

XÁC ĐỊNH ĐIỀU KIỆN TỐI ƯU CHIẾT XUẤT PECTIN VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN CHIẾT XUẤT ĐẾN ĐỘ ESTE HÓA CỦA PECTIN TỪ VỎ QUẢ CHANH DÂY TÍA (*Passiflora edulis* Sims.)

Nguyễn Trọng Thăng*, Lê Minh Nguyệt

Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: trongthang6886@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 03.03.2021

Ngày chấp nhận đăng: 10.05.2021

TÓM TẮT

Vỏ quả chanh dây chiếm tỉ lệ rất cao trong tổng khối lượng quả. Vì vậy, tận dụng được nguồn phụ phẩm này để chiết xuất pectin sẽ vừa tạo ra được sản phẩm có giá trị ứng dụng trong ngành công nghệ thực phẩm vừa góp phần giải quyết được vấn đề môi trường. Nghiên cứu này nhằm tìm ra điều kiện tối ưu để chiết xuất pectin từ vỏ quả chanh dây và đánh giá ảnh hưởng của điều kiện chiết xuất đến độ este hóa của pectin. Sử dụng thiết kế phức hợp trung tâm với phương pháp bề mặt đáp ứng, nghiên cứu cũng đã tìm được mô hình bậc 2 hoàn toàn phù hợp với quá trình chiết xuất pectin từ vỏ quả chanh dây. Kết quả cho thấy điều kiện tối ưu để chiết xuất pectin từ vỏ chanh dây như sau: nồng độ axit citric 8,00%, nhiệt độ 82,14°C, thời gian 81,07 phút và hiệu suất thu hồi đạt 24,42%. Pectin chiết xuất ở điều kiện tối ưu này có đặc tính hóa lý: đương lượng 586,92 ± 17,55; độ este hóa 38,76 ± 1,52%; chỉ số methoxyl 3,94 ± 0,13%; hàm lượng axit anhydrouronic 76,58 ± 1,19%. Đây là đặc tính phù hợp với mục đích tạo màng bảo quản, mở ra một hướng ứng dụng tiềm năng cho loại pectin này. Thêm vào đó, độ este hóa của pectin phụ thuộc vào điều kiện chiết xuất khác nhau.

Từ khóa: Pectin, tối ưu hóa, chanh dây tía, sự este hóa, chiết xuất.

Optimization of Pectin Extraction and Effect of Extraction Conditions on Esterification of Pectin from Purple Passion Fruit Peel (*Passiflora edulis* Sims.)

ABSTRACT

Passion fruit peel accounts for a very high percentage of the total fruit weight. Therefore, taking advantage of this by-product source to extract pectin will both create valuable products for application in the food industry and contribute to solving environmental problems. This study aimed to find the optimal conditions for extracting pectin from the peels of purple passion fruit and to evaluate the effect of extraction conditions on the degree of esterification of pectin. Using a central composite design (CCD) with a response surface methodology (RSM), the results showed that the generated quadratic model adequately explained the data variation and significantly represented the actual relationship between the independent variables and the responses. This study also found the optimal conditions to extract pectin from passion fruit peels as follows: citric acid concentration of 8.00%, temperature of 82.14°C and extraction time of 81.07 min for the highest yield of pectin (24.42%). The pectin extracted under the optimum conditions had the following physicochemical properties: equivalent weight (EW) of 586.92 ± 17.55; degree of esterification (DE) of 38.76 ± 1.52 %; methoxyl index (MI) of 3.94 ± 0.13 %; total anhydrouronic acid content (AUA) of 76.58 ± 1.19 %. These characteristics are suitable for the purpose of edible film making, opening up a potential application for this pectin. In addition, the extraction conditions had a marked effect on the degree of esterification of pectin from purple passion fruit peel.

Keywords: Pectin, optimization, passion fruit peel, degree of esterification, extraction.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Pectin là một trong những polysaccharide quan trọng nhất và được ứng dụng rộng rãi trong

ngành công nghiệp thực phẩm với vai trò là chất tạo gel, chất ổn định, chất tạo đông... (Oliveira & cs., 2016). Pectin là một polymer của các axit galacturonic và các este methyl của chúng, các

đơn phân tử D-galacturonic liên kết với nhau bằng liên kết α -(1-4)-glycosidic (Van Buren & cs., 1991). Pectin chiết xuất từ các nguồn nguyên liệu khác nhau sẽ khác nhau về khối lượng phân tử, độ este hóa, chỉ số methoxyl, acetyl... do đó chúng sẽ sở hữu những thuộc tính chức năng khác nhau (Girma & cs., 2016).

Nguồn nguyên liệu chính để sản xuất pectin trên thị trường hiện nay là bã táo tây và vỏ quả họ cam quýt. Trong khi đó, vỏ chanh dây là nguồn nguyên liệu dồi dào, rẻ tiền, lượng phụ phẩm này ngày càng lớn do sự tăng trưởng nhanh chóng của diện tích trồng và các nhà máy chế biến các sản phẩm từ quả chanh dây. Theo Cục Trồng trọt thống kê, đến năm 2019 tổng diện tích chanh dây cả nước đạt khoảng 10.500ha, sản lượng quả tươi đạt hơn 222.000 tấn. Hơn nữa, theo Tran Hiep & cs. (2020), vỏ quả chanh dây ở Sơn La chiếm tới 41,1% tổng khối lượng quả. Vì vậy, tận dụng được nguồn phụ phẩm này để chiết xuất pectin sẽ vừa tạo ra được sản phẩm có giá trị ứng dụng trong ngành công nghệ thực phẩm vừa góp phần giải quyết được vấn đề môi trường.

Câu hỏi đặt ra là làm sao để chiết xuất được pectin với hàm lượng cao nhất. Trong quá trình chiết xuất không thể tách rời từng yếu tố, vì vậy nếu nghiên cứu đơn yếu tố như một số nghiên cứu đã thực hiện thì hiệu quả chiết xuất sẽ thấp. Nên tối ưu hóa điều kiện chiết xuất bằng phương pháp bề mặt đáp ứng là giải pháp đã được chứng minh có hiệu quả. Trong đó, nồng độ dung môi, nhiệt độ và thời gian chiết xuất là các biến độc lập, hàm mục tiêu là hiệu suất thu hồi pectin. Ưu điểm lớn nhất của phương pháp này là có thể đánh giá được sự tương tác đồng thời của các yếu tố thí nghiệm mà chỉ cần thực hiện số thí nghiệm thức không quá lớn. Hơn nữa, phương pháp này áp dụng các thuật toán về tối ưu và thống kê nên việc phân tích số liệu chính xác và rõ ràng hơn.

Thêm vào đó, việc ứng dụng pectin còn phụ thuộc vào đặc tính hóa lý của nó. Trong đó, DE là chỉ số rất quan trọng của pectin. Chỉ số DE biểu hiện mức độ este hóa, là phần trăm số gốc axit galacturonic bị este hóa trên tổng số axit galacturonic trong phân tử (Food Chemical Codex - (FCC V, 2004b)). Dựa vào chỉ số DE,

pectin được chia thành 2 nhóm chính: Pectin có độ este cao với $DE > 50\%$ và pectin có độ este thấp với $DE \leq 50\%$ (Thakur & cs., 1997). Chỉ số này sẽ quyết định tính chất gel và chức năng của pectin. Theo Levigne & cs. (2002), hiệu suất thu hồi và tính chất của pectin phụ thuộc vào quá trình trích ly và tinh sạch. Vì vậy, xác định được ảnh hưởng của điều kiện chiết xuất đến độ este hóa sẽ rất có ý nghĩa cho việc lựa chọn điều kiện chiết xuất phù hợp với mục đích sử dụng pectin.

Mục đích của nghiên cứu này là tìm ra mối quan hệ giữa các biến (nồng độ axit citric, nhiệt độ, thời gian chiết xuất) và hàm mục tiêu (hiệu suất thu hồi pectin), từ đó xác định được điều kiện tối ưu chiết xuất pectin từ vỏ chanh dây tía. Đồng thời, nghiên cứu cũng nhằm đánh giá ảnh hưởng của điều kiện chiết xuất đến độ este hóa của pectin từ vỏ quả chanh dây tía.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Nguyên liệu được sử dụng để chiết xuất pectin là vỏ quả chanh dây tía (*Passiflora edulis* Sims.) trồng tại tỉnh Sơn La, phụ phẩm của quy trình chế biến nước ép chanh dây cô đặc. Tất cả các hóa chất được sử dụng là hóa chất tinh khiết thương mại có xuất xứ Đức, Ấn Độ, Trung Quốc. Pectin thị trường của hãng HiMedia (Ấn Độ).

2.2. Phương pháp

2.2.1. Chiết xuất pectin

* Chuẩn bị mẫu chiết xuất pectin từ vỏ chanh dây theo phương pháp của Girma & cs. (2016). Vỏ chanh dây sau khi làm sạch loại bỏ bụi bẩn được cắt lát mỏng, rồi sấy khô đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ 60°C (độ ẩm 9%). Sau đó, mẫu được nghiền nhỏ đến kích thước 60 mesh. Mẫu bột này được bao gói trong túi zip PE và bảo quản ở nhiệt độ $-18 \pm 2^{\circ}\text{C}$ đến khi sử dụng. Đây là mẫu nguyên liệu cho tất cả các thí nghiệm chiết xuất và phân tích.

* Chiết xuất pectin theo quy trình có sửa đổi của Ranganna & cs. (2001). Bột vỏ chanh dây được cân khối lượng (B_1), cho vào bình tam giác, sau đó dung môi (axit citric) với các nồng

độ theo yêu cầu được thêm vào theo tỉ lệ nguyên liệu/dung môi 1:20 (w/v), khuấy trộn rồi ngâm để nguyên liệu phân tán đều trong dung môi. Sau đó, tiến hành nâng nhiệt và giữ nhiệt theo nhiệt độ và thời gian yêu cầu của các nghiệm thức. Tiếp theo, lọc và rửa bã để thu dịch chiết pectin. Dịch chiết này được kết tủa với ethanol 96% theo tỉ lệ 1:2 (v/v) và để yên trong 3h. Pectin nổi lên được tách ra bằng giấy lọc và rửa lại bằng ethanol 70% và ethanol 96%. Bước tiếp theo, mẫu pectin được sấy khô ở nhiệt độ 45°C trong 15h. Cuối cùng, pectin được nghiền nhỏ thành dạng bột có kích thước 60 mesh.

Hiệu suất thu hồi pectin được tính bằng công thức sau:

$$Y_{pec} (\%) = (P/B_0) \times 100$$

Trong đó:

P: là khối lượng pectin chiết xuất được (g);

B₀: là khối lượng nguyên liệu ban đầu (g).

2.2.2. Thiết kế thí nghiệm tối ưu hóa và phân tích thống kê

Thiết kế phức hợp trung tâm (CCD) với 3 biến độc lập được lựa chọn: nồng độ axit citric, nhiệt độ và thời gian chiết xuất. Đây là 3 yếu tố có ảnh hưởng lớn nhất đến hiệu quả chiết xuất pectin, đồng thời dựa vào các kết quả đã công bố quốc tế của Fakayode & cs. (2018); Kliemann & cs. (2009); Kanmani & cs. (2014), mỗi yếu tố làm ở 5 mức khác nhau (-α, -1, 0, +1, +α). Các điều kiện thí nghiệm, các mức yếu tố được mô tả như bảng 1.

Chọn phương án quy hoạch trực giao cấp 2, thực nghiệm yếu tố toàn phần TYT 2^k. Số nghiệm thức N = 2^k + 2k + n (trong đó k là số yếu tố thí nghiệm, k = 3, n là số lần lặp lại tại điểm trung tâm, n = 6). Khoảng cách từ tâm đến

điểm sao α = 2^{k/4} (α = 1,68 với k = 3). Như vậy, trong nghiên cứu này, 20 thí nghiệm sẽ được thực hiện với 2³ số thí nghiệm của quy hoạch toàn phần, 6 thí nghiệm lặp lại tại tâm để đánh giá sai số và 6 thí nghiệm bổ sung tại điểm sao nằm cách vị trí tâm thực nghiệm một khoảng ± α. Dựa vào việc mã hóa các mức yếu tố trên, sử dụng thiết kế phức hợp trung tâm (RSM-CCD) với hàm mục tiêu là hiệu suất thu hồi pectin (y) thu được bằng ma trận thực nghiệm với 20 nghiệm thức như bảng 2.

Phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) được sử dụng để tối ưu hóa điều kiện chiết xuất pectin từ vỏ chanh dây tía. Điều kiện tối ưu ở đây là sự phối hợp đồng thời của 3 yếu tố thí nghiệm cho hiệu suất thu hồi pectin cao nhất. Bài toán đặt ra là tối ưu hóa bằng thực nghiệm quá trình chiết tách pectin có dạng như sau:

$$Y_{max} = f(X_1, X_2, X_3)$$

Mô hình thống kê biểu diễn sự phụ thuộc của hiệu suất thu hồi pectin vào các yếu tố thí nghiệm là một phương trình đa thức bậc hai có dạng:

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^3 b_i X_i + \sum_{i=1}^3 b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 b_{ij} X_i X_j$$

Trong đó:

Y: hàm mục tiêu - hiệu suất thu hồi pectin (%);

b₀: hệ số hồi quy bậc 0;

X_i: nhân tố độc lập thứ i ảnh hưởng đến hàm mục tiêu Y;

b_i: hệ số hồi quy bậc 1 mô tả ảnh hưởng của nhân tố X_i tới hàm mục tiêu Y;

b_{ii}: hệ số hồi quy tương tác mô tả ảnh hưởng của yếu tố X_i tới Y;

b_{ij}: hệ số hồi quy tương tác mô tả ảnh hưởng đồng thời của X_i và X_j tới Y.

Bảng 1. Các mức của yếu tố ảnh hưởng

Các yếu tố ảnh hưởng	Biến mã	Đơn vị	Các mức các yếu tố				
			-α	-1	0	+1	+α
Nồng độ axit citric	A	%	6,6	8	10	12	13,4
Nhiệt độ	B	°C	71,6	75	80	85	88,4
Thời gian	C	phút	56,4	70	90	110	123,6

Xác định điều kiện tối ưu chiết xuất pectin và ảnh hưởng của điều kiện chiết xuất đến độ este hóa của pectin từ vỏ quả chanh dây tía (*Passiflora edulis* Sims)

Mô hình và phương trình hồi quy được kiểm tra mức độ phù hợp với thực nghiệm bằng kiểm định Fisher ($\alpha = 0,05$) và sự thiếu phù hợp (Lack of fit). Sử dụng phương pháp bình phương tối thiểu để tìm các hệ số b của phương trình hồi quy. Kiểm định Student (t-test) được sử dụng để kiểm định mức ý nghĩa của các hệ số hồi quy b ($P = 0,05$). Phân tích phương sai được dùng để đánh giá mức ý nghĩa của mô hình. Sử dụng phương pháp hàm kì vọng trên phần mềm quy hoạch thực nghiệm Design-Expert 11 (Stat-Ease, Minneapolis, MN, US) để tối ưu hóa hàm mục tiêu. Sau đó, tiến hành thực nghiệm ở điều kiện tối ưu với 3 lần lặp lại để xác định tính tương thích của mô hình.

2.2.3. Các chỉ tiêu xác định đặc tính hóa lý của pectin

- Độ este hóa của pectin: Chỉ số DE được xác định theo phương pháp của Bocek & cs. (2001).
- Các chỉ tiêu: đương lượng (EW), chỉ số methoxyl (MI), hàm lượng axit anhydrouronic (AUA) được xác định theo phương pháp của Yadav & cs. (2017).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Mô hình hóa và tối ưu hóa quá trình chiết xuất pectin từ vỏ quả chanh dây

3.1.1. Mô hình hóa quá trình chiết xuất pectin bằng quy hoạch thực nghiệm

Kết quả ở bảng 2 cho thấy hiệu suất pectin chiết xuất từ vỏ chanh dây nằm trong khoảng giá trị từ 13,74-23,91%. Khi so sánh với các nghiên cứu khác về chiết xuất pectin từ vỏ quả chanh dây, hiệu suất pectin thu được của nghiên cứu này cao hơn so với nghiên cứu của Oliveira & cs. (2016) - đạt 12,67% trong điều kiện có hỗ trợ của sóng siêu âm, pH 2, thời gian 10 phút. Nhưng thấp hơn so với kết quả của Inayati & cs. (2018) - đạt giá trị cao nhất là 30,78% nhưng sử dụng dung môi là axit hydrochloric nồng độ 0,02 N. Ngoài ra, công bố của Canteri & cs. (2010), chiết xuất pectin từ vỏ quả chanh dây vàng sử dụng dung môi axit nitric, hiệu suất pectin dao động trong khoảng 16,4-24,9%. Như vậy, rõ ràng việc mô hình hóa

bằng quy hoạch thực nghiệm có tác dụng làm tăng hiệu suất pectin thu nhận được khi sử dụng dung môi axit citric.

Mặt khác, khi so sánh với nguồn nguyên liệu truyền thống để chiết xuất pectin hiện nay là vỏ cam thì hàm lượng pectin từ vỏ chanh dây cũng không thấp hơn nhiều. Các nghiên cứu của Kanmani & cs. (2014), Dehankar & cs. (2015), El-Nawawi & cs. (1987), Mollea & cs. (2008) trên vỏ quả cam thu được hiệu suất pectin cao nhất đạt lần lượt là 29,41%, 21%, 30% và 25%. Sự khác biệt này là do đặc tính tự nhiên của từng loại quả như sự khác biệt về giống, địa điểm trồng, điều kiện chăm sóc, độ chín thu hái của từng loại quả đó, cùng với đó là việc sử dụng các thông số chiết xuất khác nhau giữa các tác giả.

Kết quả phân tích ANOVA ở bảng 3 cho thấy: giá trị F-value của mô hình bằng 51,78 và giá trị $P < 0,001$ chứng tỏ mô hình có ý nghĩa (mô hình bậc hai này hoàn toàn phù hợp để mô tả mối tương quan giữa hiệu suất thu hồi pectin và các yếu tố thí nghiệm). Đồng thời, Lack of fit có giá trị F-value = 2,68 cho thấy phần sai số của mô hình là không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Hơn nữa, mô hình có hệ số hồi quy $R^2 = 0,9790$. Kết quả này cho thấy có 97,9% số liệu thực nghiệm tương thích với số liệu tiên đoán của mô hình. Thêm vào đó, giá trị Adjusted $R^2 = 0,9601$ và Predicted $R^2 = 0,8663$ càng chứng tỏ mô hình dự đoán rất sát với kết quả thực nghiệm. Giá trị Adeq precision bằng 23,56 phản ánh mức độ chính xác của mô hình.

Sử dụng phương pháp bình phương tối thiểu, đã xác định được mô hình phù hợp là mô hình bậc hai và phương trình hồi quy có dạng như sau:

$$Y = 23,3948 - 0,8142A + 1,8062B - 0,7002C - 0,5975AB + 0,5750AC + 0,6175BC - 0,5847A^2 - 2,4851B^2 - 1,1292C^2 \quad (1)$$

Phương trình hồi quy (1) và kết quả phân tích các hệ số hồi quy ở bảng 3 cho thấy cả 3 yếu tố thí nghiệm và sự tương tác bậc 1, bậc 2 giữa 2 yếu tố đều có ảnh hưởng rõ rệt đến hiệu suất thu hồi pectin. Cụ thể, yếu tố nhiệt độ có ảnh hưởng theo tỉ lệ thuận và nó cũng có ảnh hưởng mạnh mẽ nhất đến hiệu suất pectin (với hệ số 1,8062 cao hơn hẳn so với 0,8142 và 0,7002 của

A và C, tương ứng). Trong khi đó, yếu tố nồng độ axit và thời gian chiết xuất lại có tương quan tỉ lệ nghịch với hiệu suất pectin. Phần tương tác bậc 1 của 2 yếu tố $A \times C$, $B \times C$ và bậc 2 có tác dụng làm tăng hiệu suất trong khi phần tương tác bậc 1 của 2 yếu tố $A \times B$ và bậc 2 của A, B, C lại làm giảm hiệu suất pectin.

3.1.2. Ảnh hưởng của điều kiện chiết xuất đến hiệu suất thu hồi pectin

a. Ảnh hưởng của cặp yếu tố nồng độ dung môi và nhiệt độ chiết xuất đến hiệu suất thu hồi pectin

Để tối ưu hóa, trước hết cần xem xét sự tương tác giữa từng cặp yếu tố đến hiệu suất thu hồi pectin. Độ cong của bề mặt đáp ứng và các đường đồng mức ở đồ thị hình 1(A) cho thấy sự tương tác giữa nồng độ dung môi và nhiệt độ có ảnh hưởng rõ rệt đến hiệu suất thu hồi pectin. Cụ thể, ở khoảng giá trị cả nồng độ axit và nhiệt độ đều thấp thì hiệu suất thu hồi thấp. Khi nồng độ axit cao - nhiệt độ thấp thì hiệu

suất chỉ tăng nhẹ nhưng ở điều kiện ngược lại thì hiệu suất lại tăng mạnh. Bề mặt đáp ứng cũng cho thấy yếu tố nhiệt độ ảnh hưởng nhiều hơn đến hiệu suất pectin.

Sự tương tác này được giải thích như sau: Khi nồng độ axit và nhiệt độ đều thấp, do liên kết giữa các mạch polysaccharide trong vách tế bào khó bị phá vỡ dẫn đến pectin khó thoát ra nên hiệu suất thấp. Nhưng ở điều kiện nồng độ axit thấp - nhiệt độ cao thì độ biến thiên nhiều là do nhiệt độ tăng sẽ làm tăng cường phản ứng thủy phân protopectin thành pectin hòa tan (Chan & Choo, 2013). Tuy nhiên, khi nhiệt độ và nồng độ axit đều tăng quá mức tối ưu thì cấu trúc của pectin bị phân hủy, làm tăng khả năng phân cắt các liên kết glycoside dẫn tới pectin không thể kết tủa với cồn ethanol (Ziari & cs. 2010). Mặc dù giá trị khác nhau nhưng xu hướng biến đổi này tương đồng với kết quả của Girma & cs. (2016) chiết xuất pectin từ vỏ quả xoài, Fakayode & cs. (2018) chiết xuất pectin từ vỏ cam.

Bảng 2. Ma trận thực nghiệm RSM-CCD và hiệu suất thu hồi pectin

Run	Yếu tố 1	Yếu tố 2	Yếu tố 3	Hàm mục tiêu
	A: Nồng độ axit citric (%)	B: Nhiệt độ (°C)	C: Thời gian (phút)	Hiệu suất thu hồi pectin (%)
1	+1	-1	+1	16,52
2	0	+α	0	18,81
3	0	0	0	22,93
4	0	0	+α	19,36
5	0	0	0	23,61
6	+1	-1	-1	17,65
7	-α	0	0	23,16
8	0	-α	0	13,74
9	-1	-1	+1	14,97
10	-1	+1	-1	23,11
11	-1	-1	-1	19,83
12	0	0	0	22,82
13	0	0	0	23,91
14	0	0	0	23,37
15	0	0	-α	20,86
16	+α	0	0	20,14
17	+1	+1	-1	19,97
18	+1	+1	+1	19,88
19	-1	+1	+1	22,15
20	0	0	0	23,76

Xác định điều kiện tối ưu chiết xuất pectin và ảnh hưởng của điều kiện chiết xuất đến độ este hóa của pectin từ vỏ quả chanh dây tía (*Passiflora edulis* Sims)

Bảng 3. Kết quả phân tích ANOVA cho mô hình bậc hai của quá trình chiết xuất pectin

Nguồn	Tổng bình phương	Trung bình bình phương	F-value	p-value
Mô hình	170,17	18,91	51,78	< 0,001
A: Nồng độ axit citric	9,05	9,05	24,79	< 0,001
B: Nhiệt độ	44,55	44,55	122,01	< 0,001
C: Thời gian	6,70	6,70	18,34	0,0016
AB	2,86	2,86	7,82	0,0189
AC	2,65	2,65	7,24	0,0226
BC	3,05	3,05	8,35	0,0161
A ²	4,93	4,93	13,49	0,0043
B ²	89,00	89,00	243,73	< 0,001
C ²	18,38	18,38	50,32	< 0,001
Lỗi	3,65	0,3652		
Lack of Fit	2,66	0,5319	2,68	0,1515
Pure Error	0,9920	0,1984		

b. Ảnh hưởng của cặp yếu tố nồng độ dung môi và thời gian chiết xuất đến hiệu suất thu hồi pectin

Độ cong yếu của bề mặt đáp ứng ở các đồ thị hình 1(B) chứng tỏ sự tương tác giữa nồng độ dung môi và thời gian chiết xuất có ảnh hưởng không nhiều đến hiệu suất thu hồi pectin. Kết quả cũng cho thấy chênh lệch ở các điều kiện chiết xuất không có sự biến động lớn. Ở khoảng giá trị nồng độ axit thấp và thời gian trung bình thì hiệu suất thu được nằm trong vùng cao nhất. Khi nồng độ axit thấp - thời gian dài và ngược lại thì hiệu suất giảm nhẹ.

Dễ hiểu rằng thời gian kéo dài sẽ làm cho cấu trúc mạch pectin mềm ra làm tăng cơ hội cho các phản ứng thủy phân dẫn đến hiệu suất trích ly tăng lên. Tuy nhiên, nếu sử dụng axit nồng độ quá mạnh trong thời gian dài thì các chuỗi polygalacturonic sẽ bị phân cắt triệt để, dẫn đến hiệu suất thu hồi giảm. Garna & cs. (2007) khi chiết pectin từ bã táo cũng cho thấy trong khoảng giá trị khảo sát thì thời gian là yếu tố ảnh hưởng không nhiều đến hiệu suất pectin.

c. Ảnh hưởng của cặp yếu tố nhiệt độ và thời gian chiết xuất đến hiệu suất thu hồi pectin

Bề mặt đáp ứng và các đường đồng mức ở đồ thị hình 1(C) cho thấy mức độ ảnh hưởng của cặp yếu tố nhiệt độ và thời gian chiết xuất đến hiệu suất thu hồi pectin. Một cách tổng quát có thể thấy rằng cặp yếu tố này có ảnh hưởng khá

mạnh đến hàm mục tiêu, nó thể hiện bởi sự biến thiên giá trị khá lớn trong miền khảo sát tối ưu. Đồng thời, trong mối tương tác giữa nhiệt độ và thời gian thì nhiệt độ là yếu tố ảnh hưởng mạnh mẽ hơn đến hiệu quả chiết xuất. Kết quả cũng cho thấy hiệu suất đạt miền cao nhất ở khoảng nhiệt độ tương đối cao (79-83°C) và thời gian chiết xuất từ ngắn đến trung bình. Công bố của Ermias & cs. (2016) cũng cho thấy khi chiết xuất pectin từ vỏ quả xoài thì nhiệt độ cũng có ảnh hưởng mạnh mẽ hơn so với thời gian và sự tương tác giữa 2 yếu tố này làm cho hiệu suất biến đổi khá mạnh trên bề mặt đáp ứng.

3.1.3. Xác định điều kiện tối ưu để chiết xuất pectin từ vỏ chanh dây

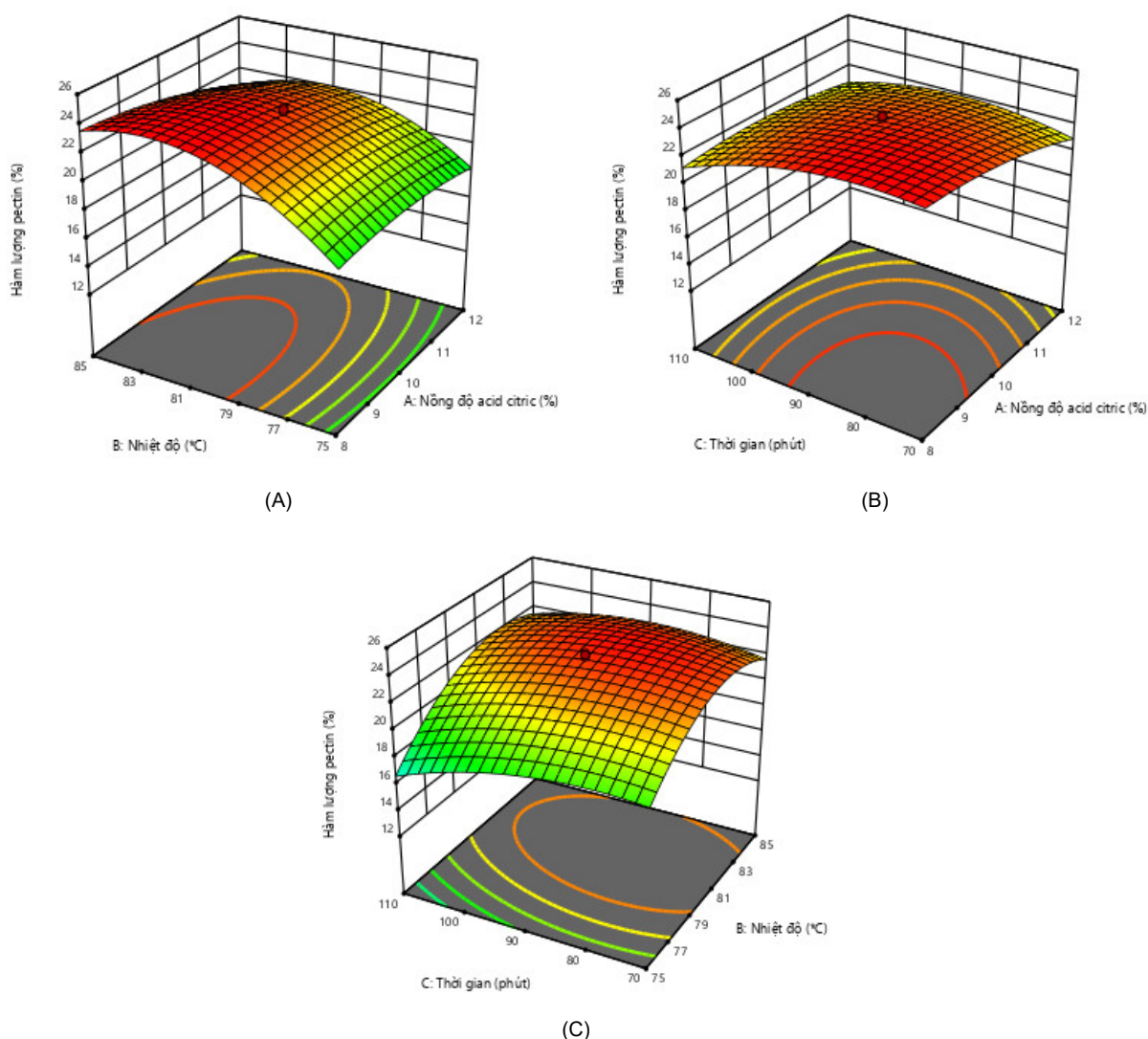
Để tối ưu hóa hàm mục tiêu, sử dụng phương pháp hàm kỳ vọng trên phần mềm quy hoạch thực nghiệm Design Expert 11. Kết quả đã tìm được điều kiện tối ưu để chiết tách pectin từ vỏ chanh dây như sau: nồng độ axit citric 8,00%, nhiệt độ 82,14°C, thời gian 81,07 phút và hiệu suất thu hồi là 24,42%. Sau đó, để kiểm tra lại, tiến hành chiết xuất pectin sử dụng các thông số tối ưu trên với 3 lần lặp lại và kết quả hiệu suất thu hồi đạt được là 24,15%. Kết quả này lớn hơn 95% giá trị mà mô hình đã dự đoán. Như vậy, sự sai lệch giữa mô hình và thực nghiệm không có ý nghĩa thống kê. Điều đó chứng tỏ mô hình được chọn lựa là hoàn toàn phù hợp và đã dự đoán một

cách thỏa đáng kết quả hiệu suất thu hồi pectin từ vỏ quả chanh dây.

3.2. Xác định đặc tính hóa lý của pectin thu nhận từ vỏ quả chanh dây

Đương lượng (EW) là chỉ tiêu vật lý đặc trưng của pectin, nó quyết định đặc tính chức năng của pectin, nó có mối quan hệ chặt chẽ tới khả năng tạo gel của pectin. Trong một khoảng giá trị nhất định, pectin có đương lượng cao thì có hiệu quả tạo gel cao hơn và ngược lại. Tuy nhiên, khi đương lượng quá cao thì gel pectin bị

quá cứng. Pectin có đương lượng quá thấp nghĩa là có một phần pectin đã bị thoái biến (Yandav & cs., 2017). Kết quả phân tích ở bảng 4 cho thấy chỉ số đương lượng của pectin từ vỏ chanh dây nhỏ hơn so với pectin thị trường nhưng không quá thấp. EW trong khoảng này là một đặc điểm thuận lợi cho pectin khi ứng dụng tạo màng bảo quản. Với đương lượng cao $1467,20 \pm 17,43$, pectin thị trường phù hợp cho mục đích làm phụ gia thực phẩm (chất làm đặc, chất tạo gel) trong các sản phẩm như mứt, sữa chua, kẹo dẻo...



Ghi chú: (A): Ảnh hưởng tương tác nồng độ dung môi và nhiệt độ; (B): Ảnh hưởng của tương tác nồng độ dung môi và thời gian chiết xuất; (C): Ảnh hưởng của tương tác nhiệt độ và thời gian chiết xuất.

Hình 1. Ảnh hưởng của tương tác từng cặp yếu tố đến hiệu suất thu hồi pectin từ vỏ chanh dây

Xác định điều kiện tối ưu chiết xuất pectin và ảnh hưởng của điều kiện chiết xuất đến độ este hóa của pectin từ vỏ quả chanh dây tía (*Passiflora edulis* Sims)

Chỉ số DE của pectin chanh dây là $38,76 \pm 1,52\%$, thấp hơn so với pectin thị trường $62,41 \pm 1,58\%$. Chỉ số MI biểu hiện mức độ methyl hóa, là phần trăm khối lượng nhóm methoxyl (-OCH₃) trên tổng khối lượng phân tử. Kết quả bảng 4 cho thấy pectin chanh dây có giá trị MI là $3,94 \pm 0,13\%$, thấp hơn pectin thị trường ($8,07 \pm 0,19\%$). Với kết quả chỉ số DE và MI như vậy chứng tỏ pectin chiết xuất được thuộc loại pectin LMP (Low Methoxyl Pectin) (trong phân tử pectin có dưới 50% các nhóm axit bị este hóa ($DE \leq 50\% \& MI \leq 7\%$) và pectin thị trường thuộc loại pectin HMP (High Methoxyl Pectin, $DE > 50\% \& MI > 7\%$). Pectin loại HMP sẽ tạo gel trong môi trường có nồng độ đường cao (cần nồng độ đường $> 55\%$ (w/w)) và axit (pH thấp, từ 2-3,5). Trong khi, pectin loại LMP có khả năng tạo gel mà không cần thêm đường, chỉ cần sự có mặt của ion cation làm cross-linker trong chuỗi galacturonic axit. Pectin có chỉ số $MI < 7\%$ là loại pectin phù hợp cho mục đích tạo màng vì nó có thể tạo gel không thuận nghịch (Yapo & Koffi, 2014).

Chỉ số AUA xác định tổng hàm lượng axit anhydrouronic. Chỉ số AUA để đánh giá độ tinh sạch của pectin trong quá trình chiết xuất và nó được khuyến cáo lớn hơn 65% (theo Food Chemical Codex). Bảng 4 cho thấy pectin chiết xuất từ vỏ chanh dây có chỉ số AUA lớn hơn 65% và cao hơn chỉ số AUA của pectin thị trường. Điều đó phản ánh độ tinh sạch khá cao của pectin thu nhận được ở điều kiện tối ưu.

Các chỉ số L^* , a^* , b^* ở bảng 4 cho thấy màu sắc của pectin thị trường có phần sáng và trắng hơn so với pectin vỏ chanh dây. Nguyên nhân là do pectin thị trường đã được xử lý chất tẩy trắng còn pectin chiết xuất trong nghiên cứu này không xử lý chất tẩy trắng. Vì nghiên cứu này muốn tạo ra loại pectin an toàn, hạn chế tối thiểu dư lượng hóa chất trong quy trình chế tạo. Tuy nhiên, xét về giá trị cảm quan, màu sắc của pectin thu được từ vỏ quả chanh dây vẫn rất phù hợp để tạo màng sinh học.

Như vậy, với 4/5 các đặc tính hóa lý thu được có kết quả tốt hơn pectin thị trường về khía cạnh ứng dụng tạo màng bảo quản sinh

học, chứng tỏ pectin chiết xuất ở điều kiện tối ưu trên rất có tiềm năng cho ứng dụng tạo màng bảo quản.

So sánh với các nghiên cứu liên quan, Hosseini & cs. (2015) chiết xuất pectin từ vỏ cam bằng phương pháp dung môi kết hợp vi sóng, thu được pectin có DE cao nhất đạt 37,5%, thuộc loại LMP. Theo Lim & cs. (2012), sử dụng phương pháp dung môi và phương pháp enzyme để chiết xuất pectin từ vỏ quả cam (*Citrus junos*) có DE lần lượt là 41% và 46%, đều thuộc loại LMP. Trong khi đó, theo Fakayode & cs. (2018), pectin chiết xuất từ vỏ quả cam (*Citrus sinensis*) có DE bằng 60,4%, lại thuộc loại HMP. Còn Liew & cs. (2014) chiết xuất pectin từ vỏ quả chanh dây bằng phương pháp dung môi, pectin thu được có DE nằm trong khoảng 41,67-67,31% phụ thuộc vào pH và thời gian chiết xuất. Như vậy, rõ ràng đặc tính hóa lý của pectin tùy thuộc vào nguồn nguyên liệu, phương pháp và điều kiện chiết xuất. Từ đó thu được các loại pectin thuộc loại LMP hoặc HMP với các đặc tính hóa lý khác nhau, sẽ phù hợp cho các mục đích ứng dụng khác nhau.

3.3. Ảnh hưởng của điều kiện chiết xuất đến độ este hóa của pectin từ vỏ quả chanh dây

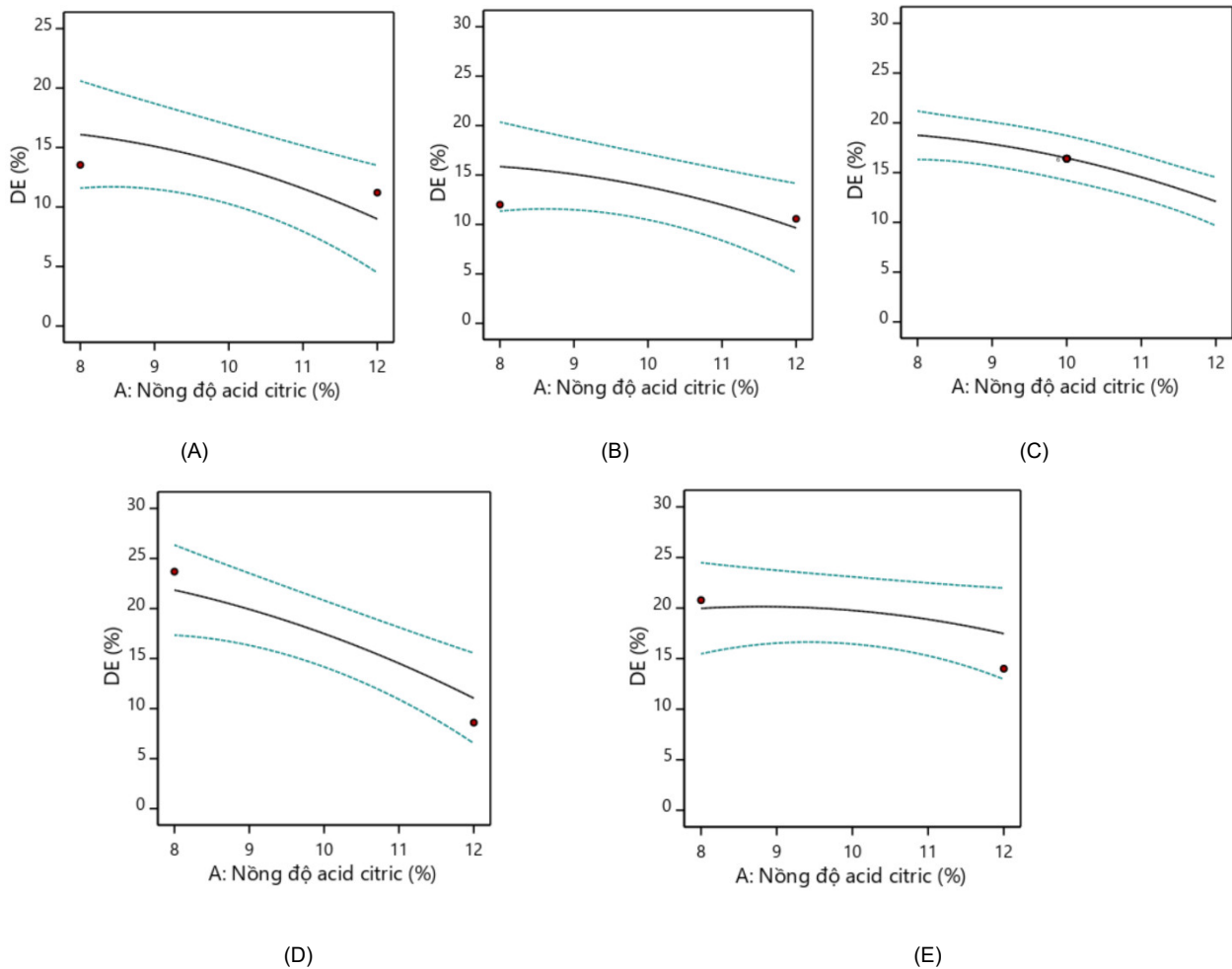
3.3.1. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến độ este hóa của pectin

Sự thay đổi độ este hóa của pectin khi nồng độ dung môi tăng theo các khoảng nhiệt độ và thời gian khác nhau được thể hiện trên hình 2. Kết quả cho thấy mức giá trị DE cao hay thấp tùy thuộc vào điều kiện chiết xuất khác nhau. Trong điều kiện nhiệt độ và thời gian cùng cao hoặc cùng thấp thì khi nồng độ axit tăng dần sẽ làm cho chỉ số DE giảm nhẹ. Còn DE giảm mạnh nhất khi chiết xuất ở khoảng nhiệt độ cao và thời gian ngắn. Ngược lại (ở nhiệt độ thấp và thời gian dài) thì DE giảm không đáng kể. Như vậy, các yếu tố thí nghiệm có sự tương tác mạnh mẽ và ảnh hưởng rõ rệt đến độ este hóa của pectin. Kết quả này cũng tương đồng với công bố của Pinheiro & cs. (2008) khi nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện chiết xuất đến chỉ số DE của pectin thu nhận từ vỏ quả chanh dây vàng.

Bảng 4. Các chỉ tiêu hóa lý của pectin từ vỏ quả chanh dây và pectin thị trường

Chỉ tiêu hóa lý	Pectin vỏ chanh dây	Pectin thị trường
Đương lượng EW	586,92 ± 17,55	1467,20 ± 17,43
Độ este hóa DE (%)	38,76 ± 1,52	62,41 ± 1,58
Chỉ số methoxyl MI (%)	3,94 ± 0,13	8,07 ± 0,19
Hàm lượng axit anhydrouronic (%)	76,58 ± 1,19	68,65 ± 1,02
Màu sắc		
L*	50,01 ± 0,16	92,09 ± 0,26
a*	9,70 ± 0,54	0,14 ± 0,05
b*	15,83 ± 0,26	9,05 ± 0,34

Chú thích: Pectin vỏ chanh dây được chiết xuất ở điều kiện tối ưu: nồng độ axit citric 8,00%, nhiệt độ 82,14°C, thời gian 81,07 phút. Tất cả các chỉ tiêu được lặp lại 3 lần. Số liệu được thể hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.



Ghi chú: (A) Nhiệt độ 75°C, thời gian 70 phút; (B) Nhiệt độ 85°C, thời gian 110 phút; (C) Nhiệt độ 80°C, thời gian 90 phút; (D) Nhiệt độ 85°C, thời gian 70 phút; (E) Nhiệt độ 75°C, thời gian 110 phút.

Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ axit citric đến chỉ số DE của pectin

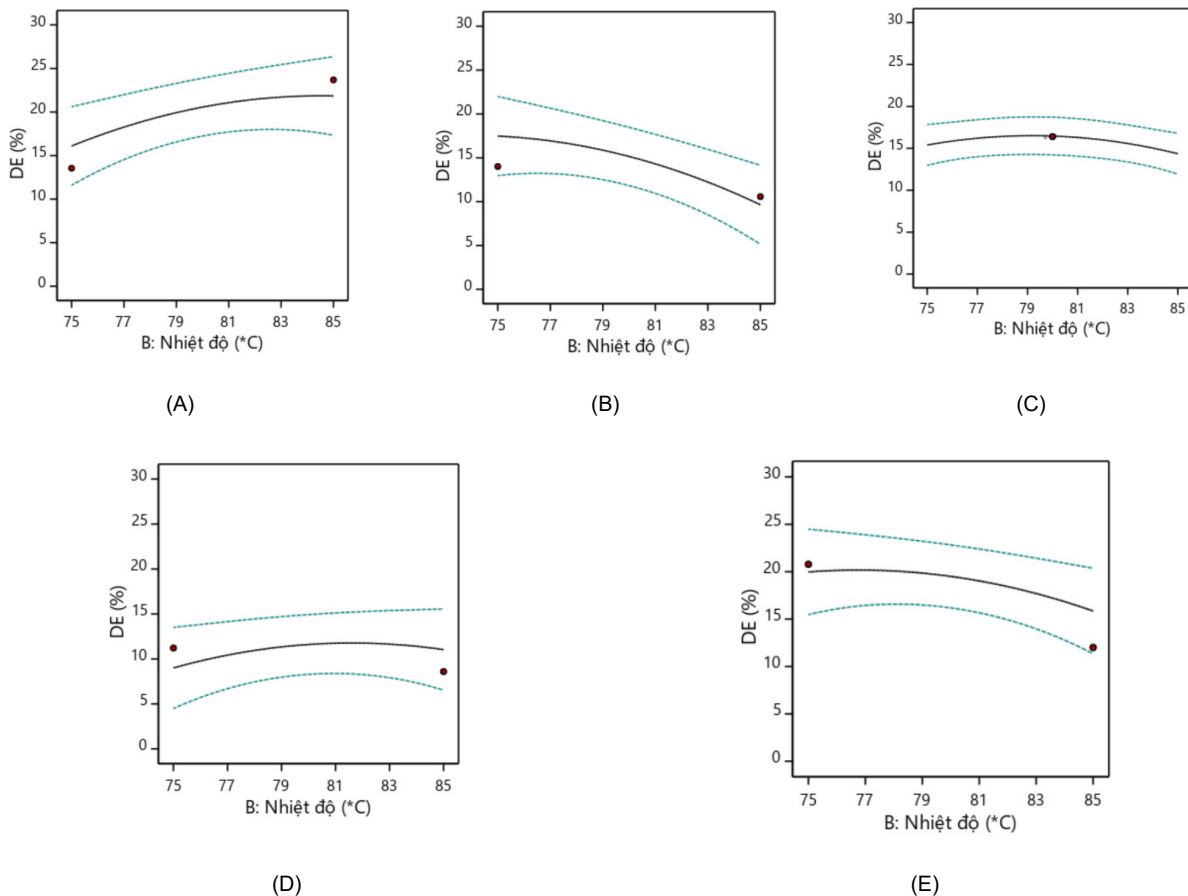
Xác định điều kiện tối ưu chiết xuất pectin và ảnh hưởng của điều kiện chiết xuất đến độ este hóa của pectin từ vỏ quả chanh dây tía (*Passiflora edulis* Sims)

3.3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất đến độ este hóa của pectin

Sự thay đổi của chỉ số DE khi nhiệt độ tăng theo các khoảng nồng độ axit và thời gian khác nhau được thể hiện trên hình 3. Kết quả cho thấy trong khoảng nồng độ axit thấp và thời gian ngắn, khi nhiệt độ tăng dần sẽ làm chỉ số DE tăng mạnh. Ngược lại, trong khoảng nồng độ axit cao và thời gian dài thì khi nhiệt độ tăng lại làm cho DE giảm mạnh. Ở khoảng trung tâm, mức độ este hóa của pectin có xu hướng gần như không thay đổi khi nhiệt độ tăng lên. Khi nồng độ axit cao-thời gian ngắn, nhiệt độ tăng thì chỉ số DE tăng nhẹ nhưng ở điều kiện ngược lại thì chỉ số DE lại giảm dần. Như vậy, yếu tố nhiệt độ có ảnh hưởng rõ rệt đến chỉ số DE của pectin và ảnh hưởng của yếu tố nhiệt độ cũng chịu tác động của 2 yếu tố thí nghiệm còn lại.

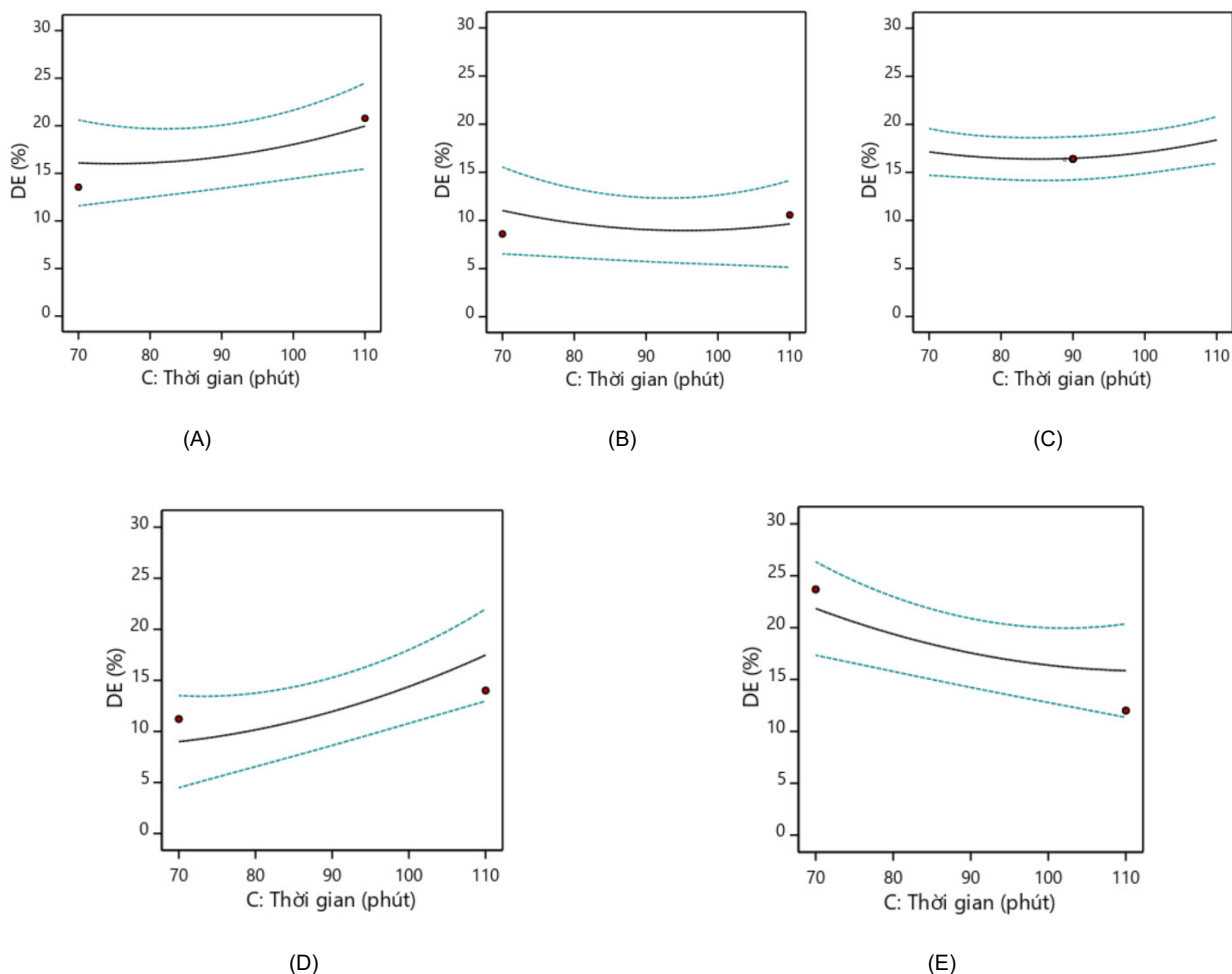
3.3.3. Ảnh hưởng của thời gian chiết xuất đến độ este hóa của pectin

Sự thay đổi chỉ số DE theo thời gian ở các khoảng nồng độ axit và nhiệt độ khác nhau được thể hiện trên hình 4. Kết quả cho thấy khi nồng độ axit thấp - nhiệt độ thấp, thời gian tăng dần thì chỉ số DE của pectin tăng. Ở nồng độ axit cao - nhiệt độ cao và khoảng trung tâm, khi thời gian tăng thì chỉ số DE gần như không thay đổi. Khi nồng độ axit cao - nhiệt độ thấp, thời gian tăng làm cho chỉ số DE tăng mạnh nhất, nhưng ở điều kiện ngược lại thì chỉ số DE lại giảm. Như vậy, thời gian chiết xuất có ảnh hưởng đáng kể đến chỉ số DE của pectin chanh dây. Kết quả nghiên cứu của Hosseini & cs. (2015, 2019) khi chiết xuất pectin từ vỏ cam cũng cho thấy thời gian biến đổi trong các điều kiện khác nhau sẽ làm cho DE của pectin có giá trị khác nhau.



Ghi chú: (A) Nồng độ axit 8%, thời gian 70 phút; (B) Nồng độ axit 12%, thời gian 110 phút; (C) Nồng độ axit 10%, thời gian 90 phút; (D) Nồng độ axit 12%, thời gian 70 phút; (E) Nồng độ axit 8%, thời gian 110 phút.

Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất đến chỉ số DE của pectin



Ghi chú: (A) Nồng độ axit 8%, nhiệt độ 75°C; (B) Nồng độ axit 12%, nhiệt độ 85°C; (C) Nồng độ axit 10%, nhiệt độ 80°C; (D) Nồng độ axit 12%, nhiệt độ 75°C; (E) Nồng độ axit 8%, nhiệt độ 85°C.

Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian chiết xuất đến chỉ số DE của pectin

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã cho thấy các yếu tố nồng độ axit citric, nhiệt độ, thời gian chiết xuất và sự tương tác giữa chúng đều có ảnh hưởng rõ rệt đến hiệu suất thu hồi pectin từ vỏ quả chanh dây, trong đó nhiệt độ chiết xuất là yếu tố có ảnh hưởng lớn nhất. Đồng thời, nghiên cứu đã tìm được mô hình bậc 2 hoàn toàn phù hợp với quá trình chiết xuất pectin từ vỏ quả chanh dây tía. Kết quả cũng đã xác định được điều kiện tối ưu để chiết xuất pectin từ vỏ chanh dây như sau: nồng độ axit citric 8,00%, nhiệt độ 82,14°C, thời gian 81,07 phút và hiệu suất thu hồi đạt 24,42%. Pectin chiết xuất ở điều kiện tối ưu có đặc tính hóa lý phù hợp với mục đích tạo màng bảo quản,

mở ra một hướng ứng dụng tiềm năng cho loại pectin này. Cuối cùng, điều kiện chiết xuất khác nhau làm thay đổi độ este hóa của pectin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bochek A.M., Zabivalova N.M. & Petropavlovskii G.A. (2001). Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid. Russian Journal of Applied Chemistry. 75: 796-799.
- Canteri M.H.G. & Fertonani H.C.R. (2010). A comparative study of pectin extracted from passion fruit rind flours. Journal of Poly Environment. 18: 593-599.
- Chan S.Y. & Choo W.S. (2013). Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. Food Chemistry. 141(4): 3752-3758.

Xác định điều kiện tối ưu chiết xuất pectin và ảnh hưởng của điều kiện chiết xuất đến độ este hóa của pectin từ vỏ quả chanh dây tía (*Passiflora edulis* Sims)

- Dehankar P.B., Mane P. & Mane J. (2015). Recycling of orange peels as pectin-A valuable product. *International Journal of Informative & Futuristic*. 2(9): 3041-3048.
- El-Nawawi S.A. & Shehata F.R. (1987). Extraction of pectin from Egyptian orange peel. Factors affecting the extraction. *Biological Wastes*. 20(4): 281-290.
- Fakayode O.A. & Abobi K.E. (2018). Optimization of oil and pectin extraction from orange (*Citrus sinensis*) peels: a response surface approach. *Journal of Analytical Science*. 9: 20.
- Garna H., Mabon N., Robert C., Cornet C., Nott K. & Paquot M. (2007). Effect of extraction conditions on the yield and purity of apple pomace pectin precipitated but not washed by alcohol. *Journal of Food Science*. 72 (1): 1-9.
- Girma E. & Worku T. (2016). Extraction and characterization of pectin from selected fruit peel waste. *International Journal of Scientific Publications*. 6(2): 447-454.
- Hosseini S.S., Khodaiyan F. & Yarmand M.S. (2015). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*. 140: 59-65.
- Hosseini S.S. (2019). Optimization and characterization of pectin extracted from sour orange peel by ultrasound assisted method. *International Journal of Biological Macromolecules*. 125: 621-629.
- Inayati Puspita R.I. & Fajrin V.L. (2018). Extraction of pectin from passion fruit rind (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener) for edible coating. *AIP Conference Proceedings*. Doi: 10.1063/1.5024061
- Kanmani P., Dhivya E., Aravind J. & Kumaresan K. (2014). Extraction and analysis of pectin from citrus peels: augmenting the yield from citrus limon using statistical experimental design. *Iranica Journal of Energy & Environment*. 5(3): 303-312.
- Kliemann E., Simas K.N. & Amante E. (2019). Optimisation of pectin axt extraction from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) using response surface methodology. *International Journal of Food Science*. 44: 476-483.
- Levigne S., Ralet M. & Thibault J.F. (2002). Characterisation of pectins extracted from fresh sugar beet under different conditions using an experimental design. *Carbohydrate Polymers*. 49 (2): 145-153.
- Liew S.Q., Chin N.L. & Yusof Y.A. (2014). Extraction and characterization of pectin from passion fruit peels. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 2: 231-236.
- Lê Văn Hà, Nguyễn Hùng Sơn, Nguyễn Xuân Trạch, Bùi Quang Tuấn & Trần Hiệp (2020). Tiềm năng sử dụng vỏ chanh leo làm thức ăn cho gia súc nhai lại. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Chăn nuôi*. 107: 49-50.
- Lim J., Yoo J., Ko S. & Lee S. (2012). Extraction and characterization of pectin from Yuza (*Citrus junos*) pomace: A comparison of conventional-chemical and combined physical-enzymatic extractions. *Food Hydrocolloids*. 29: 160-165.
- Mollea C., Chiampo F. & Conti R. (2008). Extraction and characterization of pectins from cocoa husks: A preliminary study. *Food Chemistry*. 107(3): 1353-1356.
- Oliveira F., Giordani C., Lutckemier R., Gurak P.D., Cladera-Olivera F. & Marczak L.D. (2016). Extraction of pectin from passion fruit peel assisted by ultrasound. *LWT-Food Science and Technology*. 71: 110-115.
- Pinheiro E.R., Silva I.A. & Amboni D.M.C. (2008). Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. *Bioresource Technology*. 99: 5561-5566.
- Ranganna S. (2001). *Pectin: handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products*. USA: Tata McGraw-Hill Publishing. pp. 31-47.
- Thakur B.R., Singh R.K. & Handa A.K. (1997). Chemistry and uses of pectin-a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 37(1): 47-73.
- Tran Hiep, Bui Quang Tuan, Le Viet Phuong, Nguyen Hung Son, Le Van Ha & Nguyen Xuan Trach (2020). Passion fruit (*Passiflora edulis*) peel as feed for ruminants in Vietnam: Quantification, chemical composition and possibility to make silage. *Livestock Research for Rural Development*. 32 (3) Article #35. <http://www.lrrd.org/lrrd32/2/trach32035.html>.
- Van Buren & Walter R.H. (1991). *The chemistry and technology of pectin*. Academic Press, Inc. San Diego, California. pp. 92-101.
- Yadav S.D., Bankar N.S., Waghmare N.N. & Shete D.C. (2017). Extraction and characterization of pectin from sweet lime. 4th International Conference on Multidisciplinary Research & Practice. pp. 58-63.
- Yapo B.M. & Foffi K.L. (2014). Extraction and characterization of highly gelling low methoxy pectin from cashew apple pomace. *Foods*. 3: 1-12.
- Ziari H., Ashtiani F.Z. & Mohtashamy M. (2010). Comparing the effectiveness of processing parameters in pectin extraction from apple pomace. *Afinidad*. 67: 374-379.