

# KHẢO SÁT MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN ĐIỀU KIỆN THỦY PHÂN VỎ THANH LONG RUỘT ĐỎ (*HYLOCEREUS POLYHIZUS*) BẰNG ENZYME PECTINASE

● NGUYỄN THỊ ANH THƯ - NGUYỄN NGỌC DIỄM MY - PHẠM BẢO NGUYỄN

## TÓM TẮT:

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định các thông số của quá trình thủy phân vỏ thanh long bằng enzyme Pectinex Ultra SP-L ảnh hưởng đến hàm lượng màu betacyanin và hoạt động loại bỏ gốc tự do DPPH. Kết quả nghiên cứu cho thấy, với tỷ lệ vỏ quả thanh long và nước bổ sung theo tỷ lệ 1:2, nhiệt độ 40°C nồng độ enzyme là 0,3% và thời gian 90 phút cho hiệu quả trích ly tốt nhất. Việc sử dụng các điều kiện thích hợp cho quá trình thủy phân bằng cách sử dụng pectinase có thể tạo cơ hội cho việc phát triển các loại thực phẩm và đồ uống có giá trị dinh dưỡng cao và hoạt tính chống oxy hóa cao.

**Từ khóa:** enzyme pectinex, vỏ thanh long ruột đỏ, Betacyanin, DPPH.

## 1. Đặt vấn đề

Thanh long ruột đỏ là loại cây có khả năng phát triển và sinh trưởng tốt, tỷ lệ sâu bệnh thấp, cho sản lượng cao và chất lượng trái ổn định. Thanh long ruột đỏ nặng trung bình 400-450 g, vỏ cứng, có màu đỏ đậm, phần thịt có màu đỏ thẫm như son, hạt đen. Bên cạnh đó, quả thanh long ruột đỏ có thành phần dinh dưỡng cao hơn thanh long ruột trắng, nhất là hàm lượng vitamin. Ngoài hàm lượng lớn chất xơ, vỏ và thịt quả thanh long ruột đỏ còn được quan tâm bởi chứa nhiều polyphenol -

một loại chất chống oxy hóa tự nhiên và là tác nhân chống bệnh ung thư, lão hóa [1]. Do đó, loại trái cây này ngày càng được ưa chuộng và tiêu thụ ở nhiều tỉnh, thành phố trong cả nước. Không chỉ sử dụng ăn tươi, thanh long ruột đỏ còn được sử dụng để chế biến thành nước quả, rượu trái cây, kẹo, mứt [2-3]. Vỏ và thịt quả thanh long ruột đỏ đều có hoạt tính chống oxy hóa cao và chất chống lại các khối u ác tính [4].

Cùng với các chất dinh dưỡng từ thịt quả đã chế biến thành nhiều món hấp dẫn như: thanh long sấy

đẻo, siro, bánh mì,... việc chế biến này đã tạo ra một lượng lớn vỏ quả. Bên cạnh thịt quả, thì vỏ quả cũng đang được các nhà nghiên cứu chú ý đến, bởi trong vỏ quả có chứa chất màu betacyanin [5-6] được xem là một chất màu tự nhiên, được ứng dụng để tạo màu cho nhiều loại thực phẩm khác nhau [7]. Để tận dụng nguồn phế phẩm này và góp phần đa dạng hóa các sản phẩm từ quả thanh long là điều cần được quan tâm. Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định các thông số của quá trình thủy phân vỏ thanh long bằng enzyme Pectinex Ultra SP-L ảnh hưởng đến hàm lượng màu betacyanin và hoạt động loại bỏ gốc tự do DPPH.

**2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu**

**2.1. Nguyên vật liệu**

Nguyên liệu: thanh long ruột đỏ mua tại chợ Trà Vinh, không dập hư hỏng. Thanh long mua về rửa sạch, cắt tai xanh, lấy phần vỏ, bảo quản ngăn mát tủ lạnh. Chế phẩm enzyme Pectinex Ultra SP-L được sản xuất bởi Công ty Novozymes (Đan Mạch), bảo quản ở ngăn mát tủ lạnh (2 đến 8°C).

Hóa chất: acid citric (Trung Quốc), methanol (merck), và ethanol. Trolox (6-hydroxyl-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylicacid, sigma - aldrich, Mỹ). Ethanol (Việt Nam). Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O. DPPH (sigma - aldrich, Mỹ).

**2.2. Phương pháp thí nghiệm (Bảng 1)**

**2.3. Phương pháp phân tích**

**2.3.1. Xác định hoạt chất chống oxy hóa DPPH**

Quy trình phân tích hoạt tính chống oxy hóa DPPH trong mẫu thí nghiệm. Pha loãng mẫu bằng nước cất, sao cho độ giảm hấp thụ lọt vào trong đường chuẩn. Thêm 0,3 ml mẫu đã pha loãng vào 5,7 ml dung dịch B trong ống nghiệm. Vortex ủ 20 phút ở nhiệt độ phòng trong bóng tối. Lắc đều và đo

độ hấp thụ ở 515nm. Mẫu trắng được chuẩn bị bằng cách thay 5,7 ml dung dịch B bằng nước cất.

Khả năng bắt các gốc tự do DPPH của mẫu thử (%) tính bằng công thức:

$$\% = 1 - \frac{A_{sample}}{A_{control}} \times 100$$

Trong đó:

A<sub>sample</sub>: Là độ hấp thụ của mẫu pha với DPPH.

A<sub>control</sub>: Là độ hấp thụ của DPPH không có pha mẫu (dung dịch B).

❖ **Tính toán kết quả**

Dựa vào đường chuẩn để tính toán hoạt tính chống oxy hóa DPPH trong mẫu thí nghiệm.

Kết quả được biểu diễn theo μmol trolox/lít dịch trích (μmol TEAC/L) [8].

**2.3.2. Xác định hàm lượng chất màu betacyanin**

Hàm lượng betacyanin tổng số trong dịch trích vỏ thanh long ruột đỏ được xác định theo phương pháp Wong và Siow (2015) [9]. Mẫu dịch quả thanh long được pha loãng trong dung dịch đệm Mellvaine 0,1M acid citric (30 mL) và 0,2M natri phosphate (70mL) (pH 6,5). Tất cả mẫu thí nghiệm được đo độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 538 nm.

Hàm lượng betacyanin được tính theo công thức:

$$BC (mg/L) = \frac{A * M * F * 1000}{\epsilon * L}$$

Trong đó: BC là hàm lượng betacyanin; A là độ hấp thụ giá trị hấp thụ ở λ<sub>max</sub> (538 nm); M là phân tử lượng betacyanin (M = 550 g/mol); F là hệ số pha loãng; L là độ dày cuvet (cm); ε là hệ số hấp thụ betacyanin trong nước (ε = 60000 L/mol.cm).

**2.4. Xử lý thống kê**

Sử dụng phương pháp phân tích phương sai ANOVA nhằm kiểm định độ tin cậy với mức ý

**Bảng 1. Bảng bố trí các thí nghiệm**

Yếu tố	Thí nghiệm		
	1	2	3
Nhiệt độ (°C)	30, 35, 40, 45, 50	Kết quả thí nghiệm 1	
Nồng độ (%)	0,2	0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5	Kết quả thí nghiệm 2
Thời gian (phút)	60 phút		30, 60, 90, 120, 150

**Bảng 2. Ảnh hưởng các thông số đến điều kiện thủy phân vỏ thanh long**

Các yếu tố ảnh hưởng	Mẫu	DPPH ( $\mu\text{M TEAC}$ )	Hàm lượng betacyanin (mg/l)
Nhiệt độ	Đối chứng	5.844 $\pm$ 24,8 <sup>e</sup>	103,2 $\pm$ 2,44 <sup>e</sup>
	30	7.853 $\pm$ 99,2 <sup>d</sup>	110,24 $\pm$ 5,09 <sup>d</sup>
	35	8.506 $\pm$ 151,5 <sup>c</sup>	127,8 $\pm$ 1,53 <sup>c</sup>
	<b>40</b>	<b>10.001 <math>\pm</math> 51,6<sup>a</sup></b>	<b>142,6 <math>\pm</math> 2,04<sup>a</sup></b>
	45	10.101 $\pm$ 62,4 <sup>a</sup>	144,34 $\pm$ 2,39 <sup>a</sup>
	50	9.597 $\pm$ 290,6 <sup>b</sup>	136,77 $\pm$ 2,77 <sup>b</sup>
Nồng độ	Đối chứng	5.811 $\pm$ 75,7 <sup>d</sup>	105,23 $\pm$ 0,97 <sup>d</sup>
	0,1	8.977 $\pm$ 117,2 <sup>c</sup>	123,32 $\pm$ 2,33 <sup>c</sup>
	0,2	10.010 $\pm$ 24,8 <sup>b</sup>	130,53 $\pm$ 2,56 <sup>b</sup>
	<b>0,3</b>	<b>10.803 <math>\pm</math> 49,6<sup>a</sup></b>	<b>143,86 <math>\pm</math> 2,40<sup>a</sup></b>
	0,4	10.754 $\pm$ 65,6 <sup>a</sup>	142,76 $\pm$ 0,62 <sup>a</sup>
	0,5	10.811 $\pm$ 79,7 <sup>a</sup>	144,34 $\pm$ 1,8 <sup>a</sup>
Thời gian	Đối chứng	5.737 $\pm$ 207,9 <sup>d</sup>	101,2 $\pm$ 2,1 <sup>d</sup>
	30	7.654 $\pm$ 89,4 <sup>c</sup>	116,4 $\pm$ 4,0 <sup>c</sup>
	60	10,77 $\pm$ 62,4 <sup>b</sup>	137,4 $\pm$ 7,2 <sup>b</sup>
	<b>90</b>	<b>11,134 <math>\pm</math> 75,7<sup>a</sup></b>	<b>145,1 <math>\pm</math> 1,5<sup>a</sup></b>
	120	11,084 $\pm$ 87,1 <sup>a</sup>	139,2 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>
	150	11,043 $\pm$ 87,1 <sup>a</sup>	138,8 $\pm$ 1,7 <sup>b</sup>

Giá trị trung bình của 3 lần lặp lại  $\pm$  độ lệch chuẩn.

<sup>a</sup> là giá trị cao nhất, <sup>bcd</sup> là giá trị thấp hơn, <sup>e</sup> là giá trị thấp nhất.

ngĩa 5% để đánh giá sự khác biệt của các kết quả trong thí nghiệm, sử dụng phần mềm thống kê STAGRAPHIC®Centurion XV.

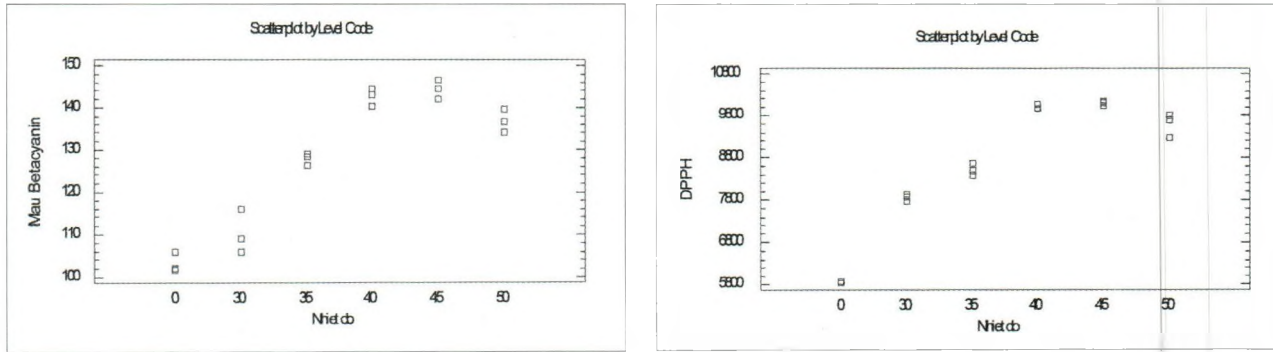
**3. Kết quả và thảo luận**

Qua quá trình thực nghiệm kết quả về mức độ ảnh hưởng của các thông số đến quá trình thủy phân được thể hiện ở Bảng 2:

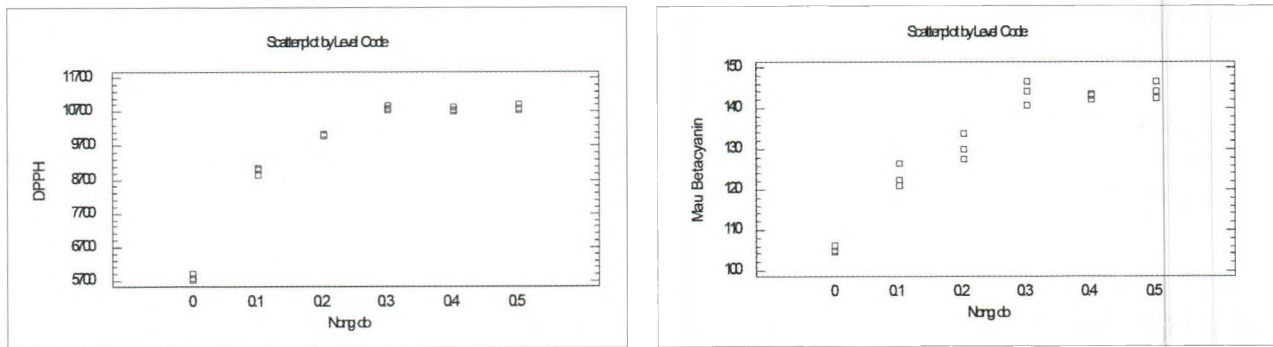
Ở yếu tố nhiệt độ: khi tăng nhiệt độ thủy phân thích hợp sẽ thúc đẩy các phản ứng enzyme. Ngược lại, enzyme đã giảm hoạt tính hoặc bị bất hoạt ở nhiệt độ ngoài phạm vi hoạt động của enzyme. Do ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự ổn định cấu trúc của protein, nên hoạt động của enzym đã bị ảnh hưởng. Kết quả trong Hình 2 cho thấy rõ ràng sự thống nhất của xu hướng này

thông qua việc đánh giá DPPH và hàm lượng betacyanin trong dịch lọc từ quá trình thủy phân. Kết quả thống kê ở Bảng 2 cho thấy, ở nhiệt độ 40°C, giá trị DPPH và betacyanin lần lượt đạt giá trị cao nhất là 10.001  $\pm$  51,56 ( $\mu\text{MTEAC}$ ) và hàm lượng betacyanin tương ứng 142,6  $\pm$  2,04 (mg/l). Khi tăng nhiệt độ lên 45°C thì DPPH và hàm lượng betacyanin vẫn giữ giá trị cao nhất và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với giá trị đạt được ở 40°C. Ngược lại, khi thủy phân ở nhiệt độ ngoài khoảng 40 và 45°C các giá trị DPPH và hàm lượng betacyanin thấp hơn đáng kể. Kết quả này tương tự với nghiên cứu trước đó báo cáo rằng endo-polygalacturonase của pectinex ổn định ở 40°C [10].

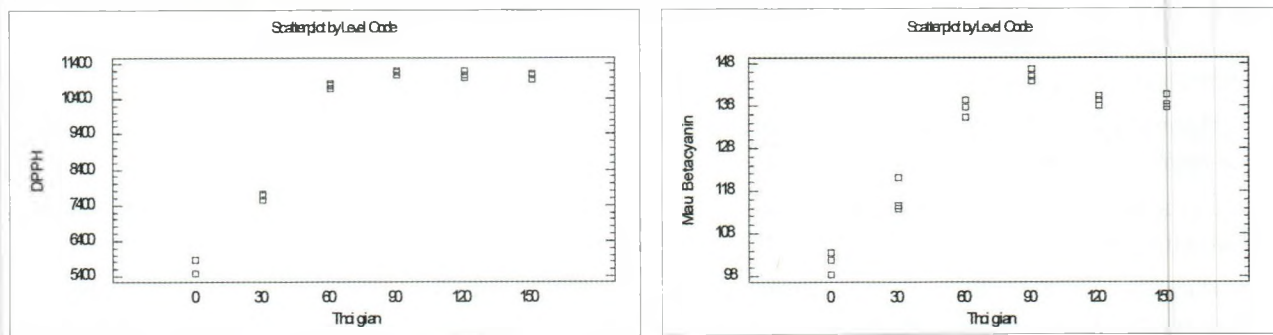
Hình 1: Ảnh hưởng nhiệt độ đến DPPH và hàm lượng betacyanin



Hình 2: Ảnh hưởng của nồng độ đến DPPH và hàm lượng betacyanin



Hình 3: Ảnh hưởng thời gian đến DPPH và hàm lượng betacyanin



Khi nồng độ enzyme thấp, lượng cơ chất nhiều, dẫn đến hiệu quả của quá trình thủy phân thấp. Ngược lại, khi nồng độ enzyme tăng lên, hiệu quả của quá trình thủy phân có xu hướng tăng lên tuyến tính trong một khoảng nồng độ nhất định, sau đó có xu hướng dần ổn định trong cùng một điều kiện khảo sát về nhiệt độ và thời gian thủy phân [11]. Từ kết quả nghiên cứu Hình 2 cho thấy, giá trị DPPH và hàm lượng betacyanin tăng liên tục từ 0 đến 0,3%. Ở mức 0,3% giá trị DPPH và hàm lượng betacyanin đạt giá trị cao nhất là

$10.803 \pm 49.6$  ( $\mu\text{M TEAC}$ ) và  $143.86 \pm 2.40$  (mg/l). Khi tăng nồng độ, thì các giá trị cũng tăng chậm không khác nhau về mặt ý nghĩa, nên chọn nồng độ 0,3% làm cơ sở cho thí nghiệm kế tiếp, giúp tránh sử dụng enzyme lãng phí.

Bên cạnh các yếu tố nhiệt độ và nồng độ thì thời gian ủ cũng là một yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thủy phân. Phản ứng thủy phân với sự xúc tác của enzyme cần một thời gian nhất định để enzyme [E] chuyển cơ chất [S] tạo thành phức [ES]. Phức này tiếp tục cần thời gian để chuyển

hóa thành sản phẩm [P] và giải phóng lại [E]. Tuy nhiên, khi tăng thời gian quá dài, nồng độ cơ chất giảm dần, điều này cũng làm cho hàm lượng DPPH không tiếp tục tăng tuyến tính [12].

Kết quả tại Hình 3 cho thấy, ảnh hưởng của thời gian ủ đến hoạt chất chống oxy hóa DPPH và hàm lượng betacyanin có khác biệt về mặt ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Khi tăng thời gian ủ lên 90 phút thì giá trị DPPH và hàm lượng betacyanin đạt giá trị cao nhất lần lượt là  $11.134 \pm 75,7$  ( $\mu\text{M TEAC}$ ),  $145,1 \pm 1,5$  (mg/l). Khi thời gian ủ được kéo dài đến 120 và 150 phút, các giá trị quan sát được vẫn ở mức cao nhất và không có sự khác biệt

có ý nghĩa thống kê so với các giá trị thu được ở thời gian ủ 90 phút.

#### **4. Kết luận**

Quá trình thủy phân vỏ thanh long sử dụng enzyme pectinase nhằm thu hồi hoạt chất chống oxy hóa DPPH và hàm lượng betacyanin bị ảnh hưởng đáng kể bởi các yếu tố nhiệt độ, nồng độ enzyme và thời gian ủ. Các điều kiện thích hợp cho quá trình thủy phân nhiệt độ  $40^\circ\text{C}$ , nồng độ enzyme 0,3% và thời gian ủ 90 phút. Thu được dịch lọc có hoạt tính sinh học cao, ứng dụng trong ngành chế biến thực phẩm giúp tăng giá trị kinh tế và đa dạng hóa các sản phẩm từ vỏ thanh long ■

#### **Lời cảm ơn:**

*Nghiên cứu này được tài trợ toàn phần bởi Trường Đại học Trà Vinh theo số Hợp đồng số 35/2022/HĐ.HĐKH&ĐT-DHTV.*

#### **TÀI LIỆU THAM KHẢO:**

1. Phebe D., Chew M.K., Suraini A.A., Lai O.M., Janna O.A., (2009). Red-fleshed pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) fruit colour and betacyanin content depend on maturity. *International Food Research Journal*, 16, 233-242.
2. Thanh Tiến (2018). Cây thanh long ruột đỏ trên đất núi. Báo An Giang online. Truy cập tại: <https://baoangiang.com.vn/cay-thanh-long-ruot-do-tren-dat-nui-a234198.html>
3. Thành Hiệp (2012). Hấp dẫn mô hình thanh long ruột đỏ. Truy cập tại <http://news.vinagri.com/2012/10/hap-dan-mo-hinh-trong-thanh-long-ruot-o.html>
4. Li-chenWu, Hsiu-WenHsu, Yun-ChenChen, Chih-ChungChiu, Yu-InLin, Ja-an AnnieHo (2006). Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry*, 95(2), 319-327.
5. Harivaindaran K.V., Rebecca O.P., Chandran S. (2008). Study of optimal temperature, pH and stability of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel for use as potential natural colorant. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(18), 2259-2263.
6. Hui Yi Leong, Pau Loke Show, Miang Hoong Lim, Chien Wei Ooi, Tau Chuan Ling (2018). Natural red pigments from plants and their health benefits. *Food Reviews International*, 34(5), 463-482.
7. Stintzing F.C., Schieber A. and Carle R. (2002). Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton and Rose. *Food Chemistry*, 77, 101-106.
8. W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier and C. Berset (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
9. Wong, Y.M. and Siow, L.F. (2015). Effects of heat, pH, antioxidant, agitation and light on betacyanin stability using red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) juice and concentrate as models. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 3086-3092.
10. F. M. Nor, S. Mohamed, N. A. Idris and R. Ismail (2008). Antioxidative properties Pandanus amaryllifolius leaf extracts in accelerated oxidation and deep fry studies. *Food Chem.*, 110, 319-327.

11. O. R. Fennema (1996). *Food Chemistry*. New York, USA: Marcel Dekker.  
12. Belitz, H.-D, Grosch, W., Schieberle, P. (2009). *Food chemistry*. Berlin: Springer.

**Ngày nhận bài: 6/7/2022**

**Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 27/7/2022**

**Ngày chấp nhận đăng bài: 21/8/2022**

*Thông tin tác giả:*

**1. NGUYỄN THỊ ANH THÚ<sup>1</sup>**

**2. NGUYỄN NGỌC DIỄM MY<sup>1</sup>**

**3. PHẠM BẢO NGUYỄN<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Sinh viên Đại học ngành Công nghệ thực phẩm, khóa 18

Trung tâm Công nghệ sau thu hoạch, Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh

<sup>2</sup>Giảng viên Trung tâm Công nghệ sau thu hoạch

Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh

## EXPLORING SOME FACTORS AFFECTING THE HYDROLYSIS OF RED-FLESH DRAGON FRUIT PEEL BY USING PECTINASES

- NGUYEN THI ANH THU<sup>1</sup>
- NGUYEN NGOC DIEM MY<sup>1</sup>
- PHAM BAO NGUYEN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Student, Institute of Post Harvest Technology  
Faculty of Agriculture - Fisheries, Tra Vinh University

<sup>2</sup>Lecturer, Institute of Post Harvest Technology  
Faculty of Agriculture - Fisheries, Tra Vinh University

### ABSTRACT:

This study is to determine the parameters of the hydrolysis of red-flesh dragon fruit peel by using pectinases. The study's results show that the optimal conditions for this hydrolysis are the 1:2 ratio of red-flesh dragon fruit peel to water, the temperature of 40°C, the 0.3% enzyme concentration, and the processing time of 90 minutes. The use of pectinases with suitable hydrolysis conditions could provide opportunities for the development of foods and beverages which are rich in antioxidants and nutrients.

**Keywords:** pectinases, red-flesh dragon fruit peel, betacyanin, DPPH.