

TRÍCH LY ANTHOCYANIN TỪ HOA CHIỀU TÍM (*Ruellia simplex* C. WRIGHT) ỨNG DỤNG LÀM CHẤT CHỈ THỊ TRONG PHÂN TÍCH HÓA HỌC

Nguyễn Văn Kiệt, Mạc Gia Linh, Trần Thị Thúy An và Lê Sĩ Thiệp*

Khoa Công nghệ Sinh hóa - Thực phẩm, Trường Đại học Kỹ thuật-Công nghệ Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Lê Sĩ Thiệp (email: lsthien@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 13/05/2022

Ngày nhận bài sửa: 07/06/2022

Ngày duyệt đăng: 22/06/2022

Title:

Anthocyanin Extract from Mexican petunia (*Ruellia simplex*) Used as an Indicator of Hydrogen Potential

Từ khóa:

Anthocyanin, chất chỉ thị acid-base, dịch chiết anthocyanin từ hoa chiều tím, hoa chiều tím

Keywords:

Acid-base indicator, anthocyanin, anthocyanin extract from Mexican petunia, ruellia simplex

ABSTRACT

Anthocyanin were extracted from Mexican petunia by using a solvent consist of ethanol and water at various ratios and used as a pH indicator. This study was conducted to investigate the moisture of Mexican petunia, the effect of ethanol:water ratio in the solvent on the total extracted anthocyanin content and color change of the anthocyanin extract when used as pH indicator. The results indicated that the mean moisture of the samples was 86,4%; the ethanol:water ratio was 4:6 (mL/mL) given the highest yield of total anthocyanin content (0,513%); The extracts changed color accordingly to pH (from 5,00 to 7,00). Finally, these extracts were used as pH indicator in acid-base titration and the results showed the anthocyanin extracted from Mexican petunia could be used acid-base indicator similar to methyl orange or phenolphthalein.

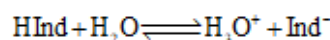
TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chất màu anthocyanin từ hoa chiều tím được chiết tách bằng hệ dung môi ethanol:nước và xem xét ứng dụng làm chất chỉ thị trong phân tích hóa học. Các khảo sát được thực hiện là độ ẩm mẫu hoa, tỉ lệ thể tích ethanol:nước, hàm lượng anthocyanin toàn phần, khoảng pH đổi màu của dịch chiết. Kết quả cho thấy, độ ẩm trung bình của mẫu hoa là 86,4%; tỉ lệ hệ dung môi ethanol:nước là 4:6 (mL/mL), hàm lượng anthocyanin toàn phần trong mẫu hoa là 0,513%. Khoảng pH đổi màu của dịch chiết là 5,00-7,00. Cuối cùng, dịch chiết này được thử dùng làm chất chỉ thị trong một số phép chuẩn độ acid-base và kết quả phân tích cho thấy, dịch chiết anthocyanin từ hoa chiều tím có thể dùng làm chất chỉ thị acid-base tương đương các chất chỉ thị tiêu chuẩn methyl orange và phenolphthalein.

1. GIỚI THIỆU

Chất chỉ thị màu là những chất có màu sắc thay đổi theo sự biến đổi pH của dung dịch. Chúng thường là những chất hữu cơ có tính acid base, trong đó dạng acid và dạng base liên hợp có màu sắc khác nhau phụ thuộc vào cấu trúc phân tử của chúng. Khi pH của dung dịch biến đổi, cấu trúc phân tử của chúng bị biến đổi theo, dẫn đến màu sắc dung dịch

thay đổi (Dung, 2019). Nếu kí hiệu dạng acid của chất chỉ thị là Hind thì dạng base liên hợp của nó là Ind⁻, khi cho chỉ thị vào nước, cân bằng sau được thiết lập:



Nếu trong một hệ có hai chất khác nhau thì việc quan sát bằng mắt chỉ cho phép ta nhận được màu

của một chất khi nồng độ của nó ít nhất gấp 10 lần nồng độ chất kia (Dung, 2019). Như vậy:

– Khi $\frac{[HInd]}{[Ind^-]} \geq 10$, màu của chất chỉ thị là

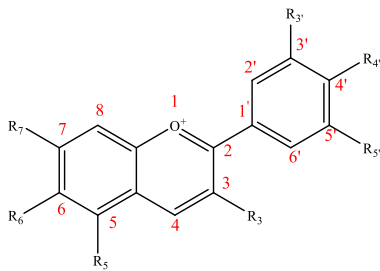
màu của HInd.

– Khi $\frac{[HInd]}{[Ind^-]} \leq \frac{1}{10}$, màu của chất chỉ thị là

màu của anion Ind^- .

Hiện nay, xu hướng sử dụng các chất màu thiên nhiên càng được quan tâm nhiều hơn, bởi vì có nhiều chất màu thiên nhiên không độc hại, mà còn thân thiện với môi trường (Mạnh và ctv., 2020). Các anthocyanin thuộc nhóm hợp chất flavonoid, là một trong những nhóm chất màu tự nhiên tan tốt trong nước. Thuật ngữ *anthocyanin* bắt nguồn từ tiếng Hy Lạp, trong đó *anthocyanin* là sự kết hợp giữa *anthos* (nghĩa là hoa) và *kyanos* (nghĩa là màu xanh lam) (Hương & Bạch, 2019).

Anthocyanin tham gia vào việc tạo ra màu sắc đa dạng từ đỏ cam đến xanh tím cho hoa và quả các loài thực vật. Đồng thời, anthocyanin cùng với chất tạo màu khác như chlorophyll, carotenoid để tạo cho hoa quả có cường độ màu khác nhau tùy thuộc vào hàm lượng và đồng phân của chúng (Miguel, 2011). Phân tử anthocyanin thường gồm một gốc aglycone có màu (gọi là anthocyanidin) kết hợp với gốc đường như glucose, galatose, ... Do đó, anthocyanin hòa tan tốt trong nước (Miguel, 2011).



Hình 1. Cấu trúc cơ bản của một aglycone của các anthocyanin

Các gốc đường có thể gắn đường vào vị trí 3, 5 và 7; thường được gắn vào vị trí 3 và 5. Phân tử anthocyanin gắn đường vào vị trí 3 gọi là monoglycoside, ở vị trí 3 và 5 gọi là diglycoside. Sự khác biệt giữa chúng là số lượng các nhóm hydroxy hóa, bản chất và số lượng các gốc đường liên kết với cấu trúc của chúng. Đến nay có những báo cáo của hơn 700 các dẫn xuất anthocyanin khác nhau của 27 aglycone (Miguel, 2011).

Anthocyanin tinh khiết ở dạng tinh thể hoặc vô định hình. Nó thuộc nhóm hợp chất phenolic đa vòng, khá phân cực nên tan tốt trong dung môi phân cực, đặc biệt là nước ấm. Khi kết hợp với đường làm cho phân tử anthocyanin càng dễ hòa tan hơn. Tuy nhiên, ở 70°C chúng bắt đầu bị phân hủy (Wallace & Giusti, 2019).

Bước sóng của anthocyanin hấp thụ cực đại trong miền nhìn thấy khoảng 510 – 540 nm ứng với mỗi giá trị pH. Độ hấp thụ là yếu tố liên quan mật thiết đến màu sắc của anthocyanin, chúng phụ thuộc vào pH của dung dịch. Nồng độ anthocyanin càng lớn độ hấp thụ càng mạnh (Wallace et al., 2019). Anthocyanin được tìm thấy trong các loại rau, củ, hoa, quả, hạt có màu từ đỏ đến tím như: quả nho, quả dâu, bắp cải tím, cà tím, khoai lang tím, gạo nếp than, hoa chiều tím, ... (Cúc và ctv., 2004; Ly và ctv., 2016; Tuyết và Duyên, 2019). Trong đó, hoa chiều tím là một loài thực vật có chứa anthocyanin thiên nhiên nhưng chưa được nghiên cứu nhiều.

Cây chiều tím còn được gọi là thạch thảo tím hay nhất xình, tên khoa học là *Ruellia simplex* C.Wright. Cây chiều tím, có nguồn gốc từ Mexico, vùng Caribe và Nam Mỹ, nên còn gọi là Mexican petunia. Đây là cây bụi thân thảo lâu năm, mọc thẳng, phân đốt, màu nâu và bề mặt thân nhẵn. Chiều tím có chiều cao vô cùng khiêm tốn, thường dao động khoảng 50 - 60 cm, đôi khi cao đến 1 m. Cũng có một giống hoa lùn chỉ cao khoảng 30 cm (Wilson et al., 2010). Lá nhỏ, thuôn và dài, hình mũi mác dẹt, nhọn đầu, dài 15 - 20 cm và rộng đến 2 cm. Hoa dạng chuông, màu tím, có năm cánh hoa, rộng 7 - 8 cm. Hoa chiều tím nở vào buổi sáng và chiều tàn, tuy nhiên cây vẫn cho hoa quanh năm nên vẫn duy trì được vẻ đẹp của cây. Cuống hoa nhỏ, mảnh và dài (Wilson et al., 2010).



Hình 2. Thân hoa và lá của cây chiều tím

Cây chiều tím có tốc độ sinh trưởng nhanh, mọc khỏe, là cây ưa sáng hoặc bóng bán phần. Cây sẽ phát triển nhanh, cho ra màu hoa đều, đẹp ở đất ẩm và thoát nước tốt. Cây chiều tím rất dễ nhân giống, thông thường người ta sử dụng phương pháp giâm cành để tạo ra cây con. Sau khi cắm xuống đất một

thời gian, cây sẽ bén rễ và phát triển bình thường (Wilson, 2010). Cây chiều tím có hoa đẹp, được trồng ở các bồn hoa, trồng dưới góc cây bóng mát, được sử dụng để trang trí trong sân vườn, biệt thự, làm đẹp cảnh quan môi trường và thanh lọc không khí khá tốt (Wilson et al., 2010).

Trong nghiên cứu này, hệ dung môi tối ưu cho việc trích ly chất màu anthocyanin từ hoa chiều tím được khảo sát. Hàm lượng anthocyanin toàn phần trong hoa và khả năng ứng dụng dịch chiết từ hoa chiều tím làm chất chỉ thị trong chuẩn độ acid-base cũng được quan tâm và khảo sát.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Khảo sát điều kiện trích ly và hàm lượng anthocyanin toàn phần

2.1.1. Nguyên liệu và thiết bị

Hoa chiều tím được thu hái ở phường An Hòa, thành phố Cần Thơ, được sấy khô ở 60°C và cắt nhỏ. Còn ethanol 99,5%; HCl, KCl và CH₃COOH xuất xứ Trung Quốc. Máy đo quang phổ UV-Vis Libra S60PC (Hoa Kỳ), máy đo pH Hanna HI2211 (Trung Quốc) và cân phân tích Ohaus PA214 (Trung Quốc).

2.1.2. Khảo sát độ ẩm mẫu hoa

Chuẩn bị ba mẫu hoa tươi, sạch; mỗi mẫu 5,00 g được đem sấy khô ở 105°C đến khối lượng không đổi. Từ khối lượng mẫu ban đầu và khối lượng hoa khô, ta tính được độ ẩm trung bình của mẫu hoa theo công thức sau (Tur, 2009).

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100\%$$

Trong đó: m₀: khối lượng đĩa.

m₁ và m₂: tổng khối lượng mẫu và đĩa trước và sau khi sấy khô.

2.1.3. Phương pháp xác định bước sóng hấp thụ cực đại

Ngâm 5,00 gam mẫu hoa tươi trong 15 mL hệ dung môi, lọc lấy dịch chiết, pha loãng dịch chiết trong hệ đệm (HCl, KCl) có pH=1. Quét phổ hấp thụ của từng dung dịch ứng với bước sóng từ 400 – 700 nm trên máy đo quang phổ hấp thụ UV-Vis, ghi nhận bước sóng hấp thụ cực đại của dung dịch (Tiêu Chuẩn Quốc Gia [TCVN], 2015).

2.1.4. Khảo sát tỉ lệ hệ dung môi tối ưu

Mẫu hoa tươi được ngâm trong các hệ dung môi ethanol:nước với tỉ lệ tăng dần, tỉ lệ khối lượng mẫu hoa:thể tích hệ dung môi cố định là 1:5 (g/mL) trong thời gian 60 phút ở nhiệt độ phòng. Lọc bỏ xác hoa,

lấy phần dịch chiết trong suốt, xác định bước sóng hấp thụ cực đại và đo độ hấp thụ màu bằng máy đo quang phổ hấp thụ UV – Vis. Thí nghiệm được lặp lại ba lần trên 11 hệ dung môi khác nhau (0:10, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1, 10:0). Hệ dung môi tối ưu nhất được chọn sẽ cho độ hấp thụ màu lớn nhất (Linh & Thùy, 2016).

2.1.5. Xác định nồng độ anthocyanin trong dịch chiết bằng phương pháp pH vi sai

Để xác định hàm lượng anthocyanin toàn phần, dịch chiết trong đệm (KCl-HCl) được pha loãng có pH=1,00 và đệm (CH₃COONa-HCl) có pH=4,50 sau đó lần lượt đo độ hấp thụ của anthocyanin tại bước sóng hấp thụ cực đại 532 nm và bước sóng 700 nm (TCVN, 2015).

Ký hiệu A là độ hấp thụ màu của phần mẫu thử, A được tính như sau:

$$A = \left(A_{\lambda_{\max}; \text{pH}=1} - A_{700\text{nm}; \text{pH}=1} \right) - \left(A_{\lambda_{\max}; \text{pH}=4,5} - A_{700\text{nm}; \text{pH}=4,5} \right)$$

Khối lượng (mg) của của chất tạo màu anthocyanin (tính theo đương lượng cyanidin-3-glucoside), được tính bằng công thức:

$$a = \frac{A.M.K.V}{\epsilon.l} \cdot 10^3$$

Hàm lượng anthocyanin toàn phần được tính theo công thức:

$$\begin{aligned} & \% \text{anthocyanin toàn phần} \\ &= \frac{a}{m(100-w)} \cdot 100 (\%) \end{aligned}$$

Trong đó:

– $A_{\lambda(\max); \text{pH}=1}$ và $A_{700\text{nm}; \text{pH}=1}$ là độ hấp thụ của phần mẫu thử có pH bằng 1,0 đo được ở bước sóng hấp thụ cực đại và bước sóng 700 nm.

– $A_{\lambda(\max); \text{pH}=4,5}$ và $A_{700\text{nm}; \text{pH}=4,5}$ là độ hấp thụ của phần mẫu thử có pH bằng 4,5 đo được ở bước sóng hấp thụ cực đại và bước sóng 700 nm.

– K là hệ số pha loãng.

– M là khối lượng phân tử của cyanidin-3-glucoside, bằng 449,2 g/mol.

– l là chiều dài đường quang, tính bằng centimet (cm).

– ε là hệ số tắt phân tử (bằng 26 900) của cyanidin-3-glucoside, tính bằng L.mol⁻¹.cm⁻¹.

- V là thể tích dung dịch, tính bằng lít (L).
- 10^3 là hệ số chuyển đổi từ gam sang mg.
- m là khối lượng mẫu ban đầu, tính bằng miligam (mg).

2.2. Khảo sát khả năng làm chỉ thị acid-base của dịch chiết hoa chiều tím

2.2.1. Hóa chất và thiết bị

Dựa trên kết quả khảo sát nồng độ anthocyanin trong dịch chiết, dịch chiết này được cô quay chân không thu được cao chiết, đem cao này pha thành dung dịch có nồng độ anthocyanin là 1,00 mg/mL trong hệ dung môi ethanol:nước 4:6 (v/v). Dung dịch này được dùng cho các khảo sát tiếp theo.

Một số hóa chất và thiết bị được sử dụng bao gồm: Dịch chiết anthocyanin có nồng độ 1,00 mg/mL, chỉ thị orange methyl, phenolphthalein, KH_2PO_4 và Na_2HPO_4 , NaOH và HCl, máy đo pH Hanna HI2211 (Trung Quốc).

2.2.2. Khảo sát khoảng pH đổi màu

Khoảng đổi màu của dịch chiết anthocyanin nồng độ 1,00 mg/mL được xác định bằng phương pháp so màu. Pha dãy dung dịch đệm phosphate có pH lần lượt là 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7 và 7,5. Lấy 1 mL dịch chiết anthocyanin cho vào 10 mL dung dịch pH đã pha ở trên. Màu sắc trong mỗi dung dịch được quan sát và xác định khoảng đổi màu (Linh & Thùy, 2016).

2.2.3. Khảo sát khả năng làm chỉ thị trong phép chuẩn độ acid – base

Để khẳng định lại khoảng pH đổi màu cũng như khả năng làm chỉ thị của dịch chiết anthocyanin từ hoa chiều tím, các phép chuẩn độ (dung dịch NaOH bằng dung dịch chuẩn $H_2C_2O_4$ 0,10N; dung dịch acid HCl bằng dung dịch chuẩn $Na_2B_4O_7$ 0,10N) với chất chỉ thị lần lượt là methyl orange, phenolphthalein và dịch chiết anthocyanin. Từ đó cho thấy nồng độ dung dịch HCl và dung dịch NaOH đã dùng. Dung dịch NaOH được chuẩn độ bằng dung dịch HCl và ngược lại cũng với các chất chỉ thị như trên. Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần lấy giá trị trung bình. Ghi nhận lại sự thay đổi màu sắc của chất chỉ thị trong quá trình chuẩn độ và pH dung dịch khi kết thúc chuẩn độ. Nồng độ của các chất chỉ thị là 1 mg/mL (Zulfajri & Muttakin, 2018).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Điều kiện trích ly và hàm lượng anthocyanin toàn phần

3.1.1. Độ ẩm trung bình của mẫu hoa

Kết quả thí nghiệm xác định độ ẩm của hoa chiều tím được thể hiện ở Bảng 1. Kết quả cho thấy độ ẩm trung bình hoa chiều tím là 86,4%. Vì lượng nước còn trong hoa là khá nhiều nên hoa dễ bị dập nát và hư hại. Hoa tươi cần được bảo quản ở tủ lạnh dưới 4°C hoặc có thể sấy khô tạo bột để bảo quản lâu dài.

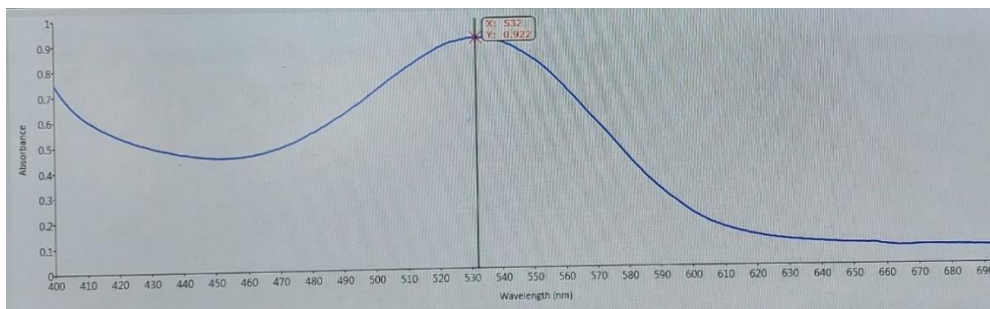
Bảng 1. Kết quả thí nghiệm xác định độ ẩm

| TT | Khối lượng đĩa (gam) | Khối lượng hoa và đĩa trước sấy (gam) | Khối lượng hoa và đĩa sau sấy (gam) | Độ ẩm (%) |
|----|----------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|-----------|
| 1 | 50,310 | 55,310 | 50,990 | 86,4 |
| 2 | 50,310 | 55,310 | 50,980 | 86,6 |
| 3 | 50,310 | 55,310 | 51,000 | 86,2 |

3.1.2. Kết quả khảo sát bước sóng hấp thụ cực đại

Trong hệ đệm có pH=1, bước sóng hấp thụ cực đại của phần dịch chiết anthocyanin từ hoa chiều tím là 532 nm.

Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đó là bước sóng hấp thụ cực đại của dung dịch anthocyanin trong khoảng 510–540 nm.



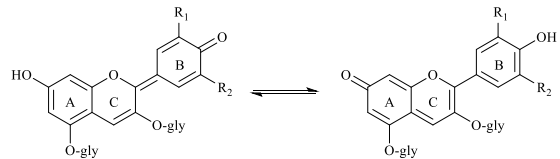
Hình 3. Bước sóng hấp thụ cực đại của dịch chiết hoa chiều tím

3.2. Kết quả khảo sát tỉ lệ hệ dung môi tối ưu

Anthocyanin là chất khá phân cực nên có khả năng tan tốt trong dung môi phân cực. Việc lựa chọn dung môi thích hợp khi trích ly sẽ thu được hàm lượng anthocyanin cao nhất (Miguel, 2011). Kết quả khảo sát tỉ lệ dung môi ethanol:nước được trình bày trong Bảng 2.

Theo kết quả này, độ hấp thụ màu của dịch chiết tăng dần khi tỉ lệ ethanol:nước giảm dần (từ 10:0 đến 4:6), cao nhất tại tỉ lệ ethanol:nước là 4:6 (mL/mL). Độ hấp thụ màu của dịch chiết tỉ lệ với nồng độ anthocyanin. Trong hệ dung môi ethanol:nước có môi trường trung tính, anthocyanin tồn tại ở dạng quinoidal. Phân tử anthocyanin thường mang gốc đường ở nguyên tử O liên kết với carbon số 3 và carbon số 5 làm tăng độ hòa tan của anthocyanin trong nước (Khoos et al, 2017). Điều đó giải thích tại sao khi giảm tỉ lệ ethanol:nước từ 10:0 đến 4:6 thì độ hấp thụ màu của dịch chiết cũng tăng theo và cao nhất tại tỉ lệ ethanol nước là 4:6 (mL/mL). Mặt khác, khi ở dạng quinoidal, hiện tượng cộng hưởng enol-ketone (Hình 4) có thể xảy ra tại các nhóm OH ở nguyên tử carbon số 7 của vòng A và carbon số 4 của vòng B (Jhin & Hwang, 2014). Điều này làm giảm khả năng tan trong nước của phân tử anthocyanin. Khi đó, phần aglycone của phân tử

anthocyanin có đặc tính tan tốt trong ethanol hơn. Do đó, khi tiếp tục giảm tỉ lệ ethanol:nước thì độ hấp thụ màu của dịch chiết bắt đầu giảm xuống. Nhìn chung, khi giảm tỉ lệ ethanol:nước thì ban đầu độ hấp thụ màu của dịch chiết tăng dần và cao nhất tại tỉ lệ ethanol:nước là 4:6 rồi sau đó giảm dần khi tỉ lệ này tiếp tục giảm. Vì vậy, tỉ lệ ethanol:nước là 4:6 (mL/mL) là tỉ lệ thích hợp để trích ly anthocyanin từ hoa chiều tím. Tỉ lệ này được sử dụng để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 4. Hai dạng cộng hưởng enol-ketone của anthocyanin khi tồn tại ở dạng quinoidal

3.2.1. Kết quả khảo sát hàm lượng anthocyanin toàn phần

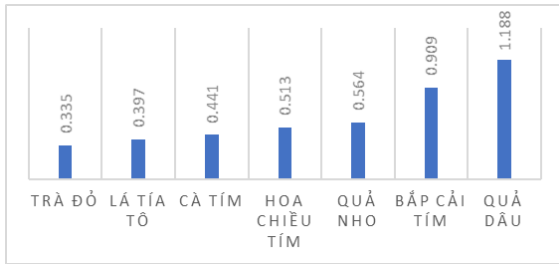
Hàm lượng anthocyanin toàn phần ảnh hưởng trực tiếp đến độ hấp thụ màu cũng như khả năng dùng làm chất chỉ thị acid-base của dịch chiết. Kết quả khảo sát hàm lượng anthocyanin toàn phần (tính theo anthocyanin-3-glycoside) được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 2. Kết quả khảo sát tỉ lệ dung môi ethanol:nước

| TT | Ethanol : Nước (mL/mL) | Độ hấp thụ màu | | | Trung bình |
|----|---------------------------|----------------|-------|-------|------------|
| | | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 | |
| 1 | 10:0 | 0,169 | 0,167 | 0,171 | 0,169 |
| 2 | 9:1 | 0,179 | 0,177 | 0,180 | 0,179 |
| 3 | 8:2 | 0,200 | 0,202 | 0,202 | 0,201 |
| 4 | 7:3 | 0,261 | 0,259 | 0,265 | 0,261 |
| 5 | 6:4 | 0,412 | 0,409 | 0,420 | 0,414 |
| 6 | 5:5 | 0,510 | 0,508 | 0,515 | 0,511 |
| 7 | 4:6 | 0,813 | 0,808 | 0,818 | 0,813 |
| 8 | 3:7 | 0,634 | 0,630 | 0,636 | 0,633 |
| 9 | 2:8 | 0,591 | 0,590 | 0,594 | 0,592 |
| 10 | 1:9 | 0,587 | 0,586 | 0,588 | 0,587 |
| 11 | 0:10 | 0,578 | 0,575 | 0,577 | 0,577 |

Bảng 3. Kết quả xác định hàm lượng anthocyanin toàn phần

| TT | Độ hấp thụ màu tại các bước sóng | | | | A | Tổng lượng anthocyanin trong 5,00 gam hoa tươi (mg) | Hàm lượng anthocyanin trong mẫu hoa tươi (%) |
|----|----------------------------------|--------|--------|--------|--------|---|--|
| | 532 nm | | 700 nm | | | | |
| | pH=1 | pH=4,5 | pH=1 | pH=4,5 | | | |
| 1 | 1,143 | 0,335 | 0,06 | 0,092 | 0,8440 | 3,523 | 0,518 |
| 2 | 1,080 | 0,268 | 0,047 | 0,065 | 0,8303 | 3,466 | 0,510 |
| 3 | 1,143 | 0,294 | 0,053 | 0,073 | 0,8333 | 3,477 | 0,511 |
| | Trung bình | | | | | 3,489 | 0,513 |



Hình 5. Hàm lượng (%) anthocyanin toàn phần trong một số loài thực vật

Theo kết quả này, hàm lượng anthocyanin trung bình trong hoa chiều tím khá cao, tương đương hàm lượng anthocyanin trong quả nho (0.564%), cao hơn

Bảng 4. Màu của dung dịch chiều tím tại các pH khác nhau

| pH | 4,00 | 4,50 | 5,00 | 5,50 | 6,00 | 6,50 | 7,00 | 7,50 |
|-----|------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Màu | Hồng | Hồng nhạt | Không màu | Không màu | Không màu | Không màu | Xanh nhạt | Xanh nhạt |



Hình 6. Dãy màu anthocyanin thay đổi từ pH 4,00-7,50

Theo đó, khi pH thay đổi thì màu sắc của dịch chiết cũng thay đổi. Cụ thể, khi pH tăng dần từ 4,00-7,50 thì màu của dung dịch thay đổi từ màu hồng nhạt sang không màu rồi sang màu xanh nhạt. Có thể khẳng định khoảng pH đổi màu của dịch chiết là 5,00-7,00. Khoảng pH đổi màu này khá hẹp cho thấy dịch chiết anthocyanin từ hoa chiều tím có khả năng làm chất chỉ thị pH.

3.3.2. Kết quả khảo sát khả năng chỉ thị trong phép chuẩn độ acid-base

Để khẳng định khả năng dùng làm chất chỉ thị acid-base, thí nghiệm chuẩn độ dung dịch NaOH bằng dung dịch $H_2C_2O_4$ 0,10N; chuẩn độ dung dịch HCl bằng dung dịch $Na_2B_4O_7$ 0,10N; sau đó chuẩn độ dung dịch NaOH bằng dung dịch HCl và ngược lại được thực hiện lần lượt với các chất chỉ thị là orange methyl, phenolphthalein và dịch chiết anthocyanin từ hoa chiều tím. Kết quả các thí nghiệm được thể hiện ở Bảng 5.

Theo kết quả này, sự khác biệt thể tích của dung dịch cần chuẩn độ đã dùng khi sử dụng dịch chiết anthocyanin so với orange methyl hay phenolphthalein là không đáng kể. Khi chuẩn độ dung dịch NaOH bằng dung dịch chuẩn $H_2C_2O_4$ 0,10N với chất chỉ thị là dịch chiết anthocyanin thì điểm cuối của quá trình được nhận biết khi có sự biến đổi màu

hàm lượng anthocyanin trong quả cà tím (0,441%), lá tía tô (0,397%), trà đỏ (0,335%); nhưng thấp hơn trong quả dâu (1,188%), bắp cải tím (0,909%) (Hình 5) (Cúc và ctv, 2004).

3.3. Khả năng ứng dụng dịch chiết làm chỉ thị acid-base

3.3.1. Kết quả khảo sát khoảng pH đổi màu

Khoảng pH đổi màu của chỉ thị là một yếu tố quan trọng nhằm xác định chất lượng và độ nhạy của chỉ thị đó. Để khẳng định khoảng pH đổi màu, phương pháp so màu được thực hiện. Kết quả sự thay đổi màu của dịch chiết hoa chiều tím theo pH môi trường (Hình 6) được thể hiện trong Bảng 4.

sắc dung dịch từ không màu sang màu xanh; pH ngay trước thời điểm dung dịch bắt đầu đổi màu và pH tại thời điểm dung dịch bắt đầu đổi màu lần lượt là 5,35 và 6,70. Đồng thời, nồng độ dung dịch NaOH xác định được là 0,10N giống với nồng độ dung dịch NaOH tính được khi dùng chất chỉ thị phenolphthalein. Khi chuẩn độ dung dịch HCl bằng dung dịch $Na_2B_4O_7$ 0,10N với chỉ thị là dịch chiết anthocyanin thì điểm cuối của quá trình chuẩn độ được nhận biết khi có sự biến đổi màu sắc dung dịch từ xanh sang không màu; pH ngay trước thời điểm dung dịch bắt đầu đổi màu và pH tại thời điểm dung dịch bắt đầu đổi màu lần lượt là 6,94 và 5,11. Nồng độ dung dịch HCl khi sử dụng dịch chiết làm chỉ thị được xác định là 0,09 N giống với nồng độ dung dịch HCl tính được khi dùng orange methyl làm chất chỉ thị. Mặt khác, kết quả xác định nồng độ dung dịch của các phép chuẩn độ dung dịch HCl 0,09 N bằng dung dịch NaOH 0,10 N (và ngược lại) khi dùng chất chỉ thị là phenolphthalein và dịch chiết anthocyanin từ hoa chiều tím khá giống nhau (Bảng 5). Theo đó, với chỉ thị là dịch chiết này, chỉ cần dùng dư một giọt (tương đương 0,05 mL) dung dịch acid/base nồng độ 0,10N là có thể nhận biết được điểm kết thúc của quá trình chuẩn độ. Như vậy, có thể kết luận rằng dịch chiết anthocyanin 1,00 mg/mL từ hoa chiều tím có thể làm chất chỉ thị màu trong phân tích hóa học.

Bảng 5. Kết quả các thí nghiệm chuẩn độ

| Dung dịch chuẩn | Dung dịch cần chuẩn độ | Chất chỉ thị | Biến đổi màu sắc | pH trước ^(*) | pH sau ^(**) | Nồng độ dung dịch NaOH |
|--|------------------------|-----------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| H ₂ C ₂ O ₄ 0,10N 10,00 mL | NaOH 9,93 mL | Phenolphthalein | Không màu sang hồng nhạt | 6,61 | 8,57 | 0,10N |
| | 9,83 mL | Dịch chiết | Không màu sang xanh | 5,35 | 6,70 | 0,10N |
| Na ₂ B ₄ O ₇ 0,10N 10,00 mL | HCl 10,60 mL | Orange methyl | Vàng sang đỏ | 4,73 | 3,27 | 0,09N |
| | 10,37 mL | Dịch chiết | Xanh sang không màu | 6,94 | 5,11 | 0,09N |
| HCl 0,09N 10,00 mL | NaOH 9,27 mL | Phenolphthalein | Không màu sang hồng nhạt | 6,82 | 8,62 | 0,10N |
| | 9,27 mL | Dịch chiết | Không màu sang xanh | 5,26 | 6,81 | 0,10N |
| NaOH 0,10N 10,00 mL | HCl 10,55 mL | Phenolphthalein | Hồng sang không màu | 8,65 | 6,78 | 0,09N |
| | 10,65 mL | Dịch chiết | Xanh sang không màu | 7,71 | 6,21 | 0,09N |

(*) Là pH ngay trước thời điểm dung dịch đổi màu

(**) Là pH tại thời điểm dung dịch bắt đầu đổi màu (ngay khi thêm 1 giọt dung dịch cần chuẩn độ vào)



Hình 7. Kết quả chuẩn độ dung dịch HCl bằng dung dịch NaOH với chỉ thị màu là dịch chiết anthocyanin từ hoa chiều tím

4. KẾT LUẬN

Anthocyanin được trích ly thành công từ hoa chiều tím với tỷ lệ: 1 g mẫu hoa tươi/5 mL hệ dung môi (ethanol:nước = 4:6 v/v) trong thời gian 60 phút ở nhiệt độ phòng. Ở tỷ lệ này, hàm lượng anthocyanin toàn phần thu được là 0,513%, hàm lượng này khá cao so với một số thực vật khác như trong quả cà tím, lá tía tô, trà đỏ. Dung dịch thu được sau trích ly (nồng độ anthocyanin 1,00 mg/mL) được ứng dụng để làm chất chỉ thị màu trong chuẩn độ acid-base và thu được kết quả khả quan. Khoảng biến đổi màu của dịch chiết từ hoa chiều tím diễn ra ở pH từ 5,00 đến 7,00 tương ứng với bước nhảy thế tích dung dịch chuẩn độ là 0,05 mL (1 giọt) ở khoảng nồng độ acid/base xấp xỉ 0,10N; màu chuyển từ hồng (pH < 5), sang không màu (pH ≈ 5-6,5) rồi sang xanh (pH ≈ 7). Do đó, dịch chiết

anthocyanin từ hoa chiều tím có thể được sử dụng làm chất chỉ thị màu trong phân tích hóa học.

Tuy nhiên, để nâng cao hiệu quả của việc sử dụng anthocyanin từ hoa chiều tím làm chất chỉ thị, nghiên cứu sẽ còn tiếp tục với một số nội dung sau:

- Khảo sát ảnh hưởng của thời gian trích ly, tỉ lệ khối lượng mẫu và thể tích dung môi đến hiệu suất trích ly và hàm lượng anthocyanin trong dịch chiết thu được.

- Khảo sát các điều kiện tối ưu cho việc bảo quản dịch chiết anthocyanin từ hoa chiều tím bao gồm nhiệt độ, độ pH, ánh sáng, ...

- Khảo sát sai số ở các mức nồng độ lớn và nhỏ hơn 0,10 N từ đó có thêm cơ sở đề nghị khoảng giới hạn nồng độ acid/base tối ưu để có thể dùng dịch chiết anthocyanin từ hoa chiều tím làm chất chỉ thị cho kết quả phân tích chính xác nhất có thể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cúc, H. T. K., Huỳnh, P. C., Lan, N. T., & Uyên, T. K. (2004). Xác định hàm lượng Anthocyanin trong một số nguyên liệu rau quả bằng phương pháp pH vi sai. *Tạp Chí Khoa Học Và Công Nghệ, Đại học Đà Nẵng*, 3(7), 47-53.
- Dung, N. T. (2019). *Hóa học phân tích*. Nhà xuất bản Đại học Sư phạm Hà Nội.
- Hương, T. N. L., & Bạch L. T. (2017). *Giáo trình hóa học hợp chất thiên nhiên*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.
- Jhin, C., & Hwang, K. T. (2014). Prediction of Radical Scavenging Activities of Anthocyanins Applying Adaptive Neuro-Fuzzy Inference System (ANFIS) with Quantum Chemical Descriptors. *International Journal of Molecular Sciences*, 15, 14715-14723.
doi:10.3390/ijms150814715
- Kho, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M., (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients and the potential health benefits. *Food and Nutrition research*, Taylor & Francis, 61(1), 1361779.
<https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
- Linh, N. T. T. & Thùy V. T. T., (2020). *Nghiên cứu ứng dụng dịch chiết hoa dâm bụt làm chỉ thị an toàn trong phân tích hóa học*. *Nghiên cứu Dược & Thông tin thuốc*, 11(3), 33-40.
- Ly, N. T., Thắng, N. N., Xuân, B. T. T., Điệp, P. T., & Dương, P. Đ. (2016). Tối ưu hóa quá trình chiết tách chất màu từ bắp cải tím bằng dung môi ethanol có sự hỗ trợ của sóng siêu âm. *Tạp chí cơ khí Việt Nam*, 10(1), 103-107.
- Mạnh, N. X., Hà, L. T. N., & Hằng, V. T. (2020). *Giáo trình hóa học thực phẩm*. Nhà xuất bản Học viện Nông nghiệp.
- Miguel, M. G. (2011). Anthocyanins: antioxidant and anti-inflammatory. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 01(06), 07-15.
- Tiêu Chuẩn Quốc Gia - TCVN 11028:2015 (2015). *Đồ uống - Xác định tổng hàm lượng chất tạo màu Anthocyanin dạng monome - Phương pháp pH vi sai*.
- Tuyết, N. T., & Duyên, T. T. (2019). Nghiên cứu tách chiết chất màu anthocyanin từ hoa đậu biếc. *Tạp chí Công nghiệp Nông thôn*, 36, 81-92.
- Tư, H. D. T. (2009). *Phân tích hóa học thực phẩm*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- Wallace, T. C., & Giusti M. M. (2019). Anthocyanins—Nature’s Bold, Beautiful, and Health-Promoting Colors. *Foods*, 8(11), 550
<https://doi:10.3390/foods8110550>
- Wilson, S. B., Burkhead, A., Adams, C. R., & Freyre, R. (2010). *Natural Area Weeds: Mexican Petunia (Ruellia simplex)*, Environmental Horticulture Department.
<https://doi.org/10.32473/edis-ep415-2009>
- Zulfajri, M., & Muttakin. (2018). Activity analysis of anthocyanin from *Syzygium Cumini* (L.) skeels as a natural indicator in acid-base titration. *Rasayan Journal of Chemistry*, 11(10), 135-141.