



DOI:10.22144/ctu.jos.2023.171

## NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH LY TRÍCH ANTHOCYANIN TỪ HOA ĐẬU BIẾC TƯƠI (*Clitoria ternatea*)

Trần Ngọc Hùng\*

Viện Phát triển Ứng dụng, Trường Đại học Thủ Dầu Một

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Trần Ngọc Hùng (email: hungngoc@tdmu.edu.vn)

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 30/01/2023

Ngày nhận bài sửa: 07/03/2023

Ngày duyệt đăng: 17/03/2023

### Title:

Studying some factors affecting the yield of anthocyanin from fresh blue pea flower (*Clitoria ternatea*)

### Từ khóa:

Anthocyanin, hoa đậu biếc dạng đơn, hoa đậu biếc dạng kép, ly trích anthocyanin

### Keywords:

Anthocyanin, anthocyanin isolation, the single form flower of blue pea, the double form flower of blue pea

### ABSTRACT

The blue pea (*Clitoria ternatea*) contains a high amount of anthocyanin, which has many positive effects on health and is popularly used in food. To improve the isolating anthocyanin yield, some selected factors affecting the anthocyanin isolation were tested, such as the ratio of material and the forms of flowers, the picking time, the isolating temperature and time, and the pH of isolating solution. The best yield of separating anthocyanin was recorded when using the fresh flowers at a ratio of 7.5% (w/v) that were picked from 6 to 8 am. The preliminary tests on the effects of the isolating temperature and time associated with optimizing by response surface methodology (RSM) showed the solution isolated with distilled water at 69.9 °C for 20 minutes has the best concentration of anthocyanin, at 19.8 mg/L. The suitable pH value for the isolation was recorded at a range of 5.0 to 7.0.

### TÓM TẮT

Hoa đậu biếc (*Clitoria ternatea*) chứa hàm lượng anthocyanin cao, chất có nhiều tác dụng tốt cho sức khỏe và được sử dụng nhiều trong thực phẩm. Nhằm nâng cao hiệu quả thu nhận anthocyanin, một số yếu tố cơ bản ảnh hưởng đến quá trình ly trích đã được khảo sát như tỷ lệ nguyên liệu và hình dạng hoa, thời gian thu hái, nhiệt độ và thời gian ly trích, pH dung dịch. Hiệu quả ly trích anthocyanin tốt nhất đạt được khi sử dụng hoa tươi dạng kép với tỷ lệ 7,5% hoa (w/v) được thu hái vào khoảng 6 đến 8 giờ sáng. Các thí nghiệm sàng lọc ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ly trích kết hợp với tối ưu hóa theo phương pháp đáp ứng bề mặt (response surface methodology, RSM) cho thấy dung dịch ly trích với nước ở nhiệt độ 69,9°C trong thời gian 20 phút có hàm lượng anthocyanin cao nhất, đạt 19,8 mg/L. pH phù hợp cho quá trình ly trích từ 5,0 đến 7,0.

## 1. GIỚI THIỆU

Cây đậu biếc (*Clitoria ternatea*) thường mọc hoang dại trên các bờ rào ở nhiều tỉnh phía Nam của nước ta. Thời gian gần đây, do hoa có màu sắc đẹp nên cây đậu biếc được trồng làm cảnh ở nhiều nơi. Với hàm lượng cao và các chất có hoạt tính sinh học giá trị, hoa đậu biếc đã được sử dụng như một loại

trà uống hằng ngày hoặc bổ sung màu từ hoa đậu biếc vào các sản phẩm thực phẩm, các loại bánh. Ở Việt Nam, đã có nhiều nghiên cứu về hoạt chất anthocyanin; các nghiên cứu này được tiến hành trên các loại nguyên liệu khác nhau như bắp cải tím, dâu tằm, hành tím, tỏi tía, hành lá, cần tây, cần ta, tía tô (Liên & Phương, 2014; Nhi và ctv., 2017). Lan và ctv. (2006) đã được thử nghiệm sử dụng

anthocyanin làm các sản phẩm giấy kiểm tra pH. Anthocyanin được nghiên cứu tách chiết từ hoa búp giấm cũng đã được ứng dụng làm chất chỉ thị phát hiện nhanh hàn the trong thực phẩm (Hiền và ctv., 2012). Những năm gần đây, nhiều nghiên cứu đã quan tâm đến việc tách chiết anthocyanin từ hoa đậu biếc và thử nghiệm một số hoạt tính sinh học, hoa đậu biếc khô thường được sử dụng để tách chiết anthocyanin trong nước hoặc ethanol với sự hỗ trợ của siêu âm (Tri et al., 2018; Thuy và ctv., 2021). Một số nghiên cứu cũng khảo sát các yếu tố tác động đến quá trình ly trích anthocyanin từ hoa đậu biếc như: nhiệt độ, tỷ lệ dung môi và thời gian (Tuyết & Duyên, 2019; Hồng, 2020). Những nghiên cứu này chủ yếu tập trung vào việc ly trích anthocyanin để bổ sung vào thực phẩm hoặc ứng dụng làm các sản phẩm chỉ thị, nên đa số sử dụng ethanol làm dung môi chiết. Nghiên cứu tách chiết anthocyanin từ hoa đậu biếc tươi và các điều kiện ảnh hưởng đến độ bền màu đến nay vẫn chưa có nhiều. Đặc biệt, những khảo sát sơ bộ đã cho thấy hoa đậu biếc dạng kếp có chứa hàm lượng anthocyanin cao hơn đáng kể so với hoa dạng đơn. Trên cơ sở đó, một số yếu tố cơ bản ảnh hưởng đến việc tách chiết anthocyanin từ hoa đậu biếc tươi như thời điểm thu hái, nhiệt độ chiết, thời gian chiết, pH dung dịch cũng được khảo sát. Dung dịch giàu anthocyanin chiết xuất theo quy trình thân thiện này được định hướng để sản xuất thành dạng bột hòa tan, sử dụng như một loại thức uống bổ sung hằng ngày, từ đó giúp nâng cao thu nhập cho người dân địa phương với loài cây hoang dã này.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Nguyên liệu

Hoa đậu biếc được thu hái tại phường Bình Nhâm, thành phố Thuận An, tỉnh Bình Dương vào thời gian từ tháng 5 đến tháng 8 năm 2021. Hoa tươi được sử dụng trong ngày. Hoa khô được thu nhận bằng cách sấy lạnh hoa tươi ở nhiệt độ 25°C, áp suất âm cho đến khi khối lượng mẫu còn lại 1/10 so với ban đầu. Độ ẩm hoa khô khoảng 8,5%.

### 2.2. Phương pháp tiến hành

#### 2.2.1. Ảnh hưởng của thời gian thu hái và hình dạng hoa đậu biếc

Hoa đậu biếc tươi dạng đơn và dạng đôi thu hái trong các khoảng thời gian 6 giờ, 8 giờ và 14 giờ được sử dụng để đánh giá hàm lượng anthocyanin. Hoa được ngâm trong nước với tỷ lệ 10% (w/v) ở nhiệt độ 70°C trong 60 phút. Lọc và xác định hàm lượng anthocyanin trong dung dịch bằng phương pháp vi sai.

Phương pháp pH vi sai, dựa trên nguyên tắc chất màu anthocyanin thay đổi theo pH. Khi pH = 1, các anthocyanin tồn tại ở dạng oxonium hoặc flavium có độ hấp thụ cực đại. Khi pH = 4,5, anthocyanin ở dạng carbinol không màu. Phương pháp pH vi sai cho phép xác định hàm lượng anthocyanin tổng số chính xác và nhanh chóng, thậm chí khi có sự hiện diện của các hợp chất can thiệp khác. Mẫu được pha loãng trong hai dung dịch đệm: đệm kali clorua 0,025 M (pH 1,0) và đệm sodium acetate 0,4 M (pH 4,5). Tất cả các phép đo độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ được thực hiện ở bước sóng 520 nm và 700 nm (Gabriela et al., 2010).

Hàm lượng anthocyanin (theo cyanidin-3-glucoside) =  $(A \times 449,2 \times V \times F) / (\epsilon \times l)$

Trong đó: A = (A<sub>520nm</sub> - A<sub>700nm</sub>) pH 1 - (A<sub>520nm</sub> - A<sub>700nm</sub>) pH 4,5, 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),  $\epsilon$  = 26900: Hệ số hấp thụ phân tử.

#### 2.2.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu đến hàm lượng anthocyanin

Hoa đậu biếc tươi dạng đôi được ngâm trong nước ở nhiệt độ 70°C trong 60 phút. Tỷ lệ hoa sử dụng thay đổi ở các mức 2,5%, 5%, 7,5% và 10% (w/v). Cùng với đó, hoa đậu biếc khô cũng được đánh giá ở các mức 0,25%, 0,5%, 0,75% và 1%. Dịch lọc thu được từ các nghiệm thức được đánh giá hàm lượng anthocyanin để xác định tỷ lệ nguyên liệu phù hợp nhất. Hiệu suất ly trích anthocyanin được đánh giá theo công thức: H = tổng lượng anthocyanin/khối lượng khô hoa đậu biếc.

#### 2.2.3. Ảnh hưởng của thời gian chiết đến hàm lượng anthocyanin

Hoa đậu biếc tươi dạng đôi được ly trích anthocyanin trong nước ở nhiệt độ 70°C với tỷ lệ sử dụng 7,5%. Thời gian ly trích của các nghiệm thức thay đổi trong khoảng 20, 40, 60 và 80 phút. Dịch lọc thu được từ các nghiệm thức được đánh giá hàm lượng anthocyanin để xác định thời gian ly trích phù hợp nhất.

#### 2.2.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến hàm lượng anthocyanin

Hoa đậu biếc tươi dạng đôi được ly trích anthocyanin với tỷ lệ 7,5% ở 20 phút và 40 phút. Nhiệt độ ly trích giữa các nghiệm thức được thay đổi trong khoảng 40 đến 90°C, mỗi nghiệm thức cách nhau 10°C. Dịch lọc được thu và đánh giá hàm lượng anthocyanin để xác định nhiệt độ ly trích phù hợp nhất.

2.2.5. *Tối ưu ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ chiết anthocyanin từ hoa đậu biếc tươi*

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp trực giao hai yếu tố theo mô hình CCF-design. Phần mềm Modde 5.0 được sử dụng để thiết kế và xử lý số liệu thực nghiệm. Ký hiệu các biến số, giá trị mã hóa và nội dung các nghiệm thức được thể hiện trong Bảng 1 và Bảng 2.

**Bảng 1. Ký hiệu các biến số và giá trị mã hóa**

Biến số	Ký hiệu	Ký hiệu giá trị mã hóa		
		-1	0	1
Thời gian chiết (phút)	X1	20	40	60
Nhiệt độ chiết (°C)	X2	50	60	70

**Bảng 2. Thiết kế thí nghiệm tối ưu ảnh hưởng của nhiệt độ ly trích và thời gian ly trích anthocyanin**

Nghiệm thức	Các biến		Thời gian ly trích (phút)	Nhiệt độ ly trích (°C)
	X1	X2		
N 1	-1	-1	20	50
N 2	1	-1	60	50
N 3	-1	1	20	70
N 4	1	1	60	70
N 5	-1	0	20	60
N 6	1	0	60	60
N 7	0	-1	40	50
N 8	0	1	40	70
N 9	0	0	40	60
N 10	0	0	40	60
N 11	0	0	40	60

Mô hình phương trình hồi quy đa thức bậc 2 được lựa chọn để mô tả ảnh hưởng của các nhân tố lựa chọn đến hàm lượng anthocyanin (mg/L):

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_{12}X_1X_2 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2$$

Với:  $X_1, X_2$  là các biến độc lập;  $a_0$  là hệ số phương trình hồi quy;  $a_{12}$  là hệ số tương tác;  $a_{11}, a_{22}$  là hệ số bậc 2;  $Y$  là hàm lượng anthocyanin

2.2.6. *Ảnh hưởng của pH dung dịch ly trích đến hàm lượng anthocyanin*

Hoa đậu biếc tươi được ngâm trong nước với liều lượng 7,5% (w/v) ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 20 phút. pH của dung dịch ly trích được điều chỉnh

bằng acid citric 0,1% hoặc  $\text{NaHCO}_3$  0,1% để đạt được các giá trị: 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 và 8,0. Hàm lượng anthocyanin được xác định bằng phương pháp vi sai để đánh giá ảnh hưởng của pH.

2.3. *Xử lý thống kê*

Đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa bằng phương pháp Anova với độ tin cậy 95% sử dụng phần mềm Stargraphics Centurion XV; sử dụng phần mềm Modde 5.0 để bố trí mà trận tối ưu và xử lý kết quả.

3. **KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

3.1. *Ảnh hưởng của thời gian thu hái và hình dạng hoa đậu biếc*

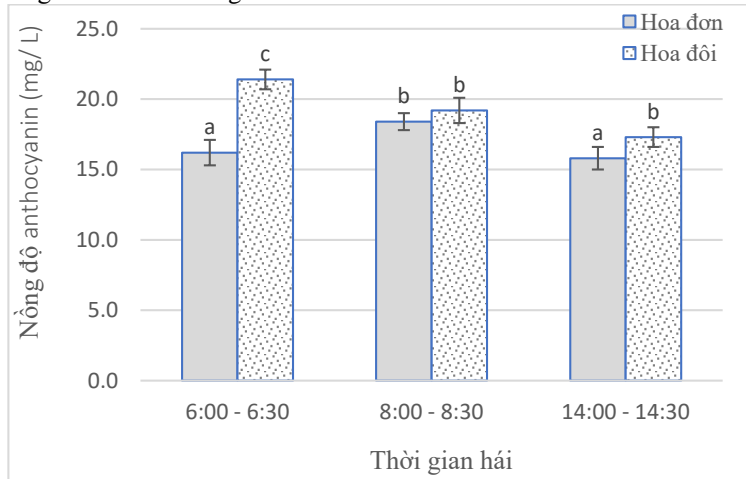


**Hình 1. Các dạng khác nhau của hoa đậu biếc.**

A) hoa dạng đôi; B) hoa dạng đơn

Hoa đậu biếc có sự đa dạng về hình thái và màu sắc (Havananda et al., 2019), mọc tại các tỉnh miền Nam Việt Nam và có thể cho ra hoa dạng đơn hoặc hoa dạng đôi (Hình 1). Cùng với màu sắc hoa, hình dạng hoa đậu biếc cũng có thể ảnh hưởng nhiều đến

hàm lượng anthocyanin. Bên cạnh đó, hoạt chất màu anthocyanin cũng có thể bị tác động nhiều bởi ánh sáng mặt trời. Hàm lượng anthocyanin của hoa dạng đơn và hoa dạng kép thu hái vào các thời điểm khác nhau được thể hiện trong Hình 2.



**Hình 2. Hàm lượng anthocyanin trong các dạng hoa đậu biếc và thời gian hái khác nhau**

Các ký tự khác nhau trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ( $P < 0,05$ ).

Hình dạng của hoa đậu biếc và thời gian thu hái có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng anthocyanin thu nhận được. Hoa dạng kép có hàm lượng anthocyanin cao nhất trong ngày khi được thu hái vào sáng sớm (6 đến 6 giờ 30), đạt 21,4 mg/L dịch chiết, cao hơn 11,4% và 23,6% so với khi thu hái lúc 8 và 14 giờ. Hoa đậu biếc dạng đơn có hàm lượng anthocyanin cao nhất khi hái lúc 8 giờ, đạt 18,4 mg/L dịch chiết, cao hơn các thời điểm hái khác nhưng vẫn thấp hơn 16,3% so với hoa dạng kép được hái lúc 6 giờ sáng. Hoa dạng kép có màu sắc rực rỡ, số lượng cánh hoa nhiều nên hàm lượng anthocyanin thu nhận được cao hơn so với hoa dạng đơn khi ly trích ở cùng tỷ lệ nguyên liệu. Hàm lượng anthocyanin thay đổi theo thời gian thu hái có thể do tác động của tia UV trong ánh sáng mặt trời. Tại các thời điểm thu hái, cường độ UV tăng dần từ sáng sớm cho đến buổi trưa. Một số công bố của Paulo et al. (2011) và Wei et al. (2022) cũng đã đề cập đến việc tia UV tác động đến độ bền của hoạt chất anthocyanin. Đây là những yếu tố mới, có ảnh hưởng đến hàm lượng anthocyanin trong hoa đậu biếc nhưng chưa được đề cập trong các nghiên cứu trước đây. Việc đánh giá ảnh hưởng của thời gian thu hái và hàm lượng anthocyanin trong các dạng hoa sẽ giúp người dân địa phương thu hái được hoa đậu biếc với chất lượng tốt nhất, tăng hiệu quả ly trích anthocyanin để làm nguyên liệu bổ sung vào các sản phẩm khác nhau.

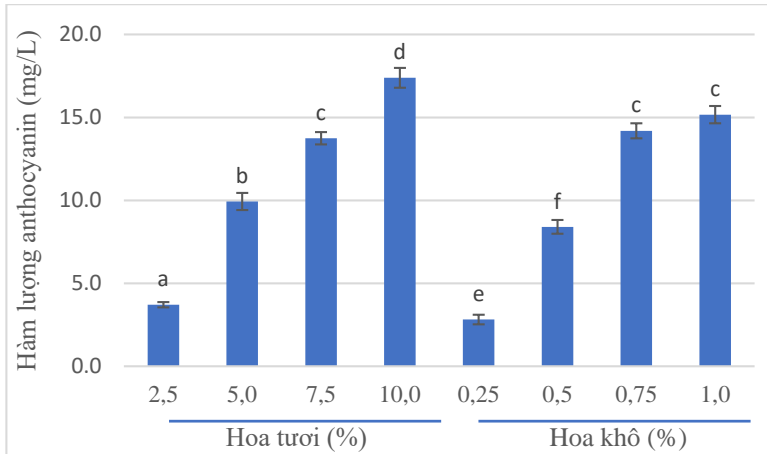
### 3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ hoa đậu biếc đến hàm lượng anthocyanin

Tỷ lệ nguyên liệu có nhiều ảnh hưởng đến việc tách chiết các chất từ thực vật thông qua tỷ lệ hòa tan của các hoạt chất mục tiêu vào dung môi chiết. Cùng với đó, quá trình sấy khô cũng có thể ảnh hưởng đến hàm lượng và thời gian ly trích anthocyanin từ hoa đậu biếc. Kết quả thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của tỷ lệ hoa đậu biếc tươi và hoa đậu biếc khô được thể hiện trong Hình 3.

Tỷ lệ nguyên liệu có ảnh hưởng lớn đến hàm lượng anthocyanin thu nhận được đối với cả hoa tươi và hoa khô. Hàm lượng anthocyanin trong dịch chiết tăng dần khi tăng tỷ lệ hoa đậu biếc. Ở tỷ lệ sử dụng 10% hoa tươi, hàm lượng anthocyanin thu được đạt  $17,39 \pm 0,6$  mg/L dịch lọc, tương ứng với hiệu suất ly trích 1,7 mg anthocyanin/ g hoa tươi. Nghiệm thức sử dụng 7,5% hoa tươi có hàm lượng anthocyanin đạt 13,75 mg/L dịch chiết, nhưng hiệu suất trích ly lại cao hơn so với khi sử dụng 10% hoa, đạt 1,83 mg anthocyanin/ g hoa tươi, tương đương với 18,3 mg/ g hoa khô. Ly trích anthocyanin từ hoa đậu biếc tươi đem lại hiệu quả cao hơn so với khi sử dụng hoa khô. Hiệu suất ly trích này cao hơn đáng kể so với các công bố trước đây khi sử dụng hoa khô, với hàm lượng anthocyanin đạt 2,19 – 3,18 mg/ g nguyên liệu (Tri et al., 2019; Hồng, 2020). Khi ngâm hoa tươi trong nước nóng, lớp màng tế bào bị hư hại

tạo điều kiện cho chất màu khuếch tán vào dung dịch nhanh chóng. Trong khi đó, hoa đậu biếc khô cần nhiều thời gian hơn để ngâm nước. Hoa khô khó chìm trong nước cũng là một trở ngại cho việc ly trích. Tuy nhiên, việc sử dụng hoa đậu biếc tươi để ly trích anthocyanin đòi hỏi cơ sở chế biến phải có

biện pháp để chủ động nguồn nguyên liệu cho việc sản xuất liên tục. Một vài nghiên cứu trước đây cũng đã thu nhận anthocyanin trên hoa đậu biếc tươi (Izirwan et al., 2020). Nhưng việc đánh giá hiệu quả thu nhận anthocyanin từ hai nguồn nguyên liệu thì chưa có nhiều tác giả đề cập đến.



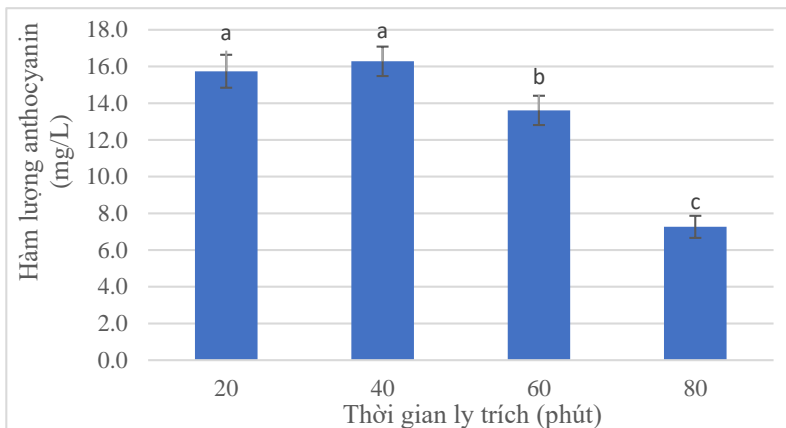
**Hình 3. Hàm lượng anthocyanin trong hoa đậu biếc tươi và khô**

Các ký tự khác nhau trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ( $P < 0,05$ ).

**3.3. Ảnh hưởng của thời gian ly trích đến hàm lượng anthocyanin**

Thời gian ly trích là yếu tố cơ bản ảnh hưởng đến hàm lượng anthocyanin hòa tan vào dung dịch. Thí

nghiệm đánh giá hiệu quả ly trích anthocyanin vào nước ở các mốc thời gian 20, 40, 60 và 80 phút. Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong Hình 4.



**Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian ly trích đến hàm lượng anthocyanin**

Các ký tự khác nhau trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ( $P < 0,05$ ).

Thời gian ly trích có ảnh hưởng nhiều đến khả năng thu nhận anthocyanin từ hoa đậu biếc. Kết quả ghi nhận ở thời điểm 20 và 40 phút cho thấy hàm lượng anthocyanin trong dung dịch không khác biệt đáng kể, đạt lần lượt  $15,7 \pm 0,9$  và  $16,3 \pm 0,8$  mg/L. Thông thường, thời gian ly trích càng lâu, các chất

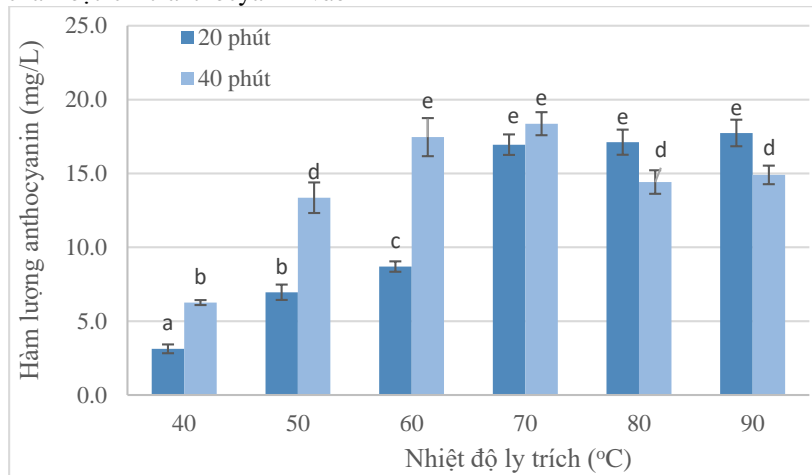
tan sẽ hòa tan càng nhiều vào dung dịch. Tuy nhiên, khi ly trích ở  $70^\circ\text{C}$  trong thời gian dài, anthocyanin sẽ bị phân hủy. Khi ly trích ở các mốc thời gian 60 và 80 phút, hàm lượng anthocyanin trong dịch chiết giảm lần lượt 13,6% và 53,9% so với ở thời điểm 20 phút. Nghiên cứu của Abdullah et al. (2017) cũng

cho thấy hàm lượng anthocyanin giảm đáng kể khi ly trích ở nhiệt độ cao trong thời gian dài.

**3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến hàm lượng anthocyanin**

Nhiệt độ là yếu tố có ảnh hưởng đến độ bền màu và tốc độ hòa tan của hoạt chất anthocyanin vào

dung dịch chiết. Hoa đậu biếc tươi sau khi thu hái được ly trích hợp chất màu ở điều kiện thích hợp với tỷ lệ 7,5% (w/v) trong thời gian 20 phút và 40 phút. Kết quả ly trích tại các nhiệt độ khác nhau được thể hiện trong Hình 5.



**Hình 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ngâm đến hàm lượng anthocyanin**

Các ký tự khác nhau trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 90% (P<0,05).

Nhiệt độ ly trích có ảnh hưởng đáng kể đến khả năng thu nhận anthocyanin từ hoa đậu biếc. Ở thời điểm 20 phút, hàm lượng anthocyanin tăng nhanh khi ly trích ở nhiệt độ 70°C so với 60°C, đạt 16,9±0,7 mg/L, không khác biệt so với khi ly trích ở nhiệt độ 80°C và 90°C. Ở thời điểm 40 phút, hàm lượng anthocyanin tăng nhanh khi ly trích ở nhiệt độ 50°C và 60°C. Tuy nhiên, ở nhiệt độ ly trích 80 và 90°C, hàm lượng anthocyanin giảm đáng kể so với nghiệm thức 70°C. Nhiệt độ và thời gian ly trích có tác động đồng thời lên khả năng hòa tan và độ bền của phân tử anthocyanin. Hai chỉ tiêu này lại có sự thay đổi trái ngược nhau theo thời gian và nhiệt độ ly trích. Các thí nghiệm sàng lọc về tác động riêng lẻ của từng yếu tố lên hàm lượng anthocyanin thu nhận

được giúp cho việc chọn lọc các thông số tối ưu hóa được cụ thể hơn. Trên cơ sở đó, phương pháp đáp ứng bề mặt bằng phần mềm Modde 5.0 được sử dụng để tối ưu khả năng thu nhận anthocyanin với thời gian từ 20 đến 60 phút và nhiệt độ từ 50°C đến 70°C.

**3.5. Tối ưu ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ ly trích anthocyanin từ hoa đậu biếc tươi**

Nhằm tìm hiểu tác động đồng thời của thời gian ly trích trong khoảng 20-60 phút và nhiệt độ khoảng 50-70°C, thí nghiệm đã xây dựng các nghiệm thức theo mô tả trong Bảng 1 và Bảng 2. Các kết quả thu được theo quy hoạch thực nghiệm bậc 2 được trình bày trong Bảng 3.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của các biến đến hàm lượng anthocyanin ly trích từ hoa đậu biếc tươi**

Anthocyanin content	Coeff. SC	Std. Err.	P	Conf. int (±)
Constant	17,3684	0,2977	2,80056e-008	0,7653
X1	0,65000	0,2369	0,0406	0,6090
X2	0,95	0,2369	0,0102	0,6090
X1*X1	0,7289	0,3646	0,1020	0,9373
X2*X2	0,7289	0,3646	0,1020	0,9373
X1*X2	-0,6999	0,2901	0,0606	0,7459
N = 11	Q <sup>2</sup> = 0,116	Cond. no. = 3,0822		
	DF = 5	R <sup>2</sup> = 0,890	Y-miss = 0	
	R <sup>2</sup> Adj. = 0,779	RSD = 0,5804		

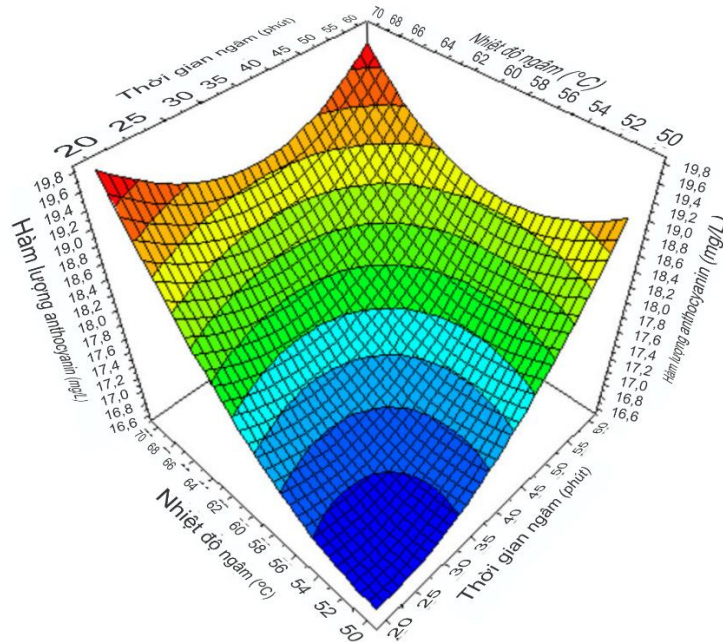
Conf. lev. = 0,95

Ảnh hưởng của mỗi biến số trong mô hình hồi quy được thể hiện ở Bảng 3 với mức ý nghĩa 95%. Kết quả cho thấy nhiệt độ và thời gian ly trích có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng anthocyanin thu được. Trong khi đó, các biến số bậc 2 lại không tác động đến hàm mục tiêu. Kết quả xử lý số liệu cho thấy tính hồi quy của phương trình tốt với  $R^2 = 0,890$

(>0,8). Dựa trên kết quả xử lý số liệu, các tham số không có ý nghĩa ( $P > 0,05$ ) được loại bỏ, phương trình hồi quy thu được như sau:

$$Y = 17,3684 + 0,65000X_1 + 0,95X_2$$

Trong đó, Y là hàm lượng anthocyanin (mg/L),  $X_1$  là thời gian ly trích ( $^{\circ}C$ ),  $X_2$  là nhiệt độ ly trích (phút).



**Hình 5. Bề mặt đáp ứng thể hiện ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ly trích đến hàm lượng anthocyanin**

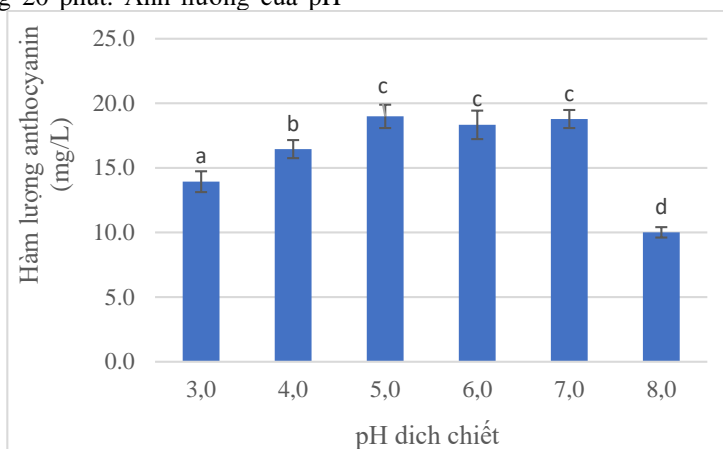
Hiệu quả thu nhận anthocyanin cao nhất được xác định thông qua tối ưu bằng phần mềm Modde 5.0. Ở thời gian chiết 20 phút, nhiệt độ chiết  $69,9^{\circ}C$ , hàm lượng anthocyanin thu được 19,8 mg/L. Kiểm tra thực nghiệm được thực hiện với các thông số chiết tối ưu cho thấy dịch chiết có hàm lượng anthocyanin đạt  $20,1 \pm 1,0$  mg/L, tương đương với 266 mg/ 100 g hoa khô. Những nghiên cứu gần đây sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt nhằm tối ưu hóa nhiệt độ và thời gian chiết anthocyanin từ hoa đậu biếc cũng cho thấy sự khác biệt không nhiều về các thông số. Nghiên cứu của Thuy et al. (2021) cho thấy dung dịch anthocyanin chiết ở  $74^{\circ}C$  trong 56,8 phút có hàm lượng đạt 39,9 mg/L (tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi là 1/20), tương đương với 83,8 mg/100 g hoa khô. Tri et al. (2018) đã tối ưu quá trình tách chiết anthocyanin từ cánh hoa đậu biếc khô (tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi sử dụng là 1/23) bằng

phương pháp đáp ứng bề mặt với dung môi sử dụng là ethanol 50%. Hàm lượng anthocyanin cao nhất đạt 132,7 mg/L khi chiết ở  $60,6^{\circ}C$  trong 46 phút, tương đương với 318,5 mg/100g cánh hoa khô. Izirwan et al. (2019) đã tách chiết anthocyanin từ hoa đậu biếc với dung môi là ethanol 95% (tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu là 15/1) ở  $60^{\circ}C$  trong 15 phút. Hàm lượng anthocyanin tổng số thu được đạt hiệu suất 45,7 mg/ 100 g hoa khô. Việc sử dụng hoa đậu biếc tươi trong nghiên cứu này có thể là nguyên nhân dẫn tới sự khác biệt về hàm lượng anthocyanin thu nhận so với các công bố trước đây. Ngoài ra, hoa đậu biếc phát triển tại các vùng khí hậu khác nhau sẽ có màu sắc và hàm lượng hoạt chất anthocyanin khác nhau.

### 3.6. Ảnh hưởng của pH dung dịch ly trích đến hàm lượng anthocyanin

Hoa đậu biếc tươi được ly trích trong nước ở nhiệt độ 70°C trong 20 phút. Ảnh hưởng của pH

được đánh giá bằng cách thay đổi pH dung dịch ly trích từ 3,0 đến 8,0. Hàm lượng anthocyanin trong các nghiệm thức được thể hiện trong Hình 6.



**Hình 6. Ảnh hưởng của pH dịch chiết đến hàm lượng anthocyanin**

Các ký tự khác nhau trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ( $P < 0,05$ )

pH dung dịch ly trích không chỉ làm thay đổi màu sắc dung dịch mà còn có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng anthocyanin thu nhận được thông qua việc thay đổi trạng thái của phân tử hoạt chất này. Khi pH dịch chiết từ 5,0 đến 7,0, dung dịch có màu từ xanh đến xanh tím, hàm lượng anthocyanin dao động từ 18,3 đến 19,0 mg/L, khác biệt không có ý nghĩa ở độ tin cậy 95%. Hàm lượng anthocyanin trong dịch chiết giảm khi pH dung dịch có tính acid. So với khi chiết ở pH 7,0, hàm lượng anthocyanin giảm 12,5% khi ly trích ở pH 4,0 và giảm 25,9% khi ly trích ở pH 3,0. Hàm lượng chất màu cũng giảm đến 46,8% khi ly trích ở pH 8,0. Sự khác biệt này là do ở điều kiện base tất cả các anthocyanin kém ổn định (một đặc điểm gia tăng tương ứng với pH) và có thể dẫn tới các con đường phân hủy khác nhau, làm giảm màu sắc (Roberto et al., 2020). Việc đánh giá hiệu quả ly trích anthocyanin tại các giá trị pH khác nhau giúp nâng cao hiệu quả thu nhận hoạt chất và tạo ra các sản phẩm có màu sắc đẹp từ hoa đậu biếc.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abdullah, M. M., Nuri, A., Purwiyatno, H., & Didah, N. F. (2017). Thermal Degradation of Anthocyanins in Butterfly Pea (*Clitoria ternatea* L.) Flower Extract at pH 7. *American Journal of Food Science and Technology*, 5(5), 199-203. <http://pubs.sciepub.com/ajfst/5/5/5>, doi:10.12691/ajfst-5-5-5

### 4. KẾT LUẬN

Hoa đậu biếc tươi dạng đôi được thu hái vào khoảng 6 giờ sáng cho hiệu quả ly trích anthocyanin tốt nhất. Nhiệt độ và thời gian ly trích có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng anthocyanin. Ở tỷ lệ nguyên liệu 7,5%, dịch chiết có hàm lượng anthocyanin cao nhất khi ly trích với nước ở nhiệt độ 69,9°C trong thời gian 20 phút. pH cũng có ảnh hưởng đến quá trình ly trích, hàm lượng anthocyanin cao nhất khi ly trích pH từ 5,0 đến 7,0. Kết quả nghiên cứu là cơ sở cho việc sử dụng hoa đậu biếc như một nguồn anthocyanin, giúp đem lại nguồn thu nhập tăng thêm cho người dân địa phương và hình thành nên các vùng trồng hoa đậu biếc làm nguyên liệu cho các cơ sở chế biến sâu.

### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Thủ Dầu Một trong đề tài mã số DT.20.2-036.

Gabriela, S., Simona, L., Constanta, S. & Sabina, Z. (2010). Spectrophotometric study on stability of anthocyanins extracts from black grapes skins. *Ovidius University Annals of Chemistry*, 21(1), 101-104.

Havananda, T., & Luengwilai, K. (2019). Variation in floral antioxidant activities and phytochemical properties among butterfly pea (*Clitoria ternatea*



- L.) germplasm. *Genet Resour Crop Evol*, 66, 645–658.  
<https://doi.org/10.1007/s10722-018-00738-6>
- Hồng, H. T. (2020). Nghiên cứu quá trình chiết và đánh giá độ ổn định của anthocyanin trong hoa đậu biếc (*Clitoria ternatea* L.). *Tạp chí Khoa học & Công nghệ Trường Đại học Nguyễn Tất Thành*, 12, 50-57.  
<https://doi.org/10.55401/jst.v3i4.227>
- Hiển, N. T., Thủy, N. T. T., & Loan, N. T. (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*, 10(5), 738-746.
- Izirwan, I., Munusamy, T. D., Hamidi, N. H., & Sulaiman, S. Z. (2020). Optimization of Microwave-assisted Extraction of Anthocyanin from *Clitoria ternatea* Flowers. *International Journal of Mechanical Engineering and Robotics Research*, 9(9), 1246-1252.  
<https://doi.org/10.18178/ijmerr.9.9.1246-1252>
- Lan, N. T. L., & Quyên, L. T. L. (2006). Nghiên cứu ảnh hưởng của hệ dung môi đến khả năng chiết tách chất màu anthocyanin có độ màu cao từ quả dâu Hội An. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Trường Đại học Đà Nẵng*, 44, 71-76.
- Liên, D. T. P., & Phương, N. N. M. (2014). Ảnh hưởng của biện pháp xử lý nguyên liệu đến khả năng ly trích và sự ổn định anthocyanin từ bắp cải tím (*Brassica oleracea*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, Số chuyên đề: Nông nghiệp*(1), 1-7.
- Nhi, K. T., Kiệt, N. T., & Nhơn, H. T. N. (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), 100 – 107.
- Paulo, H. M., Ronei, J. P., Ieda, S. S., & Romà, T. (2011). Investigation of the pH effect and UV radiation on kinetic degradation of anthocyanin mixtures extracted from *Hibiscus acetosella*. *Food Chemistry*, 125, 1020–1027.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.005>
- Roberto, M., Antonio, F., Luciana, M., & Paula, S. (2020). Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases. *Molecules*, 25, 3809.  
[doi:10.3390/molecules25173809](https://doi.org/10.3390/molecules25173809)
- Tri, N. P., Duy, C. N., Tri, D. L., Thinh, P. V., Xuan, T. L., Viet, V. N. D., Hieu, V. Q., Duy, N. D., & Giang, B. L. (2018). Extraction of anthocyanins from Butterfly pea (*Clitoria ternatea* L. Flowers) in Southern Vietnam: Response surface modeling for optimization of the operation conditions. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 542, 012032.  
[doi:10.1088/1757-899X/542/1/012032](https://doi.org/10.1088/1757-899X/542/1/012032)
- Thuy, N. M., Ben, T. C., Minh, V. Q., & Tai, N. V. (2021). Effect of extraction techniques on anthocyanin from butterfly pea flowers (*Clitoria ternatea* L.) cultivated in Vietnam. *J. Appl Biol Biotech*, 9(6), 173–180.  
<https://doi.org/10.7324/JABB.2021.96022>
- Tuyết, N. T., & Duyên, T. T. (2019). Nghiên cứu quá trình chiết chất màu anthocyanin từ hoa đậu biếc (*Clitoria ternatea*). *Tạp chí Công nghiệp Nông thôn*, 36, 81-92.
- Wei, L., Liqiang, T., Yao, Z., Xiaoqin, T., Jiacheng, H., Wei, C., & Qian, T. (2020). The effects of ultraviolet A/B treatments on anthocyanin accumulation and gene expression in dark-purple tea cultivar ‘Ziyan’ (*Camellia sinensis*). *Molecules*, 25, 354.  
[doi:10.3390/molecules25020354](https://doi.org/10.3390/molecules25020354)