

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

Võ Tấn Thanh<sup>1\*</sup>, Phan Kim Tỏa<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Cẩm Tú<sup>1</sup>,  
Nguyễn Duy Tân<sup>2</sup>, Lê Hoàng Phương<sup>1</sup>, Trương Thị Tú Trân<sup>1</sup>

## 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 dầu tầm. 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 dầu tầm.

## 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 dầu tầm (*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, dầu tầm 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 dầu tầm 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 dầu tầm 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 dầu tầm 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 dầu tầm 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 tỷ 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 tâm.

**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 dầu tầm 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

<sup>1</sup> Trường Đại học Kiên Giang

<sup>2</sup> 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.

$$\begin{aligned} \text{HSTH} (\%) &= 44,4931 + 1,730,12 X_1 + 0,210575 X_2 - \\ &1,7876,5 X_1^2 - 1,7876,5 X_1 X_2 - 0,000986275 X_2^2 \quad (1) \\ (R^2 &= 98,5\%) \end{aligned}$$

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