

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG

NGUYỄN THỊ SƯƠNG MAI

NGHIÊN CỨU CHIẾT TÁCH POLYPHENOL
TỪ CÂY ĐIỀU ĐỂ LÀM CHẤT KHÁNG OXI HOÁ

Chuyên ngành : Hóa hữu cơ

Mã số : 60 44 27

TÓM TẮT LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

ĐÀ NẴNG - 2011

Công trình được hoàn thành tại
ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. LÊ THỊ LIÊN THANH

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Luận văn sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm Luận văn tốt nghiệp thạc sĩ khoa học họp tại Đại học Đà Nẵng vào ngày.....tháng.....năm 2011

Có thể tìm hiểu luận văn tại:

- Trung tâm thông tin - Học liệu, Đại học Đà Nẵng
- Thư viện trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng.

MỞ ĐẦU

1. LÝ DO CHỌN ĐỀ TÀI

Cây điều hay còn gọi là cây đào lộn hột có tên tiếng Anh là Cashew, tên khoa học là *Anacardium occidentale* L, thân cây gỗ thuộc nhóm công nghiệp lâu năm, có vòng đời từ 30 – 40 năm. Cây điều có nguồn gốc từ Châu Mỹ La Tinh, thích hợp với những vùng nhiệt đới đặc biệt là vùng nhiệt đới ven biển. Cây điều được biết đến và trở thành cây có giá trị kinh tế cao của nhiều nước như Ấn Độ, Brazil, Việt Nam,... với 3 sản phẩm chính là nhân điều, dầu vỏ hạt điều và nước giải khát từ trái điều.[40]

Cây điều có rất nhiều ứng dụng trong đời sống và trong công nghiệp. Nhân hạt điều có giá trị dinh dưỡng cao, được dùng để chế biến thực phẩm. Nhựa cây, dầu vỏ hạt được sử dụng nhiều trong các ngành chế biến công nghiệp cao cấp như: sơn chịu nhiệt, vecni, chất cách điện, làm hương liệu, mỹ phẩm. Rễ cây dùng làm dược liệu như thuốc chống nôn. Lá chứa nhiều tanin có thể chiết xuất làm chất thuộc da, chất nhuộm, làm mực, dùng làm thuốc an thần gây ngủ. Nhựa tiết từ cây dùng để trị cùi, trị da bị chai, trị các nốt ruồi, các vết loét ghè. Quả giả chứa nhiều vitamin, khoáng chất có vị ngọt, chát, dùng ăn mát, chế biến rượu, nước giải khát có tác dụng lợi tiểu, làm săn da, cầm máu, dùng để điều trị sự lão hoá sớm của da...[38]

Ở Việt Nam, cây điều phân bố chủ yếu ở Tây Nguyên, duyên Hải miền Trung và Đông Nam Bộ. Cây điều không kén đất, kinh phí trồng điều thấp không cần chăm bón nhiều. Vì vậy, cây điều được xem là cây xóa đói giảm nghèo cho người dân ở những vùng đất khô hạn, kém màu mỡ. Trên thực tế, ở nước ta cũng đã có một số nơi giàu lên nhờ cây điều, như tỉnh Bình Phước có diện tích trồng điều là 200.000 ha với sản lượng là 1 tấn /ha. Từ năm 2006 đến nay, kim ngạch xuất khẩu các sản phẩm từ điều của Việt Nam không ngừng tăng và luôn ở

vị trí số 1 thế giới: Năm 2006 đạt 504 triệu USD, năm 2007 đạt 651 triệu USD, năm 2008 đạt 920 triệu USD, năm 2009 đạt 850 triệu USD với sản lượng xuất khẩu là 177.000 tấn nhân điều và dự đoán năm 2010 xuất khẩu điều sẽ đạt mức 1 tỉ USD [43]. Tuy nhiên, giá trị kinh tế của cây điều chỉ tập trung vào khai thác nhân điều chế biến trong công nghiệp thực phẩm, còn các bộ phận khác của cây không được sử dụng, đặc biệt một lượng lớn quả điều giả bị bỏ đi, gây ô nhiễm môi trường. Ở một số nơi đã tận dụng làm nước giải khát, thức ăn cho gia súc, nước mắm chay... nhưng không đạt được hiệu quả như mong muốn vì thành phần polyphenol có trong quả. Thêm vào đó, chi phí cho việc khử vị đắng chát của quả điều làm tăng giá thành của sản phẩm chế biến, làm giảm khả năng cạnh tranh so với các loại quả khác. Vì vậy cho đến nay quả điều vẫn chưa được khai thác đúng mức so với tiềm năng lớn của nó. Ở Ấn Độ, sản xuất sản phẩm từ quả điều ở mức độ gia đình, sản phẩm chỉ được tiêu thụ ở địa phương. Ở Brazil, sản lượng quả điều hàng năm khoảng 2 triệu tấn nhưng cũng chỉ mới có 8 nhà máy chế biến nước ép. Ở Việt Nam, hàng triệu tấn quả điều thu hoạch hàng năm không được sử dụng...

Trung bình cứ một tấn hạt điều thô được thu hoạch thì có đến 8 - 10 tấn thịt quả điều bị bỏ đi, gây ô nhiễm lớn cho môi trường. Mặt khác, trong khi đó quả điều chứa nhiều chất dinh dưỡng vitamin B1, B2, vitamin C, muối khoáng và hàm lượng polyphenol khá lớn (266/100ml) nhưng lại chưa có nghiên cứu nào đề xuất hướng khai thác và sử dụng hợp chất này.

Trong những năm gần đây, nhiều công trình nghiên cứu đã cho thấy những ích lợi to lớn của polyphenol. Polyphenol có nhiều ứng dụng trong y học, dược phẩm, mỹ phẩm...đặc biệt là trong công nghiệp thực phẩm. Polyphenol có tác dụng khử các gốc tự do, có cơ chế tác dụng giống như tác dụng của các chất kháng oxi hóa tự nhiên thường

dùng trong bảo quản thực phẩm nhưng an toàn, không gây tác dụng phụ có hại như các chất kháng oxi hóa tổng hợp BHA, BHT...Tuy nhiên, hiện nay các công trình nghiên cứu chủ yếu tập trung vào việc chiết xuất và ứng dụng các hợp chất polyphenol trong lá chè. Trong thực tế, còn rất nhiều nguồn nguyên liệu thực vật chứa hàm lượng polyphenol cao như quả điều giả nhưng chưa được khai thác sử dụng.

Vì vậy, để tận dụng nguồn polyphenol từ cây điều nhằm nâng cao hiệu quả kinh tế và hiệu quả sử dụng của chúng. Chúng tôi chọn đề tài : ***“Nghiên cứu chiết tách polyphenol từ cây điều để làm chất kháng oxi hóa”*** để khẳng định giá trị sử dụng của nguồn lượng chất polyphenol tự nhiên có trong cây điều.

2. MỤC ĐÍCH NGHIÊN CỨU

Đề xuất qui trình chiết tách và nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết tách polyphenol trong lá và quả điều giả. Từ đó sử dụng nguồn polyphenol chiết được làm chất kháng oxi hóa trong bảo quản dầu ăn.

3. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHẠM VI NGHIÊN CỨU

3.1. Đối tượng nghiên cứu

Lá điều và quả điều giả từ các xã ven nội thành phố Hội An, tỉnh Quảng Nam.

3.2. Phạm vi nghiên cứu

- Nghiên cứu nguồn nguyên liệu lá và quả điều giả trồng tại tỉnh Quảng Nam
- Nghiên cứu chiết polyphenol từ lá và quả điều giả
- Nghiên cứu ứng dụng polyphenol chiết được làm chất kháng oxi hóa

4. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

4.1. Phương pháp vật lý

- Xác định độ ẩm, nhiệt độ.

- Xác định thời gian cảm ứng (IP) của sự oxi hóa bằng phương pháp cân trọng lượng

- Phổ IR xác định một số nhóm chức đặc trưng của polyphenol.

4.2. Phương pháp hóa học

- Dùng phương pháp chuẩn độ KMnO_4 để xác định hàm lượng polyphenol trong dịch chiết lá và quả điều giả.

- Sử dụng phương pháp Ferry cyanure để xác định hàm lượng đường tổng trong dịch chiết lá và quả điều giả

- Xác định hàm lượng protein bằng phương pháp Kjendahl

- Xác định sự thay đổi chỉ số peroxyt của dầu phụng thô và dầu phụng có bổ sung polyphenol được chiết từ lá và quả điều giả.

5. Ý NGHĨA KHOA HỌC VÀ THỰC TIỄN CỦA ĐỀ TÀI

5.1. Ý nghĩa khoa học

5.2. Ý nghĩa thực tiễn

6. CẤU TRÚC LUẬN VĂN

Mở đầu

Chương 1 : Tổng quan tài liệu, gồm 15 trang.

Chương 2: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu, gồm 6 trang.

Chương 3: Kết quả và thảo luận, gồm 32 trang.

Kết luận và kiến nghị

Chương 1**TỔNG QUAN TÀI LIỆU****1.1. GIỚI THIỆU CHUNG VỀ CÂY ĐIỀU**

1.1.1. Đặc điểm sinh thái của cây điều

1.1.2. Thành phần hóa học

1.2. GIỚI THIỆU CHUNG VỀ POLYPHENOL**1.3. GIỚI THIỆU CHUNG VỀ TANIN**

1.3.1. Khái niệm

1.3.2. Phân loại

1.3.2.1. Tanin thủy phân (tanin pyrogallic)

1.3.2.2. Tanin ngưng tụ (tanin pyrocatechic)

1.3.3. Tính chất

1.3.4. Ứng dụng

**1.4. HOẠT TÍNH KHÁNG OXI HOÁ CỦA HỢP CHẤT
POLYPHENOL**

1.4.1. Quá trình oxi hóa chất béo

1.4.2. Cơ chế quá trình oxi hóa

1.4.3. Sự kháng oxi hoá

1.5. PHƯƠNG PHÁP CHIẾT TÁCH POLYPHENOL

1.5.1. Khái niệm

1.5.2. Dung môi

1.5.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết tách

**1.6. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VÀ ỨNG DỤNG HOẠT TÍNH
KHÁNG OXY HOÁ CỦA HỢP CHẤT POLYPHENOL****1.7. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU QUẢ ĐIỀU GIẢ TRÊN THỂ
GIỚI VÀ TRONG NƯỚC**

Chương 2**ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU****2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU**

2.1.1. Nguyên liệu

2.1.2. Hoá chất thí nghiệm

2.1.3. Phương tiện thí nghiệm

2.1.3. Phương tiện thí nghiệm

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Phương pháp vật lí

2.2.2. Phương pháp hoá học

2.2.2.1. Phương pháp xác định hàm lượng polyphenol

2.2.2.2. Phương pháp xác định chỉ số acid (AV)

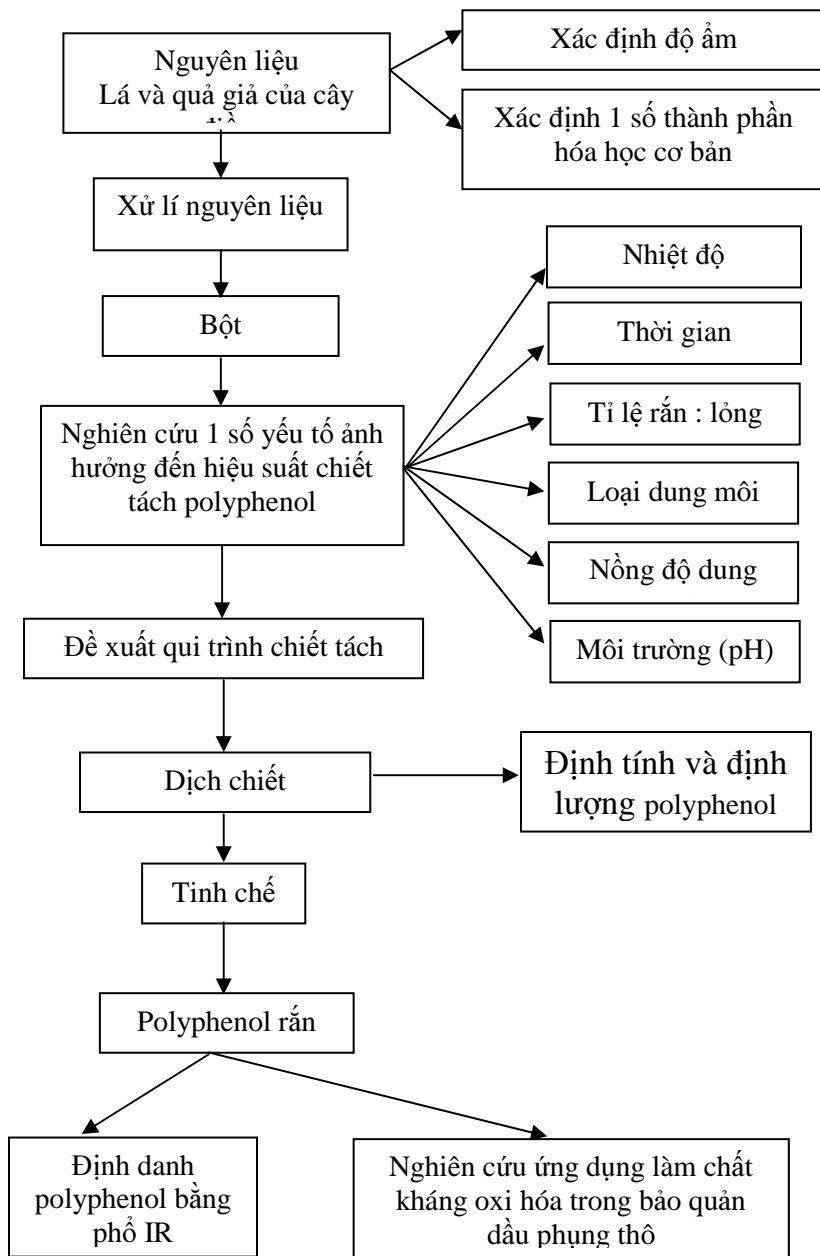
2.2.2.3. Phương pháp xác định chỉ số peroxyt (PV)

2.2.2.4. Phương pháp xác định hàm lượng đường tổng

2.2.2.5. Xác định hàm lượng đạm tổng

2.2.2.6. Xác định hàm lượng cellulose

2.3. Sơ đồ tiến hành thực nghiệm



Hình 2.1. Sơ đồ tiến hành thực nghiệm

Chương 3
KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. XÁC ĐỊNH MỘT SỐ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CƠ BẢN CỦA DỊCH CHIẾT LÁ VÀ QUẢ ĐIỀU GIẢ

Bảng 3.1 Một số thành phần hóa học cơ bản của lá và quả điều giả

STT	Thành phần	Quả điều giả (%)	Lá điều (%)
1	Độ ẩm	88,5	74,2
2	Đường	8,67	3,57
3	Protein	0,94	2,39
4	Cellulose	2,53	5,3
5	Polyphenol	11,7	17,7

Từ kết quả trên cho thấy:

- Nguyên liệu có độ ẩm khá cao và độ ẩm của quả giả lớn hơn so với độ ẩm của lá (quả giả 88,5% và lá 74,2%). Điều này sẽ gây ảnh hưởng không tốt đến quá trình chiết tách polyphenol.

+ Hàm lượng ẩm lớn làm sự chênh lệch nồng độ giữa hai pha giảm, ngăn cản sự dịch chuyển của dung môi thâm sâu vào trong nguyên liệu, làm chậm quá trình khuếch tán của các phân tử chất tan vào dung môi và kết quả làm giảm tốc độ của quá trình chiết tách.

+ Nguyên liệu tươi có hàm lượng ẩm cao sẽ làm giảm nồng độ dung môi chiết tách đã chọn, ảnh hưởng đến hiệu suất chiết tách.

Vì vậy, để làm giảm ảnh hưởng của nước đến hiệu suất chiết tách, chúng tôi tiến hành sấy khô nguyên liệu ở 60⁰C trong thời gian

20h. Mặt khác, việc sấy khô nguyên liệu còn góp phần vô hoạt enzym polyphenoloxidase và giúp bảo quản nguyên liệu trong thời gian dài.

- Protein không có lợi cho quá trình chiết tách vì dễ kết hợp với polyphenol tạo ra các muối phức không tan, tuy nhiên hàm lượng protein không đáng kể (trong quả điều giả chỉ có 0,94% và lá 2,39%). Vì vậy sự hiện diện của chúng không ảnh hưởng đáng kể đến quá trình chiết tách polyphenol.

- Cellulose là thành phần chính trong tế bào thực vật, có vai trò bảo vệ cho tế bào thực vật. Cellulose không tan trong nước và trong đa số dung môi hữu cơ nên có ảnh hưởng đến quá trình khuếch tán của dung môi vào trong nguyên liệu. Để khắc phục điều này, trong nghiên cứu chúng tôi tiến hành xay nhỏ nguyên liệu. Quá trình này không những tăng diện tích tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi mà còn giúp cắt mạch cấu trúc tế bào, thúc đẩy quá trình tiếp giữa nguyên liệu và dung môi.

- Đường trong quả giả có hàm lượng lớn (8,67%), trong lá ít hơn (3,57%) nhưng không phải là nguyên nhân hợp phần làm ảnh hưởng đến quá trình chiết tách polyphenol. Trong dịch chiết quả sau khi thu hồi polyphenol có chứa lượng đường lớn, nếu thải ra môi trường sẽ gây ô nhiễm. Trong dịch chiết quả điều giả ngoài đường còn có nhiều loại khoáng (Ca, P, Fe), vitamin (A, B₁, C, PP) rất thích hợp để nuôi sinh khối vi sinh vật, tận dụng làm thức ăn gia súc. Dịch sau quá trình nuôi sinh khối chứa các chất hữu cơ với hàm lượng không đáng kể, có thể thải trực tiếp ra môi trường mà không gây ô nhiễm.

- Polyphenol có 11,7% trong quả điều giả và 17,7% trong lá điều. Hàm lượng polyphenol tương đối lớn nhưng lại chưa được khai thác đúng mức, gây lãng phí lớn. Vì vậy, chúng tôi chọn polyphenol là đối tượng chiết tách để khắc phục sự lãng phí như đã biết.

3.2. ĐỊNH TÍNH POLYPHENOL NHÓM TANIN

3.2.1. Định tính chung

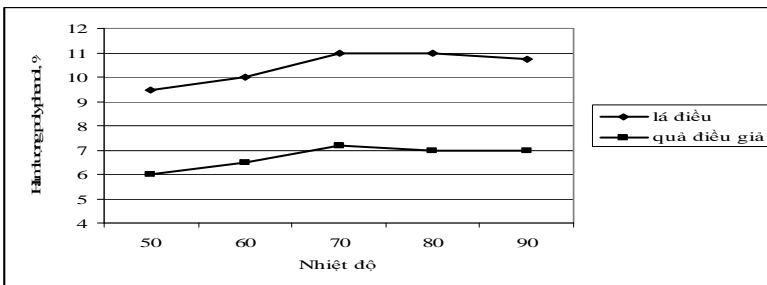
3.2.2. Định tính phân biệt hai loại tanin

Trong lá điều có chứa cả hai loại tanin pyrocatechic và tanin pyrogalic, trong quả điều giã chỉ chứa tanin pyrocatechic. Điều này chứng minh tanin là polyphenol chính có trong lá và quả điều giã.

3.3. NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN HIỆU SUẤT CHIẾT TÁCH POLYPHENOL TỪ LÁ VÀ QUẢ ĐIỀU GIÃ

3.3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Kết quả thu được ở phần phụ lục mục 2, phần 2.6 và đồ thị 3.1



Đồ thị 3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất chiết polyphenol

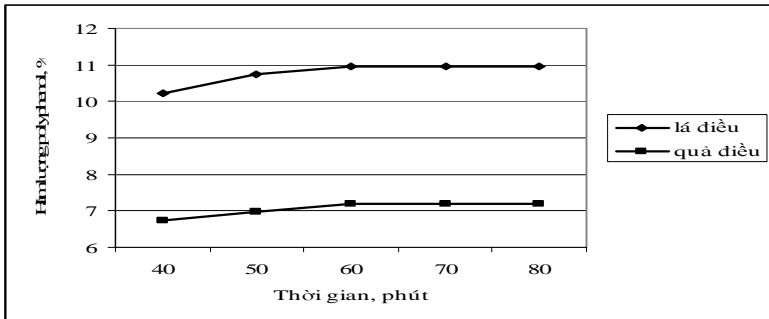
Dựa vào đồ thị có thể thấy hàm lượng polyphenol thu được ở các nhiệt độ khác nhau thì khác nhau. Khi tăng nhiệt độ hàm lượng polyphenol tăng, đạt cực đại ở 70°C (lá 10,97% và quả 7,2%). Nếu tiếp tục tăng nhiệt độ thì hàm lượng này lại giảm nhẹ, tại 90°C thì hàm lượng polyphenol trong lá chỉ còn 10,72% và quả là 6,98%.

Điều này có thể giải thích như sau : Khi tăng nhiệt độ thì tốc độ chuyển động của các phân tử dung môi tăng, làm tăng hiệu quả thẩm thấu của dung môi vào tế bào nguyên liệu, kết quả các phân tử hòa tan bị rút ra một cách triệt để hơn, làm tăng hiệu suất chiết tách. Nhưng nếu nhiệt độ cao có thể kéo theo nhiều tạp chất không mong muốn đồng

thời gây biến đổi một số polyphenol làm hiệu suất chiết tách giảm. Nhìn chung hàm lượng polyphenol thu được tương đối cao ở 70°C – 80°C , điều này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu đã được công bố trong và ngoài nước. Vì vậy trong nghiên cứu này chúng tôi chọn nhiệt độ 70°C , đảm bảo hiệu suất chiết polyphenol thu được là cao nhất.

3.3.2. Ảnh hưởng của thời gian

Kết quả thu được ở phần phụ lục mục 2, phần 2.7 và đồ thị 3.2 sau:



Đồ thị 3.2. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất chiết polyphenol

Đồ thị 3.2 cho thấy sự phụ thuộc hàm lượng polyphenol trong dịch chiết vào thời gian. Từ 40 phút đến 60 phút thì thời gian và hàm lượng polyphenol tăng tuyến tính và đạt cực đại ở 60 phút (lá 10,97% và quả 7,2%). Nhưng từ 60 đến 80 phút thì hàm lượng này gần như không đổi với cả lá và quả.

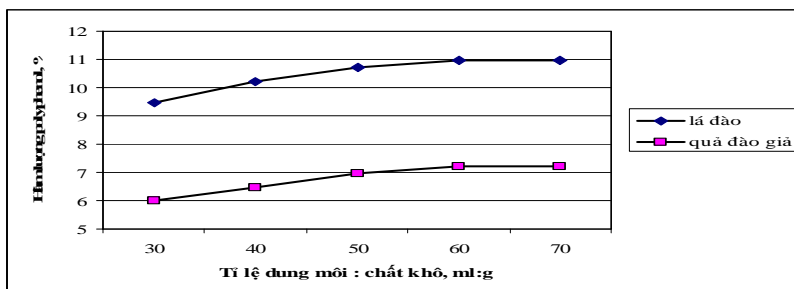
Qua đây có thể thấy thời gian có ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu quả chiết tách polyphenol. Khi hiệu suất đã đạt cực đại ở 60 phút thì việc kéo dài thời gian chiết là không cần thiết.

Về mặt lý thuyết thời gian chiết càng lâu thì chiết càng triệt để, các cấu tử hoà tan khuếch tán vào dung môi tốt, hàm lượng thu được sẽ cao. Tuy nhiên, mỗi liên hệ tăng tuyến này chỉ trong một giới hạn thời gian nhất định. Bởi vì, nếu kéo dài thời gian chiết quá lâu có thể làm

thay đổi một số cấu tử cần chiết, xảy ra những phản ứng biến đổi không mong muốn làm thất thoát hàm lượng chất, vừa tạo điều kiện cho tạp chất cũng bị hòa tan, gây bất lợi cho công đoạn tinh chế và đặc biệt là không mang lại hiệu quả kinh tế cao. Vì vậy, chúng tôi chọn thời gian chiết tối ưu là 60 phút cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.3.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi : nguyên liệu khô, ml/g

Kết quả thu được ở phần phụ lục mục 3.3 và đồ thị 3.3



Đồ thị 3.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi: nguyên liệu khô đến hiệu suất chiết polyphenol

Qua đồ thị 3.3 cho thấy, khi tỉ lệ dung môi : chất khô tăng lên thì hiệu suất chiết polyphenol cũng tăng theo và đạt cực đại ở tỉ lệ 60 : 1, ml:g (lá : 10,97% và quả 7,2%). Sau đó, tỉ lệ tăng lên 70 :1, ml:g thì hiệu suất vẫn không đổi.

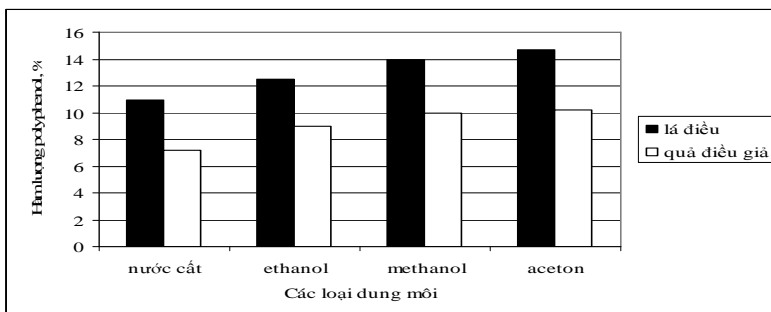
Điều này có thể giải thích như sau : Lượng dung môi sử dụng phải đủ để thiết lập cân bằng nồng độ các chất polyphenol trong và ngoài tế bào. Nếu lượng dung môi sử dụng ít thì sự chênh lệch nồng độ thấp làm hiệu quả chiết kém. Nếu lượng dung môi sử dụng lớn sẽ giúp hòa tan triệt để lượng polyphenol trong nguyên liệu làm hiệu suất chiết tăng. Tuy nhiên, việc tăng tỉ lệ dung môi khi đã đạt mức độ chiết cao nhất sẽ kéo theo nhiều bất cập như tiêu hao năng lượng, kéo dài thời

gian, gây khó khăn cho quá trình tinh chế sản phẩm, ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế.

Để đảm bảo hiệu suất chiết polyphenol trong lá và quả điều giả là cao nhất, trong nghiên cứu này, chúng tôi chọn tỉ lệ dung môi : chất khô là 60 : 1, ml:g.

3.3.4. Ảnh hưởng của loại dung môi

Kết quả thu được ở phần phụ lục 3.4 và đồ thị 3.4



Đồ thị 3.4. Ảnh hưởng của loại dung môi đến hiệu suất chiết polyphenol

Theo đồ thị cho thấy, hiệu suất chiết tách polyphenol từ cả hai loại nguyên liệu lá điều và quả điều giả được sắp xếp theo trình tự tăng dần như sau:

Nước cất < ethanol < methanol < acetone

Dung môi nước cất cho hiệu suất chiết tách polyphenol là bé nhất (lá 10,97% , quả 7,2%) và dung môi acetone cho hiệu suất cao nhất (lá 14,72% và quả 10,23%). Điều này hoàn toàn phù hợp với những nghiên cứu đã được công bố của nhiều tác giả. Theo nghiên cứu của Ann E. Hagerman (1987) đã tiến hành chiết polyphenol từ các loại cây với hai loại dung môi methanol và acetone. Kết quả khẳng định khi sử dụng dung môi acetone cho

hiệu suất chiết polyphenol cao hơn hẳn so với dung môi methanol. Hay theo nghiên cứu của M.O. Downey và cộng sự (2010) khi so sánh hiệu quả chiết tanin trong quả nho của hai loại dung môi là ethanol và aceton, đã kết luận rằng aceton cho hiệu suất chiết tanin cao hơn ethanol.

Như vậy, việc sử dụng dung môi thích hợp mang tính quyết định đến hiệu suất chiết tách polyphenol. Để lựa chọn dung môi phải đảm bảo các yếu tố: các chất có cấu tạo tương tự nhau sẽ tan tốt trong nhau và khả năng khuếch tán của dung môi vào sâu bên trong lớp nguyên liệu.

Nói đến cấu tạo tương tự nhau thì việc sử dụng các dung môi trên là hoàn toàn phù hợp vì polyphenol là hợp chất phân cực, các dung môi khảo sát cũng phân cực.

Còn khả năng khuếch tán của dung môi phụ thuộc vào bản chất của dung môi như độ nhớt, sức căng bề mặt và khả năng liên kết liên phân tử của dung môi. Khi độ nhớt dung môi càng lớn thì lực nội ma sát càng lớn làm giảm khả năng khuếch tán của dung môi. Nghĩa là dung môi có độ nhớt càng bé thì khả năng khuếch tán càng cao, hiệu suất chiết càng lớn. Cụ thể, trong bốn loại dung môi khảo sát, aceton là dung môi có độ nhớt bé nhất (0,393 cP), tiếp theo là methanol (0,6 cP), nước (1 cP), ethanol (1,2 cP). Như vậy, aceton và methanol cho hiệu suất chiết tách polyphenol cao hơn so với nước và ethanol là hoàn toàn phù hợp. Còn đối với nước và ethanol thì độ nhớt chưa phải là yếu tố quyết định, khả năng khuếch tán của nó còn phụ thuộc vào sức căng bề mặt và liên kết liên phân tử của dung môi. Nếu dung môi có sức căng bề mặt và lực liên kết giữa các phân tử lớn sẽ cản trở dung môi thẩm thấu vào bên trong nguyên liệu do đó làm chậm quá trình lôi kéo các cấu tử ra ngoài. Sức căng bề mặt của nước (72,8 dyn/cm) lớn hơn

ethanol (22,3 dyn/cm) và lực liên kết liên phân của của nước (2,6) cũng lớn hơn ethanol (1,5). Như vậy, dựa vào hai yếu tố này chúng ta có thể giải thích tại sao ethanol có hiệu suất chiết polyphenol lớn hơn nước.

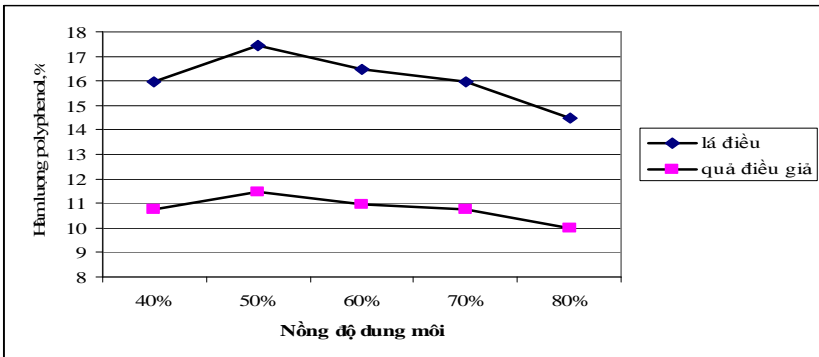
Từ kết quả trên cho thấy, cả bốn loại dung môi đều có khả năng chiết tách polyphenol với những ưu nhược điểm riêng. Nước tuy cho hiệu suất chiết thấp nhất nhưng là dung môi rẻ tiền, dễ kiếm, công đoạn tinh chế đơn giản. Sử dụng dung môi nước có thể là lựa chọn mang giải pháp kinh tế. Còn ethanol, methanol, aceton tuy cho hiệu suất cao hơn, nhiệt độ bay hơi lại thấp hơn nước tiết kiệm được năng lượng nhưng trong quá trình chiết sẽ kéo theo tạp chất không mong muốn, gây khó khăn cho công đoạn tinh chế sản phẩm.

Vì mỗi loại dung môi đều có ưu nhược điểm riêng, nên việc sử dụng dung môi sẽ tùy thuộc vào mục đích chiết tách polyphenol.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng chế phẩm để làm chất kháng oxi hoá bảo quản thực phẩm nên độ tinh sạch và an toàn của chế phẩm phải được đảm bảo. Vì vậy, chúng tôi lựa chọn dung môi ethanol làm dung môi cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.3.5. Ảnh hưởng nồng độ dung môi

Kết quả thu được ở phần phụ lục 3.5 và đồ thị 3.5



Đồ thị 3.5. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hiệu suất chiết tách polyphenol

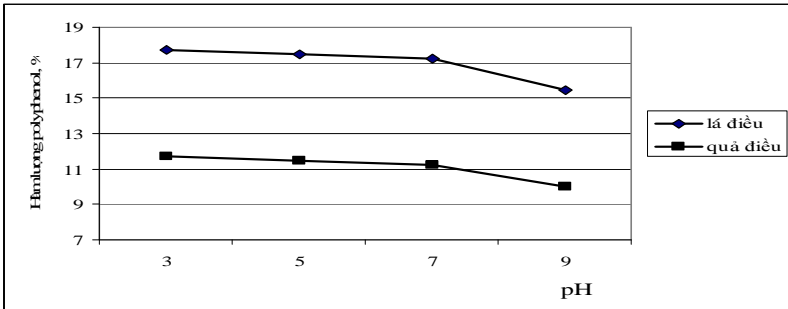
Qua đồ thị 3.5 cho thấy nồng độ dung môi ethanol khác nhau thì hiệu suất chiết polyphenol khác nhau rõ rệt. Khi nồng độ ethanol 50% thì hàm lượng polyphenol thu được là cực đại (lá :17,46% và quả 11,47%). Nếu tiếp tục tăng nồng độ thì hiệu suất chiết lại giảm dần.

Điều này có thể giải thích như sau: Nồng độ dung môi càng cao, tính phân cực càng lớn nên ngoài hợp chất polyphenol thì các tạp chất cũng bị kéo theo nhiều hơn nên hàm lượng chất cần chiết bị giảm sút.

Dựa vào kết quả khảo sát, chúng tôi chọn nồng độ ethanol là 50% để đảm bảo hiệu suất chiết polyphenol là lớn nhất

3.3.6. Ảnh hưởng của môi trường (pH)

Kết quả thu được ở phần phụ lục 3.6 và đồ thị 3.6

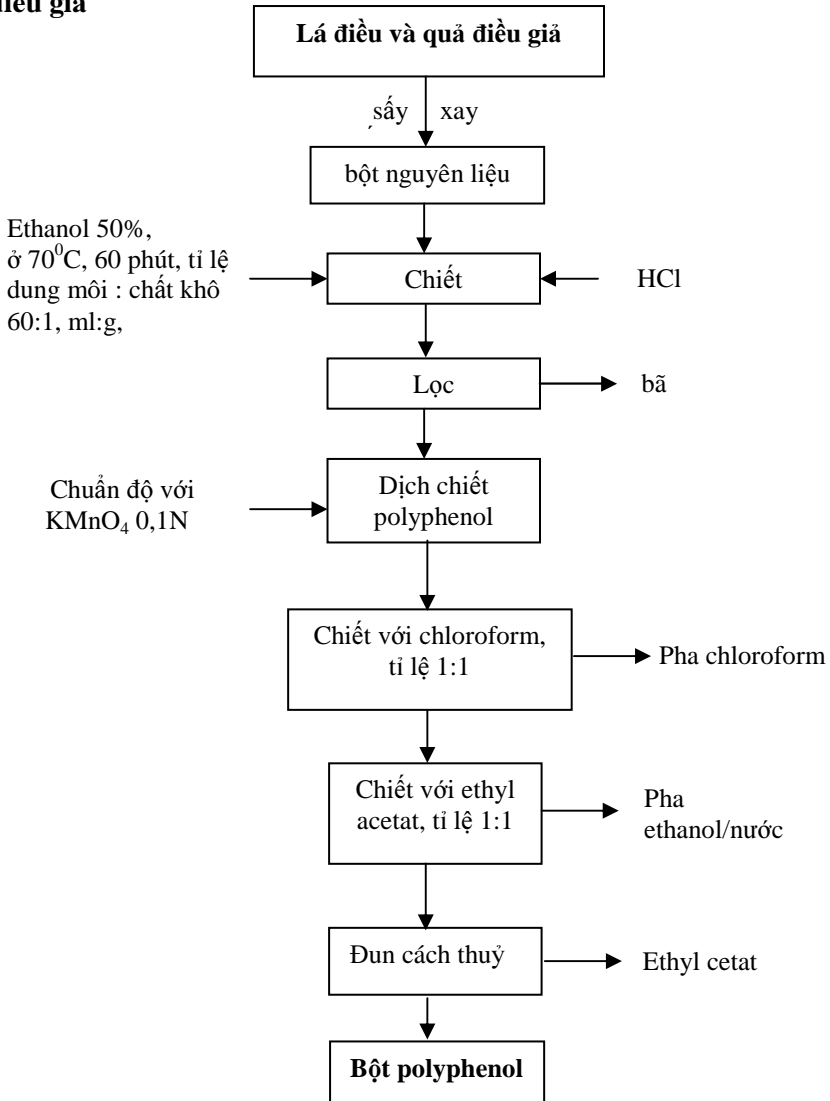


Đồ thị 3.6. Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất chiết tách polyphenol

Vậy để đảm bảo hiệu suất chiết cao nhất đồng thời làm giảm quá trình oxy hoá polyphenol, chúng tôi chọn giá trị pH tối ưu là 3.

Qua những nghiên cứu trên, chúng tôi đã xác định được các điều kiện chiết tách polyphenol trong lá và quả điều giả với hiệu suất cao nhất theo qui trình đề xuất hình 3.

3.4. Đề xuất qui trình chiết và tinh chế polyphenol từ lá và quả điều giả điều giả



Hình 3.7. Sơ đồ qui trình chiết và tinh chế polyphenol từ lá và quả điều giả

Thuyết minh quy trình

Trong lá và quả điều giả có mặt enzym polyphenoloxydase, nếu không vô hoạt chúng sẽ ảnh hưởng đến chất lượng polyphenol thu được. Vì vậy, trước khi chiết, phải thực hiện công đoạn diệt men để làm mất hoạt tính của enzym polyphenoloxydase. Có hai phương pháp chính để vô hoạt enzym là hấp bằng hơi nước và sấy. Trong nghiên cứu này tôi chọn phương pháp sấy ở nhiệt độ 60°C trong 20h vì độ ẩm của nguyên liệu khá lớn, nếu dùng phương pháp hấp sẽ làm tăng độ ẩm ảnh hưởng đến hiệu suất chiết tách.

Sau khi thực hiện công đoạn diệt men để ức chế enzym polyphenoloxydase, nguyên liệu sẽ được xay nhỏ thành dạng bột nhằm tăng diện tích tiếp xúc với dung môi trong quá trình chiết tách đồng thời thuận lợi cho công tác bảo quản.

Cân chính xác 1 gam bột nguyên liệu cho vào bình chiết. Tiếp tục cho vào 60 ml dung môi ethanol 50%, thêm ít HCl để tạo môi trường axit ($\text{pH}=3,7$). Sau đó, lắp đặt thiết bị ở 70°C và chiết trong 60 phút. Dịch chiết thu được mang đi lọc. Dịch lọc thu được sử dụng để chuẩn độ với KMnO_4 0,1N có chất chỉ thị indigocarmin để xác định hàm lượng polyphenol có trong dịch.

Dịch chiết thu được với dung môi ethanol có nồng độ polyphenol thấp nên không thuận lợi cho quá trình bảo quản và sử dụng. Vì vậy để đưa vào ứng dụng thực tế, chúng tôi tiến hành tinh chế dịch chiết thô này để đưa chế phẩm về dạng bột.

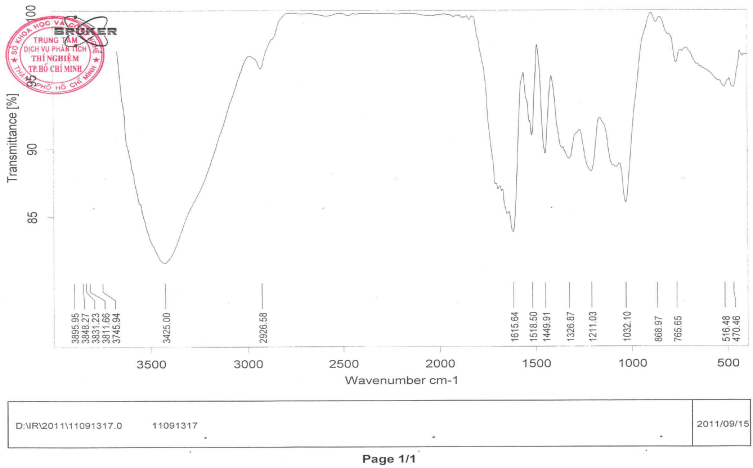
Tinh chế dịch chiết bằng chloroform và ethyl acetat theo các công đoạn sau

Chloroform không hoà tan các hợp chất polyphenol nhưng hoà tan tốt các hợp chất màu và các thành phần ưa béo. Vì vậy, trong công đoạn này chúng tôi chọn dung môi chloroform để tinh chế. Lấy dịch chiết cho vào phễu chiết, sau đó thêm chloroform theo tỉ lệ 1:1 (v/v), đậy nắp, lắc mạnh vài lần. Chloroform sẽ trộn lẫn với dịch chiết và thực hiện tách loại tạp chất. Sau khi để yên bình trong thời gian nhất định thì chloroform sẽ tách pha và phân thành hai lớp rõ rệt. Do pha ethanol-nước nhẹ hơn nên nổi lên trên, còn pha Chloroform và tạp chất nằm phấp dưới. Gạn chiết bỏ lớp chloroform có màu xanh nhạt ở phía dưới, thu được pha ethanol – nước có màu vàng nhạt. Có thể tiến hành thêm một lần nữa để việc tách loại tạp chất triệt để hơn.

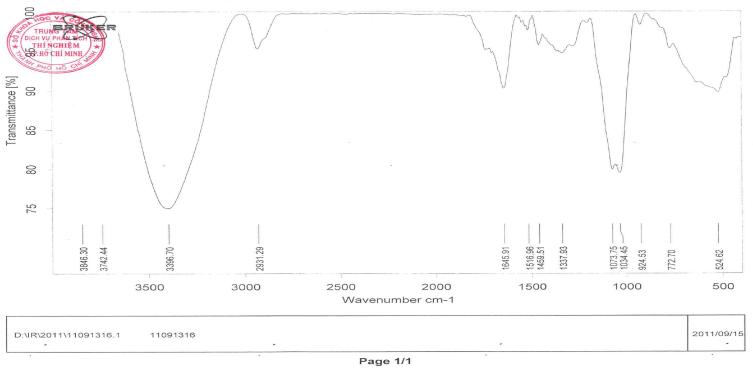
Ethyl acetat hoà tan tốt các hợp chất polyphenol, nhờ đó có thể loại bỏ một số tạp chất có độ phân cực lớn như đường, protein. Quy trình chiết tách hai pha lỏng – lỏng như trên, lượng dung môi ethyl acetat sử dụng cũng theo tỉ lệ 1 :1 (v/v). Nhưng lớp dung môi ethyl acetat màu vàng có hoà tan polyphenol nằm phía trên còn lớp dung môi ethanol có màu vàng đậm hơn nằm phía dưới. Sau khi thu được dịch chiết ethyl acetat tiến hành chiết tách chuyển pha thêm hai lần nữa để tách triệt để các tạp chất.

Cho dịch ethyl acetat có chứa polyphenol vào bình cầu, đun cách thuỷ đuổi hết dung môi, thu được polyphenol dạng bột màu vàng nâu.

3.5. ĐỊNH DANH POLYPHENOL BẰNG PHỔ HỒNG NGOẠI IR



Hình 3.8. Phổ hồng ngoại của polyphenol chiết trong lá điều



Hình 3.9. Phổ hồng ngoại của polyphenol chiết trong quả điều già

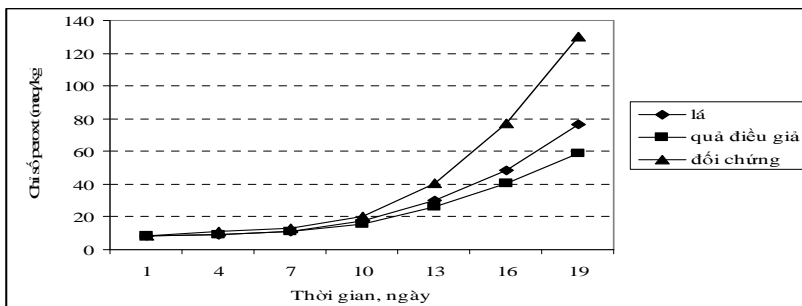
3.6. KHẢO SÁT DẦU PHỤNG THÔ BAN ĐẦU

Bảng 3.6. Chỉ số acid và chỉ số peroxyt của dầu phụng thô ban đầu

Chỉ số	Chỉ số axit (mgKOH/g)	Chỉ số peroxyt (meq/kg)
Giá trị đo		
Dầu phụng thô	1,12	8,03

3.7. THẨM ĐO ỨNG DỤNG KHẢ NĂNG KHÁNG OXI HOÁ CỦA HỢP CHẤT POLYPHENOL CHIẾT TÁCH TỪ LÁ VÀ QUẢ ĐIỀU GIẢ TRONG BẢO QUẢN DẦU PHỤNG THÔ BẰNG PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ PEROXYT

Kết quả thu được ở phần phụ lục 2 và đồ thị 3.7



Đồ thị 3.7 : Sự thay đổi chỉ số peroxyt của các mẫu dầu phụng thô có bổ sung các chất kháng oxy hoá theo thời gian

Mẫu có polyphenol quả > Mẫu có polyphenol lá > Mẫu đối chứng

Tóm lại, hàm lượng polyphenol trong lá điều lớn hơn trong quả điều giả nhưng khả năng kháng oxy hoá thì polyphenol trong quả giả tốt hơn trong lá. Bên cạnh đó, quả điều giả là sản phẩm bỏ đi, nên việc khai thác và ứng dụng polyphenol trong quả giả sẽ mang lại lợi ích kinh tế lớn hơn.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. KẾT LUẬN

Qua quá trình nghiên cứu các điều kiện chiết tách polyphenol từ lá và quả điều già, ứng dụng hợp chất polyphenol thu được làm chất kháng oxy hoá bảo quản dầu phụng thô, chúng tôi đã thu được một số kết quả như sau:

- Xác định thành phần hóa học của lá và quả điều già thu gom ở các xã ven nội thành Hội An, tỉnh Quảng Nam

+ Lá điều : Nước (74,2%); protein (3,9%); đường (3,57%); cellulose (5,3%), polyphenol (17,7%).

+ Quả điều già : Nước (88,5%); protein (0,94%); đường (8,67%); cellulose (2,48%), polyphenol (11,7%).

- Định tính polyphenol có trong lá và quả điều già thuộc nhóm tanin

+ Lá điều: có hai loại tanin tanin ngưng tụ và tanin thủy phân

+ Quả điều già : có tanin ngưng tụ

- Đề xuất qui trình chiết tách polyphenol từ lá và quả điều già bằng dung môi ethanol/ nước với các thông số sau:

+ Nồng độ ethanol : 50%

+ Thời gian chiết : 60 phút

+ Nhiệt độ : 70⁰C

+ Tỷ lệ dung môi : chất khô : 60 : 1, ml/g

+ pH : 3

Với điều kiện chiết đã chọn như trên thì hiệu suất chiết polyphenol đạt

+ Lá điều : 17, 7%

+ Quả điều già : 11,7%

- Định danh được một số nhóm chức đặc trưng của polyphenol chiết từ lá và quả điều giả bằng phổ hồng ngoại IR

+ Lá điều : nhóm -OH (3295,8 ; 3215,8) ; nhóm C=O (1603,4 ; 1500,4) ; nhóm =C-O-C (1085; 1015,8) ; nhóm C-H biến dạng (874,9)

+ Quả điều giả : nhóm -OH (3373,4) ; nhóm C=O (1664,6) ; nhóm C=C thơm (1522,9 ; 1401,4) ; nhóm =C-O-C (1196) ; nhóm -C-O-C (1027,5) ; nhóm C-H biến dạng (777,5).

- Ứng dụng hợp chất polyphenol chiết được từ lá và quả điều giả trong bảo quản dầu phụng thô cho kết quả như sau:

+ Polyphenol trong lá và quả điều giả đều có khả năng kháng oxi hóa bảo quản dầu phụng thô.

+ Khả năng kháng oxi hóa trong bảo quản dầu phụng thô của quả điều giả tốt hơn so với lá điều.

2. KIẾN NGHỊ

Vì điều kiện nghiên cứu còn nhiều hạn chế nên một số hướng nghiên cứu mở rộng đề tài chưa được thực hiện. Do đó, chúng tôi xin đề xuất các hướng phát triển và mở rộng đề tài như sau:

- Nghiên cứu sử dụng lượng đường còn trong nước thải quả điều giả để nuôi sinh khối vi sinh vật dùng làm thức ăn cho gia súc.

- Phân lập các cấu tử có trong polyphenol của lá và quả điều giả.

- Kiểm tra dư lượng của các chất sử dụng khi tinh chế dịch chiết polyphenol để đảm bảo sự an toàn cho người sử dụng.