

OPTIMIZING INULIN RECEIVING FROM BY-PRODUCTS OF LETTUCES (*LACTUCA SATIVA*) BY ENZYM

Nguyen Thi Tam Thu*, Bui Thi Thu Ha

Institute of New Technology/ Academy of Military Science and Technology

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 03/3/2023	Fiber is a critical element in nutrition which is present in many types of vegetables. However, it is not provided enough from the daily diet. To get the recommended intake of fiber, it is necessary to supply fiber in pure form. Inulin is a type of essential soluble fiber for the digestive system which is mostly found in some plants such as burdock root, Jerusalem astiso, dandelion and lettuce. Lettuce contains a lot of inulin in the stem, root parts which are discarded by-products. In this study, lettuce by-products were utilized to extract and collect inulin to use as a fiber supplement source. Besides, some factors affecting the hydrolysis process of lettuce stem and root powder for producing inulin including enzyme concentration, temperature, and pH were optimized using the designed Box-Behnken experimental model. The results showed that the yield of inulin was most affected by temperature. At the optimal hydrolysis conditions including enzyme concentration 10.4 U/g, temperature 49.9°C, pH 5.2, the highest obtained inulin concentrations is 3.9% compared to the initial material.
Revised: 19/4/2023	
Published: 28/4/2023	
KEYWORDS	
Inulin	
Enzyme	
Lettuce	
Soluble fiber	
Optimizing	

TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH THU NHẬN INULIN TỪ PHỤ PHẨM CÂY RAU DIẾP XOĂN (*LACTUCA SATIVA*) BẰNG ENZYME

Nguyễn Thị Tâm Thu*, Bùi Thị Thu Hà

Viện Công nghệ mới/ Viện Khoa học và Công nghệ quân sự

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 03/3/2023	Chất xơ có mặt trong nhiều loại rau củ nhưng chế độ ăn thường không cung cấp đủ lượng cần thiết nên cần bổ sung thêm dưới dạng tinh khiết. Inulin là một loại chất xơ hòa tan cần thiết cho hệ tiêu hóa, có mặt nhiều trong các loại thực vật như củ nguru bàng, astiso Jerusalem, cây bồ công anh và rau diếp xoăn. Rau diếp xoăn chứa nhiều inulin trong các bộ phận thân, rễ cây là những phụ phẩm bỏ đi. Nhằm tận dụng các phụ phẩm trong sản xuất inulin làm nguồn nguyên liệu bổ sung chất xơ, việc tách chiết, thu nhận inulin từ phụ phẩm này được thực hiện. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thủy phân bột của thân và rễ rau diếp xoăn tạo inulin được lựa chọn. Nghiên cứu này thiết kế mô hình thí nghiệm Box-Behnken nhằm xác định điều kiện tối ưu cho quá trình thủy phân bột thân và rễ rau diếp xoăn bao gồm nồng độ enzyme, nhiệt độ, pH. Kết quả cho thấy, nhiệt độ là yếu tố ảnh hưởng nhất đến hiệu suất thu nhận inulin. Ở điều kiện thủy phân tối ưu là nồng độ enzyme 10,4 U/g, nhiệt độ 49,9°C, pH 5,2, hàm lượng inulin thu được cao nhất là 3,9% so với nguyên liệu ban đầu.
Ngày hoàn thiện: 19/4/2023	
Ngày đăng: 28/4/2023	
TỪ KHÓA	
Inulin	
Enzyme	
Rau diếp xoăn	
Chất xơ hòa tan	
Tối ưu hóa	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.7474>

* Corresponding author. Email: thu.n3t.cnm@gmail.com

1. Mở đầu

Chất xơ có vai trò quan trọng đối với sức khỏe con người, giúp hệ tiêu hóa luôn khỏe mạnh. Việc đảm bảo đủ nhu cầu chất xơ hàng ngày để có chế độ dinh dưỡng hợp lý là cần thiết. Theo Tổ chức Y tế thế giới, tầm quan trọng của chất xơ thực phẩm với sức khỏe con người có thể so sánh ngang bằng với vai trò của vitamin, các nguyên tố vi lượng và khoáng chất. Nguồn chất xơ cung cấp cho con người chủ yếu là từ trái cây, rau ăn lá, củ rau... [1]-[3]. Chất xơ bao gồm chất xơ hòa tan (như inulin, pectin, oligosaccharide) và chất xơ không hòa tan (cellulose, hemicellulose và lignin). Chất xơ hòa tan khi đi qua ruột sẽ tạo ra thể đồng làm chậm quá trình hấp thu một số chất dinh dưỡng vào máu, đồng thời làm tăng độ xốp, mềm của bã thải tiêu hóa [4]. Các nghiên cứu đã chứng minh các chất prebiotic có khả năng ức chế sự xâm chiếm của các tác nhân gây bệnh khác, chống lại các bệnh ác tính và mãn tính của đường ruột như bệnh tiêu chảy, hội chứng kích thích ruột, chống ung thư ruột, tăng cường sự hấp thu canxi và chất khoáng. Chất xơ còn có tác dụng tích cực đối với sức khỏe thông qua việc làm giảm lượng cholesterol máu, duy trì ổn định đường máu, chống béo phì [5].

Inulin là carbohydrate bao gồm là fructose và một gốc glucose. Các phân tử inulin có các liên kết β (1-2) glycoside và có mức độ trùng hợp (DP) khác nhau. Inulin được lưu trữ trong thực vật ở các bộ phận như thân, rễ, củ và ở dạng hòa tan trong các không bào [2]. Hiện nay, inulin được chiết chủ yếu từ rau diếp xoăn và atisô [6], [7]. Quy trình chiết inulin từ các nguồn thực vật hiện nay dựa trên công nghệ chiết bằng nước nóng và chiết bằng enzyme. Công nghệ chiết bằng enzyme hiện là công nghệ tiêu tốn ít năng lượng và thân thiện với môi trường, hiệu quả cao. Một số nghiên cứu đã phát triển để thiết lập điều kiện tối ưu thu nhận inulin từ thực vật, trong đó các yếu tố như nồng độ enzyme, nhiệt độ, pH được xác định có ảnh hưởng lớn đến năng suất thu nhận inulin. Với mong muốn gia tăng giá trị của phụ phẩm nông nghiệp và tạo nguồn nguyên liệu chất xơ hòa tan inulin để sản xuất các chế phẩm hỗ trợ tiêu hóa, các thông số về tối ưu hóa quá trình sản xuất inulin từ thân và rễ của cây rau diếp xoăn được thực hiện.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

Thân và rễ rau diếp xoăn *Lactuca sativa* (Hình 1a) (thu mua ở vùng trồng rau sạch Vân Nội, Đông Anh) được rửa sạch, sấy và xay nhỏ thành bột (Hình 1b) có độ ẩm 5,6%, độ tro toàn phần 0,7%.



Hình 1. Hình ảnh nguyên liệu: thân và rễ rau diếp xoăn (a) và bột sau khi sấy, nghiền nhỏ (b)

Enzyme Cellulase và Xylanase thương mại có hoạt độ 10.000U/g.

Các hóa chất Na acetate, axit acetic, ethanol 96°, phenol, Ca(OH)_2 , $\text{C}_7\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_7$, NaOH, $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, HCl, H_2SO_4 độ tinh khiết PA dùng cho phân tích.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Đánh giá ảnh hưởng của nồng độ enzyme

Bột thân và rễ của rau diếp xoăn (trồng 2 năm) được phản ứng với hỗn hợp enzyme với các nồng độ 5 – 20 U/g nguyên liệu. Phản ứng được thực hiện ở pH = 5,5, ở nhiệt độ 50°C trong 5 giờ. Dịch sau phản ứng được thu lại và xác định hàm lượng inulin bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC) (so với inulin chuẩn). Xác định hàm lượng inulin thu được trong mỗi nồng độ enzyme.

2.2.2. Phân tích hàm lượng inulin bằng HPLC

Hàm lượng inulin được phân tích trên máy HPLC 1100 (của Viện Công nghệ mới) với bơm LC-20AD, bộ bơm mẫu tự động SIL-20AC, detector RI RID-10A, cột Shodex Sugar SP0810 (300 mm x 8 mm x 7 mm), pha động là H₂O, chế độ đẳng dòng, tốc độ chạy 1 ml/phút, thời gian chạy 15 phút, thể tích bơm 20 ml, nhiệt độ 80°C.

2.2.3. Đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ

Thực hiện phản ứng với nồng độ enzyme đã lựa chọn ở mục 2.2.1 với các nhiệt độ 45, 50, 55, 60°C và xác định lượng inulin thu được.

2.2.4. Đánh giá ảnh hưởng của pH

Thực hiện phản ứng với các pH 4, 4,5, 5, 5,5, 6 với nhiệt độ và nồng độ enzyme tối ưu ở trên. Xác định hàm lượng inulin thu được.

2.2.5. Đánh giá ảnh hưởng của tỷ lệ 2 loại enzyme

Lựa chọn các tỷ lệ enzyme Cellulase và Xylanase 1:1, 1:2, 2:1 để thực hiện phản ứng và xác định hàm lượng inulin thu được.

2.2.6. Tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng

Sau khi sàng lọc xác định các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất chiết inulin, dựa trên các yếu tố này để thiết lập thí nghiệm tối ưu hóa quá trình chiết inulin từ rau diếp xoăn với 3 yếu tố ảnh hưởng theo mô hình Box-Behnken [8]. Các yếu tố được đánh giá và mức độ mã hóa được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1. Biến và các giá trị sử dụng theo mô hình Box - Behnken

Biến số	Ký hiệu	Mã hóa	Mức độ		
			-1	0	+1
Nồng độ enzyme (U/g)	A	x ₁	5	10	15
Nhiệt độ (°C)	B	x ₂	40	50	60
pH	C	x ₃	4	5	6

2.2.7. Phương pháp phân tích

Xác định tổng carbohydrate theo phương pháp axit sulphuric – phenol [9].

Xác định đường khử theo phương pháp so màu với 3,5 - axit dinitrosalisyllic [9].

Xác định hiệu suất thu nhận inulin: Hàm lượng inulin trong dịch chiết được xác định bằng hiệu số giữa tổng carbohydrate và đường khử. Hàm lượng inulin (I %) thu nhận được tính theo phương trình sau:

$$I (\%) = \frac{\text{Inulin (g)}}{\text{Nguyên liệu (g)}} \times 100$$

2.2.8. Xử lý số liệu

Kết quả tối ưu hóa chiết tách inulin từ rau diếp xoăn với các thí nghiệm được bố trí theo quy hoạch thực nghiệm cấp 2 của Box-Behnken, xử lý trên phần mềm Design - Expert phiên bản 7.1.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme

Nồng độ enzyme là một yếu tố có ảnh hưởng đến hiệu suất của quá trình thủy phân. Nguyên liệu sau khi xử lý được hòa trong đệm pH 6 theo tỷ lệ 1:12 (w/v), bổ sung enzyme theo các nồng độ 5 – 20 U/g nguyên liệu, tiến hành thủy phân 5 giờ ở 50°C. Sản phẩm thủy phân được định lượng để đánh giá hiệu suất thủy phân. Kết quả được trình bày trên Bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến quá trình thủy phân

Nồng độ enzyme (U/g)	Hàm lượng chất xơ hòa tan inulin (%)	
	Cellulase	Xylanase
5	1,46 ± 0,02	1,32 ± 0,09
7	1,99 ± 0,03	1,87 ± 0,02
10	2,52 ± 0,01	2,43 ± 0,04
15	2,48 ± 0,04	2,47 ± 0,02
20	2,35 ± 0,02	2,32 ± 0,07

Kết quả tại Bảng 2 cho thấy, với nồng độ enzyme Cellulase là 10-15 U/g, hàm lượng chất xơ hòa tan inulin thu được là trên 2,4%. Có thể thấy sự chênh lệch hàm lượng chất xơ hòa tan inulin thu được giữa hai nồng độ enzyme là không đáng kể (0,04%). Sử dụng nồng độ enzyme Cellulase 10 U/g cho kết quả là 2,52%. Sử dụng enzyme Xylanase với nồng độ 10 U/g, hàm lượng chất xơ inulin thu được thấp hơn nồng độ 15 U/g. Sử dụng enzyme Xylanase với nồng độ 15 U/g cho hàm lượng chất xơ hòa tan cao nhất đạt 2,47% nhưng cao hơn không đáng kể (0,03%) so với khi sử dụng nồng độ 10 U/g. Vì vậy, nồng độ enzyme Cellulase và Xylanase là 10 U/g được lựa chọn cho thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nguyên liệu được bổ sung đệm có pH 5,5 theo tỷ lệ nguyên liệu/đệm là 1: 12 (w/v), tiến hành thủy phân ở nhiệt độ 45 - 60°C với mỗi bước nhảy là 5°C trong 5 giờ. Lượng chất xơ hòa tan inulin được định lượng để đánh giá hiệu suất thủy phân. Kết quả được trình bày trên Bảng 3

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình thủy phân

Nhiệt độ (°C)	Hàm lượng chất xơ hòa tan inulin (%)	
	Cellulase	Xylanase
45	3,01 ± 0,07	1,93 ± 0,12
50	3,84 ± 0,11	2,65 ± 0,06
55	3,37 ± 0,03	2,86 ± 0,07
60	2,71 ± 0,06	2,01 ± 0,08

Kết quả trên Bảng 3 cho thấy, hiệu suất thủy phân cao nhất đạt được ở 50°C đối với enzyme Cellulase và 55°C với enzyme Xylanase. Với kết quả trên, nhiệt độ phù hợp cho quá trình thủy phân thu nhận inulin của 2 enzyme Cellulase và Xylanase trong khoảng 50 - 55°C

3.3. Ảnh hưởng của pH

Nguyên liệu được bổ sung đệm có pH khác nhau: pH 4; pH 4,5; pH 5,0; pH 5,5 và pH 6,0 theo tỷ lệ nguyên liệu : đệm là 1:12 (w/v), tiến hành thủy phân ở 50°C trong 5 giờ, với nồng độ enzyme Cellulase và enzyme Xylanase là 10 U/g. Lượng chất xơ hòa tan inulin được định lượng để đánh giá hiệu suất thủy phân.

Bảng 4. Ảnh hưởng của pH đến quá trình thủy phân

pH	Hàm lượng chất xơ hòa tan inulin (%)	
	Cellulase	Xylanase
4,0	2,49 ± 0,04	2,37 ± 0,06
4,5	2,74 ± 0,02	2,54 ± 0,10
5,0	3,26 ± 0,01	2,72 ± 0,04
5,5	3,73 ± 0,03	2,67 ± 0,09
6,0	3,46 ± 0,01	2,61 ± 0,07

Kết quả thí nghiệm ở Bảng 4 cho thấy, giá trị pH 5,5 là giá trị pH phù hợp đối với enzym Cellulase, ở pH 5,0 enzym Xylanase cho hiệu suất phân hủy cao nhất. Ở giá trị pH 5,5, hàm lượng chất xơ hòa tan inulin đạt cao hơn so với pH 5,0 và 6,0 trong thời gian 5 giờ thủy phân. Ở các giá trị pH thấp hơn pH 4 và pH 4,5 hàm lượng chất xơ hòa tan giảm dần do quá trình tự thủy phân. Do đó, pH 5,5 được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ mỗi loại enzyme

Với mục tiêu nâng cao hiệu suất quá trình thủy phân nguyên liệu rau diếp xoăn để thu được chất xơ hòa tan inulin, chúng tôi thiết lập các công thức thử nghiệm với các tổ hợp 2 enzym và đánh giá hiệu suất thu nhận sản phẩm chất xơ hòa tan inulin.

Nguyên liệu được bổ sung đệm có pH 5,5 theo tỷ lệ nguyên liệu : đệm là 1: 12 (w/v), bổ sung 2 enzym với nồng độ 10 U/g, tiến hành thủy phân ở nhiệt độ 50°C trong 5 giờ. Lượng chất xơ hòa tan inulin được định lượng để đánh giá hiệu suất thủy phân.

Bảng 5. Ảnh hưởng của hỗn hợp enzym

Tỷ lệ Cellulase/Xylanase (U/U)	Hỗn hợp enzym		
	1/1	1/2	2/1
Hàm lượng chất xơ hòa tan inulin (%)	3,76 ± 0,08	3,28 ± 0,14	3,17 ± 0,09

Kết quả tại Bảng 5 cho thấy, tỷ lệ của enzym Cellulase/Xylanase (U/U) là 1/1, 2/1 và 1/2 cho thấy hàm lượng chất xơ hòa tan thu được đạt từ 3,17% đến 3,76%. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu về tác dụng hiệp đồng của enzym Xylanase và Cellulase trong quá trình thủy phân cơ chất lignocelulose, bằng hình ảnh SEM cho thấy enzym Xylanase giúp tăng khả năng tiếp xúc của cơ chất cellulose với enzym Cellulase [10]. Khi sử dụng kết hợp 2 enzym với tỷ lệ khác nhau, ở tỷ lệ 1/1 (U/U) cho hiệu suất thủy phân thu nhận chất xơ hòa tan inulin cao hơn so với tỷ lệ 1/2 và 2/1 (U/U). Việc sử dụng đồng thời cả 2 enzym Cellulase và Xylanase cho hiệu suất thủy phân cao hơn so với sử dụng enzym đơn lẻ [11], [12]. Kết quả Bảng 5 cho thấy, tỷ lệ 1/1 (U/U) cho hiệu quả cao về hàm lượng chất xơ hòa tan. Như vậy, tỷ lệ 1/1 (U/U) được sử dụng trong sản xuất thu nhận chất xơ hòa tan inulin.

3.5. Kết quả tối ưu hóa theo mô hình Box-Behnken

Kết quả thực nghiệm chiết tách inulin từ rau diếp xoăn theo quy hoạch Box-Behnken được thể hiện trong Bảng 6.

Bảng 6. Thiết kế ma trận và kết quả

TT	Nồng độ enzyme (U/g)	Nhiệt độ (°C)	pH	Hàm lượng inulin (%)
1	5	40	5	1,07
2	15	40	5	1,58
3	5	60	5	1,22
4	15	60	5	1,43
5	5	50	4	1,03
6	15	50	4	2,80
7	5	50	6	3,43
8	15	50	6	2,80
9	10	40	4	1,26
10	10	60	4	1,09
11	10	40	6	1,43
12	10	60	6	1,37
13	10	50	5	3,86
14	10	50	5	3,84
15	10	50	5	3,89

Kiểm tra sự có nghĩa của mô hình và các hệ số hồi quy được tiến hành bằng phân tích hồi quy (Bảng 6). Chuẩn F của mô hình bằng 35,43 cho thấy mô hình hoàn toàn có ý nghĩa thống kê với

độ tin cậy 99,99% ($p < 0,0001$). Các giá trị $p < 0,05$ cho biết các hệ số hồi quy có nghĩa và được giữ lại trong mô hình, riêng hệ số bậc một B-nhiệt độ ($p = 0,7799$) vẫn được giữ lại trong mô hình để đảm bảo tính thứ bậc đối với các tác nhân ảnh hưởng chính. Chuẩn F cho “Sự không tương thích” của mô hình là 13,83 ($p = 0,0688$) cho thấy mô hình hoàn toàn tương thích với thực nghiệm (Bảng 7). Hệ số xác định (R^2) của mô hình bằng 0,9726 cho thấy mô hình mô tả đến 97,26% sự thay đổi của các hàm mục tiêu phụ thuộc vào các biến ảnh hưởng. Lượng inulin được biểu diễn bằng mô hình đa thức bậc 2 dạng biến code và dạng biến thực như sau:

$$Y = 27,87 + 1,63x_1 - 0,2x_2 + 2,5x_3 - 5x_1^2 - 13,6x_2^2 - 5,27x_3^2 - 4,2x_1x_3$$

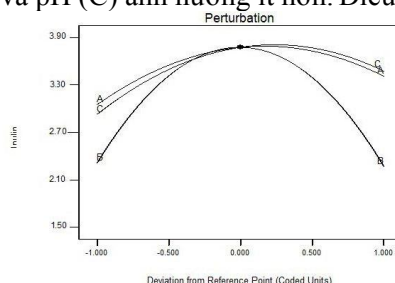
$$Y = -490,4321 + 7,74568A + 13,58B + 60,3C - 0,24691A^2 - 0,136B^2 - 5,26667C^2 - 0,93333AC$$

Bảng 7. Phân tích phương sai của mô hình đa thức bậc 2 cho lượng inulin (Y)

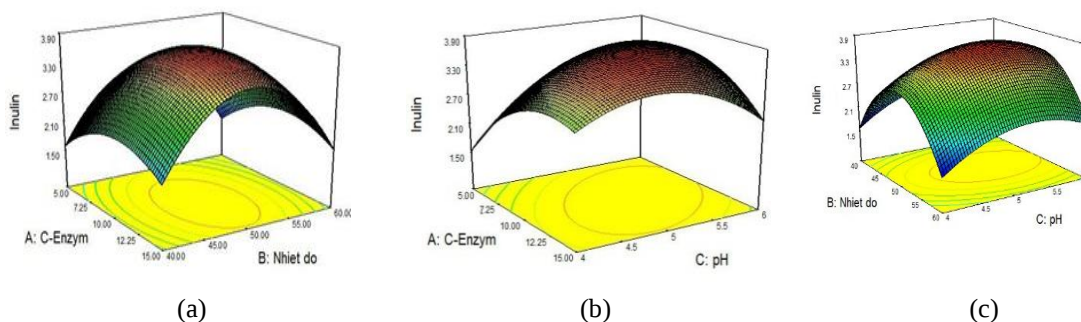
Nguồn	SS	DF	MS	Chuẩn F	Giá trị p
Model	941,12	7	134,45	35,43	<0,0001
A-enzyme	21,34	1	21,34	5,62	0,0405
B-nhiệt độ	0,32	1	0,32	0,084	0,7799
C-pH	50	1	50	13,18	0,0084
AC	70,56	1	70,56	18,6	0,0035
A ²	92,31	1	92,31	24,33	0,0017
B ²	682,93	1	682,93	179,99	<0,0001
C ²	102,42	1	102,43	26,99	0,0013
Residual	26,56	7	3,79		
Lack of Fit	25,81	5	5,16	13,83	0,0688
Sai số	0,75	2	0,37		
SS tổng số	967,68	14			

Ghi chú: SS: tổng phương sai; DF: bậc tự do; MS: trung bình phương sai; chuẩn F: chuẩn Fisher; Residual: phần dư; Lack of Fit: chuẩn đánh giá độ tương thích của mô hình thực nghiệm

Lần lượt xét ảnh hưởng của từng yếu tố (khi các yếu tố khác giữ ở mức trung tâm) đến lượng inulin thu được ta thấy lượng inulin thu được chịu ảnh hưởng mạnh nhất bởi yếu tố nhiệt độ (B), hai yếu tố nồng độ enzyme (A) và pH (C) ảnh hưởng ít hơn. Điều này được mô tả ở Hình 2.



Hình 2. Mức độ ảnh hưởng của các yếu tố



Hình 3. Bề mặt đáp ứng cho thấy sự ảnh hưởng của các yếu tố thực nghiệm đến hàm lượng inulin.

(a) Nồng độ enzyme và nhiệt độ; (b) Nồng độ enzyme và pH; (c) Nhiệt độ và pH.

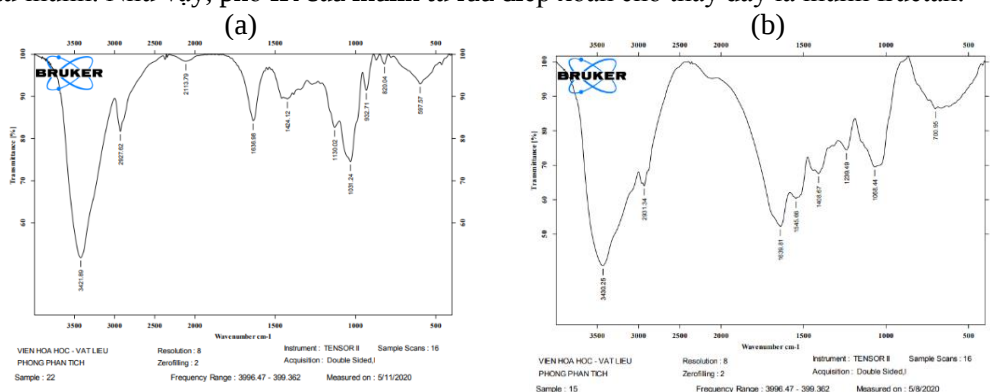
Mối quan hệ giữa lượng inulin chiết được và các biến ảnh hưởng được thể hiện bằng các bề mặt đáp ứng được tạo từ mô hình dự đoán. Hình 3a cho thấy ảnh hưởng của nồng độ enzyme và nhiệt độ đến hiệu suất chiết inulin. Khi pH cố định, lượng chiết inulin giảm khi nhiệt độ tăng hơn 50°C. Nồng độ enzyme cũng ảnh hưởng đến hàm lượng inulin, yếu tố nồng độ enzyme vượt quá 10 U/g, lượng chiết inulin giảm. Hình 3b biểu diễn ảnh hưởng của nồng độ enzyme và pH khi cố định nhiệt độ phản ứng, cho thấy lượng chiết inulin tối đa ở pH gần 5,2; vượt quá giá trị pH này lượng chiết inulin giảm. Hình 3c cho thấy ảnh hưởng của nhiệt độ và pH đến lượng chiết inulin, với nồng độ enzyme cố định có thể thấy thay đổi về nhiệt độ dẫn đến thay đổi đáng kể lượng chiết inulin. Kết quả này cho thấy nhiệt độ là yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt độ của enzyme và hiệu suất thủy phân.

Bài toán tối ưu được xác định theo thuật toán “Hàm mong đợi” do Derringer và Suich và phần mềm Design-Expert 7.1 cho thấy, tại điều kiện nồng độ enzyme 10,4 U/g, nhiệt độ phản ứng 49,9°C; pH 5,2 thu lượng inulin cao nhất là 3,9%.

Để kiểm chứng giá trị nhận được từ phương trình hồi quy, chúng tôi tiến hành quá trình thủy phân thu nhận inulin từ rau diếp xoăn được tiến hành kiểm chứng ở điều kiện: nồng độ enzyme 10 U/g, nhiệt độ phản ứng 50°C; pH 5,2. Kết quả lượng inulin thu được đạt $3,85\% \pm 0,17$. Kết quả này gần đúng với kết quả dự đoán theo mô hình tối ưu hóa.

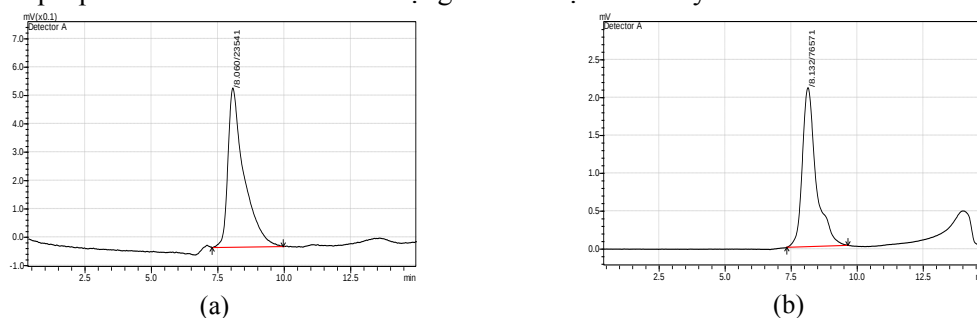
3.6. Phân tích cấu trúc inulin tách chiết bằng phổ FTIR và phổ HPLC

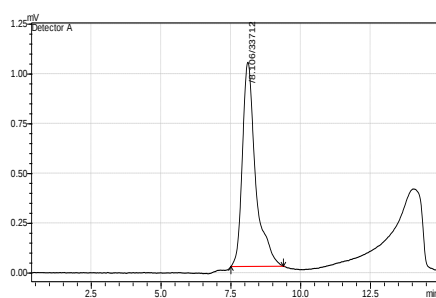
Inulin thu được được phân tích phổ hồng ngoại (FTIR) và so sánh với phổ của inulin chuẩn (Sigma) và trình bày trên Hình 4. Phổ IR của inulin chiết từ rau diếp xoăn có các dải hấp thụ ở 3430, 2931, 1639, 1408, 1068 và 700 cm^{-1} . Các nhóm (-OH) ở vùng 3421 cm^{-1} có nhiều trong cấu trúc của phân tử inulin được tạo thành dải rộng và là cấu trúc đặc trưng được phát hiện ở phép đo IR. Dải 2931 cm^{-1} đo được là do các rung động của -C không đối xứng. Dải 1639 cm^{-1} không đặc hiệu với inulin được cho là sự hấp thụ nước do đặc tính hút ẩm của polysaccharide này. Dải 1408 cm^{-1} đặc trưng cho nhóm (-COH). Dải 1068 cm^{-1} đặc trưng cho các rung động kéo dài của (C-O), (C-C), (C-O-C) trong vòng furanose. Dải gần 700 cm^{-1} thể hiện các liên kết glycosid β -(2-1) trong phân tử inulin. Như vậy, phổ IR của inulin từ rau diếp xoăn cho thấy đây là inulin fructan.



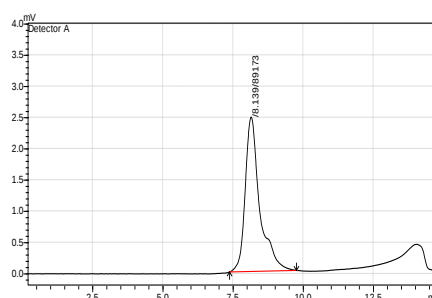
Hình 4. Phổ IR của inulin tiêu chuẩn (a) và inulin chiết từ rau diếp xoăn (b)

Kết quả phân tích HPLC của hàm lượng inulin được trình bày trên Hình 5.

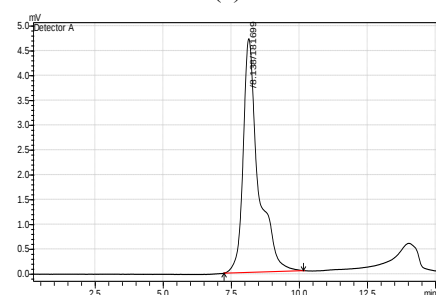




(c)



(d)



(e)

Hình 5. Hàm lượng inulin chuẩn (1000 ppm) (a) và một số mẫu inulin thu được trong nghiên cứu

4. Kết luận

Nghiên cứu đã đánh giá được hiệu suất tạo thành inulin từ bột rễ và thân của rau diếp xoăn với các yếu tố khác nhau. Các yếu tố bao gồm nhiệt độ 55°C, pH 5, nồng độ enzyme 10 U/g và tỷ lệ 2 enzyme là 1:1. Điều kiện tối ưu để tạo thành inulin cao nhất với hiệu suất 3,9% so với nguyên liệu ban đầu là pH 5,5, nồng độ enzyme 10,4 U/g nguyên liệu và nhiệt độ 49,9°C. Kết quả phân tích phổ FTIR và HPLC cho thấy cấu trúc inulin thu được tương đồng với inulin chuẩn và inulin thu được từ rau diếp xoăn là inulin fructan.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] W. Lingyun, "Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers," *Journal of Food Engineering*, vol. 79, no. 3, pp. 1087-1093, 2007.
- [2] M. B. Roberfroid, "Introducing inulin-type fructans," *British Journal of Nutrition*, vol. 93, pp. S13-S25, 2005.
- [3] R. S. Singh, "Enzymatic Approaches for the Synthesis of High Fructose Syrup," *Plant biotechnology: recent advancements and developments*, vol. 5, pp. 189-211, 2017.
- [4] S. Kolida, "Prebiotic effects of inulin and oligofructose," *British Journal of Nutrition*, vol. 87, no. 2, pp. 193-197, 2002.
- [5] Y. Belkaid and T. W. Hand, "Role of the microbiota in immunity and inflammation," *Cell*, vol. 157, no. 1, pp. 121-141, 2014.
- [6] J. T. C. L. Toneli, F. E. X. Murr, P. Martinelli, I. M. D. Fabbro, and K. J. Park, "Optimization of a physical concentration process for inulin," *Journal of Food Engineering*, vol. 80, no. 3, pp. 832-838, 2007.
- [7] Z. Zeaiter, M. E. Regonesi, S. Cavini, M. Labra, G. Sello, and P. D. Gennaro, "Extraction and characterization of inulin type fructans from artichoke wastes and their effect on the growth of intestinal bacteria associated with health," *BioMed Research International*, vol. 2019, pp. 1-8, 2019, Art. no. 1083952.
- [8] *Patent US 2010/0119651A1*, Bio-Enzyme-Assisted Extraction Method for Inulin, 2010.
- [9] V. M. Nguyen, *Biochemistry Practice*, National University Publishing House, 2001.
- [10] H. T. Song, "Synergistic effect of cellulase and xylanase during hydrolysis of natural lignocellulosic substrates," *Bioresour. Technol.*, vol. 219, pp. 710-715, 2016.
- [11] J. Wang, "Combination of xylanase and cellulase hydrolysis for enhanced saccharification of poplar chips: Process optimization," *BioRes.*, vol. 15, no. 1, pp. 840-853, 2020.
- [12] H. Jinguang, "The enhancement of enzymatic hydrolysis of lignocellulosic substrates by the addition of accessory enzymes such as xylanase: Is it an additive or synergistic effect," *Biotechnology for biofuels*, vol. 4, no. 1, pp. 1-36, 2011.