

## NGHIÊN CỨU THU NHẬN DỊCH TRÍCH GIÀU CÁC HỢP CHẤT PHENOLIC TỪ QUẢ DÂU TẦM (*MORUS ALBA*)

ThS. Nguyễn Thị Nguyễn Thảo<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Ngày nay, những loại nước quả giàu các hoạt chất chống oxy hóa đang thu hút sự quan tâm đặc biệt của các nhà khoa học trên thế giới. Trong nghiên cứu này, các kỹ thuật trích ly ảnh hưởng đến hàm lượng các hoạt chất chống oxy hóa trong nước ép dâu tằm được khảo sát. Chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu các kỹ thuật hỗ trợ quá trình trích ly các hoạt chất chống oxy hóa trên thịt quả dâu tằm *Morus Alba*: Sử dụng sóng siêu âm và chế phẩm enzyme Pectinex Ultra SP-L. Kết quả cho thấy, dưới điều kiện tối ưu: năng lượng siêu âm 10,36 W/g, nhiệt độ siêu âm 63°C thu được dịch trích có hàm lượng phenolic tổng tăng 63,3% so với mẫu đối chứng; nồng độ và thời gian tối ưu khi xử lý enzyme là 0,08% v/w và 120 phút. Tiếp đó, các phương pháp này được so sánh về hiệu quả trích ly các hợp chất chống oxy hóa bằng mô hình động học bậc 2. Theo mô hình này, tốc độ trích ly phenolic tổng và anthocyanin khi sử dụng kỹ thuật siêu âm tăng xấp xỉ 16,9 và 21,5 lần so với phương pháp xử lý enzyme; hàm lượng phenolic tổng và anthocyanin trong mẫu xử lý siêu âm cũng cao hơn mẫu ủ chế phẩm enzyme lần lượt là 11,3% và 15,9%.

**Từ khóa:** Anthocyanin, trích ly bằng enzyme, thông số động học, dâu tằm, các hợp chất phenolic, phương pháp trích ly bằng sóng siêu âm

### 1. Đặt vấn đề

Nước ép quả là nguồn cung cấp nhiều loại dưỡng chất phong phú cho con người như: đường, acid hữu cơ, vitamin, khoáng chất và chất xơ. Thêm vào đó, các loại nước ép trái cây hiện nay còn được ưa chuộng hơn bởi các thành phần sinh học và tác dụng dược lý của chúng đến sức khỏe con người [1]. Quả dâu tằm thuộc loài *Morus alba*, là nguồn nguyên liệu tự nhiên giàu các hợp chất phenolic với khả năng chống oxy hóa cao [1]. Trong số các hợp chất phenolic trong dâu tằm thì anthocyanin là nhóm hoạt chất chống oxy hóa quan trọng [2].

Trích ly là giai đoạn mang tính quyết định đến chất lượng của sản phẩm nước ép trái cây. Thông thường, để tăng hiệu suất trích ly thì dịch quả được xử lý với các chế phẩm enzyme [3]. Các nghiên cứu đã cho thấy việc ứng dụng các chế phẩm enzyme pectinase trong xử lý thịt quả đã làm gia tăng đáng kể cả hiệu suất thu hồi lẫn chất lượng dịch quả [4]. Bên cạnh phương pháp trích ly truyền thống sử dụng chế phẩm enzyme, trong vài năm gần đây kỹ thuật siêu âm được ứng dụng thành công trong xử lý dịch quả nhằm nâng cao hiệu suất và chất lượng nước ép trái cây [5, 6].

<sup>1</sup>Trường Đại học Phú Yên

Mục đích của nghiên cứu này đó là:  
 i) Khảo sát ảnh hưởng của các thông số siêu âm đến hàm lượng các hoạt chất chống oxy hóa trong dịch trích dâu tằm; 2i) Tối ưu hóa các điều kiện siêu âm cho hàm lượng hợp chất phenolic trong dịch dâu tằm đạt cao nhất; 3i) Khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố nồng độ và thời gian ủ enzyme pectinase đến hàm lượng phenolic thu được trong dịch trích dâu tằm; 4i) Tối ưu hóa phương pháp xử lý enzyme để thu hàm lượng phenolic cao nhất; 5i) So sánh hiệu quả trích ly các hoạt chất chống oxy hóa trong dịch quả dâu tằm của hai phương pháp trên.

## 2. Thực nghiệm

### 2.1. Nguyên liệu

*Dâu tằm*: Quả dâu tằm (*Morus alba*) dùng trong nghiên cứu này được thu mua vào tháng 2 từ nhà vườn ở Đà Lạt. Quả được xử lý bằng máy chà hiệu Panasonic MJ – 170, Malaysia. Phần thịt quả thu nhận được hòa tan với nước theo tỉ lệ 1:1 tính theo tỉ trọng, sau đó hỗn hợp được xử lý tiếp với chế phẩm enzyme hoặc sóng siêu âm và thu nhận nước ép quả.

*Chế phẩm pectinase*: Pectinex Ultra SP-L có nguồn gốc từ nấm mốc *A. aculeatus*, được sản xuất bởi công ty Novo Nordisk Ferment (Thụy Sĩ). Hoạt tính của chế phẩm 4.193 đơn vị polygalacturonase/mL. pH tối ưu và nhiệt độ tối ưu của chế phẩm lần lượt là 4,0 và 50°C.

### 2.2. Phương pháp thí nghiệm

Mỗi nghiệm thức được thực hiện với 40 g mẫu dâu chà trong becher (100mL).

2.2.1. Ảnh hưởng của các điều kiện siêu âm và tối ưu hóa các điều kiện xử lý sóng siêu âm đến hàm lượng chất chống oxy hóa trong dịch ép dâu tằm

Phần này gồm 4 thí nghiệm:

\* Thí nghiệm 1: Công suất siêu âm được thay đổi từ 0 đến 13,3 W/g hỗn hợp dâu chà, trong điều kiện nhiệt độ siêu âm là 30°C và thời gian 2 phút cho 1 mẫu.

\* Thí nghiệm 2: Nhiệt độ siêu âm được khảo sát từ 30 đến 80°C, với công suất và thời gian siêu âm là 9,38 W/g hỗn hợp dâu chà và thời gian 2 phút cho 1 mẫu.

\* Thí nghiệm 3: Thời gian siêu âm thay đổi từ 0 đến 10 phút, với công suất và nhiệt độ siêu âm là 9,38 W/g dâu chà và nhiệt độ 60°C.

\* Thí nghiệm 4: Với mục tiêu tìm ra các điều kiện xử lý siêu âm tối ưu, chúng tôi chọn hai thông số công suất và nhiệt độ siêu âm để tiến hành thí nghiệm theo phương pháp quy hoạch thực nghiệm trực giao 2 yếu tố, cấu trúc có tâm với các hàm mục tiêu là hàm lượng các hợp chất phenolic trong dịch dâu tằm. Chúng tôi sử dụng phần mềm Modde 5.0 để thiết kế thí nghiệm và xử lý kết quả.

Trong phần thực nghiệm này, thời gian siêu âm được cố định trong 6 phút, các bước tiếp theo được tiến hành khảo sát tương tự như trên. Mẫu đối chứng

được chuẩn bị tương tự các thí nghiệm trên để so sánh hàm lượng chất chống oxy hóa trong nước ép dâu tằm trước và sau khi xử lý sóng siêu âm. Sau khi xử lý siêu âm, hỗn hợp dâu chà được ly tâm với tốc độ 10.000 vòng/ phút trong thời gian 15 phút bằng thiết bị ly tâm lạnh (Satorius, Thụy Sĩ) và dịch quả sau ly tâm được mang đi phân tích.

*2.2.2. Ảnh hưởng của các điều kiện ủ enzyme và tối ưu hóa các điều kiện xử lý enzyme đến hàm lượng chất chống oxy hóa trong dịch ép dâu tằm*

Gồm 3 thí nghiệm:

\* Thí nghiệm 1: Hàm lượng Pectinex Ultra SP-L khác nhau được cho vào các cốc chứa mẫu: 0; 0,03; 0,05; 0,07; 0,09; 0,11 và 0,13 % v/w (khối lượng enzyme/khối lượng thịt quả) với nhiệt độ xử lý 50 °C trong thời gian 60 phút.

\* Thí nghiệm 2: Nồng độ Pectinex Ultra SP-L 0,07% được cho vào các cốc mẫu và lần lượt ủ trong thời gian từ 30 đến 150 phút.

\* Thí nghiệm 3: Thí nghiệm này được bố trí nhằm khảo sát sự tương tác giữa hai yếu tố nồng độ chế phẩm enzyme pectinase và thời gian xử lý enzyme và sự ảnh hưởng đồng thời của hai yếu tố này đến hàm lượng các hợp chất phenolic trong dịch trích dâu tằm. Chúng tôi thực hiện quá trình tối ưu hóa hai yếu tố bằng mô hình trực giao cấp 2 có tâm xoay với 5 thí nghiệm ở tâm, sử dụng phần mềm Modde 5.0 để thiết kế và xử lý số liệu thực nghiệm.

Trong phần thực nghiệm này, các bước tiếp theo được tiến hành khảo sát tương tự như trên. Mẫu đối chứng được chuẩn bị tương tự các thí nghiệm trên để so sánh hàm lượng chất chống oxy hóa trong nước ép dâu tằm trước và sau khi xử lý enzyme.

*2.2.3. So sánh các thông số động học của quá trình trích ly dịch quả bằng phương pháp hỗ trợ enzyme và siêu âm từ mô hình động học bậc hai*

Trong thí nghiệm này, phenolic tổng và anthocyanin được chọn là những thành phần mục tiêu trong dịch trích dâu tằm giàu các hợp chất chống oxy hóa. Các điều kiện xử lý enzyme pectinase và sóng siêu âm đã được tối ưu hóa để thu nhận dịch trích dâu tằm giàu các hợp chất chống oxy hóa.

Trong phương pháp hỗ trợ trích ly bằng chế phẩm enzyme pectinase, nồng độ Pectinex Ultra SP-L là 0,08% w/w được cho vào các becher chứa mẫu. pH của dịch quả được điều chỉnh tới 4,0. Nhiệt độ trích ly được khống chế ở 50°C bằng bể điều nhiệt (Memmert, Đức). Hàm lượng các hoạt chất được xác định trong khoảng thời gian từ 0 đến 140 phút.

Trong phương pháp xử lý siêu âm dịch quả, hỗn hợp dâu tằm được xử lý với công suất siêu âm là 10,36 W/g, nhiệt độ xử lý dịch quả là 63°C và thời gian siêu âm được khảo sát từ 0 đến 8 phút. Để xác định hằng số tốc độ trích ly các hợp chất chống oxy hóa của dịch trích dâu tằm, chúng tôi áp dụng quy

luật trích ly của mô hình bậc hai [7,8]. Mô hình bậc hai dạng chung được biểu diễn như sau:

$$\frac{dC_t}{dt} = k(C_e - C_t)^2 \quad (1)$$

Trong đó:

k: Hằng số tốc độ trích ly theo mô hình bậc 2 ( $L g^{-1} \text{ phút}^{-1}$ )

$C_e$ : Khả năng trích ly (đây là nồng độ chất chiết ở trạng thái cân bằng trong dịch trích) ( $g L^{-1}$ )

$C_t$ : Nồng độ chất chiết trong dịch trích tại thời điểm t.

Quy luật trích ly của mô hình bậc 2 nằm trong điều kiện biên  $t = 0$  đến  $t$  và  $C_t = 0$  đến  $C_t$ , có thể được viết theo phương trình đường thẳng như sau:

$$C_t = \frac{C_e^2 kt}{1 + C_e kt} \quad (2)$$

$$\frac{t}{C_t} = \frac{1}{kC_e^2} + \frac{t}{C_e} \quad (3)$$

Tốc độ trích ly ban đầu,  $h$  ( $L g^{-1} \text{ phút}^{-1}$ ) là  $C_t/t$  khi  $t$  tiến đến 0 và được xác định bởi phương trình sau:

$$h = kC_e^2 \quad (4)$$

Tốc độ trích ly ban đầu  $h$  ( $L g^{-1} \text{ phút}^{-1}$ ), khả năng trích ly  $C_e$  ( $g L^{-1}$ ) và hằng số tốc độ trích ly  $k$  ( $L g^{-1} \text{ phút}^{-1}$ ) sẽ được xác định từ đồ thị đường thẳng trên hai trục tọa độ  $t$  và  $t/C_t$ .

*2.2.4. So sánh hàm lượng các hoạt chất và hoạt tính chống oxy hóa của dịch quả dâu tằm thu được bằng phương pháp hỗ trợ enzyme và siêu âm*

Các kỹ thuật hỗ trợ trích ly dịch quả dâu tằm bằng enzyme và siêu âm được tiến hành dưới các điều kiện tối ưu.

Đối với phương pháp trích ly bằng

enzyme, nồng độ Pectinex Ultra SP-L là 0,08% w/w được cho vào các becher chứa mẫu; pH của dịch quả được điều chỉnh tới 4,0; nhiệt độ và thời gian trích ly là 50 °C và 120 phút.

Đối với kỹ thuật trích ly bằng sóng siêu âm, dịch quả được siêu âm dưới công suất 10,36 W/g ở điều kiện nhiệt độ là 63 °C và trong thời gian trích ly là 6 phút.

Mẫu đối chứng không xử lý enzyme lẫn siêu âm cũng được xử lý dưới các điều kiện tương tự.

### 2.3. Phương pháp phân tích

Phenolic tổng được xác định bằng phương pháp quang phổ sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteu [9]. Kết quả thực nghiệm được biểu diễn bằng đương lượng mg acid gallic trên lít dịch quả ( $mg \text{ GAE } L^{-1}$ ). Hàm lượng anthocyanin tổng được xác định bằng phương pháp pH-vi sai [9]. Hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích được đánh giá bằng phương pháp FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) và phương pháp ABTS (2,2'-Azinobis-(3-ethyl Benzo Thiazoline-6-Sulfonic acid)) [10, 11]. Kết quả được biểu diễn dưới dạng milimol Trolox trên lít dịch trích ( $mM \text{ TE/L}$ ).

### 2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các nghiệm thức được tiến hành lặp lại 3 lần. Kết quả trình bày là giá trị trung bình. Những giá trị trung bình được xem là khác biệt có ý nghĩa khi  $p < 0,05$ . Phân tích phương sai (ANOVA) được tiến hành trên phần

mềm Statgraphics plus version 3.0.

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1. Ảnh hưởng của các điều kiện siêu âm và tối ưu hóa các điều kiện xử lý sóng siêu âm đến hàm lượng chất chống oxy hóa trong dịch ép dâu tằm

Theo nghiên cứu của chúng tôi [12], khi tăng công suất siêu âm, hoạt tính chống oxy hóa của dịch dâu tằm tăng theo và đạt cực đại ở công suất 9,38W/g. Khi đó, hoạt tính chống oxy hóa tăng lần lượt 19,2% (theo phương pháp FRAP) và 14,1% (theo phương pháp ABTS) so với mẫu đối chứng không xử lý siêu âm.

Hoạt tính chống oxy hóa tăng lên cùng với sự gia tăng hợp chất phenolic (trong đó bao gồm cả anthocyanin) và vitamin C trong dịch trích, chứng tỏ rằng sóng siêu âm làm tăng hàm lượng các cấu tử có hoạt tính sinh học trong dịch quả khi sử dụng công suất siêu âm phù hợp. Nhận định này của chúng tôi phù hợp với kết quả được công bố bởi Le và cộng sự (2012) [5]. Các tác giả này ứng dụng sóng siêu âm để hỗ trợ trích ly vitamin C và các hợp chất phenolic từ quả sơ ri. Theo các tác giả này, sóng siêu âm đã làm giảm kích thước thịt quả, gia tăng tốc độ khuấy trộn, cải thiện quá trình truyền khối và đẩy nhanh tốc độ trích ly các hoạt chất trong dịch quả. Tuy nhiên năng lượng siêu âm quá cao sẽ làm giảm hàm lượng các hoạt chất trong dịch quả. Điều này có thể do sự xuất hiện các gốc hydroxyl, các gốc này phản ứng và làm biến đổi

các thành phần phenolic và vitamin C trong dịch quả [13].

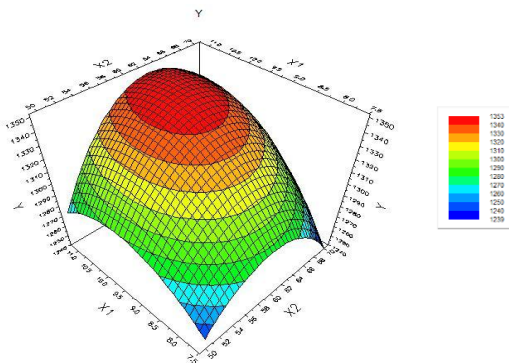
Các yếu tố nhiệt độ và thời gian siêu âm cũng lần lượt được khảo sát. Theo kết quả thu được từ [12], khi nhiệt độ siêu âm vượt quá 60°C thì hàm lượng phenolic tổng và anthocyanin trong dịch quả giảm dần. Mason & Lorimer (2002) [14], đã phát biểu rằng, nhiệt độ quá cao sẽ làm giảm cường độ nổ vỡ của các bọt bóng do áp suất hơi cao. Thêm vào đó, nhiệt độ càng cao càng đẩy nhanh tốc độ phân hủy vitamin C và các hợp chất phenolic. Khi xử lý thịt quả dâu tằm với thời gian siêu âm khác nhau thì hàm lượng các hoạt chất cũng biến đổi đáng kể và 6 phút là khoảng thời gian siêu âm cho hàm lượng các hợp chất phenolic cao nhất, kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của Le và cộng sự (2012) [5] khi trích ly các hợp chất phenolic từ trái sơ ri.

Sau khi khảo sát sự ảnh hưởng của từng điều kiện siêu âm đến hàm lượng các hoạt chất trong dịch trích dâu tằm, công suất siêu âm 9,38 W/g và nhiệt độ xử lý 60°C được chọn là hai yếu tố trung tâm của mô hình trục giao có tâm xoay với hàm mục tiêu là hàm lượng các hợp chất phenolic. Theo [12] chúng tôi thu được phương trình hồi quy về hàm lượng các hợp chất phenolic trong dịch quả dâu tằm như sau:

$$Y = 1344 + 26,8592X_1 + 11,5543X_2 - 29,5045X_1^2 - 42,0084X_2^2 + 17,4999X_1.X_2 \quad (1)$$

Trong đó:  $Y$ ,  $X_1$ ,  $X_2$  lần lượt là hàm lượng các hợp chất phenolic (mgGAE/L), công suất siêu âm và nhiệt độ siêu âm.

Phương trình hồi quy được biểu diễn trên trục tọa độ không gian 3 chiều:



**Hình 1:** Ảnh hưởng của công suất siêu âm ( $X_1$ ) và nhiệt độ ( $X_2$ ) đến hàm lượng các hợp chất phenolic ( $Y$ ) trong dịch quả dâu tằm

Mô hình cho thấy, sự thay đổi công suất và nhiệt độ siêu âm đã làm biến đổi hàm lượng phenolic tổng thu được trong dịch trích. Từ phương trình hồi quy, nồng độ phenolic tổng đạt tối đa là 1.353 mg GAE/L khi công suất 10,36 W/g và nhiệt độ siêu âm là 63°C. Để kiểm tra độ chính xác của mô hình, chúng tôi đã thực hiện các thí nghiệm kiểm chứng dưới các điều kiện đã tối ưu. Kết quả đạt được như sau: Hàm lượng trung bình của các hợp chất phenolic thu được sau 3 lần lặp lại là 1363 mg GAE/L ứng với công suất siêu âm là 10,36 (W/g) và nhiệt độ siêu âm là 63 °C; giá trị thí nghiệm rất gần với giá trị tiên đoán từ phương trình hồi quy (1).

Ở phương pháp thực nghiệm cổ điển, các điều kiện được chọn là công suất siêu âm 9,38 W/g, nhiệt độ 60°C và thời gian 6 phút. Khi đó, chúng tôi nhận thấy hàm lượng các hợp chất phenolic trong dịch quả tăng 58,3% so với mẫu đối chứng không qua xử lý siêu âm. Sau khi tiến hành tối ưu hóa bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm, chúng tôi nhận thấy hàm lượng các hợp chất phenolic trong dịch quả tăng đến 63,23% so với mẫu đối chứng. Kết quả này tăng 8,5% so với phương pháp thực nghiệm cổ điển. Như vậy, phương pháp tối ưu bằng quy hoạch thực nghiệm đã làm tăng hiệu quả xử lý siêu âm trên dịch quả dâu tằm.

Kết quả chúng tôi thu được cũng tương tự với kết quả nghiên cứu của Nguyen và Le (2012) [15] khi tối ưu hóa công suất và thời gian siêu âm để tăng hiệu quả trích ly dịch quả dứa; hay kết quả nghiên cứu của Chen và cộng sự (2012) [16] khi tối ưu hóa tỉ lệ nước phối trộn, nhiệt độ và thời gian siêu âm để tăng hiệu quả trích ly polysaccharide từ bột nấm *Boletus edulis*.

### 3.2. Ảnh hưởng của các điều kiện ủ enzyme *Pectinex Ultra SP-L* và tối ưu hóa các điều kiện xử lý enzyme đến hàm lượng chất chống oxy hóa trong dịch ép dâu tằm

Hàm lượng và hoạt tính của các chất chống oxy hóa trong dịch quả dâu tằm biến đổi đáng kể khi xử lý hỗn hợp dâu chà với những nồng độ enzyme và thời gian ủ khác nhau. Chúng tôi đã thu

được kết quả từ [17], ở nồng độ enzyme 0,07% v/w hàm lượng các hoạt chất chống oxy hóa trong dịch trích dâu tằm đạt cao nhất, cụ thể phenolic tổng và anthocyanin tăng so với mẫu đối chứng lần lượt là 36,9% và 78,5%. Điều này được lý giải là do chế phẩm enzyme đã phân hủy các pectic mà các cơ chất này tập trung chủ yếu ở thành và các phiến giữa của tế bào thịt quả [16]. Do đó, quá trình trích ly các hợp chất chống oxy hóa tại tế bào chất của thịt quả được cải thiện. Như vậy, nồng độ thích hợp của Pectinex Ultra SP-L cho xử lý thịt quả là 0,07% v/w.

Khi kéo dài thời gian xử lý với enzyme lên đến 90 phút hàm lượng các hợp chất phenolic trong dịch quả dâu tằm đạt cao nhất, tăng lên 46,8% so với mẫu đối chứng. Nếu tiếp tục tăng thời gian xử lý enzyme từ 90 phút đến 150 phút thì hàm lượng các hợp chất phenolic không biến đổi rõ rệt ( $p < 0,05$ ). Do đó, 90 phút là thời gian thích hợp cho xử lý enzyme đối với hỗn hợp dâu tằm. Thời gian xử lý enzyme pectinase đối với hỗn hợp dâu tằm thì dài hơn so với khi xử lý thịt quả sơ ri (60 phút) [18].

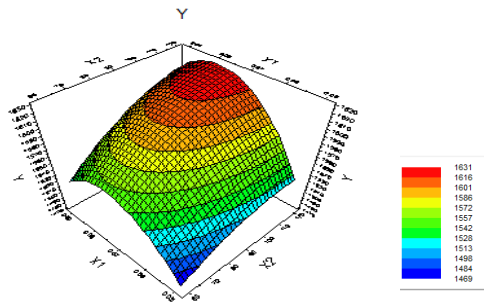
Dựa trên kết quả thu được, chúng tôi tiếp tục lựa chọn nồng độ Pectinex Ultra SP-L 0,07 %v/w và thời gian xử lý enzyme 90 phút là hai yếu tố trung tâm của mô hình trực giao có tâm xoay. Theo [17] chúng tôi thu được phương trình hồi quy về hàm lượng các hợp

chất phenolic trong dịch quả dâu tằm như sau:

$$Y = 1600 + 35.91X_1 + 36.22X_2 - 53.14X_1^2 - 15.62 X_2^2 \quad (2)$$

Trong đó:  $Y$ ,  $X_1$ ,  $X_2$  lần lượt là hàm lượng các hợp chất phenolic (mgGAE/L), nồng độ chế phẩm enzyme và thời gian xử lý.

Phương trình hồi quy được biểu diễn trên trục tọa độ không gian 3 chiều như sau:



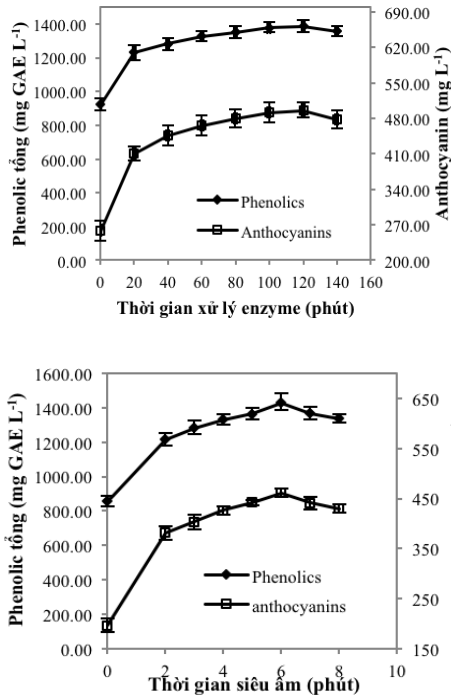
**Hình 2:** Ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm enzyme ( $X_1$ ) và thời gian xử lý ( $X_2$ ) đến hàm lượng các hợp chất phenolic ( $Y$ ) trong dịch quả dâu tằm

Mô hình cho thấy, sự thay đổi nồng độ enzyme hay thời gian xử lý đã làm biến đổi hàm lượng phenolic tổng thu được trong dịch trích dâu tằm. Từ phương trình hồi quy, nồng độ phenolic tổng đạt tối đa là 1.631 mg GAE/L khi nồng độ chế phẩm enzyme và thời gian xử lý là 0,08%v/w và 120 phút. Để kiểm tra độ chính xác của mô hình, chúng tôi đã thực hiện các thí nghiệm kiểm chứng dưới các điều kiện đã tối ưu. Kết quả hàm lượng trung bình của các hợp chất phenolic thu được sau 3 lần lặp lại là 1659 mg GAE/L, giá trị thí nghiệm rất gần với giá trị tiên đoán từ

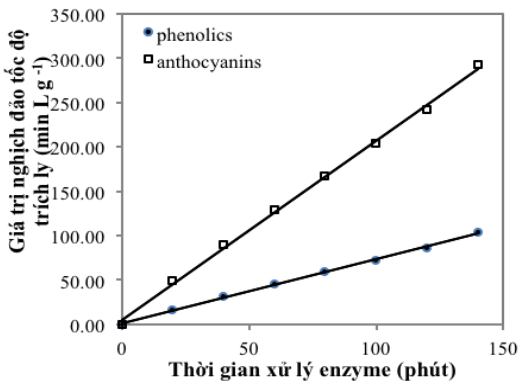
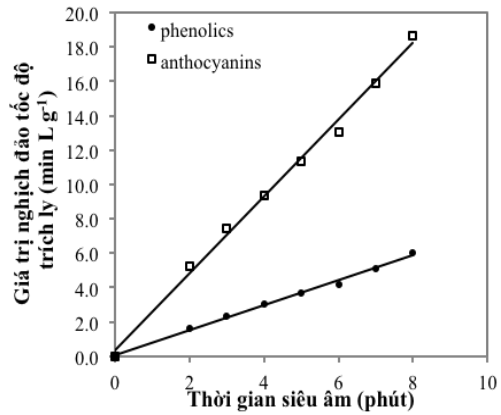
phương trình hồi qui (2). Nồng độ phenolic tổng trong các mẫu xử lý enzyme dưới điều kiện tối ưu tăng 51,2% so với mẫu đối chứng và tăng hơn 7,1% so với các mẫu xử lý enzyme theo phương pháp cổ điển.

**3.3. So sánh các thông số động học của quá trình trích ly dịch quả bằng phương pháp hỗ trợ enzyme và siêu âm từ mô hình động học bậc hai**

Trong phần này, chúng tôi tiến hành xử lý hỗn hợp dâu tằm bằng sóng siêu âm hoặc chế phẩm pectinase, từ đó xác định hàm lượng các hợp chất phenolic và anthocyanin tại các khoảng thời gian khác nhau trong quá trình xử lý, kết quả thu được như hình sau:



**Hình 3:** Sự thay đổi nồng độ phenolic tổng và anthocyanin trong dịch trích dâu tằm theo thời gian khi xử lý bằng sóng siêu âm và enzyme pectinase



**Hình 4:** Giá trị nghịch đảo tốc độ trích ly (t/Ct) đối với phenolic tổng và anthocyanin theo thời gian trong (a) phương pháp trích ly bằng siêu âm và (b) phương pháp trích ly bằng enzyme

Hình 3 thể hiện nồng độ phenolic tổng và anthocyanin của dịch trích trong suốt thời gian trích ly bằng phương pháp siêu âm và sử dụng chế phẩm enzyme pectinase. Tất cả các mẫu được xử lý bằng sóng siêu âm hay chế phẩm enzyme đều cho thấy hàm lượng các hợp chất phenolic và anthocyanin cao hơn so với mẫu đối chứng không xử lý các kỹ thuật trích ly.

Từ các số liệu thực nghiệm này, giá trị nghịch đảo tốc độ trích ly tại các thời điểm khác nhau được tính toán và hình 4 mô tả phương trình dạng tuyến tính



của mô hình động học bậc 2 của phương pháp trích ly các hoạt chất chống oxy hóa có hỗ trợ của sóng siêu âm và chế phẩm pectinase.

Bảng 1 cho thấy các thông số động học của quá trình trích ly các hợp chất chống oxy hóa từ quả dâu tằm. Khả năng trích ly  $C_e$  đối với các hợp chất phenolic và anthocyanin của cả hai phương pháp xử lý tương đương nhau. Tuy nhiên, giá trị hằng số tốc độ trích ly  $k$  của phương pháp xử lý bằng sóng siêu âm cao hơn so với phương pháp xử lý bằng chế phẩm pectinase xấp xỉ là 16,9 lần đối với các hợp chất phenolic và 21,5 lần đối với anthocyanin. Tương tự, tốc độ trích ly ban đầu  $h$  của các hoạt chất khi sử dụng kỹ thuật siêu âm cũng cao hơn nhiều so với phương pháp xử lý chế phẩm pectinase. Điều này chứng tỏ phương pháp trích ly có hỗ trợ của sóng siêu âm đã tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình trích ly các hoạt chất có trong quả dâu tằm và thời gian trích ly ngắn hơn so với phương pháp sử dụng chế phẩm enzyme pectinase.

Kết quả này tương tự như kết luận của Khan và cộng sự (2010) [19] và Pan và cộng sự (2011) [20] khi nghiên cứu quá trình trích ly polyphenol từ vỏ quả

cam và vỏ quả lựu. Tuy nhiên, mức độ tăng của các thông số động học trong nghiên cứu của các tác giả này thấp hơn nhiều so với kết quả của chúng tôi. Sự khác biệt này có thể là do hàm lượng các hợp chất phenolic trong dâu tằm cao hơn nhiều so với các hợp chất phenolic trong vỏ cam hay vỏ lựu, đồng thời các hợp chất phenolic trong thịt quả dễ trích ly hơn so với trong vỏ quả.

Xét về hàm lượng các hoạt chất thu được trong dịch quả khi tiến hành so sánh hai phương pháp xử lý trên, ở bảng 2 cho thấy cả hai phương pháp đều giúp cải thiện đáng kể hàm lượng các hoạt chất trong dịch trích. Theo đó, hàm lượng các hợp chất phenolic và anthocyanin trong dịch quả dâu tằm trong trường hợp xử lý sóng siêu âm tăng cao hơn so với trường hợp xử lý enzyme lần lượt 11,3% và 15,9%. Kỹ thuật xử lý siêu âm đối với thịt quả dâu tằm cho hiệu quả trích ly các hợp chất phenolic và anthocyanin trong dịch trích cao hơn so với phương pháp sử dụng chế phẩm pectinase. Do vậy hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu khi xử lý với sóng siêu âm cũng cao hơn so với các mẫu xử lý với chế phẩm enzyme.

**Bảng 1:** So sánh các thông số động học của quá trình trích ly các hợp chất phenolic và anthocyanin từ dâu tằm khi có sự hỗ trợ của sóng siêu âm và chế phẩm pectinase

Hợp chất	Phương pháp trích ly	Khả năng trích ly, $C_e$ (g/L)	Tốc độ trích ly ban đầu, h ( $gL^{-1}phút^{-1}$ )	Hằng số tốc độ trích ly, k ( $Lg^{-1}phút^{-1}$ )	$R^2$
Hợp chất phenolic	Xử lý siêu âm	1,39	11,76	6,09	0,996
	Xử lý pectinase	1,36	0,66	0,36	0,999
Anthocyanin	Xử lý siêu âm	0,45	2,79	13,76	0,995
	Xử lý pectinase	0,39	0,10	0,64	0,998

**Bảng 2:** Hàm lượng các hoạt chất và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích dâu tằm thu được từ phương pháp siêu âm và xử lý enzyme

Phương pháp trích ly	Hàm lượng các hợp chất		Hoạt tính chống oxy hóa	
	Phenolic (mg GAE/L)	Anthocyanin (mg/L)	FRAP (mM TE/L)	ABTS (mM TE/L)
Mẫu đối chứng	1375 ± 35 <sup>b</sup>	477 ± 20 <sup>b</sup>	13,62 ± 0,19 <sup>b</sup>	11,88 ± 0,25 <sup>b</sup>
Xử lý siêu âm	1530 ± 38 <sup>c</sup>	553 ± 14 <sup>c</sup>	14,04 ± 0,17 <sup>c</sup>	12,33 ± 0,17 <sup>c</sup>
Xử lý pectinase	910 ± 24 <sup>a</sup>	234 ± 18 <sup>a</sup>	8,19 ± 0,12 <sup>a</sup>	7,10 ± 0,16 <sup>a</sup>

#### 4. Kết luận

Cả hai phương pháp hỗ trợ trích ly bằng sóng siêu âm và chế phẩm pectinase là những phương pháp triển vọng nhằm cải thiện giá trị dinh dưỡng của nước quả dâu tằm thể hiện qua sự gia tăng hàm lượng các hợp chất phenolic, anthocyanin và hoạt tính chống oxy hóa của dịch quả. Tuy nhiên khi sử dụng phương pháp siêu âm cho thấy nhiều thuận lợi hơn so với phương pháp xử lý enzyme như thời gian xử lý ngắn hơn, đồng thời hiệu suất thu hồi các hợp chất phenolic và anthocyanin cao hơn. Như đã trình bày, chế phẩm pectinase chỉ phân cắt pectin trong cấu

trúc mô thực vật để làm giảm kích thước nguyên liệu và hỗ trợ cho quá trình trích ly phenolic và anthocyanin. Trong khi đó sóng siêu âm có thể phân cắt tất cả các polymer trong cấu trúc thành tế bào và lớp kết dính giữa các tế bào trong mô thực vật nên sự phá hủy tế bào sẽ triệt để hơn; từ đó, các chất chống oxy hóa từ nội bào sẽ được giải phóng ra ngoài nhiều hơn. Do đó, sự phân cắt không chọn lọc các polymer trong thịt quả bởi sóng siêu âm sẽ cho hiệu quả trích ly các hợp chất phenolic cao hơn sự phân cắt chọn lọc của enzyme pectinase.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Song, W.; Wang, H.J.; Bucheli, P.; Zhang, P.F.; Wei, D.Z.; Lu, Y.H., *Journal of Agriculture and Food Chemistry* (2009), 57, 9133-9140
2. Bae, S. H và Suh, H. J., *LWT - Food Science and Technology* (2007), 40, 955–962
3. Sinha, N.; Sidhu, J.; Barta, J.; Wu, J.; Cano, M.P. *Handbook of fruits and fruit processing*. John Wiley & Sons, Oxford (2012) 695
4. Horvath-Kerkai, E. and Steger-Mate, M. Manufacturing fruit beverages and concentrates. In Sinha, N., Sidhu, J., Barta, J., Wu, J. and Cano, M. P. (Eds). *Handbook of fruits and fruit processing* Oxford: Wiley-Blackwell (2013), 215-228
5. Le, H.V. và Le, V.V.M., *International Journal of Food Science and Technology* (2012), 47, 1206–1214
6. Le, N. L. and Le, V. V. M., *Ultrasonics Sonochemistry* (2010), 17, 273-279
7. Qu, W.J.; Pan, Z.L.; Ma, H.L., *J. Food Eng.*(2010), 99, 16–23
8. Rakotondramasy-Rabesiaka, L.; Havet, J.-L.; Porte, C.; Fauduet, H. *Industrial crops and product* (2009), 29, 516–523
9. Ozgen, M.; Serce, S.; Kaya, C., *Scientia Horticulturae* (2009), 119, 275–279
10. Benzie, I.F.F. & Strain, J.J., *Analytical Biochemistry* (1996), 239, 70-76
11. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M. và Rice-Evans, C., *Free Radical Biology and Medicine* (1999), 26, 1231-1237
12. Phan, L. H. N.; Nguyen, T. N. T.; Le, V. V. M., *Journal of Science and Technology* (2012), 50, 204-209
13. Feng H., Barbosa-Cánovas G.V., *Weiss J, - Ultrasound technologies for Food and Bioprocessing*, Springer, New York (2011), 678
14. Mason, T.J. & Lorimer, J.P., *Applied sonochemistry: Uses of power ultrasound in chemistry and processing*, Wiley-VCH, Verlag (2002), 230
15. Nguyen T.P. and Le V.V.M., *International Food Research Journal* (2012), 19, 547-552
16. Chen W., Wang W-P, Zhang H-S, Huang Q., *Carbohydrate Polymers* (2012), 87, 614– 619
17. Nguyen, T. N. T., Phan, L. H. N, Le, V. V. M., *Journal of Science and Technology* (2012), 50, 102-107
18. Dang B.K., Le V.V.M., *International Food Research Journal* (2012), 19, 947-954
19. Khan, M.K.; Abert-Vian, M.; Fabiano-Tixier, A.S.; Dangles, O. & Chemat, F. *Food Chemistry* (2010), 119, 851–858
20. Pan, Z.; Qu, W.; Ma, H.; Atungulu, G.G. & McHugh, T.H., *Ultrasonics Sonochemistry* (2011), 18, 1249–1257

## STUDY ON EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM MULBERRY JUICES (*MORUS ALBA*)

### ABSTRACT

*Nowadays, fruit juice with high antioxidant level has attracted great attention. In this study, techniques of extraction which effected on the antioxidant level in mulberry juice was investigated. We researched the supported-technologies on antioxidant extraction for mulberry mash treatment: Using ultrasound and pectinase preparation Pectinex Ultra SP-L. The results show that, under the optimal conditions: sonication power and time were 10.36 W/g of fruit mash and 63 °C, respectively, the total phenolic content in the mulberry juice was 63.3% higher than that in the control sample; the optimal concentration of pectinase preparation and biocatalytic time were 0.08% v/w and 120 min, respectively. Next, these methods were compared the efficiency for antioxidant on the basis of kinetic model of second-order extraction. According to this model, the extraction rate constant of total phenolics and anthocyanins in ultrasound-assisted extraction (UAE) increased approximately 16.9 and 21.5 times, respectively, in comparison with that enzyme-assisted extraction (EAE); the level of phenolics and anthocyanins of mulberry juice from the ultrasonic treatment were 11.3% và 15.9%, respectively, higher than those from the enzymatic treatment.*

**Keywords:** *anthocyanins, enzyme-assisted extraction, kinetic parameters, mulberry, phenolics, ultrasound-assisted extraction*