

NGHIÊN CỨU CHIẾT TÁCH HỢP CHẤT TANIN TỪ HẠT QUẢ CAU (ARECA CATECHU) VÀ THỬ HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA

● NGUYỄN THỊ ANH THƯ - NGUYỄN THỊ MỸ THẢO - MAI THỊ THÙY LAM
- THÁI BẢO NGỌC - VÕ THÀNH NHÂN

TÓM TẮT:

Bài viết nghiên cứu chiết tách hợp chất tanin từ hạt quả cau (Areca catechu) và thử hoạt tính kháng oxy hóa để nâng cao giá trị sử dụng của cây cau trong đời sống, tận dụng được nguồn nguyên liệu sẵn có nhằm hạn chế việc thất thoát nguồn tài nguyên vốn có của tỉnh Trà Vinh, tạo tiền đề phát triển nền nông nghiệp trồng cau ở Việt Nam. Kết quả cho thấy, chiết tách tanin tối ưu ứng với 2g hạt quả cau được chiết trong 56 mL hỗn hợp dung môi (etanol:nước:chloroform:etylacetate) ở nhiệt độ 70°C trong 50 phút cho hiệu suất đạt 29.23%, hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết tanin so với chất đối chiếu vitamin C tương đương nhau EC₅₀ (6.53:5.25 µg/mL).

Từ khóa: Tanin, hạt quả cau, dung môi chiết, quy trình chiết.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tanin là hợp chất phenolic có trọng lượng phân tử cao, có chứa các nhóm hydroxyl, có khả năng tạo phức với protein và các phân tử lớn khác trong điều kiện môi trường đặc biệt. Tanin có trong vỏ, thân, lá và quả của những loại cây keo, hạt quả cau, lá chè [1]. Chúng được ứng dụng rộng rãi trong công nghiệp chế biến thực phẩm, công nghiệp thuốc da và hóa mỹ phẩm. Ngoài ra, tanin được dùng làm nguyên liệu để sản xuất một số chất chống giật cho các nồi hơi cao áp, làm thuốc nhuộm, làm chất cố định màu trong quá trình nhuộm hay sản xuất mực in và nó được sử dụng nhiều trong dược liệu giúp ngăn ngừa bệnh tim mạch, thuốc điều trị viêm loét, giải độc, cầm máu, tiêu chảy, chất chống oxy hóa [2], [3], [4]. Tanin có hoạt tính kháng oxy hóa do có tác dụng khử các gốc tự do nhờ khả năng dễ tham gia vào phản ứng oxy hóa khử và khả năng ổn định gốc aryloxy [5].

Trong những năm vừa qua cùng với sự phát triển của ngành Công nghiệp Thực phẩm, Y - Dược trên thế giới cũng như ở Việt Nam thì nhu cầu sử dụng tanin ngày càng nhiều. Do đó, việc tìm nguồn nguyên liệu chứa hàm lượng tanin cao và phương pháp chiết tách tanin rất cần được chú trọng.

Vì vậy việc nghiên cứu chiết tách hợp chất tanin từ hạt quả cau (Areca catechu) và thử hoạt tính kháng oxy hóa sẽ có ý nghĩa lớn về mặt khoa học và thực tiễn: cung cấp dữ liệu khoa học về điều kiện tối ưu quá trình chiết tách tanin từ hạt quả cau non, khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết tanin thu được, để xuất nguồn nguyên liệu mới, tiềm năng chiết tách tanin theo quy mô công nghiệp, nâng cao giá trị sử dụng của cây cau trong đời sống, tận dụng được nguồn nguyên liệu sẵn có nhằm hạn chế việc thất thoát nguồn tài nguyên vốn có của tỉnh nhà, tạo tiền đề phát triển nền nông nghiệp trồng cau ở Việt Nam.

2. Phương pháp nguyên cứu

Hạt quả cau được tách từ hạt quả cau non, sấy ở 80°C trong 4h đến khối lượng không đổi, thu được chất khô. Tiếp theo, cân 2 g nguyên liệu khô tiến hành dun cách thủy với hỗn hợp dung môi etanol:nước ở nhiệt độ 50°C trong thời gian là 30 phút, sau đó tiến hành lọc lấy dịch lọc. Dịch lọc thu được sẽ được chiết với dung môi cloroform để loại bỏ tạp chất, sau đó tiến hành chiết thêm lần nữa với dung môi etylacetate. Sau khi quá trình chiết tách hoàn tất, dịch chiết sẽ được chuẩn độ bằng phương pháp Lowenthal với chất chỉ thị sunfoidigocarmine để chọn ra quy trình chiết tách tối ưu nhất. Dịch chiết có hiệu suất cao nhất sẽ được gửi kiểm tra hoạt tính kháng oxy hoá bằng phương pháp DPPH [7].

2.1. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết tách hợp chất tanin

2.1.1. Khảo sát tỉ lệ thể tích etanol và nước

Bảng 1. Bối trí thí nghiệm khảo sát tỉ lệ thể tích etanol:nước

Etanol:nước	m _{hạt cau} (g)	V _{cloroform} (ml)	V _{etylacetate} (ml)	T (°C)	t (phút)
40.00	2	10	10	50	30
30:10					
20:20					
10:30					
0.40					

Mỗi thí nghiệm lặp lại ba lần với độ sai số là ± 0.0001, tỉ lệ etanol:nước tối ưu đưa vào hàm lượng tanin thu được bằng phương pháp Lowenthal.

2.1.2. Khảo sát thể tích cloroform

Bảng 2. Bối trí thí nghiệm khảo sát tỉ lệ thể tích cloroform

Etanol:nước	m _{hạt cau} (g)	V _{cloroform} (ml)	V _{etylacetate} (ml)	T (°C)	t (phút)
V _{lõi ưu nhất}	2	1	10	50	30
		5			
		10			
		15			
		20			

Mỗi thí nghiệm lặp lại ba lần với độ sai số là ± 0.0001, thể tích cloroform tối ưu đưa vào hàm lượng tanin thu được bằng phương pháp Lowenthal.

2.1.3. Khảo sát thể tích dịch chiết giai đoạn 3 etylacetate

Thay đổi thể tích etylacetate, cố định tỉ lệ etanol:nước tối ưu nhất, khối lượng hạt cau đã nghiên 2g, thể tích tối ưu của dịch chiết giai đoạn 2 là cloroform, thời gian chiết 30 phút và nhiệt độ trong quá trình chiết là 50°C. Mỗi thí nghiệm lặp lại ba lần với độ sai số là ± 0.0001, thể tích etylacetate tối ưu đưa vào hàm lượng tanin thu được bằng phương pháp Lowenthal.

2.1.4. Khảo sát thời gian trong quá trình chiết

Thay đổi thời gian chiết cho mỗi quá trình chiết, sử dụng thể tích tối ưu của dịch chiết giai đoạn 3 etylacetate, tỉ lệ etanol:nước tối ưu nhất, khối lượng hạt cau đã nghiên 2g, cố định thể tích tối ưu của dịch chiết giai đoạn 2 là cloroform và nhiệt độ trong quá trình chiết là 50°C. Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần với độ sai số là ± 0.0001, thời gian tối ưu đưa vào hàm lượng tanin thu được bằng phương pháp Lowenthal.

2.1.5. Khảo sát nhiệt độ trong quá trình chiết

Thay đổi nhiệt độ chiết cho mỗi quá trình chiết, sử dụng thể tích etylacetate tối ưu, sử dụng tỉ lệ etanol:nước tối ưu, sử dụng thể tích tối ưu của cloroform, sử dụng thời gian tối ưu nhất cho quá trình chiết và cố định khối lượng hạt cau đã nghiên 2g. Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần với độ sai số là ± 0.0001. Chọn nhiệt độ tối ưu đưa vào hàm lượng tanin thu được bằng phương pháp Lowenthal. Dịch chiết có hàm lượng tối ưu nhất sẽ được gửi kiểm tra hoạt tính kháng oxy hoá bằng phương pháp DPPH tại trường đại học Cần Thơ.

2.2. Định tính tanin

Cho dịch chiết phản ứng với dung dịch FeCl_3 , dung dịch từ màu vàng chanh chuyển sang màu xanh đen chứng tỏ có tanin. Thành phần chính của tanin là các nhóm -OH nên khi cho FeCl_3 vào, Fe^{3+} sẽ chuyển thành Fe^{2+} có màu xanh đen khi có ánh sáng [8].

Hình 1: Trước khi cho $FeCl_3$ **Hình 2: Sau khi cho $FeCl_3$** 

2.3. Thủ thuật tính kháng oxy hóa của dịch chiết tanin thu được theo DPPH

Sử dụng phương pháp diphenylpicrylhydrazine (DPPH) để đánh giá khả năng chống oxy hóa của chất kháng oxy hóa được đánh giá bằng sự thay đổi độ hấp thu của DPPH ở bước sóng 517 nm. Hiệu quả kháng oxy hóa của dịch chiết từ hạt quả cau được xác định dựa vào hiệu suất trung hòa gốc tự do DPPH. Tỉ lệ giảm của mật độ quang đo được ở bước sóng 517 nm khi có chất kháng oxy hóa sau đó tiến hành so sánh với chất chuẩn vitamin C thông qua giá trị EC₅₀ [9].

3. Kết quả và thảo luận

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ etanol:nước đến quá trình chiết tách tanin được trình bày ở Bảng 4.

Hàm lượng tanin trong dịch chiết tăng dần theo chiều giảm thể tích etanol và đạt giá trị cao nhất (17.74%) tương ứng với tỉ lệ etanol:nước (10:30) đây cũng là điều kiện chiết tách tối ưu. Kết quả này có thể lý giải như sau: trong thành phần chính của tanin là các nhóm phenol (-OH) tan tốt trong nước và etanol, ở tỉ lệ thích hợp sẽ tạo ra môi trường có độ phân cực phù hợp nhất với tanin. Khi tăng nồng độ etanol có một số tạp chất tan trong etanol sẽ tách ra cùng với quá trình tách tanin, do vậy khi hàm lượng etanol quá lớn thì các chất này tách ra càng nhiều và làm giảm hiệu quả của quá trình tách tanin. Nhưng khi nồng độ etanol quá thấp, sẽ làm hạn chế khả năng hòa tan của tanin vào dung môi nên hàm lượng thu được không cao.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thể tích cloroform đến quá trình chiết tách tanin được trình bày ở Bảng 4.

Hàm lượng tanin tăng theo chiều tăng thể tích cloroform nhưng tiếp tục tăng thể tích cloroform thì hàm lượng tanin giảm. Hàm lượng tanin đạt giá trị cực đại (19.83%) ứng với thể tích cloroform là 15 mL. Điều này có thể giải thích như sau: khi chiết tanin bằng etanol và nước một lượng tanin sẽ bám vào etanol, nên khi tách bằng cloroform một lượng tanin bị phân bố trong etanol sẽ bị kéo

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỉ lệ etanol: nước

Etanol:nước	m_hạt_cau (g)	V _{cloroform} (ml)	V _{etylacetate} (ml)	T (°C)	t (phút)	Hàm lượng(%)
40:00						9.39
30:10						9.39
20:20	2	10	10	50	30	16.70
10:30						17.74
0:40						13.57

Bảng 4. Ảnh hưởng của thể tích cloroform

Etanol:nước	m_hạt_cau (g)	V _{cloroform} (ml)	V _{etylacetate} (ml)	T (°C)	t (phút)	Hàm lượng(%)
10:30	2	1	10	50	30	18.79
		5				17.75
		10				16.70
		15				19.83
		20				18.79

theo chuyển vào cloroform, giúp tăng hiệu suất quá trình chiết. Trên thực tế cloroform giúp loại bỏ các tạp chất, nên khi thay đổi thể tích cũng không ảnh hưởng lớn đến hàm lượng tanin của quá trình chiết tách.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thể tích etylacetate đến hàm lượng chiết tách tanin được trình bày ở Bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của etylacetate đến quá trình chiết

Etanol:nước	$m_{\text{hai cau}} (\text{g})$	$V_{\text{cloroform}} (\text{ml})$	$V_{\text{etylacetate}} (\text{ml})$	T ($^{\circ}\text{C}$)	t (phút)	Hàm lượng (%)
10:30	2	15	1	50	30	21.92
			5			17.74
			10			19.83
			15			17.74
			20			18.79

Hàm lượng tanin thay đổi không theo quy luật dưới sự thay đổi thể tích etylacetate, ứng với thể tích etylacetate là 1 mL thì lượng tanin thu được là lớn nhất (21.92%). Điều này có thể lý giải như sau etylacetate được thêm vào quy trình với mục đích giúp tinh chế lại tanin sau khi loại bỏ tạp chất bằng cloroform, giúp tanin thu được đạt độ tinh khiết hơn. Khi tăng thể tích etylacetate có thể một lượng nhỏ tanin dính vào etylacetate và không tách ra được làm giảm hiệu quả của quá trình chiết tách, nhưng lượng chênh lệch không đáng kể.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng chiết tách tanin được trình bày ở Bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình chiết

Etanol:nước	$m_{\text{hai cau}} (\text{g})$	$V_{\text{cloroform}} (\text{ml})$	$V_{\text{etylacetate}} (\text{ml})$	T ($^{\circ}\text{C}$)	t (phút)	Hàm lượng (%)
10:30	2	15	1	50	10	18.79
					20	22.96
					30	24.01
					40	24.01
					50	27.12
					60	25.05

gian quá ngắn sẽ không tạo được sự chênh lệch áp suất đủ lớn, do đó các cầu từ cần chiết bị lôi kéo ra khỏi nguyên liệu ít nên dẫn đến hàm lượng thu được sẽ thấp. Khi các cầu từ chiết được trích ly hết ra khỏi nguyên liệu nếu tiếp tục tăng thời gian chiết thì sẽ tạo điều kiện cho các tạp chất bị khuếch tán theo. Hơn nữa thời gian chiết dài sẽ làm bay hơi dung môi và phân hủy tanin có trong dịch chiết. Vì vậy, sau khi khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất chiết, 50 phút là thời gian chiết tách phù hợp.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng chiết tách tanin được trình bày ở Bảng 7.

Bảng 7. Kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình chiết

Etanol:nước	$m_{hai cau}$ (g)	$V_{cloroform}$ (ml)	$V_{etylacetate}$ (ml)	T (°C)	t (phút)	Hàm lượng (%)
10:30	2	15	1	30	50	14.61
				40		18.79
				50		27.14
				60		28.18
				70		29.23
				80		27.14

Hàm lượng tanin thu được tỉ lệ thuận với nhiệt độ, nhưng khi đến 80°C thì hàm lượng tanin bắt đầu giảm nhẹ, ở nhiệt độ 70°C thì hàm lượng tanin thu được là lớn nhất (29.23%). Kết quả cho thấy ứng với các nhiệt độ khác nhau thì hàm lượng tanin thu được cũng khác nhau. Điều đó cho thấy nhiệt độ là một trong những yếu tố có ảnh hưởng đến quá trình chiết tách và chỉ cần một sự thay đổi nhỏ yếu tố này cũng làm thay đổi hiệu quả của quá trình chiết tách. Điều này có thể giải thích như sau: nhiệt độ có tác dụng tăng tốc độ khuếch tán và giảm độ nhớt của dung

dịch giúp phân tử chất hoà tan dễ dàng khuếch tán giữa các phân tử dung môi, làm tăng tốc độ khuếch tán và dẫn đến khả năng tách dịch bào cũng tăng. Hàm lượng tanin giảm dần vì nhiệt độ quá cao làm biến đổi tính chất của cấu tử cần chiết.

Sử dụng dịch chiết thu được kiểm tra hoạt tính kháng oxy hóa. Vitamin C được dùng làm đối chứng dương trong thử nghiệm và được so sánh với dịch chiết tanin từ hạt quả cau thu được dựa vào kết quả EC₅₀ [6]. Kết quả được thể hiện ở Bảng 8 và Bảng 9.

Bảng 8. Kết quả kiểm tra hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết tanin và vitamin C (qua 3 lần đo với độ sai số ± 0.03)

Mẫu thử	Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình	Ức chế (%)
Tannin	0	0.8908	0.8581	0.8595	0.8695	0
Vitamin C		1.2940	1.3130	1.3010	1.3030	0
Tannin	1	0.7571	0.7732	0.7662	0.7655	11.9609
Vitamin C		1.1600	1.1400	1.1510	1.1500	11.7421
Tannin	2	0.6563	0.6427	0.6348	0.6446	25.8654
Vitamin C		1.0120	1.0170	1.0190	1.0160	22.0261
Tannin	4	0.5493	0.5702	0.5786	0.5660	34.9051
Vitamin C		0.7460	0.7410	0.7150	0.7340	43.6685
Tannin	6	0.4661	0.4768	0.4685	0.4705	45.8884
Vitamin C		0.5670	0.5060	0.5890	0.5540	57.4827
Tannin	8	0.3229	0.3485	0.3465	0.3393	60.9776
Vitamin C		0.3430	0.3450	0.3470	0.3450	73.5226
Tannin	10	0.2645	0.2388	0.2539	0.2524	70.9718
Vitamin C		0.1200	0.1120	0.1500	0.1270	90.2533

Bảng 9. Biểu đồ thể hiện khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết

Dịch chiết	Phương trình hồi quy	Giá trị EC ₅₀ (µg/mL)
Vitamin C	$y = 8.8784x + 3.3513$ (R ² = 0.9939)	5.25
Tanin	$y = 6.7672x + 5.8283$ (R ² = 0.9774)	6.53

Kết quả thử hoạt tính kết luận rằng: Ứng với việc tăng nồng độ (µg/mL) của dịch chiết tanin thì độ hấp thụ của DPPH ở bước sóng 517 nm cũng giảm. Chứng tỏ dịch chiết có khả năng khử gốc tự do DPPH thành dạng ổn định diphenyl-picrylhydrazine (DPPH-H). Điều đó cho thấy dịch chiết tanin có khả năng kháng oxy hoá.

Khả năng kháng oxy hoá của dịch chiết tanin và vitamin C đều tăng theo nồng độ và sự biến thiên trên là tuyến tính. Khi tăng nồng độ dịch chiết tanin thì tính kháng oxy hóa giảm so với vitamin C. Điều này có thể giải thích như sau: tanin là hỗn hợp có tính khử các gốc tự do, kìm hãm sự oxy hóa do thời gian kiểm tra kéo dài dẫn đến hao hụt nồng độ của dịch chiết từ hạt quả

cau. Nên khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết tanin ứng với giá trị EC₅₀ là 6.5273 µg/mL là thấp sút vitamin C.

4. Kết luận

Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết tách tanin từ hạt quả cau kết quả thu được hàm lượng tanin là 29.23% khá cao so với những nghiên cứu trước đây. Quá trình chiết tách được thực hiện ở điều kiện tối ưu nhất ứng với thời gian chiết là 50 phút, nhiệt độ chiết là 70°C, tỉ lệ dung môi chiết tính theo thể tích C₂H₅OH:H₂O:CHCl₃:CH₃COOC₂H₅ (10:30:15:1).

Kết quả kiểm tra DPPH với chất đối chiếu vitamin C và thông qua giá trị EC₅₀ có thể chứng minh được khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết từ hạt quả cau là khá cao.

Nghiên cứu đã xây dựng được quy trình chiết tách tanin ở điều kiện thích hợp đem lại hiệu quả cao về giá trị kinh tế, giảm tối đa các tác nhân gây ô nhiễm môi trường và các yếu tố ảnh hưởng tới sức khỏe con người, góp phần nâng cao giá trị sử dụng của cây cau trong đời sống, tận dụng được nguồn nguyên liệu sẵn có nhằm hạn chế việc thất thoát nguồn tài nguyên vốn có của tỉnh và tạo tiền đề phát triển nền nông nghiệp trồng cau ở Việt Nam ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Lê Thị Thảo (2011). Nghiên cứu chiết tách tanin từ vỏ cây keo lai và thử ứng dụng đến một số tính chất của da. Luận văn tốt nghiệp cử nhân khoa học. Trường Đại học Đà Nẵng.
2. Ann E. Hagerman (2002). *Tannin Handbook*. Oxford. USA.
3. Viên dược liệu (2004). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*. Tập 1, 2. NXB Khoa học Kỹ thuật
4. Đỗ Tài Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. NXB Y học.
5. Michel Cardoso Vieira J, Roberto Carlos Costa Lelis, Bruno Couto da Silva G, Giseley de Lima Oliveira (2011). *Tannin Extraction from the Bark of Pinus oocarpa var. oocarpa with Sodium Carbonate and Sodium Bisulfite*. Floresta e Ambiente 18(1), 1 - 8.
7. Ngô Văn Dũng (2011). Nghiên cứu chiết tách, xác định thành phần uncalon trong hạt cau lùn. Luận văn thạc sĩ khoa học. Trường Đại học Đà Nẵng.
8. Phan Thị Lan (2016). Nghiên cứu tối ưu hóa quá trình chiết tách tanin từ vỏ một số loài cây keo ở Quảng Nam. Luận văn tốt nghiệp cử nhân sư phạm. Trường Đại học Đà Nẵng

Ngày nhận bài: 13/3/2019

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 23/3/2019

Ngày chấp nhận đăng bài: 2/4/2019

Thông tin tác giả:

1. ThS. NGUYỄN THỊ ANH THÚ
2. ThS. NGUYỄN THỊ MỸ THẢO
3. ThS. MAI THỊ THÙY LAM
4. Sinh viên THÁI BẢO NGỌC
5. Sinh viên VÕ THÀNH NHÂN

Trường Đại học Trà Vinh

STUDYING THE EXTRACTION OF TANNIN COMPOUNDS FROM ARECA NUTS AND TESTING THE ANTIOXIDANT ACTIVITY

- Master. NGUYEN THI ANH THU
- Master. NGUYEN THI MY THAO
- Master. MAI THI THUY LAM
- Student. THAI BAO NGOC
- Student. VO THANH NHAN

Tra Vinh University

ABSTRACT:

This paper studies the extraction of tannin compounds from areca nuts (*Areca catechu*). The paper also focuses on testing the antioxidant activity to improve the use value of areca and utilize the available raw material resources of Tra Vinh province. It would help Tra Vinh province to prevent the provincial natural resources losses, creating a premise for areca agriculture development in Vietnam. This study's results show that the optimal extraction of tannin with 2 g of areca nuts was extracted in 56 mL of solvent mixture (ethanol: water chloroform: ethylacetate) at 70°C for 50 minutes with the efficiency rate of 29.23%. In addition, the antioxidant activity of the extracted tannin was similar to EC50 (6.53; 5.25 µg/mL).

Keywords: Tannin, areca nuts, extraction solvent, extraction process.