

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN THỦY PHÂN ĐẾN KHẢ NĂNG TRÍCH LY CATECHIN TRONG VỎ LỤA HẠT ĐIỀU VỚI SỰ HỖ TRỢ CỦA CÁC CHẾ PHẨM ENZYME VISCOZYME L VÀ PECTINEX ULTRA-L

Hoàng Văn Thành¹, Nguyễn Xuân Hoàn¹,
Nguyễn Huỳnh Đạt², La Thanh Tùng², Phạm Văn Hùng^{2*}

¹Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

²Trường Đại học Quốc tế, ĐHQG TP.HCM

*E-mail: pvhung@hcmiu.edu.vn

Ngày nhận bài: 02/12/2022; Ngày chấp nhận đăng: 09/01/2023

TÓM TẮT

Nghiên cứu này với mục tiêu tìm ra điều kiện thủy phân thích hợp để thu được hàm lượng catechin tổng có trong dịch chiết từ vỏ lụa hạt điều cao nhất bằng phương pháp trích ly có hỗ trợ enzyme (EAE: Enzyme-assisted extraction). Hai chế phẩm enzyme khác nhau là Viscozyme L và Pectinex ultra-L được sử dụng với các yếu tố khảo sát gồm: nồng độ enzyme, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, nhiệt độ và thời gian thủy phân. Kết quả nghiên cứu cho thấy khi thủy phân bằng Viscozyme L với các điều kiện nồng độ enzyme 2%; tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:30 (w/v); nhiệt độ 50°C; thời gian 60 phút, hàm lượng catechin tổng tương ứng là $16,09 \pm 0,73$ (g CE/100g chất khô mẫu). Đối với Pectinex ultra-L ở các điều kiện nồng độ enzyme 2%; tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:20 (w/v); nhiệt độ 50°C; thời gian 60 phút hàm lượng catechin tổng đạt được là $19,98 \pm 0,50$ (g CE/100g chất khô mẫu). Ngoài ra, kết quả cũng chỉ ra rằng các hoạt chất sinh học như flavonoid, khả năng bắt gốc tự do 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) của mẫu dịch chiết sử dụng Pectinex ultra-L cao hơn so với khi sử dụng Viscozyme L hay mẫu đối chứng không sử dụng enzyme. Như vậy, kết quả của nghiên cứu này cho thấy phương pháp trích ly có hỗ trợ enzyme Pectinex ultra-L cho hiệu quả trích ly catechin từ vỏ lụa hạt điều cao hơn so với phương pháp có hỗ trợ Viscozyme L hoặc không có enzyme.

Từ khóa: Vỏ lụa hạt điều, catechin, viscozyme L, pectinex ultra-L, flavonoid, polyphenol.

1. MỞ ĐẦU

Hạt điều (*Anacardium occidentale* L.) là một trong những mặt hàng nông sản của Việt Nam được sản xuất và xuất khẩu lớn nhất thế giới. Ngành điều luôn giữ vững ngôi vị đứng đầu thế giới về xuất khẩu nhiều năm liền, các mặt hàng về hạt điều luôn đa dạng về chủng loại. Những năm qua sự chuyển dịch về cơ cấu sản xuất cũng diễn ra mạnh mẽ, cùng với đó là các phế phụ phẩm của quá trình sản xuất cũng gia tăng. Trong quá trình sản xuất hạt điều nhân, lượng vỏ lụa hạt điều được thải ra khá lớn. Các hướng xử lý loại phế phụ phẩm này hiện nay chủ yếu là làm thức ăn gia súc, phân bón sinh học, làm chất đốt hoặc thải bỏ ra môi trường. Vỏ lụa hạt điều chiếm từ 1 - 3% trọng lượng của hạt và là một nguồn giàu chất tannin dạng cao phân tử bao gồm các chất polyphenol [1]. Hàm lượng các chất tanin, polyphenol, catechin trong vỏ lụa hạt điều được tìm thấy cao hơn trà xanh và socola đen [2]. Đây là những hợp chất có khả năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn, chống viêm và chống dị ứng [3]. Nhiều nghiên cứu

đã chỉ ra rằng các gốc tự do trong cơ thể sống gây ra quá trình oxy hóa đối với các phân tử khác nhau như lipid, protein, axit nucleic và chúng tham gia vào các giai đoạn phát triển của nhiều bệnh mãn tính. Bên cạnh đó, việc hình thành các gốc oxy hóa hoạt động có nguồn gốc từ oxy hay còn gọi là các oxy phản ứng ROS (Reactive oxygen species) cũng ảnh hưởng đến sức khỏe con người. Nồng độ ROS thấp có vai trò trong việc truyền tín hiệu nội bào và bảo vệ chống lại các tác nhân gây bệnh, trong khi lượng ROS cao hơn là nguyên nhân của một số bệnh ở người như lão hóa, ung thư, xơ vữa động mạch, bệnh tiểu đường, thiếu máu cục bộ, suy giảm chức năng miễn dịch và nội tiết [4]. Chất chống oxy hóa là những chất làm trì hoãn hoặc ngăn cản quá trình oxy hóa các chất nên có thể oxy hóa tế bào và các loại phản ứng nitơ (RNS) [5]. Các chất chống oxy hóa tự nhiên từ thực vật là nguồn cung cấp để làm chậm quá trình oxy hóa gây ra bởi ROS [6]. Do đó, ngày càng có nhiều sự quan tâm đến các chất chống oxy hóa tự nhiên có nguồn gốc thực vật giúp cải thiện sức khỏe con người và phòng chống bệnh tật [7]. Các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học nằm chủ yếu ở thành tế bào và liên kết với các thành phần chính của thành tế bào như cellulose, hemicelluloses, và lignin [8]. Vì vậy, các enzyme cellulase, hemicellulases, xylanases và pectinases thường được sử dụng để phá hủy các polyme thành tế bào nhằm giải phóng các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học [9].

Các dung môi hữu cơ được sử dụng phổ biến để trích ly catechin và các hoạt chất sinh học khác ra khỏi tế bào thực vật [10]. Tuy nhiên, phương pháp sử dụng dung môi hữu cơ có nhược điểm là không thân thiện với môi trường. Phương pháp trích ly có hỗ trợ enzyme cũng được nghiên cứu rộng rãi nhằm thủy phân các hợp chất polyme ở thành tế bào, tăng hiệu quả khuếch tán, lôi kéo các hoạt chất vào trong dung môi thân thiện với môi trường. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là xác định điều kiện thủy phân thích hợp nhằm trích ly tối đa các hợp chất có hoạt tính sinh học có trong vỏ lụa hạt điều khi sử dụng phương pháp trích ly có hỗ trợ enzyme và so sánh hiệu quả trích ly của chế phẩm Viscozyme L và Pectinex ultra-L đối với quá trình trích ly catechin từ vỏ lụa hạt điều.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Nguyên liệu: Vỏ lụa hạt điều được sử dụng trong nghiên cứu này có nguồn gốc từ tỉnh Bình Phước, Việt Nam. Mẫu thu nhận từ cơ sở sản xuất hạt điều vận chuyển về phòng thí nghiệm, tiến hành sơ chế để loại bỏ tạp chất. Mẫu được nghiền nhỏ với tốc độ 3000 vòng/phút trong thời gian 1 phút bằng thiết bị nghiền khô (Cosuai, Trung Quốc), mẫu sau khi nghiền được rây qua rây có kích thước 1 mm. Các mẫu được chia nhỏ, đựng trong túi PA và được hút chân không. Mẫu được bảo quản trong tủ đông -20°C .

Hóa chất: Chế phẩm enzyme Viscozyme L và enzyme Pectinex ultra-L của hãng Novozymes; Folin-Ciocalteu (Merch-Đức); DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) xuất xứ Sigma-Mỹ; chuẩn catechin (Sigma-Mỹ), vanillin (Sigma-Mỹ); chuẩn acid gallic (Sigma-Mỹ); chuẩn Rutin (Đức).

2.2. Phương pháp trích ly có hỗ trợ enzyme

Trong nghiên cứu này, phương pháp trích ly có hỗ trợ enzyme được sử dụng để trích ly hàm lượng catechin với hai chế phẩm enzyme khác nhau là Viscozyme L và Pectinex ultra-L và dung môi là nước. Lượng mẫu mỗi lần sử dụng để trích ly là $1,00 \pm 0,01$ g. Các điều kiện thử nghiệm gồm tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:10; 1:20; 1:30; 1:40 (w/v), nồng độ enzyme là 1, 2, 3, 4% (v/w), nhiệt độ là 30, 40, 50, 60°C và thời gian là 30, 60, 90, 120 phút. Các mẫu được tiến hành trích ly trên máy lắc ổn nhiệt hình nón (Confido-S50H, Hàn Quốc) với tốc độ

vòng cố định là 400 vòng/phút. Kết thúc quá trình thủy phân bằng cách nâng nhiệt lên 90°C trong khoảng thời gian 10 phút để bất hoạt enzyme. Sau đó mẫu được ly tâm ở tốc độ 5500 vòng/phút ở nhiệt độ 4°C trong khoảng thời gian 15 phút bằng máy ly tâm (Hermle, Z216, Đức). Mẫu sau đó tiến hành lọc loại bỏ cặn và định mức lên 50 mL trước khi đem đi phân tích.

2.3. Phương pháp xác định hàm lượng catechin tổng

Hàm lượng catechin được xác định theo phương pháp của Sun và cộng sự [11] với một vài hiệu chỉnh nhỏ cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Lấy 1,0 mL dịch chiết vỏ lụa hạt điều (pha loãng đến nồng độ phù hợp) trộn với 2,5 mL hỗn hợp Vanilin (1%) và H₂SO₄ (9N). Hỗn hợp được trộn đều và ủ ở 30°C trong bóng tối trong thời gian 15 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ quang học bằng máy quang phổ (PhotoLab 7600 UV-Vis, WTW, Đức) ở bước sóng 500 nm. Chất chuẩn catechin được sử dụng để xây dựng đường chuẩn với các nồng độ khác nhau (0-100 µg/mL). Từ phương trình đường chuẩn tính toán hàm lượng catechin thu được.

2.4. Phương pháp xác định hàm lượng phenolic tổng

Hàm lượng polyphenol tổng số được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu như công bố bởi Fu và cộng sự [12]. Dịch chiết vỏ lụa hạt điều (0,5 mL) ở nồng độ pha loãng phù hợp được phối trộn với 2,5 mL dung dịch Folin-Ciocalteu (đã pha loãng 10 lần) và được đồng nhất bằng máy Vortex (Velp Scientifica, Ý). Sau khi để dung dịch phản ứng trong 4 phút, tiếp tục thêm 2 mL dung dịch Na₂CO₃ 7,5% và lắc đều. Để dung dịch ở nhiệt độ phòng trong bóng tối trong thời gian 2h. Sau đó, dung dịch được đo độ hấp thụ quang học ở bước sóng 760 nm bằng máy quang phổ (PhotoLab 7600 UV-Vis, WTW, Đức). Gallic acid được dùng làm chất chuẩn. Mẫu trắng cũng tiến hành tương tự chỉ thay 0,5 mL mẫu bằng nước cất.

2.5. Phương pháp xác định hàm lượng flavonoid tổng

Hàm lượng flavonoid tổng được xác định theo phương pháp của Hùng và Morita [13], với một vài hiệu chỉnh nhỏ cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Dịch chiết vỏ lụa hạt điều (0,5 mL) được trộn với 1,5 mL ethanol 95%, thêm 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL CH₃COOK 1 M, và 5,0 mL nước cất. Hỗn hợp được trộn đều và ủ ở nhiệt độ phòng trong bóng tối trong 30 phút. Độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 415 nm. Hàm lượng flavonoid được tính bằng cách sử dụng đường chuẩn của dung dịch rutin và được biểu thị bằng microgam rutin đương lượng (RE) trên một gam mẫu.

2.6. Phương pháp xác định khả năng khử gốc tự do DPPH

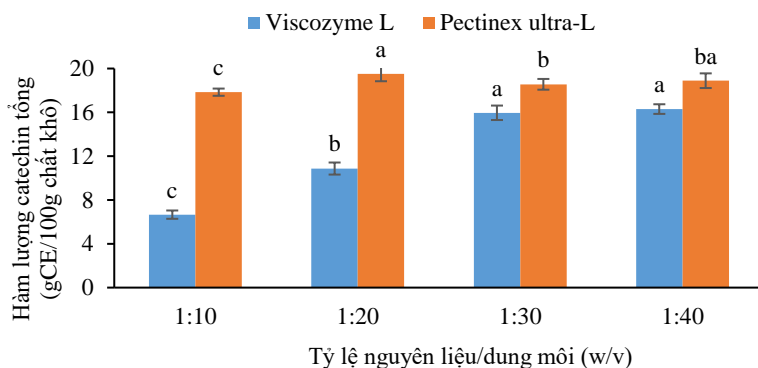
Khả năng bắt gốc tự do DPPH được xác định dựa theo phương pháp của Hùng và Morita [13]. Lấy 0,1 mL dịch chiết trộn với 3,9 mL dung dịch DPPH. Mẫu sau đó được ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau đó tiến hành đo ở bước sóng 517 nm.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến hàm lượng catechin tổng của dịch chiết vỏ lụa hạt điều

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng tỷ lệ nguyên liệu/dung môi không chỉ ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly mà còn ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế của quá trình trích ly. Kết quả nghiên cứu ở Hình 1 cho thấy khi tăng tỷ lệ trích ly nguyên liệu/nước từ 1:10 đến 1:20 cho hàm lượng catechin tổng tăng lên đáng kể, hàm lượng catechin tăng từ $13,57 \pm 0,23$ (g CE/100g chất khô)

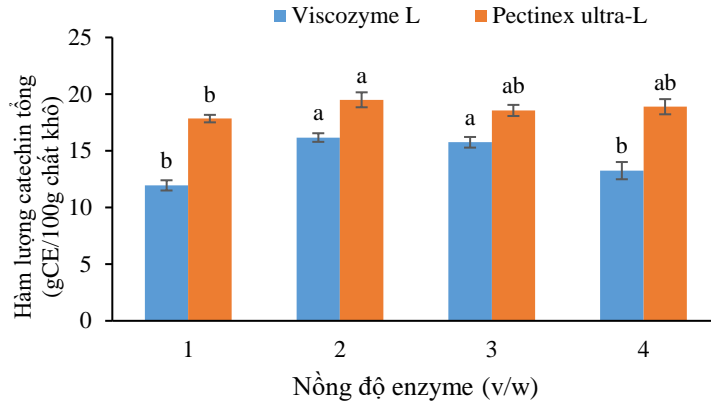
lên $19,18 \pm 0,26$ (g CE/100g chất khô) khi sử dụng enzyme Pectinex ultra-L. Nếu tiếp tục tăng lên ở các tỷ lệ 1:30 và 1:40 thì hàm lượng catechin có xu hướng giảm hoặc không có nghĩa về mặt thống kê. Đối với enzyme Viscozyme L, hàm lượng catechin tăng dần từ tỷ lệ 1:10 đến 1:40, hàm lượng catechin cao nhất tại tỷ lệ 1:30 và 1:40 lần lượt là $15,96 \pm 0,66$ (g CE/100g chất khô) và $16,30 \pm 0,44$ (g CE/100g chất khô). Theo Cacace và Mazza (2003) thì quá trình hòa tan các hoạt chất sinh học vào dung môi là quá trình vật lý. Khi lượng dung môi tăng, tạo cơ hội các hoạt chất sinh học dễ tiếp xúc với dung môi dẫn đến khả năng thẩm thấu cao hơn và một lượng lớn hoạt chất sinh học có thể hòa tan cao hơn [14]. Do đó, nếu tỷ lệ nguyên liệu/dung môi tăng lên thì hàm lượng catechin tổng tăng lên. Tuy nhiên, nếu lượng dung môi quá cao sẽ làm loãng nồng độ cơ chất dẫn đến làm giảm khả năng thủy phân của enzyme dẫn đến các hoạt chất chiết tách được cũng giảm xuống. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy hàm lượng catechin trích ly ở các tỷ lệ 1:30 và 1:40 là không khác nhau có nghĩa khi sử dụng enzyme Viscozyme L hoặc Pectinex ultra-L. Như vậy, tỷ lệ 1:20 và 1:30 tương ứng với các enzyme Pectinex ultra-L và Viscozyme L là thích hợp nhất và được sử dụng để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến hàm lượng catechin tổng của dịch chiết vỏ lụa hạt điều. Các cột kết quả trong cùng một dãy thí nghiệm có các chữ cái giống nhau là không có sự khác biệt có ý nghĩa.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến hàm lượng catechin tổng của dịch chiết vỏ lụa hạt điều

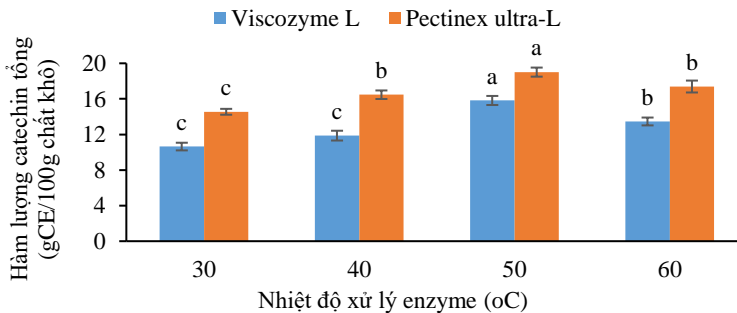
Kết quả nghiên cứu cho thấy khi tăng nồng độ enzyme thì hàm lượng catechin có trong dịch chiết sau trích ly tăng lên. Khi sử dụng hai chế phẩm enzyme Viscozyme L và Pectinex ultra-L hỗ trợ trích ly, hàm lượng catechin trong dịch chiết sau trích ly tăng lên trong khoảng nồng độ enzyme từ 1 - 2% (v/w). Đối với enzyme Viscozyme L, hàm lượng catechin thay đổi từ $11,95 \pm 0,45$ (g CE/100g chất khô) đến $16,17 \pm 0,38$ (g CE/100g chất khô) ở nồng độ enzyme tương ứng là 1% và 2%. Cũng ở khoảng nồng độ này của enzyme Pectinex ultra-L, hàm lượng catechin thay đổi từ $17,84 \pm 0,33$ (g CE/100g chất khô) đến $19,5 \pm 0,66$ (g CE/100g chất khô) (Hình 2). Điều này cho thấy hiệu quả của quá trình trích ly tăng khi nồng độ enzyme tăng là do quá trình enzyme làm tăng quá trình phá vỡ cấu trúc cellulose và pectin trong tế bào, kéo theo hàm lượng catechin được giải phóng ra nhiều hơn. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng nồng độ enzyme lên 3% đến 4% hàm lượng catechin trong dịch chiết sau trích ly không khác nhau có nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$). Từ kết quả nghiên cứu so sánh khả năng thủy phân các chất cao phân tử ở thành vỏ tế bào nhằm giải phóng các chất có hoạt tính sinh học (Hình 2) thấy rằng sử dụng enzyme Pectinex ultra-L nhằm hỗ trợ trích ly catechin từ vỏ lụa hạt điều có hiệu quả hơn so với enzyme Viscozyme L trong cùng điều kiện xử lý.



Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến hàm lượng catechin tổng của dịch chiết vỏ lụa hạt điều. Các cột kết quả trong cùng một dãy thí nghiệm có các chữ cái giống nhau là không có sự khác biệt có ý nghĩa.

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân đến hàm lượng catechin tổng của dịch chiết vỏ lụa hạt điều

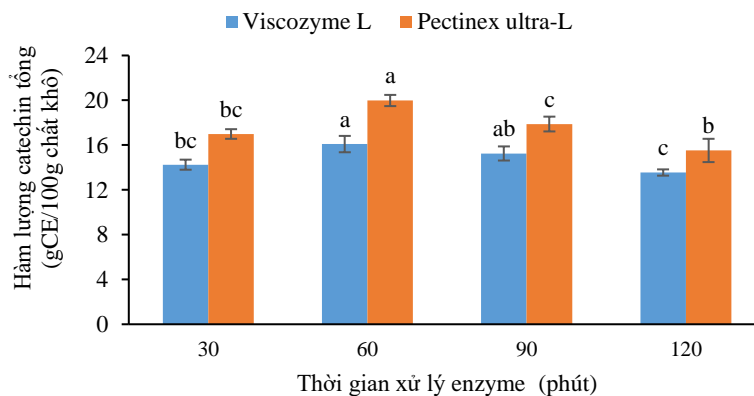
Nhiệt độ ảnh hưởng quan trọng lên quá trình khuếch tán phân tử và làm giảm độ nhớt của dung dịch khi tiến hành trích ly. Từ kết quả thí nghiệm cho thấy trong khoảng nhiệt độ từ 30°C đến 50°C khi sử dụng enzyme Pectinex ultra-L hoặc Viscozyme L đều cho hàm lượng catechin tổng tăng lên khi nhiệt độ tăng (Hình 3). Theo kết quả trong Hình 3, enzyme Pectinex ultra-L hỗ trợ trích ly được hàm lượng catechin cao nhất là $16,47 \pm 0,48$ (g CE/100g chất khô) ở nhiệt độ 50°C. Ở điều kiện nhiệt độ xử lý này khi sử dụng enzyme Viscozyme L hàm lượng catechin đạt giá trị cao nhất $15,82 \pm 0,48$ (g CE/100g chất khô). Khi xử lý ở các mức nhiệt độ cao hơn hoặc thấp hơn thì hàm lượng catechin trích ly được thấp hơn. Như vậy, khi tăng nhiệt độ xử lý sẽ làm tăng khả năng hòa tan và khuếch tán của các hợp chất trích ly, giảm độ nhớt của dung dịch, tăng khả năng truyền khối và xâm nhập của dung môi vào trong tế bào [15] do nhiệt độ cao có thể làm yếu các liên kết ở màng tế bào góp phần giúp dung môi dễ dàng xuyên qua màng tế bào và tiếp xúc lõi kéo các hoạt chất, kết quả làm tăng khả năng trích ly [8]. Mặt khác, ở vùng nhiệt độ tối thích enzyme sẽ tăng hoạt lực, làm tăng tốc độ phản ứng nên các hoạt chất sẽ được chiết tách nhiều hơn. Khi xử lý ở nhiệt độ cao, enzyme không còn hoạt động trong vùng tối thích dẫn đến khả năng xúc tác cho các phản ứng thủy phân giảm xuống và hiện tượng này không thuận nghịch. Do vậy, ở nhiệt độ 50°C là nhiệt độ tối thích để enzyme Viscozyme L và Pectinex ultra-L hoạt động hiệu quả nên cho hàm lượng catechin trích ly được cao hơn ở các mức nhiệt độ khác.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân đến hàm lượng catechin tổng của dịch chiết vỏ lụa hạt điều. Các cột kết quả trong cùng một dãy thí nghiệm có các chữ cái giống nhau là không có sự khác biệt có ý nghĩa.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng catechin tổng của dịch chiết vỏ lụa hạt điều

Dưới tác dụng của các phản ứng bởi enzyme trước hết các liên kết trong cơ chất bị phân cắt, sau đó sản phẩm trích ly được tách ra khỏi cơ chất và khuếch tán vào dung dịch. Hàm lượng các chất trích ly được nhiều hay ít phụ thuộc vào khoảng thời gian mà tại đó enzyme có thể hoạt động hiệu quả nhất.



Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng catechin tổng của dịch chiết vỏ lụa hạt điều. Các cột kết quả trong cùng một dãy thí nghiệm có các chữ cái giống nhau là không có sự khác biệt có ý nghĩa.

Kết quả ở Hình 4 cho thấy khi thời gian tăng thì hàm lượng catechin trích ly được tăng lên. Tại mốc thời gian 30 phút khi sử dụng enzyme Pectinex ultra-L để thủy phân hàm lượng catechin tổng là $16,99 \pm 0,43$ (g CE/100g chất khô), tuy nhiên hàm lượng catechin tổng đạt giá trị cao nhất tại thời gian 60 phút là $19,98 \pm 0,50$ (g CE/100g chất khô). Trong khi đó, ở hai mốc thời gian này enzyme Viscozyme L có hàm lượng catechin thấp hơn tương ứng là $14,25 \pm 0,45$ (g CE/100g chất khô) và $16,09 \pm 0,73$ (g CE/100g chất khô). Nếu tiếp tục tăng thời gian xử lý lên 90 hoặc 120 phút thì hàm lượng catechin tổng thu được giảm xuống. Kết quả này được giải thích như sau: đối với cả hai enzyme hàm lượng catechin ban đầu tăng lên khi thời gian hoạt động tăng lên cho đến khi đạt mức tối đa và sau đó giảm dần. Như vậy, kết quả cho thấy rằng khi thời gian tăng thì tốc độ phản ứng giữa enzyme và cơ chất tăng, dẫn đến lượng catechin trong dịch trích tăng. Tuy nhiên khả năng xúc tác của enzyme chỉ tăng trong một khoảng thời gian xác định mà ở đó enzyme vẫn còn hoạt động tốt nhất. Khi kéo dài thời gian xử lý cùng với ảnh hưởng của nhiệt độ dẫn đến khả năng thủy phân của enzyme giảm xuống làm giảm khả năng thu hồi các hoạt chất [16]. Ngoài ra, kết quả này có thể do sự thay đổi trong tính chất điện môi của dung môi và sự kết hợp giữa catechin và các hợp chất khác cũng được giải phóng ra ở khoảng thời gian dài hơn.

3.5. Hàm lượng các hoạt chất sinh học và khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết trích ly bằng phương pháp có hỗ trợ của enzyme Viscozyme L và Pectinex ultra-L

Kết quả thể hiện trong Bảng 1 cho thấy khi sử dụng enzyme để thủy phân cho hiệu quả thu hồi các hoạt chất sinh học từ vỏ lụa hạt điều cao hơn so với mẫu đối chứng không sử dụng enzyme. Kết quả cũng cho thấy đối với mẫu khi sử dụng enzyme Pectinex ultra-L để thủy phân cho hàm lượng catechin tổng ($19,98 \pm 0,5$ (gCE/100g chất khô)), hàm lượng flavonoid ($26,27 \pm 0,99$ (gRE/100g chất khô)), khả năng bắt gốc tự do ($37,93 \pm 1,28$) cao hơn so với mẫu sử dụng enzyme Viscozyme L hay mẫu không sử dụng enzyme. Mặc dù vậy, đối với hàm lượng polyphenol tổng trích ly bằng enzyme Viscozyme L cao hơn so với khi sử dụng enzyme

Pectinex ultra-L hay mẫu đối chứng. Hàm lượng polyphenol tổng trích ly được khi sử dụng enzyme Viscozyme L là $20,38 \pm 0,35$ (gGAE/100g chất khô), khi sử dụng enzyme Pectinex ultra-L là $16,49 \pm 0,4$ (gGAE/100g chất khô) và của mẫu đối chứng là $8,84 \pm 0,23$ (gGAE/100g chất khô). Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy khi sử dụng enzyme Pectinex ultra-L để thủy phân cho hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết thể hiện qua khả năng bắt gốc tự do DPPH cao hơn so với enzyme Viscozyme L và mẫu đối chứng. Như vậy, kết quả của nghiên cứu này cho thấy hiệu quả trích ly của mỗi loại enzyme là khác nhau đối với các nguyên liệu và điều kiện xử lý khác nhau [17].

Bảng 1. Hàm lượng các hoạt chất sinh học và khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết vỏ lụa hạt điều bằng phương pháp hỗ trợ enzyme Viscozyme L và Pectinex ultra-L

Xử lý	Hàm lượng			
	Catechin (gCE/100g chất khô)	Flavonoid (gRE/100g chất khô)	Polyphenol (gGAE/100g chất khô)	%DPPH
Mẫu đối chứng	9,87±0,59 ^c	13,74±0,53 ^c	8,84±0,23 ^c	16,52±0,64 ^b
Viscozyme L	16,09±0,73 ^b	18,51±1,07 ^b	20,38±0,35 ^a	15,40±0,25 ^b
Pectinex ultra-L	19,98±0,5 ^a	26,27±0,99 ^a	16,49±0,4 ^b	37,93±1,28 ^a

Kết quả trong cùng một cột theo sau bởi các chữ cái khác nhau là khác nhau có nghĩa

4. KẾT LUẬN

Khi sử dụng enzyme để thủy phân sẽ giúp phá vỡ cấu trúc cellulose và pectin trong tế bào qua đó làm tăng hiệu suất thu hồi của chất trích ly, nhờ đó làm tăng khả năng thu nhận catechin và các hoạt chất sinh học có trong vỏ lụa hạt điều. Kết quả nghiên cứu cho thấy ở cùng một điều kiện xử lý nhưng mỗi chế phẩm enzyme sẽ cho hiệu quả hỗ trợ trích ly khác nhau. Khi trích ly hoạt chất từ vỏ lụa hạt điều, điều kiện phù hợp nhất khi sử dụng enzyme Pectinex ultra-L đó là: tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/20, nồng độ enzyme là 2%, nhiệt độ trích ly là 50°C, thời gian trích ly là 60 phút, còn đối với enzyme Viscozyme L đó là: tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/30 (w/v), nồng độ enzyme là 2%, nhiệt độ trích ly là 50°C, thời gian trích ly là 60 phút. Từ kết quả nghiên cứu trên có thể kết luận sử dụng enzyme Pectinex ultra-L cho hiệu quả trích ly catechin từ vỏ lụa hạt điều cao hơn so với khi sử dụng enzyme Viscozyme L.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc Gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số: 10/2020/TN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Oliveira N. F., Leal R. S., and Dantas T. N. C. - The importance of the cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) coat: a review, *Am. Internet Journals* **2** (4) (2015) 9-41.
2. Mathew A. G. and Parpia H. A. B. - Polyphenols of Cashew Kernel Testa, *J. Food Sci.* **35** (2) (1970) 140–143. doi: 10.1111/j.1365-2621.1970.tb12123.x.
3. Ivanova D., Gerova D., Chervenkov T., and Yankova T. - Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants, *J. Ethnopharmacol* **96** (1-2) (2005) 145-150. doi: 10.1016/j.jep.2004.08.033.

4. Rajendran P., Nandakumar N., Rengarajan T., Palaniswami R., Gnanadhas E.N., Lakshminarasiah U., Gopas J., Nishigaki I. - Antioxidants and human diseases, Clin. Chim. Acta **436** (2014) 332–347. doi: 10.1016/j.cca.2014.06.004.
5. Halliwell B. - Antioxidants in human health and disease, Annu Rev Nut **16** (1996) 33-50.
6. Jacob A. and Burn J. - Oxidative Damage and Defense, The American Journal of Clinical Nutrition **63** (6) (1996) 985S-990S.
7. Noguchi N. and Niki E. - Phenolic antioxidants: A rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis, Free Radic. Biol. Med. **28** (10) (2000) 1538–1546. doi: 10.1016/S0891-5849(00)00256-2.
8. Mohamad M., Ali M. W., and Ahmad A. - Modelling for extraction of major phytochemical components from *Eurycoma longifolia*, J. Appl. Sci. **10** (21) (2010) 2572–2577. doi: 10.3923/jas.2010.2572.2577.
9. Beg Q. K., Kapoor M., Mahajan L., and Hoondal G.S. - Microbial xylanases and their industrial applications: A review, Appl. Microbiol. Biotechnol. **56** (3-4) (2001) 326-338. doi: 10.1007/s002530100704.
10. Wang H., Helliwell K., and You X. - Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC, Food Chemistry **68** (1) (2000) 115-121. doi: 10.1016/S0308-8146(99)00179-X.
11. Sun B., Ricardo-da-Silva J. M., and Spranger I. - Critical Factors of Vanillin Assay for Catechins and Proanthocyanidins, J. Agric. Food Chem. **46** (10) (1998) 4267-4274. doi: 10.1021/jf980366j.
12. Fu L., Xu B.T., Xu X.R., Gan R.Y., Zhang Y., Xia E.Q., Li H.B. - Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits, Food Chem. **129** (2) (2011) 345-350. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.04.079.
13. P. Van Hung and N. Morita - Distribution of phenolic compounds in the graded flours milled from whole buckwheat grains and their antioxidant capacities, Food Chem. **109** (2) (2008) 325-331. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.12.060.
14. Cacace J. E. and Mazza G. - Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries, J. Food Eng. **59** (4) (2003) 379-389. doi: 10.1016/S0260-8774(02)00497-1.
15. Al-Farsi M. A. and Lee C. Y. - Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds, Food Chem. **108** (3) (2008) 977-985. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.12.009.
16. Görgüç A., Bircan C., and Yılmaz F. M. - Sesame bran as an unexploited by-product: Effect of enzyme and ultrasound-assisted extraction on the recovery of protein and antioxidant compounds, Food Chem. **283** (2019) 637–645. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.01.077.
17. Kanu K.J., Kanu J.B., Sandy E.H., Kandeh J.B.A., Mornya P.M.P., Zhou HuiMing - Optimazation of enzymatic hydrolysis of defatted sesame flour by different proteases and their effect on the functional properties of the resulting protein hydrolysate, Am. J. Food Technol. **4** (6) (2009) 226-240.

ABSTRACT

EFFECT OF HYDROLYZATION CONDITIONS ON EXTRACTION CAPACITY OF CATECHIN OF CASHEW NUT TESTA WITH THE SUPPORT OF ENZYME VISCOZYME L AND PECTINEX ULTRA-L PRODUCTS

Hoang Van Thanh¹, Nguyen Xuan Hoan¹,
Nguyen Huynh Dat², La Thanh Tung², Pham Van Hung^{2*}

¹*Ho Chi Minh City University of Food Industry*

²*International University, VNU-HCM*

*E-mail: pvhung@hcmiu.edu.vn

The objectives of this study are to investigate appropriate hydrolyzation conditions to obtain the highest amount of catechin of the cashew nut testa using the enzyme-assisted extraction method. Two types of enzymes, Viscozyme L and Pectinex ultra-L, were used to study with different conditions including enzyme concentration, sample/buffer ratios, temperature, and incubation time. The results indicated that the highest catechin concentration (16.09 ± 0.73 g CE/100g dried sample) was obtained when Viscozyme L was used to assist the extraction with the concentration of 2%, sample/buffer ratio of 1/30, the temperature of 50°C, and incubation time of 60 min. Regarding the Pectinex ultra-L, the appropriate conditions of enzyme concentration of 2%, sample/buffer ratio of 1/20 (w/v), the temperature of 50°C, and incubation time of 60 min were determined to obtain the highest catechin content of 19.98 ± 0.50 (g CE/100 g dried sample). Moreover, the results also indicated that flavonoid content and DPPH radical scavenging capacity of the extracts from cashew nut testa using Pectinex ultra-L were higher than those of the extracts using Viscozyme L or the control. Thus, the extraction using the Pectinex ultra-L was more effective than that using the Viscozyme L or without enzyme.

Keywords: Cashew nut testa, catechins, viscozyme L, pectinex ultra-L, flavonoids, polyphenols.