

TÁCH TINH DẦU VÀ CAROTENOID TỪ LÁ TRẦU (*Piper betle* L.)

EXTRACTING ESSENTIAL OILS AND CAROTENOIDES FROM *PIPER BETLE* L. (*PIPERACEAE*)

Nguyễn Thị Lý và Trần Thị Hồng Vân

Khoa Công nghệ Hoá học, Đại học Bách Khoa, Tp Hồ Chí Minh, Việt Nam

TÓM TẮT

Tinh dầu và carotenoid đã được sử dụng rất nhiều trong kỹ nghệ mỹ phẩm và thực phẩm. Nguồn nguyên liệu chính để sản xuất ra hai sản phẩm này thường là các loại cây cỏ. Nghiên cứu này sử dụng nguyên liệu là lá Trầu. Tinh dầu được tách ra bằng phương pháp chưng cất theo hơi nước có hương thơm mạnh và dễ chịu. Bã trầu được xà phòng hóa và trích chiết với ê te dầu hỏa. Sản phẩm sau khi tinh chế có nhiều triển vọng là β -caroten.

ABSTRACT

Essential oils and carotenoides have used very much in the cosmetic and food industry. The main source of material providing two these products is plant. The material in this work was *Trau* leaves. Oil is separated by steam distillation. It possesses fine and strong aroma. The residue is saponified then extracted with petroleum ether. The purified compound can be β -caroten.

1. GIỚI THIỆU:

Từ thời cổ xưa, người Việt đã biết sử dụng lá trầu cho nhiều mục đích khác nhau như truyền thống nhai trầu để hơi thở được thơm tho, hàm răng chắc khỏe. Lá trầu ngâm trong nước sôi dùng nhỏ mắt để chữa bệnh viêm kết mạc, bệnh chàm mắt. Các nghiên cứu gần đây phát hiện tính chất kháng sinh của nguyên liệu này. Lá trầu chứa tinh dầu, các sắc tố lục, vàng... Tinh sần trích ra, bã còn lại sử dụng tách carotenoid để sử dụng hiệu quả hơn loại nguyên liệu này.

Kết quả nghiên cứu đề tài đáng khích lệ. Sản phẩm thu được ngoài tinh dầu còn có carotenoid tinh thể hình kim màu vàng có vài tính chất hóa lý tương tự β - caroten. Quy trình tách và tinh chế carotenoid không phức tạp như các nguồn nguyên liệu khác sử dụng để tách β - caroten.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Nguyên liệu :

Trầu còn gọi là trầu không có tên khoa học là *Piper betle* L. , thuộc họ hồ

tiêu (*Piperaceae*) chỉ được trồng rải rác để thu hoạch lá.

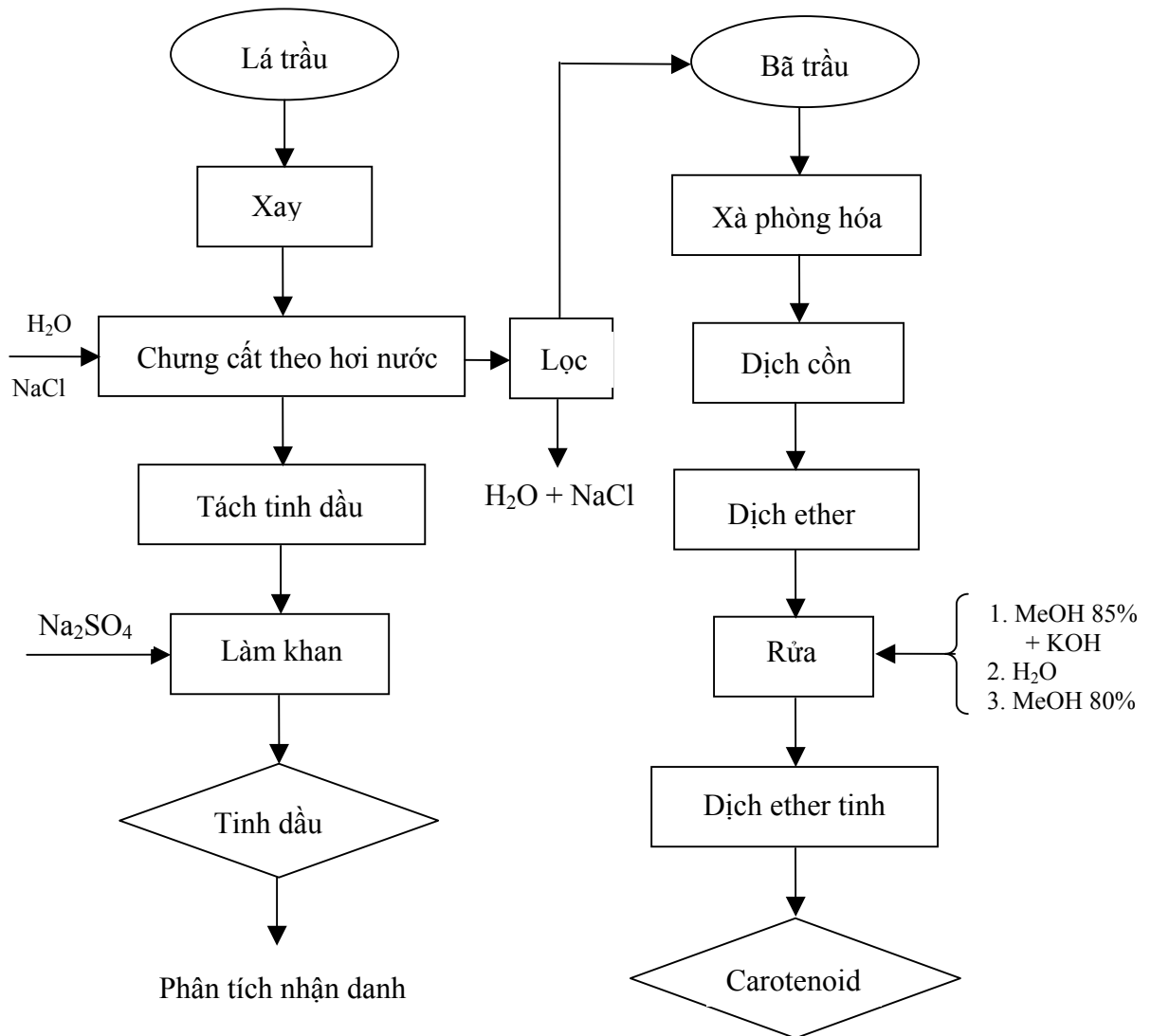
2.2 Phương pháp:

Lá trầu tươi đem chưng cất theo hơi nước tách tinh dầu. Bã đen xà phòng hóa với dung dịch NaOH trong cồn. Trích carotenoid trong dịch cồn bằng ete dầu. Dịch ete dầu đem tinh chế bằng cách rửa tuần tự với hỗn hợp MeOH 85% bão hòa KOH, rửa nước, rửa bằng CH₃OH 80%. Cặn dịch ete dầu sản phẩm là các tinh thể carotenoid hình kim màu vàng.

Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tách chiết carotenoid được khảo sát là: thời gian, lượng kiềm, thể tích cồn sử dụng để xà phòng hóa bột lá, lượng ete dầu để trích carotenoid. Bằng cách đo độ hấp thụ A của dịch ete tại $\lambda = 475\text{nm}$. A càng lớn lượng carotenoid trích được nhiều.

Tinh dầu trầu được phân tích bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS). Tinh thể carotenoid được đo quang phổ hồng ngoại tại trung tâm phân tích thí nghiệm.

2.3 Qui trình thực nghiệm:



2.4 Thuyết minh qui trình:

Cân 200g lá trà xay nhuyễn. Ngâm trong 500ml dung dịch NaCl 10% khoảng ½ giờ. Tiến hành chưng cất theo hơi nước có hồi lưu. Tách tinh dầu. Lọc hỗn hợp. Phần nước dùng cho lần tách tinh dầu mẻ khác. Phần bã đem xà phòng hóa trong dung dịch NaOH /cồn (15g NaOH, 500ml cồn trong 2giờ ở 50°C). Lọc hỗn hợp. Dịch cồn thu được đem cô cạn khoảng 50% thể tích dưới áp suất thấp. Tách chiết carotenoid với ete dầu hỏa (nhiệt độ sôi 45 – 65°C) khoảng 3 lần, mỗi lần 200ml có khuấy trộn khoảng 30 phút ở nhiệt độ thường. Thêm nước vào hỗn hợp để sự phân lớp rõ. Tách dịch ete dầu , rửa sạch kiềm. Rửa dịch ete tuần tự trong hỗn hợp MeOH 85% bão hòa KOH rồi rửa nước và rửa lần nữa với MeOH 80%. Các lần rửa cần khuấy trộn, để lắng tách lớp rõ. Dịch ete qua tinh chế được cô cạn trong chân không. Chất rắn thu được hòa tan trong ete etylic để bốc hơi dung môi tự nhiên có các tinh thể hình kim tạo thành.

2.5 Kết quả:

Tinh dầu thu được khoảng 1,7g đạt hiệu suất 0,8 - 1%. Phần lớn thất thoát do giai đoạn làm khan nước. Kết quả phân tích gồm 19 thành phần trong đó các dẫn suất của phenol có tới 45%

Chất rắn màu vàng thu được 0,3845g. Quan sát quang phổ hồng ngoại rất đơn giản, đồng dạng với phổ - caroten chuẩn.

**KẾT QUẢ PHÂN TÍCH
02121842 – TINH DẦU**

Scan	Định danh	Diện tích pick	%
608	β-pinene	2879177	0.55
657	(+)-2-carene	1900750	0.36
679	eucalyptol	5740599	1.09
706	3-carene	3628399	0.69
747	1,3,6-heptatriene,2,5,6-trimethyl	1929210	0.37

868	p-menth-1-en-4-ol,(r)-(-)-	11851477	2.26
883	p-menth-1-en-8-ol,(s)-(-)-	1499635	0.29
1074	4-allylphenyl acetate	2655974	0.51
1118	phenol,2-methoxy-4-(1-propenyl)-	104023728	19.82
1144	elemene	3022383	0.58
1194	isocaryophyllene	1752411	0.33
1252	γ-cadienene	3521664	0.67
1266	1-h-cyclopenta 1,3 cyclopropa 1,2 benzene octahydro-7-...	1731554	0.33
1278	1.XI.,6.XI.,7.XI.-cadin-4,9-diene	1690891	0.32
1295	phenol,4allyl-2-methoxy-,acetate	104619040	19.94
1304	cadin-3,9-diene	11575608	2.21
1434	4-allyl-1,2-diacetoxybenzene	226729968	43.21
1452	cadinol	11878568	2.26
1468	1- β-cadin-4-en-10-ol	22140574	4.22
	TỔNG CỘNG	524771610	100

2.6 Các yếu tố ảnh hưởng đến qui trình tách chiết carotenoid:

Điều kiện thí nghiệm:

Lá trà: 30g
NaOH: 4g
Cồn: 100ml
Nhiệt độ: 50°C

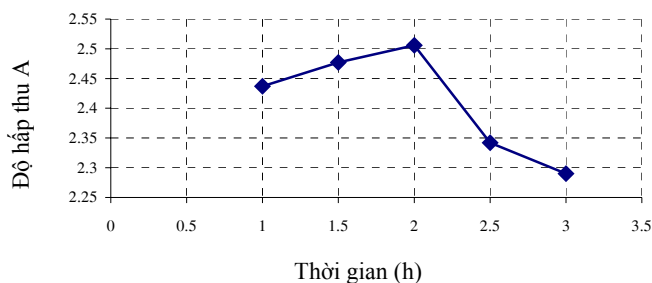
Khảo sát 1 yếu tố thì cố định 3 yếu tố còn lại đo độ hấp thu A tại λ = 475 nm. A càng lớn carotenoid trích được nhiều.

2.6.1. Ảnh hưởng của thời gian xà phòng hóa

Thời gian (h)	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
A	2.437	2.477	2.506	2.342	2.290

Thời gian xà phòng hóa thích hợp từ 1.5 – 2.0h. Khi thời gian quá ngắn, carotenoid còn liên kết chặt chẽ với sáp, với chlorophyll, ...độ hòa tan kém trong ete dầu. Khi thời gian kéo dài, carotenoid có thể bị hư hỏng một phần bởi nhiệt, bởi không khí, cả 2 khoảng này độ hấp thu đều nhỏ.

Ảnh hưởng của thời gian xà phòng hóa



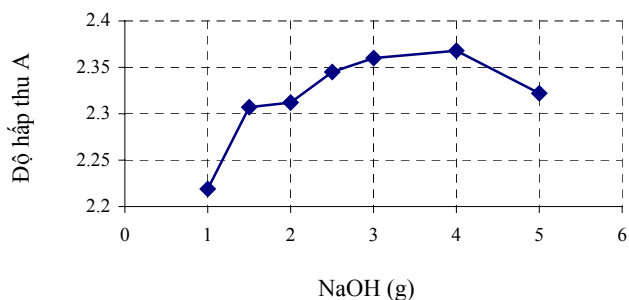
2.6.2. Ảnh hưởng của lượng NaOH

NaOH (g)	1	1.5	2	2.5	3	4
A	2.219	2.307	2.312	2.345	2.360	2.368

Ở nồng độ kiềm lớn có hiện tượng đồng phân hóa carotenoid. Các sản phẩm tạo thành kém bền nên cường độ màu giảm, A giảm.

Ở nồng độ kiềm thấp, sáp, chất béo có mặt trong lá cây chưa được biến đổi vẫn liên kết chặt chẽ với carotenoid nên độ hòa tan của carotenoid thấp trong dung môi ete, A giảm.

Ảnh hưởng của lượng NaOH sử dụng

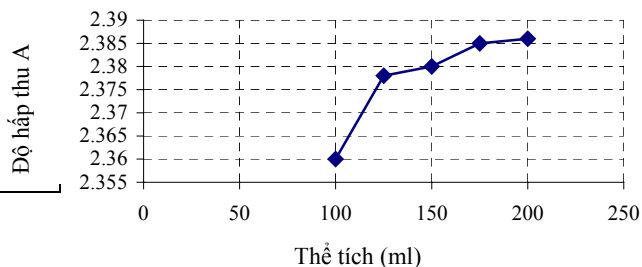


2.6.3. Ảnh hưởng của thể tích cồn

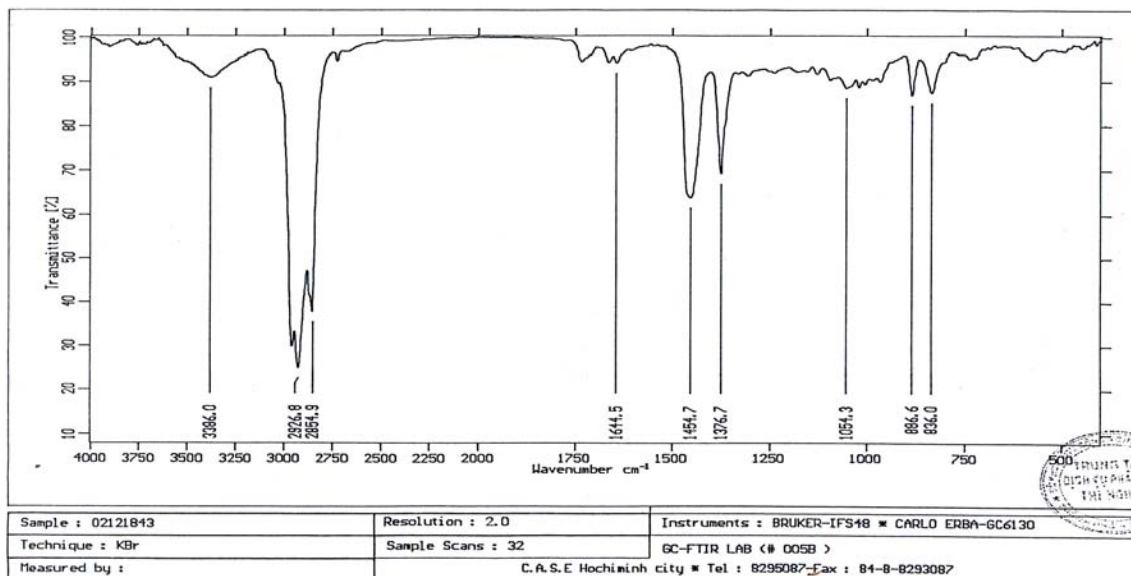
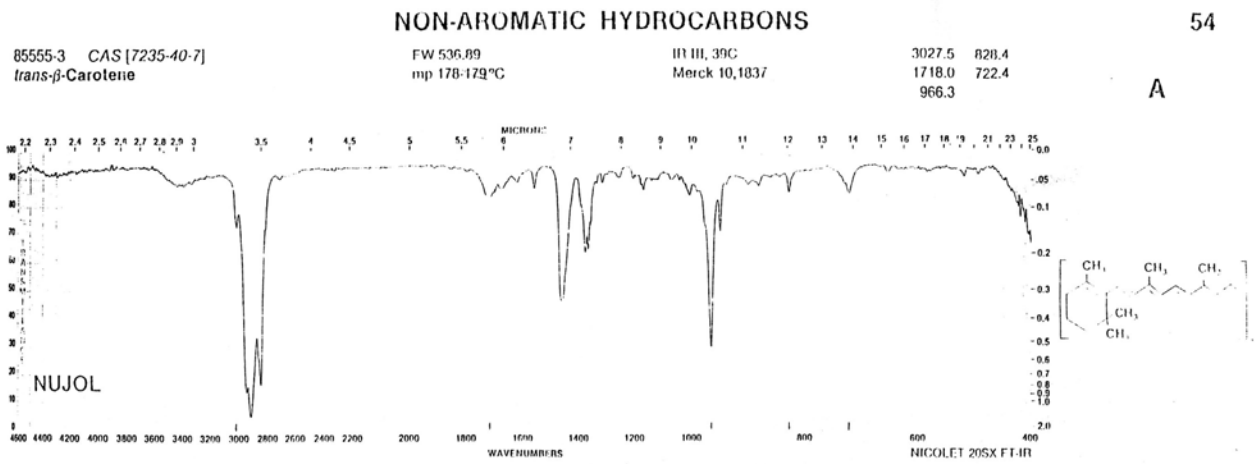
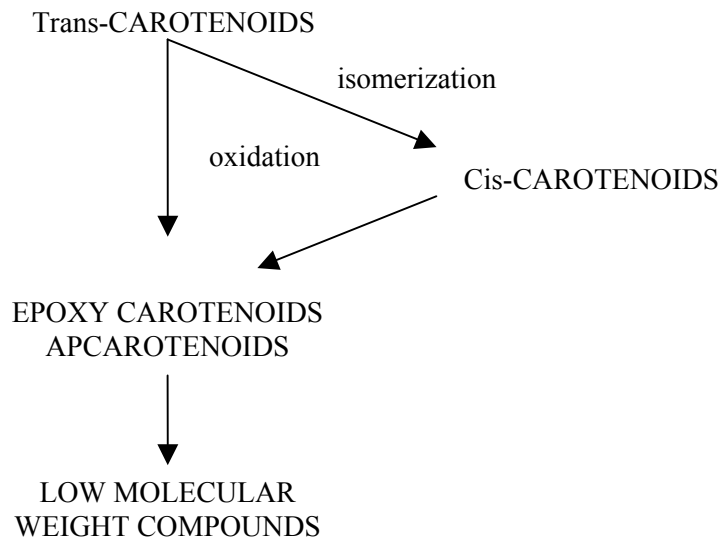
V (ml)	100	125	150	175	200
A	2.360	2.378	2.380	2.385	2.386

Lượng cồn tăng trong hỗn hợp xà phòng hóa thì giai đoạn xà phòng hóa nhanh và tốt hơn. Lượng cồn nhiều làm hòa tan các carotenoid hydrocarbon tự do mới phóng thích nên độ hấp thu tăng lên.

Ảnh hưởng của thể tích cồn sử dụng



Tóm lại, các yếu tố trên đã bị biến đổi bởi các phản ứng đồng phân hóa và oxy hóa sau.

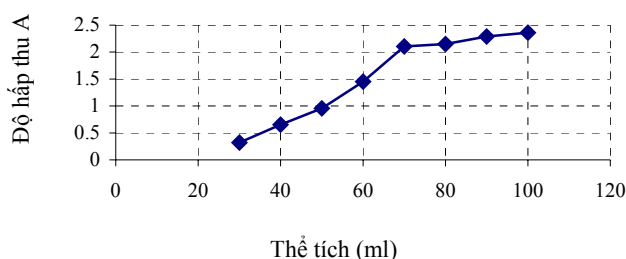


2.6.4. Ảnh hưởng của thể tích ete dầu dùng trích chiết

V (ml)	30	40	50	60	70	80	90	100
A	0.321	0.653	0.956	1.451	2.104	2.150	2.290	2.360

Thể tích ete dầu dùng nhiều sẽ trích chiết được nhiều hơn, carotenoid thu được nhiều hơn. Thể tích ete dầu sử dụng nhỏ, lượng carotenoid thu được nhỏ. Ngoài ra khi đo độ hấp thu, dịch ete còn phải hòa loãng đến V = 100ml nên A đo được khá nhỏ.

Ảnh hưởng của thể tích ete dầu để trích



Vậy điều kiện tách chiết carotenoid thích hợp là:

- Lá trà : 30g
- NaOH : 4g
- Cồn : 200ml
- Ete dầu : 100ml
- Thời gian xà phòng hóa : 1.5 – 2h
- Nhiệt độ phản ứng : 50°C

3. KẾT LUẬN

Lá trà tách được khoảng 0,9 – 1% tinh dầu, 0,19% carotenoid. Sản phẩm này khá tinh khiết, quang phổ IR không phức tạp, đồng dạng với phổ IR của β-caroten. Để kết luận sau cùng cần các phương pháp phân tích hiện đại hơn. Quy trình tách đơn giản hơn, tinh chế sản phẩm không cần thực hiện sắc ký cột. Đây là điều kiện thuận lợi nhất cho các nghiên cứu cũng như áp dụng thực tế để sản xuất carotenoid sau này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi - “*Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*”, 1986

2. Nguyễn Khắc Quỳnh Cư – “*Bài giảng chiết xuất dược liệu*”, Trường Đại học Y – Dược Thành phố Hồ Chí Minh, 1998
3. Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Việt Tựu – “*Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc*”, Nhà xuất bản Y học, chi nhánh Thành phố Hồ Chí Minh, 1985
4. “*Process for purification of Carotene*”, 2, 394, 278 – U.S patent, 1946