

TỐI ƯU HÓA TỶ LỆ ENZYME PECTINASE VÀ THỜI GIAN TRÍCH LY QUẢ DÂU TẦM (*Morus alba L.* *Morus acidosa*)

Võ Tấn Thành^{1,*}, Phan Kim Tỏa¹, Nguyễn Thị Cẩm Tú¹,
Nguyễn Duy Tân², Lê Hoàng Phương¹, Trương Thị Tú Trân¹

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, phương pháp bề mặt đáp ứng được sử dụng để tối ưu hóa các điều kiện trích ly quả dâu tằm. Nghiên cứu được thiết kế tối ưu hóa tỷ lệ enzyme pectinase bổ sung 0,03% - 0,05% (w/v) và thời gian trích ly là 30 phút đến 90 phút ở nhiệt độ 45°C để thu được dịch trích có hiệu suất thu hồi (HSTH) cao và chứa nhiều nhất các hoạt chất sinh học polyphenol (TPC), flavonoid (TFC) và anthocyanin (AC). Các thông số tối ưu được chọn gồm: 0,041% enzyme pectinase bổ sung và 62,9 phút sẽ thu được dịch trích với HSTH là 90,1%, các hợp chất TPC, TFC và AC lần lượt là 354,7 mg/L, 313,6 mg/L và 143,7 mg/L.

Từ khóa: *Enzyme pectinase, hoạt chất sinh học, tối ưu hóa, trích ly dâu tằm.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa, hệ thực vật phong phú và đa dạng với nhiều loại thực vật chứa những hợp chất có hoạt tính sinh học cao, đặc biệt là quả dâu tằm (*Morus alba L.* *Morus acidosa*). Đây là một loại thực vật được trồng thương mại nhiều ở nước ta, đặc biệt là Đà Lạt. Trong những năm gần đây, dâu tằm đã được nhân giống và trồng nhiều ở vùng An Giang, Cần Thơ nhằm thu hoạch trái để cung cấp cho người dân đồng bằng sông Cửu Long làm rượu, ăn tươi và làm nguyên liệu cho ngành chế biến đồ uống.

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, quả dâu tằm chứa nhiều các hợp chất hoạt chất sinh học như flavonoid, anthocyanin, acid phenolic và polysaccharit [1]. Đây là những hợp chất chống oxy hóa cao, ngoài ra còn phòng và hỗ trợ điều trị một số bệnh như tim mạch, đái tháo đường, huyết áp, giúp giảm cholesterol... [2], [3].

Vì có nhiều hoạt chất tốt cho sức khỏe và được trồng rộng rãi, nên việc trích ly quả dâu tằm như thế nào để thu dịch quả có chất lượng tốt là vấn đề cần được quan tâm, đặc biệt là áp dụng công nghệ enzyme trong quá trình xử lý. Vì vậy xác định tỷ lệ enzyme pectinase bổ sung và thời gian trích ly để thu được dịch trích có HSTH cao và chứa nhiều TPC, TFC, AC là vấn đề hết sức cần thiết.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị nguyên liệu cho nghiên cứu

Quả dâu tằm chín được thu hái từ vườn nông hộ ở xã Bình Thạnh, huyện Châu Thành, tỉnh An Giang, sau đó được loại bỏ tạp chất, các quả kém chất lượng rồi được đem rửa sạch và để ráo. Sau khi quả dâu tằm ráo, được cân rồi cho vào túi PE với khối lượng mỗi túi là 500 g rồi cho vào tủ đông bảo quản ở nhiệt độ -20°C nhằm phục vụ cho nghiên cứu.

2.2. Hóa chất

Enzyme pectinase, acid gallic, folin - Ciocalteau, natri cacbonat, quercetin, aluminium chloride, sodium acetate, ethanol, axit clohydric đậm đặc, kali clorua được mua từ Công ty Hóa chất Sigma (Mỹ). Tất cả hóa chất, bao gồm dung môi dùng để phân tích ngoại trừ enzyme pectinase.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí bằng phương pháp bề mặt đáp ứng với 2 nhân tố là enzyme pectinase theo tỉ lệ 0,03%, 0,04% và 0,05% (w/v) và thời gian trích ly lần lượt là 30 phút, 60 phút và 90 phút [4] ở nhiệt độ 45°C. Tổng cộng có 14 mẫu, bao gồm 5 mẫu lặp lại ở tằm.

Bảng 1. Mã hóa biến và các mức độ của bố trí thí nghiệm

| Biến | Mã hóa | Mức độ | | |
|------------------|--------|--------|------|------|
| | | -1 | 0 | +1 |
| Tỷ lệ (% w/v) | A | 0,03 | 0,04 | 0,05 |
| Thời gian (phút) | B | 30 | 60 | 90 |

Tiến hành thí nghiệm: quả dâu tằm trữ đông được đem đi nghiền cùng với nước theo tỷ lệ 1: 1 (w/v). Hỗn hợp nghiền được lấy ra mỗi mẫu 500 mL và được bổ sung enzyme pectinase để trích ly (Bảng

¹ Trường Đại học Kiên Giang

² Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

*Email: vtthanh@vnkgu.edu.vn

1). Kết thúc quá trình trích ly, dịch trích được thu bằng lọc qua vải lọc, đem phân tích các chỉ tiêu theo dõi để chọn ra nồng độ enzyme pectinase và thời gian trích ly tối ưu nhất.

2.4. Phương pháp phân tích

Xác định hiệu suất thu hồi theo công thức:

$$H = \frac{v_s}{v_{nl}} \times 100(\%)$$

Trong đó: H là hiệu suất thu hồi (%); v_s là thể tích dịch sau khi trích ly (đầu ra) (mL); v_{nl} là thể tích hỗn hợp trước trích ly (đầu vào) (mL).

Xác định hàm lượng polyphenol theo phương pháp Folin - Ciocalteu [5].

Xác định hàm lượng flavonoid theo phương pháp Aluminium Chloride Colorimetric [6].

Xác định hàm lượng anthocyanin theo phương pháp pH vi sai [7].

2.5. Phân tích thống kê

Phân tích thống kê dữ liệu bằng phần mềm Stagraphic Centurion XV.I. Mô hình phù hợp được chọn cho bộ dữ liệu được thu thập. Công thức tổng quát của mô hình là:

$$Y = a_0 + a_n X_n + a_m X_m + a_{n,n} X_n^2 + a_{m,m} X_m^2 + a_{n,m} X_n X_m$$

Bảng 2. ANOVA mô hình bậc 2 về tỷ lệ enzyme pectinase bổ sung và thời gian trích ly đến HSTH dịch trích quả dâu tằm

| Nguồn | Tổng bình phương | Độ tự do | Trung bình bình phương | Giá trị F | Giá trị P |
|--------------------------------|------------------|----------|------------------------|-----------|-----------|
| X_1 : Tỷ lệ enzyme pectinase | 21,66 | 1 | 21,66 | 563,08 | <0,0001 |
| X_2 : Thời gian trích ly | 1,92667 | 1 | 1,92667 | 50,09 | 0,0009 |
| $X_1 X_1$ | 9,05443 | 1 | 9,05443 | 235,38 | <0,0001 |
| $X_1 X_2$ | 1,21 | 1 | 1,21 | 31,46 | 0,0025 |
| $X_2 X_2$ | 2,23243 | 1 | 2,23243 | 58,04 | 0,0006 |
| Lack of fit | 0,451718 | 3 | 0,150573 | 3,91 | 0,088 |
| Pure error | 0,192333 | 5 | 0,038467 | | |
| Total (corr.) | 43,6325 | 13 | | | |
| R^2 | | | 0,985 | | |
| R^2 (adjusted for d.f.) | | | 0,976 | | |

Theo Guan và Yao (2008) [9], mô hình tương quan tốt cần có hệ số xác định tương quan R^2 lớn hơn 0,8. Mô hình tương quan xây dựng từ thí nghiệm của HSTH là 98,5% > 80% vì vậy, mô hình đủ độ chính xác để sử dụng theo phương trình 1.

Trong đó: a_0 là hệ số; a_n , $a_{n,n}$, $a_{m,m}$ và $a_{n,m}$ là các hệ số bậc 1 và bậc 2 của phương trình hồi quy; X_n và X_m là các giá trị của biến độc lập; Y là yếu tố theo dõi (biến phụ thuộc).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme pectinase bổ sung và thời gian trích ly đến HSTH dịch trích quả dâu tằm

Thống kê ANOVA về hiệu suất thu hồi (HSTH) đối với sự tương tác tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly (Bảng 2) cho thấy, các giá trị P của hệ số tuyến tính của tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly đều < 0,05, chứng tỏ cả hai nhân tố này có ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi dịch quả dâu tằm.

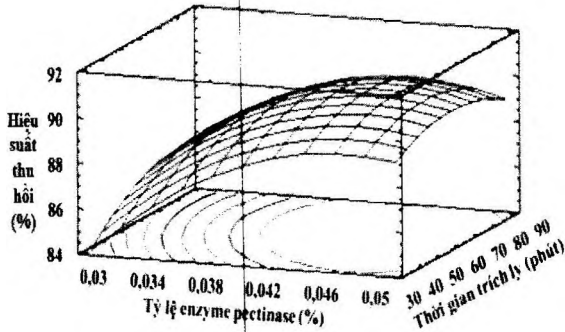
Hơn nữa, mức độ phù hợp của mô hình cũng được đánh giá thông qua giá trị P của Lack of fit. Mô hình tương quan phù hợp giữa số liệu thực tế và lý thuyết, vì vậy mô hình xây dựng với kiểm định Lack of fit (sự không phù hợp) không có ý nghĩa thống kê là điều mong muốn [8]. Giá trị P của Lack of fit đối với HSTH là 0,088 > 0,05, vì vậy không thể hiện khác biệt ý nghĩa thống kê, nên khả năng phù hợp của mô hình là rất cao.

$$\text{HSTH} (\%) = 44,4931 + 1.730,12 X_1 + 0,210575 X_2 - 1.7876,5 X_1^2 - 1.7876,5 X_1 X_2 - 0,000986275 X_2^2 \quad (1)$$

$$(R^2 = 98,5\%)$$

Phương trình tương tác của tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly đến HSTH cho thấy HSTH sẽ tăng theo hệ số bậc nhất của tỷ lệ enzyme bổ sung và thời gian trích ly, tuy nhiên chúng giảm

theo sự tương tác giữa tỷ lệ enzyme bổ sung và thời gian trích ly.



Hình 1. Đồ thị bề mặt đáp ứng và contour thể hiện tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly ảnh hưởng đến HSTH dịch trích quả dâu tằm

Theo đồ thị bề mặt đáp ứng và contour (Hình 1) cho thấy, tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly đồng thời ảnh hưởng đến HSTH dịch quả. Việc kéo dài thời gian trích ly thuận lợi cho quá trình trích ly và tạo điều kiện cho enzyme tiếp xúc với cơ chất. Cụ thể khi tỷ lệ enzyme pectinase 0,045% thời gian trích ly 64,9 phút, HSTH dịch quả dâu tằm đạt cao (90,3%).

Bảng 3. ANOVA mô hình bậc 2 về tỷ lệ enzyme pectinase bổ sung và thời gian trích ly đến TPC trong dịch trích quả dâu tằm

| Nguồn | Tổng bình phương | Độ tự do | Trung bình bình phương | Giá trị F | Giá trị P |
|---|------------------|----------|------------------------|-----------|-----------|
| X ₁ : Tỷ lệ enzyme pectinase | 683,093 | 1 | 683,093 | 11,03 | 0,021 |
| X ₂ : Thời gian trích ly | 547,406 | 1 | 547,406 | 8,84 | 0,0311 |
| X ₁ X ₂ | 992,004 | 1 | 992,004 | 16,01 | 0,0103 |
| X ₁ ² | 1.265,22 | 1 | 1265,22 | 20,42 | 0,0063 |
| X ₂ ² | 2.723,97 | 1 | 2723,97 | 43,97 | 0,0012 |
| Lack of fit | 324,958 | 3 | 108,319 | 1,75 | 0,273 |
| Pure error | 309,767 | 5 | 61,9533 | | |
| Total (corr.) | 9.284,74 | 13 | | | |
| R ² | | | 0,932 | | |
| R ² (adjusted for d.f.) | | | 0,889 | | |

Giá trị R² của mô hình tương quan xây dựng từ thí nghiệm của TPC là 93,2% > 80% nên thỏa mãn các điều kiện và xây dựng được phương trình hồi quy thể hiện sự ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly đối với TPC theo phương trình 2.

$$TPC \text{ (mg/L)} = -274,314 + 19.593,2 X_1 + 6,82392X_2 - 18.7115X_1^2 - 59,2833X_1X_2 - 0,0344516 X_2^2 \quad (2)$$

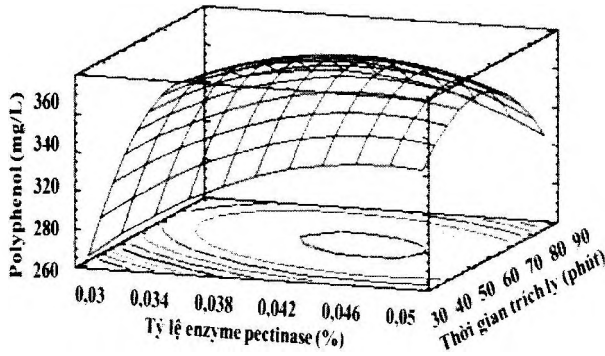
Tuy nhiên nếu tỷ lệ enzyme càng cao và thời gian trích ly càng kéo dài thì HSTH của dịch quả có chiều hướng giảm, do lượng cấu tử có kích thước nhỏ được hình thành do tác động của enzyme, chúng sẽ làm cản trở quá trình lọc khiến cho HSTH bị giảm. Vì vậy, tỷ lệ enzyme pectinase 0,045%, thời gian trích ly 64,9 phút là tối ưu nhất để thu được dịch quả có HSTH cao 90,3%.

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme pectinase bổ sung và thời gian trích ly đến TPC trong dịch trích quả dâu tằm

Từ bảng thống kê ANOVA về sự tương tác tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly ảnh hưởng đến TPC trong dịch trích quả dâu tằm (Bảng 3) cho thấy, thống kê có ý nghĩa về hệ số bậc nhất, tương tác và hệ số bậc hai giữa tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly. Các giá trị P của hệ số đều nhỏ hơn 0,05 thể hiện mô hình chấp nhận được ở mức ý nghĩa 5%. Xét về giá trị P của Lack of fit của mô hình, điều này càng cho thấy sự không tương thích của mô hình bị bác bỏ do giá trị P của Lack of fit là 0,273 > 0,05.

$$(R^2 = 93,2\%)$$

TPC tăng tỷ lệ thuận theo hệ số bậc nhất của tỷ lệ enzyme hoặc thời gian trích ly, nhưng đối với sự tương tác giữa tỷ lệ enzyme bổ sung và thời gian trích ly lại làm cho TPC giảm.



Hình 2. Đồ thị bề mặt đáp ứng và contour thể hiện tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly ảnh hưởng đến TPC

Theo kết quả mô hình bề mặt đáp ứng và contour (Hình 2) cho thấy, tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly của dịch trích quả dâu tằm có ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol. Khi ở tỷ lệ enzyme pectinase là 0,042% và thời gian trích ly là 62,5 phút thì có hàm lượng polyphenol tối ưu nhất là 354,9 mg/L là do khi ở nồng độ này enzyme phá vỡ được liên kết giữa pectin và cellulose của tế bào và mô để giải phóng các chất hòa tan dẫn đến

Bảng 4. ANOVA mô hình bậc 2 về tỷ lệ enzyme pectinase bổ sung và thời gian trích ly đến TFC trong dịch trích quả dâu tằm

| Nguồn | Tổng bình phương | Độ tự do | Trung bình bình phương | Giá trị F | Giá trị P |
|---|------------------|----------|------------------------|-----------|-----------|
| X ₁ : Tỷ lệ enzyme pectinase | 1215,53 | 1 | 1.215,53 | 11,22 | 0,0204 |
| X ₂ : Thời gian trích ly | 730,407 | 1 | 730,407 | 6,74 | 0,0485 |
| X ₁ X ₁ | 14.800,9 | 1 | 14.800,9 | 136,57 | 0,0001 |
| X ₁ X ₂ | 3.195,08 | 1 | 3.195,08 | 29,48 | 0,0029 |
| X ₂ X ₂ | 788,881 | 1 | 788,881 | 7,28 | 0,0429 |
| Lack of fit | 48,0921 | 3 | 16,0307 | 0,15 | 0,927 |
| Pure error | 541,877 | 5 | 108,375 | | |
| Total (corr.) | 28.041,7 | 13 | | | |
| R ² | | | 0,979 | | |
| R ² (adjusted for d.f.) | | | 0,966 | | |

Sự tương quan giữa TFC với tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly được diễn tả theo phương trình 3. Qua đó, TFC có thể được đánh giá dựa theo sự biến thiên và sự tương tác của tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly. Phương trình 3 cho thấy hàm lượng TFC tăng theo hệ số bậc nhất của tỷ lệ enzyme bổ sung và thời gian trích ly nhưng lại giảm đối với tương tác giữa tỷ lệ enzyme bổ sung và thời gian trích ly.

tăng hàm lượng thu được [10]. Nếu thời gian trích ly kéo dài cộng với ảnh hưởng của nhiệt độ, tiếp xúc với ánh sáng và không khí polyphenol sẽ bị ô xy hóa [11], [12].

Tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly dịch quả dâu tằm lần lượt là 0,042% và 62,5 phút sẽ thu được TPC cao nhất 354,9 mg/L.

3.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme pectinase bổ sung và thời gian trích ly đến TFC trong dịch trích quả dâu tằm

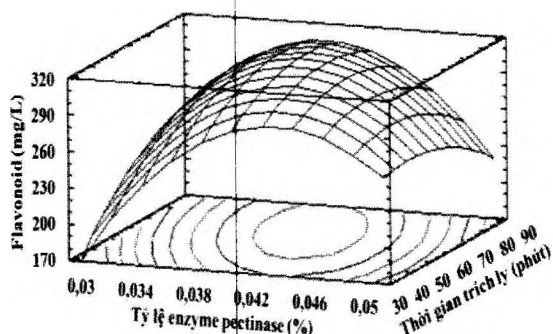
Bảng thống kê ANOVA về TFC ảnh hưởng bởi tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly (Bảng 4) có ý nghĩa cao bởi giá trị P tương quan giữa tỷ lệ enzyme và thời gian đều < 0,05.

Mô hình tương quan tốt cần có sự phù hợp giữa số liệu thực tế và lý thuyết, vì vậy mô hình thu được với kiểm định Lack of fit cần không có ý nghĩa thống kê [8]. Từ bảng ANOVA (Bảng 4) cho thấy giá trị P của giá trị Lack of fit là 0,927 > 0,05 nên khả năng phù hợp của mô hình là rất cao.

$$TFC \text{ (mg/L)} = -1215,7 + 64896,8X_1 + 6,36093X_2 - 722762X_1^2 - 94,2083X_1X_2 - 0,0185402X_2^2 \quad (3)$$

$$(R^2 = 97,9\%)$$

Kết quả của nghiên cứu được thể hiện qua hình bề mặt đáp ứng và contour (Hình 3) cho thấy sự tương tác giữa tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly ảnh hưởng đến TFC có trong dịch quả dâu tằm.



Hình 3. Đồ thị bề mặt đáp ứng và contour thể hiện tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly ảnh hưởng đến TFC

Đồ thị ở hình 3 chỉ ra rằng, TFC cao nhất là 314,5 mg/L khi ở tỷ lệ enzyme pectinase là 0,04% và thời gian trích ly là 68,9 phút. Nếu tiếp tục kéo dài thời gian trích ly, TFC không tăng mà ngược lại còn giảm xuống là bởi chúng rất nhạy cảm với nhiệt độ cao, thời gian trích ly dài nên chúng bị phân hủy [13]. Thời gian ảnh hưởng đến khả năng trích ly TFC ở khoảng thời gian từ 30 phút đến 90 phút thì TFC tăng nhưng tiếp tục tăng thời gian thì lại giảm, TFC

đạt tối ưu ở 68,9 phút. Điều này có khả năng là do sự phân hủy TFC trong thời gian dài [12]. Đồng thời, quá trình trích ly TFC cũng bị ảnh hưởng bởi nhiều thông số như: Thời gian, nhiệt độ, dung môi cô đặc, tỷ lệ rắn, lỏng và chu kỳ chiết xuất... [12]. Vì vậy, TFC tối ưu trong dịch quả dâu tằm là 314,5 mg/L khi trích ly với tỷ lệ enzyme pectinase bổ sung là 0,04% với thời gian 68,9 phút.

3.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme pectinase bổ sung và thời gian trích ly đến AC trong dịch trích quả dâu tằm

Từ bảng thống kê ANOVA (Bảng 5) về sự tương tác của tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly ảnh hưởng đến AC cho thấy, thống kê ý nghĩa bậc nhất của tỷ lệ enzyme, sự tương tác và hệ số bậc hai của tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly. Tất cả đều có giá trị P < 0,05, thể hiện mô hình chấp nhận được ở mức ý nghĩa 5%. Giá trị P của Lack of fit là 0,355 > 0,05, điều này càng thể hiện sự không phù hợp của mô hình là không có ý nghĩa.

Bảng 5. Thống kê ANOVA về hàm lượng anthocyanin của tương tác tỷ lệ enzyme bổ sung và thời gian trích ly

| Nguồn | Tổng bình phương | Độ tự do | Trung bình bình phương | Giá trị F | Giá trị P |
|---|------------------|----------|------------------------|-----------|-----------|
| X ₁ : Tỷ lệ enzyme pectinase | 421,682 | 1 | 421,682 | 469,5 | <0,0001 |
| X ₂ : Thời gian trích ly | 32,5734 | 1 | 32,5734 | 36,27 | 0,0018 |
| X ₁ X ₁ | 347,432 | 1 | 347,432 | 386,83 | <0,0001 |
| X ₁ X ₂ | 183,602 | 1 | 183,602 | 204,42 | <0,0001 |
| X ₂ X ₂ | 239,476 | 1 | 239,476 | 266,63 | <0,0001 |
| Lack of fit | 3,665 | 3 | 1,22167 | 1,36 | 0,355 |
| Pure error | 4,4908 | 5 | 0,89816 | | |
| Total (corr.) | 1.647,09 | 13 | | | |
| R ² | | | 0,995 | | |
| R ² (adjusted for d.f.) | | | 0,992 | | |

Mô hình bề mặt đáp ứng đã thiết lập được phương trình tương tác bậc 2 của tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly để dự đoán AC trong dịch trích quả dâu tằm.

$$AC \text{ (mg/L)} = -1.215,7 + 64.896,8X_1 + 6,36093X_2 - 722.762X_1^2 - 94,2083X_1X_2 - 0,0185402X_2^2 \quad (4)$$

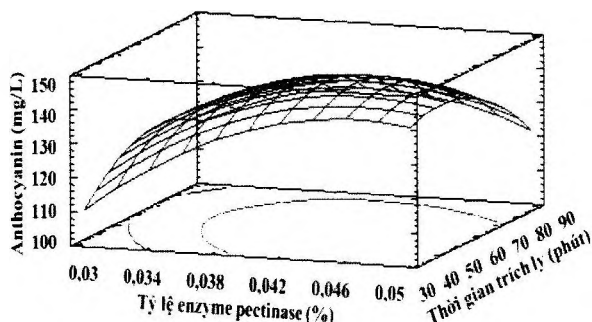
$$(R^2 = 99,5\%)$$

Phương trình mô hình dự đoán AC (Phương trình 4) cho thấy, hệ số tuyến tính đơn tỷ lệ enzyme pectinase bổ sung hoặc thời gian trích ly làm tăng

AC, ngược lại, sự tương tác giữa tỷ lệ enzyme bổ sung và thời gian trích ly lại làm giảm.

Dựa vào hình bề mặt đáp ứng và contour (Hình 4) cho thấy khi tỷ lệ enzyme pectinase là 0,045% và thời gian trích ly là 51,01 phút sẽ thu được AC cao nhất là 145,4 mg/L. Nếu thời gian ngắn, tỷ lệ enzyme ít thì chưa thể trích ly được hoàn toàn; nếu thời gian dài hoặc tỷ lệ enzyme nhiều kèm theo nhiệt độ có sẵn thì AC trích ly sẽ bị phân hủy một phần. Theo Nhan Minh Trí và cs (2014) [14], thời gian trích ly anthocyanin từ trái sim bằng enzyme pectinase tối ưu ở 60 phút và 40°C. Tuy nhiên, việc trích ly

anthocyanin bằng dung môi nước ở nhiệt độ cao phải thực hiện trong thời gian ngắn, vì hầu hết các hợp chất sinh học rất nhạy cảm với nhiệt độ cao, thời gian trích ly dài sẽ dẫn đến sự phân hủy các hợp chất có hoạt tính sinh học [13]. Vì vậy, để AC đạt giá trị tối ưu 145,4 mg/L thì tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly tối ưu lần lượt là 0,045% và 51,01 phút.



Hình 4. Đồ thị bề mặt đáp ứng và contour thể hiện tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly ảnh hưởng đến AC

3.5. Tối ưu hóa tỷ lệ enzyme pectinase bổ sung và thời gian trích ly đến chất lượng dịch trích quả dâu tằm

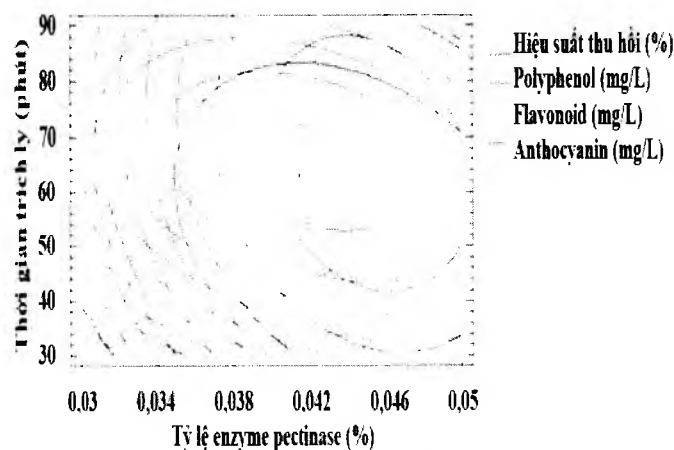
Từ kết quả tối ưu của HSTH và hàm lượng các hợp chất mang hoạt tính sinh học, nghiên cứu tổng hợp tối ưu tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly quả dâu tằm (Bảng 6). Theo đó, HSTH và các chất TPC, TFC và AC có tỷ lệ enzyme và thời gian trích ly tối ưu khác nhau. Vì vậy, việc tìm ra điểm tối ưu chung cho tất cả các giá trị trên là cần thiết.

Bảng 6. Tổng hợp tối ưu tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly quả dâu tằm

| Hệ số | Giá trị tối ưu |
|---------------------------|----------------|
| Tỷ lệ enzyme bổ sung (%) | 0,045 |
| Thời gian trích ly (phút) | 64,9 |
| Hiệu suất thu hồi (%) | 90,3 |
| Tỷ lệ enzyme bổ sung (%) | 0,042 |
| Thời gian trích ly (phút) | 62,5 |
| Polyphenol (mg/L) | 354,9 |
| Tỷ lệ enzyme bổ sung (%) | 0,04 |
| Thời gian trích ly (phút) | 68,9 |
| Flavonoid (mg/L) | 314,5 |
| Tỷ lệ enzyme bổ sung (%) | 0,045 |
| Thời gian trích ly (phút) | 51,01 |
| Anthocyanin (mg/L) | 145,4 |

Sơ đồ contour ở hình 5 và bảng 7 thể hiện tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly cần cho quá

trình trích ly dịch quả dâu tằm lần lượt là 0,041% và 62,9 phút sẽ thu nhận được HSTH và các chất TPC, TFC, AC lần lượt là 90,1%; 354,7 mg/L; 313,6 mg/L; 143,7 mg/L.



Hình 5. Biểu đồ contour tối ưu tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly

Bảng 7. Tối ưu tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly

| Hệ số | Chỉ số tối ưu |
|---------------------------|---------------|
| Tỷ lệ enzyme bổ sung (%) | 0,041 |
| Thời gian trích ly (phút) | 62,9 |
| Hiệu suất thu hồi (%) | 90,1 |
| Polyphenol (mg/L) | 354,7 |
| Flavonoid (mg/L) | 313,6 |
| Anthocyanin (mg/L) | 143,7 |

Nghiên cứu đã tiến hành thí nghiệm kiểm định lại kết quả tối ưu về tỷ lệ enzyme pectinase bổ sung và thời gian trích ly để đánh giá độ chính xác của mô hình. Trung bình kết quả kiểm định được trình bày ở bảng 8.

Bảng 8. Kiểm định kết quả tối ưu của tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly

| Chỉ tiêu | Mô hình | Thực tế | Tỷ lệ chênh lệch |
|-----------------------|---------|----------------|------------------|
| Hiệu suất thu hồi (%) | 90,1 | 87,5 ± 0,151* | 2,8% |
| Polyphenol (mg/L) | 354,7 | 350 ± 0,076* | 1,34% |
| Flavonoid (mg/L) | 313,6 | 308,1 ± 0,147* | 1,75% |
| Anthocyanin (mg/L) | 143,7 | 138,9 ± 0,31* | 3,32% |

Ghi chú: * độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại.

Tất cả số liệu từ mô hình và thực tế đều chênh lệch dao động từ 1,34% đến 3,32%. Điều này cho thấy

sự chính xác của mô hình tương đối cao. Vì vậy, mô hình có thể chấp nhận được.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy mô hình bề mặt đáp ứng có thể sử dụng để tối ưu hóa tỷ lệ enzyme pectinase và thời gian trích ly dịch quả dâu tằm với độ chính xác tương đối cao (chênh lệch 1,34% đến 3,32%). Nghiên cứu đã chỉ ra rằng thông số tối ưu của tỷ lệ enzyme pectinase bổ sung và thời gian trích ly lần lượt 0,041% và 62,9 phút khi tiến hành trích ly ở 45°C sẽ thu được dịch trích có HSTH cao (90,1%) với hàm lượng các hợp chất mang hoạt tính sinh học như TPC, TFC và AC lần lượt là 354,7 mg/L; 313,6 mg/L; 143,7 mg/L.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học, tr. 720 - 721.
2. Bahadoran, Z., Mirmiran, P. and Azizi, F. (2013). Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: A review. *J Diabetes Metab Disord*, 12: 43.
3. S. Srivastava and G. P. Choudhary (2014). Pharmacognostic and pharmacological study of *Fumaria vaillantii* Loisel: A review. *J. Pharmacogn, Phytochem*, 3, 194 - 197.
4. Nguyễn Thị Huỳnh Như, Nguyễn Minh Thủy và Nguyễn Thị Diễm Sương (2018). Tối ưu hóa các thông số quá trình xử lý enzyme để tăng sản lượng dịch trích và các hợp chất có hoạt tính sinh học từ trái Thanh trà (*Bouea macrophylla* Griffith) bằng phương pháp bề mặt đáp ứng. *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ*. Tập 15, 117 - 125.
5. Hossain M. A., Raqmi K. A. S., Mizijy Z. H., Weli A. M. and Riyami Q. (2013). Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3 (9): 705 - 710.
6. Mandal S., Patra A., Samanta A., Roy S., Mandal A., Mahapatra T. D., Pradhan S., Das K. and Nandi D. K. (2013). Analysis of phytomechanical profile of *Terminalia arjuna* bark extract with antioxidative and antimicrobial properties. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3 (12): 960 - 966.
7. Fuleki T. and Francis F. J. (1968). Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. *Journal of Food Science*, 33: 78 - 83.
8. Zabeti. M., Daud W. M. A. W. and Aroua M. K. (2009). Optimization of the activity of CaO/Al₂O₃ catalyst for biodiesel production using response surface methodology. *Applied Catalysis A: General* 366 (1): 154 - 159.
9. Guan X. and Yao H. (2008). Optimization of *viscozyme* L. assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology. *Food Chemistry* 106: 345 - 351.
10. Nhan Minh Trí and Nguyen Minh Thủy (2013). Optimization of factors affecting syrup production from "sim" fruit (*Rhodomyrtus tomentosa*) for high anthocyanin concentration and good quality. *Journal of Scientific Research and Development* 12 (1): 98 - 107.
11. Zhu, X. Y., Mang, Y. L., Xie, J., Wang P., Su, W. K. (2011). Response surface optimization mechano - chemical - assisted extraction of flavonoids and ter - pene trilactones from ginkgo leaves. *Industrial Crops and Products*. 34 (1): 1041 - 1052.
12. Tan, N. D., Viet. L. Q., Thanh, V. T., Thuy, N. M. (2017). Optimization of polyphenol, flavonoid and tanin extraction conditions *Pouzolzia zeylanica* L. Benn using response surface methodology. *Can Tho University Journal of Science*. Vol 5: 122 - 131.
13. Vũ Hồng Sơn và Hà Duyên Tư (2009). Nghiên cứu trích ly polyphenol từ chè xanh vụn - Phần 1: Các yếu tố ảnh hưởng quá trình trích ly polyphenol. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, tập 47, số 1, trang 81 - 86.
14. Nhan Minh Trí, Nguyễn Minh Thủy và Phạm Thị Kim Quyên (2014). Tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sản xuất siro sim (*Rhodomyrtus tomentosa*) để có hàm lượng anthocyanin cao. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, tập 12, số 1: 98 - 107.

**OPTIMIZATION OF ENZYME PECTINASE RATE AND TIME EXTRACT OF MULBERRY
(*Morus alba* L. *Morus acidosa*)**

**Vo Tan Thanh, Phan Kim Toa, Nguyen Thi Cam Tu,
Nguyen Duy Tan, Le Hoang Phuong, Truong Thi Tu Tran**

Summary

In this study, Response Surface Methodology (RSM) was employed to optimize the processing conditions for extracting mulberry fruit. The study was designed to optimize the ratio of pectinase enzyme supplemented with 0.03% - 0.05% (w/v) and the extraction time was 30 minutes - 90 minutes at 45°C to obtain an effective extract recovered was high and the highest bioactive substances polyphenols (TPC), flavonoids (TFCs) and anthocyanins (AC). Optimal parameters were selected including 0.041% added pectinase enzyme and 62.9 minutes will get the extract with HSTH of 90.1% and compounds TPC, TFC and AC of 354.7 mg/L, 313.6 mg/L and 143.7 mg/L respectively.

Keywords: *Pectinase enzyme, bioactive substances, optimization, extract of mulberry.*

Người phản biện: TS. Trần Thị Mai

Ngày nhận bài: 24/12/2021

Ngày thông qua phản biện: 25/01/2022

Ngày duyệt đăng: 8/02/2022