

TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH TRÍCH LY DỊCH CHUỐI BẰNG ENZYME THỦY PHÂN SỬ DỤNG PHƯƠNG PHÁP BỀ MẶT ĐÁP ỨNG

OPTIMIZATION OF BANANA JUICE EXTRACTION BY HYDROLYTIC ENZYMES USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

Đỗ Thị Hạnh^{1*}, Hà Thị Dung¹, Mạc Thế Vinh¹,
Nguyễn Thị Ngọc Mai¹, Phạm Văn Sơn¹

DOI: <https://doi.org/10.57001/huih5804.2023.266>

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là xác định điều kiện tối ưu của quá trình trích ly dịch chuối. Điều kiện trích ly gồm ba yếu tố được khảo sát bằng thực nghiệm là tỷ lệ enzyme, nhiệt độ trích ly, thời gian trích ly. Hàm mục tiêu là hiệu suất thu hồi dịch chuối. Phương pháp bề mặt đáp ứng với mô hình Box-Behnken được sử dụng để thiết kế thí nghiệm với tỷ lệ enzyme pectinase 0,05 - 0,07%, nhiệt độ trích ly 45 - 55°C, thời gian trích ly 50 - 70 phút. Điều kiện tối ưu được dự đoán từ mô hình thực nghiệm là: tỷ lệ enzyme pectinase 0,062%, nhiệt độ trích ly 51,0°C, thời gian trích ly 65,1 phút, hiệu suất thu hồi dịch cao nhất đạt 67,77%. Thí nghiệm kiểm định kết quả tối ưu cho hiệu suất thu hồi dịch đạt 67,6%, hàm lượng phenolic tổng của mẫu dịch chiết tối ưu đạt 295,13mgGAE/L.

Từ khóa: Tối ưu hóa; trích ly dịch chuối, axit phenolic, pectinex[®] Ultra SP-L, celluclast[®] 1.5.

ABSTRACT

The aim of this research was to determine the optimal condition of juice banana extraction. The extraction conditions included three factors studied by empirical research were ratio of pectinase enzyme (0.05 – 0.07%), extraction temperature (45 - 55°C) and extraction time (50 - 70 minutes). The response was the extraction yield. The response surface methodology (RSM) based on Box - Behnken was used to design experiments. The optimal conditions were predicted by using the empirical model, the extraction yield was maximised (67,77%) at ratio of pectinase enzyme of 0.062%, extraction temperature of 51.0°C, extraction time of 65.1 minutes. The optimal condition was then empirically verified, extraction yield was 67.6%, and the total phenolic content of optimal extract was 295.13mgGAE/L.

Keywords: Optimization, banana juice extraction, phenolic acid, pectinex[®] Ultra SP-L, celluclast[®] 1.5.

¹Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

*Email: dothihanhcntp@gmail.com

Ngày nhận bài: 02/10/2023

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 18/11/2023

Ngày chấp nhận đăng: 25/12/2023

1. GIỚI THIỆU

Chuối là một trong những loại trái cây được tiêu thụ phổ biến ở Việt Nam. Chuối có màu sắc và hương vị hấp dẫn, giàu vitamin, khoáng chất, chất chống oxy hóa và chất xơ tốt cho sức khỏe con người [1]. Chính vì vậy, chuối là nguồn nguyên liệu tiềm năng lớn cho ngành chế biến các sản phẩm từ trái cây đặc biệt là các sản phẩm nước quả. Để tạo sản phẩm nước quả, nguyên liệu chuối cần trải qua quá trình trích ly dịch. Tuy nhiên, quá trình trích ly dịch chuối gặp nhiều khó khăn do thành phần pectin trong chuối lớn gây cản trở quá trình thoát dịch bào, quá trình lọc do đó làm giảm hiệu suất thu hồi dịch quả và hiện tượng vẫn đục trong nước ép thành phẩm. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng việc sử dụng chế phẩm enzyme thủy phân không những làm tăng hiệu suất thu hồi dịch quả mà còn tăng khả năng trích ly các chất có hoạt tính sinh học và những chất hòa tan khác. Pectinase là enzyme xúc tác sự phân hủy của các polymer pectin, làm giảm độ nhớt và khối lượng phân tử của các sản phẩm tạo thành. Polygalacturonase thủy phân liên kết α -1,4-D-galactoside ở giữa các phần tử acid galacturonic trong pectin. Trong khi đó, celluclast[®] 1.5 là một phức hệ enzyme có đặc tính sinh học xúc tác cho phản ứng thủy phân, phân cắt cấu trúc cellulose thành đường đơn thông qua việc cắt đứt liên kết 1,4-beta-D-glycosidic giúp tăng hiệu suất chiết xuất các hoạt chất có hoạt tính sinh học [2, 3]. Mục đích của nghiên cứu này là tối ưu quá trình xử lý enzyme nhằm nâng cao hiệu suất thu hồi dịch và hàm lượng phenolic tổng từ quả chuối (*Musa Paradisiaca* L) bằng phương pháp bề mặt đáp ứng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Chuối: Nguyên liệu sử dụng là giống chuối sứ (*Musa Paradisiaca* L) được thu mua tại xã Đan Phượng (huyện Đan Phượng, thành phố Hà Nội), có độ chín 7, không bị dập nát, hương thơm tự nhiên.

2.2. Hóa chất

Enzyme: Pectinex® Ultra SP-L có hoạt độ 3300 đơn vị polygalacturonase/ml; Celluclast® 1.5 có hoạt độ 700 đơn vị endoglucanase /ml do công ty Novozymes (Đan Mạch) sản xuất.

Axit galic, folin-Ciocalteau, natri cacbonat được mua từ công ty Hóa chất Sigma (Mỹ).

2.3. Phương pháp thí nghiệm

2.3.1. Nghiên cứu lựa chọn phương pháp chống thâm dịch chuối

Chuẩn bị mẫu thí nghiệm: 100g chuối đã được bóc vỏ, tiến hành xử lý chống thâm dịch chuối theo các công thức thí nghiệm được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Phương pháp xử lý chống thâm dịch chuối

STT	CT	Phương pháp xử lý
1	CT0	Mẫu đối chứng, không xử lý chống thâm, xay nhuyễn
2	CT1	Bổ sung acid citric với tỷ lệ 60mg/100g chuối trong quá trình xay nhuyễn
3	CT2	Bổ sung acid ascorbic theo tỷ lệ 60mg/100g chuối trong quá trình xay nhuyễn
4	CT3	Bổ sung metabisulfite với tỷ lệ 20mg/100g chuối trong quá trình xay nhuyễn
5	CT4	Chuối được cắt đôi theo chiều ngang, hấp ở nhiệt độ 90 - 100°C trong 5 phút, xay nhuyễn
6	CT5	Chuối được cắt đôi theo chiều ngang, hấp ở nhiệt độ 90 - 100°C, bổ sung acid ascorbic theo tỷ lệ 60mg/100g chuối trong quá trình xay nhuyễn

Ở mỗi thí nghiệm, puree chuối được chứa vào bình tam giác và để ở nhiệt độ phòng. Các chỉ số màu ban đầu (L*, a*, b*) của từng mẫu puree chuối được xác định ngay lập tức và sau 24 giờ bằng máy so màu konica minolta, inc, Nhật Bản) dựa trên không gian màu Hunter. L thể hiện độ sáng, có phạm vi từ 0 (đen) đến 100 (trắng); a* thể hiện màu từ xanh lục đến đỏ, có phạm vi từ -a (xanh lục) đến +a (đỏ); b* thể hiện màu từ xanh dương đến vàng, có phạm vi từ -b (xanh dương) đến +b (vàng). Chênh lệch sắc độ (ΔC), chênh lệch màu (ΔE) và chỉ số hóa nâu (BI) được tính toán như sau:

$$\Delta C = (\Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$$

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$$

$$BI = [100(x - 0,31)]/0,172$$

$$\text{Với } x = (a^* + 1,75L^*) / (5,645L^* + a^* - 3,012b^*)$$

Hiệu quả xử lý chống thâm dịch chuối được đánh giá qua chênh lệch màu sắc của puree chuối ở thời điểm ngay sau khi nghiền nhuyễn và sau 24 giờ [4].

2.3.2. Nghiên cứu lựa chọn hỗn hợp enzyme thủy phân thích hợp đến hiệu suất thu hồi dịch chuối

Chuối sau khi xử lý chống thâm được xay nhuyễn và bổ sung enzyme Pectinex® Ultra SP-L với tỷ lệ 0,04% hoặc Celluclast® 1.5 với tỷ lệ 0,02%, ủ ở 50°C, thời gian ủ 60 phút, lắc 60 vòng/phút. Kết thúc quá trình trích ly, thu dịch chuối bằng phương pháp ly tâm tốc độ 6.000 vòng/phút trong 10

phút. Đo Bx, khối lượng dịch để xác định hiệu suất thu hồi và xác định hàm lượng phenolic tổng.

2.3.3. Khảo sát sự ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu: nước đến hiệu suất thu hồi dịch chuối

Chuối sau khi xử lý chống thâm được xay nhuyễn với nước theo tỷ lệ nguyên liệu:nước được thay đổi lần lượt là 1:0; 1:0,5; 1:0,7 và 1:1 (g/ml). Bổ sung enzyme pectinase Pectinex® Ultra SP-L với tỷ lệ 0,04%. Tiến hành ủ enzyme và thu hồi dịch chuối tương tự mục 2.3.2. Hiệu quả trích ly được đánh giá qua hiệu suất thu hồi và hàm lượng tổng chất khô hòa tan.

2.3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme đến hiệu suất thu hồi dịch chuối

Puree chuối được bổ sung chế phẩm enzyme pectinase Pectinex® Ultra SP-L với các tỷ lệ: 0; 0,02; 0,04; 0,06 và 0,08 (%). Tiến hành ủ enzyme và thu hồi dịch chuối tương tự mục 2.3.2. Xác định hiệu suất thu hồi. Dịch chuối được định mức đến 200ml bằng nước cất sau đó xác định hàm lượng phenolic tổng

2.3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hiệu suất thu hồi dịch quả và trích ly phenolic tổng số

Bổ sung enzyme với nồng độ được lựa chọn từ thí nghiệm 2.3.4 vào puree chuối, tiến hành khảo sát thay đổi nhiệt độ trích ly từ 30, 40, 50, 60 và 70 (°C), thời gian trích ly là 60 phút. Thu dịch chuối tương tự mục 2.3.2, xác định hiệu suất thu hồi và hàm lượng phenolic tổng tương tự mục 2.3.4.

2.3.6. Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu suất thu hồi dịch quả và trích ly phenolic tổng

Xử lý puree chuối bằng enzyme với nồng độ và nhiệt độ thích hợp. Thời gian ủ enzyme được điều chỉnh lần lượt là 30, 60, 90 và 120 (phút). Thu dịch chuối và xác định hiệu suất thu hồi và hàm lượng phenolic tổng.

2.3.7. Tối ưu hóa quá trình trích ly dịch chuối

Quá trình tối ưu hóa được thực hiện bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) nhằm đánh giá ảnh hưởng đồng thời của ba yếu tố tác động lên quá trình thu hồi dịch chuối là tỷ lệ enzyme, nhiệt độ trích ly, thời gian trích ly. Khoảng biến thiên của các biến được xác định dựa trên kết quả thực nghiệm yếu tố đơn (mục 2.2.4, 2.2.5, 2.2.6). Ma trận thực nghiệm để tối ưu được thiết kế theo mô hình Box-Behnken. Mô hình thiết kế gồm 16 thí nghiệm trong đó 4 thí nghiệm lặp lại tại tâm. Hàm mục tiêu là hiệu suất thu hồi. Xử lý kết quả bằng phần mềm Design Expert 11 để xác định phương trình hồi quy, độ tin cậy của mô hình đồng thời xác định được điều kiện tối ưu để hiệu suất thu hồi là cao nhất. Các hệ số của phương trình hồi quy thực nghiệm được ước lượng bằng phương pháp bình phương cực tiểu; tính tương thích chung của mô hình được đánh giá bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA; $\alpha = 0,05$); ý nghĩa của các hệ số được kiểm tra bằng kiểm định Student ($\alpha = 0,05$). Xác minh lại điều kiện tối ưu bằng thực nghiệm.

2.4. Phương pháp phân tích

Xác định hiệu suất thu hồi dịch quả theo công thức [1]:

$$H = \frac{m_2 \times C_2}{m_1 \times C_1} \times 100 (\%)$$

Trong đó:

m_1 là khối lượng chuối dùng cho mỗi mẫu thí nghiệm (g)

m_2 là khối lượng dịch chiết thu được sau khi lọc (g)

C_1 là hàm lượng chất khô trong chuối nguyên liệu (%)

C_2 là hàm lượng chất khô trong dịch lọc (%)

Xác định độ ẩm bằng phương pháp sấy đến trọng lượng không đổi ở $103 \pm 2^\circ\text{C}$ với thiết bị sấy memnet (Đức).

Xác định hàm lượng phenolic tổng số theo phương pháp quang phổ so màu ở bước sóng 765nm sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteu [5].

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Sự khác biệt về hiệu suất thu hồi dịch quả và hàm lượng phenolic được đánh giá bằng phương pháp phân tích phương sai ANOVA ($\alpha = 0,05$) bằng phần mềm Minitab 18; số liệu thực nghiệm được trình bày dưới dạng trung bình và độ lệch chuẩn, mỗi phép đo được lặp lại 3 lần ($n = 3$).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu xử lý chống thâm dịch chuối

Trong quá trình xử lý thu hồi dịch chuối, ức chế enzyme polyphenol oxydase-enzyme làm sẫm màu dịch quả là một bước vô cùng quan trọng. Nó ảnh hưởng tới màu sắc, mùi vị và chất lượng sản phẩm thu cuối cùng. Các phương pháp thường được sử dụng để ức chế enzyme polyphenol oxydase-enzyme là xử lý hóa chất, xử lý nhiệt hoặc kết hợp cả hai xử lý hóa chất và xử lý nhiệt. Tiến hành thí nghiệm như mục 2.3.1. Kết quả được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các phương pháp xử lý chống thâm đến màu sắc và hiệu suất trích ly dịch chuối

Biện pháp xử lý chống thâm	ΔBI	ΔC	ΔE	Hiệu suất thu hồi dịch chuối (%)
CT0	$40,4 \pm 0,7$	$14,6 \pm 0,2$	$21,8 \pm 0,1$	$45,6 \pm 0,5$
CT1	$31,2 \pm 0,5$	$11,4 \pm 0,2$	$16,2 \pm 0,3$	$47,1 \pm 0,3$
CT2	$27,3 \pm 0,5$	$10,3 \pm 0,2$	$14,4 \pm 0,3$	$48,0 \pm 0,3$
CT3	$11,4 \pm 0,3$	$7,0 \pm 0,3$	$12,2 \pm 0,2$	$46,7 \pm 0,4$
CT4	$11,3 \pm 0,4$	$6,9 \pm 0,1$	$12,8 \pm 0,1$	$40,2 \pm 0,2$
CT5	$5,8 \pm 0,5$	$5,2 \pm 0,2$	$9,6 \pm 0,3$	$42,5 \pm 0,2$

Qua bảng trên cho thấy, giá trị ΔBI , ΔC , ΔE thấp nhất tương ứng đạt $5,8 \pm 0,5$; $5,2 \pm 0,2$; $9,6 \pm 0,3$ khi xử lý chuối theo CT5 (hấp kết hợp với acid ascorbic). Biện pháp xử lý chuối bằng natri metabisulfite (CT3) cho kết quả tương tự như phương pháp hấp (CT4). Trong phương pháp chống thâm bằng hóa chất, natri metabisulfite là chất chống thâm hiệu quả nhất cho chuối, tiếp đến là axit ascorbic và cuối cùng là axit citric. Kết quả này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu [4]. Nghiên cứu đã ứng dụng tiền xử lý chuối nghiền nhuyễn bằng hỗn hợp metabisulfite và axit ascorbic (5:50mg và 7:30mg) trên 100g nguyên liệu chuối hoặc chần ở 60°C , 35 phút kết hợp với axit ascorbic và axit citric với tỷ lệ 50mg:50mg/100g giúp giữ được màu sắc và mùi vị ổn

định [4]. Tuy nhiên, hiệu suất thu hồi dịch chuối khi xử lý bằng thâm bằng nhiệt có xu hướng giảm so với xử lý bằng hóa chất, đạt 40,2%. Điều này có thể lý giải do khi gia nhiệt chuối, có thể một phần dịch chuối bị tổn thất, đồng thời tinh bột trong chuối bị hồ hóa, protein bị đông tụ tạo cấu trúc gel có khả năng giữ nước nên hiệu suất thu hồi dịch chuối giảm. Kết hợp xử lý bằng nhiệt và acid ascorbic, hiệu suất trích ly tăng lên đạt 42,5% Trong thực phẩm, nồng độ cho phép sử dụng natri metabisulphit tối đa là 100 - 300mg/kg, tùy từng loại sản phẩm nhất định. Tuy nhiên, khi sử dụng các hợp chất từ lưu huỳnh như natri metabisulphit có thể làm ảnh hưởng tới sức khỏe người tiêu dùng, đặc biệt với những người dễ bị dị ứng, hen suyễn. Để đảm bảo an toàn cho sức khỏe người sử dụng, biện pháp xử lý chống thâm chuối là hấp ở $90 - 100^\circ\text{C}$, 5 phút kết hợp với axit ascorbic với tỷ lệ 60mg/100g chuối được lựa chọn.

3.2. Nghiên cứu lựa chọn hỗn hợp enzyme thủy phân thích hợp cho quá trình trích ly dịch chuối

Enzyme pectinase có hiệu quả trong xử lý thu hồi dịch chiết. Nó mang lại năng suất nước ép cao hơn và quá trình chiết xuất được cải thiện. Hơn nữa, pectinase cũng nhanh chóng làm giảm độ nhớt để xử lý dễ dàng hơn. Enzyme cellulase cũng có hiệu quả trong xử lý thu hồi dịch chiết, giúp giảm độ nhớt của mô thực vật và tăng năng suất chiết. Vì vậy, trong nghiên cứu này hai chế phẩm enzyme Pectinex® Ultra SP-L (pectinase) và Celluclast® 1.5 (cellulase) được sử dụng với nồng độ theo như khuyến cáo của nhà sản xuất. Kết quả được trình bày trong bảng 3.

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, bổ sung chế phẩm enzyme Pectinex® Ultra SP-L, Celluclast® 1.5 trong quá trình trích ly đã thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về hiệu suất thu hồi dịch chuối và hàm lượng phenolic tổng. Hiệu suất thu hồi dịch chuối và hàm lượng phenolic tổng cao nhất ở mẫu xử lý bằng enzyme Pectinex® Ultra SP-L đạt 57,47% và 252,43mgGAE/L. Với mẫu xử lý bằng enzyme Celluclast® 1.5, hiệu suất thu hồi dịch quả đạt 53,63%, (thấp hơn 3,84% so với xử lý bằng enzyme Pectinex® Ultra SP-L), hàm lượng phenolic tổng đạt 233,27mgGAE/L. Với mẫu đối chứng không sử dụng enzyme, hiệu suất thu hồi dịch chỉ đạt 42,5% (thấp hơn 14,97% so với xử lý bằng enzyme Pectinex® Ultra SP-L) và hàm lượng phenolic tổng đạt 135,67mgGAE/L.

Bảng 3. Ảnh hưởng của hỗn hợp enzyme đến hiệu suất thu hồi dịch chuối

Chế phẩm enzyme	Hiệu suất thu hồi dịch (%)	Hàm lượng phenolic tổng (mgGAE/L)
Đối chứng	$42,5^c \pm 0,5$	$135,67^c \pm 1,53$
Pectinex® Ultra SP-L	$57,47^a \pm 0,25$	$252,43^a \pm 2,38$
Celluclast® 1.5	$53,63^b \pm 0,45$	$233,27^b \pm 2,78$

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột có chỉ số mũ khác nhau thì khác nhau ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$

Có thể thấy rằng, chế phẩm enzyme Pectinex® Ultra SP-L là một phức hệ enzyme gồm enzyme polygalacturonase và pectinase vừa góp phần phá vỡ thành tế bào, đồng thời thủy phân pectin làm giảm độ nhớt, từ đó giải phóng các thành

phần trong tế bào, dịch bào bên trong dễ dàng thoát ra làm tăng hiệu quả của quá trình trích ly. Chế phẩm enzyme Celluclast® 1.5 chỉ bao gồm enzyme cellulase, mà trong chuỗi hàm lượng pectin cao nên hiệu quả thủy phân giảm hơn so với Pectinex® Ultra SP-L. Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu [7] khi sử dụng chế phẩm enzyme Pectinex® Ultra SP-L để trích ly dịch quả dưa hấu cho hiệu suất thu hồi cao hơn 3,1% so với sử dụng chế phẩm enzyme Celluclast® 1.5. Vì vậy, lựa chọn chế phẩm enzyme Pectinex® Ultra SP-L cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu:nước đến hiệu suất thu hồi dịch chuối

Để quá trình thủy phân của enzyme xảy ra, nước đóng vai trò vô cùng quan trọng. Lượng nước có thể ảnh hưởng tới hoạt tính và khả năng phân tán enzyme vào cơ chất. Nhằm tránh hỗn hợp không quá đặc hoặc quá loãng trước khi xử lý enzyme, nghiên cứu tiến hành khảo sát ở 4 tỉ lệ như sau: 1:0; 1:0,5; 1:0,75; 1:1 (g/ml). Kết quả đánh giá dựa trên hàm lượng tổng chất khô hòa tan và hiệu suất thu hồi dịch sau khi xử lý enzyme (bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ chuối : nước đến hiệu suất thu hồi dịch quả

STT	Tỉ lệ nguyên liệu: nước (g/ml)	Hàm lượng tổng chất khô hòa tan (°Bx)	Hiệu suất trích ly (%)
1	1:0	17,00 ^a ±0,01	48,83 ^d ±0,76
2	1:0,5	12,85 ^b ±0,02	52,37 ^c ±0,58
3	1:0,75	12,00 ^c ±0,01	57,77 ^b ±0,35
4	1:1	10,20 ^d ±0,02	58,89 ^a ±0,58

Kết quả ở bảng trên cho thấy, khi tăng lượng nước bổ sung thì hiệu suất thu hồi dịch tăng. Khi tỷ lệ nguyên liệu:nước đạt 1:0,75 hiệu suất trích ly đạt 57,77%, tăng 8,94% so với tỷ lệ nguyên liệu:nước 1:0 và tăng 5,4% so với tỷ lệ nguyên liệu:nước 1:0,5. Nếu tiếp tục tăng lượng nước so với lượng chuối thì hiệu suất trích ly có tăng nhưng không đáng kể. Điều này cho thấy phản ứng gần như đạt trạng thái bão hòa. Với hàm lượng tổng chất khô hòa tan, kết quả cho thấy hàm lượng nước càng tăng so với lượng chuối ban đầu thì hàm lượng chất khô hòa tan trong dịch quả giảm. Ở tỷ lệ nguyên liệu: nước 1:0,5 và 1:0,75, hàm lượng tổng chất khô hòa tan chênh lệch không đáng kể trong khi hiệu suất trích ly chênh lệch nhau 5,4%. Vì vậy, lựa chọn tỷ lệ nguyên liệu:nước là 1:0,75 cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme thủy phân đến quá trình trích ly dịch chuối

Trong quá trình trích ly, bổ sung enzyme Pectinex® Ultra SP-L với tỷ lệ thay đổi lần lượt là 0,00; 0,02; 0,04, 0,06 và 0,08%. Mẫu đối chứng cũng được thực hiện trong cùng điều kiện thí nghiệm nhưng không bổ sung enzyme. Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme đến hiệu suất thu hồi dịch chuối

Tỷ lệ Pectinex® Ultra SP-L (%)	Hiệu suất thu hồi dịch (%)	Hàm lượng phenolic tổng (mgGAE/L)
0,00	41,90 ^d ±0,79	132,97 ^d ±0,45
0,02	53,93 ^c ±0,45	239,43 ^c ±0,75

0,04	57,27 ^b ±0,32	252,91 ^b ±0,26
0,06	65,83 ^a ±0,35	290,24 ^a ±0,47
0,08	65,06 ^a ±0,42	290,00 ^a ±0,75

Kết quả ở bảng 5 cho thấy, puree chuối được bổ sung enzyme Pectinex® Ultra SP-L ở các nồng độ khác nhau đã thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về hiệu suất thu hồi và hàm lượng phenolic tổng trong dịch chuối. Khi không sử dụng enzyme, hiệu suất trích ly dịch chuối đạt 41,90%, hàm lượng phenolic đạt 132,97mgGAE/L. Hiệu suất thu hồi dịch quả có xu hướng tăng từ 53,93% đến 65,83% và hàm lượng phenolic tổng tăng từ 239,43 đến 290,24mgGAE/L khi bổ sung enzyme với tỷ lệ từ 0,02 đến 0,06%. Nếu tiếp tục tăng nồng độ enzyme lên 0,08% thì hiệu suất trích ly dịch chuối và hàm lượng phenolic tổng có xu hướng giảm nhưng không có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,05$ so với khi sử dụng nồng độ enzyme là 0,06%. Điều này được giải thích theo Lê Ngọc Tú và cộng sự [8], khi thừa cơ chất, vận tốc phản ứng tăng khi nồng độ enzyme tăng, khi nồng độ cơ chất và nồng độ enzyme trong phản ứng đạt đến trạng thái bão hòa nếu tiếp tục tăng nồng độ enzyme sẽ không làm tăng vận tốc phản ứng. Nguyễn Thị Hương Trà và cộng sự xác định tỷ lệ enzyme Pectinex® Ultra SP-L thích hợp để trích ly dịch quả dưa hấu là 0,04% [7]. Võ Tấn Thành xác định tỷ lệ enzyme pectinase tối ưu để trích ly dịch quả dâu tằm là 0,045% [9]. Trong chuối hàm lượng pectin hòa tan cao nên khi nghiền thịt chuối tạo dung dịch có độ nhớt lớn. Vì vậy, cần bổ sung nhiều enzyme Pectinex® Ultra SP-L hơn trong quá trình trích ly dịch. Chọn nồng độ enzyme là 0,06% để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

3.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly dịch chuối

Xử lý nhiệt làm tăng khả năng hòa tan và khuếch tán của các hợp chất, giảm độ nhớt môi trường, tăng khả năng truyền khối và xâm nhập của dung môi vào trong tế bào. Nghiên cứu cho thấy các hợp chất phenolic dễ bị biến tính ở nhiệt độ lớn hơn 50°C [11]. Đồng thời, nhiệt độ cũng ảnh hưởng đến tốc độ phản ứng của enzyme. Trong khoảng nhiệt độ thích hợp, khi tăng nhiệt độ thì vận tốc phản ứng enzyme sẽ tăng. Tuy nhiên, do bản chất của enzyme là protein, nếu tăng nhiệt độ đến quá nhiệt độ tối thích của enzyme thì vận tốc phản ứng enzyme sẽ giảm. Nếu tăng nhiệt độ đến nhiệt độ tới hạn sẽ làm biến tính protein, bất hoạt enzyme và phản ứng thủy phân bị ngừng lại. Dựa vào đặc tính của enzyme trong nghiên cứu này, tiến hành trích ly dịch chuối ở dải nhiệt độ từ 30, 40, 50, 60 và 70 (°C), thời gian ủ enzyme là 60 phút. Kết quả được trình bày trong bảng 6.

Từ kết quả thu được cho thấy, nhiệt độ có ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly dịch chuối và hàm lượng phenolic tổng. Hiệu suất trích ly cao nhất đạt 65,23%, hàm lượng phenolic cao nhất đạt 291,90mgGAE/L khi xử lý enzyme ở 50°C. Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ lên 60 - 70°C thì hiệu suất thu hồi và hàm lượng phenolic tổng có xu hướng giảm. Điều này có thể giải thích do bản chất của enzyme là protein nên dễ bị biến tính và giảm hoạt tính khi ở nhiệt độ cao, đồng thời hợp chất phenolic cũng bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hiệu suất thu hồi dịch chuối

Nhiệt độ (°C)	Hiệu suất thu hồi dịch (%)	Hàm lượng phenolic tổng (mgGAE/L)
30	50,20 ^a ± 0,66	222,33 ^c ± 0,81
40	56,33 ^c ± 0,45	250,90 ^c ± 0,27
50	65,23 ^b ± 0,47	291,90 ^a ± 0,24
60	60,45 ^b ± 0,35	270,77 ^b ± 0,78
70	53,50 ^d ± 0,52	233,12 ^d ± 1,51

Theo khuyến cáo của nhà sản xuất, nhiệt độ thích hợp cho chế phẩm enzyme Pectinex® Ultra SP-L hoạt động nằm trong khoảng 40-55°C. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả của tác giả Nguyễn Nhật Minh Phương và cộng sự [11]. Phạm Công Kiên đã sử dụng enzyme Pectinex® Ultra SP-L ở 40°C trong 120 phút để xử lý thu dịch quả nho [2]. Võ Tấn Thành xác định nhiệt độ tối ưu của enzyme Pectinex® Ultra SP-L để trích ly dịch quả dâu tằm là 45°C [9]

3.6. Ảnh hưởng của thời gian trích ly dịch chuối

Thời gian là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thủy phân của enzyme. Tiến hành ủ enzyme ở các khoảng thời gian khác nhau: 30, 60, 90 và 120 (phút), tỷ lệ enzyme 0,06%, nhiệt độ 50°C. Kết quả được thể hiện trong bảng 7.

Bảng 7. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu suất thu hồi dịch chuối

Thời gian (phút)	Hiệu suất thu hồi dịch (%)	Hàm lượng phenolic tổng (mgGAE/L)
30	52,23 ^b ± 0,51	229,60 ^c ± 0,53
60	65,93 ^a ± 0,25	290,24 ^a ± 1,48
90	65,57 ^a ± 0,12	285,27 ^b ± 1,10
120	65,86 ^a ± 0,40	226,93 ^d ± 1,17

Kết quả bảng 7 cho thấy, ở thời gian 30 phút, hiệu suất thu hồi dịch quả và hàm lượng phenolic tổng đạt được là thấp nhất. Khi tăng thời gian trích ly lên 60 phút, hiệu suất thu hồi dịch quả và hàm lượng phenolic tổng đạt được là cao nhất tương ứng là 65,93% và 290,24mgGAE/L. Khi tăng thời gian trích ly lên 90 và 120 phút thì hiệu suất thu hồi dịch chuối không có sự khác biệt ở mức α = 0,05. Tuy nhiên, với hàm lượng phenolic tổng có xu hướng giảm, điều này là do hợp chất phenolic bị oxy hóa theo thời gian.

3.7. Tối ưu hóa hiệu suất thu dịch chuối bằng hỗn hợp enzyme thủy phân

Bảng 8. Ma trận thực nghiệm theo mô hình Box-Behnken

Thứ tự thí nghiệm	Biến thực			Hiệu suất thu hồi dịch quả (%)
	Tỷ lệ enzyme (%)	Nhiệt độ trích ly (°C)	Thời gian trích ly (phút)	
1	0,05	45	60	52,81
2	0,07	50	50	55,93
3	0,06	50	60	65,42
4	0,06	50	60	66,08
5	0,06	45	70	63,82

6	0,06	45	50	56,22
7	0,07	45	60	61,22
8	0,06	50	60	66,01
9	0,07	50	70	65,88
10	0,07	55	60	61,68
11	0,06	50	60	65,51
12	0,06	55	70	66,25
13	0,05	50	50	54,00
14	0,05	50	70	57,30
15	0,06	55	50	57,87
16	0,05	55	60	60,42

Quá trình tối ưu hóa được thực hiện bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) nhằm đánh giá ảnh hưởng đồng thời của ba yếu tố tác động lên quá trình thu hồi dịch chuối là tỷ lệ enzyme, nhiệt độ trích ly, thời gian trích ly. Ma trận thực nghiệm để tối ưu được thiết kế theo mô hình Box-Behnken. Mô hình thiết kế gồm 16 thí nghiệm trong đó 4 thí nghiệm lặp lại tại tâm. Mô hình thực nghiệm được xây dựng và phân tích tối ưu dựa trên phần mềm Design Expert 11. Kết quả thí nghiệm tối ưu hóa được trình bày ở bảng 8

Thống kê ANOVA đối với hiệu suất trích ly (bảng 9) cho thấy, mô hình phương trình bậc 2 là mô hình thích hợp, giá trị P của mô hình nhỏ hơn 0,0001 với độ tin cậy 95%, giá trị P của lack of fit là 0,1098 lớn hơn 0,05 nên khả năng phù hợp của mô hình là cao. Hệ số hồi quy R² của mô hình bằng 0,9896 lớn hơn 0,8, hệ số R² điều chỉnh và R² dự đoán có độ chênh lệch < 0,2. Theo Guan và Yao, mô hình tương quan tốt cần có hệ số R² lớn hơn 0,8 [12]. Tỷ lệ tín hiệu so với nhiễu là 21,5236 lớn hơn 4 rất nhiều, điều đó chứng tỏ tín hiệu đã đầy đủ để sử dụng dự đoán hiệu suất thu hồi dịch quả. Giá trị CV% (coefficient of variation) của mô hình thấp (bảng 1,27%) cho thấy các thực nghiệm có độ chính xác và độ tin cậy cao. Như vậy mô hình có đủ độ chính xác. Các giá trị P của hệ số tuyến tính nhỏ hơn 0,05 cho biết các hệ số của phương trình hồi quy có nghĩa.

Bảng 9. Kết quả phân tích ANOVA đối với hiệu suất thu hồi dịch quả

Nguồn	Tổng bình phương	Độ tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị P
A - Tỷ lệ enzyme	50,9	1	50,9	84,54	< 0,0001
B - Nhiệt độ trích ly	18,45	1	18,45	30,65	0,0015
C - Thời gian trích ly	106,8	1	106,8	177,37	< 0,0001
AB	12,78	1	12,78	21,23	0,0037
AC	11,06	1	11,06	18,36	0,0052
BC	0,1521	1	0,1521	0,2526	0,6332
A ²	94,77	1	94,77	157,39	< 0,0001
B ²	17,72	1	17,72	29,44	0,0016
C ²	32,72	1	32,72	54,34	0,0003
Lack of Fit	3,01	3	1,0	4,99	0,1098
Phân tích hồi quy				63,73	< 0,0001

Bảng 10. Kết quả thống kê mô hình phù hợp đối với hàm hiệu suất thu hồi

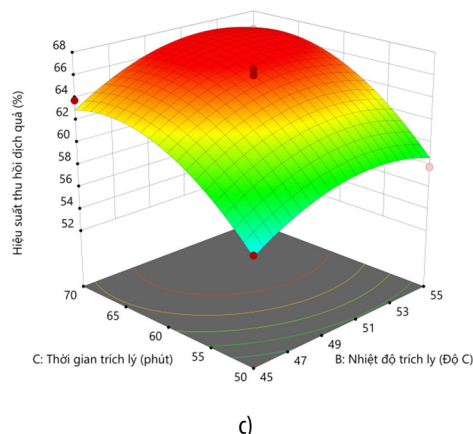
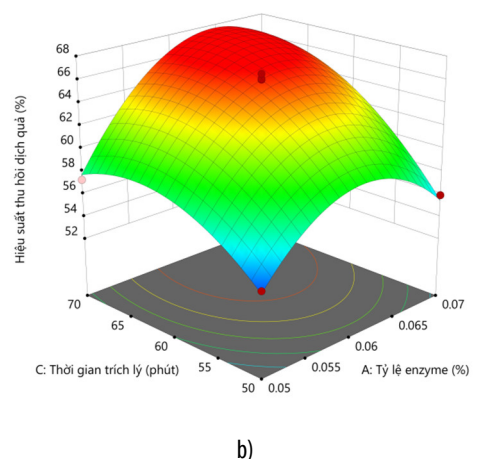
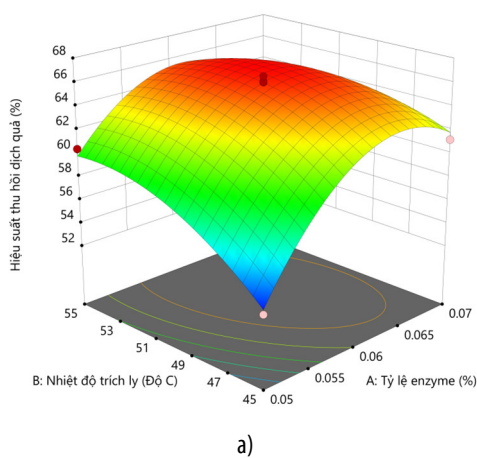
Std. Dev.	0,9847	R ²	0,9896
Mean	61,09	R ² điều chỉnh	0,9741
C.V. %	1,27	R ² dự đoán	0,8589
		Tỷ lệ tín hiệu so với nhiễu	21,5236

Từ các kết quả trên, phương trình hồi quy bậc hai thể hiện sự ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme, nhiệt độ trích ly, thời gian trích ly đến hiệu suất thu hồi dịch quả là:

$$\text{Hiệu suất} = 66,01 + 2,52*A + 1,52*B + 3,65*C - 1,79*AB + 1,66*AC - 4,87*A^2 - 2,1*B^2 - 2,86*C^2$$

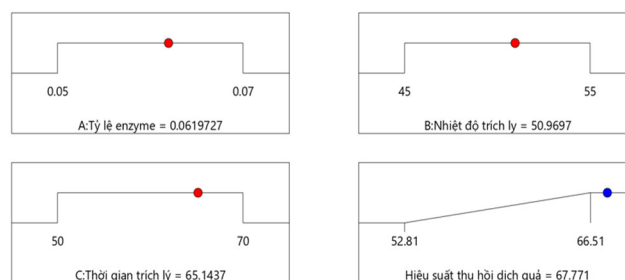
Trong đó: A: Tỷ lệ enzyme; B: Nhiệt độ trích ly; C: Thời gian trích ly

Phương trình trên cho thấy, trong ba yếu tố khảo sát, yếu tố A (tỷ lệ enzyme) và yếu tố C (thời gian trích ly) có sự ảnh hưởng mạnh đến hàm mục tiêu với hệ số dương là 2,52 và 3,65; hai yếu tố này vừa ảnh hưởng tích cực (+), vừa ảnh hưởng tiêu cực (-), còn yếu tố B (nhiệt độ trích ly) ít ảnh hưởng hơn hai nhân tố còn lại, hệ số ảnh hưởng là +1,52. Điều này chứng tỏ tỷ lệ enzyme càng lớn và thời gian trích ly càng dài thì hiệu suất trích ly tăng. Nhưng khi hai nhân tố này đạt đến một giới hạn nhất định thì hiệu suất thu hồi dịch chuối có xu hướng giảm. Hình 1 cũng thể hiện rõ điều này. Hiệu suất thu hồi cũng chịu ảnh hưởng của sự tương tác giữa các yếu tố tỷ lệ enzyme và nhiệt độ trích ly (AB), tỷ lệ enzyme và thời gian trích ly (AC).



Hình 1. Đồ thị bề mặt đáp ứng thể hiện sự ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme, nhiệt độ trích ly (a), tỷ lệ enzyme, thời gian trích ly (b), nhiệt độ trích ly, thời gian trích ly (c) đến hiệu suất thu hồi dịch quả

Dựa vào các giá trị thực nghiệm, mô hình Box-Behnken xác định được điều kiện tối ưu cho quá trình trích ly dịch chuối như sau: tỷ lệ enzyme là 0,062%, nhiệt độ trích ly 51°C, thời gian trích ly là 65,1 phút, hiệu suất thu hồi đạt được cao nhất là 67,77% (hình 2).



Hình 2. Kết quả tối ưu được dự đoán bằng phần mềm Design Expert 11

Từ các điều kiện tối ưu thu hồi dịch chuối, tiến hành thí nghiệm và thu được kết quả như bảng 11.

Bảng 11. Kết quả kiểm định điều kiện tối ưu

Tỷ lệ enzyme (%)	Nhiệt độ trích ly (°C)	Thời gian trích ly (phút)	Phenolic tổng (mgGAE/L)	Hiệu suất thu hồi dịch (%)	Tỷ lệ chênh lệch
0,062%	51	65,1	295,13 ± 1,04	67,6 ± 0,12	0,25%

Số liệu từ mô hình và thực tế chênh lệch nhau 0,25% cho thấy sự chính xác của mô hình tương đối cao. Vì vậy, mô hình có thể được chấp nhận. Trần Thị Hồng Hạnh và cộng sự xử lý siêu âm để trích ly dịch chuối cho hiệu suất thu hồi đạt 53,5%, hàm lượng phenolic đạt 347mgGAE/L [1]. Có thể thấy, sử dụng enzyme Pectinex® Ultra SP-L cho hiệu suất thu hồi dịch chuối cao hơn nhưng hàm lượng phenolic lại thấp hơn so với xử lý siêu âm.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy phương pháp xử lý chống thâm phù hợp nhất cho chuối là hấp ở 90 - 100°C, 5 phút kết hợp với axit ascorbic với tỷ lệ 60mg/100g thịt chuối. Các yếu tố tỷ lệ enzyme pectinase, nhiệt độ trích ly, thời gian trích ly

đều ảnh hưởng có nghĩa đến hiệu suất thu hồi và hàm lượng phenolic tổng trong dịch chuối. Bằng phương pháp bề mặt đáp ứng, nghiên cứu đã xác định được thông số tối ưu cho xử lý enzyme như sau: tỷ lệ enzyme 0,062%, nhiệt độ trích ly 51°C, thời gian trích ly 65,1 phút, hiệu suất thu hồi dịch cao nhất đạt 67,77%. Thí nghiệm kiểm định kết quả tối ưu cho hiệu suất thu hồi dịch đạt 67,60%, hàm lượng phenolic tổng đạt 295,13 mgGAE/L.

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn trường Đại học Công nghiệp Hà Nội đã hỗ trợ và cấp kinh phí theo Hợp đồng số 46-2022-RĐ/HĐ-ĐHCN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Tran Thi Hong Hanh, Le Van Viet Man, 2015. *Effects of technological parameters of the ultrasonic treatment on the extraction yield and quality of banana (Musa Paradisiaca L.) juice*. Science & Technology Development, vol.18, No. K5, 68-74
- [2]. Phan Cong Kien, Phan Van Tieu, Pham Van Phuoc, Pham Trung Hieu, Mai Van Hao, Dang Hong Anh, Pham Thi Thu, 2021. *Study on treatment of grape juice extract for wine fermentation*. Journal of Vietnam Agricultural Science and Technology, 04 (125), 65-74
- [3]. Floribeth V., Celsa L., Cooke R. D., 2007. *A study of the production of banana fuice using pectinolytic enzymes*. International Journal of Food Science and Technology, 16(2), 115-12
- [4]. Arlette A. N'Guessan, Olivier K. Kouadio, Jean T. Gonnety, 2018. *Effect of Chemical and Thermal Treatments on Browning Inhibition of Senescent Plantain (Musa paradisiaca) Puree for Semolinas Preparation*. American Journal of Biochemistry, 8(4): 75-84, DOI: 10.5923/j.ajb.20180804.02
- [5]. Singleton V.L., Orthofer R., LamuelaRaventós R.M, 1999. *Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent*. Methods in Enzymol. 299 (C) 152-178
- [6]. Hossain M.A., AL-Raqmi K.A.S., AL-Mijizy Z.H., Weli A.M., Al-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.
- [7]. Nguyen Thi Huong Tra, Nguyen Ngoc Huyen, Nguyen Thi Hong Ha, Vu Thu Diem, Le Thi Trang, Le Thi Nam, 2021. *Study on using enzyme to improve juice yield and lycopene content in the production of watermelon juice*. Vietnam Journal of Agriculture and Rural Development, 1, 59-64.
- [8]. Le Ngoc Tu, et al., 2000. *Giao trình hoa sinh công nghiệp*. Science and Technics Publishing House, Hanoi.
- [9]. Vo Tan Thanh, Phan Kim Toa, Nguyen Thi Cam Tu, Nguyen Duy Tan, Le Hoang Phuong, Truong Thi Tu Tran, 2022. *Optimization of enzyme pectinase rate and time extract of mulberry (Morus alba L. Morus acidosa)*. Vietnam Journal of Agriculture and Rural Development, 2, 43-50.
- [10]. Mohamed Ali Al-Farsi, Chang Yong Lee, 2008. *Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds*. Food Chemistry 108, 977-985

[11]. Nguyen Nhat Minh Phuong, Che Van Hoang, Ly Nguyen Binh, Chau Tran Dien Ai, 2011. *Effect of pectinase enzyme treatment to juice yield and fermentation conditions to the quality of mango wine (Mangifera indica)*. CTU Journal of Science, 20a 127-136

[12]. Guan X., Yao, H., 2008. *Optimization of viscozyme L-assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology*. Food Chemistry, 106(1): 345-351.

AUTHORS INFORMATION

Do Thi Hanh, Ha Thi Dzung, Mac The Vinh, Nguyen Thi Ngoc Mai, Pham Van Son

Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry, Vietnam