

TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH TRÍCH LY ANTHOCYANIN TỪ VỎ KHOAI LANG TÍM (*Ipomoea batatas* L.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP ENZYME CÓ HỖ TRỢ SIÊU ÂM

Mai Thị Hoài Thương, Đào Thị Thu Thảo, Tân Văn Hậu
Lê Thị Hồng Thúy, Nguyễn Thị Lương*

Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

*Email: luongnt@huit.edu.vn

Ngày nhận bài: 19/4/2024; Ngày nhận bài sửa: 13/5/2024; Ngày chấp nhận đăng: 17/5/2024

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu tối ưu hóa quá trình trích ly anthocyanin từ nguồn nguyên liệu phế phẩm - vỏ khoai lang tím bằng phương pháp enzyme có hỗ trợ siêu âm. Nghiên cứu khảo sát các đơn yếu tố là loại dung môi (ethanol, methanol, nước); hệ dung môi ethanol: nước (100:0, 30:70, 50:50, 70:30, 100:0), loại acid hóa (acid acetic, clohydric, citric) và loại enzyme (cellulase, viscozyme L, Optimash TBG). Dựa trên kết quả khảo sát, phương pháp bề mặt đáp ứng với thiết kế mô hình lặp tâm (RSM-CCD) được sử dụng để tối ưu quy trình trích ly anthocyanin từ vỏ khoai lang tím. Mô hình được thiết kế 17 thí nghiệm với 5 thí nghiệm tại tâm để xây dựng cho 3 yếu tố khảo sát bằng phương pháp có hỗ trợ siêu âm với thời gian (15 đến 45 phút), biên độ dao động (20 đến 60%) và tỉ lệ nguyên liệu:dung môi (từ 1:10 đến 1:30); bằng phương pháp enzyme có hỗ trợ siêu âm với pH hoạt hóa (pH 4 đến 6), thời gian hoạt hóa (15 đến 45 phút) và nhiệt độ hoạt hóa (40 đến 60 °C). Kết quả phân tích ANOVA cho hệ số $R^2 = 0,9881$ và $p < 0,0001$ cho thấy mô hình có ý nghĩa thống kê và kiểm chứng cho kết quả anthocyanin cao nhất đạt 0,8474%. Phổ FTIR của cao chiết anthocyanin cho thấy sự tồn tại của các nhóm chức OH, C=O, C=C và C-O-C đặc trưng của anthocyanin.

Từ khóa: Tối ưu hóa, anthocyanin, vỏ khoai lang tím, enzyme, siêu âm.

1. MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, anthocyanin đã trở thành đối tượng nghiên cứu nổi bật nhờ tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm [1]. Nhiều công trình đã chứng minh rằng hợp chất này sở hữu đa dạng hoạt tính sinh học có lợi, bao gồm khả năng chống oxy hóa mạnh [2], kháng viêm [3], kháng khuẩn [4], cũng như vai trò trong hỗ trợ phòng ngừa các rối loạn chuyển hóa như béo phì và đái tháo đường [5]. Bên cạnh đó, anthocyanin còn góp phần bảo vệ tế bào trước các tác nhân gây hại thông qua cơ chế trung hòa các gốc tự do phát sinh từ ô nhiễm môi trường, hóa chất độc hại hoặc nicotine [6]. Ngoài ra, một số ứng dụng trong da liễu, chẳng hạn như điều trị mụn đầu đen, cũng đã được ghi nhận đối với các chế phẩm chứa anthocyanin.

Về bản chất hóa học, anthocyanin thuộc nhóm flavonoid trong họ polyphenol [7], là các sắc tố tan tốt trong nước và chịu trách nhiệm tạo nên các màu sắc đặc trưng như đỏ, tím hoặc xanh ở thực vật [8]. Trong bối cảnh xu hướng tiêu dùng các sản phẩm tự nhiên và bền vững ngày càng gia tăng, nhu cầu sử dụng chất tạo màu có nguồn gốc tự nhiên đang không ngừng mở rộng [9]. Nhờ đồng thời mang lại giá trị cảm quan và lợi ích sức khỏe, anthocyanin được xem là một trong những chất màu tự nhiên đầy triển vọng trong ngành công nghiệp thực phẩm [10].

Tại Việt Nam, khoai lang tím là một trong những cây trồng có giá trị kinh tế cao với sản lượng lớn, phân bố chủ yếu tại các tỉnh như Vĩnh Long, Đắc Lắc và Lâm Đồng. Trong chuỗi chế biến, phần củ thường được khai thác triệt để để sản xuất các sản phẩm thương mại bởi nhiều doanh nghiệp trong nước. Tuy nhiên, phần vỏ vốn bị xem là phế phẩm lại chưa được tận dụng hiệu quả, mặc dù đây là nguồn nguyên liệu giàu anthocyanin có giá trị sinh học cao. Việc khai thác hợp lý nguồn phế phẩm này

không chỉ góp phần gia tăng giá trị kinh tế mà còn phù hợp với định hướng phát triển bền vững và kinh tế tuần hoàn.

Hiệu quả của quá trình trích ly anthocyanin chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố công nghệ như loại dung môi, thời gian, nhiệt độ, pH, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và kích thước hạt [11]. Do anthocyanin có tính phân cực, các dung môi phân cực như nước, ethanol hoặc methanol thường được ưu tiên sử dụng. Đồng thời, cấu trúc và màu sắc của anthocyanin phụ thuộc mạnh vào môi trường pH; do đó, việc bổ sung các acid (hữu cơ hoặc vô cơ) vào dung môi nhằm duy trì anthocyanin ở dạng cation flavylium ổn định là cần thiết [1, 10].

Một trong những thách thức chính trong quá trình trích ly là anthocyanin chủ yếu nằm trong không bào và bị bao bọc bởi thành tế bào thực vật, gây hạn chế khả năng khuếch tán vào dung môi. Để nâng cao hiệu suất thu hồi, các phương pháp hỗ trợ phá vỡ cấu trúc tế bào đã được phát triển, bao gồm siêu âm, vi sóng và enzyme. Trong đó, phương pháp sử dụng enzyme được đánh giá cao nhờ tính chọn lọc, an toàn và thân thiện với môi trường. Các enzyme như cellulase, pectinase, viscozyme L và Optimash TBG có khả năng phân hủy thành tế bào, tạo điều kiện giải phóng các hợp chất mục tiêu [12], [13]. Khi kết hợp với sóng siêu âm, hiệu ứng cavitation giúp tăng cường tiếp xúc giữa enzyme và cơ chất, từ đó thúc đẩy quá trình phá vỡ cấu trúc mô và nâng cao hiệu quả trích ly anthocyanin [14].

Trong nước, nhiều nghiên cứu đã tập trung khảo sát quá trình trích ly anthocyanin từ các nguồn nguyên liệu khác nhau như lá cẩm, hoa đậu biếc hay khoai lang tím, chủ yếu theo hướng đánh giá ảnh hưởng đơn lẻ của từng yếu tố công nghệ. Tuy nhiên, cách tiếp cận này tồn tại hạn chế khi không xem xét được tương tác giữa các biến số, đồng thời làm gia tăng số lượng thí nghiệm, chi phí và thời gian thực hiện [15]. Một số nghiên cứu đã ứng dụng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) để tối ưu hóa quy trình, nhưng phần lớn chỉ dừng lại ở các kỹ thuật trích ly truyền thống hoặc siêu âm đơn lẻ. Đến nay, các nghiên cứu kết hợp đồng thời enzyme và siêu âm nhằm tối ưu hóa quá trình trích ly anthocyanin từ phụ phẩm vỏ khoai lang tím vẫn còn hạn chế, đặc biệt trong điều kiện Việt Nam.

Xuất phát từ những vấn đề trên, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đơn như loại dung môi, tỷ lệ ethanol:nước và tác nhân acid hóa đến hiệu suất trích ly anthocyanin. Trên cơ sở đó, mô hình thiết kế Box-Behnken (BBD) thuộc phương pháp RSM được áp dụng để tối ưu hóa toàn diện quy trình trích ly anthocyanin từ vỏ khoai lang tím bằng phương pháp enzyme kết hợp siêu âm.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu: Vỏ khoai lang tím sau khi thu tại công ty cổ phần nông sản Langbiang được rửa sạch, xử lý và loại bỏ tạp chất. Sấy nguyên liệu đến độ ẩm 7 - 8%, nghiền nhỏ đến kích thước 0,5 - 1,0 mm; bảo quản trong túi polyamide 50 (g/túi) và được hút chân không.

Hóa chất: Acid chlohydric (độ tinh khiết 36,0-38,0%, Trung Quốc); ethanol và acid acetic (độ tinh khiết 98%, Trung Quốc); methanol và acid citric (độ tinh khiết 99,5%, Trung Quốc); enzyme Optimash TBG (Mỹ, hoạt lực ≥ 5625 u/g), cellulase (Ấn Độ, hoạt lực ≥ 2.000 IU/g) và viscozyme L (Mỹ, hoạt lực ≥ 100 FBGU/g).

2.2. Phương pháp

Quy trình khảo sát đơn yếu tố trích ly anthocyanin có hỗ trợ siêu âm: Cân 15g bột vỏ khoai lang tím cùng 300mL dung môi (ethanol, methanol, nước) hoặc hệ dung môi ethanol : nước là (0:100 (0E), 30:70 (30E), 50:50 (50E), 70:30 (70E), 100:0 (100E)) cho vào cốc 500 mL; điều chỉnh pH bằng 1 sử dụng acid đậm đặc (acetic, citric, chlohydric). Thực hiện chiết tách anthocyanin bằng phương pháp có hỗ trợ siêu âm (thiết bị Q1375 Qsonica) trong 30 phút. Dịch chiết anthocyanin được ly tâm (thiết bị Z326) với tốc độ 4.000 v/p trong 10 phút, tách thu phần dung dịch, loại bỏ dung môi bằng cô quay (thiết bị HS-2005V) ở nhiệt độ 60 °C, tiếp tục sấy ở 55-60 °C để thu cao chiết anthocyanin.

Tối ưu hóa trích ly anthocyanin có hỗ trợ siêu âm (UAE): Khảo sát và lựa chọn cố định đơn yếu tố (dung môi, tỉ lệ hệ dung môi, loại acid hóa), sau đó tiến hành tối ưu hóa điều kiện trích ly anthocyanin bằng phương pháp có hỗ trợ siêu âm với các yếu tố ảnh hưởng qui ước: X₁ (Thời gian), X₂ (Biên độ) và X₃ (Tỉ lệ nguyên liệu:dung môi (NL/DM)) theo mô hình BBD – Box-Behnken bằng JMP pro 17 theo bảng mã hoá (Bảng 1).

Bảng 1. Mã hoá các biến độc lập của phương pháp UAE

Biến độc lập	Mã hoá	Nghiệm thức		
		-1	0	1
Thời gian (phút)	X ₁	15	30	45
Biên độ (%)	X ₂	20	40	60
NL/DM (v/w)	X ₃	10	20	30

Tối ưu hóa trích ly anthocyanin bằng enzyme có hỗ trợ siêu âm (UAEE): Tối ưu hóa để lựa chọn điều kiện trích ly anthocyanin bằng phương pháp có hỗ trợ siêu âm, tiếp tục tối ưu hóa trích ly anthocyanin bằng phương pháp enzyme có hỗ trợ siêu âm với các yếu tố ảnh hưởng quy ước: A₁ (pH hoạt hóa), A₂ (thời gian hoạt hóa) và A₃ (nhiệt độ hoạt hóa) theo mô hình BBD – Box-Behnken bằng JMP pro 17 theo bảng mã hoá (Bảng 2).

Bảng 2. Mã hoá các biến độc lập của phương pháp UAEE

Biến độc lập	Mã hoá	Nghiệm thức		
		-1	0	1
pH hoạt hóa	A ₁	4	5	6
Thời gian hoạt hóa (phút)	A ₂	3	5	7
Nhiệt độ hoạt hóa (°C)	A ₃	70	80	90

Quy trình thực hiện: Cân 15g bột vỏ khoai lang tím cho vào cốc 500mL, thêm dung môi (ethanol:nước = 70:30) với tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 1:20. Điều chỉnh nhiệt độ 50°C, cho enzyme (5% so với nguyên liệu), tiến hành hoạt hóa trong 30 phút. Vỏ hoạt enzyme trong thời gian 5 phút tại 85°C, chỉnh pH bằng 1 sử dụng acid acetic, tiến hành siêu âm trong 30 phút, thu dịch chiết anthocyanin. Ly tâm dịch chiết với tốc độ 4.000 v/p trong 10 phút để tách phần dung dịch, loại bỏ dung môi bằng cô quay, sấy thu cao chiết anthocyanin.

Xác định hàm lượng anthocyanin: Hàm lượng anthocyanin được xác định bằng phương pháp pH vi sai [16]. Hàm lượng anthocyanin có đỉnh hấp thụ cực đại ở pH1,0 và không có đỉnh hấp thụ ở pH 4,5 dưới bước sóng 520 nm. Mẫu dịch chiết anthocyanin đem định mức ở pH1,0 và pH4,5 và đo độ hấp thụ tại bước sóng của độ hấp thụ cực đại 520 nm, so với độ hấp thụ tại bước sóng 700 nm.

Hàm lượng Anthocyanin (%) tính theo hàm lượng chất khô được tính theo công thức:

$$\text{Anthocyanin (\%)} = \frac{A \cdot M \cdot k \cdot V}{\epsilon \cdot l \cdot m \cdot (100 - W) \cdot 10^{-2}} \cdot 100$$

Trong đó: A = (A_{520(pH1)} - A_{700(pH1)}) - (A_{520(pH4,5)} - A_{700(pH4,5)})

A₅₂₀: độ hấp thụ cực đại tại 520 nm; A₇₀₀: độ hấp thụ cực đại tại 700 nm

M: khối lượng phân tử anthocyanin; ε: độ hấp thụ phân tử; l: chiều dày cuvet, cm

V: thể tích anthocyanin thu được, L; k: hệ số pha loãng

m: khối lượng nguyên liệu ban đầu, g; W: độ ẩm nguyên liệu, %

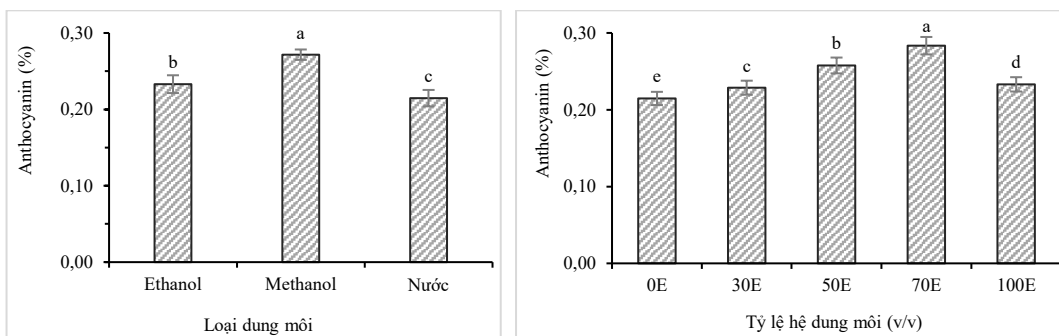
Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR): Phân tích FTIR được tiến hành bằng thiết bị FTI IMPACT Nicolet 410 trong khoảng số sóng từ 4000 đến 400 cm⁻¹. Mẫu cao chiết anthocyanin trước khi đo được làm khô trong tủ sấy chân không ở 60 °C trong thời gian 48 giờ nhằm loại bỏ hoàn toàn độ ẩm.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát đơn yếu tố trích ly anthocyanin

Ảnh hưởng của loại dung môi

Dung môi thường dùng để chiết anthocyanin là: methanol, ethanol, nước hoặc hỗn hợp của chúng. Anthocyanin có bản chất phân cực, việc sử dụng các dung môi phân cực giúp cho việc chiết xuất anthocyanin trở nên hiệu quả hơn.



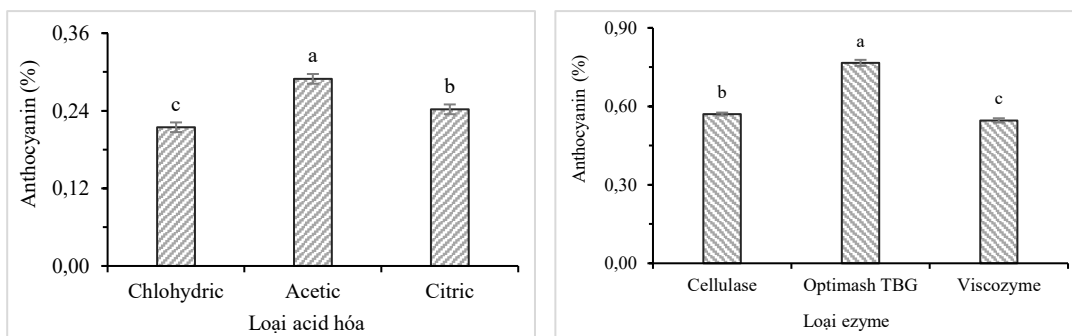
Hình 1. Ảnh hưởng của dung môi đến quá trình tách chiết anthocyanin
(a, b, c, ...: sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% ứng với mỗi loại đồ thị)

Dựa vào kết quả khảo sát các loại dung môi có độ phân cực tương đối tăng dần như ethanol (0,654), methanol (0,762), nước (1); cho thấy anthocyanin được chiết tách từ dung môi methanol cho được hiệu suất cao nhất, chứng tỏ rằng anthocyanin có độ phân cực gần tương tự như methanol [17]. Tuy nhiên, ethanol và nước thường được sử dụng do là dung môi xanh và an toàn [18]. Đồng thời, có thể sử dụng hệ hai dung môi này theo tỷ lệ tương ứng để đạt được độ phân cực tương tự methanol, từ đó vẫn đạt được hiệu quả chiết anthocyanin tối ưu. Do đó, lựa chọn hệ ethanol và nước làm hệ dung môi tách chiết, khảo sát các tỷ lệ của hệ trong quy trình trích ly anthocyanin [18].

Theo kết quả khảo sát tại Hình 1, đồ thị tỷ lệ hệ dung môi ethanol: nước có thành phần ethanol thay đổi (100; 70; 50; 30; 0%) sẽ đạt được hệ dung môi với độ phân cực tương đối thay đổi từ (0,654-1), kết quả đạt hàm lượng anthocyanin cao nhất tại công thức 70E (70% ethanol + 30% nước). Điều này là do tại tỷ lệ 70E có độ phân cực tương đối (khoảng 0,76), tương tự methanol hay anthocyanin nên làm tăng hiệu quả của quá trình trích ly, vì vậy chọn hệ dung môi ethanol: nước là 70:30.

Ảnh hưởng của loại acid hóa

Trong dung dịch, anthocyanin tồn tại ở các dạng theo từng pH khác nhau. Tuy nhiên, anthocyanin ổn định trong môi trường có tính acid cao nên dung môi cần phải được acid hóa bằng các acid để ngăn chặn sự phân hủy của các sắc tố anthocyanin. Các acid hữu cơ (acid acetic, citric hoặc tartaric) hoặc acid vô cơ (acid clohydric hoặc phosphoric) được thêm vào dung môi chiết để ổn định cation flavylum. Sử dụng acid clohydric bị hạn chế vì có thể phá vỡ anthocyanin bị acyl hóa. Điều kiện acid quá cao có thể gây ra nhiều tác động khác nhau trong quá trình chiết như phân hủy hoặc thủy phân một phần anthocyanin.



Hình 2. Khảo sát ảnh hưởng của loại acid hóa và loại enzyme
(a, b, c, ...: sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% ứng với mỗi loại đồ thị)

Tiến hành khảo sát các loại acid tại Hình 2 để điều chỉnh pH tách chiết anthocyanin bằng 1, cho được kết quả khi sử dụng dung môi được acid hóa bằng acid acetic 0,1% (v/v) cho được hiệu suất thu hồi anthocyanin cao hơn các loại acid khác, phù hợp với các kết quả nghiên cứu trên thế giới, vì vậy chọn acid acetic để chỉnh pH chiết tách [19], [20].

Ảnh hưởng của loại enzyme

Anthocyanin được tìm thấy trong không bào của tế bào thực vật, rất khó để chiết xuất. Bổ sung enzyme giúp phá vỡ thành tế bào của mẫu, nhờ đó các phân tử dễ dàng đi vào môi trường dung môi, để giải phóng các thành phần hoạt tính sinh học [14]. Theo Hình 2 hiệu suất thu hồi hàm lượng anthocyanin cao nhất ở mẫu xử lý bằng enzyme Optimash TBG. Cellulase và Viscozyme L (phức hợp enzyme xylanase, cellulase, hemicellulase) là các enzyme thích hợp chủ yếu cho các nguyên liệu với thành phần chính là cellulose, do có khả năng phân hủy cellulose bằng cách thủy phân liên kết glycosid β -1-4 của polymer cellulose từ đó lôi kéo được các hợp chất có hoạt tính ra khỏi nguyên liệu. Tuy nhiên, nguyên liệu vỏ khoai lang tím với thành phần tinh bột và không tinh bột nên hiệu quả phá vỡ thành tế bào của nguyên liệu không hiệu quả bằng chế phẩm phức hợp enzyme Optimash TBG [21]. Sử dụng enzyme Optimash TBG (phức hợp enzyme β -glucanase, xylanase và cellulase) tương thích với nguyên liệu vỏ khoai lang tím, có khả năng bền nhiệt và hoạt tính cao giúp phân hủy các polysaccharide và giảm độ nhớt nhanh chóng, làm tăng hiệu quả chiết tách anthocyanin ra khỏi nguyên liệu, vì vậy chọn enzyme Optimash TBG để thực hiện quy trình trích ly anthocyanin [22].

3.2. Tối ưu hóa quy trình trích ly anthocyanin hỗ trợ siêu âm

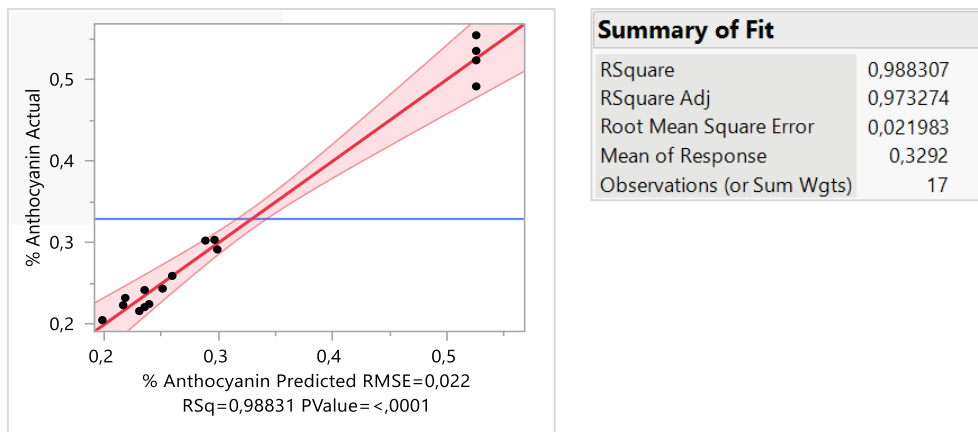
Phương pháp bề mặt đáp ứng sử dụng thiết kế Box-Behnken (RSM-BBD) được áp dụng để xây dựng ma trận thí nghiệm gồm 17 thí nghiệm (Bảng 1). Kết quả hàm lượng anthocyanin (%) thu được từ các thí nghiệm (biến đáp ứng Y_1) được xử lý bằng phần mềm JMP Pro 17.0 và trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Bảng giá trị kết quả mô hình dự đoán khi tối ưu bằng phương pháp UAE

STT	X ₁ Thời gian (phút)	X ₂ Biên độ (%)	X ₃ NL/DM (v/v)	Y ₁ Anthocyanin (%)
1	45	40	10	0,2211
2	15	40	10	0,2052
3	30	20	30	0,3027
4	30	20	10	0,2235
5	15	40	30	0,2594
6	15	60	20	0,3036
7	45	20	20	0,2918
8	30	60	30	0,2438
9	45	60	20	0,2324
10	45	40	30	0,2421
11	30	60	10	0,2163
12	15	20	20	0,2249
13	30	40	20	0,4917
14	30	40	20	0,5246
15	30	40	20	0,5544
16	30	40	20	0,5237
17	30	40	20	0,5352

Sau khi tiến hành sàng lọc và loại bỏ các yếu tố không có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi anthocyanin (%), quá trình xử lý số liệu bằng phần mềm JMP Pro 17.0 đã xác định được mô hình phù hợp. Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định độ phù hợp của mô hình (Hình 3) cho thấy hệ số xác định đạt giá trị cao ($R^2 = 0,988$), phản ánh mức độ tương quan chặt chẽ giữa giá trị dự đoán và giá trị thực nghiệm của hàm lượng anthocyanin. Điều này đồng thời cho thấy độ tin cậy cao của dữ liệu và khả năng kiểm soát tốt các điều kiện thí nghiệm. Giá trị xác suất rất nhỏ ($p < 0,0001$) chứng minh rằng các biến độc lập, bao gồm thời gian xử lý, biên độ dao động và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, có ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến biến đáp ứng là hàm lượng anthocyanin. Do đó, mô hình hồi quy bậc hai được xây dựng có thể được chấp nhận để mô tả mối quan hệ giữa các yếu tố khảo sát và đáp ứng nghiên cứu. Bên cạnh đó, hệ số xác định hiệu chỉnh (R^2 -adj = 0,9732) cho thấy 97,32%

sự biến thiên của hàm lượng anthocyanin được giải thích bởi các biến độc lập trong mô hình, trong khi phần sai số chưa giải thích chỉ chiếm tỷ lệ rất nhỏ và chủ yếu do sai số ngẫu nhiên. Việc cả R^2 và R^2 -adj đều đạt giá trị cao (trên 0,9), kết hợp với mức ý nghĩa thống kê $P < 0,0001$ (nhỏ hơn nhiều so với $\alpha = 0,05$), khẳng định rằng các yếu tố khảo sát có ảnh hưởng đáng kể đến biến đáp ứng. Các kết quả kiểm định thống kê cho thấy mô hình hồi quy được thiết lập có độ phù hợp cao với dữ liệu thực nghiệm, đảm bảo độ tin cậy và có thể sử dụng hiệu quả trong việc dự đoán và tối ưu hóa quá trình trích ly anthocyanin.



Hình 3. Phương sai cho mô hình đa thức bậc hai khi tối ưu bằng phương pháp UAE

Bảng 4. Các giá trị ước lượng tham số của phương trình hồi quy khi tối ưu bằng phương pháp UAE

Biến số	Ước lượng	Sai số chuẩn	Giá trị t	Trị số p
Intercept	-1,406993	0,102942	-13,67	<,0001*
X ₁	0,043321	0,003453	12,55	<,0001*
X ₂	0,0284834	0,002862	9,95	<,0001*
X ₃	0,0700765	0,005179	13,53	<,0001*
X ₁ X ₂	-0,000115	3,664e-5	-3,14	0,0164*
X ₁ X ₃	-0,00005	0,0001	-0,50	0,6315
X ₂ X ₃	-6,462e-5	0,000055	-1,18	0,2781
X ₁ ²	-0,000634	5,271e-5	-12,02	<,0001*
X ₂ ²	-0,0003	2,965e-5	-10,13	<,0001*
X ₃ ²	-0,001592	0,000119	-13,42	<,0001*

(*): Có ý nghĩa tại $p < 0,05$

Từ kết quả trình bày ở Bảng 4, phương trình hồi quy biểu diễn mối quan hệ giữa các biến độc lập (nhiệt độ, biên độ dao động và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi) và hàm lượng anthocyanin được thiết lập dưới dạng các biến mã hóa như sau:

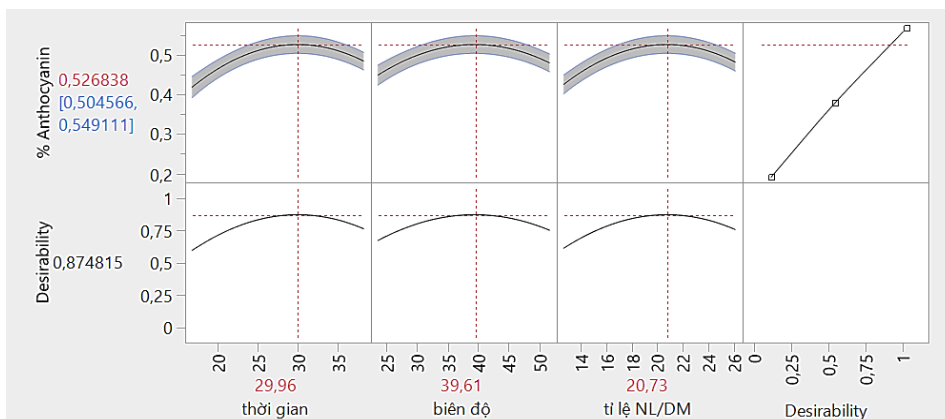
$$Y_1 = -1,4069 + 0,0433X_1 + 0,029X_2 + 0,070X_3 - 0,00012X_1X_2 - 0,00063X_1^2 - 0,0003X_2^2 - 0,0016X_3^2$$

Trong phạm vi vùng khảo sát, phương trình hồi quy cho thấy hiệu quả tách chiết anthocyanin chịu ảnh hưởng bậc một và bậc 2 của cả ba yếu tố nghiên cứu X_1 , X_2 và X_3 ; và chịu ảnh hưởng đồng thời của các cặp yếu tố (X_1X_2).

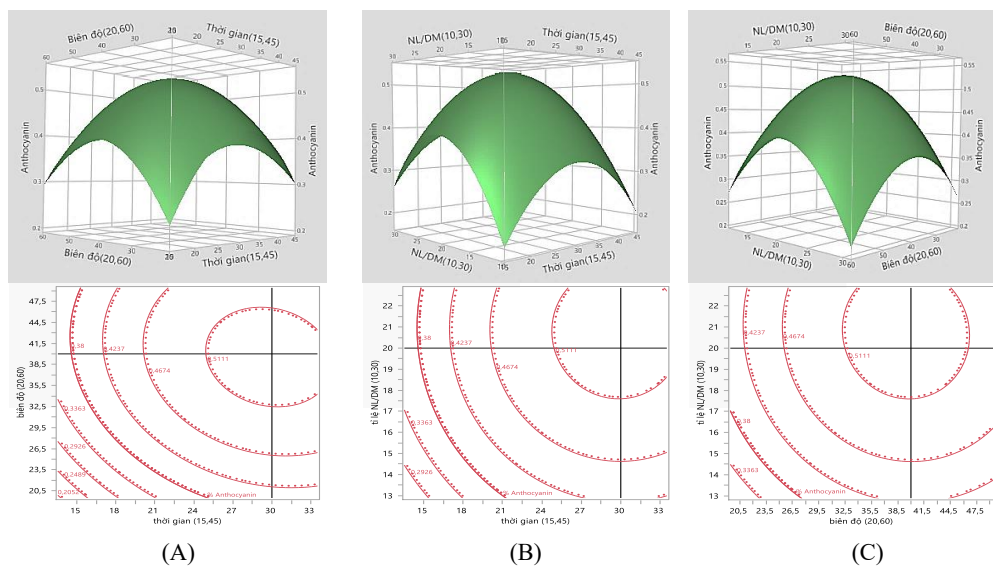
Kết quả tối ưu hóa từ mô hình cho thấy điều kiện thích hợp cho quá trình trích ly anthocyanin bao gồm thời gian 29,96 phút, biên độ dao động 39,61% và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 20,73 (v/w), với hàm lượng anthocyanin dự đoán đạt 0,5268% (Hình 4). Thí nghiệm kiểm chứng được thực hiện tại các điều kiện này cho giá trị thực nghiệm đạt 0,5246%. Sai khác không đáng kể giữa giá trị dự báo và giá trị thực

nghiệm cho thấy mô hình có độ chính xác cao, đồng thời khẳng định tính phù hợp và khả năng ứng dụng thực tiễn của mô hình đã xây dựng.

Kết quả phân tích bề mặt đáp ứng và các đường đồng mức (Hình 5) cho thấy ảnh hưởng riêng rẽ của từng biến công nghệ đến hàm lượng anthocyanin khi các yếu tố khác được giữ cố định. Hàm lượng anthocyanin tăng dần theo thời gian và biên độ siêu âm, đạt giá trị cực đại tại khoảng 29,96 phút. Tuy nhiên, khi kéo dài thời gian xử lý vượt quá ngưỡng này (trên 30 phút), hiệu suất trích ly có xu hướng suy giảm. Nguyên nhân có thể do sự hòa tan các tạp chất không mong muốn từ nguyên liệu vào dung môi, đồng thời anthocyanin bị phân hủy khi tiếp xúc kéo dài với nhiệt độ cao [23]. Biên độ siêu âm được khảo sát trong khoảng giá trị từ 20% đến 60% có ảnh hưởng tích cực đến quá trình trích ly, với giá trị tối ưu đạt 39,61%. Sự gia tăng biên độ siêu âm làm tăng cường hiệu ứng cavitation, từ đó nâng cao khả năng phá vỡ cấu trúc tế bào và thúc đẩy quá trình khuếch tán anthocyanin vào dung môi. Ngoài ra, tỷ lệ NL/DM cũng đóng vai trò quan trọng trong việc nâng cao hiệu suất trích ly. Khi tỷ lệ này tăng, sự chênh lệch nồng độ giữa pha rắn và pha lỏng được cải thiện, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình chuyển khối. Tuy nhiên, việc tăng đồng thời thời gian siêu âm và lượng dung môi có thể làm giảm hiệu quả trích ly do hệ đạt trạng thái cân bằng, khiến nồng độ anthocyanin không tiếp tục gia tăng mà có xu hướng giảm. Kết quả từ Hình 5B và 5C cho thấy hàm lượng anthocyanin đạt cực đại tại tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 20,73 (v/w), phù hợp với điều kiện tối ưu đã xác định.



Hình 4. Đồ thị dự đoán giá trị % anthocyanin các đáp ứng theo mong muốn khi tối ưu bằng phương pháp UAE



Hình 5. Bề mặt đáp ứng và đường đồng mức của các biến ảnh hưởng đến hàm lượng anthocyanin khi tối ưu bằng phương pháp UAE

3.3. Tối ưu hóa trích ly anthocyanin bằng phương pháp enzyme có hỗ trợ siêu âm (UAEE)

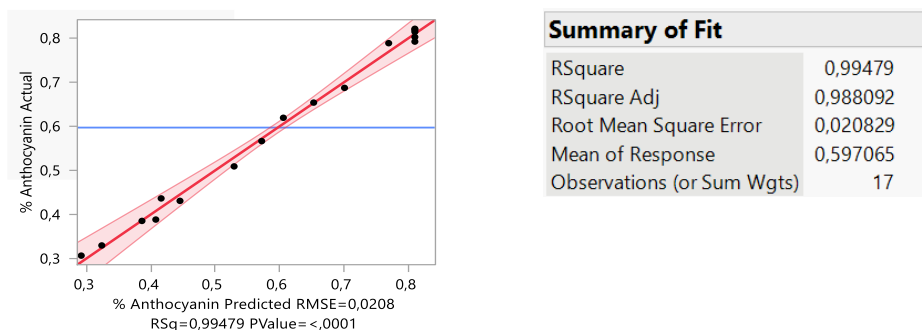
Phương pháp trích ly bằng sóng siêu âm kết hợp enzyme (UAEE) được biết đến là chiến lược khai thác bổ sung kết hợp. Enzyme thông qua sự phân hủy và phá vỡ thành tế bào trong quá trình chiết xuất có sự hỗ trợ của enzyme (EAE). UAE tăng cường quá trình chiết xuất bằng enzyme, vì quá trình trích ly được kích thích bởi công suất siêu âm dễ dàng phá vỡ chất nền, cho phép các phản ứng có sự hỗ trợ của enzyme và phát xạ các thành phần mục tiêu.

Thiết kế thí nghiệm theo RSM-BBD được áp dụng để xây dựng ma trận gồm 17 thí nghiệm và kết quả hàm lượng anthocyanin (%) thu được từ các thí nghiệm (biến đáp ứng Y_2) được xử lý bằng phần mềm JMP Pro 17.0 và trình bày trong Bảng 5.

Bảng 5. Giá trị kết quả mô hình dự đoán khi tối ưu bằng phương pháp UAEE

STT	A ₁ pH hoạt hóa	A ₂ Thời gian hoạt hóa (phút)	A ₃ Nhiệt độ hoạt hóa (°C)	Y ₂ Anthocaynin (%)
1	5	45	40	0,4306
2	5	15	60	0,3063
3	5	15	40	0,3882
4	4	45	50	0,5663
5	6	30	60	0,5089
6	5	45	60	0,7887
7	5	30	50	0,8027
8	5	30	50	0,8192
9	4	15	50	0,3851
10	4	30	60	0,6872
11	5	30	50	0,8145
12	6	45	50	0,6538
13	6	15	50	0,3294
14	6	30	40	0,6193
15	4	30	40	0,4362
16	5	30	50	0,8214
17	5	30	50	0,7923

Sau khi xử lý dữ liệu bằng phần mềm JMP Pro 17.0 và loại bỏ các yếu tố không có ảnh hưởng đáng kể đến biến đáp ứng (% anthocyanin), kết quả phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định mô hình (Hình 5) cho thấy hệ số xác định đạt $R^2 = 0,9947$. Giá trị này phản ánh mức độ phù hợp rất cao giữa dữ liệu thực nghiệm và giá trị dự đoán, đồng thời cho thấy quá trình thí nghiệm được kiểm soát hiệu quả. Bên cạnh đó, giá trị xác suất rất nhỏ ($p < 0,0001$) chứng minh rằng các biến độc lập thuộc nhóm A (pH hoạt hóa, thời gian hoạt hóa và nhiệt độ hoạt hóa) có ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến hàm lượng anthocyanin. Do đó, phương trình hồi quy ở bậc này được xem là phù hợp và có thể sử dụng để mô tả mối quan hệ giữa các yếu tố khảo sát và biến đáp ứng.



Hình 6. Phương sai cho mô hình đa thức bậc hai khi tối ưu bằng phương pháp UAEE

Độ tin cậy thống kê và mức độ phù hợp của mô hình hồi quy đối với dữ liệu thực nghiệm được thể hiện rõ qua các chỉ số đánh giá. Hệ số xác định hiệu chỉnh ($R^2_{adj} = 0,9881$) cho thấy 98,81% sự biến thiên của hàm lượng anthocyanin được giải thích bởi ba biến độc lập gồm pH hoạt hóa, thời gian hoạt hóa và nhiệt độ hoạt hóa, trong khi phần sai số chưa giải thích chỉ chiếm tỷ lệ rất nhỏ (0,66%) và chủ yếu do sai số ngẫu nhiên. Giá trị R^2 cao (lớn hơn 0,9) kết hợp với mức ý nghĩa thống kê rất nhỏ ($P < 0,0001$), thấp hơn nhiều so với ngưỡng $\alpha = 0,05$ khẳng định rằng các biến độc lập có ảnh hưởng có ý nghĩa đến biến đáp ứng. Do đó, phương trình hồi quy bậc hai được xây dựng là phù hợp và có thể sử dụng để mô tả mối quan hệ giữa các yếu tố công nghệ và hàm lượng anthocyanin và các kết quả kiểm định cho thấy mô hình có độ tin cậy cao và khả năng dự đoán tốt.

Bảng 6. Các giá trị ước lượng tham số của phương trình hồi quy khi tối ưu bằng phương pháp UAEE

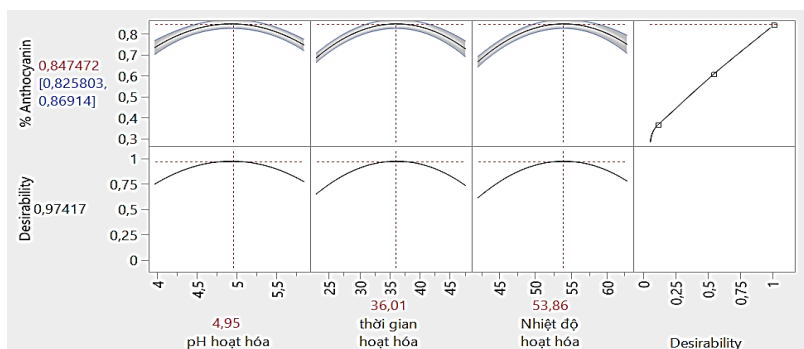
Biến số	Ước lượng	Sai số chuẩn	Giá trị t	Trị số p
Intercept	-7,531345	0,457513	-16,46	<,0001*
A ₁	1,594325	0,116207	13,72	<,0001*
A ₂	0,0147627	0,005628	2,62	0,0343*
A ₃	0,154545	0,011621	13,30	<,0001*
A ₁ A ₂	0,0023867	0,000694	3,44	0,0109*
A ₁ A ₃	-0,009035	0,001041	-8,68	<,0001*
A ₂ A ₃	0,0007333	6,943e-5	10,56	<,0001*
A ₁ ²	-0,12096	0,010151	-11,92	<,0001*
A ₂ ²	-0,000913	4,512e-5	-20,24	<,0001*
A ₃ ²	-0,001262	0,000102	-12,43	<,0001*

(*): Có ý nghĩa tại $p < 0,05$

Dựa trên kết quả trình bày ở Bảng 6, phương trình hồi quy biểu diễn mối quan hệ giữa các biến độc lập (pH, thời gian và nhiệt độ hoạt hóa) và hàm lượng anthocyanin (%) được xây dựng dưới dạng các biến mã hóa như sau:

$$Y_2 = -7,5313 + 1,5943A_1 + 0,1545A_3 + 0,0024A_1A_2 - 0,00903A_1A_3 + 0,00073A_2A_3 - 0,1209A_1^2 - 0,0009A_2^2 - 0,00126A_3^2$$

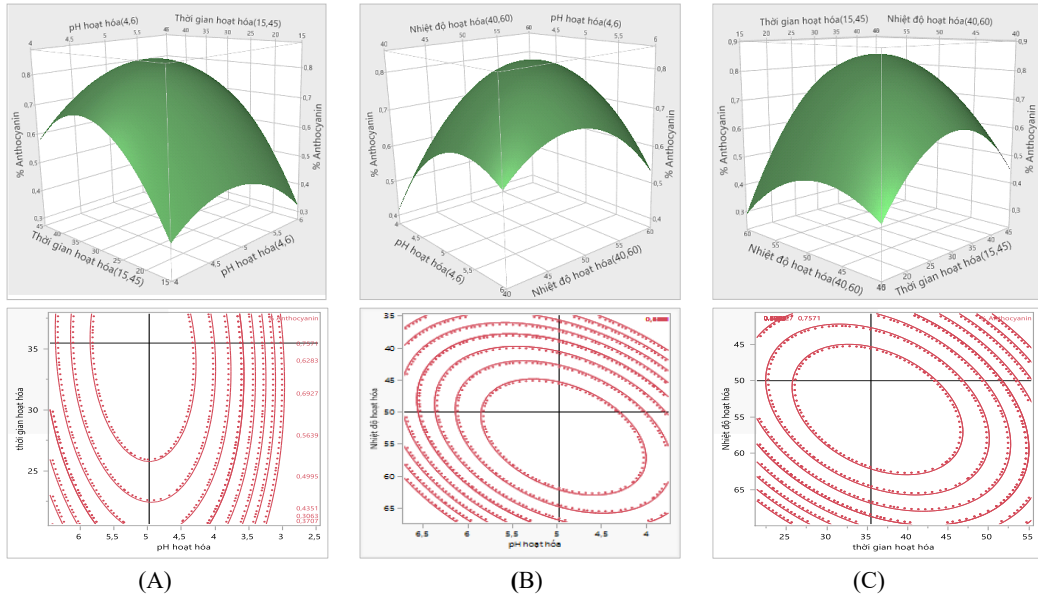
Trong phạm vi vùng khảo sát, phương trình hồi quy cho thấy hiệu quả tách chiết anthocyanin chịu ảnh hưởng bậc một và bậc 2 của cả ba yếu tố nghiên cứu A₁, A₂ và A₃; và chịu ảnh hưởng đồng thời của 3 cặp yếu tố (A₁A₂), (A₁A₃), (A₂A₃).



Hình 7. Đồ thị dự đoán giá trị % anthocyanin các đáp ứng theo mong muốn khi tối ưu bằng phương pháp UAEE

Kết quả tối ưu hóa cho thấy điều kiện thích hợp cho quá trình trích ly anthocyanin bao pH hoạt hóa là 4,95 với thời gian hoạt hóa là 36,01 phút tại nhiệt độ 53,86°C, hàm lượng anthocyanin dự đoán đạt 0,8474% (Hình 7). Thí nghiệm kiểm chứng được tiến hành dưới các điều kiện này cho giá trị thực nghiệm đạt 0,8370%. Sai lệch không đáng kể giữa giá trị dự đoán và kết quả thực nghiệm chứng tỏ mô hình tối ưu có độ chính xác cao, đồng thời khẳng định tính phù hợp và giá trị ứng dụng của mô hình

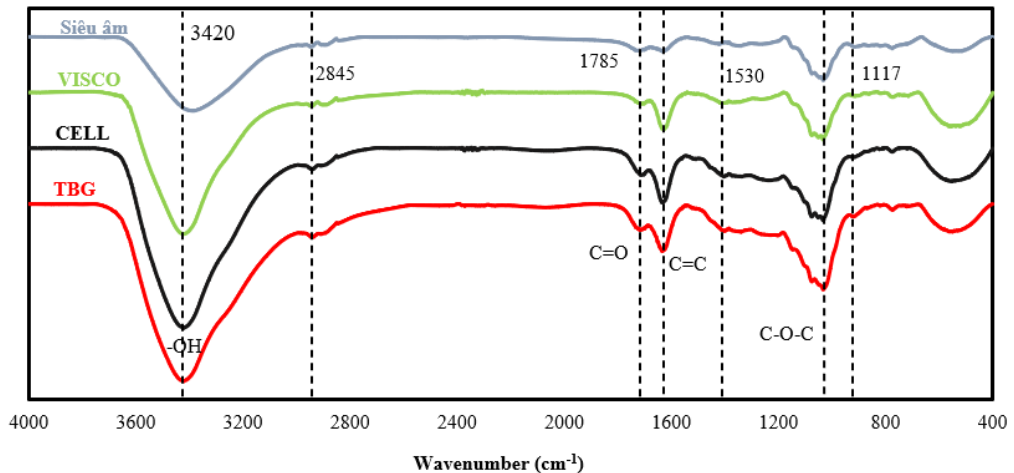
trong quá trình trích ly anthocyanin. Sự biến thiên của hàm lượng anthocyanin dưới tác động của các biến độc lập (khi cố định một thông số) được phản ánh rõ nét qua đồ thị bề mặt đáp ứng và hệ thống đường đồng mức tại Hình 8. Cụ thể Hình 8A và 8B cho thấy hàm lượng anthocyanin đạt cực trị ở pH 4,96 khi tăng pH hoạt hóa và nhiệt độ hoạt hóa. Điều này có thể giải thích là do Optimash TBG là enzyme đa thành phần, có hoạt tính tối ưu ở pH 4,2 nhưng có phạm vi hoạt động pH 3,0 - 6,5. Hình 8A và 8C cho thấy quá trình trích ly anthocyanin được thực hiện trong thời gian hoạt hóa từ 15 đến 30 phút và đạt cực trị tại thời gian hoạt hóa là 36,01 phút, hàm lượng anthocyanin tăng lên cùng với sự gia tăng tỉ lệ pH hoạt hóa. Hình 8B và 8C chứng tỏ hàm lượng anthocyanin tăng và đạt cực đại ở nhiệt độ hoạt hóa 53,86 °C.



Hình 8. Mô hình bề mặt đáp ứng và đường đồng mức biết ảnh hưởng của các cặp yếu tố khi tối ưu bằng phương pháp UAEE

3.4. Phổ FTIR

Phổ FTIR (Hình 9) của các cao chiết anthocyanin từ vỏ khoai lang tím được phân tích và đối chiếu với phổ chuẩn anthocyanin đã công bố trong các nghiên cứu của Maylinda và cộng sự [24] và Siti và cộng sự [25]. Kết quả cho thấy sự xuất hiện của các dải hấp thụ đặc trưng của nhóm hydroxyl trong các vùng 1600 - 1300, 1200 - 1000 và 800 - 600 cm^{-1} . Các đỉnh hấp thụ mạnh tại khoảng 3670 và 3550 cm^{-1} được ghi nhận, phản ánh sự hiện diện của các hợp chất chứa nhóm -OH, điển hình là rượu và phenol.



Hình 9. Phổ FTIR của anthocyanin theo từng loại enzyme

Ngoài ra, các dải hấp thụ trong khoảng $2935 - 2860 \text{ cm}^{-1}$ cho thấy sự tồn tại của các hợp chất mạch dài chưa bão hòa, thường liên quan đến thành phần lipid. Vùng phổ từ $1680 - 900 \text{ cm}^{-1}$ thể hiện các dao động đặc trưng của vòng thơm và hợp chất phenolic. Các đỉnh tại $1448 - 1444 \text{ cm}^{-1}$ được quy cho dao động uốn không đối xứng của nhóm $-\text{CH}_3$. Sự hiện diện của các hợp chất sinh học như carbohydrate, lipid, protein và đặc biệt là polyphenol cũng được thể hiện qua các dải hấp thụ trong vùng $1800 - 900 \text{ cm}^{-1}$. Phân tích FTIR xác nhận sự hiện diện của các nhóm chức đặc trưng của anthocyanin như $-\text{OH}$, $-\text{C}=\text{O}$, $-\text{C}=\text{C}$ và liên kết ether ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$) [24,26]. Đáng chú ý, phổ FTIR của mẫu chiết bằng enzyme Optimash TBG kết hợp siêu âm có cường độ và độ rộng dải hấp thụ lớn hơn so với các phương pháp siêu âm đơn lẻ hoặc sử dụng enzyme cellulase và viscozyme L, cho thấy hiệu quả trích ly cao hơn và khả năng giải phóng hợp chất tốt hơn.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tiến hành khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đơn đến quá trình trích ly anthocyanin từ vỏ khoai lang tím, qua đó xác định điều kiện phù hợp bao gồm hệ dung môi ethanol:nước (70:30, v/v), điều chỉnh pH về 1 bằng acid acetic và sử dụng enzyme Optimash TBG. Trên cơ sở đó, phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) với thiết kế Box-Behnken được áp dụng nhằm tối ưu hóa toàn diện quy trình trích ly. Kết quả cho thấy sự sai khác không đáng kể giữa giá trị dự đoán từ mô hình và dữ liệu thực nghiệm, chứng minh độ tin cậy và tính phù hợp cao của mô hình tối ưu. Đối với phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm, điều kiện tối ưu được xác định tại thời gian 29,96 phút, biên độ dao động 39,61% và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:20,73 (v/w), với hàm lượng anthocyanin đạt tối đa 0,5246%. Khi kết hợp enzyme với siêu âm, điều kiện tối ưu của quá trình hoạt hóa enzyme được xác định tại pH 4,95, thời gian 36,01 phút và nhiệt độ $53,86 \text{ }^\circ\text{C}$, cho hàm lượng anthocyanin đạt 0,8474%, cao hơn đáng kể so với phương pháp siêu âm đơn lẻ. Phân tích phổ FTIR của cao chiết cho thấy sự hiện diện của các nhóm chức đặc trưng của anthocyanin như $-\text{OH}$, $-\text{C}=\text{O}$, $-\text{C}=\text{C}$ và liên kết ether ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$), qua đó xác nhận sự tồn tại của hợp chất mục tiêu trong mẫu chiết.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này do Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh bảo trợ và cấp kinh phí theo Hợp đồng số 166/HĐ-DCT ngày 31 tháng 8 năm 2023.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H. E. Khoo, A. Azrina, T. S. Teng, S. Karuppanan, and K. M. Mat, "Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits," *Food Nutr. Res.*, vol. 61, no. 1, pp. 1–21, 2017, doi: 10.1080/16546628.2017.1361779.
- [2] B. Sivamaruthi, P. Kesika, K. Subasankari, and C. Chaiyasut, "Beneficial effects of anthocyanins against diabetes mellitus associated consequences: A mini review," *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, vol. 8, no. 10, pp. 471–477, 2018, doi: 10.4103/2221-1691.244137.
- [3] J. Shipp and S. M. Abdel-Aal, "Food applications and physiological effects of anthocyanins as functional food ingredients," *Open Food Sci. J.*, vol. 4, no. 1, pp. 7–22, 2010, doi: 10.2174/1874256401004010007.
- [4] J. He and M. M. Giusti, "Anthocyanins: Natural colorants with health-promoting properties," *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, vol. 1, no. 1, pp. 163–187, 2010, doi: 10.1146/annurev.food.080708.100754.
- [5] J. M. Kong, L. S. Chia, N. K. Goh, T. F. Chia, and R. Brouillard, "Analysis and biological activities of anthocyanins," *Phytochemistry*, vol. 64, no. 5, pp. 923–933, 2003, doi: 10.1016/S0031-9422(03)00438-2.
- [6] S. N. Nichenametla, T. G. Taruscio, D. L. Barney, and J. H. Exon, "A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 46, no. 2, pp. 161–183, 2006, doi: 10.1080/10408390591000541.
- [7] M. K. Hossain *et al.*, "Molecular mechanisms of the anti-obesity and anti-diabetic properties of flavonoids," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 17, no. 4, 2016, doi: 10.3390/ijms17040569.

- [8] L. Mojica, M. Berhow, and E. Gonzalez de Mejia, "Black bean anthocyanin-rich extracts as food colorants: Physicochemical stability and antidiabetes potential," *Food Chem.*, vol. 229, pp. 628–639, 2017, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.02.124.
- [9] Jimenez-Gonzalez, H. Ruiz-Espinosa, J. J. Luna-Guevara, C. E. Ochoa-Velasco, D. Luna-Vital, and M. L. Luna-Guevara, "A potential natural coloring agent with antioxidant properties: Microencapsulates of *Renealmia alpinia* fruit pericarp," *NFS J.*, vol. 13, pp. 1–9, 2018, doi: 10.1016/j.nfs.2018.08.001.
- [10] R. Cortez, D. A. Luna-Vital, D. Margulis, and E. Gonzalez de Mejia, "Natural pigments: Stabilization methods of anthocyanins for food applications," *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, vol. 16, no. 1, pp. 180–198, 2017, doi: 10.1111/1541-4337.12244.
- [11] Sridhar, M. Ponnuchamy, P. S. Kumar, A. Kapoor, D. V. N. Vo, and S. Prabhakar, "Techniques and modeling of polyphenol extraction from food: A review," *Environ. Chem. Lett.*, vol. 19, no. 4, 2021, doi: 10.1007/s10311-021-01217-8.
- [12] M. Kumar *et al.*, "Evaluation of enzyme and microwave-assisted conditions on extraction of anthocyanins and total phenolics from black soybean (*Glycine max* L.) seed coat," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 135, pp. 1070–1081, 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.06.013.
- [13] H. D. T. Thanh and T. T. Nguyen, "High gravity enzymatic hydrolysis of non-gelatinized starch from black-purple rice," *Vietnam J. Sci. Technol.*, vol. 61, no. 5, pp. 787–797, 2023, doi: 10.15625/2525-2518/17252.
- [14] M. Singla and N. Sit, "Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 73, 2021, doi: 10.1016/j.ultsonch.2021.105506.
- [15] M. A. Bezerra, R. E. Santelli, E. P. Oliveira, L. S. Villar, and L. A. Escalera, "Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry," *Talanta*, vol. 76, no. 5, pp. 965–977, 2008, doi: 10.1016/j.talanta.2008.05.019.
- [16] B. M. Popović *et al.*, "Comparison between polyphenol profile and bioactive response in blackthorn (*Prunus spinosa* L.) genotypes from north Serbia: From raw data to PCA analysis," *Food Chem.*, vol. 302, 2020, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125373.
- [17] F. Delgado-Vargas, A. R. Jiménez, and O. Paredes-López, "Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains - Characteristics, biosynthesis, processing, and stability," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 40, no. 3, pp. 173–289, 2000.
- [18] N. Razali, S. Mat-Junit, A. F. Abdul-Muthalib, S. Subramaniam, and A. Abdul-Aziz, "Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from *Tamarindus indica*," *Food Chem.*, vol. 131, no. 2, pp. 441–448, 2012, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.09.001.
- [19] G. Mazza, J. E. Cacace, and C. D. Kay, "Methods of analysis for anthocyanins in plants and biological fluids," *J. AOAC Int.*, vol. 87, no. 1, pp. 129–145, 2004, doi: 10.1093/jaoac/87.1.129.
- [20] M. Horbowicz, A. Grzesiuk, H. Dębski, and R. Kosson, "Anthocyanins of fruits and vegetables- Their occurrence, analysis and role in human nutrition," *Veg. Crops Res. Bull.*, vol. 68, pp. 5–22, 2008, doi: 10.2478/v10032-008-0001-8.
- [21] B. C. Behera, B. K. Sethi, R. R. Mishra, S. K. Dutta, and H. N. Thatoi, "Microbial cellulases- Diversity & biotechnology with reference to mangrove environment: A review," *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, vol. 15, no. 1, pp. 197–210, 2017, doi: 10.1016/j.jgeb.2016.12.001.
- [22] Y. Lu, M. Chae, T. Vasanthan, and D. C. Bressler, "The potential of fiber-depleted starch concentrate produced through air currents assisted particle separation of barley flour in bio-ethanol production," *Bioresour. Technol.*, vol. 300, 2020, doi: 10.1016/j.biortech.2020.122942.
- [23] J. Song, Q. Yang, W. Huang, Y. Xiao, D. Li, and C. Liu, "Optimization of trans-lutein from pumpkin peel by ultrasound-assisted extraction," *Food Bioprod. Process.*, vol. 107, pp. 104–112, 2018, doi: 10.1016/j.fbp.2017.10.008.
- [24] E. Maylinda, A. Rinadi, E. Putri *et al.*, "Color stability of anthocyanins copigmentation from red rice bran by UV-Vis spectrophotometry," *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.*, vol. 578, no. 1, 2019, doi: 10.1088/1757-899X/578/1/012001.

- [25] F. Siti, S. E. Anis, D. Damat, W. Ahmad, and V. M. Nguyen, "Identification of functional groups and types of anthocyanin pigments of purple sweet potato," *BIO Web Conf.*, vol. 40, 2024, doi: 10.1051/bioconf/202410400040.
- [26] B. D. Nandiyanto, R. Oktiani, and R. Ragadhita, "How to read and interpret FTIR spectroscopy of organic material," *Indones. J. Sci. Technol.*, vol. 4, no. 1, pp. 97–118, 2019, doi: 10.17509/ijost.v4i1.15806.

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF ANTHOCYANIN EXTRACTION PROCESS FROM PURPLE SWEET POTATO PEEL (*Ipomoea batatas* L.) USING ULTRASOUND-ASSISTED ENZYMATIC EXTRACTION METHOD

Mai Thi Hoai Thuong, Dao Thi Thu Thao, Tan Van Hau

Le Thi Hong Thuy, Nguyen Thi Luong*

Ho Chi Minh City University of Industry and Trade

*Email: luongnt@huit.edu.vn

This article presents the results of research on optimizing the anthocyanin extraction process from utilizing waste materials - purple sweet potato peels, using the ultrasound-assisted enzymatic extraction method. The study investigated single factors such as solvent type (ethanol, methanol, water); solvent system ethanol:water (100:0, 30:70, 50:50, 70:30, 100:0) and acidifying type (acetic, hydrochloric, citric acid). At the same time, using the response surface methodology with a central composite design (RSM-CCD) to optimize the anthocyanin extraction process from purple sweet potato peels. The model is designed with 17 experiments with 5 experiments at the center to build for 3 survey factors using the ultrasound-assisted extraction method inclusive of time (15 to 45 min), machine amplitude (20 to 60%) and material:solvent ratio (from 1:10 to 1:30); by ultrasound-assisted enzymatic extraction method inclusive of activation pH (pH 4 to 6), activation time (15 to 45 min) and activation temperature (40 to 60°C). The ANOVA analysis results show a high R^2 coefficient and $p < 0.0001$, proving that the model is statistically significant, validated model was achieved at the highest anthocyanin result of 0.8474%. FTIR spectrum of anthocyanin shows the existence of functional groups OH, C=O, C=C and C-O-C characteristic of anthocyanin.

Keywords: Optimization, anthocyanin, purple sweet potato peel, enzyme, ultrasound.