều phòng thí nghiệm ở Việt Nam đã bắt đầu đưa lò vi sóng vào phục vụ cho nghiên cứu, tuy nhiên chỉ một vài phòng thí nghiệm tham gia cải tiến lò vi sóng gia dụng thành những thiết bị chuyên dùng phục vụ cho những mục đích nghiên cứu chuyên ngành.

Trên cơ sở “nghiên cứu chuyển đổi lò vi sóng gia dụng thành thiết bị ly trích hợp chất thiên nhiên và thực hiện tổng hợp hữu cơ”^[11] nhóm nghiên cứu về Hóa học Xanh tiếp tục nghiên cứu chuyển đổi lò vi sóng gia dụng thành thiết bị Soxhlet-chiều xạ vi sóng. Bài báo này trình bày kết quả thu được khi sử dụng thiết bị nói trên vào việc ly trích một số nguyên liệu thực vật để xác định khả năng và tìm cách cải tiến hoạt động của thiết bị này.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu

Việc ly trích được thực hiện trên các đối tượng thu mua tại những địa phương nhất định:

- Búp Trà Ô long (Công ty Trà Tâm Châu, Bảo Lộc, Lâm Đồng).
- Phần trên mặt đất của cây Cỏ ngọt (Lâm Đồng)
- Hoa Thanh hao hoa vàng (Trung Quốc)
- Hoa Hòe (Hiệp Thành Dược Hăng, Quận 6, Tp Hồ Chí Minh).
- Trái Đại hồi (Cao Bằng)
- Hạt Thì là (Thái Bình).

2.2. Ly trích: Ly trích kiệt trong những điều kiện (lượng nguyên liệu, thể tích dung môi) như nhau, song song trên hai thiết bị ly trích Soxhlet-đun nóng cổ điển (**A**) (Phụ lục 1) và Soxhlet-chiều xạ vi sóng (**B**) (Phụ lục 2).

2.2.1. Thực nghiệm ly trích trên thiết bị ly trích Soxhlet-chiều xạ vi sóng: Các mẫu cây có khối lượng (20 g) và 500 mL dung môi được nạp vào hệ thống (**B**). Đầu tiên, đun bình chứa dung môi cho đến khi sôi. Hơi dung môi ngưng tụ rơi xuống phần chứa nguyên liệu. Khởi động sự chiếu xạ vi sóng. Ngưng chiếu xạ khi nhận thấy dung môi bắt đầu muốn sôi. Lập đi lập lại thao tác trên cho đến khi dung môi bắt đầu quay về bình chứa dung môi thì không chiếu xạ nữa. Sau đó, chờ đến khi dung môi ngưng tụ, trong lần kế tiếp, rơi xuống phần chứa nguyên liệu. Lập lại các thao tác như trên cho đến khi sự trích kiệt được xác định. Thời gian chiếu xạ chung là tổng số các khoảng thời gian chiếu xạ ngắt khoảng.

Sau khi thu hồi dung môi, tất cả các loại cao (**cao 1**) thu từ hai phương pháp ly trích **A** và **B** được xử lý hoàn toàn giống nhau để có được sản phẩm thô (**cao 2**) đạt yêu cầu phân tích.

Việc điều chế cao 2 từ cao 1 được thực hiện theo các quy trình riêng:

2.2.2. Ly trích cafein từ lá trà: ^[12] Cao 1 được hoà tan hoàn toàn vào 100 mL nước cất, đun sôi nhẹ, thêm từ từ 1 g $\text{Ca}(\text{OH})_2$, tiếp tục đun sôi nhẹ trong 1 phút. Để nguội đến nhiệt độ phòng, lọc qua Büchner, cô dùng 1 g bột trợ lọc. Dung dịch qua lọc, được ly trích bằng CHCl_3 (7 x 20 mL). Rửa dung dịch ly trích với 15 mL nước cất. Nước rửa được ly trích lại bằng CHCl_3 (3 x 15 mL). Gộp tất cả các dung dịch CHCl_3 lại, làm khan. Lọc, cô quay thu hồi dung môi, xác định khối lượng cao 2.

2.2.3. Ly trích steviosid từ phần trên mặt đất của cây cỏ ngọt: ^[13] Cao 1 được hoà tan vào 50 mL nước cất, thêm 50 mL dung dịch Na_2SO_4 bão hòa, lắc đều. Ly trích bằng *n*-butanol (10 x 50 mL), dung dịch ly trích được rửa bằng nước cất (3 x 20 mL). Nước rửa được ly trích lại bằng *n*-butanol (3 x 20 mL). Gộp tất cả dung dịch ly trích lại, làm khan. Lọc, thu hồi dung môi, xác định khối lượng cao 2.

2.2.4. Ly trích artemisinin từ hoa cây thanh hao hoa vàng: ^[14] Cao 1 được hoà tan vào 20 mL eter dầu hoả, ly trích bằng dung dịch etanol : nước có tỉ lệ 1 : 1 (10 x 20 mL). Thu được dung dịch màu trắng sữa. Cô quay, xác định khối lượng cao 2.

2.2.5. Ly trích rutin từ hoa hoè: ^[15] Cao 1 được hoà tan vào 200 mL etanol nóng, đun nhẹ đến khi dung dịch bắt đầu kết tinh. Để nguội đến nhiệt độ phòng. Để yên 24 giờ để rutin kết tinh hoàn toàn. Lọc qua Büchner, sản phẩm thô được rửa bằng eter dầu hoả lạnh cho đến khi nước rửa không còn màu xanh thì dừng lại. Để khô tự nhiên đến khối lượng không đổi, xác định khối lượng cao 2.

2.2.6. Ly trích tinh dầu từ hạt thì là và từ trái đại hồi: ^[16,17,18] Cao 1 (nhựa dầu) được hoà tan vào etanol. Làm lạnh trong 2 giờ. Lọc nhanh qua hệ thống phiểu lọc lạnh. Cô quay thu hồi dung môi. Xác định khối lượng cao 2 (tinh dầu).

2.3. Xác định hàm lượng cấu phần chính

Hàm lượng các cấu phần chính (%) trong cao 2 được cung cấp từ kết quả của các phương pháp phân tích HPLC/UV, HPLC/MS/MS, GC/MS.

2.3.1. GC/MS: Trên máy QP2010. Cột mao quản MDN-5S1: 0.25 mm x 30 m x 0,25 μm . Chương trình nhiệt: Nhiệt độ đầu 60 °C giữ 4 phút, tăng 2 °C/phút cho đến 80 °C sau đó tăng 5 °C/phút đến 180 °C giữ 6 phút, tăng 10 °C đến 200 °C giữ 5 phút.

2.3.2. HPLC/UV:

- Định lượng cafein: Trên máy Shimadzu LC 10A. Độ dài sóng 276 nm. Dung môi acetonitril: H_2O (0.05 % H_3PO_4) là 15:85. Cột C_{18} (250 mm x 4.6 mm). Tốc độ dòng: 0.8 ml/phút.

- Định lượng rutin: Trên máy Shimadzu LC 1100. Độ dài sóng 254 nm. Dung môi MeOH:H₂O là 4:6. Cột C₁₈ (250 mm x 2.0 mm). Tốc độ dòng: 0.2 ml/phút.

2.3.3. HPLC/MS/MS:

- Định lượng steviosid: Trên máy Thermo Quantum Access. Áp suất đầu cột: 10 bar. Dung môi acetonitril (0.1 % HCOOH):H₂O (0.1 % HCOOH) là 65:35. Cột C₁₈ (250 mm x 4.6 mm). Tốc độ dòng: 400 µl/phút. Định lượng theo ion đặc trưng có m/z= 664.3-665.3.

- Định lượng artemisinin: Trên máy Thermo Quantum Access. Áp suất đầu cột: 10 bar. Dung môi MeOH (0.1 % HCOOH):H₂O(0.1 % HCOOH) là 9:1. Cột C₁₈ (250 mm x 4.6 mm). Tốc độ dòng: 500 µl/phút. Định lượng theo ion đặc trưng m/z= 246.4-247.4

2.4. Hiệu suất các lần ly trích được xác định như sau:

$$\text{Hiệu suất cao 1} = \frac{\text{Khối lượng cao 1}}{\text{Khối lượng nguyên liệu}} \times 100$$

$$\text{Hiệu suất cao 2} = \frac{\text{Khối lượng cao 2}}{\text{Khối lượng nguyên liệu}} \times 100$$

$$\text{Khối lượng cấu phần chính} = \text{Khối lượng cao 2} \times \text{Hàm lượng cấu phần chính (*)}$$

(*) Khối lượng cấu phần chính là khối lượng lý thuyết của cấu phần chính trong cao 2 dựa theo kết quả phân tích.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định công suất chiếu xạ

Công suất chiếu xạ thích hợp cho mỗi nguyên liệu và dung môi tương ứng là công suất thỏa điều kiện: Cho hiệu suất ly trích cao, dung môi ly trích tại bầu ly trích không bị đun sôi quá nhanh khi chiếu xạ.

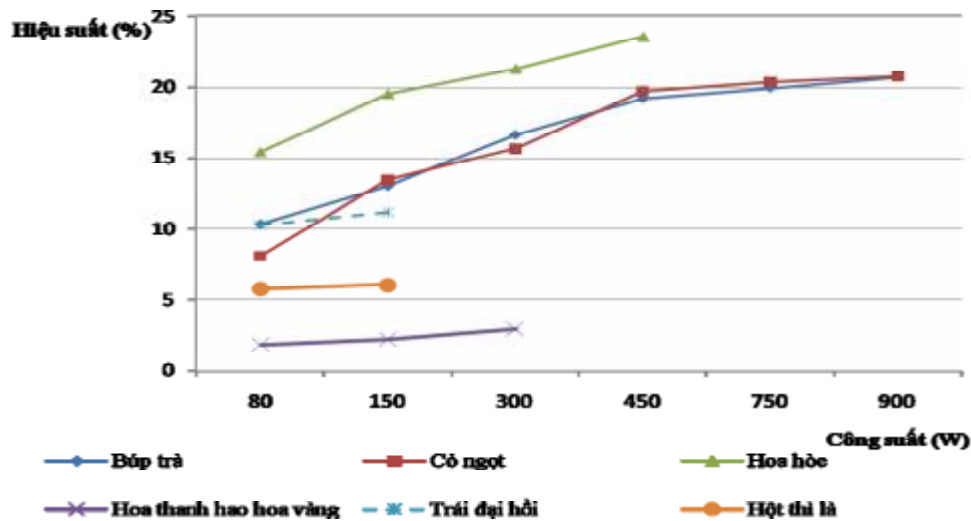
Để tìm công suất chiếu xạ thích hợp cho từng loại nguyên liệu và dung môi, đầu tiên thời gian ly trích được cố định là 30 phút. Chiếu xạ vi sóng ở các công suất khác nhau từ thấp đến cao. Ngưng chiếu xạ, thu hồi dung môi, cân cao 1, xác định hiệu suất.

Bảng 1. Kết quả khảo sát hiệu suất ly trích theo công suất chiếu xạ, trong 30 phút.

Công suất (W)	Hiệu suất (%)					
	Búp trà	Cỏ ngọt	Hoa hòe	Hoa thanh hao hoa vàng	Trái đại hồi	Hột thì là
	H ₂ O	H ₂ O	EtOH	Eter dầu hỏa 60-80 °C	Eter dầu hỏa 30-60 °C	Eter dầu hỏa 30-60 °C
80	10.36	8.06	15.42	1.81	10.27	5.76
150	13.02	13.43	19.54	2.19	11.20	6.05
300	16.65	15.65	21.31	2.93	(*)	(*)
450	19.19	19.70	23.56	(*)	-	-
750	19.95	20.36	(*)	-	-	-
900	20.72	20.74	-	-	-	-

(*): Không khảo sát tiếp vì dung môi sôi quá nhanh khi tiến hành chiếu xạ.

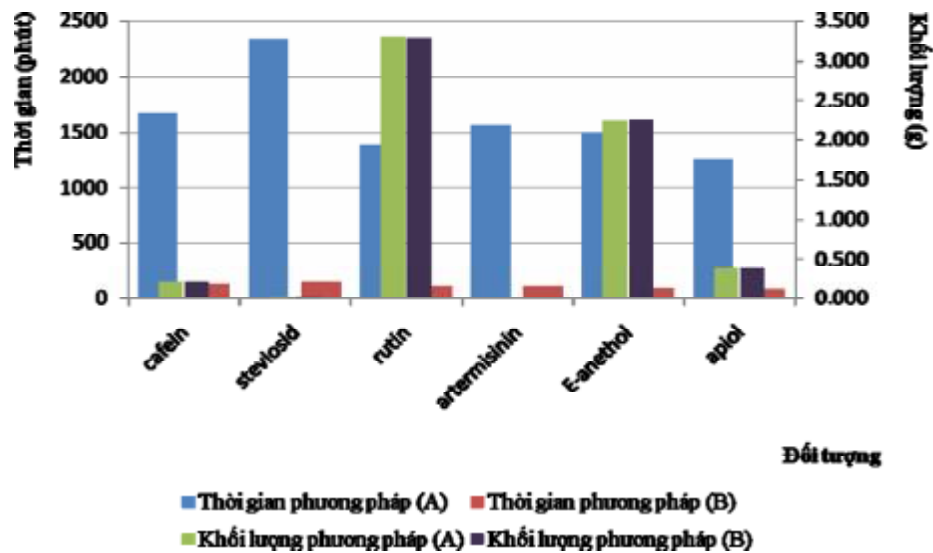
Vẽ đồ thị biểu diễn và chọn công suất phù hợp.



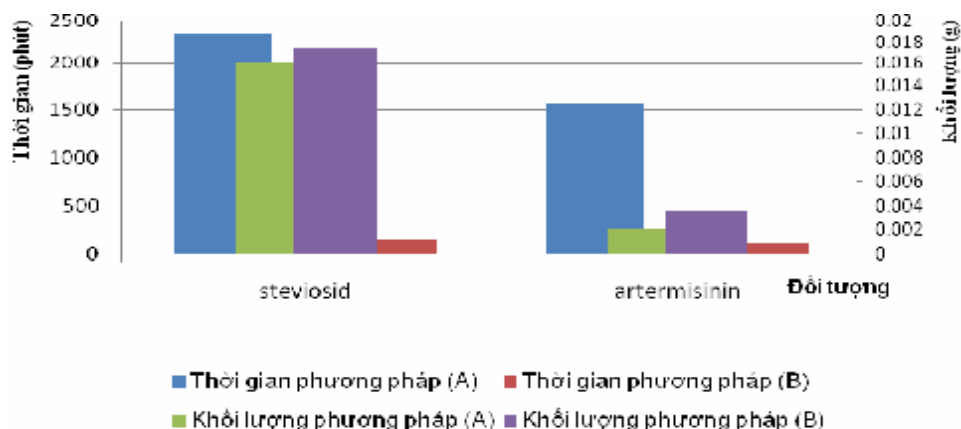
Đồ thị 1. Hiệu suất cao 1 theo công suất chiếu xạ

3.2. So sánh kết quả ly trích trên hai thiết bị ly trích Soxhlet-đun nóng cổ điển và Soxhlet-chiếu xạ vi sóng

Chúng tôi thực hiện việc ly trích kiệt các loại nguyên liệu nêu trên với 2 phương pháp (A) và (B). Kết quả ghi trong Bảng 2.



Đồ thị 2. So sánh thời gian và khối lượng cấu phần chính khi áp dụng phương pháp ly trích (A) và (B)



Đồ thị 3. So sánh thời gian và khối lượng cầu phần chính khi áp dụng phương pháp (A) và (B) ly trích steviosid và artemisinin (không thấy rõ ở Đồ thị 2)

Kết quả Đồ thị 2 và 3 cho thấy khi ly trích kiệt các hợp chất thiên nhiên bằng thiết bị ly trích Soxhlet-chiều xạ vi sóng kết quả thu được nhanh 12-16 lần hơn so với ly trích kiệt bằng thiết bị ly trích Soxhlet-đun nóng cổ điển.

Khối lượng cao 1 và cao 2 thu được bằng thiết bị ly trích Soxhlet-chiều xạ vi sóng cũng cao hơn, điều đó chứng tỏ hệ thống này ly trích được nhiều sản phẩm hơn phương pháp Soxhlet đun nóng cổ điển khi áp dụng trích kiệt trên cùng khối lượng nguyên liệu và dung môi.

Trong trường hợp artemisinin, hàm lượng cầu phần chính trong phương pháp (B) cao hơn phương pháp (A) và hiệu suất cao 2 phương pháp (A) lại thấp hơn phương pháp (B). Điều này có thể giải thích là do thời gian ly trích artemisinin bằng phương pháp (A) khá dài (1.560 phút), mà artemisinin dễ bị phân hủy. Qua đó ta thấy thêm một ưu điểm của hệ thống (B) là thời gian thực hiện ly trích nhanh nên ít gây phân hủy hoạt chất.

Tuy nhiên nhìn chung, cả hai phương pháp đều trích kiệt sản phẩm như mong muốn, nên hiệu suất chung gần bằng nhau.

4. KẾT LUẬN

Ưu điểm của thiết bị ly trích Soxhlet-chiều xạ vi sóng: nhanh, an toàn đối với những chất dễ bị phân hủy do thời gian cấp nhiệt rất ngắn, tiết kiệm năng lượng.

Khuyết điểm của thiết bị ly trích Soxhlet-chiều xạ vi sóng là chưa tự động hóa được quá trình ly trích, tất cả mọi hoạt động điều khiển đều thực hiện bằng tay. Lượng mẫu nạp vào giới hạn.

5. PHƯƠNG HƯỚNG PHÁT TRIỂN

Thông qua thực nghiệm, thiết bị ly trích Soxhlet-chiều xạ vi sóng cho thấy còn một số điểm cần khắc phục để việc ly trích mới này được hoàn thiện hơn:

- Lắp đặt thêm một thiết bị kiểm soát nhiệt độ để ổn định nhiệt độ nơi vị trí đặt nguyên liệu.
- Lắp đặt thêm một cảm biến kiểm soát mực dung môi nơi vị trí đặt nguyên liệu.

- Lắp đặt thêm một bộ phận theo dõi nồng độ dung dịch ly trích chảy ra từ bầu đặt nguyên liệu nhằm xác định thời điểm hoàn thành quá trình ly trích kiệt.

- Một mạch điện tử kết hợp các bộ phận nói trên và nối vào bộ phận điều khiển thời gian chiếu xạ của lò vi sóng.

Nếu thực hiện được các cải tiến trên, thiết bị ly trích Soxhlet-chiếu xạ vi sóng mới sẽ hoạt động hoàn toàn tự động trong suốt quá trình vận hành.

USING MICROWAVE-SOXHLET EXTRACTOR TO EXTRACT SOME NATURAL PRODUCTS

Pham Thanh Loc, Le Ngoc Thach
University of Science, VNU-HCM

ABSTRACT: Domestic microwave oven was modified into Soxhlet-Microwave Extractor for extracting of natural products. The study of its extracted capacity was realized on: - caffeine from *Camellia sinensis* L.; - stevioside from *Stevia rebaudiana* (Bert.) Hemsl.; - artemisinin from *Artemisia annua* L.; - rutin from *Sophora japonica* L.; - fruit oil from *Illicium verum* Hook. f.; - seed oil from *Anethum graveolens* L.. These extracted results were compared with the Soxhlet-conventional heating on the time, yield and quality.

Keywords: Soxhlet-Microwave Extractor, natural product extraction, *Camellia sinensis*, *Stevia rebaudiana*, *Artemisia annua*, *Sophora japonica*, *Illicium verum*, *Anethum graveolens*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Mike Taylor, Bhuwan Singh Atri, Sonal Minhas. *Developments in Microwave Chemistry*, Elsevier 5-18 (2005).
- [2]. Michael J. Collins, Dennis P. Manchester. *United States Patent* 4835354 (1988).
- [3]. C. Oliver Kappe. *Angew. Chem. Int. Ed.* 43, 6250-6284 (2004).
- [4]. J. L. Luque-García, M. D. Luque de Castro. *Anal. Chem.* 73, 5903-5908 (2001).
- [5]. J. Parera, F. J. Santos, M. T. Galceran. *Journal of Chromatography A* 1046, 19-26 (2004).
- [6]. J. R. Jocelyn Paré, Michel Sigouin, Jacques Lapointe. *United States Patent* 5002784 (1991).
- [7]. M. Letellier, H. Budzinski. *Analyst* 127, 259-271 (1999).
- [8]. V. Fernández-Pérez, L. E. García-Ayuso, M. D. Luque de Castro. *Analyst* 125, 317-322 (2000).
- [9]. Xiaolan Zhu, Qingde Su, Jibao Cai, Jun Yang. *Analytica Chimica Acta* 579, 88-94 (2006).
- [10]. F. Chemat, M. -E. Lucchesi, Chapter 22: *Microwave-assisted Extraction of Essential Oils*, A. Loupy, Ed.. *Microwaves in Organic Synthesis*, VCH, Weinheim, 959-983 (2006).
- [11]. Lê Ngọc Thạch. *Nghiên cứu chuyển đổi lò vi sóng gia dụng thành thiết bị ly trích hợp chất thiên nhiên và thực hiện tổng hợp hữu cơ*. Tuyển tập Hội thảo Sáng tạo khoa

học với sự nghiệp công nghiệp hóa, hiện đại hóa đất nước. Đà Nẵng, 19-23/07/2006, 204-212 (2006).

[12]. Md. Mumin Abdul, Farida Akhter Kazi, Md. Zainal Abedin, Md. Zakir Hossain. *Malaysian Journal of Chemistry* 8(1), 45-51 (2006).

[13]. Georgia J. Persons, *United States Patent* 3723410 (1973).

[14]. 14. A. R. Bilia, P. Melillo de Malgalhaes, M. C. Bergonzi, F. F. Vincieri, *Phytomedicine* 13, 487-493 (2006)

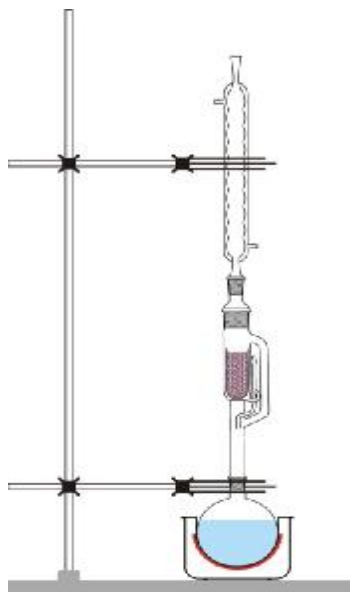
[15]. Farouk S. Elferaly, Hala N. ElSohly. *United States Patent* 4952603 (1980)

[16]. Nguyễn Thị Hoài, Lê Ngọc Thạch. *Báo cáo Khoa học*, Ngày Hóa học Tp HCM lần 5, 11/10/2007, 78-83 (2007).

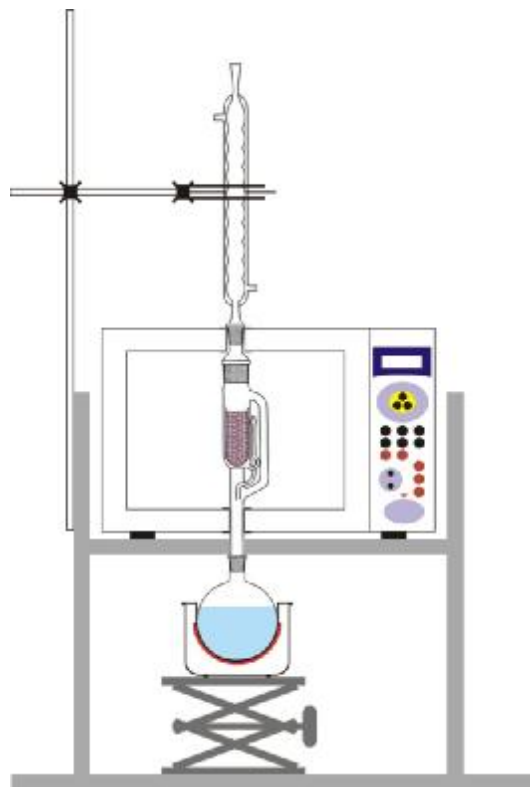
[17]. Wang Qin, Jiang Lin, Wen Qibiao. *Wuhan University Journal of Natural Sciences* 12(2), 529-534 (2007).

[18]. Nguyễn Thị Kim Phượng, Lê Ngọc Thạch. *Tuyển tập các công trình*, Hội nghị Khoa học và Công nghệ Hóa học Hữu cơ Toàn quốc lần thứ 4, Hà Nội 20/10/2007, 485-489 (2007).

PHỤ LỤC



Phụ lục 1. Thiết bị Soxhlet-đun nóng cuộn điện (A)



Phụ lục 2. Thiết bị Soxhlet-chiếu xạ vi sóng (B)

Bảng 2. So sánh kết quả ly trích theo hai phương pháp (A) và (B)

Nguyên liệu	Cấu phần chính	Phương pháp	Thời gian (phút)	Khối lượng cao 1 (g)	Hiệu suất cao 1 (%)	Khối lượng cao 2 (g)	Hiệu suất cao 2 (%)	Hàm lượng cấu phần chính (%)*	Khối lượng cấu phần chính (g)
Búp trà Ô lông	Cafein	A	1670	8.2516	41.72	0.2477	1.25	84.97	0.2105
		B	137	8.3925	42.00	0.2629	1.33	83.78	0.2203
Cỏ ngọt	Steviosid	A	2340	6.4654	33.76	1.3673	7.01	16.05	0.0157
		B	150	6.7951	35.49	1.5344	8.01	14.16	0.0174
Hoa hòe	Rutin	A	1380	8.2085	44.18	3.3142	17.84	99.45	3.2959
		B	112	8.7970	47.18	3.5073	18.81	93.69	3.2860
Hoa thanh hao hoa vàng	Artemisinin	A	1560	0.8742	4.41	0.3514	1.77	0.65	0.0023
		B	118	1.1098	5.62	0.4280	2.17	0.84	0.0036
Trái đại hồi	(E)-Anetol	A	1500	2.9199	16.68	2.3876	13.64	94.10	2.2467
		B	95	3.1406	17.90	2.3960	13.66	94.10	2.2546
Hột thì là	Apiol	A	1260	1.9537	10.20	1.1692	6.14	32.93	0.3850
		B	85	2.1051	11.02	1.2969	6.79	29.39	0.3812

* Theo kết quả % của GC-MS, HPLC-MS, hoặc HPLC-UV