

4.2. Đề nghị

Khuyến cáo áp dụng các biện pháp kỹ thuật trên vào sản xuất và tiếp tục nghiên cứu đặc tính nở hoa, và các biện pháp điều chỉnh sự ra hoa của lan Đại Châu vào dịp tết Nguyên Đán để nâng cao hiệu quả trồng lan rừng tại Điện Biên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Việt Chương và Nguyễn Việt Thái, 2002. *Kỹ thuật trồng và kinh doanh phong lan*. NXB Thành phố Hồ Chí Minh. TP. Hồ Chí Minh.

Đinh Thị Dinh, Đặng Văn Đông, 2014. Kết quả nghiên cứu đặc điểm hình thái và giải phẫu của một số giống hoa lan Đại Châu [*Rhynchostylis gigantea* (Lindl)

Ridl] triển vọng ở miền Bắc Việt Nam. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, số 1/2014 (3).

Đặng Văn Đông, Trịnh Khắc Quang, Chu Thị Ngọc Mỹ, Đinh Thị Dinh, 2010. Ảnh hưởng của một số biện pháp kỹ thuật đến sinh trưởng, phát triển và chất lượng của lan Đại Châu *Rhynchostylis gigantea* Riddl tại Gia Lâm, Hà Nội. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 5 (18)/2010.

Phan Thúc Huân, 1989. *Hoa lan, cây cảnh và vấn đề phát triển sản xuất, kinh doanh, xuất khẩu*. NXB Thành phố Hồ Chí Minh. TP. Hồ Chí Minh.

Nguyễn Hạc Thúy, 2001. *Cẩm nang sử dụng các chất dinh dưỡng cây trồng và phân bón cho năng suất cao*. NXB Nông nghiệp. Hà Nội.

Study on technical measures for *Rhynchostylis gigantea* in Dien Bien province

Quang Thi Duong, Dang Van Dong

Abstract

Rhynchostylis gigantea (Lindl.) Ridl, found in Dien Bien, a Northern mountainous province of Vietnam, is one of the valuable indigenous orchids, standing out with its beautiful colour, attractive fragrance and long-lasting duration of flowers. However, *R. gigantea* has not been fully studied, especially the growing technique to commercialize this potential flower. Therefore, the research was conducted to develop effective planting method for *R. gigantea*. The results showed that the growing season should begin in the middle of June; the most suitable planting medium was fresh longan wood (*D. longan*) (cylindrical, 40 cm × 20 cm). The most effective growth stimulant was Atonik 1.8SL 10ml, which led to 85.79 cm root length, 9.56 leaves, 25.1 cm leaf blade length, 23.97 cm flower stem, and 25.03 flowers per stem. Besides, the best fertilizer was Dau Trau 501 (30:15:10), which led to significant improvement in growing speed and flower quality of *R. gigantea* in comparison to the control.

Keywords: *Rhynchostylis gigantea*, indigenous orchids, fresh longan wood, growing season

Ngày nhận bài: 14/11/2017

Ngày phản biện: 20/11/2017

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Lý

Ngày duyệt đăng: 11/12/2017

NGHIÊN CỨU TÍNH SẠCH ANTHOCYANIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ CỘT TỪ CỦ KHOAI LANG TÍM

Nguyễn Đức Hạnh¹, Hoàng Thị Lệ Hằng,
Nguyễn Minh Châu¹, Nguyễn Hoàng Việt

TÓM TẮT

Trong bài báo này, các thông số công nghệ nhằm tinh sạch anthocyanin từ củ khoai lang tím hiện đang được trồng tương đối rộng rãi tại Việt Nam được tiến hành xác định. Hấp phụ là phương pháp hiệu quả để làm sạch các thành phần sinh học trong hợp chất. Các chất hấp phụ khác nhau được báo cáo sử dụng rất phổ biến trong việc tách anthocyanin khỏi dầu thô, chiết xuất từ quả dâu tằm, quả việt quất, ... Các kết quả nghiên cứu tinh sạch anthocyanin trong củ khoai lang tím cho thấy, khả năng tinh sạch anthocyanin là tương đối đáng kể khi tiến hành tinh sạch bằng phương pháp sắc ký cột cần lựa chọn nồng độ ethanol 60% để thực hiện quá trình rửa giải thu nhận anthocyanins với chất hấp thụ XAD7 trong thời gian tinh sạch là 14 phút, nhiệt độ tinh sạch là 25°C.

Từ khóa: Anthocyanin, tinh sạch, khoai lang tím, sắc ký cột

¹ Viện Nghiên cứu Rau quả

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khoai lang tím ngoài giá trị cung cấp các loại vitamin, các chất khoáng, tinh bột dễ tiêu hóa cùng một hàm lượng đáng kể chất xơ thực phẩm thì còn có những ưu điểm vượt trội so với khoai lang thường do nó chứa anthocyanin hàm lượng khá cao. Anthocyanin là chất màu có nguồn gốc tự nhiên có nhiều trong các loại rau quả màu từ tím đến đỏ như bắp cải tím, trà đỏ, quả dâu tằm, vỏ nho, khoai lang tím, đậu đen, dâu tây đỏ, quả cà tím, lá tía tô...

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, chất màu có nguồn gốc tự nhiên thường ít độc hại, màu sắc hấp dẫn, thân thiện với môi trường, phù hợp với xu hướng phát triển bền vững hiện nay. Vì vậy, việc chiết xuất được một loại phẩm màu tự nhiên như anthocyanin không những vừa tạo ra độ đẹp, độ bền màu cao cho sản phẩm mà còn đem lại lợi ích cho sức khỏe con người, đáp ứng được nhu cầu của thế giới ngày nay.

Tuy nhiên khi chiết xuất từ thực vật, anthocyanin có tính ổn định không cao do ảnh hưởng bởi các hợp chất như đường, rượu, axit hữu cơ có hại. Vì vậy cần loại bỏ các chất đường từ chiết xuất dung môi ethanol thông qua việc sử dụng một số phương pháp tinh sạch khác nhau (Thái Thị Ánh Ngọc, 2011).

Trong bài báo này, trên cơ sở các kết quả nghiên cứu khảo sát sự ảnh hưởng của một số thông số đến khả năng tinh chiết anthocyanin từ đó đưa ra được phương pháp tinh sạch anthocyanin bằng sắc ký cột (Phạm Hùng Việt, 2003; Đào Hữu Vinh và *ctv.*, 1985).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Khoai lang tím Nhật Murasa Kimasari được trồng ở huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long, được thu hái từ 105 - 115 ngày kể từ ngày trồng. Khoai lang sau khi thu hái được làm sạch, thái nhỏ và bảo quản ở nhiệt độ -18°C .

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Các thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp thử và sai. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với các nhân tố phụ thuộc vào yếu tố công nghệ cần xác định (được trình bày trong từng mục kết quả). Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần.

Các mẫu thí nghiệm được tiến hành xay nghiền từ và tiến hành tách chiết ở điều kiện nhiệt độ $47,5^{\circ}\text{C}$,

thời gian siêu âm và chiết tách là 30 phút, nồng độ ethanol dung môi 45% v/v và nồng độ axit HCl 0,5%. Dung dịch thu được là nguyên liệu đầu vào cho quá trình chạy sắc ký hấp phụ.

Cột sắc ký bằng thủy tinh có chiều cao 60 cm, đường kính 5 cm và được nhồi các hạt hấp phụ khác nhau. Trước khi cho dung dịch tách chiết vào cột, chúng tôi tiến hành cho dung môi có nồng độ ethanol 45% vào cột (Nguyễn Bin, 2004).

2.2.2. Phương pháp phân tích

Phương pháp lấy mẫu theo TCVN 9016-2011. Hàm lượng chất khô hòa tan tổng số được xác định theo TCVN 4414-87, sử dụng khúc xạ kế cầm tay PAL-1 (Nhật Bản) thang độ 0 - 53°Brix ; Xác định màu sắc theo phương pháp Hunter trên máy đo màu Minolta (Osaka, Nhật) với các thông số L, a, b (Trong đó: L: Biểu thị từ tối tới sáng có giá trị từ 0 \rightarrow 100, a: Biểu thị từ màu xanh lá cây tới đỏ có giá trị từ - 60 \rightarrow + 60, b: Biểu thị từ màu xanh da trời đến xanh vàng có giá trị từ - 60 \rightarrow + 60); Xác định hàm lượng đường tổng số và tinh bột (%) bằng phương pháp Graxianop (hay phương pháp Fexxianua) theo TCVN 4594:1988; Hàm lượng anthocyanin (mg/100g) được xác định theo phương pháp pH vi sai (Huỳnh Thị Kim Cúc và *ctv.*, 2004, Moldovan *et al.*, 2012; Jamani *et al.*, 2014).

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng chương trình Microsoft Excel và phần mềm SAS version 9.0 (Trịnh Công Thành, 2003).

2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

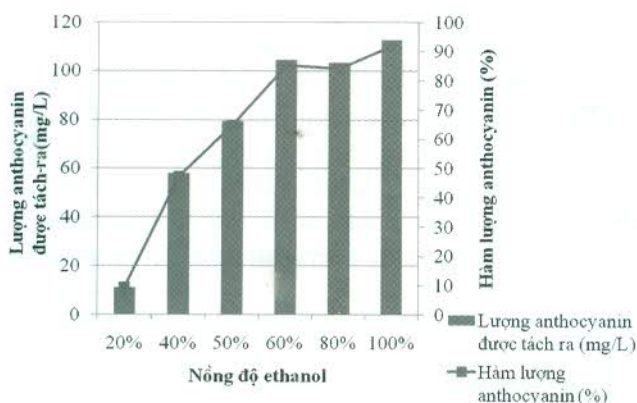
Thí nghiệm được bố trí tại phòng thí nghiệm thuộc Viện Nghiên cứu Rau quả, Trâu Quỳ, Gia Lâm, Hà Nội từ tháng 6 đến tháng 8/2017.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát sự ảnh hưởng của dung môi ethanol đến quá trình rửa giải thu nhận anthocyanin

Nồng độ ethanol là một trong những yếu tố quan trọng nhất để loại bỏ các anthocyanin từ chất hấp phụ. Để biết được ảnh hưởng của nồng độ ethanol lên sự rửa giải của anthocyanin, các thí nghiệm với sáu nồng độ anthocyanin khác nhau (20%; 40%; 50%; 60%; 80% và 100%) được tiến hành. Tất cả chất rửa giải đã được acid hóa bằng acid acetic để duy trì độ pH của chất rửa giải và ngăn ngừa sự thoái hóa anthocyanin.

Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở hình 1.



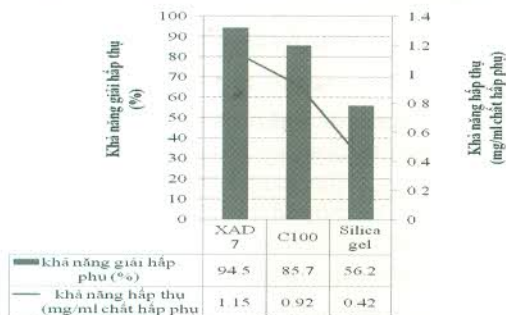
Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến lượng anthocyanin được tách ra

Qua hình 1, có thể nhận thấy rằng nồng độ ethanol tăng dần dẫn đến lượng anthocyanin được tách ra và hàm lượng anthocyanin cũng tăng cao. Lượng anthocyanin được tách ra tăng mạnh từ nồng độ ethanol 20% đến 60%, từ nồng độ ethanol 60% đến 80% có sự giảm nhẹ và tiếp tục tăng ở nồng độ 100%, tại nồng độ này lượng anthocyanin tách ra được đạt kết quả cao nhất. Nồng độ ethanol càng cao thì lượng anthocyanin thu được càng cao, nhưng hàm lượng chất màu trong nguyên liệu là rất ít. Vì vậy, khi sử dụng ethanol có nồng độ cao sẽ gây tổn kém mà hiệu quả không cao, đồng thời khả năng bốc hơi và loại bỏ ethanol 60% dễ hơn đối với 100%. Từ đây, tiến hành lựa chọn nồng độ ethanol 60% để thực hiện quá trình rửa giải thu nhận anthocyanin.

3.2. Nghiên cứu xác định chất hấp phụ (hạt) để đạt hiệu quả tinh sạch tốt nhất

Để quá trình tinh sạch bằng phương pháp sắc ký cột đạt hiệu quả tốt nhất thì chất hấp phụ là thành phần quyết định không thể thiếu. Mặt khác, anthocyanin là hợp chất phân cực âm cho nên để tiến hành thu nhận hợp chất cần lựa chọn chất hấp phụ có tính phân cực dương, hấp thụ tối đa lượng anthocyanin có trong chất màu. Tiến hành thí nghiệm với ba chất hấp phụ sau: Amberlite XAD7; C100 và Silicagel.

Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở hình 2.



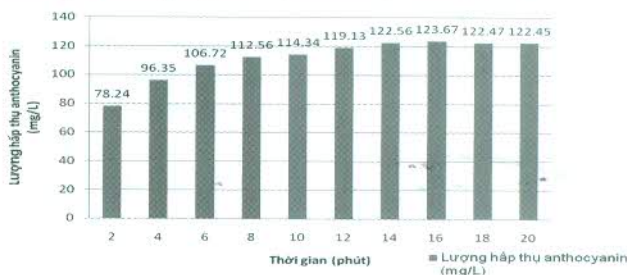
Hình 2. Khả năng hấp phụ và giải hấp thụ của các chất hấp phụ khác nhau

Từ số liệu ở hình 2 có thể thấy được rằng khả năng hấp thụ và giải hấp thụ của các chất giảm dần từ XAD7 đến C100 và thấp nhất là Silicagel. Trong thí nghiệm sắc ký cột có rất nhiều loại chất hấp phụ khác nhau, mỗi loại có một đặc tính, một khả năng khác nhau: có những chất hấp thụ hợp chất giữ lại trong cột rất tốt nhưng khả năng giải hấp thụ lại rất kém nên kết quả thu được không cao. Từ ba chất tiến hành thí nghiệm, đã lựa chọn chất hấp thụ XAD7 là chất hấp thụ tốt nhất vì khả năng hấp phụ và giải hấp phụ cao và đồng đều, phân cực tương tự với anthocyanin, là hợp chất acrylic este không ion phản ứng dễ dàng với các gốc tự do và ưa điện tử, có diện tích bề mặt lớn (450 m²/g) đồng thời có tính khả dụng và giá cả hợp lý.

3.3. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến quá trình tinh sạch

Thời gian là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng lớn đến quá trình tinh sạch anthocyanin. Kiểm soát được thời gian sẽ giúp làm tăng hiệu quả quá trình tinh sạch, tiết kiệm được thời gian tinh sạch cũng như chi phí năng lượng. Thông thường, tùy thuộc vào các yếu tố và nguyên liệu của quá trình tinh sạch mà thời gian tinh sạch khác nhau.

Trong quá trình chạy cột sắc ký để thu nhận lượng anthocyanin hấp thụ, nếu kéo dài thời gian thì sẽ ảnh hưởng đến độ tinh sạch của anthocyanin, bên cạnh đó cũng gây tổn kém năng lượng, chất hấp phụ. Do đó, lựa chọn yếu tố thời gian là yếu tố khảo sát ảnh hưởng với dung môi rửa giải là ethanol 60%, chất hấp phụ là XAD7 và các yếu tố khác cố định. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình tinh sạch anthocyanin

Từ hình 3 cho thấy, thời gian đầu lượng anthocyanin hấp thụ được tăng dần và sau đó giảm dần theo thời gian. Thời gian 16 phút là thời gian tối ưu nhất, lượng hấp thụ anthocyanin thu được là cao nhất; tuy nhiên, lượng hấp thụ anthocyanin ở thời điểm 14 phút và 16 phút lại không khác nhau đáng kể. Từ đây có thể thấy, để hiệu suất tinh sạch đạt hiệu quả cao mà vẫn đảm bảo thời gian chi phí cần lựa chọn thời gian tinh sạch là 14 phút cho các thí nghiệm tiếp theo.

