

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN CHẤT MÀU ANTHOCYANIN CHIẾT TỪ QUẢ DÂU TẦM QUẢNG NAM

Đến Tòa soạn 17-9-2009

ĐÀO HÙNG CƯỜNG, HUỲNH THỊ KIM CÚC

Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng

ABSTRACT

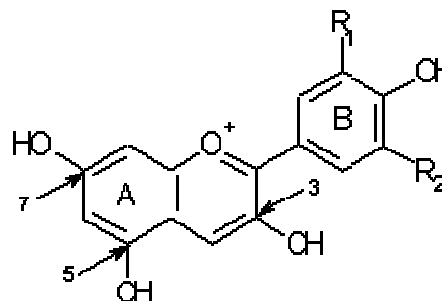
The method to identify the composition of anthocyanin coloured compound extracted from mulberry fruits (*morus alba*) in Quang Nam province in mixed solvent ethanol/water (1/1, 1% HCl) by using liquid chromatography - mass spectrometry LCQ-Finigan was introduced. The mobile phase consists of water, methanol and acetonitril 1% acetic acid with the proportion 30:60:10, with a flow rate at 0.7 ml/min; mass range: 10 - 1000; scan wavelength 400 - 600 nm; combining with the analysis of segment changes based on chromatography. The obtained results shown that three peaks of three molecules ions, with the saving moments at 2.37; 3.02 and 3.10 min, identified with heavy weight at $m/z = 306.8$; 595.1 and 449.0 are chloride of pelargonidin, cyanidin-3-0-glucoside and cyanidin-3-0-p-coumarylglucoside, respectively.

I - ĐẶT VẤN ĐỀ

Anthocyanin là những glucozit do gốc đường glucose, galactose... kết hợp với gốc aglucon có màu (anthocyanidin). Aglucon của chúng có cấu trúc cơ bản được mô tả trong hình 1. Các gốc đường thường được gắn vào vị trí cacbon 3 và 5, trong một số trường hợp ở cacbon 7. Phân tử anthocyanin gắn đường vào vị trí 3 gọi là monoglycozit, ở vị trí 3 và 5 gọi là diglycozit. Các aglucon của anthocyanin khác nhau chính là do sự có mặt của các nhóm R_1 và R_2 khác nhau, các nhóm này thường là H, OH hoặc OCH_3 [5].

Anthocyanin chiết tách từ các loại thực vật khác nhau thì có những đặc tính khác nhau, đặc biệt là độ bền màu dưới tác dụng của các điều kiện công nghệ. Sự khác biệt về màu sắc đó chính là do thành phần không giống nhau trong tổ hợp màu của anthocyanin gây nên trong đó có anthocyanin trong quả dâu tằm (*Mulberry*) nói chung và quả dâu tằm của Quảng Nam nói riêng. Chính vì vậy chúng tôi tiến hành nghiên

cứu định danh thành phần của anthocyanin trong chất màu chiết từ quả dâu tằm Quảng Nam để làm cơ sở cho việc ứng dụng loại phẩm màu này trong chế biến thực phẩm có giá trị và hiệu quả tốt hơn.



Hình 1: Cấu trúc cơ bản của aglucon của anthocyanin

II - ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Chất màu anthocyanin thô chiết tách từ quả dâu tằm Quảng Nam, trong dung môi ethanol/nước (1/1, 1% HCl).

+ Mẫu được pha loãng trong MeOH, ly tâm, lọc qua siêu lọc 0,2 μm .

2. Phương pháp nghiên cứu

Thành phần chất màu anthocyanin được tiến hành định danh bằng phương pháp phân tích trên máy sắc ký lỏng ghép khối phổ LC/MS (LCQ-Finigan) với các điều kiện như sau:

+ Loại Source: ESI pos; Đầu dò: PDA; Cột C18 (150 \times 4,6) mm; Scan bandwidth: 1 nm.

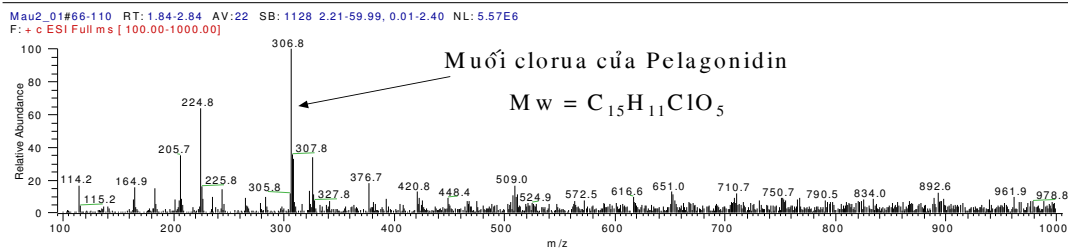
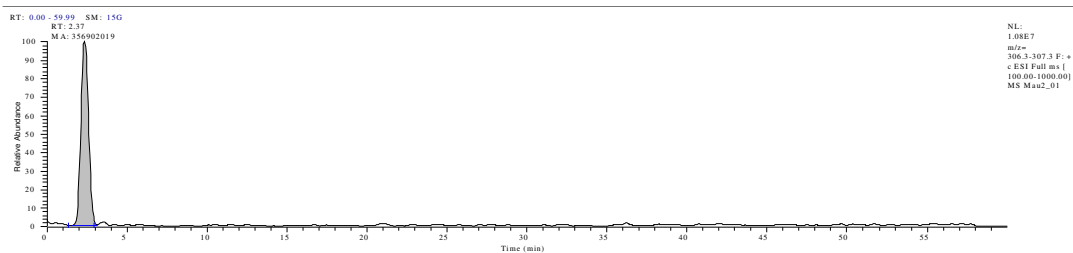
+ Pha động: Nước/metanol/acetonitril 1% axit axetic (30/60/10);

+ Tốc độ dòng: 0,7 ml/min; Mass range: 100 - 1000; Scan Wavelength: 400 - 600 nm;

III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả thu nhận được trên sắc ký đồ sau khi qua hệ thống LC/MS, trong khoảng khối lượng từ 100 \div 1000, với thời gian lưu (RT) từ 2 \div 5,08 có các pic chiếm diện tích lớn, đó chính là các đơn cấu tử của hợp chất màu anthocyanin. Nếu tiếp tục tách thì thu được 3 pic với thời gian lưu là 2,37; 3,02 và 3,10 phút, mỗi pic này sẽ tương ứng với 1 đơn cấu tử. Kết quả phân tích LC/MS cho từng pic cụ thể được thể hiện trên các phổ đồ hình 2, 4 và 6.

F:\DATA\ANTHOCYANIN\Mau2_01



Hình 2: Sắc ký đồ LC/MS của mẫu PM-A, có M/Z=306.8

1. Kết quả phân tích tại thời gian lưu 2,37

Trên sắc ký đồ hình 2, tương ứng với pic có m/z = 306,8 xuất hiện các pic tương đối lớn có khối lượng 307,8; 306,8; 305,8; 224,8; 205,7; 164,9. Trong đó pic 306,8 chính là ion phân tử hay pic gốc $[M]^+$ được nhận diện là "*Muối clorua của pelargonidin*" - loại anthocyanidin có cấu trúc đơn giản nhất [2], còn các pic 307,8 và 305,8 nằm cạnh pic gốc, đồng thời có khối lượng bằng $[M+1]^+$ và $[M-1]^+$ đó chính là các ion đồng vị của $[M]^+$. Các pic còn lại đáng lưu ý nhất là 224,8 và 164,9, đó chính là các ion mảnh

chủ yếu do sự bắn phá của ion phân tử được máy ghi lại.

Dựa vào công thức cấu tạo của muối clorua của perlaginidin cùng với sự hỗ trợ của phần mềm *ChemSketch* chúng tôi cho rằng cơ chế phân mảnh như sau (hình 3).

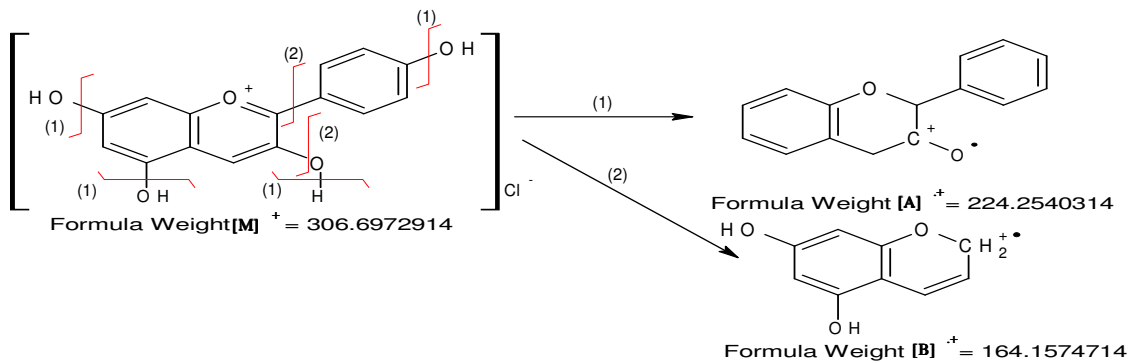
Với phổ khối hình 2 và sơ đồ phân mảnh hình 3 cho thấy sự phân mảnh của $[M]^+$ m/z 306,8 có thể theo 2 hướng.

+ Hướng (1): $[M]^+$ (306,6972914) \rightarrow $[A]^+$ • (224,2540314).

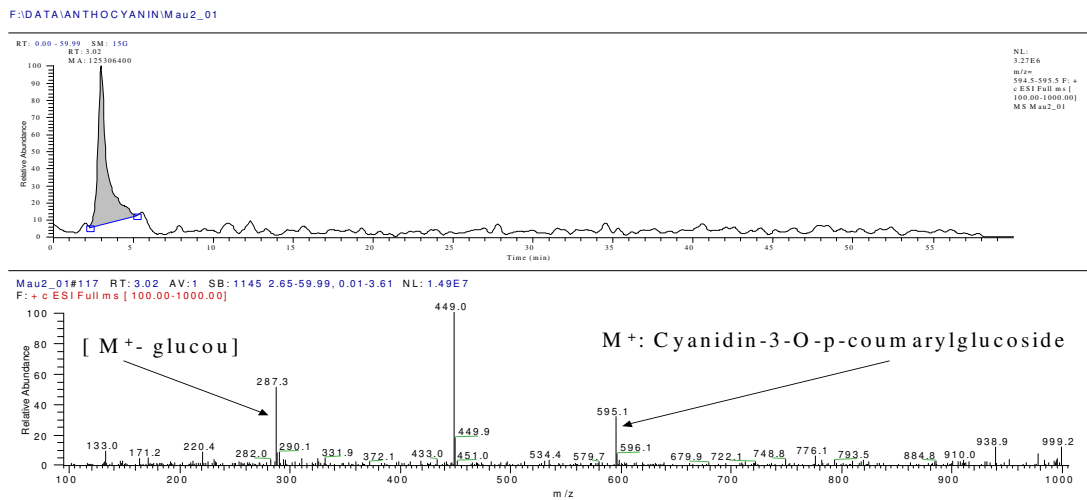
+ Hướng (2): $[M]^+$ (306,6972914) → $[B]^{+\bullet}$ (164,157414)

Từ những lập luận trên cũng như kết quả nhận được trên phổ đồ chúng tôi đã xác định

được sự xuất hiện của các ion mảnh có m/z 164,9 và 224,8 do sự phá vỡ $[M]^+$, còn các ion m/z 305,8 và 307,8 chính là các đồng vị $[M-1]^+$ m/z 305,8 và $[M+1]^+$ m/z 307,8 của $[M]^+$ m/z 306,8.



Hình 3: Sơ đồ phân mảnh của ion phân tử $[M]^+$ có m/z 306,8



Hình 4: Sắc ký đồ LC/MS của mẫu PM-A, có M/Z=595,1

2. Kết quả phân tích tại thời gian lưu 3,02

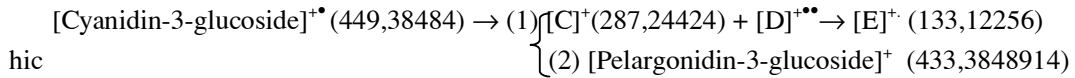
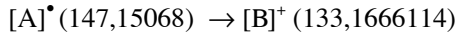
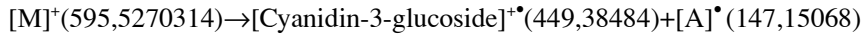
Trên sắc ký hình 4, tương ứng với pic có m/z = 595,1 xuất hiện các pic tương đối lớn có khối lượng 595,1; 449,0; 287,3; ngoài ra còn có nhiều pic nhỏ hơn có khối lượng 596,1; 451,0; 448,0; 433,0; 133,0... Trong đó pic có m/z 595,1 được nhận diện là "*Cyanidin-3-O-p-coumarylglucoside*", đó chính là ion phân tử

$[M]^+$, còn pic 596,1 ở cạnh $[M]^+$ có khối lượng bằng $[M+1]^+$ chính là đồng vị của $[M]^+$. Các peak còn lại phần lớn là do sự phân mảnh của ion phân tử $[M]^+$. Với sự hỗ trợ của phần mềm *ChemSketch* chúng tôi cho rằng cơ chế phân mảnh như hình 5.

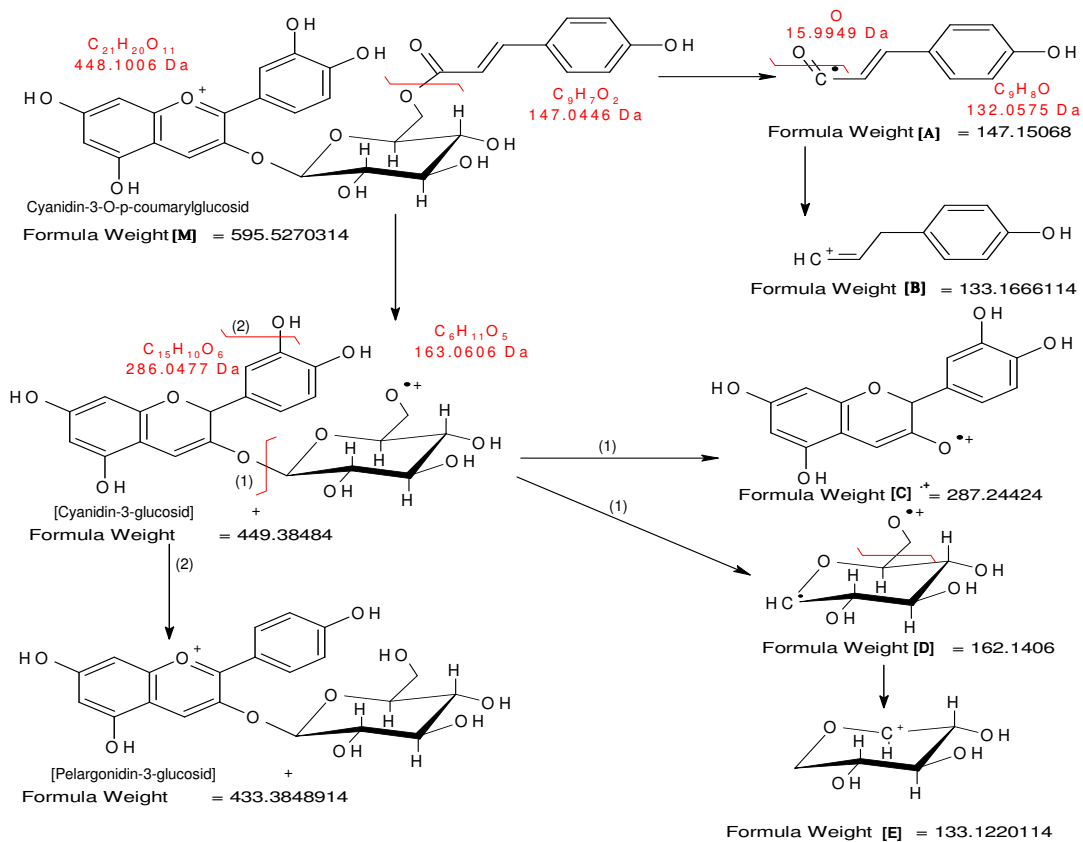
Dựa vào phổ khối hình 4 và kết hợp với sơ đồ phân mảnh hình 5 cho phép nhận định: đầu

tiên sự phân cắt $[M]^+$ có thể sẽ xảy ra tại liên kết (C-O) giữa oxy của glucoside với carbon của nhóm coumaryl, tạo thành 2 ion mảnh là

cyanidin-3-glucoside và $[A]^+$, sau đó các ion mảnh này tiếp tục bị bắn phá và phân cắt tạo thành các ion mảnh khác như sau:



Như vậy với cơ chế phân mảnh hình 5 chúng tôi đã xác định được sự xuất hiện của các ion mảnh có khối lượng 449,0; 287,3; 433,0; 133,0 do sự phá vỡ ion phân tử $[M]^+$, trong đó 133 có thể là $[B]^+$ hoặc $[E]^+$, ngoài ra các ion mảnh có khối lượng 449,9 và 451,0 ở cạnh pic có m/z 449,0 chính là các đồng vị của ion mảnh có khối lượng 449,0.



Hình 5: Sơ đồ phân mảnh của ion phân tử $[M]^+$ có m/z 595,1

3. Kết quả phân tích tại thời gian lưu 3,10

Trên sắc ký đồ MS hình 6, tương ứng với peak m/z = 449,0 chúng tôi thấy các pic tương đối lớn có khối lượng 449,0; 376,7; 392,8;

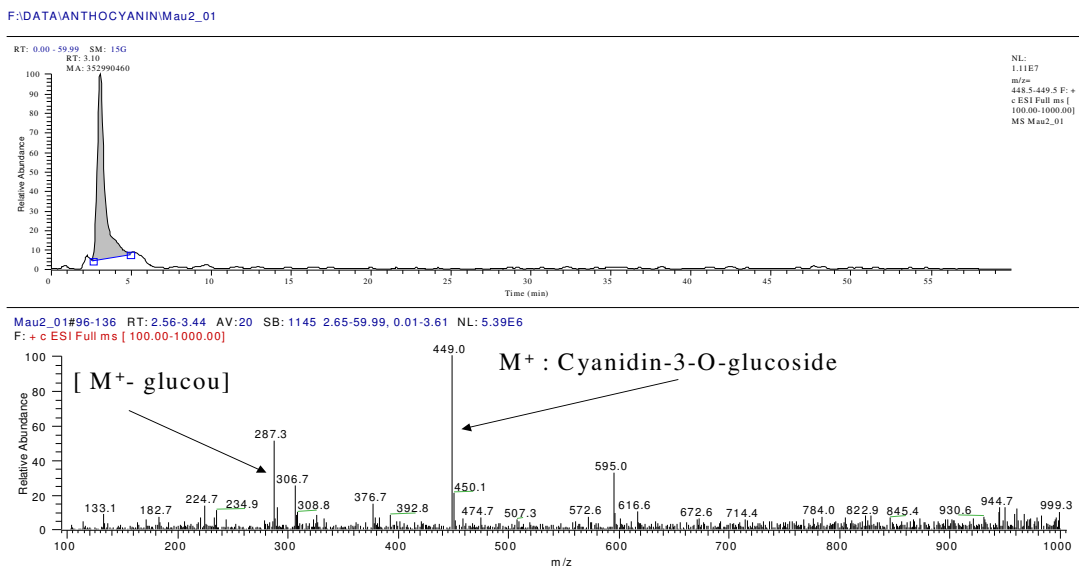
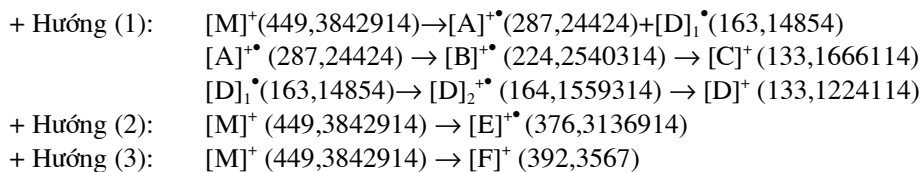
287,3; 224,7; 133,1 là đáng lưu ý nhất. Theo kết quả nghiên cứu của tác giả Kumi Yoshida và cộng sự khi phân tích cấu trúc của anthocyanin trong lá tía tô [3], đồng thời dựa vào thông tin của thư viện chuẩn thì tại RT = 3,10 tương ứng

với pic có khối lượng 449 được nhận diện là "Cyanidin - 3 - glucoside" [4], đó chính là ion phân tử $[M]^+$. Pic 450,1 có khối lượng bằng $[M+1]^+$ chính là đồng vị của $[M]^+$.

Các pic còn lại chủ yếu là do sự bắn phá $[M]^+$ tạo thành. Với sự hỗ trợ của phần mềm ChemSketch, chúng tôi dự kiến cơ chế phân

mảnh như hình 7.

Dựa vào sắc ký đồ hình 6 và sơ đồ phân mảnh hình 7, sự phân mảnh của $[M]^+$ ban đầu có thể xảy ra tại vị trí (1), tạo thành 2 ion là $[A]$ và $[D]_1$, sau đó các mảnh này lại tiếp tục tạo thành các ion mảnh nhỏ hơn (hướng 1). Sự bắn phá có thể xảy ra ở nhóm glucoside (hướng 2 và 3), cụ thể như sau:



Hình 6: Sắc ký đồ của mẫu PM-A, có M/Z = 449,0

Với những cơ sở phân tích trên chúng tôi đã xác định được sự xuất hiện của các ion mảnh có m/z 133,1; 182,7; 224,7; 287,3; 376,7 và 392,8 do sự bắn phá của ion phân tử $[M]^+$ m/z 449,0, ion 450,1 là đồng vị của $[M]^+$. Còn lại ion mảnh có số khối m/z 595,0 chính là ion của phổ khối hình 4 tại RT 3,02 chuyển qua.

pelargonidin và cyanidin, trong đó thành phần pelargonidin là khi chiết trong môi trường có acid HCl thì ion Cl^- sẽ kết hợp với pelargonidin tạo thành muối clorua của pelargonidin bền; hai hợp chất cyanidin được định danh là cyanidin-3-O-p-coumarylglucoside và cyanidin-3-O-glucosit.

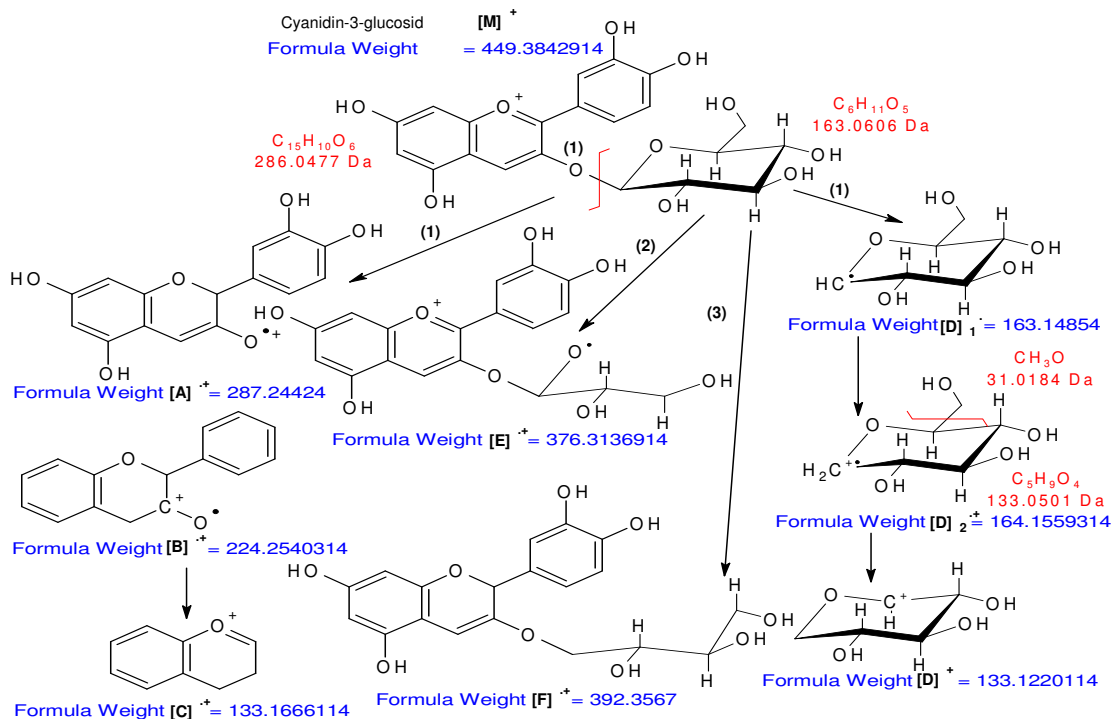
IV - KẾT LUẬN

Kết quả phân tích trên máy sắc ký lỏng ghép khối phổ LC/MS đã cho thấy các anthocyanidin chủ yếu trong quả dâu tằm Quảng Nam là

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hữu Đĩnh, Trần Thị Đà. Ứng dụng một số phương pháp phổ nghiên cứu cấu trúc phân tử, Nxb. Giáo dục (1999).

- H. D. Belitz; W. Grosch. Food Chemistry, Springer (1999).
- Kumi Yoshida-Tadao Kondo-Kiyoshi Kameda and Toshio Goto. Agric. Biol. Chem., 54, 1745 - 1751 (1990).
- M. Schwaiz, Hillebrands, Habbens, A. Degenhart, P. Winterhalter. Biochem. Eng. J., 14 (3) 179 - 189 (2003).
- R. Huopalahti, E. P. Jarvenpaa, K. Katina. J. Lio. Chrom & Rel. Technol. 23 (17) (2000).



Hình 7: Sơ đồ phân mảnh của ion phân tử $[M]^+$ có m/z 449

Liên hệ: **Đào Hùng Cường**

Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm

Đại học Đà Nẵng

41 Lê Duẩn, Đà Nẵng

Email: cuongdh1949@gmail.com