

Đặc trưng tính chất pectin tách chiết từ thân cây thanh long ở vùng Bình Thuận, Việt Nam và phương pháp tạo gel

Trần Phương Chiến¹, Lê Anh Kiên¹, Võ Thị Bích Ngọc², Hồ Thị Vân Anh²,
Huỳnh Thị Kim Chi³, Nguyễn Hoàng Phúc³, Hoàng Thị Kim Dung^{3*}

¹Viện Nhiệt đới môi trường, 57A Trương Quốc Dung, Phú Nhuận, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam;

²Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh, 268 Lý Thường Kiệt, Quận 10, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam;

³Viện Công nghệ hóa học, 1A Thanh Lộc 29, Quận 12, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam.

*Tác giả liên hệ: hoangthikimdung@gmail.com

Nhận bài: 04/9/2024; Hoàn thiện: 02/11/2024; Chấp nhận đăng: 15/11/2024; Xuất bản: 06/12/2024.

DOI: <https://doi.org/10.54939/1859-1043.j.mst.FEE.2024.268-273>

TÓM TẮT

Pectin được chiết xuất từ thân cây thanh long ở điều kiện pH 3, nhiệt độ 70 °C trong 180 phút cho hiệu quả chiết cao nhất với 19,52%. Các tính chất đặc trưng của pectin cũng được khảo sát để định hướng ứng dụng tạo gel và xác định cấu trúc hóa học. Trong đó, độ ẩm là 10,5%, đạt điều kiện độ ẩm nằm trong khoảng 12% được hiệp hội sản xuất pectin khuyến nghị. Kết quả phân tích FTIR đã xác định được các nhóm chức đặc trưng trong cấu trúc Pectin như nhóm O-H, carboxyl (C=O), C-H. Từ kết quả FTIR cũng đã xác định được độ ester hóa DE = 32,1%, là loại low methoxyl pectin (LMP), phù hợp vào ứng dụng tạo gel pectin nhờ các ion hóa trị 2. Phân tích hàm lượng đường trong pectin thanh long cũng giải thích sơ bộ về cấu trúc hóa học

Từ khóa: Pectin; Polysaccharide; Tách chiết; Thanh long.

1. MỞ ĐẦU

Pectin là một heteropolysaccharide được tìm thấy trong thành sơ cấp của cây hai lá mầm và cây một lá mầm (~35%), cỏ và các dạng lá mầm khác (~2% – 10%) và trong vách của các mô gỗ (~5%) [1]. Pectin thường được sử dụng trong ngành công nghiệp thực phẩm như chất tạo gel, chất làm dày, chất ổn định và nhũ hóa [2]. Gần đây, nhiều báo cáo cho thấy việc sử dụng đa dạng các nguồn thực vật khác trong việc chiết pectin, bao gồm thanh long – loại thực vật chưa được ứng dụng nhiều. Pectin gồm ít nhất 17 monosaccharide khác nhau và D-galacturonic acid (GalA) là đơn vị chiếm ưu thế nhất của pectin. Sự đa dạng về cấu trúc hóa học và trọng lượng phân tử của pectin phụ thuộc vào nguồn gốc. Tuy nhiên, điểm chung của các phân tử pectin là có một đơn vị α -D-Galacturonic acid liên kết với nhau bằng α -(1→4) dưới dạng mạch chính và monosaccharide liên kết với mạch chính dưới dạng mạch nhánh [7]. Hiện nay, quy trình sản xuất pectin truyền thống sử dụng nhiệt độ cao (70 °C – 90 °C) trong môi trường acid như nitric [8], hydrochloric [9], sulfuric [10] và oxalic [11] acid tại mức pH 1,5 – 2,5 trong vài giờ

Trong nghiên cứu này, sử dụng mẫu pectin được chiết xuất từ thân cây thanh long với sự có mặt của acid Acetic và nhiệt độ cao. Pectin được phân tích, đánh giá thành phần và một số đặc trưng tính chất để nghiên cứu khả năng tạo gel. Mỗi loại pectin sẽ có chỉ số ester hóa (DE) khác nhau, thuộc hai loại HMP hoặc LMP. Chỉ số DE quyết định phương pháp tạo gel.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

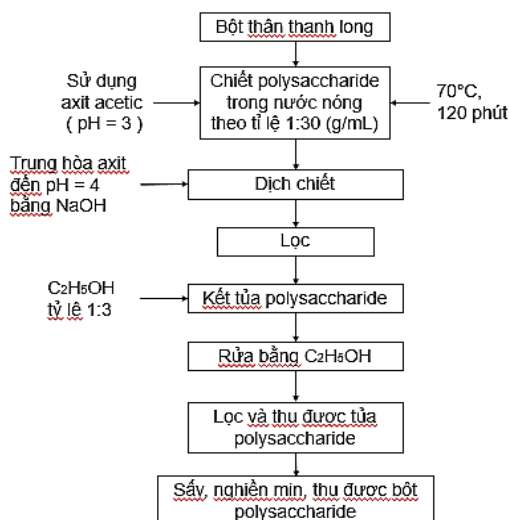
2.1. Hoá chất

Thân cây thanh long được thu hái vào khoảng tháng 07 – 10/2023 tại thành phố Phan Thiết, tỉnh Bình Thuận.

Các hóa chất khác: Ethanol 96% (Chemsol), Hexan (Xilong), Acetic acid 99,5% (Xilong), Sulfamic acid 99% (Chemsol), Acetone 95% (Xilong), Sulfuric acid 98% (Xilong), Sodium hydroxide 96% (Guangdong), kẽm acetate 12% (Chemsol).

2.2. Quy trình thực nghiệm chiết xuất pectin

Nguyên liệu thân thanh long sau khi sấy khô, xay thành bột mịn được ngâm trong dung dịch hexan (để loại bỏ các chất béo, dầu, các hợp chất hữu cơ không phân cực) và ethanol (để loại bỏ các hợp chất có khả năng tan trong nước, ethanol như đường, protein, axit amin) [8, 9, 11]. Sau đó, pectin được tách chiết từ bột thân thanh long trong nước nóng với tỷ lệ 1:30 (g/mL), pH=3 (Acetic acid), nhiệt độ 70 °C, thời gian 120 phút; (ii) Dịch chiết được trung hòa bằng NaOH đến khi pH đạt từ 4 đến 5; (iii) Lọc dịch chiết và kết tủa pectin bằng ethanol; (iv) Tủa pectin được lọc, sấy, xay nhuyễn thành dạng bột.



Hình 1. Quy trình tách chiết pectin từ thân cây thanh long.

2.3. Phương pháp phân tích, đánh giá

Xác định độ ẩm pectin

Độ ẩm được xác định bằng máy đo độ ẩm Sartorius MA 37-1. Cân khoảng 0,1 g nguyên liệu và trải thành một lớp mỏng trên đĩa nhôm, cho vào máy đo độ ẩm. Nguyên liệu được sấy ở nhiệt độ 105 °C đến khối lượng không đổi. Độ ẩm được xác định bằng công thức (1):

$$W\% = \frac{\text{khối lượng đầu} - \text{khối lượng sau}}{\text{khối lượng đầu}} \times 100\% \quad (1)$$

Xác định hiệu suất chiết xuất pectin

Hiệu suất chiết pectin từ thân cây thanh long được tính toán dựa trên công thức:

$$Y(\%) = \frac{m_{pec}}{m_p} \cdot 100\% \quad (2)$$

Trong đó: m_{pec} là khối lượng pectin chiết được; m_p là khối lượng bột nguyên liệu khô ban đầu.

Xác định độ este hóa (DE)

Độ ester hóa của các mẫu pectin được xác định bằng phương pháp đo quang phổ hồng ngoại FT-IR trên thiết bị Bruker Tensor 27 (Bruker corporation, Billerica, Massachusetts, USA) với dải số sóng từ 500 - 4000 cm^{-1} . DE của pectin được tính bằng phương trình của Monsoor và cộng sự, 2001[12]. Phương trình tính toán từ diện tích của peak carboxyl (C=O) được ester hóa (COOR) và peak carboxyl không được ester hóa (COOH).

$$DE(\%) = \frac{X_1}{X_1 + X_2} \cdot 100\% \quad (3)$$

Trong đó: X_1 là giá trị diện tích tại nhóm carboxyl (C=O) được ester hóa (COOR); X_2 là giá trị diện tích tại nhóm carboxyl (C=O) không được ester hóa (COOH).

Xác định thành phần và hàm lượng đường

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) (Agilent 1200, Agilent, UK) đã được sử dụng để xác định hàm lượng monosaccharide trong pectin bằng cách tạo dẫn xuất với cột 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone (PMP) [13]. Pectin được thủy phân và sau đó tạo dẫn xuất PMP (70 °C, 100 phút).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu suất và đặc trưng tính chất của pectin chiết tách từ thân cây thanh long

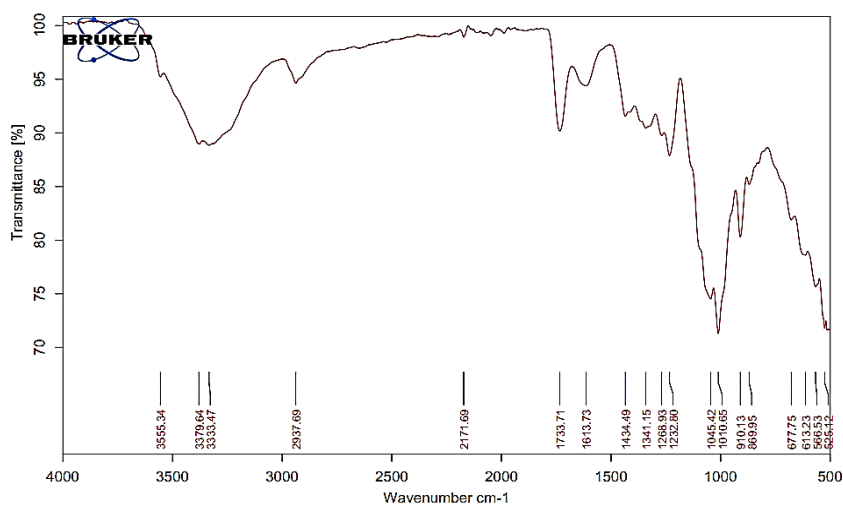
Hiệu suất chiết

Hiệu suất chiết pectin phụ thuộc vào kỹ thuật chiết và các yếu tố khác nhau như acid, thời gian, nhiệt độ. Với phương pháp chiết trong nghiên cứu này là dung môi nước với sự có mặt của axit acetic để điều chỉnh pH = 3, nhiệt độ 70 °C, thời gian 120 phút, hiệu suất chiết đạt 19,52%, cao hơn so với quy trình chiết bằng vi sóng được báo cáo bởi Bayar (2017) [14] và quy trình chiết trong nước không có axit.

Độ ẩm bột pectin

Độ ẩm của pectin đo được là 10,5%, đạt điều kiện độ ẩm nằm trong khoảng 12% được hiệp hội sản xuất pectin quốc tế khuyến nghị.

Kết quả phân tích phổ hồng ngoại FT-IR



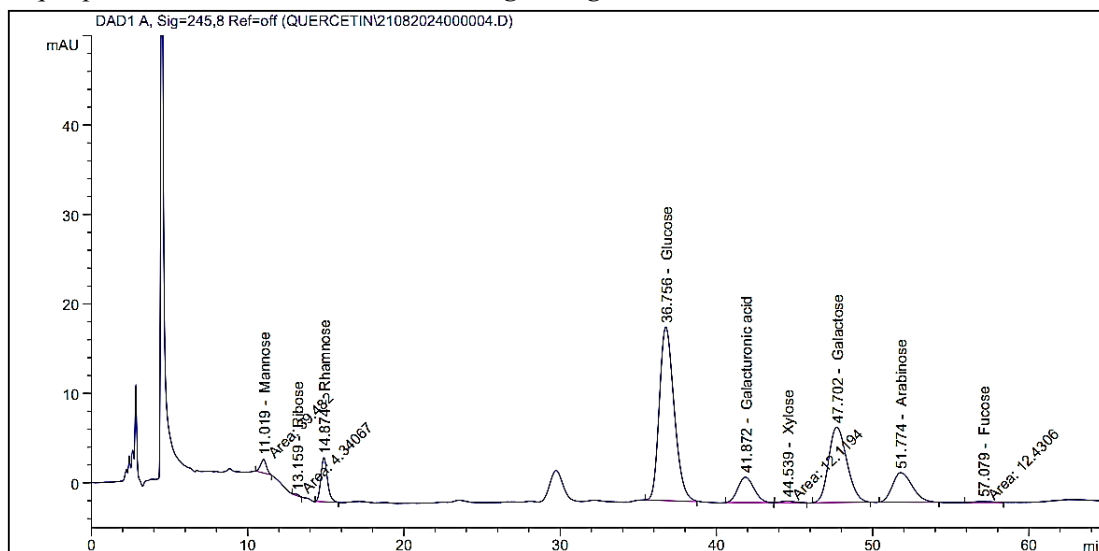
Hình 2. Phổ hồng ngoại FTIR của mẫu pectin thanh long.

Dựa vào kết quả từ phổ hồng ngoại, có thể xác định được các nhóm chức hóa học điển hình của pectin được chiết như sau:

Vùng hấp thụ mạnh và rộng trong dải 3600 cm^{-1} - 3000 cm^{-1} thể hiện dao động dẫn của nhóm O-H do liên kết hydrogen nội phân tử. Cùng với đó, vùng hấp thụ rộng từ 3500 cm^{-1} đến 2500 cm^{-1} cũng đặc trưng cho nhóm O-H trong nội phân tử của galacturonic acid (GalA). Đồng thời nhận thấy peak tại 2937 cm^{-1} tương ứng với sự hấp thụ của nhóm C-H bao gồm các dao động dẫn của CH, CH₂, CH₃.

Peak tại khoảng 1733 cm^{-1} đại diện cho sự có mặt của nhóm carboxyl (C=O) trong carbonyl ester hóa (COOR). Peak yếu tại khoảng 1613 cm^{-1} biểu thị dao động dẫn của nhóm carboxylate (COO⁻). Ở hai peak 1733 cm^{-1} và 1613 cm^{-1} là tín hiệu đặc biệt của cấu trúc pectin. Giá trị tại hai peak này được sử dụng để tính hàm lượng DE của pectin theo công thức (3).

Kết quả phân tích HPLC xác định hàm lượng đường



Hình 3. Phổ HPLC để xác định thành phần và hàm lượng đường trong pectin thân thanh long.

Bảng 1. Thành phần và tỷ lệ monosaccharide của mẫu pectin từ thân thanh long chiết theo điều kiện tối ưu.

STT	Thành phần	Đơn vị	Kết quả	Hàm lượng %
1	Mannose	µg/mg	8,33	1,09
2	Ribose	µg/mg	0,58	0,08
3	Rhamnose	µg/mg	61,67	8,07
4	Glucuronic acid	µg/mg	KPH	0
5	Galacturonic acid	µg/mg	45,87	6,01
6	Glucose	µg/mg	440,31	57,65
7	Galactose	µg/mg	148,17	19,40
8	Arabinose	µg/mg	52,71	6,90

Tỷ lệ monosaccharide	Giá trị
HG	1,46
RG-I	29,81
$\frac{Rha}{GalA}$	1,34
$\frac{Ara + Gal}{Rha}$	4,37
$\frac{GalA}{Rha + GluA + Xyl + Gal + Ara + Fc}$	0,17

Thành phần monosaccharide của mẫu pectin thanh long biểu thị bằng % mol được trình bày trong bảng 1 và hình 3. Từ những kết quả trên cho thấy, glucose là monosaccharide chiếm chủ yếu (57,65 %mol). Mặc dù hàm lượng glucose cao là điều không mong muốn. Tuy nhiên, sự có mặt của các loại đường trung tính như rhamnose, galactose, arabinose, GalA cho thấy sự xuất hiện của vùng RG-I lớn trong cấu trúc của pectin. Hơn nữa, sự xuất hiện của xylose cho biết Xylogalacturonan (XGA) cũng tham gia vào khung cấu trúc của pectin. Thành phần manose chỉ chiếm lượng nhỏ, qua đó cho thấy cấu trúc đường của pectin thanh long bao gồm hemicellulose manns.

Dựa vào các tỷ lệ trong bảng 1,

$$\frac{Rha}{GalA} = \frac{8,07}{6,01} = 1,34$$

cho thấy pectin thân thanh long chủ yếu bao gồm các cấu trúc RG có trong pectin. Tỷ lệ

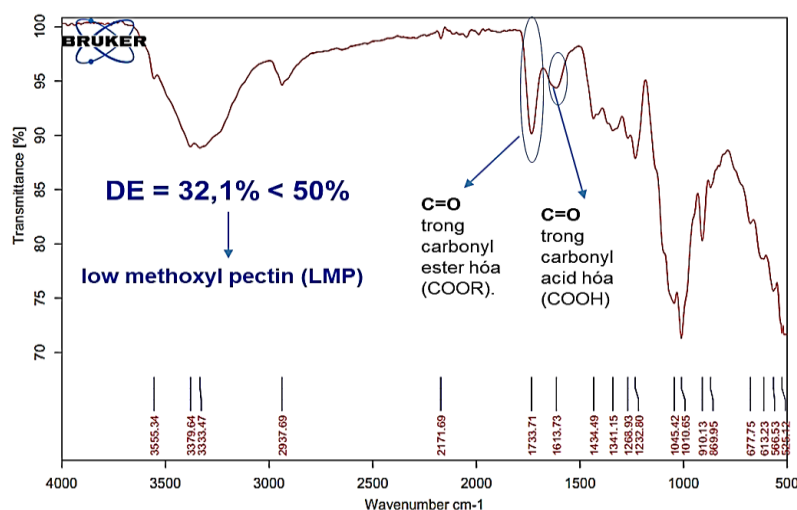
$$\frac{Gala}{Rha + GluA + Xyl + Gal + Ara + Fc} = \frac{6,01}{8,07 + 0,27 + 19,4 + 6,90 + 0,53} = 0,17$$

cho thấy độ tuyến tính của pectin thấp.

Nhìn chung, pectin thanh long thể hiện độ phân nhánh cao tại vùng RG-I khi chiết theo các phương pháp chiết truyền thống sử dụng dung môi là H₂O/acid. Như vậy, thành phần monosaccharide của mẫu pectin thanh long cho thấy mạch nhánh trong cấu trúc được cấu thành chủ yếu từ glucose, arabinose và galactose.

3.2. Xác định giá trị độ ester hóa (DE) và phương pháp tạo gel

Giá trị DE được đo thông qua phần diện tích các peak của nhóm C=O trong COOR và COOH, kết quả tính toán DE = 32,1%, cho thấy pectin thanh long thuộc loại low methoxyl pectin (LMP). Khi chỉ số DE của pectin thấp, nghĩa là tỷ lệ các nhóm –COOH cao thì các liên kết giữa những phân tử pectin khi tạo gel sẽ là liên kết ion thông qua các ion hóa trị hai, đặc biệt là Ca²⁺ và Zn²⁺.



Hình 4. Tính chỉ số ester hóa (DE) từ phổ FTIR.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy với điều kiện chiết ở 70 °C, 180 phút và điều chỉnh pH = 3 bằng acid acetic cho hiệu suất chiết 19,52%. Pectin thu được có độ ẩm 10,5% nằm trong giới hạn cho phép. Các kết quả phân tích bước đầu bằng FTIR xác định được một số nhóm chức đặc trưng của pectin. Đồng thời, từ kết quả phân tích FTIR cũng tính được độ ester hóa DE = 32,1%, pectin thanh long thuộc loại LMP phù hợp để tạo gel trong điều kiện thường nhờ các muối kim loại hóa trị 2 (X²⁺). Kết quả phân tích sơ bộ gel pectin được tạo thành nhờ muối của Zn²⁺ cũng chỉ ra những khác biệt so với pectin ban đầu, cho phép dự đoán các cầu nối -COO-Zn-OOC- đã được hình thành. Kết quả phân tích thành phần, hàm lượng đường làm cơ sở cho việc nghiên cứu xác định cấu trúc hóa học của pectin sau này khi kết hợp với các phương pháp khác như NMR, GPC, FTIR.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam trong đề tài mã số TDPTCB.01/24-26.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. B. L. Ridley, M. A. O'Neill, and D. Mohnen, "Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling," *Phytochemistry*, vol. 57, no. 6, pp. 929-967, (2001).
- [2]. A. Barthlott, R. Brown, and T. P. Portland, "The Cactus Family," ed: Timber Press, (2001).
- [3]. Z. Ghazi et al., "Chemical composition and antioxidant activity of seeds oils and fruit juice of *Opuntia ficus indica* and *Opuntia dillenii* from Morocco," *J. Mater. Environ. Sci.*, vol. 6, no. 8, (2015).

- [4]. J. Castellano, M. D. Marrero, Z. Ortega, F. Romero, A. N. Benitez, and M. R. Ventura, "Opuntia spp. fibre characterisation to obtain sustainable materials in the composites field," *Polymers*, vol. 13, no. 13, p. 2085, (2021).
- [5]. J.-P. Vincken et al., "If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture," *Plant Physiol.*, vol. 132, no. 4, pp. 1781-1789, (2003).
- [6]. F. Naqash, F. Masoodi, S. A. Rather, S. Wani, and A. Gani, "Emerging concepts in the nutraceutical and functional properties of pectin—A Review," *Carbohydr. Polym.*, vol. 168, pp. 227-239, (2017).
- [7]. D. Mohnen, "Pectin structure and biosynthesis," *Curr. Opin. Plant Biol.*, vol. 11, no. 3, pp. 266-277, (2008).
- [8]. N. Muñoz-Almagro, F. Rico-Rodriguez, P. J. Wilde, A. Montilla, and M. Villamiel, "Structural and technological characterization of pectin extracted with sodium citrate and nitric acid from sunflower heads," *Electrophoresis*, vol. 39, no. 15, pp. 1984-1992, (2018).
- [9]. N. Bayar, M. Kriaa, and R. Kammoun, "Extraction and characterization of three polysaccharides extracted from *Opuntia ficus indica cladodes*," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 92, pp. 441-450, (2016).
- [10]. H. Xu, K. Tai, T. Wei, F. Yuan, and Y. Gao, "Physicochemical and in vitro antioxidant properties of pectin extracted from hot pepper (*Capsicum annuum L. var. acuminatum* (Fingerh.)) residues with hydrochloric and sulfuric acids," *J. Sci. Food Agric.*, vol. 97, no. 14, pp. 4953-4960, (2017).
- [11]. J. Lim, J. Yoo, S. Ko, and S. Lee, "Extraction and characterization of pectin from Yuza (*Citrus junos*) pomace: A comparison of conventional-chemical and combined physical-enzymatic extractions," *Food Hydrocoll.*, vol. 29, no. 1, pp. 160-165, (2012).
- [12]. P. Kalegowda, A. Singh Chauhan, and S. Mysore Nanjaraj Urs, "Opuntia dillenii (Ker-gawl) haw fruit peel pectin: Physicochemical, rheological, and functional behavior," *J. Food Process. Preserv.*, vol. 41, no. 5, p. e13165, (2017).
- [13]. M. DuBois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. t. Rebers, and F. Smith, "Colorimetric method for determination of sugars and related substances," *Anal. Biochem.*, vol. 28, no. 3, pp. 350-356, (1956).
- [14]. N. Bayar, T. Bouallegue, M. Achour, M. Kriaa, A. Bougatef, R. Kammoun, "Ultrasonic extraction of pectin from *Opuntia ficus indica cladodes* after mucilage removal: Optimization of experimental conditions and evaluation of chemical and functional properties," *Food Chem.*, vol. 235, pp. 275-282, (2017).

ABSTRACT

Characteristics of pectin extracted from dragon fruit stems in Binh Thuan, Vietnam and gel formation method

Pectin was extracted from dragon fruit stems under conditions of pH 3, at a temperature of 70 °C for 180 minutes, yielding the highest extraction efficiency at 19.52%. The characteristic properties of pectin were also investigated to guide applications in gel formation and to identify its chemical structure. The moisture content was 10.5%, meeting the recommended moisture range of around 12% as suggested by the pectin manufacturers' association. FTIR analysis identified characteristic functional groups in the pectin structure such as O-H, carboxyl (C=O), and C-H groups. The FTIR results also determined the degree of esterification (DE) to be 32.1%, classifying it as low methoxyl pectin (LMP), suitable for gel formation applications with divalent ions. The analysis of sugar content in dragon fruit pectin also provided preliminary insights into its chemical structure.

Keywords: Pectin; Polysaccharide; Extraction; Dragon fruit.