

NGHIÊN CỨU TÁCH CHIẾT CHẤT MÀU ANTHOCYANIN TỪ HOA ĐẬU BIẾC (*CLITORIA TERNATEAN*)

TS. Nguyễn Thị Tuyết⁽¹⁾, ThS. Trần Thị Duyên⁽¹⁾

TÓM TẮT

Cây hoa đậu biếc thuộc loại cây thân leo khỏe mạnh, dễ trồng và chăm sóc, chịu được nắng nóng và hạn rất tốt, ít sâu bệnh. Hoa đậu biếc chứa nhiều chất có lợi cho sức khoẻ, đặc biệt có chứa proanthocyanidin là một chất chống oxy hóa. Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất chất màu từ hoa đậu biếc. Trên cơ sở này, chúng tôi xây dựng quy trình chiết tách chất màu hiệu quả và đánh giá sự có mặt của một số hợp chất hữu cơ trong dịch chiết. Bằng phương pháp pH vi sai, đã xác định được các điều kiện thích hợp cho quá trình chiết xuất chất màu anthocyanin là dung môi ethanol 70⁰; tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 10/1 (v/w); thời gian chiết 2 giờ; nhiệt độ chiết 60⁰C; chiết 2 lần. Dung dịch chiết có mặt một số hợp chất hữu cơ: Carbohydrate, Flavonoid, Alkanoid, Steroid-triterpenoid.

Từ khóa: Hoa đậu biếc, anthocyanin, proanthocyanin, chất màu tự nhiên, *Clitoria ternatean*

RESEARCH ON PROCESS OF EXTRACTING ANTHOCYANIN PIGMENTS FROM BLUE BUTTERFLY PEAS.

ABSTRACT

Blue Butterfly Peas (also known as Asian Pigeon wings) are fast and easy growing creepers. They are very heat and drought tolerant plants and suffer less pest damage. Blue Butterfly Pea flowers contain many healthy substances, especially proanthocyanidin, a powerful antioxidant. In this research, we study the factors that affect the process of extracting pigments from these flowers. On this basis, it is recommended an effective pigment extraction procedure and to assess the presence of some organic compounds in the extract. By the method of pH differential, suitable conditions for the extraction of anthocyanin pigment are determined with ethanol solvent of 70%; solvent /material ratio by 10/1 (v/w); extraction time in 2 hours; extraction temperature at 60⁰C; extracted twice. The extract is present in a number of organic compounds: carbohydrates, flavonoids, alkanoids, steroids-triterpenoids.

Keywords: *Blue Butterfly Pea flowers, anthocyanin, proanthocyanin, natural colorant, Clitoria ternatean.*⁷

¹Đại học Bà Rịa – Vũng Tàu

1. MỞ ĐẦU

Anthocyanin, thuộc nhóm flavonoid, là sắc tố trong không bào thực vật, tan trong nước chịu trách nhiệm về màu đỏ sáng, tím hoặc màu xanh của hoa, vỏ, hạt, quả và lá. Nguồn cung cấp anthocyanin chính trong quả ăn được như là nho, anh đào, mận, mâm xôi, dâu tây, táo, đào, việt quất,... Nhóm rau có chứa sắc tố anthocyanin như cà tím, bắp cải tím, tía tô, hoa đậu biếc,... Cường độ và độ bền màu anthocyanin phụ thuộc vào nhiều yếu tố như thành phần cấu trúc, nồng độ chất màu, pH, nhiệt độ, ánh sáng, sự hiện diện của các chất màu khác, ion kim loại, enzyme, oxy, vitamin C, đường và SO₂,... [6], [8].

Bên cạnh các tính năng màu sắc của chúng, anthocyanin gần đây đã thu hút sự quan tâm nhiều hơn, do chúng còn là hợp chất có nhiều hoạt tính sinh học quý cho sức khỏe như khả năng chống oxy hóa, chống dị ứng, chống các tia phóng xạ, chống viêm, chống vi khuẩn, chống đông huyết tạo các bệnh mạch vành và có tác dụng bảo vệ tim mạch và thuốc giãn mạch vành [7], [10].

Anthocyanin không có độc tính và không có bất kỳ giới hạn tối đa cho các ứng dụng trong thực phẩm. Chúng được ứng dụng rộng rãi trong các hoạt động sản xuất công nghiệp, làm màu thực phẩm và chất chỉ thị hàn the [3].

Hiện nay các nghiên cứu về quy trình chiết tách chất màu anthocyanin từ một vài nguyên liệu như hành lá, tỏi tía, cần tây, cần ta đã được thực hiện bởi các tác giả Kiều Thị Nhi, Nguyễn Tuấn Kiệt, Hoàng Thị Ngọc Nhon [4].

Cây hoa đậu biếc còn gọi đậu hoa tím hay bông biếc, tên khoa học *Clitoria*

ternatean, thuộc họ đậu. Cây hoa đậu biếc thuộc loại cây thân leo khỏe mạnh, dễ trồng và chăm sóc, chịu được nắng nóng và hạn rất tốt, phát triển kém ở điều kiện khí hậu lạnh, ít sâu bệnh. Nhiệt độ ưa thích của đậu biếc là từ 20-32°C. Hoa đậu biếc chứa một este và một chất nhựa glycosid. Các thành phần hóa học chính được tìm thấy ở *Clitoria ternatea* là các triterpenoids pentacyclic như taraxerol và taraxerone [12]. Ngoài ra trong hoa đậu biếc còn chứa proanthocyanidin - chất có khả năng chống oxy hoá. Theo đánh giá y học chỉ ra rằng, có thể dùng proanthocyanidin với liều lượng 1mg/kg trọng lượng cơ thể (300mg/ngày) để tăng khả năng chống oxy hoá, bảo vệ tế bào mô ruột kết và hỗ trợ điều trị một số bệnh liên quan đến hệ thần kinh [14]. Việc nghiên cứu chiết xuất chất màu tự nhiên từ hoa đậu biếc hiện chưa được nghiên cứu nhiều.

Xuất phát từ ảnh hưởng có lợi của chất màu anthocyanin nói chung và từ cây hoa đậu biếc đối với sức khỏe con người [9] và các ứng dụng của chúng như sự lựa chọn tiềm năng để thay thế màu sắc tự nhiên trong thực phẩm [11], chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài “Nghiên cứu tách chiết chất màu anthocyanin từ hoa đậu biếc (*Clitoria ternatea*) và ứng dụng trong chế biến một số thực phẩm”.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Nguyên liệu hoa đậu biếc *Clitoria ternatea* có nguồn gốc từ huyện Châu Đức,

tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu. Việc lấy mẫu hoa được tiến hành vào buổi sáng và lựa chọn các hoa có màu tím đậm, cánh hoa còn tươi, độ dài cánh hoa khoảng 4-6 cm. Hoa tươi trước khi sử dụng cho các thí nghiệm được rửa qua nước sạch, để ráo và thái nhỏ 2-3mm. Phương pháp dùng chiết chất màu anthocyanin sử dụng trong toàn bộ nghiên cứu là phương pháp chiết ngâm. Các hóa chất để chiết, chuẩn bị môi trường nuôi cấy vi sinh vật và định tính thành phần cao chiết được mua của Merk, Trung Quốc và Việt Nam, đều đạt độ tinh sạch ở mức phân tích. Cụ thể, hoá chất dùng để chiết và định tính gồm etanol, thuốc thử Liebermann – Burchard, thuốc thử Wagner, FeCl₃, HCl và NaOH. Để nuôi cấy vi sinh vật và thử kháng khuẩn, kháng nấm sử dụng các môi trường MP, TSB, MHA.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát sự ảnh hưởng của dung môi chiết đến khả năng trích ly chất màu từ hoa đậu biếc

Do bột màu sản xuất ra được ứng dụng vào chế biến thực phẩm, đồng thời giúp người sản xuất đơn giản hóa quá trình sản xuất nên đề tài nghiên cứu hướng đến khảo sát những dung môi thường được dùng phổ biến, an toàn và dễ dàng xử lý trong quá trình sản xuất. Dung môi dùng trích ly chất màu: nước và cồn 40°C, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C. Thí nghiệm được bố trí và tiến hành với nhân tố thay đổi là hệ dung môi và 3 lần lặp lại. Việc lựa chọn dung môi dựa trên sự quan sát màu sắc của dịch chiết và hàm lượng anthocyanin thu được trong dịch chiết.

2.2.2. Khảo sát sự ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến khả năng trích ly

Khảo sát khả năng trích ly anthocyanin từ hoa đậu biếc theo các tỉ lệ

của nguyên liệu/ dung môi (g/ml): 1:5, 1:10, 1:10, 1:15, 1:25, từ đó tìm ra tỷ lệ dung môi có khả năng trích ly tối ưu nhất. Thí nghiệm được bố trí và tiến hành với nhân tố thay đổi là tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và lặp lại 3 lần. Tổng số thí nghiệm 21. Dịch màu sau khi trích ly được tiến hành xác định hàm lượng anthocyanin bằng phương pháp pH vi sai.

2.2.3. Khảo sát sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng trích ly anthocyanin từ hoa đậu biếc

Khảo sát sự ảnh hưởng của nhiệt độ (40°C, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C) đến khả năng trích ly anthocyanin từ hoa đậu biếc, từ đó tìm ra nhiệt độ cho khả năng trích ly cao nhất. Thí nghiệm được bố trí và tiến hành với 1 nhân tố thay đổi là nhiệt độ. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần với từng nhiệt độ tương ứng. Tổng số thí nghiệm là 15 thí nghiệm.

Tiến hành thực hiện: Cân 10g nguyên liệu cho vào các bình thủy tinh với dung môi và tỷ lệ xác định ở thí nghiệm trên. Sử dụng bể điều nhiệt để chiết ngâm trong thời gian 2 giờ ở các nhiệt độ khác nhau. Sau đó dịch chiết được đem đi lọc, cô đuổi dung môi để xác định hàm lượng anthocyanin và xác định hiệu suất chiết.

2.2.4. Khảo sát sự ảnh hưởng của thời gian đến khả năng trích ly anthocyanin từ hoa đậu biếc

Khảo sát sự ảnh hưởng của thời gian (1h, 2h, 3h, 4h, 5h) đến khả năng

trích ly anthocyanin, từ đó tìm ra thời gian cho khả năng trích ly cao nhất. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần với từng thời gian tương ứng, tổng số thí nghiệm là 15 thí nghiệm. Dịch màu sau khi trích ly được tiến hành đo quang phổ hấp thụ nhằm xác định nồng độ anthocyanin trong dịch chiết.

Tiến hành thực hiện: Cân 10g nguyên liệu cho vào các bình thủy tinh với dung môi và tỷ lệ xác định ở thí nghiệm trên. Sử dụng bể điều nhiệt để chiết ngâm trong thời gian khác nhau ở nhiệt độ xác định theo thí nghiệm trên. Sau đó dịch chiết được đem đi lọc, cô đuổi dung môi để xác định hàm lượng anthocyanin và xác định hiệu suất chiết.

2.2.5. Khảo sát sự ảnh hưởng của số lần chiết đến khả năng trích ly anthocyanin từ hoa đậu biếc

Thí nghiệm được bố trí và tiến hành với 1 nhân tố thay đổi là số lần chiết (chiết 1 lần, chiết 2 lần, chiết 3 lần). Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần, tổng số thí nghiệm là 12. Việc xác định giá trị tối ưu dựa trên hàm lượng anthocyanin qua các thí nghiệm.

Tiến hành thực hiện: Cân 10g nguyên liệu cho vào các bình thủy tinh với dung môi và tỷ lệ xác định ở thí nghiệm trên. Sử dụng bể điều nhiệt để chiết ngâm trong thời gian và nhiệt độ được xác định ở trên. Sau đó dịch chiết được đem đi lọc,

cô đuổi dung môi để xác định hàm lượng anthocyanin và xác định hiệu suất chiết.

2.2.6. Xác định hàm lượng anthocyanin, hiệu suất chiết và định tính thành phần cao chiết từ hoa đậu biếc

Hàm lượng anthocyanin của dịch chiết được xác định bằng phương pháp pH vi sai [1], [5], [13].

Việc xác định dựa trên nguyên tắc chất màu anthocyanin thay đổi theo pH: Tại pH = 1 các anthocyanin tồn tại ở dạng oxonium hoặc flavium có độ hấp thụ cực đại, còn ở pH = 4.5 thì chúng lại ở dạng carbinol không màu.

Đo mật độ quang của mẫu tại pH = 1 và pH = 4.5 tại bước sóng hấp thụ cực đại, so với độ hấp thụ tại bước sóng 700nm.

Hàm lượng anthocyanin trong dịch trích ly theo cyanidin-3-glucoside.

$$a_{dd} \text{ (mg/l)} = \frac{A \times M \times V \times F}{\epsilon \cdot l}$$

Trong đó:

a_{dd} : Hàm lượng anthocyanin trong dịch trích ly (mg/l)

$$A = (A_{\lambda_{\max}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{\lambda_{\max}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4.5}$$

$MW = 449.2$ g/mol: Khối lượng phân tử cyanidin-3-glucoside

F : Hệ số pha loãng

V : Thể tích dịch chiết, (lít)

l : Bề dày cuvet (1 cm)

$\varepsilon = 26900$: Hệ số hấp thụ phân tử ($\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

Dịch chiết thô được đem đi cô đuổi dung môi và sấy ở nhiệt độ 60°C đến độ ẩm khoảng 4-5%, sau đó đem xác định khối lượng ($m_{\text{chế phẩm}}$). Khối lượng nguyên liệu ($m_{\text{nguyên liệu}}$) cho các thí nghiệm là 10g, độ ẩm của nguyên liệu khoảng 5,2%. Hiệu suất chiết được tính theo công thức:

$$H (\%) = \frac{m_{\text{chế phẩm}}}{m_{\text{nguyên liệu}}} \times 100$$

Dịch chiết thu được tiến hành thử nghiệm với các thuốc thử để xác định sự hiện diện của Carbohydrat, Steroid-trienpenoid, Alkaloid, Flavonoid và Saponin.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bảng 1. Hàm lượng anthocyanin trong dịch trích ly với các nồng độ dung môi khác nhau

Mẫu dung môi còn	Độ hấp thụ của mẫu thử	Hàm lượng anthocyanin theo cyanidin 3-glucose (mg/l)	Hiệu suất chiết (%)
40°	0,221	0,738	$20.29^b \pm 0.01$
50°	0,243	0,812	$20.30^b \pm 0.01$
60°	0,266	0,888	$20.37^c \pm 0.005$
70°	0,401	1,3899	$20.79^d \pm 0.015$
80°	0,297	0,992	$17.77^a \pm 0.01$

Qua kết quả ở bảng 1, cho thấy độ hấp thụ anthocyanin thu được tăng dần theo từng nồng độ dung môi tương ứng và cao nhất tại nồng độ ethanol 70° .

3.1. Ảnh hưởng của dung môi đến khả năng trích ly anthocyanin từ hoa đậu biếc

Anthocyanin là chất khá phân cực nên có khả năng tan tốt trong dung môi phân cực [2]. Việc lựa chọn dung môi thích hợp khi trích ly sẽ thu được hàm lượng anthocyanin cao nhất và giữ cho màu bền. Từ kết quả trích ly chất màu bằng nước và dung môi còn cho thấy, mẫu sử dụng dung môi nước, chiết ở nhiệt độ thường hay chiết ở nhiệt độ sôi đều bị biến đổi màu sau 12 -24 giờ. Mẫu chiết bằng dung môi còn ở hai điều kiện chiết khác nhau vẫn giữ được màu. Để xác định giá trị tối ưu của nồng độ dung môi còn, chúng tôi tiến hành xác định hàm lượng anthocyanin theo phương pháp pH vi sai. Kết quả được thể hiện trong bảng 1 dưới đây.

Anthocyanin là chất hữu cơ thơm đa vòng nên hoà tan tốt trong dung môi hữu cơ như ethanol. Điều đó giải thích tại sao khi tăng nồng độ ethanol thì hàm

lượng anthocyanin trích ly được từ hoa đậu biếc cũng tăng theo. Nhưng do anthocyanin có chứa nhóm chức OH⁻ nên nó cũng có khả năng hoà tan trong nước hay các dung môi phân cực. Vì thế khi tăng nồng độ ethanol quá cao làm cho tính phân cực của hệ dung môi giảm [10], dẫn đến khả năng hòa tan anthocyanin thu được sau trích ly cũng giảm theo. Đó là lý do vì sao ban đầu khi tăng nồng độ %ethanol trong hệ thì hàm lượng anthocyanin thu được tăng liên tục và đạt cao nhất tại nồng độ 70° rồi sau đó giảm, trong khi nồng độ etanol tiếp tục tăng. Vì vậy, ethanol 70° là nồng độ dung môi thích hợp để chiết anthocyanin từ hoa đậu biếc.

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến khả năng trích ly

Động lực của quá trình trích ly là do sự chênh lệch gradient nồng độ giữa cấu tử trích ly trong nguyên liệu và dung môi. Sự vận chuyển chất tan từ bên trong tế bào thực vật ra bên ngoài dung môi qua con đường khuếch tán là chủ yếu. Sự khuếch tán này sẽ giúp cho quá trình chiết rút các cấu tử cần trích ly từ trong nguyên liệu vào dung môi xảy ra nhanh và triệt để hơn. Do đó lượng dung môi khác nhau sẽ dẫn đến hàm lượng chất tan được chiết rút ra là khác nhau. Kết quả nghiên cứu xác định ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/nguyên liệu đến hiệu suất chiết anthocyanin được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Hàm lượng anthocyanin trong dịch chiết sau khi trích ly với các tỉ lệ nguyên liệu/dung môi khác nhau

Tỷ lệ NL: dung môi (g/ml)	Độ hấp thụ của mẫu thử	Hàm lượng anthocyanin theo cyanidin 3-glucose (mg/l)	Hiệu suất chiết (%)
1:05	0,636	2,124	23.45 ^g ±0.02
1:10	0,458	1,529	23.25 ^e ±0.01
1:15	0,237	0,911	22.51 ^c ±0.006
1:20	0,232	0,774	22.44 ^b ±0.006
1:25	0,16	0,534	21.74 ^a ±0.01

Qua kết quả bảng 2 cho thấy, hiệu suất chiết giảm dần từ tỉ lệ 1:05 (23.45%) xuống còn 21.74% ở tỉ lệ 1:25. Nhưng ở tỉ lệ 1:05 dung môi ít không đủ ngập hết nguyên liệu và chênh lệch hiệu suất với tỉ lệ 1:10 không quá lớn 0.2% (1:05 ÷ 1:10). Vì vậy, chọn tỉ lệ 1:10 để trích ly anthocyanin trong suốt quá trình nghiên cứu.

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng trích ly anthocyanin từ hoa đậu biếc

Sau dung môi, nhiệt độ là yếu tố tiếp theo cần được quan tâm trong quá trình trích ly. Khi nhiệt độ tăng sẽ làm giảm độ nhớt đồng thời làm tăng vận tốc khuếch tán. Do đó, tạo

điều kiện thuận lợi cho quá trình vận chuyển các chất hòa tan từ nguyên liệu vào dung môi. Tuy nhiên, chất màu anthocyanin dễ bị phá hủy bởi nhiệt độ cao vì vậy cần phải khảo sát nhiệt độ trích ly phù hợp để thu được hàm lượng anthocyanin trong dịch chiết cao nhất. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng trích ly chất màu thể hiện ở bảng 3 dưới đây:

Bảng 3. Hàm lượng anthocyanin sau khi trích ly ở các nhiệt độ khác nhau

Nhiệt độ chiết	Độ hấp thụ của mẫu thử	Hàm lượng anthocyanin theo cyanidin 3-glucose (mg/l)	Hiệu suất chiết (%)
40°C	0,324	1,082	18.16 ^c ±0.02
50°C	0,331	1,105	20.22 ^d ±0.01
60°C	0,416	1,389	24.19 ^e ±0.006
70°C	0,288	0,962	17.80 ^b ±0.02
80°C	0,319	1,065	17.05 ^a ±0.006

Từ kết quả bảng 3, cho thấy nhiệt độ chiết tăng từ 40 ÷ 50°C thì hàm lượng anthocyanin thu được tăng, hiệu suất chiết tăng từ 18.16 ÷ 20.22%. Nhiệt độ chiết tăng từ 50 ÷ 60°C, hàm lượng anthocyanin thu được sau trích ly tăng nhanh và đạt cao nhất, hiệu suất chiết tăng từ 20.22 ÷ 24.19%. Đây là khoảng nhiệt độ thu được anthocyanin hiệu quả nhất. Nhiệt độ tăng từ 60 ÷ 80°C, hàm lượng anthocyanin thu được sau trích ly giảm nhanh. Hiệu suất chiết bắt đầu giảm từ 24.19% (60°C) xuống còn 17.80% (70°C), tiếp tục giảm xuống còn 17.05% (80°C). Vì vậy, chọn nhiệt độ trích ly là 60°C, là nhiệt độ thích hợp cho quá trình trích ly anthocyanin từ hoa đậu biếc.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian đến khả năng trích ly anthocyanin từ hoa đậu biếc

Quá trình trích ly anthocyanin cũng phụ thuộc vào thời gian trích ly. Nếu thời gian quá ngắn, không đủ để dung môi hòa tan hết anthocyanin trong nguyên liệu. Ngược lại, thời gian quá dài ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm chiết, do dung môi có thể hòa tan các chất khác trong nguyên liệu, mặt khác nếu kéo dài thời gian trích ly có thể làm giảm lượng anthocyanin trích ly được do anthocyanin có thể bị phân hủy do tiếp xúc với nhiệt độ cao trong thời gian dài. Sau các khoảng thời gian trích ly khác nhau, thu được kết quả ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả thống kê hàm lượng anthocyanin sau khi trích ly với các khác khoảng thời gian khác nhau

Thời gian chiết	Độ hấp thụ của mẫu thử	Hàm lượng anthocyanin theo cyanidin 3-glucose (mg/l)	Hiệu suất chiết (%)
1h	0,403	1,346	21.33±0.026
2h	0,475	1,586	22.67±0.01
3h	0,481	1,606	21.46±0.026
4h	0,430	1,436	21.04±0.02
5h	0,433	1,446	19.96±0.047

Dựa vào kết quả thống kê ở bảng 4, cho thấy rằng, thời gian tăng từ 1 ÷ 2h thì hàm lượng anthocyanin thu được tăng, hiệu suất tăng từ 21.33 ÷ 22.67%. Thời gian tăng từ 2 ÷ 5h, hàm lượng anthocyanin thu được sau trích ly bắt đầu giảm. Hiệu suất chiết giảm từ 22.67% (2h) xuống còn 21.46% (3h), 21.04% (4h), 19.96% (5h). Như vậy, 2h là khoảng thời gian thích hợp để thu được hàm lượng anthocyanin cao, mặt khác có thể rút ngắn được thời gian trích ly.

3.5. Ảnh hưởng của số lần chiết đến khả năng trích ly anthocyanin từ hoa đậu biếc

Kết quả nghiên cứu xác định ảnh hưởng của số lần chiết đến hiệu suất chiết anthocyanin được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Hàm lượng anthocyanin sau khi trích ly với số lần chiết khác nhau

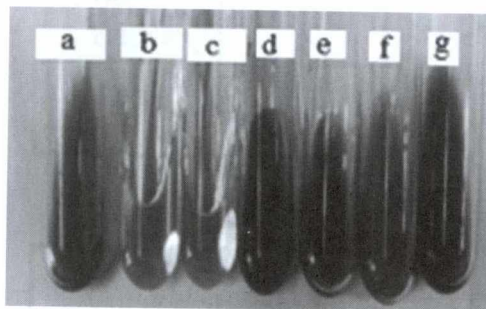
Số lần chiết	Độ hấp thụ của mẫu thử	Hàm lượng anthocyanin theo cyanidin 3-glucose (mg/l)	Hiệu suất chiết (%)
Chiết lần 1	0,541	1,807	23.31 ^c ±0.017
Chiết lần 2	0,068	0,227	14.98 ^b ±0.01
Chiết lần 3	0,015	0,050	9.80 ^a ±0.015

Qua kết quả trên cho thấy rằng, chiết 1 lần có hiệu suất cao (23.31%). Sau đó hiệu suất giảm nhanh khi chiết 2 lần (14.98%) và 3 lần (9.8%). Nguyên nhân là sau lần chiết thứ nhất lượng chất màu trong nguyên liệu đã được chiết triệt để nên hiệu suất cao, ở hai lần chiết sau lượng chất màu còn lại không đáng kể nên hiệu suất thấp. Tuy nhiên ở lần chiết thứ 2 hiệu suất đạt được không quá thấp (14,98%). Để tận dụng triệt để nguyên liệu, tránh lãng phí có thể chọn chiết 2 lần cho quy trình chiết chất màu từ hoa đậu biếc.

3.6. Định tính dịch chiết

Kết quả khảo sát sự hiện diện của một số hợp chất có trong hoa đậu biếc được thể hiện ở hình dưới đây:

Hình 1. Sự thay đổi màu của dung dịch cao chiết đối với các thuốc thử khác nhau

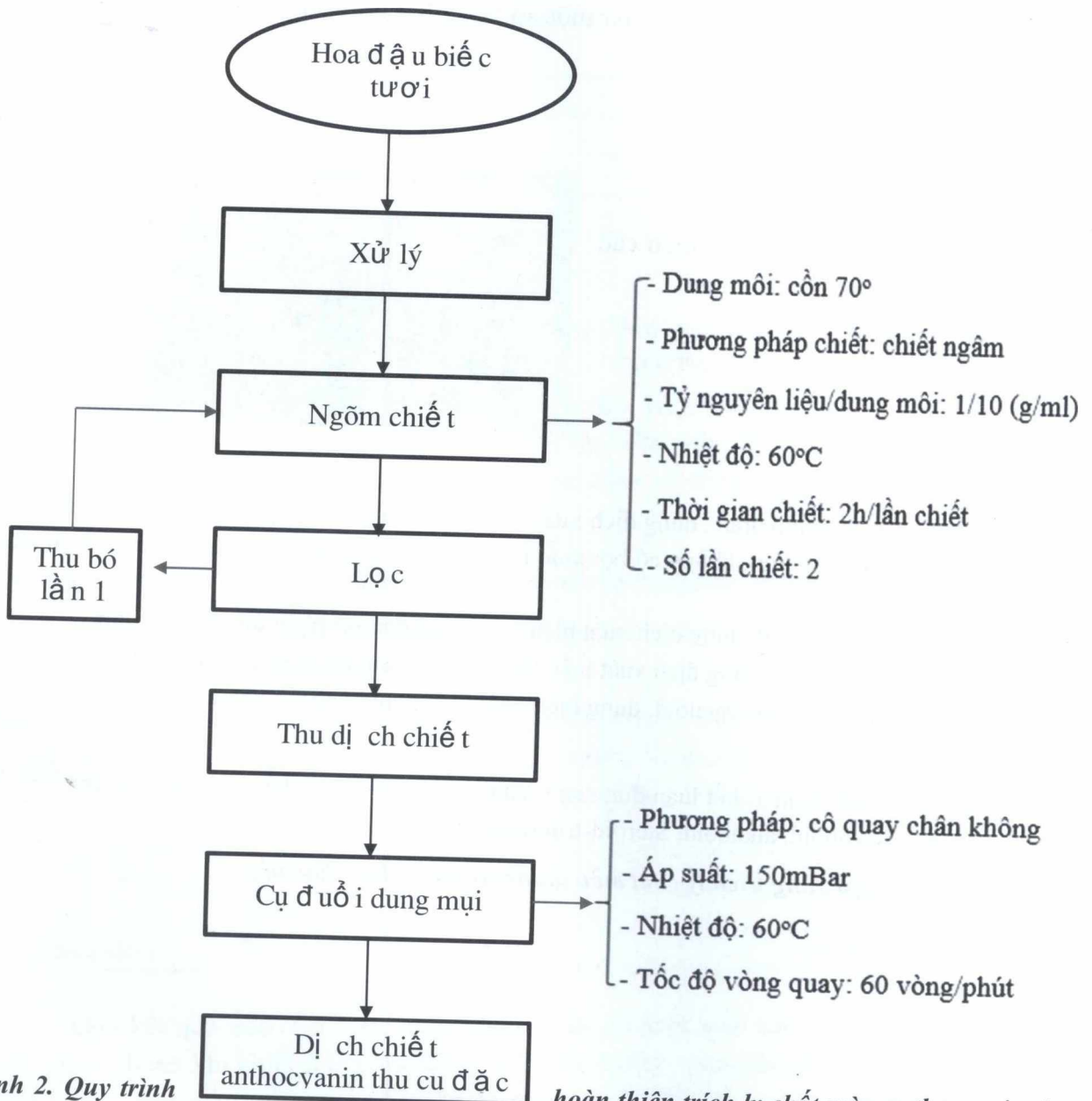


Trong đó:

- + a: Định tính carbohydrate, dung dịch xuất hiện màu hồng bèn => phản ứng dương tính.
- + b, c: Định tính saponin, không có bọt xuất hiện trong ống nghiệm => không có sự hiện diện của saponin.
- + d: Định tính flavonoid, dung dịch xuất hiện màu xanh đen => phản ứng dương tính.
- + e: Định tính alkaloid, dung dịch xuất hiện kết tủa màu nâu => có sự hiện diện của alkaloid.
- + f: Định tính steroid-triterpenoid, dung dịch xuất hiện màu hồng => phản ứng dương tính.
- + g: Mẫu đối chứng.

Từ kết quả của hình 1, kết luận được sự hiện diện của các hợp chất có trong hoa đậu biếc là Carbohydrate, Flavonoid, alkaloid, Steroid-triterpenoid.

Quy trình hoàn thiện dùng trích ly chất màu anthocyanin từ hoa đậu biếc



Hình 2. Quy trình hoa đậu biếc

hoàn thiện trích ly chất màu anthocyanin từ

Thuyết minh quy trình:

Xử lý: Hoa đậu biếc sau khi thu nhận được loại bỏ hoa dập, úng, đem rửa sạch, để ráo, sau đó được cắt nhỏ kích thước 2-4 mm.

Ngâm chiết: Tiến hành chiết ngâm chất màu anthocyanin bằng dung môi cồn 70° ở nhiệt độ 60°C với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml) là 1:10, thời gian chiết 2h/lần chiết. Để tận thu hàm lượng chất màu nhiều nhất tiến hành chiết 2 lần.

Lọc: loại bỏ bã chiết và các tạp chất không tan để thu lấy dịch chiết bằng phương pháp lọc hút chân không.

Cô đuổi dung môi: Dịch chiết thu được đem cô đuổi dung môi dưới áp suất 150mmBar, nhiệt độ không quá 60°C nhằm hạn chế sự phân hủy chất màu anthocyanin bởi nhiệt và ánh sáng. Tốc độ vòng quay là 60 vòng/phút.

Dịch chiết thô thu hồi được đem loại bỏ cồn, phối trộn với nước, maltodextrin và sấy phun để tạo sản phẩm bột màu tự nhiên từ hoa đậu biếc.

KẾT LUẬN

Sau quá trình khảo sát trích ly để thu nhận chất màu anthocyanin với hàm lượng cao từ hoa đậu biếc (*Clitoria ternatean*), chúng tôi thu được các kết quả sau: dung môi được sử dụng: ethanol, nồng độ dung môi: ethanol 70°, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml): 1/10, nhiệt độ trích ly: 60°C, thời gian trích ly: 2 giờ. Số lần trích ly: 2 lần. Dịch chiết thu được có mặt một số hợp chất hữu cơ như Carbonhydrate, Saponin, Flavonoid, alkanoid, Steroid-triterpenoid.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Huỳnh Thị Kim Cúc, Phạm Châu Huỳnh (2013). Xác định hàm lượng anthocyanin trong một số nguyên liệu rau quả bằng phương pháp pH vi sai, Tạp chí Khoa học & Công nghệ, Trường Đại học Đà Nẵng.
- [2] Nguyễn Đức Hạnh, Hoàng Thị Lệ Hằng, Nguyễn Minh Châu, Nguyễn Hoàng Việt (2017). Nghiên cứu tinh sạch Anthocyanin bằng phương pháp sắc ký cột từ củ khoai lang tím. Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam – số 12(85), 71-74.
- [3] Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Thanh Thủy, Nguyễn Thị Loan (2012). Nghiên cứu chiết tách anthocyanin từ đài hoa Hibiscus sabdariffa - ứng dụng để sản xuất giấy chỉ thị phát hiện nhanh hàn the trong thực phẩm. Tạp chí Khoa học và Phát triển, tập 10 (số 5), 45-48.
- [4] Kiều Thị Nhi, Nguyễn Tuấn Kiệt, Hoàng Thị Ngọc Nhơn (2017). Nghiên cứu quy trình chiết tách anthocyanin hiệu quả từ hành tím, hành lá, tỏi tía, cần tây, cần ta, Tạp chí Khoa học công nghệ và Thực phẩm 12 (1) (2017) 100-107, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM.
- [5] Tiêu chuẩn quốc gia TCVN11028:2015 về Đồ uống – Xác định tổng hàm lượng chất tạo màu anthocyanin dạng monomer – Phương pháp pH vi sai.
- [6] Francis (1989). Food colourants: Anthocyanins. Cr. Rev. Food Sci. Nutri. 28:273-314.

- [7] Manach, C., Williamson, G., Morand, C. et al (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. 1. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr*, 81, 230S-242S.
- [8] Mazza, G. and Minitiati, E. (1993). Introduction: Anthocyanin in Fruits, Vegetables and Grains. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp: 1-28.
- [9] Motohashi S and Nakayama T (2008). Clinical applications of natural killer T cell-based immuno-therapy for cancer. *Cancer Sci* 99:638-645.
- [10] Puupponen-Pimiä, R.; Aura, A.M.; Oksmancaldentey, K.M.; Myllärinen, P.; Saarela, M.; Mattila-Sanholm, T.; Poutanen, K. (2001). Development of functional ingredients for gut health. *Trends Food Sci. Technol.*, Amsterdam, v.13, pp.3-11.
- [11] Shipp, J., Abdel-Aa, E. M. (2010). Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients, *The Open Food Science Journal*, Vol. 4, pp. 7-22.
- [12] Trease, GE và Evans, WC (1983). *Pharmacopoeia textbook*, 12th version, Tindall và Co., London, pp. 343-383.
- [13] Wrolstad R. E. - Color and pigment analyses in fruit products, Agricultural Experiment Station, Oregon State University, Station Bulletin 624, Reprinted May 1993.
- [14] Oligomeric proanthocyanidins (OPCs), *Alternative Medicine Review*, Volume 8, Number 4, 2003

Ngày nhận bài : 4/12/2019

Ngày phản biện : 28/12/2019

Người phản biện : TS Nguyễn Đức Tiến –
Viện Cơ điện NN và công nghệ sau thu hoạch