

Tách chiết và đánh giá thành phần chất màu carotenoids từ bí đỏ (*Cucurbita pepo*)

Phan Nguyễn Quỳnh Anh*, Lê Thị Hồng Nhan



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Nghiên cứu này tiến hành thử nghiệm tăng quy mô sản xuất của quá trình chiết xuất chất màu carotenoid từ 3 loại bí đỏ khác nhau (bí Vàm Răng (*C. maxima*), bí hồ lô (*C. moschata*) và bí Nhật (*Delica*)). Với các điều kiện tách chiết phù hợp, bột bí được chiết với dung môi cồn 96° với tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 12/1 mL/g ở nhiệt độ 50 °C trong vòng 60 phút. Hàm lượng carotenoids (7,5- 8 mg/mL) và hiệu quả quá trình chiết của cao màu (88,37 mg/g) của bí hồ lô là cao nhất. Giá trị hàm lượng chất màu carotenoid cũng như thành phần cao màu được đánh giá thông qua phương pháp quang phổ hấp thụ UV-Vis ở các bước sóng 432, 444 và 468 nm và phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) với hệ dung môi giải ly isopropanol: MeOH (2:98), xác định tại bước sóng hấp thụ 450 nm. Kết quả đo của 2 phương pháp cũng phù hợp với nhau đều cho cùng một xu hướng là bí hồ lô có hàm lượng hoạt chất carotenoids tổng là cao nhất. Kết quả cho thấy thành phần carotenoids phức tạp của 3 loại bí, trải dài ở các thời gian lưu khác nhau chứng tỏ có nhiều cấu trúc dẫn xuất với độ phân cực khác nhau. Đây là tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn về nguồn nguyên liệu chất màu tự nhiên nói chung và chất màu carotenoids nói riêng. Ngoài ra cũng cần có thêm các nghiên cứu để tăng cường độ bền của các thành phần của cao màu carotenoids.

Từ khoá: Bí đỏ, *Cucurbita pepo*, carotenoids, chất màu, HPLC

GIỚI THIỆU

Bí đỏ có nguồn gốc từ Trung Mỹ, gồm 2 loài phổ biến nhất ở vùng nhiệt đới là *Cucurbita pepo* và *Cucurbita moschata*, loài rau ăn quả thuộc họ bầu bí (*cucurbitaceae*)¹ được trồng và sử dụng rộng rãi trên thế giới. Các nghiên cứu cho thấy bí đỏ có hàm lượng chất đạm 0,8-2%, chất béo 0,1-0,5%, đường & bột chiếm 3,3-11% và các khoáng chất P, Mg, Na, K. Thịt bí đỏ là nguồn cung cấp Vitamin A, đóng vai trò quan trọng cho thị giác, tăng trưởng xương và sự sinh sản, tham gia tổng hợp protein, điều hòa hệ miễn dịch, bảo vệ da. Trong bí đỏ còn chứa một chất cần thiết cho hoạt động của não bộ, đó là acid glutamic, đóng vai trò quan trọng trong việc bồi dưỡng thần kinh². Bí đỏ có màu vàng cam đặc trưng và các nghiên cứu đã xác định là các hoạt chất thuộc họ carotenoids và thành phần chính là β -carotene và lycopene^{3,4}. Một số nghiên cứu khác cho thấy còn có hàm lượng lớn của lutein và còn có một số nhóm khác với hàm lượng nhỏ như neoxanthin, violaxanthin, lactucaxanthin, α -cryptoxanthin, β -cryptoxanthin và các dẫn xuất β -carotene như 5,6-epoxide, α -carotene, 9Z- β -carotene and 15Z- β -carotene³⁻⁷. Carotenoids vừa đóng vai trò là một chất màu tự nhiên với phổ màu vàng-vàng cam, lại là một hoạt chất kháng oxi hóa mạnh, được xem như tiền chất vitamin A. Chúng được sử dụng trong

các sản phẩm chức năng và được phẩm để chăm sóc các bệnh liên quan mắt, tim mạch.

Một số nghiên cứu trong và ngoài nước cũng tách carotenoid bằng phương pháp CO₂ siêu tới hạn từ bí ngô (*Cucurbita moschata* Duch)^{8,9}. Các nghiên cứu của nhóm H. Dietrich, M. Hey và cộng sự cũng đã nghiên cứu về nước và bã ép của bí ngô, thành phần và nồng độ của chúng phụ thuộc nhiều vào giống bí ngô và cách chế biến¹⁰. Sự khác biệt đáng kể cho thấy hàm lượng carotenoid thay đổi từ 8 mg/L đến 173 mg/L. Hàm lượng đường tổng tương ứng từ 7,8 - 60,8 g/L. Do hàm lượng đường thấp nên nước ép bí ngô có thể là một nguồn thích hợp cho đồ uống có calo thấp^{8,9}.

Tại Việt Nam giống bí đỏ phổ biến là bí vàm rắng với hình dạng trái tròn, dẹt và có khía. Thời gian gần đây có giống bí dài cũng đã được trồng rộng rãi khu vực Đông Nam bộ và cao nguyên. Các nghiên cứu về đối tượng bí này trong nước chưa nhiều, đã có những nghiên cứu tập trung xây dựng điều kiện tách chiết chất màu carotenoids này nhưng chưa đánh giá độ bền cũng như thành phần cụ thể làm nên hoạt tính sinh học của chúng. Vì vậy, đề tài này tập trung sử dụng những điều kiện tách chiết của những nghiên cứu trước¹¹ khi xây dựng quy trình trích ly hỗn hợp chất màu carotenoids từ bí đỏ dài tại Việt Nam để đánh giá những thành phần có hoạt tính sinh học và độ bền của chất màu tách chiết được.

Khoa Kỹ thuật Hoá học, Trường Đại học Bách khoa, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Liên hệ

Phan Nguyễn Quỳnh Anh, Khoa Kỹ thuật Hoá học, Trường Đại học Bách khoa, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Email: pnqanh@hcmut.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 03-3-2019
- Ngày chấp nhận: 09-4-2019
- Ngày đăng: 31-12-2019

DOI :10.32508/stdjet.v2iS12.465



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Trích dẫn bài báo này: Anh P N Q, Thị Hồng Nhan L. **Tách chiết và đánh giá thành phần chất màu carotenoids từ bí đỏ (*Cucurbita pepo*).** *Sci. Tech. Dev. J. - Eng. Tech.*; 2(S12):S115-S120.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu: Bí hồ lô (*C. moschata*) được trồng ở Tiền Giang, Bí vòm răng (*C. maxima*) được trồng ở Kiên Giang, và bí đỏ Nhật (*Delica*) được trồng ở Đà Lạt. Bí được thu hoạch sau 4 tháng trồng, trái già có vỏ cứng màu vàng, có phần trắng và cuống vàng. Quy trình chiết chất màu carotenoids được sử dụng theo nghiên cứu trước của Wellburn⁸. Bí đỏ thái lát mỏng 2-5mm, sấy và nghiền mịn thành bột bí với kích thước hạt nhỏ hơn 1 mm. Bột bí được chiết bằng cồn 96^o với tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu là 12/1 mL/g ở 50^oC trong 60 phút (5g/mê). Dịch màu được loại dung môi bằng cô quay chân không để thu cao màu đậm đặc. Hàm lượng chất carotenoids được xác định bằng phương pháp đo quang phổ hấp thụ tại 2 bước sóng hấp thụ cực đại 648 và 666 nm dựa theo công bố của Wellburn⁸. Hiệu quả chiết chất màu (H) và nồng độ carotenoids tổng (C_t) được tính dựa trên lượng carotenoids tổng thu được so với nguyên liệu khô tuyệt đối⁸. Màu sắc ngoại quan được đo trên máy Minolta CR-400 với không gian màu CIE LCh.

Thành phần và hàm lượng carotenoids trong mẫu được xác định dựa theo quy trình của Viện Kiểm nghiệm thuốc Tp. Hồ Chí Minh. Mẫu được xử lý tách bằng chloroform, làm khô và hoàn tan lại bằng isopropanol, sau đó phân tích trên máy sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC Agilent 1260, cột C18 pha đảo, đầu dò DAD, hệ dung môi giải ly isopropanol: MeOH (2:98) và xác định tại bước sóng hấp thụ 450 nm. Hàm lượng các thành phần được tính dựa trên diện tích peak và quy về β -carotene.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đánh giá sơ bộ thành phần dịch chiết và cao chất màu

Nghiên cứu thử nghiệm tiến hành trên dịch chiết của 3 loại bí đỏ tươi và khô. Phổ hấp thụ luôn xuất hiện 3 đỉnh tại bước sóng hấp thụ 432, 444 và 468 nm, là dấu hiệu sự có mặt của họ chất màu carotenoids trong sản phẩm (Hình 1), phù hợp với các nghiên cứu trước đây cũng với bước sóng hấp thụ 428-480 nm³⁻⁷. Ngoài ra, các nghiên cứu khác cũng cho thấy sự tồn tại của một số dẫn xuất của chlorophylls và xanthophylls, vùng đỉnh hấp thụ nhỏ tại 664 nm⁷.

Dịch màu có màu vàng cam, cho thấy thành phần chính là hỗn hợp của carotenoids với đỉnh giữa (tại 444 nm) là β -carotene và lutein. Giá trị hàm lượng carotenoids tổng trong bột bí khô được sử dụng như hàm lượng tổng của nguyên liệu nghiên cứu. Bí hồ lô cho giá trị hàm lượng chất màu cao nên sử dụng làm đối tượng chính cho khảo sát về thành phần tiếp theo.

Thử nghiệm tăng quy mô quá trình chiết

Với các điều kiện chiết đã được khảo sát, nghiên cứu được thực hiện lặp lại 10 lần và kết quả cho thấy các thử nghiệm có độ lặp lại tốt. Nồng độ chất màu carotenoids tổng có giá trị trung bình C_t là $8,152 \pm 0,161$ mg/mL, hiệu quả chiết chất màu H là $86,989 \pm 4,328$ mg/g. Để dễ dàng khi nghiên cứu thành phần và ứng dụng trên thực tế, nghiên cứu tiến hành thử nghiệm tăng quy mô quá trình chiết. Khi tăng quy mô chiết lên thì có sự thay đổi rõ rệt trong hiệu quả chiết. Hàm lượng chất màu carotenoids trong lần chiết 1 tăng khi tăng quy mô 1-3 lần, nhưng sau đó giảm mạnh (Hình 2).

Sự giảm hàm lượng màu có thể do thể tích chiết lớn, các thao tác thực hiện trong môi trường ánh sáng nên có thể gây phân hủy chất màu. Tuy nhiên hiệu quả thu chất màu so với nguyên liệu (H) cũng tăng (Hình 3) khi tăng quy mô.

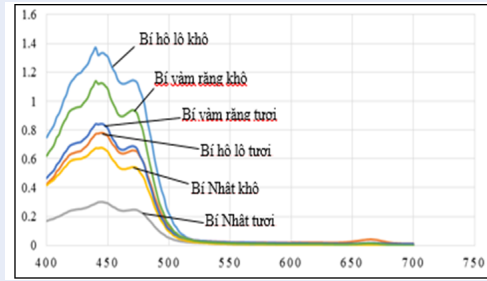
Sự tăng quy mô đã làm giảm thất thoát dịch chiết trong quá trình chiết như bám vào bã, thất thoát theo dụng cụ... Các yếu tố này ảnh hưởng lớn với quy mô thí nghiệm nhỏ nhưng sử dụng các dụng cụ không phù hợp.

Các khảo sát trên chỉ thực hiện chiết dịch màu từ nguyên liệu 1 lần, nhưng nếu lặp lại chiết tận dụng trên cùng bã và thêm 2 lần nữa thì hiệu quả thu chất màu không cao vì các lần sau hàm lượng màu rất thấp (Hình 3). Khi tính tổng lượng màu chiết được thì thể hiện rõ việc tận dụng bã để chiết là không hiệu quả, chỉ tăng thêm khoảng 20% lượng màu so với lần chiết đầu tiên, trừ quy mô x10 thì hiệu quả tăng thêm khoảng 35% (Hình 3). So với quy mô tăng 10 lần nhưng chỉ 1 lần chiết thì hiệu suất là 34,7%. Tuy nhiên, quá trình chiết còn bị tác động nhiều yếu tố dẫn đến suy giảm chất lượng chất màu. Cần có các nghiên cứu sâu hơn trên các hệ thống chiếu sáng để đảm bảo độ bền màu cũng như chất lượng sản phẩm.

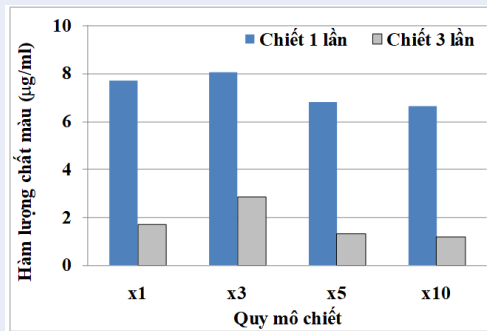
Tính chất dịch chiết và cao màu

Dịch chiết được loại bớt dung môi để thu cao màu. Lượng dung môi còn lại khoảng 23-25% cồn, điều này giúp cho cao màu có độ nhớt giảm, dễ đông rớt và cũng như kháng vi sinh tốt hơn. Tuy nhiên, quá trình loại dung môi có thể làm biến đổi mạnh hàm lượng carotenoids tổng trong sản phẩm cao màu. Điều này có thể thấy qua việc giảm thể tích nhưng nồng độ của carotenoids tổng tăng không đáng kể do quá trình loại dung môi kéo dài ở nhiệt độ 50-60^oC và ảnh hưởng của ánh sáng nên các carotenoids bị biến đổi mạnh. Sự biến đổi này cũng phụ thuộc vào từng loại bí khác nhau.

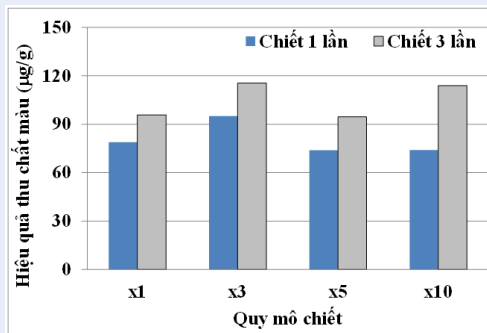
Để có cái nhìn tổng quát về 3 loại nguyên liệu đang nghiên cứu nên thực hiện trích sơ bộ để thấy hàm



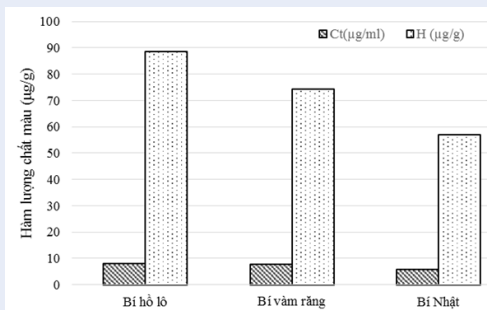
Hình 1: Phổ hấp thụ của dịch chiết bột bí.



Hình 2: Ảnh hưởng của quy mô chiết đến hàm lượng chất màu.



Hình 3: Ảnh hưởng của quy mô chiết đến hiệu quả thu chất màu.



Hình 4: Hàm lượng carotenoid trong 3 loại bí.

lượng của từng loại nguyên liệu và loại bí nào có hàm lượng vượt trội hơn với quy mô 5g/mẻ.

Dựa vào **Hình 4** cho thấy hiệu quả trích chất màu trên 3 loại bí khác nhau và bí hồ lô có hiệu quả trích cao nhất bên cạnh đó bí vòm rặng cũng có hiệu quả trích chất màu khá cao, nhưng bí Nhật (*Delica*) lại có hiệu quả trích chất màu thấp hơn 2 loại bí kia.

Các nghiên cứu về tính chất cơ bản của dịch chiết và cao màu của các loại bí chỉ cho thấy màu sắc của dịch chiết đi từ vàng sậm đến vàng ánh xanh, màu sắc của cao màu đi từ vàng tươi đến vàng đậm (**Hình 5**), hàm lượng carotenoids tổng của bí hồ lô là cao nhất. Để có thể đánh giá thành phần của dịch chiết và cao màu, các sản phẩm cao màu từ bí đỏ được đánh giá bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) tại bước sóng 450 nm và so sánh với β -carotene và lutein chuẩn. Kết quả cho thấy thành phần carotenoids phức tạp của 3 loại bí, trải dài ở các thời gian lưu khác nhau chứng tỏ có nhiều cấu trúc dẫn xuất với độ phân cực khác nhau. Điều này cho thấy sản phẩm là hỗn hợp nhiều cấu trúc dẫn xuất của carotenoids, tương đồng với các công bố bí đỏ trước đây⁹. Mẫu chuẩn lutein và β -carotene được phân tích, cho peak tại thời gian lưu 2,26 và 19 phút (**Hình 6**). Phổ đồ cho thấy thành phần caroteinoid của bí đỏ chủ yếu dạng phân cực, đồng phân của lutein, tương ứng vùng thời gian lưu thấp. Ở bí vòm rặng thì thành phần ở thời gian lưu 4,25 phút cũng cao hơn. Thành phần β -carotene không cao trong thành phần của bí đỏ, thể hiện qua độ cao của các peak tại thời gian lưu 19 phút. Đặc biệt, bí hồ lô xuất hiện thêm một peak khác tại thời gian lưu khoảng 18,1 phút, dự đoán là đồng phân phân cực thấp của β -carotene. Đối với bí hồ lô thì thành phần β -carotene chiếm ưu thế hơn các thành khác, lên đến 30,96%. Trong khi đó, bí Nhật thì lutein chiếm ưu thế, lên đến 24,36%.

Hàm lượng carotenoids tổng được tính dựa trên tổng diện tích của các peak carotenoids trên phổ và quy về đường chuẩn của β -carotene. Kết quả cho thấy hàm lượng tổng carotenoids của bí hồ lô là cao nhất, lên đến 6,253 $\mu\text{g}/\text{mL}$ cao. Các kết quả này thấp hơn các giá trị nồng độ xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ UV-Vis sử dụng công thức tính toán của Wellburn⁹. Điều này có thể là do sự thất thoát mẫu trong quá trình xử lý trải qua nhiều giai đoạn, bên cạnh đó sự khác nhau về độ nhạy tín hiệu cũng như độ chính xác của phương pháp nên các kết quả bằng HPLC thấp hơn. Tuy nhiên, cả hai phương pháp đều cho cùng một xu hướng là bí hồ lô có hàm lượng hoạt chất carotenoids tổng là cao nhất.

KẾT LUẬN

Đề tài đã thử nghiệm tăng quy mô tách chiết cũng như đánh giá thành phần hỗn hợp chất màu carotenoids

từ ba loại bí đỏ (*Cucurbita pepo* L.) trong đó Bí hồ lô cho kết quả tốt nhất nên được chọn làm nguyên liệu cho các khảo sát kế tiếp. Từ nguyên liệu được sấy khô và quy trình đã được xây dựng sẵn, sản phẩm cao màu được đánh giá thành phần thông qua hai phương pháp quang phổ hấp thụ và sắc ký lỏng hiệu năng cao cho thấy thành phần β -carotene chiếm ưu thế hơn các thành khác, lên đến 30,96%. Từ các kết quả trên, nhóm nghiên cứu có thể tiếp tục các khảo sát tăng độ bền cho các cao màu khi sử dụng cũng như định hướng khảo sát thêm các hoạt tính của các thành phần có trong nguồn chất màu tự nhiên phong phú này.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Bách Khoa, ĐHQG-HCM trong khuôn khổ **Đề tài mã số T-KTHH-2018-35**.

Xin cảm ơn ThS. Nguyễn Thị Mỹ Nhiên và các bạn trong phòng thí nghiệm hóa hữu cơ đã hỗ trợ trong quá trình chuẩn bị nguyên liệu.

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

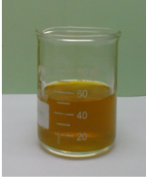



Nhóm tác giả cam kết không có sự xung đột lợi ích.

ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

- Tác giả Phan Nguyễn Quỳnh Anh: chuẩn bị thí nghiệm, thu thập số liệu, viết bài.
- Tác giả Lê Thị Hồng Nhan: viết và chỉnh sửa bài báo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Perry A, Rasmussen H, Johnson EJ. Xanthophyll (lutein, zeaxanthin) content in fruits, vegetables and corn and egg products. *J Food Compos Anal.* 2009;22(1):9–15. Available from: 10.1016/j.jfca.2008.07.006.
2. Norshazila S, Rashidi O, Irwandi J, Has-Yun HY. Scheme of obtaining β -Carotene standard from pumpkin flesh. *Int Food Res J.* 2012;19(2):531–5.
3. Ben-amotz A, Fishler R. Analysis of carotenoids with emphasis on 9-cis β -carotene in vegetables and fruits commonly consumed in Israel. *Food Chem.* 1998;62(4):515–20. Available from: 10.1016/S0308-8146(97)00196-9.
4. Azizah AH, Wee KC, Azizah O, Azizah M. Effect of boiling and stir frying on total phenolics, carotenoids and radical scavenging activity of pumpkin (*Cucurbita moschato*). *Int Food Res J.* 2009;16:45–51.
5. Murkovic M, Müllleder U, Neunteufl H. Carotenoid content in different varieties of pumpkins. *J Food Compos Anal.* 2002;202(15):633–8. Available from: 10.1006/jfca.2002.1052.
6. Tee ES, Lim CL. Carotenoid Composition and Content of Malaysian Vegetables and Fruits by the AOAC and HPLC Methods. *Food Chem.* 1991;41(3):309–39. Available from: 10.1016/0308-8146(91)90057-U.

Dịch chiết	 <p>Bí hồ lô</p>	 <p>Bí vằm răng</p>	 <p>Bí Nhật</p>
Cao chiết	 <p>Bí hồ lô</p>	 <p>Bí vằm răng</p>	 <p>Bí nhật</p>

Hình 5: Ngoại quan dịch chiết - cao chiết 3 loại bí.



Hình 6: Kết quả phân tích 3 loại bí đỏ theo phương pháp HPLC.

7. Muntean E, Lazar V, Muntean N. HPLC-PDA analysis of carotenoids and chlorophylls from Cucurbita pepo L. Convar. Giromontiina fruits. Buletinul USAMV-CN. 2006;62/ 2006:94–9.
8. Wellburn AR. The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. J Plant Physiol. 1994;144(3):307–13. Available from: 10.1016/S0176-1617(11)81192-2.
9. Krinsky NI. The antioxidant and biological properties of the carotenoids. Ann N Y Acad Sci. 1998;854(1):443–7. PMID: 9928451. Available from: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb09923.x.
10. Dietrich H, Hey M, Patz C, Kürbel P, Froehling B. Carotenoid Content And Flavor Of Pumpkin Juice. In: Carotenoid Cleavage Products; 2013. p. 81–93. Available from: 10.1021/bk-2013-1134.ch008.
11. Nhiên NTM, Anh PNQ, Trinh NTC, Nhan LTH, Anh PK. Nghiên cứu chất màu từ một số giống bí đỏ tại Việt Nam. Tạp chí Tài nguyên & môi trường. 2017;19(273):26–8.

Extracting and determining components in the carotenoids colorant from pumpkin (*Cucurpita pepo*)

Anh Nguyen Quynh Phan*, Nhan Thi Hong Le



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

ABSTRACT

In this paper, the extraction of carotenoids colorants from three types of pumpkin (Vam Rang (*C. maxima*), ho lo (*C. moschata*) and Japan pumpkin (*Delica*)) were investigated to scale up. With suitable conditions, the pumpkin powder should be extracted with alcohol 96° with a solvent / material ratio of 12/1 mL/g at 50°C for 60 minutes. The content of carotenoids (7,5- 8 mg/mL) and the extraction efficiency of the color extract (88,37 mg/g) of ho lo pumpkin was the highest. The carotenoid concentration and extraction efficiency were determined by UV/Visible spectroscopy (432, 444 and 468 nm), and high performance liquid chromatography (the mobile phase condition isopropanol/MeOH:2/98, 450 nm). The results of the two methods were also suitable for each other. The results showed that the complex carotenoids were composition of 3 types compounds. In addition, more research is needed to enhance the durability of carotenoids.

Key words: pumpkin, Cucurbita pepo, carotenoids, colorant, HPLC

Faculty of Chemical Engineering,
University of Technology, VNU-HCM,
Vietnam

Correspondence

Anh Nguyen Quynh Phan, Faculty of
Chemical Engineering, University of
Technology, VNU-HCM, Vietnam

Email: pnqanh@hcmut.edu.vn

History

- Received: 03-3-2019
- Accepted: 09-4-2019
- Published: 31-12-2019

DOI : 10.32508/stdjet.v2iS12.465



Copyright

© VNU-HCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Cite this article : Phan A N Q, Le N T H. **Extracting and determining components in the carotenoids colorant from pumpkin (*Cucurpita pepo*).** *Sci. Tech. Dev. J. – Engineering and Technology*; 2(S12):SI15-SI20.