

Chưng cất tinh dầu rễ cỏ Hương bài (*Vetiveria zizanioides* L.) với sự hỗ trợ của enzyme

Hoàng Thị Hồng

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành
hthong@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Nghiên cứu dùng phương pháp sử dụng enzyme hỗ trợ quá trình chưng cất tinh dầu rễ cỏ Hương bài (*Vetiveria zizanioides* L.), khảo sát sự ảnh hưởng của các loại enzyme công nghiệp như cellulase, hemicellulase và viscozyme đến quá trình chưng cất tinh dầu. Từ đó đánh giá hiệu quả dựa trên hiệu suất chưng cất tinh dầu (% v/w) và thời gian chưng cất hết toàn bộ lượng tinh dầu có trong rễ cỏ Hương bài. Kết quả cho thấy tiền xử lý bằng viscozyme cho hiệu suất chưng cất tinh dầu đạt cao nhất là 1,3 % v/w sau 14 giờ chưng cất, giúp quá trình chưng cất giảm thời gian chiết xuất được 10 giờ và hiệu suất tăng 23 % so với mẫu không được tiền xử lý với enzyme. Nhằm nâng cao hiệu quả của việc sử dụng enzyme hỗ trợ quá trình chưng cất tinh dầu, tiếp tục khảo sát các điều kiện tối ưu khi tiền xử lý với viscozyme thông qua 4 yếu tố: thời gian ủ enzyme, nhiệt độ ủ, pH ủ và nồng độ enzyme (E/S) sử dụng. Dùng viscozyme để tiền xử lý bột rễ cỏ Hương bài (< 1 mm) cho hiệu suất chưng cất tinh dầu cao nhất là 1,3 % v/w với nồng độ enzyme (E/S) 2 % (w/w), ở nhiệt độ 50 °C, pH = 5 trong 24 giờ.

Nhận 11/08/2022
Được duyệt 27/10/2022
Công bố 02/11/2022

Từ khoá
tinh dầu,
cỏ Hương bài, *Vetiveria zizanioides*, VEO,
enzyme

© 2022 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Ngày nay, hầu hết mọi người có xu hướng tìm kiếm và sử dụng các sản phẩm tự nhiên với mong muốn bảo vệ sức khỏe và tránh các tác dụng phụ của chất tổng hợp hóa học gây nên. Trong đó, tinh dầu là một chiết xuất tự nhiên chứa nhiều hoạt chất tiềm năng được sử dụng rộng rãi trong các lĩnh vực như dược phẩm, mỹ phẩm và hương liệu. Vì vậy, nhu cầu sử dụng tinh dầu ngày càng tăng đi cùng với việc mở rộng thị trường và quy mô sản xuất tinh dầu ngày càng lớn.

Cỏ Hương bài (*Vetiveria zizanioides* L. hay *Vetiver* là một loại cỏ được tìm thấy ít nhất ở 70 quốc gia trên thế giới. Tinh dầu chiết xuất từ rễ cỏ Hương bài (*Vetiver zizanioides essential oil* – VEO) có tính lưu hương tốt và giá trị cao trong ngành hương liệu và nước hoa nên hàng năm được chiết xuất với số lượng lớn trên toàn thế giới [1]. Tuy nhiên, quá trình chiết xuất VEO bằng

phương pháp chiết xuất truyền thống chưng cất lôi cuốn hơi nước lại tốn nhiều thời gian và cho hiệu suất chưng cất tinh dầu không cao. Cùng với các nhược điểm song song khác như tiêu tốn nhiều năng lượng và phát sinh nhiều khí thải cho môi trường, là nguyên nhân thúc đẩy nghiên cứu các phương pháp chiết xuất mới hiệu quả hơn. Hiện nay, việc chiết xuất với sự hỗ trợ của vi sóng hay chiết xuất bằng chất lỏng siêu tới hạn có thể cải thiện quá trình chiết xuất VEO nhưng vẫn chưa được áp dụng vào công nghiệp vì hạn chế lớn từ chi phí, lắp đặt và vận hành. Nghiên cứu này sử dụng phương pháp enzyme hỗ trợ quá trình chưng cất VEO với mục tiêu nâng cao hiệu quả, loại bỏ được những hạn chế trên mà không ảnh hưởng đến chất lượng tinh dầu.

2 Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên liệu và thiết bị



- *Dược liệu*: rễ cỏ Hương bài (rcHb) được thu hoạch vào tháng 12 năm 2021 tại Hà Nội, Việt Nam.
- *Hóa chất, dung môi*: sodium sulfate, citric acid, trisodium citrate dihydrate. Các loại enzyme: cellulase (Endoglucanase) – Nhà sản xuất Novozymes, hemicellulase – Nhà sản xuất Leaf Cleantech, multi-enzyme (carbohyrase) – Nhà sản xuất Novozymes.
- *Thiết bị*: bộ chưng cất tinh dầu, bể điều nhiệt mẫu WH-6, máy đo độ ẩm Satorius MA37-1, máy sắc kí khí (GC): G1530A-serial US00002778, máy phân tích khối phổ (MS): Agilent 5973N MSD.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Xác định độ ẩm

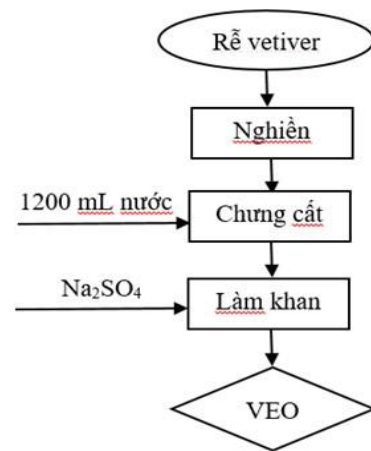
Độ ẩm được xác định bởi máy Sartorius MA35. Cân khoảng 0,1 g nguyên liệu trải thành một lớp mỏng trên đĩa nhôm, cho vào máy đo độ ẩm. Nguyên liệu được sấy ở 105 °C đến khối lượng không đổi. Khi máy kết thúc quá trình đo, đọc và ghi giá trị trên màn hình.

Phép đo được thực hiện 3 lần và lấy kết quả trung bình.

2.2.2 Quy trình khảo sát chiết xuất VEO

Chiết xuất VEO bằng phương pháp HD (chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp)

Quy trình khảo sát chiết xuất VEO bằng phương pháp HD theo Hình 1 được sử dụng để khảo sát sự ảnh hưởng của hai kích thước nguyên liệu dạng sợi (1,5-3) cm và bột mịn (< 1 mm) đến quá trình chiết xuất VEO.



Hình 1 Sơ đồ khối quy trình chưng cất VEO bằng phương pháp HD

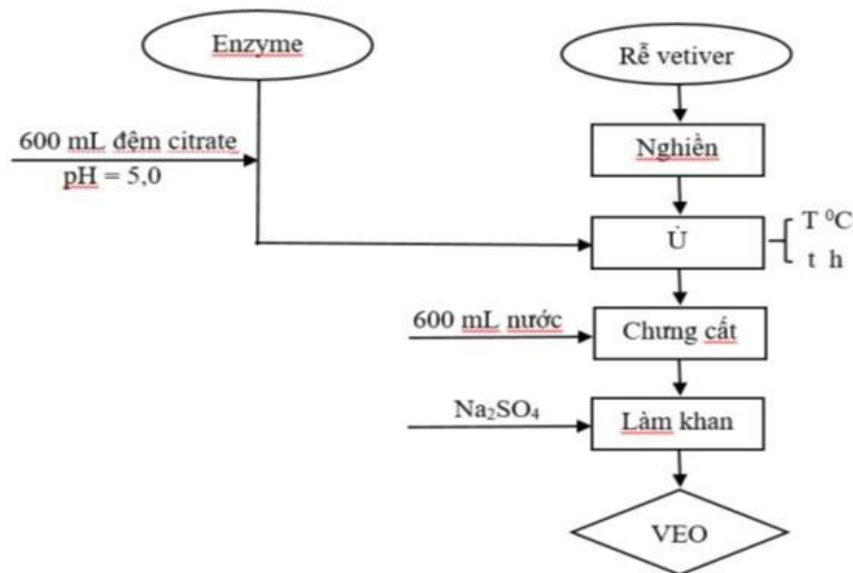
Theo Hình 1, quy trình HD thông thường được tiến hành cụ thể theo các bước sau:

Bước 1: nguyên liệu rcHb sau khi xử lí sơ bộ và nghiền, cân lấy 100 g (tính theo khối lượng NLK), thêm 1 200 mL nước vào nguyên liệu và trộn đều hỗn hợp.

Bước 2: cho hỗn hợp trên vào bình cầu lắp hệ chưng cất với bộ dụng cụ Clevenger, chưng cất liên tục cho đến khi thu hết tinh dầu. Ghi nhận thể tích tinh dầu (mL) thu được theo thời gian (cách 2 giờ một lần).

Bước 3: chiết lấy tinh dầu và làm khan nước lần trong tinh dầu bằng muối Na₂SO₄.

Chiết xuất VEO bằng phương pháp EAE-HD (chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp với sự hỗ trợ của enzyme)



Hình 2 Sơ đồ khối quy trình chưng cất VEO bằng phương pháp EAE-HD

Theo Hình 2, qui trình EAE-HD được tiến hành cụ thể theo các bước sau:

Bước 1: pha 600 mL đệm citrate pH = 5,0

Bước 2: chuẩn bị enzyme ở nồng độ E/S cân khảo sát (w/w NLK).

Bước 3: pha enzyme vào đệm và khuấy đều để tạo thành một hỗn dịch.

Bước 4: thêm 100 g NLK rcHb đã được nghiền vào hỗn dịch, trộn đều để nguyên liệu thấm hết hỗn dịch.

Bước 5: ủ hỗn hợp trên ở nhiệt độ và thời gian ủ cân khảo sát.

Bước 6: thêm 600 mL nước vào hỗn hợp và đem chưng cất lôi cuốn hơi nước trực tiếp liên tục bằng bộ dụng cụ chưng cất Clevenger cho đến khi thu hết tinh dầu. Ghi nhận thể tích tinh dầu (mL) thu được theo thời gian.

Bước 7: chiết lấy tinh dầu và làm khan nước lẫn trong tinh dầu bằng muối Na_2SO_4 . Đối với mẫu đem phân tích GC-MS, tinh dầu sau khi được chiết tách lưu trữ ở nhiệt độ (0-5) °C.

2.2.3. Phương pháp đánh giá thành phần tinh dầu

Hai mẫu tinh dầu có và không có tiền xử lí với enzyme được lưu trữ và phân tích bằng phương pháp sắc kí khí ghép khối phổ (GC-MS).

Phân đoạn sắc kí khí

-Mẫu pha loãng: 1/100 trong acetone (v/v); mẫu bơm: 1 μL

-Nhiệt độ kim phun: 250 °C

-Tỉ lệ phân tách: 1/50

-Khí mang: helium 1 mL/min

-Cột: HP-5MS (30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm)

-Qui trình chạy nhiệt độ: đặt nhiệt độ ban đầu của cột là 60 °C giữ trong 5 phút, sau đó tăng dần nhiệt độ đến 280 °C với tốc độ 3 °C/min và giữ nguyên nhiệt độ trong 10 phút trước khi kết thúc quy trình.

Phân đoạn phân tích khối phổ

-Năng lượng ion hóa: 70 eV

-Nhiệt độ nguồn ion hóa: 280 °C

-Chế độ quét: 1 giây/lượt

3 Kết quả và bàn luận

3.1 Kết quả đo độ ẩm

Bảng 1 Kết quả đo độ ẩm của nguyên liệu

Kích thước nguyên liệu	Độ ẩm trung bình W_{tb} (%)
(1,5-3) cm	9,68
< 1 mm	9,21

Chọn khối lượng rcHb khô $m_{NLK} = 100$ g.

Với kết quả đo độ ẩm có được trong Bảng 1, khối lượng nguyên liệu chứa ẩm cần cân tính theo công thức:

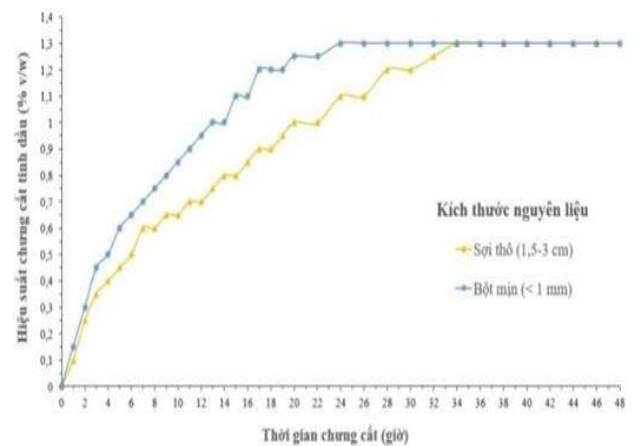
$$m_{NL} = \frac{m_{NLK}}{(100 - W_{tb} \%)} \times 100$$

- với kích thước (1,5-3) cm: $m_{NL} = 110,71$ g

- với kích thước < 1 mm: $m_{NL} = 110,14$ g

3.2 Khảo sát quá trình chưng cất VEO theo kích thước nguyên liệu

Cò Hương bài có cấu trúc rễ chắc và dai gây cản trở cho quá trình bay hơi tinh dầu theo hơi nước, do đó việc phá vỡ cấu trúc sợi của rễ bằng phương pháp nghiền có ảnh hưởng quan trọng đến hiệu quả quá trình chưng cất. Trong khảo sát này, rcHb được nghiền ở hai kích thước: sợi thô (1,5-3) cm và bột mịn (<1 mm):



Hình 3 Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu lên quá trình chưng cất

Dữ liệu ở Hình 3 cho thấy kích thước nguyên liệu ảnh hưởng rõ rệt đến quá trình chưng cất. Với kích thước dưới 1 mm, đồ thị khá dốc thể hiện quá trình chiết xuất tinh dầu xảy ra nhanh hơn trong khoảng 24 giờ. Với kích thước nguyên liệu từ (1,5-3) cm, cho sự giải phóng tinh dầu khó khăn hơn, thời gian chưng cất kéo dài hơn 34 giờ [2]. Vậy nên để rút ngắn thời gian và giảm thiểu chi phí năng lượng cho quá trình chưng cất, rcHb cần được nghiền mịn < 1 mm.

3.3 Lựa chọn enzyme hỗ trợ quá trình tiền xử lí nguyên liệu

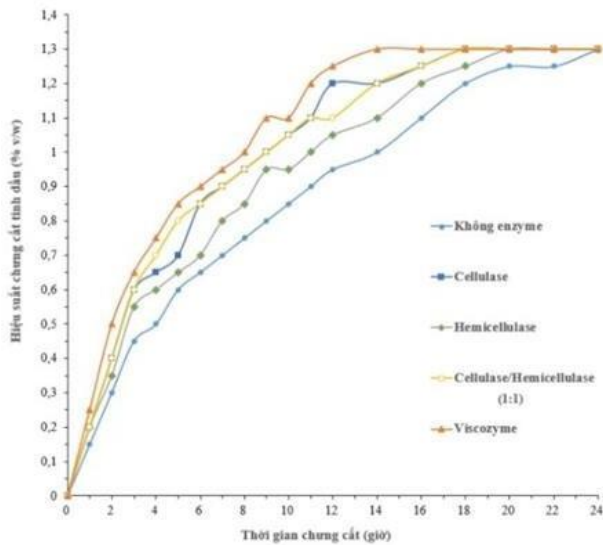
Điều kiện khảo sát cố định với 100 g NLK rcHb đã nghiền mịn:

- Nồng độ enzyme (E/S): 2 % (w/w NLK)

- Nhiệt độ ủ: 50 °C.

- Thời gian ủ: 24 giờ

- pH = 5



Hình 4: Ảnh hưởng của loại enzyme tiền xử lí lên quá trình chưng cất

Hình 4 cho thấy quá trình tiền xử lí nguyên liệu với các enzyme như cellulase, hemicellulase và viscoenzyme có ảnh hưởng tích cực đến hiệu quả chưng cất tinh dầu. Enzyme hemicellulase cho hiệu quả không cao, quá trình chưng cất kéo dài 20 giờ mới thu được hết lượng tinh dầu trong nguyên liệu. Cellulase và hỗn hợp cellulase/hemicellulase (với tỉ lệ 1:1) cho kết quả khả quan hơn khi chiết xuất hết lượng tinh dầu sau 18 giờ. Các loại đơn enzyme như cellulase và hemicellulase chỉ có bề gãy được những liên kết tương ứng. Tuy nhiên độ bền chắc của cấu trúc vi sợi rcHb cần được tác động nhiều hơn bởi các đa enzyme có khả năng thủy phân được cellulose, hemicellose, xylose, pectin và lignin như viscozyme [3]. Do đó, viscozyme cho tốc độ thu tinh dầu nhanh nhất và đạt tối đa 1,3 % v/w sau 14 giờ, hiệu suất chưng cất tăng 23 % và đã rút ngắn thời gian chưng cất đi 10 giờ so với mẫu không sử dụng enzyme.

3.4 Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình xử lí bằng viscozyme

Qua khảo sát tác động của các loại enzyme đến quá trình chưng cất VEO, viscozyme là enzyme giúp rút ngắn thời gian chiết xuất tinh dầu tốt nhất. Để tối ưu khả năng tác động của viscozyme đối với nguyên liệu, tiến hành khảo sát lần lượt các yếu tố: thời gian ủ, nhiệt độ ủ, pH môi trường và nồng độ enzyme (E/S).

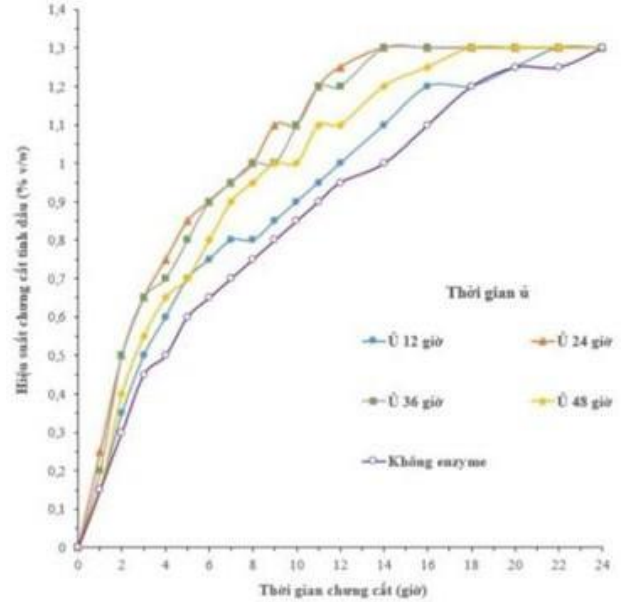
- Thời gian ủ

Khảo sát sơ bộ quá trình ủ nguyên liệu bằng viscozyme trong (2-10) giờ cho hiệu quả chưng cất tinh dầu thay đổi không đáng kể so với việc không sử dụng enzyme.

Vì vậy, nghiên cứu này chọn khoảng thời gian ủ dài hơn để khảo sát, từ (12-48) giờ.

Điều kiện khảo sát cố định với 100 g NLK rcHb đã nghiền mịn:

- Nồng độ enzyme (E/S): 2 % (w/w NLK)
- Nhiệt độ ủ: 50 °C.
- pH: 5



Hình 5 Ảnh hưởng của thời gian ủ enzyme lên quá trình chưng cất

Hình 5 cho thấy thời gian ủ enzyme có ảnh hưởng nhiều trong giai đoạn tiền xử lí, enzyme đã phá vỡ cấu trúc của thành tế bào và thành phần trong rế cho phép giải phóng tinh dầu hiệu quả hơn. Thời gian ủ 12 giờ cho hiệu quả kém nhất, thời gian chưng cất cũng phải mất 22 giờ mới thu được hoàn toàn lượng tinh dầu trong nguyên liệu (1,3 % v/w). Tuy nhiên, đồ thị của quá trình ủ với enzyme trong 12 giờ có độ dốc hơn đường biểu diễn khi không sử dụng enzyme, điều đó cho thấy phần nào tác động hiệu quả của việc tiền xử lí enzyme. Thời gian ủ 24 giờ và 36 giờ đều có cùng mức độ ảnh hưởng đến quá trình chưng cất VEO, cho thời gian chưng cất ngắn nhất, đạt hiệu suất tối đa 1,3 % v/w chỉ trong 14 giờ. Tuy nhiên, khi tăng thời gian ủ lên 48 giờ thì hiệu quả của của việc xử lí enzyme lại giảm, quá trình chưng cất tinh dầu cần thời gian dài hơn (18 giờ). Nguyên nhân có thể do thời gian ủ quá lâu, hoạt tính của enzyme có thể bị ảnh hưởng bởi chính thành phần có trong dịch ủ hoặc có thể gây ra sự phân hủy hóa học của enzyme khi tiếp xúc trong thời gian dài với đệm [4].

Từ kết quả trên, cả hai thời gian ủ 24 giờ và 36 giờ đều cho kết quả tốt như nhau, tuy nhiên để tiết kiệm chi phí

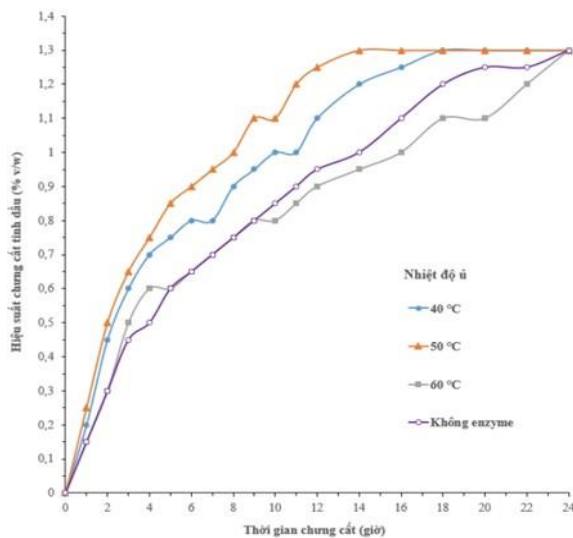
năng lượng và thời gian, nghiên cứu chọn 24 giờ là thời gian ưu tiên để tiếp tục khảo sát các yếu tố khác.

- Nhiệt độ

Theo thông tin nhà sản xuất cung cấp, viscozyme L hoạt động tốt ở khoảng nhiệt độ (25-55) °C. Ngoài ra, các nghiên cứu cho thấy viscozyme L hỗ trợ chiết xuất tinh dầu đạt hiệu quả tối ưu ở nhiệt độ hoạt động (45-50) °C [4]. Vì vậy, nghiên cứu này chọn khoảng nhiệt độ khảo sát từ (40-60) °C.

Điều kiện khảo sát cố định với 100 g NLK rcHb đã nghiền mịn:

- Nồng độ enzyme (E/S): 2 % (w/w NLK)
- Thời gian ủ: 24 giờ
- pH = 5



Hình 6: Ảnh hưởng của nhiệt độ ủ lên quá trình chung cất

Hình 6 cho thấy nhiệt độ là yếu tố có ảnh hưởng lớn đến quá trình tiền xử lý với enzyme. So với mẫu không sử dụng enzyme, mẫu nguyên liệu ủ bằng viscozyme ở 40 °C đã cho thấy hiệu quả đáng kể đối với quá trình chung cất. Đường đồ thị ở 40 °C dốc hơn nhiều so với đường không sử dụng enzyme, thể hiện tốc độ thu tinh dầu nhanh hơn và thu được toàn bộ tinh dầu sau 18 giờ. Trong khi đó, đồ thị thể hiện viscozyme hoạt động hiệu quả nhất ở 50 °C, nằm trong khoảng nhiệt độ hiệu quả được nhà sản xuất enzyme cung cấp (25-55) °C, nên quá trình chung cất đạt hiệu suất cao nhất và thời gian chung cất rút ngắn còn 14 giờ. Ở 60 °C, hiệu suất chung cất tinh dầu thấp bằng mẫu không sử dụng enzyme. Đường đồ thị ở 60 °C thay đổi không đáng kể so với mẫu không sử dụng enzyme, được giải thích là do sự thay đổi hoạt tính enzyme (hay protein) trong khi ủ,

enzyme đã giảm hoạt tính hoặc có thể mất toàn bộ hoạt tính ở nhiệt độ cao 60 °C [5].

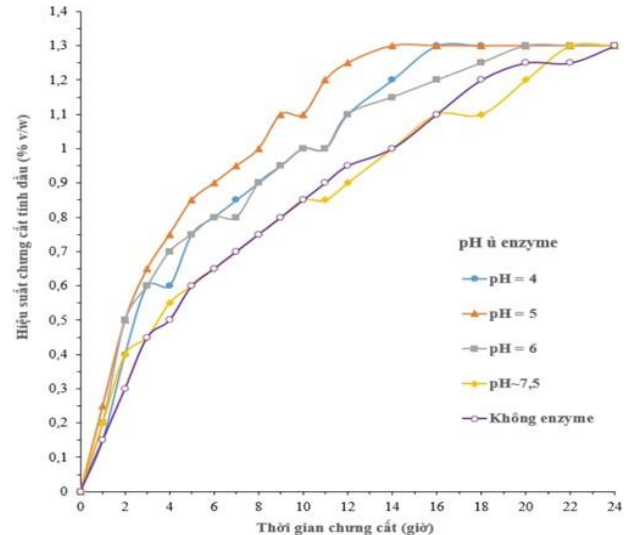
Từ kết quả trên cho thấy 50 °C là nhiệt độ tối ưu và được chọn để tiếp tục tiến hành khảo sát các yếu tố khác.

- Độ pH

Theo thông tin về enzyme của nhà sản xuất cung cấp, viscozyme L hoạt động tốt ở khoảng pH (3,3-5,5). Tuy nhiên, tùy thuộc vào nguyên liệu và hợp chất cần chiết xuất mà cần lựa chọn độ pH phù hợp cho quá trình ủ để hiệu suất đạt cao nhất. Theo các nghiên cứu trước có sử dụng enzyme hỗ trợ quá trình chiết xuất, pH để viscozyme hoạt động tối ưu là ở trong khoảng từ 4,0-6,2 [6]. Trong đó, các nghiên cứu sử dụng viscozyme hỗ trợ quá trình chung cất tinh dầu cho thấy pH tối ưu trong khoảng từ 4,5-5,0 [4]. Vì vậy, trong nghiên cứu này khảo sát ở khoảng pH từ 4,0 - 6,0 và tại pH nước thông thường để theo dõi sự thay đổi và ảnh hưởng đến quá trình chung cất VEO.

Điều kiện khảo sát cố định với 100 g NLK rcHb đã nghiền mịn:

- Nồng độ enzyme (E/S): 2 % (w/w NLK)
- Thời gian ủ: 24 giờ
- Nhiệt độ ủ: 50 °C



Hình 7: Ảnh hưởng của pH ủ enzyme lên quá trình chung cất

Hình 7 cho thấy pH cũng là một yếu tố quan trọng trong quá trình tiền xử lý, có ảnh hưởng rất lớn đến hiệu suất chung cất tinh dầu VEO. Đồ thị cho thấy khi tiền xử lý bằng viscozyme ở các mức pH = (4,0-7,5), hiệu suất chung cất tinh dầu cao hơn so với mẫu không sử dụng enzyme. Sau 14 giờ chung cất, hiệu suất chung cất tinh dầu thu được cao nhất 1,3 % khi tiền xử lý với

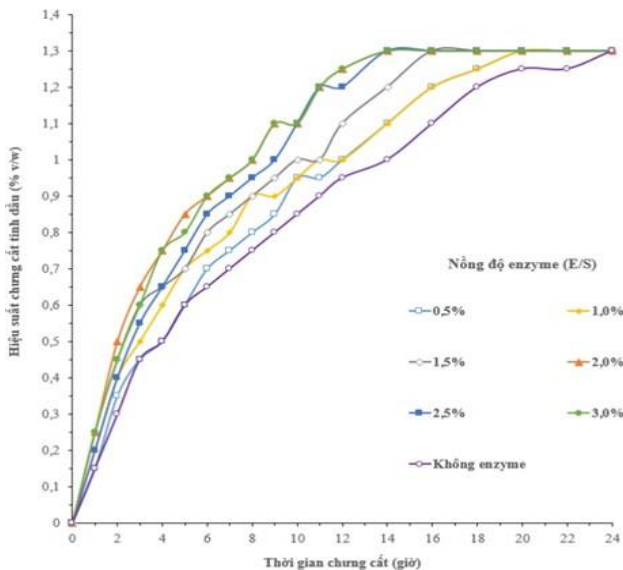
viscozyme ở pH = 5 so với không sử dụng enzyme (1 %). Khi tăng độ pH, hiệu suất giảm và thấp nhất ở pH của nước cất (7,5), cho kết quả thu toàn bộ tinh dầu sau 22 giờ đạt hiệu suất là 1,3 %, hiệu suất tương tự so với không sử dụng enzyme. Tùy nguyên liệu và hợp chất cần chiết xuất mà pH ủ phù hợp của viscozyme dao động từ 4,5 đến 5,0 [7]; đối với rcHb, quá trình chung cất tinh dầu đạt hiệu quả cao nhất ở pH = 5, là pH tối ưu được chọn để tiếp tục khảo sát yếu tố khác.

- Nồng độ E/S

Theo các nghiên cứu chung cất tinh dầu với sự hỗ trợ của enzyme, nồng độ enzyme (E/S) sử dụng có thể từ (0,1-10) %, tuy nhiên nồng độ enzyme thường được khảo sát và tối ưu ở khoảng thấp, từ (0,1-2) % [8], nhằm đạt chi phí hợp lý cho quá trình chiết xuất. Vì vậy, để chọn được nồng độ enzyme phù hợp cần tiến hành khảo sát nồng độ từ (0,5-3,0) %.

Điều kiện khảo sát cố định với 100 g NLK rcHb đã nghiền mịn:

- Thời gian ủ: 24 giờ
- Nhiệt độ ủ: 50 °C
- pH = 5



Hình 8 Ảnh hưởng của nồng độ enzyme (E/S) lên quá trình chung cất

Hình 8 cho thấy nồng độ enzyme sử dụng có ảnh hưởng đáng kể đến quá trình chiết xuất VEO. Hiệu suất chung cất tinh dầu thu được tăng dần khi tăng nồng độ enzyme sử dụng từ (0,5-2) % thông qua độ dốc của các đường biểu diễn trong đồ thị. Khi sử dụng nồng độ enzyme ở (0,5-1) %, đồ thị cho thấy hiệu quả tăng không đáng kể, chỉ tăng từ 1,25 % đến 1,3 % so với mẫu không sử dụng

enzyme sau 20 giờ chung cất. Ở nồng độ enzyme 1,5 %, đồ thị bắt đầu biến đổi rõ hơn và dốc hơn cho kết quả thu toàn bộ VEO 1,3 % sau 16 giờ chung cất. Việc tăng dần nồng độ enzyme đi liền với tốc độ chung cất tinh dầu tăng cho thấy nguyên liệu rcHb cần một lượng enzyme nhiều hơn để phá hủy cấu trúc bền vững của nó và giải phóng tinh dầu nhanh hơn trong quá trình chung cất. Tại nồng độ 2 %, hiệu suất chung cất tinh dầu nhanh chóng đạt tối đa 1,3 % v/w chỉ sau 14 giờ chung cất và thay đổi không đáng kể khi tiếp tục tăng nồng độ enzyme sử dụng đến 3 %. Nồng độ enzyme sử dụng phụ thuộc rất nhiều vào bản chất và cấu trúc của nguyên liệu đem chiết xuất [10]. Đối với bột rcHb, nồng độ enzyme cho hiệu suất chung cất tinh dầu cao nhất là từ (2-3) %, chọn 2 % là nồng độ enzyme tối ưu nhằm giảm thiểu chi phí sử dụng enzyme.

3.5 Đánh giá thành phần tinh dầu VEO có và không có enzyme hỗ trợ

Bảng 2: Thành phần VEO theo phương pháp HD và EAE-HD.

Tên chất	% Diện tích peak	
	HD	EAE-HD
Hydrocarbon	6,56	6,35
Alcohol	41,82	43,24
Hợp chất carbonyl	23,64	23,57
Carboxylic acid	8,90	9,45
Các thành phần khác	3,80	4,11
Tổng thành phần xác định	84,72	86,72

Theo kết quả ở Bảng 2, bằng phương pháp GC-MS, các hoạt chất đã được xác định và bán định lượng trong VEO chiết xuất bằng phương pháp HD chiếm khoảng 84,72 % trên tổng hàm lượng tinh dầu thu được, còn trong VEO chiết xuất với sự hỗ trợ của enzyme (EAE-HD) chiếm khoảng 86,72 % trên tổng hàm lượng tinh dầu. Kết quả này chứng minh thành phần của VEO không bị ảnh hưởng nhiều bởi quá trình tiền xử lý bằng viscozyme, từ đó cho thấy ứng dụng phương pháp EAE-HD chiết xuất tinh dầu VEO khả thi và đạt hiệu suất cao.

4 Kết luận

Kết quả nghiên cứu tạo tiền đề cho ứng dụng sản xuất VEO trong thương mại:

- Khi nghiền mịn kích thước nguyên liệu < 1 mm cho thấy quá trình chung cất hiệu quả hơn khi phần nào phá hủy cấu trúc sợi bền vững của rcHb. Thời gian chung



cất thu được toàn bộ VEO ở kích thước < 1 mm là 24 giờ, rút ngắn được 10 giờ so với mẫu có kích thước nguyên liệu (1,5-3) cm. Hiệu suất chung cất tinh dầu thu được tăng từ 1,1 % đến 1,3 % v/w sau 24 giờ chưng cất.

–Khảo sát sự ảnh hưởng của loại enzyme đến quá trình chưng cất khi tiền xử lí bằng các loại enzyme công nghiệp (cellulase, hemicellulase, viscozyme), kết quả cho thấy khi tiền xử lí với các enzyme hiệu suất chưng cất tinh dầu đều tăng. Hiệu suất chưng cất VEO tăng đáng kể và nhiều nhất là 23 % khi sử dụng viscozyme ở điều kiện nhiệt độ 50°C với $\text{pH} = 5$ trong thời gian ủ 24 giờ.

–Khảo sát lần lượt các yếu tố tiền xử lí bằng enzyme ảnh hưởng đến quá trình chưng cất như thời gian ủ, nhiệt độ, pH và nồng độ enzyme (E/S) cho kết quả hiệu suất chưng cất đạt tối ưu 1,3 % v/w khi tiền xử lí bằng viscozyme ở 50°C , $\text{pH} = 5$, ủ trong 24 giờ với nồng độ enzyme (E/S) là 2 %.

–Thành phần trong hai mẫu VEO có và không có tiền xử lí với enzyme sai khác không nhiều. Sử dụng enzyme hỗ trợ quá trình chiết xuất tinh dầu là một phương pháp xanh giúp cải thiện quá trình chưng cất VEO trở nên dễ dàng và đạt hiệu quả cao.

Để xác thực tính hiệu quả trong công nghiệp, kiến nghị thực nghiệm với quy mô lớn hơn với các điều kiện đã tối ưu của enzyme. Mặt khác, để có thể tiết kiệm chi phí, kiến nghị nghiên cứu thêm việc sản xuất enzyme từ các nguồn thải sinh khối.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ – Đại học Nguyễn Tất Thành, mã đề tài 2022.01.11/HĐ-NCKH

Tài liệu tham khảo

1. L. Paillat *et al.* (2012), *Purification of vetiver alcohols and esters for quantitative high-performance thin-layer chromatography determination in Haitian vetiver essential oils and vetiver acetates*, J. Chromatogr. A, no. 1241, pp. 103-111.
2. K. K. Aggarwal, A. Singh, A. P. Kahol, and M. Singh (1998), *Parameters of Vetiver Oil Distillation*, J. Herbs. Spices Med. Plants, Vol. 6, no. 2, DOI: 10.1300/J044v06n02_07.
3. T. Kuge *et al.* (2015), *Action of an endo- β -1,3(4)-glucanase on cellobiosyl unit structure in barley β -1,3:1,4-glucan*. Taylor & Francis, DOI: 10.1080/09168451.2015.1046365 β -1,3:1,4-Glucan.
4. H. T. Phuong, H. N. Oanh, and P. P. Hien (2014), *Ứng dụng chế phẩm Viscozyme L để trích li Polyphenol từ lá trà xén cành kim tuyến*, Science & Technology Development.
5. H. B. Sowbhagya and V. N. Chitra (2010), *Enzyme-Assisted Extraction of Flavorings and Colorants from Plant Materials*, Crit. Rev. Food Sci. Nutr., Vol. 50, pp. 146-161, DOI: 10.1080/10408390802248775.
6. N. Kurmudle, L. D. Kagliwal, S. B. Bankar, and R. S. Singhal (2013), *Enzyme-assisted extraction for enhanced yields of turmeric oleoresin and its constituents*, Food Bioscience, Vol. 3. pp. 36-41, DOI: 10.1016/j.fbio.2013.06.001.
7. X. Guan and H. Yao (2008), *Optimization of Viscozyme L-assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology*, Food Chem., no. 106, pp. 345-351, DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.05.041.
8. H. B. Sowbhagya, P. Srinivas, K. T. Purnima, and N. Krishnamurthy (2011), *Enzyme-assisted extraction of volatiles from cumin (*Cuminum cyminum L.*) seeds*. Food Chemistry, pp.1856-1861, DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.02.001.
9. I. Ntaikou, G. Antonopoulou, and G. Lyberatos (2021), *Sustainable Second-Generation Bioethanol Production from Enzymatically Hydrolyzed Domestic Food Waste Using Pichia anomala as Biocatalyst*, Sustainability, Vol. 13, no. 1, DOI: 10.3390/su13010259.
10. Y. Shimotori *et al.* (2020), *Enzyme-assisted Extraction of Bioactive Phytochemicals from Japanese Peppermint (*Mentha arvensis L. cv. 'Hokuto'*)*, J. Oleo Sci., Vol. 6, no. 69, pp. 635642, DOI: 10.5650/jos.ess19181.

Distillation of *Vetiver zizanioides* essential oil (VEO) with enzyme support

Hoang Thi Hong

Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University

hthong@ntt.edu.vn

Abstract The present study investigated the effects of enzymatic pretreatment with various industrial enzymes (cellulase, hemicellulase and viscozyme) on hydrodistillation of essential oil from vetiver root (*Vetiveria zizanioides* L.). The results showed that pretreatment with viscozyme was highly trustworthy since yield of essential oil raised up 23 %, extraction time decreased 10 h, and the process achieved the highest yield of 1.3 % (v/w) after 14 hrs of hydrodistillation. The optimization of conditions was employed to enhance the effectiveness in viscozyme pretreatment. Four parameters taken into the investigation were incubation time, temperature, pH, and enzyme concentration (E/S). After pretreating grounded vetiver root (<1 mm) with viscozyme at enzyme concentration (E/S) of 2 % (w/w) for 24 hrs at 50 °C and pH = 5, the essential oil yield achieved the highest value of 1.3 % (v/w).

Keywords Oil, Vetiver grass, *Vetiveria zizanioides*, VEO, enzyme