

Nghiên cứu quá trình chiết chất màu tự nhiên Betacyanin từ quả thanh long ruột đỏ trồng ở Việt Nam

Study of a Process for the Extraction of a Betacyanin-Based Nature Colouring from Viet Nam Red Dragon

Lưu Thị Lan Anh*, Nguyễn Ngọc Trung, Nguyễn Thị Tuyết Mai, Võ Thạch Sơn

Trường Đại học Bách khoa Hà Nội - Số 1, Đại Cồ Việt, Hai Bà Trưng, Hà Nội

Đến Tòa soạn: 15-2-2018; chấp nhận đăng: 18-01-2019

Tóm tắt

Thanh long đã và đang dần trở thành một trong những loại trái cây thông dụng của người Việt Nam. Ngoài công dụng là một loại trái cây, quả thanh long ruột đỏ còn là nguồn chất màu betacyanin ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm, dược liệu và đặc biệt là sử dụng trong pin mặt trời sử dụng chất màu nhạy sáng. Trong nghiên cứu này, betacyanin đã được chiết từ ruột quả thanh long ruột đỏ nhờ sự hỗ trợ của siêu âm. Kết quả chiết được phân tích bằng phương pháp phổ hấp thụ UV-Vis. Kết quả cho thấy, các thông số kỹ thuật tối ưu cho quá trình chiết suất là: Tỷ lệ dung môi H₂O:C₂H₅OH = 1:1; nhiệt độ T = 40°C; khối lượng mẫu m = 12,5g; thời gian chiết t = 40 phút. Hàm lượng betacyanin thu được ~ 334 mg/l.

Từ khóa: Chất màu tự nhiên, betalain, betacyanin, thanh long ruột đỏ

Abstract

Dragon fruit has gradually become one of the most popular fruits of the Vietnamese. Dragon fruit is not only a nutritious fruit, it is also a source of betacyanin pigments used in foods, pharmaceuticals and Dye-sensitized solar cell (DSSC). In this study, betacyanin was extracted from the pulp of the red dragon fruit with the aid of ultrasound. Extraction results were analyzed using UV-Vis absorption spectrometry method. Results showed that the optimal technical conditions for the extraction are: solvent is, a mixture of distilled water and absolute alcohol with ratio H₂O: C₂H₅OH = 1: 1; temperature T = 40°C; sample mass m = 12.5 g; extracting time t = 40 mins. Concentration of betacyanin was about 334 mg/l.

Keywords: Nature colouring, betalain, betacyanin, red dragon fruit.

1. Giới thiệu

Các chất màu hữu cơ tự nhiên thân thiện với môi trường, có thể sử dụng mà không cần tinh chế, kỹ thuật điều chế đơn giản, chi phí thấp, dễ sử dụng, và độc tính thấp được xem như một trong những vật liệu thay thế hấp dẫn trong những ứng dụng như chất màu trong thực phẩm, mỹ phẩm và pin mặt trời sử dụng chất màu nhạy sáng [1-6].

Một số chất màu là đối tượng nghiên cứu chủ yếu đó là chất màu nhạy sáng tự nhiên sử dụng trong DSSCs chẳng hạn như chất diệp lục, carotenoid, anthocyanin, flavonoid, cyanine, tannin, betalains.... Màu tự nhiên là các sắc tố phân tử và chất màu thu được chủ yếu từ động thực vật hoặc khoáng chất, có hoặc không có phương pháp chiết tách. Ưu điểm lớn nhất của chất màu nhạy sáng tự nhiên là sẵn có, dễ chiết xuất, giảm chi phí, ngăn ngừa chất điện phân tái tổ hợp và giảm tích tụ chất màu, thân thiện môi

trường, phổ hấp thụ rộng do đó tạo điều kiện để nghiên cứu trong tương lai. Bên cạnh các ưu điểm, chất màu tự nhiên còn có một số nhược điểm như khó chọn lựa, chưa thực sự bền với ánh sáng và hiệu suất thấp [2,7,9].

Betacyanin là một trong những chất màu phổ biến thuộc nhóm betalain. Betacyanin xuất hiện ở một số loại nấm bậc cao, và xuất hiện phổ biến trong các cánh hoa, quả, lá, thân và rễ của một số loại thực vật như củ cải đường, cây rau dền tím và quả thanh long. Betacyanin là nhóm sắc tố betalain có màu từ đỏ đến đỏ tím. Betacyanin hấp thụ ánh sáng trong vùng nhìn thấy trong khoảng bước sóng 476 ÷ 600 nm [6,8,9]. Đa số các betacyanin khác được tạo thành do phản ứng glucosyl hóa một trong hai nhóm chức – OH tự do của vòng cyclo-DOPA của betanidin, trong đó thường gặp nhất là sự glucosyl hóa ở vị trí 5. Dẫn xuất betacyanin quan trọng và thường gặp nhất trong tự nhiên là betacyanin (tức betanidin-5-O-β-glycosidase, có công thức phân tử C₂₄H₂₆N₂O₁₃ và khối lượng mol M = 551,48) Betacyanin có tác dụng tạo màu thường được thêm vào thực phẩm hay dược

* Địa chỉ liên hệ: Tel: (+84) 989659488
Email:anh.luuthilan@hust.edu.vn

phẩm để làm chỉ thị màu cho biết độ tươi hay độ mới của các sản phẩm này. Khi màu của Betacyanin bị chuyển thành màu nâu hay mất màu có nghĩa là các sản phẩm trên được bảo quản không đúng cách và chất lượng đã bị biến đổi. Betacyanin có tác dụng được học như là một chất chống oxy hóa nhờ khả năng bắt giữ các gốc tự do có thể làm đột biến tế bào và gây ra những rối loạn trong sự trao đổi chất.

Thanh long ruột đỏ có tên khoa học là *Hylocereus polyrhizus* thuộc chi *Hylocereus*, là một loài cây được trồng chủ yếu để lấy quả. Cây thanh long thuộc họ xương rồng có khả năng chịu hạn giỏi, nên được trồng ở những vùng nóng. Quả của nó có 3 dạng, tất cả đều có vỏ giống như da và có một chút lá, đó là: ruột trắng với vỏ hồng hay đỏ, ruột đỏ với vỏ hồng hay đỏ và cuối cùng là ruột trắng với vỏ vàng [10]. Thanh long có là nguồn chứa chất màu betacyanin với hàm lượng lớn.

Thông thường các chất màu tự nhiên được sản xuất thông qua quá trình chiết. Tùy thuộc vào cách tiến hành có rất nhiều phương pháp chiết khác nhau như chiết gián đoạn, chiết bán liên tục và chiết liên tục. Ngoài ra, hiện nay còn có thêm các phương pháp hỗ trợ để quá trình chiết có hiệu suất cũng như chất lượng tốt hơn như: chiết nhờ siêu âm, chiết siêu tới hạn hoặc chiết dung môi tang tốc hay chiết dưới áp suất cao. Trong các phương pháp chiết này, phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm cũng thường được sử dụng trong nghiên cứu bởi vì siêu âm có khả năng phá vỡ màng tế bào của nguyên liệu, do đó giúp cho sự xâm nhập của dung môi vào bên trong tế bào dễ dàng hơn. Ngoài ra, siêu âm còn có tác dụng khuấy trộn mạnh dung môi, do đó gia tăng sự tiếp xúc của dung môi với chất cần chiết và cải thiện đáng kể hiệu suất chiết.

Vì vậy trong nghiên cứu này, chúng tôi nghiên cứu qui trình công nghệ để tách chiết chất nhuộm màu betacyanin từ quả thanh long ruột đỏ sử dụng phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm. Đồng thời sự ảnh hưởng của các điều kiện chiết như dung môi, nhiệt độ chiết, thời gian chiết và khối lượng chiết tới hàm lượng betacyanin thu được cũng sẽ được thảo luận.



Hình 1. Ảnh chụp chuẩn bị nguyên liệu chiết

2. Thực nghiệm

Quả thanh long ruột đỏ tươi mua ở siêu thị ở Hà Nội. Sau khi loại bỏ vỏ ruột quả thanh long đã được

cắt thành các miếng nhỏ như trong hình 1. 10g mẫu được cho vào cốc thủy tinh. Rót từ từ 40ml dung môi với các tỉ lệ nước cất và cồn tuyệt đối khác nhau vào cốc. Quá trình chiết chất màu được sự hỗ trợ của siêu âm trên thiết bị Elma S30H ở các nhiệt độ và trong các thời gian chiết khác nhau.

Kết thúc rung siêu âm, tiến hành lọc dung dịch qua giấy lọc, thu được dung dịch chính là dung dịch có chứa chất Betacyanin (Hình 2). Để khảo sát hàm lượng chất Betacyanin thu được, các mẫu được đem đi đo phổ hấp thụ. Độ hấp thụ của dung dịch được đo trên thiết bị đo độ hấp thụ UV-Vis VARIAN 100 trong khoảng bước sóng $\lambda = 400 \div 600$ nm. Hàm lượng betacyanin trong dung dịch có thể tính theo công thức [8]:

$$C_{\text{Betacyanin}} \text{ (mg/l)} = \frac{A \times M \times 1000 \times F}{\epsilon \times d} \quad (1)$$

trong đó,

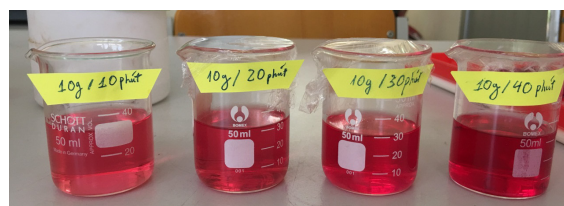
A: Là độ hấp thụ

F: Là độ pha loãng

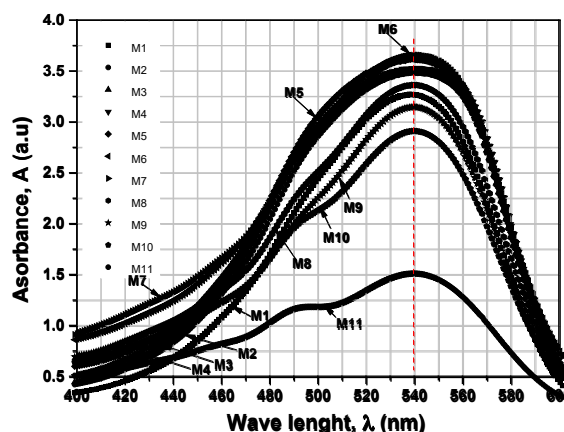
M: Là phân tử lượng betacyanin ($M = 550$ g/mol)

ϵ : hệ số hấp thụ của betacyanin trong H_2O ($\epsilon = 60000$ L/mol.cm) (Lấy gần đúng)

d: Là chiều dày cuvet ($d = 1$ cm)



Hình 2. Ảnh chụp một số mẫu thu được sau khi chiết.



Hình 3. Độ hấp thụ của các mẫu chiết với các tỉ lệ dung môi ở nhiệt độ 40° C, khối lượng mẫu 10 g.

3. Kết quả và thảo luận

Trên hình 3 là phổ hấp thụ của các mẫu chiết chứa $m=10$ g thanh long ruột đỏ, ở nhiệt độ $T = 40^{\circ}\text{C}$ trong các dung môi là hỗn hợp của nước cất và cồn tuyệt đối với các tỷ lệ khác nhau. Ứng với các tỉ lệ của nước cất và cồn tuyệt đối, các mẫu được đặt tên tương ứng là các mẫu $M1 \div M11$ (bảng 1).

Từ hình phổ hấp thụ, ta thấy rằng với tất cả các mẫu nghiên cứu, trong khoảng bước sóng $\lambda = 400 \div 600$ nm đều xuất hiện một đỉnh hấp thụ mạnh ở khoảng bước sóng $\lambda \sim 539$ nm. Đỉnh hấp thụ này quy cho là đỉnh hấp thụ của chất betacyanin [6,8,9]. Ngoài ra còn có thể nhận thấy, với các dung môi và tỉ lệ dung môi khác nhau thì cường độ các đỉnh hấp thụ cũng thay đổi. Cường độ đỉnh hấp thụ thấp nhất ứng với mẫu khi dung môi là cồn tuyệt đối (mẫu M11) với $A = 1,52$. Cường độ đỉnh hấp thụ cao nhất $A = 3,65$ ứng với mẫu M6 khi dung môi là hỗn hợp nước cất và cồn tuyệt đối với tỉ lệ về thể tích là 50:50. Điều này có nghĩa là, với dung môi là hỗn hợp nước cất và cồn tuyệt đối với tỉ lệ về thể tích là 50:50 thì betacyanin chiết được với hàm lượng lớn nhất. Mẫu với dung môi là cồn tuyệt đối, hàm lượng betacyanin chiết được là thấp nhất với giá trị khoảng 140 mg/l. Với dung môi là nước thì hàm lượng betacyanin có trong dung dịch vào khoảng 300 mg/l và ở tỉ lệ 1: 1 hàm lượng betacyanin chiết được cao nhất và có giá trị 334 mg/l.

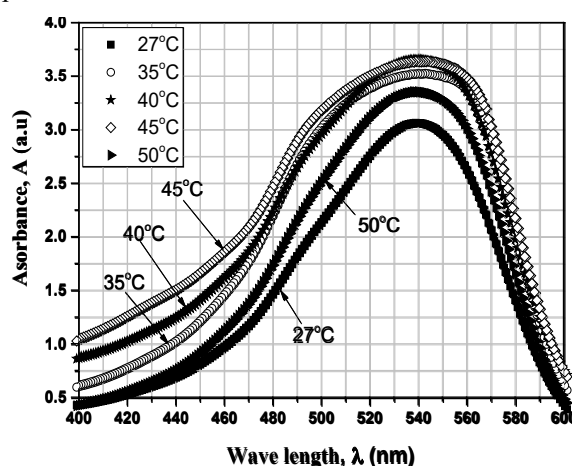
Bảng 1. Hàm lượng betacyanin thu được với các dung môi khác nhau:

Tên mẫu	Tỉ lệ $\text{H}_2\text{O}:\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (% thể tích)	Hàm lượng Betacyanin thu được tính theo công thức (1) (mg/l)
M1	100 H_2O	299,75
M2	90:10	319,00
M3	80:20	320,83
M4	70:30	322,67
M5	60:40	331,83
M6	50:50	334,58
M7	40:60	331,83
M8	30:70	308,00
M9	20:80	287,83
M10	10:90	266,75
M11	100% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	139,33

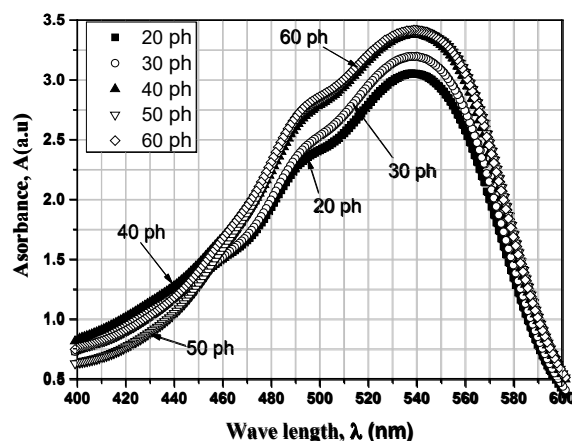
Hình 4 là kết quả đo độ hấp thụ của các mẫu khảo sát ở các nhiệt độ $T = 27 \div 50^{\circ}\text{C}$ (tương ứng với các mẫu M12÷M15).

Cũng dễ nhận thấy rằng, trong khoảng bước sóng $\lambda = 400 \div 600$ nm, các mẫu thu được đều xuất hiện một đỉnh hấp thụ mạnh ở khoảng bước sóng $\lambda \sim 539$ nm. Chúng ta còn có thể nhận thấy, với các nhiệt

độ chiết khác nhau $T = 27 \div 50^{\circ}\text{C}$ thì cường độ các đỉnh hấp thụ cũng thay đổi. Cường độ đỉnh hấp thụ thấp nhất ứng với mẫu M12 khi nhiệt độ chiết là $T = 27^{\circ}\text{C}$ tương ứng với độ hấp thụ $A = 3,06$. Cường độ đỉnh hấp thụ cao nhất ứng với mẫu M6 khi nhiệt độ chiết là $T = 40^{\circ}\text{C}$ tương ứng với độ hấp thụ $A = 3,65$. Điều này có nghĩa là, với nhiệt độ chiết $T = 40^{\circ}\text{C}$ thì betacyanin chiết được với hàm lượng lớn nhất vào khoảng 340 mg/l. Có thể giải thích như sau khi ta tăng dần nhiệt độ thì lượng betacyanin chiết được nhiều hơn hay nói cách khác là chiết được triệt để hơn. Thế nhưng, nếu tăng nhiệt độ chiết lên $T = 45^{\circ}\text{C}$ và $T = 50^{\circ}\text{C}$ thì hàm lượng betacyanin chiết được lại giảm đi (tương ứng với với độ hấp thụ lần lượt là $A = 3,63$ và $A = 3,51$). Sự giảm độ hấp thụ khi tăng nhiệt độ chiết có thể giải thích là khi nhiệt độ chiết tăng $T > 40^{\circ}\text{C}$ thì betacyanin bị phân hủy một phần.



Hình 4. Độ hấp thụ của các mẫu theo nhiệt độ chiết trong dải từ 27 đến 50° C.

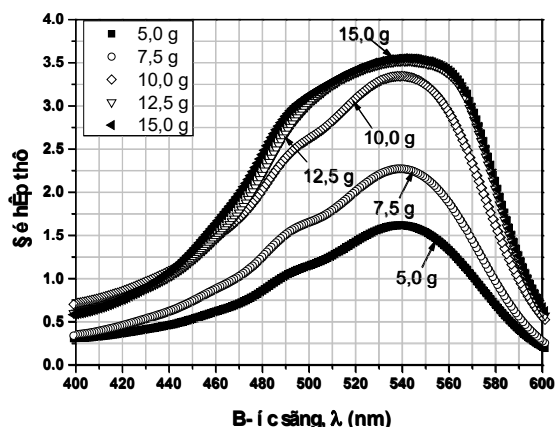


Hình 5. Độ hấp thụ của các mẫu theo thời gian chiết nhiệt độ 40°C, khối lượng mẫu 10 g.

Độ hấp thụ của mẫu với thời gian chiết khác nhau biểu diễn trong hình 5. Từ hình 5 có thể thấy rằng, đỉnh hấp thụ mạnh ở khoảng bước sóng $\lambda \sim 539$

nm của betacyanin cũng xuất hiện. Với các thời gian chiết khác nhau thì cường độ các đỉnh hấp thụ cũng khác nhau. Cường độ hấp thụ thấp nhất ứng với mẫu M16 khi thời gian chiết là $t = 20$ phút tương ứng với độ hấp thụ $A = 3,05$. Cường độ hấp thụ cao nhất với mẫu M20 khi thời gian chiết là $t = 60$ phút tương ứng với độ hấp thụ $A = 3,41$. Ngoài ra, chúng ta cũng dễ nhận thấy, khi tăng thời gian chiết từ $t = 40$ phút đến $t = 60$ phút thì độ hấp thụ A có tăng nhưng không đáng kể có nghĩa rằng khi thời gian chiết tăng thì hàm lượng betacyanin chiết được cũng tăng lên, khi thời gian chiết tăng đến khoảng $t = 40$ phút tương ứng với độ hấp thụ $A = 3,38$ thì hàm lượng betacyanin chiết được gần như bão hòa.

Có thể giải thích như sau khi ta tăng dần thời gian chiết thì lượng betacyanin chiết được nhiều hơn. Nhưng khi thời gian chiết là 40 phút khi tăng thêm thì độ hấp thụ có tăng nhưng tăng ít như vậy thời gian chiết đã đạt đến bão hòa và hàm lượng betacyanin thu được vào khoảng 310 mg/l.



Hình 6. Độ hấp thụ của các mẫu theo khối lượng mẫu chiết tại nhiệt độ 40°C, thời gian chiết 14 phút.

Hình 6 trình bày phổ hấp thụ UV-Vis của mẫu chiết khi thay đổi khối lượng thành long đỏ. Ta có thể thấy rằng, cường độ hấp thụ thấp nhất ứng với mẫu M21 khi khối lượng là $m = 5$ g thì ($A = 1,61$). Cường độ hấp thụ cao nhất với mẫu M20 khi khối lượng là $m = 15$ g thì ($A = 3,54$). Ta thấy rằng nếu tăng dần khối lượng từ $m = 5$ g lên đến $m = 15$ g thì độ hấp thụ cũng tăng dần, điều này khá dễ hiểu khi khối lượng thành long nhiều hơn thì lượng betacyanin chiết được cũng lớn hơn. Nhưng khi khối lượng là $m = 12,5$ g thì độ hấp thụ có tăng nhưng tăng ít như vậy với khối lượng $m = 12,5$ g thành long đỏ đã đạt đến trạng thái bão hòa.

4. Kết luận

Quá trình chiết chất màu betacyanin nhờ trợ giúp của siêu âm đã được nghiên cứu. Giá trị tối ưu cho quá trình chiết từ dung dịch gồm ruột quả thanh long đỏ và dung môi là hỗn hợp nước cất và cồn tuyệt đối là: Tỷ lệ dung môi $H_2O:C_2H_5OH$ 1:1; nhiệt độ $T=40^\circ C$; Khối lượng $m=12,5g$; Thời gian $t=40$ phút. Hàm lượng betacyanin thu được khoảng 334 mg/l.

Lời cảm ơn

Công trình này được thực hiện với sự hỗ trợ về kinh phí của đề tài cấp trường T2017-PC-137.

Tài liệu tham khảo

- [1] G. Calogero, J.H. Yum, A. Sinopoli, G.D. Marco, M. Gratzel, M.K. Nazeeruddin, Anthocyanins and betalains as light-harvesting pigments for dye-sensitized solar cells, *Solar Energy* 86 (2012) 1563 - 1575.
- [2] S.Hao, J.Wu, Y. Huang, J. Lin, Natural dyes as photosensitizers for dye-sensitized solar cell, *Solar Energy* 80 (2006) 209 - 214.
- [3] D.Strack, T.Vogt, W.Schliemann, Recent advances in betalain research, *Phytochemistry* 62 (2003) 247 - 269.
- [4] O. Jayasinghe, S. Fernando, V. Jayamanne, D. Hettiarachchi, Production of a novel fruit - yoghurt using dragon fruit (*hylocereus undatus*l), *European Scientific Journal* 3 (2015) 208 - 215.
- [5] S.L. Thu, K.H. Mon, Extraction of Betalain Colorant from Peels of Dragon Fruit and It's Application in Lip Balm, *Universities Research Journal* 7 (2014) 1-12.
- [6] A. Gengatharan, G.A. Dykes, W.S. Choo, Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods, *LWT - Food Science and Technology* 64 (2015) 645 - 649.
- [7] M.A.M. Alwani, A.B. Mohamad, N.A. Ludin, A.A.H.Kadhun, K. Sopian, Dye-sensitised solar cells: Development, structure, operation principles, electron kinetics, characterisation, synthesis materials and natural photosensitisers, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 65 (2016) 183 - 213.
- [8] S.Priatni, A. Pradita, Stability study of betacyanin extract from red dragon fruit peels, *Procedia Chemistry* 16 (2015) 438 - 444.
- [9] M.I. Khan, P. Giridhar, Plant betalains: Chemistry and biochemistry, *Phytochemistry* 117 (2015) 267 - 295.
- [10] <http://vietnamtradeoffice.net/tinh-hinh-san-xuat-va-tieu-thu-thanh-long-viet-nam/>