



## BIỆN PHÁP TIỀN XỬ LÝ VÀ TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH TRÍCH LY ANTHOCYANIN TỪ VỎ KHOAI LANG TÍM

Phạm Thị Mai Quế và Nguyễn Minh Thủy

Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 05/08/2016

Ngày chấp nhận: 24/10/2016

### Title:

Pretreatment methods and optimization of anthocyanin extraction from purple sweet potato peel

### Từ khóa:

Vỏ khoai lang tím, tiền xử lý, anthocyanin, phương pháp bề mặt đáp ứng, tối ưu hóa

### Keywords:

Purple sweet potato peel, pretreatment, anthocyanin, response surface methodology, optimization

### ABSTRACT

In this study, the pretreatment of purple sweet potato peel was conducted (steaming at 100°C for 4 min or not steaming combined drying at 50°C for 4 hours and control sample) to increase extraction efficiency of anthocyanin compounds. Optimization of purple sweet potato peel (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) anthocyanins extraction was investigated using Response Surface Methodology (RSM), with ethanol concentrations (60, 70, 80%) at different extraction temperatures (40, 50, 60°C) and time (30, 45, 60 min). The combined effects of extraction conditions on anthocyanin content were studied using a three-level three-factor Box–Behnken design. The results showed that steaming of purple sweet potato peel at temperature of 100°C for 4 min, then drying at 50°C for 4 hours could increase extraction efficiency (anthocyanin content was 0.2%, increased 7 times compared to the control sample 0.03%). RSM was used to optimize the extraction parameters. The second order polynomial equation obtained ( $R^2 = 0.94$ ) indicated that extraction time mostly affected the extraction yield (as anthocyanin content). The optimal conditions (temperature, time and ethanol concentration) for extraction of anthocyanin were 51°C, 44 min and 68%, respectively. The experimental value of anthocyanin content was 0.274%. The experimental responses were reasonably closed to the predicted responses ( $R^2 = 0.93$ ) and the optimum conditions of the extraction process were verified.

### TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, biện pháp tiền xử lý nguyên liệu (vỏ khoai lang tím) được thực hiện (sấy mẫu ở 50°C trong 4 giờ cùng với hấp ở 100°C trong 4 phút/hoặc không hấp cùng với mẫu đối chứng) nhằm tăng hiệu quả trích ly hợp chất anthocyanin. Tối ưu hóa quá trình trích ly anthocyanin từ vỏ khoai lang tím sử dụng mô hình bề mặt đáp ứng đã được thực hiện với nồng độ ethanol (60, 70, 80%) ở các nhiệt độ (40, 50, 60°C) và thời gian khác nhau (30, 45, 60 phút). Ảnh hưởng kết hợp của điều kiện trích ly đến hàm lượng anthocyanin được nghiên cứu thiết kế theo mô hình Box-Behnken với ba nhân tố và ba mức độ. Kết quả nghiên cứu cho thấy, vỏ khoai lang tím được hấp ở nhiệt độ 100°C trong 4 phút, sau đó sấy ở 50°C trong 4 giờ có thể tăng hiệu quả trích ly (hàm lượng anthocyanin đạt được cao nhất là 0,2%, gấp 7 lần so với mẫu đối chứng). Phương pháp bề mặt đáp ứng đã được sử dụng tốt để tối ưu hóa các thông số khai thác. Phương trình đa thức bậc 2 thu được ( $R^2 = 0,94$ ) cho thấy thời gian, nhiệt độ và nồng độ ethanol ảnh hưởng quan trọng đến hiệu quả trích ly (thể hiện bằng hàm lượng anthocyanin). Các điều kiện tối ưu (nhiệt độ, thời gian và nồng độ ethanol) đạt được là 51°C, 44 phút và 68%, tương ứng. Giá trị thực nghiệm của hàm lượng anthocyanin là 0,274%. Sự tương thích giữa các giá trị thực nghiệm và dự đoán từ mô hình ( $P$  value < 0,01) được tìm thấy. Các điều kiện tối ưu của quá trình trích ly cũng đã được kiểm định.

Trích dẫn: Phạm Thị Mai Quế và Nguyễn Minh Thủy, 2016. Biện pháp tiền xử lý và tối ưu hóa quá trình trích ly anthocyanin từ vỏ khoai lang tím. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề: Nông nghiệp (Tập 1): 43-50.

## 1 GIỚI THIỆU

Khoai lang tím (*Ipomoea batatas L.*) là cây nông nghiệp được trồng phổ biến ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long, là nguồn thực phẩm có nhiều lợi ích cho sức khỏe con người, chứa nhiều chất dinh dưỡng cần thiết cho cơ thể như vitamin C, vitamin nhóm B, các khoáng chất (K, Na, Mg...) (USDA, 2016), có khả năng phòng chống bệnh tiểu đường (Mastui *et al.*, 2001), chống đột biến (Yoshimoto *et al.*, 2001), giảm cholesterol và tăng cường hệ miễn dịch (USDA, 2009). Bên cạnh đó, khoai lang tím còn chứa nhiều các hợp chất sinh học như hợp chất phenol, anthocyanin... có khả năng chống oxy hóa, ngăn ngừa ung thư và chống lão hóa. Do đó, khoai lang tím đã được ứng dụng chế biến thành nhiều sản phẩm có giá trị kinh tế cao.

Trong quá trình chế biến và sử dụng, vỏ khoai lang tím được thải ra với số lượng lớn gây ảnh hưởng nhiều đến môi trường tự nhiên. Thực tế trong vỏ khoai lang loại bỏ còn chứa nhiều hợp chất sinh học mà chủ yếu là anthocyanin chưa được tận dụng. Chất màu anthocyanin hiện diện trong vỏ khoai lang tím là một loại sắc tố tự nhiên đã thu hút mối quan tâm chung trong những năm gần đây. Vì vậy, việc tận dụng nguồn vỏ khoai này vừa để tạo ra màu anthocyanin ổn định sử dụng trong công nghiệp thực phẩm, vừa có khả năng góp phần giải quyết được vấn đề ô nhiễm môi trường.

Anthocyanin là hợp chất thuộc họ flavonoid, là sắc tố tan trong nước phổ biến ở thực vật, thường biểu hiện các màu tím, đỏ tía hoặc xanh trong các loại rau củ, trái cây, hoa lá và rễ của các loài thực vật (Gross, 1987). Anthocyanin có nhiều trong các loại quả nhỏ, anh đào, mận, mâm xôi, dâu tây, táo, đào, việt quất... các loại rau củ có chứa sắc tố anthocyanin là cà tím, bắp cải tím, khoai lang tím, tía tô... Cường độ màu và sự ổn định của anthocyanin phụ thuộc vào cấu trúc hóa học và môi trường bên ngoài như pH, nhiệt độ, ánh sáng, ion kim loại, enzyme, oxy, acid ascorbic, đường và các chất chuyển hóa đường... (Mazza và Minitati, 1993; Francis, 1989).

Những năm gần đây, các nghiên cứu về trích ly anthocyanin đã được thực hiện trên các loại rau củ và quả (Macz-Pop *et al.*, 2006; Baleiras Couto và Eiras-Dias, 2006; Stanciu *et al.*, 2010; Huỳnh Thị Kim Cúc và *ctv.*, 2005; Xiu-li *et al.*, 2015). Nhiều nghiên cứu về các phương pháp xử lý nguyên liệu đến hiệu suất trích ly và theo dõi sự thay đổi của anthocyanin cũng được tiến hành bởi Cevallos-Casals và Cisneros-Zevallos (2003), Li *et al.* (2013), Dương Thị Phượng Liên và Nguyễn Nhật Minh Phương (2014). Bên cạnh đó, các bố trí

nghiên cứu trích ly anthocyanin bằng phương pháp Box-behken và bề mặt đáp ứng RSM cũng được công bố từ nhiều nhóm tác giả (Varnalis *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2013). Phương pháp Box-behken và bề mặt đáp ứng RSM là công cụ tối ưu hóa có hiệu quả, thể hiện các tác động của từng yếu tố ảnh hưởng và sự tương tác các yếu tố (Box và Wilson, 1951). Phương pháp bề mặt đáp ứng còn được đánh giá hiệu quả do thu thập nhiều kết quả nghiên cứu hơn so với phương pháp cổ điển, thời gian thực hiện tương đối ngắn và giảm được chi phí lao động, ưu điểm của phương pháp này là làm giảm số đơn vị thí nghiệm cần thiết để cung cấp thông tin đầy đủ về kết quả có thể chấp nhận được về mặt thống kê.

Trong nghiên cứu này, quá trình trích ly anthocyanin từ vỏ khoai lang tím được thực hiện, ảnh hưởng của các yếu tố và sự tương tác lẫn nhau sử dụng mô hình Box-behken và phương pháp bề mặt đáp ứng RSM được xác định.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Chuẩn bị mẫu vỏ khoai lang

Vỏ khoai lang sau khi thu nhận (có kích thước và độ dày khác nhau – tùy thuộc vào sự thải ra từ các quá trình chế biến sản phẩm khoai lang tím trước) được làm sạch và loại bỏ phần không tốt (hư thối). Vỏ khoai lang được làm ráo sau khi rửa và cho vào bao bì tồn trữ ở 4 – 5°C cho quá trình sử dụng (hoặc sử dụng ngay).

Thời gian thực hiện vào khoảng tháng 11/2015 đến tháng 01/2016 (thời gian này giá khoai tương đối thấp và sản lượng nhiều).

Khối lượng mỗi mẫu được sử dụng cho thí nghiệm là 50 g. Vỏ khoai được xay mịn và cho vào dung môi trích ly đã được chuẩn bị sẵn. Tỷ lệ giữa vỏ khoai lang và thể tích ethanol là 1:10 (w/v).

### 2.2 Phương pháp thí nghiệm

#### 2.2.1 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của việc xử lý nguyên liệu vỏ khoai lang đến khả năng trích ly anthocyanin được bố trí theo một nhân tố (phương pháp xử lý nguyên liệu). Các phương pháp xử lý được khảo sát bao gồm: sấy nguyên liệu ở 50°C trong 4 giờ, hấp nguyên liệu ở 100°C trong 4 phút sau đó sấy mẫu ở 50°C trong 4 giờ và mẫu đối chứng (không xử lý).

Thí nghiệm tối ưu hóa quá trình trích ly anthocyanin từ vỏ khoai lang tím được thiết kế thử nghiệm bằng mô hình Box-Behnken với 18 đơn vị thí nghiệm và 3 lần lặp lại với các biến được lựa chọn. Các nhân tố được khảo sát bao gồm nhiệt độ

(X<sub>1</sub>), nồng độ ethanol (X<sub>2</sub>) và thời gian trích ly (X<sub>3</sub>). Mức các biến độc lập được mã hóa (Bảng 1)

và Bảng 2 hiển thị 18 lần thử nghiệm tạo ra các biến số được mã hóa với 6 điểm trung tâm.

**Bảng 1 : Nhân tố và các mức độ bố trí theo mô hình Box-Behnken**

Nhân tố (Biến)	Quá trình trích ly (mức độ các biến được mã hóa)			
	Ký hiệu	-1	0	+1
Nhiệt độ (°C)	X <sub>1</sub>	40	50	60
Nồng độ ethanol (%)	X <sub>2</sub>	60	70	80
Thời gian (phút)	X <sub>3</sub>	30	45	60

**Bảng 2: Bố trí thí nghiệm theo mô hình Box-Behnken**

STT	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>
1	0	0	0
2	0	-1	-1
3	-1	0	1
4	-1	-1	0
5	0	0	0
6	1	1	0
7	1	-1	0
8	1	0	-1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	1	0	1
12	0	0	0
13	-1	1	0
14	-1	0	-1
15	0	-1	1
16	0	1	-1
17	0	0	0
18	0	1	1

bằng dung dịch HCl (khoảng 6,3 mL). Cho vào bình định mức 1L và bổ sung nước cất đến vạch.

Mẫu được pha loãng trong hai dung dịch đệm: đệm kali clorua 0,025 M (pH 1,0) và đệm natri acetat 0,4 M (pH 4,5). Tất cả các phép đo độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ được thực hiện ở bước sóng 520 nm và 700 nm (Stanciu *et al.*, 2010).

Xác định khối lượng anthocyanin theo công thức:

$$a = \frac{A \cdot M \cdot K \cdot V}{\epsilon \cdot l} \text{ (g)}$$

Trong đó: A = (A<sub>520nm,pH=1</sub> - A<sub>700nm,pH=1</sub>) - (A<sub>520nm,pH=4,5</sub> - A<sub>700nm,pH=4,5</sub>)

A<sub>520nm</sub>, A<sub>700nm</sub>: độ hấp thụ tại bước sóng 520 và 700 nm, ở pH=1 và pH = 4,5

Trong đó, a: lượng anthocyanin (g); M: khối lượng phân tử của anthocyanin, được biểu diễn qua cyanidin 3-glucozide (449.2 g/mol); l: chiều dày cuvet (1cm); K: độ pha loãng; V: thể tích dịch chiết (l); ε: hệ số hấp thụ phân tử, (26900 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> tại λ = 520 nm) (Stanciu *et al.*, 2010).

Hàm lượng anthocyanin toàn phần (%) = a × 100% / [m × (100- w) × 10<sup>-2</sup>]

**2.2.3 Phương pháp xử lý số liệu**

Các số liệu thu thập được tính toán, phân tích bằng phần mềm STATGRAPHICS 15.1 phân tích phương sai ANOVA và kiểm định mức độ sai khác trung bình giữa các nghiệm thức, sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2010 tính toán dữ liệu.

Phân tích thống kê (STATGRAPHICS) được sử dụng để chọn mô hình phù hợp cho các dữ liệu thu thập. Để xây dựng tương quan giữa biến phụ thuộc với các biến độc lập, hồi quy đa thức được áp dụng để tạo sự tương thích của các hệ số của mô hình đa thức của mỗi biến trong từng trường hợp. Chất lượng về độ tương thích của mô hình được đánh giá bằng cách kiểm định mức độ ý nghĩa và phân tích phương sai (ANOVA). Mô hình toán học bậc hai được mô tả trong phương trình 1.

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i X_i + \sum_{i=1}^k b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^k b_{ij} X_i X_j + e \text{ (1)}$$

**2.2.2 Phương pháp xác định hàm lượng anthocyanin**

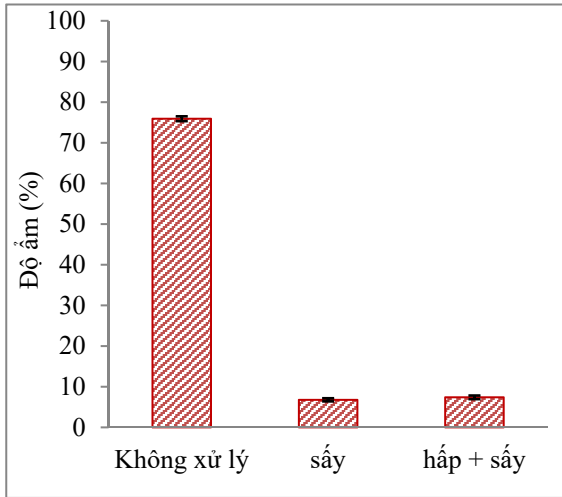
Xác định anthocyanin trong dịch trích theo phương pháp pH vi sai (Giustivà Wrolstad, 2000), dựa trên nguyên tắc chất màu anthocyanin thay đổi theo pH. Tại pH=1, các anthocyanin tồn tại ở dạng oxonium hoặc flavium có độ hấp thụ cực đại, tại pH = 4,5 thì chúng lại ở dạng carbinol không màu. Phương pháp pH vi sai cho phép xác định hàm lượng anthocyanin tổng số chính xác và nhanh chóng, thậm chí khi có sự hiện diện của các hợp chất can thiệp khác (Stanciu *et al.*, 2010).

Chuẩn bị dung dịch đệm kali clorua 0,025 M (pH = 1): cân 1,86 g KCl cho vào cốc thủy tinh, bổ sung nước cất đến khoảng 980 mL. Điều chỉnh pH của dung dịch đệm về 1,0±0,05 bằng dung dịch HCl (khoảng 6,3 mL). Cho vào bình định mức 1 L và bổ sung nước cất đến vạch.

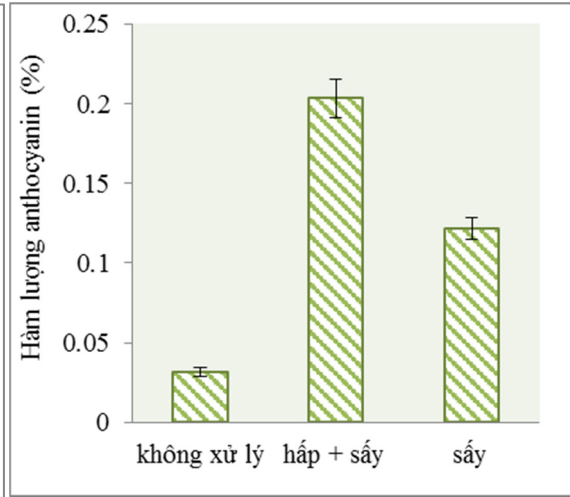
Chuẩn bị dung dịch đệm natri acetate 0,4 M (pH = 4,5): cân 54,43 g CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>Na.3H<sub>2</sub>O cho vào cốc thủy tinh, bổ sung nước cất đến khoảng 980 mL. Điều chỉnh pH của dung dịch đệm về 4,5±0,05

Trong đó:  $Y$  là biến phụ thuộc (hàm lượng anthocyanin, %),  $b_0$  là hệ số chặn,  $b_i$  ( $i = 1, 2, \dots, k$ ) là hệ số phương trình bậc 1,  $b_{ij}$  là hệ số tương tác của 2 biến độc lập  $X_i$  và  $X_j$ ,  $b_{ii}$  là hệ số phương trình bậc 2 của biến  $X_i$  và  $e$  là sai số ngẫu nhiên.

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN



(a)



(b)

**Hình 1: Ảnh hưởng điều kiện xử lý mẫu đến (a) hàm lượng anthocyanin và (b) độ ẩm vỏ khoai lang**

Hình 1b cho thấy, mẫu khoai lang ban đầu có độ ẩm cao khoảng 75,92%, sau quá trình xử lý nhiệt, độ ẩm của mẫu khoai lang giảm còn 7,4% (đối với mẫu hấp và sấy) và 6,78% (đối với mẫu sấy). Quá trình sấy/hấp-sấy giúp các phân tử nước tự do trong nguyên liệu chuyển đổi từ trạng thái lỏng sang hơi, thoát ra môi trường nên độ ẩm của nguyên liệu giảm nhiều so với mẫu ban đầu (không xử lý).

Hàm lượng anthocyanin trích ly tăng từ 0,032 đến 0,122% (mẫu sấy) và 0,203% (mẫu hấp và sấy). Quá trình sấy gây ra sự phá vỡ cấu trúc tế bào tạo điều kiện cho dung môi và nguyên liệu tiếp xúc tốt hơn, do đó làm tăng khả năng trích ly (Dương Thị Phượng Liên, 2014). Mức độ phá vỡ tế bào và kích thước nguyên liệu là một trong những yếu tố được đánh giá có ảnh hưởng đến khả năng trích ly (Cacace và Mazza, 2003). Bên cạnh đó, nguyên liệu được hấp trước khi sấy cũng góp phần làm phá thành tế bào thực vật, mô thực vật mềm ra làm cho quá trình trích ly đạt hiệu quả cao hơn. Wrolstad *et al.* (2005) cho rằng, trong tế bào thực vật có nhiều enzyme oxy hóa peroxydase, polyphenol oxydase, do đó, việc hấp nguyên liệu 100°C trong vòng 4 phút cũng góp phần làm vô hoạt enzyme anthocyanase, tránh được hiện tượng hóa nâu và thoái hóa anthocyanin (Nguyễn Thị Thu Thủy,

#### 3.1 Ảnh hưởng của phương pháp xử lý nguyên liệu đến khả năng trích ly anthocyanin

Điều kiện xử lý nguyên liệu ban đầu ảnh hưởng đến sự thay đổi cấu trúc nguyên liệu, từ đó ảnh hưởng đến khả năng trích ly anthocyanin. Kết quả ảnh hưởng điều kiện xử lý mẫu đến khả năng trích ly anthocyanin được thể hiện ở đồ thị Hình 1a.

2008; Xiu-li *et al.*, 2015). Priccina và Karlina (2013) nghiên cứu về phương pháp sấy bằng microwave đối với hành và tỏi cũng cho rằng khi sấy nguyên liệu sẽ làm tăng trích ly các hợp chất polyphenol có trong các loại nguyên liệu này. Yang và Gadi (2008) khi nghiên cứu về ảnh hưởng chần và sấy đến anthocyanin, polyphenol trong khoai lang tím đã cho thấy sử dụng phương pháp chần nguyên liệu, sau đó sấy làm tăng hàm lượng anthocyanin trong nguyên liệu.

#### 3.2 Tối ưu hóa quá trình trích ly anthocyanin từ vỏ khoai lang tím Nhật

Việc tối ưu hóa quá trình trích ly anthocyanin được thực hiện bằng phương pháp bề mặt đáp ứng. Ba nhân tố được lựa chọn cho quá trình trích ly là thời gian, nhiệt độ và nồng độ dung môi. Hàm lượng anthocyanin được dùng để đánh giá quá trình trích ly. Kết quả phân tích mức độ tin cậy và phương sai được thể hiện ở Bảng 3. Các giá trị của các nhân tố tuyến tính ( $X_1, X_2, X_3$ ), hai tương tác ( $X_1X_2, X_2X_3$ ), và giá trị bậc hai ( $X_1^2, X_2^2, X_3^2$ ) đều thể hiện mức độ ý nghĩa tin cậy cao ( $p < 0,05$ ) khi tham gia vào mô hình, ngoại trừ tương tác  $X_2X_3$  ( $p > 0,05$ ). Giá trị của mô hình Fisher F-test là 80,3 và giá trị xác suất  $p < 0,01$  (Bảng 4) đã chứng tỏ mô hình thí nghiệm được thiết lập với ý nghĩa thống kê cao.

**Bảng 3: Kết quả phân tích thống kê ANOVA mức độ ý nghĩa của các hệ số hồi quy cho quá trình trích ly**

Nguồn	Tổng bình phương	Độ tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị P
X <sub>1</sub>	0,000301	1	0,000301	9,26	0,0082
X <sub>2</sub>	0,003038	1	0,003038	92,46	0,0000
X <sub>3</sub>	0,000156	1	0,000156	4,77	0,0452
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	0,010152	1	0,010152	312,36	0,0000
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0,000432	1	0,000432	13,29	0,0024
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	0,000919	1	0,000919	28,27	0,0001
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	0,007813	1	0,007813	240,41	0,0000
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0,000108	1	0,000108	3,32	0,0883
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0,007445	1	0,007445	229,07	0,0000

Sự phù hợp của mô hình còn được kiểm tra qua hệ số xác định tương quan R<sup>2</sup>. Theo Guan và Yao (2008), mô hình tương quan tốt khi hệ số xác định tương quan R<sup>2</sup> lớn hơn 0,8. Mô hình tương quan xây dựng từ thí nghiệm đã thỏa điều kiện với thông số R<sup>2</sup> cao (R<sup>2</sup> = 0,94) cho thấy tỷ lệ cao các biến phụ thuộc được giải thích bằng các dữ liệu (Varnalis *et al.*, 2004). Khoảng 6% của tổng số biến không được giải thích bằng mô hình hồi quy

này. Hơn nữa, giá trị R<sup>2</sup> của mô hình cho thấy sự tương thích khá cao giữa các giá trị thực nghiệm và các giá trị dự đoán. Điều này cũng chứng tỏ rằng mô hình phù hợp với các đại diện đầy đủ của các mối quan hệ thực sự giữa các biến được lựa chọn. Giá trị Lack of fit của mô hình là 0,0617 (>0,05) và cũng đồng thời cho thấy sự tương thích của mô hình với thực nghiệm (Montgomery, 1984).

**Bảng 4: Phân tích phương sai (ANOVA) của phương trình hồi quy cho quá trình trích ly anthocyanin**

Nguồn	Tổng bình phương	Độ tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị P
Mô hình (Model)	0,0359	8	0,0045	80,3	0,0000
Số dư (Residual)	0,0025	45	0,00006		
Không phù hợp (Lack of fit)	0,0019	28	0,00007	2,15	0,0617
Sai số thuần (Pure error)	0,0005	17	0,00003		
Tổng (Total) (corr.)	0,0384	53			
R <sup>2</sup> = 0,94		Adjusted (Adj.) R <sup>2</sup> = 0,93		Standard Error of Est. = 0,0057	

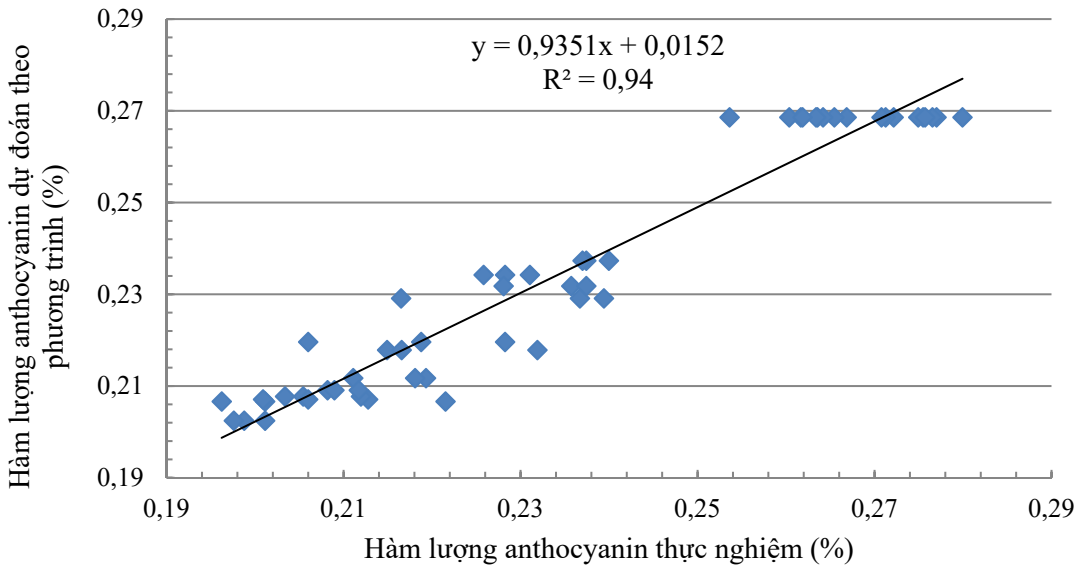
Các giá trị sai số chuẩn (standard error) thấp được ghi nhận trong các giá trị intercept và tất cả các thành phần tham gia vào mô hình (model terms) cho thấy sự tương thích cao của mô hình được xây dựng. Phương trình hồi quy cuối cùng biểu diễn mối quan hệ giữa hàm lượng anthocyanin và 8 biến phụ thuộc (theo các nhân tố được mã hóa) cho mô hình bậc hai bề mặt đáp ứng Box-Behnken cho quá trình trích ly được mô tả trong phương trình 2 với hệ số xác định tương quan R<sup>2</sup> = 0,94.

Trong đó, Y là hàm lượng anthocyanin (%), X<sub>1</sub> là nhiệt độ (°C), X<sub>2</sub> là nồng độ ethanol (%) và X<sub>3</sub> là thời gian (phút).

Kết quả xử lý cho thấy các nhân tố nhiệt độ, nồng độ ethanol và thời gian và tương tác giữa các nhân tố đều ảnh hưởng đến quá trình trích ly anthocyanin từ vỏ khoai lang tím. Phương trình 2 thể hiện được sự tương thích của các giá trị thực nghiệm và dự đoán, hàm lượng anthocyanin thu được từ thực nghiệm và tính toán theo phương trình 2 với hệ số xác định tương quan cao (R<sup>2</sup> = 0,94) (Hình 2).

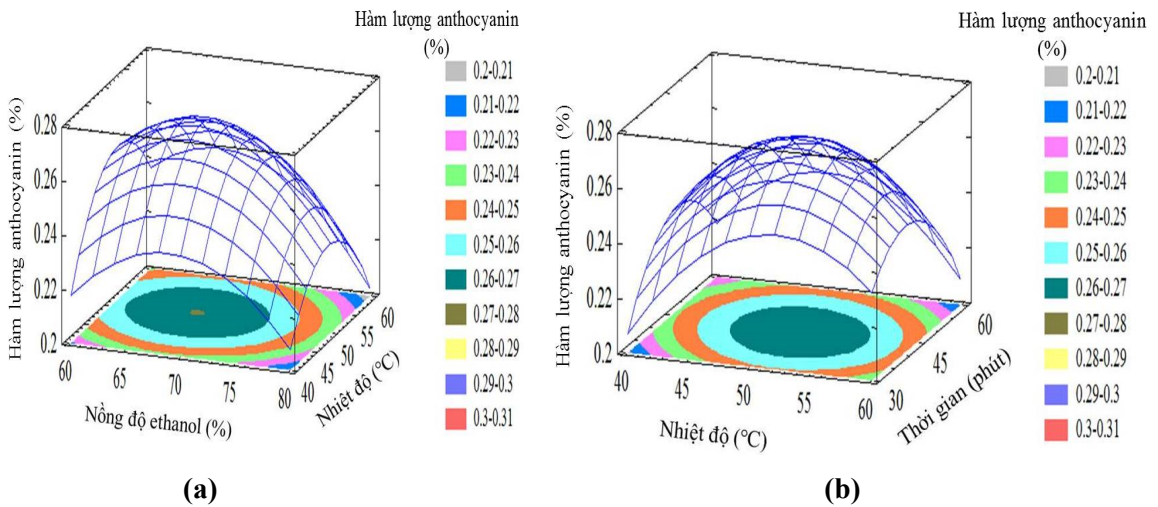
$$Y = -2,117 + 0,035X_1 + 0,036 X_2 + 0,012X_3 - 0,0003 X_1^2 - 0,00024X_2^2 - 0,0001X_3^2 - 0,000062X_1X_2 - 0,00006 X_1X_3 \quad (2)$$





**Hình 2: Tương quan giữa hàm lượng anthocyanin thực nghiệm và tính toán theo phương trình 2**

Đồ thị bề mặt đáp ứng thể hiện mối tương tác giữa các nhân tố nhiệt độ, nồng độ ethanol và thời gian trích ly (đồ thị Hình 3 a và b).



**Hình 3: Mô hình bề mặt đáp ứng cho quá trình trích ly anthocyanin từ vỏ khoai lang tím**

(a) Ảnh hưởng của nồng độ ethanol, nhiệt độ và tương tác của chúng (thời gian trích ly 45 phút) đến hàm lượng anthocyanin

(b) Ảnh hưởng của nhiệt độ, thời gian và tương tác của chúng (nồng độ ethanol 70%) đến hàm lượng anthocyanin.

Hình 3a cho thấy, mặt đáp ứng đại diện cho các tác động của nhiệt độ, nồng độ ethanol và tương tác lẫn nhau của chúng đến hàm lượng anthocyanin ở thời gian trích ly 45 phút. Kết quả cũng thể hiện rõ nồng độ ethanol ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng anthocyanin khi trích ly. Khi tăng nồng độ ethanol trong dung môi từ 60 - 70% thì anthocyanin tăng. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ ethanol đến 80% thì anthocyanin có xu hướng giảm. Nghiên cứu của Frank *et al.* (1999) biểu thị độ tan của chất tan tăng khi hòa tan trong

dung môi kết hợp. Sự thay đổi nồng độ ethanol sẽ làm thay đổi các tính chất của dung môi như độ nhớt và hằng số điện môi. Anthocyanin ở pH thấp tồn tại dạng cationtan tốt trong các dung môi phân cực, khi nồng độ ethanol quá cao sẽ làm giảm khả năng hòa tan của anthocyanin. Cacace và Mazza (2003) cho rằng, nồng độ ethanol từ 67 đến 95% làm giảm hệ số khuếch tán của anthocyanin vào dung môi hòa tan. Tương tự, nhiệt độ trích ly tác động mạnh đến hàm lượng anthocyanin, hàm lượng anthocyanin đạt cao ở 50°C. Với nhiệt độ từ

40 - 50°C và 50 - 60°C, hàm lượng anthocyanin trích ly có xu hướng giảm. Như vậy, khi nhiệt độ tăng sẽ làm giảm độ nhớt và tăng vận tốc khuếch tán (Cacace và Mazza, 2002), tạo điều kiện thuận lợi cho các chất từ nguyên liệu vào trong dung môi. Tuy nhiên, ở nhiệt độ cao các nhóm OH trong phân tử anthocyanin kém ổn định và dễ bị thoái hóa, làm cho hàm lượng anthocyanin giảm.

**Hình 3b** mô tả bề mặt đáp ứng cho tác động của nhiệt độ, thời gian ở một nồng độ ethanol 70%. Thời gian trích ly ảnh hưởng đến hàm lượng anthocyanin. Khi thời gian trích ly từ 30 - 45 phút hàm lượng anthocyanin tăng, thời gian tăng đến 60 phút hàm lượng anthocyanin giảm. Thời gian kéo dài làm tăng khả năng tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi, các hoạt chất dễ dàng di chuyển ra môi trường hơn. Tuy nhiên, nếu thời gian trích ly quá dài, anthocyanin trong dung môi cũng dễ bị oxy hóa bởi các yếu tố nhiệt độ, ánh sáng và oxy không khí (Tan *et al.*, 2013)

Các giá trị tối ưu của các biến độc lập trong quá trình trích ly cũng được xác định từ phần mềm STATGRAPHICS. Các điều kiện tối ưu cho giai đoạn này là  $X_1=51^\circ\text{C}$ ,  $X_2=68\%$  (v/v) và  $X_3=44$  phút. Hàm lượng anthocyanin dự đoán theo các điều kiện nêu trên là  $Y=0,2702\%$ . Để kiểm định các giá trị dự đoán của mô hình, các điều kiện tối ưu được thực hiện độc lập với ba lần lặp lại và giá trị trung bình của hàm lượng anthocyanin đạt được là 0,274%, tương đương với giá trị ước tính của mô hình được thiết lập.

Kết quả thu nhận được tương đối khác so với nghiên cứu của Li *et al.* (2013), nhóm tác giả cho thấy khi trích ly anthocyanin từ khoai lang với nhiệt độ 60°C, thời gian 60 phút và nồng độ ethanol 80%, hàm lượng anthocyanin thu được sẽ vào khoảng 11,636 mg/g (0,116%). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Huang *et al.* (2010), trích ly anthocyanin từ khoai lang tím ở nhiệt độ khoảng 50°C với thời gian 45 phút. Amelia *et al.* (2013) trích ly anthocyanin từ quả chòi mòi sử dụng ethanol 70%. Vanini và Hirata (2009) trích ly anthocyanin từ quả nho đạt cao nhất khi sử dụng nồng độ ethanol 70%.

#### 4 KẾT LUẬN

Phương pháp sấy nguyên liệu làm cải thiện khả năng trích ly so với trích từ nguyên liệu từ nguyên liệu tươi nhưng không hiệu quả bằng phương pháp hấp và sấy kết hợp. Phương pháp bề mặt đáp ứng và mô hình Box-Behnken được sử dụng hiệu quả để tính toán và dự đoán hàm lượng anthocyanin trong dịch màu trích ly. Chất màu tự nhiên anthocyanin sau trích ly đảm bảo tính ổn định và có khả năng ứng dụng tốt trong chế biến thực phẩm

thay vì sử dụng các nhóm màu tổng hợp chưa rõ nguồn gốc trong tình hình sản xuất thực phẩm hiện nay.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Amelia, F., Afnani, G.N., Musfiroh, A., Fikriyani, A.N., Ucce, S. and Murrkumihadi, M., 2013. Extraction and stability test of anthocyanin from Buni fruits (*Antidesma Bunius L*) as an alternative natural and Safe Food Colorants. *J. Food Pharm. Sci.* 1:49-53.
- Baleiras-Couto, M.M. and Eiras-Dias, J.E., 2006. Detection and identification of grape varieties in must and wine using nuclear and chloroplast microsatellite markers. *Analytica Chimica Acta.* 563: 283-291.
- Box, G.E.P. and Wilson, K.B., 1951. On the experimental attainment of optimum conditions (with discussion). *Journal of the Royal Statistical Society Series B.* 13 (1): 1-45.
- Cacace, J.E. and Mazza, G., 2002. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering.* 59: 379-389.
- Cacace, J.E. and Mazza, G., 2003. Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol. *Journal of Food Science.* 68: 209-215.
- Cevallos-Casals, B.A. and Cisneros-Zevallos, L., 2003. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry.* 86: 69-77.
- Dương Thị Phương Liên và Nguyễn Nhật Minh Phương. 2014. Ảnh hưởng của biện pháp xử lý nguyên liệu đến khả năng trích ly và sự ổn định anthocyanin từ bắp cải tím (*Brassica oleracea*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, (1): 1-7.
- Francis, F., 1989. Food colourants: Anthocyanins. *Cr. Rev. Food Sci. Nutri.* 28:273-314.
- Frank, T.C., Downey J.R. and Gupta S.K., 1999. Quickly screen solvents for organic solids. *Chem Eng Prog Dec.* 41-61.
- Gross J., 1987. *Pigments in Fruits.* London: Academic Press.
- Guan, X. and Yao, H., 2008. Optimization of viscozyme L-assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology. *Food Chemistry.* 106: 345-351.
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. 2000. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. Unit F2. 2, Ch. 2. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry.* S. King, M. Gates & L. Scalettar (Ed.). New York.
- Huang, C. L., Liao. W. C., Chan. C. F., and Lai. Y. C., 2010. Optimization for the anthocyanin extraction from purple sweet potato roots. Using

- response surface methodology. J. Taiwan Agric. Res. 59:143-150
- Huỳnh Thị Kim Cúc, Phạm Châu Huỳnh, Nguyễn Thị Lan, Trần Khôi Nguyên, 2005. Xác định hàm lượng anthocyanin trong một số nguyên liệu rau quả bằng phương pháp pH vi sai. Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Đà Nẵng, số 4(12).
- Li, J., Zhang, L. and Liu, Y., 2013. Optimization of extraction of natural pigment from purple sweet potato by Response Surface Methodology and its Stability. Journal of Chemistry. Volume 2013.
- Macz-Pop, G.A., Rivas-Gonzalo, J.C., Pe' rez-Alonso, J.J. and Gonza'lez-Parama's, A.M., 2006. Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (*Phaseolus vulgaris L.*). Food Chemistry. 94:448-456.
- Matsui, T., Ueda, T., Oki, T., Sugita, K., Terahara, N. and Matsumo-to, K., 2001. Alpha-Glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins. 2. alpha-Glucosidase inhibition by isolated acylated anthocyanins. J. Agric Food Chem. 49 (4): 1952-1956.
- Mazza, G. and Minitiati, E., 1993. Introduction: Anthocyanin in Fruits, Vegetables and Grains. CRC Press, Boca Raton, Florida. pp: 1-28.
- Montgomery, D.C., 1984. Design and analysis of experiments. 2<sup>nd</sup>. New York: John Wiley and Sons.
- Nguyễn Thị Thu Thủy, 2008. Hóa học Thực phẩm. NXB Trường Đại học Cần Thơ.
- Priecina, L and Karlina, D. 2013. Total polyphenol, flavonoid content and antiradical activity of celery, dill, parsley, onion and garlic dried in conventive and Microwave-vacuum dryers. 2<sup>nd</sup> International Conference on Nutrition and Food Sciences. IPCBEE, Vol.53.
- Stanciu, G., Lupsor, S., Sava, C. and Zagan, S., 2010. Spectrophotometric study on stability of anthocyanins extracts from black grapes skins. Ovidius University Annals of Chemistry, 21 (1): 101-104.
- Tan, M. C., Tan, C. P., & Ho, C. W. 2013. Effects of extraction solvent system, time and temperature on total phenolic content of henna (*Lawsonia inermis*) stems. International Food Research Journal, 20(6), 3117-3123.
- Vanini, L.S. and Hirata, T.A., 2009. Extraction and stability of anthocyanins from the Benitaka grape cultivar (*Vitis vinifera L.*). Braz. J. Food Technol. 213-219.
- Varnalis, A.I., Brenan, J.G., Macdougall, D.B. and Gilmour, S.G., 2004. Optimization of high temperature puffing of potato cubes using response surface methodology. J Food Eng. 61:153-163.
- Wrolstad, R.E., Durst, R.W. and Lee, J., 2005. Tracking color and pigment changes in anthocyanin product. Trends Food Sci. Technol.16: 423-428.
- Xiu-li, H.E., Xue-li L.I., Yuan-ping LV, Qiang H.E. 2015. Composition and color stability of anthocyanin-based extract from purple sweet potato. Food Sci. Technol, Campinas, 35(3): 468-473, Jul.-Set.
- Yang, J and Gadi, R.L., 2008. Effect of steaming and dehydration on anthocyanin, antioxidant activity, total phenol and color characteristics of purple-fleshed sweet potatoes (*Ipomea batatas*). American Journal of Food Technology, 3(4): 224-234.
- Yoshimoto, M., Okuno, S., Yamaguchi, M. and Yamakawa, O., 2001. Antimutagenicity of deacylated anthocyanins in purple-fleshed sweetpotato. Biosci Biotechnol Biochem. 65 (7): 1652-1655.