

MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG LÊN KHẢ NĂNG LY TRÍCH VITAMIN C BẰNG ENZYME PECTINASE TỪ QUẢ ỔI NỮ HOÀNG (*PSIDIUM GUAJAVA*.)

● MAI TRẦN XUÂN NGUYÊN - PHẠM NGỌC QUỲNH ANH - LÊ NHƯ BÌNH
- PHẠM THỊ MỘNG NGHI - NGUYỄN NGỌC MINH TRINH - NGUYỄN VĂN Â Y

TÓM TẮT:

Nghiên cứu được thực hiện với mục đích tìm hiểu một số yếu tố ảnh hưởng đến khả năng ly trích vitamin C từ quả ổi nữ hoàng bằng enzyme Pectinase. Trên cơ sở này, ảnh hưởng của độ tuổi quả ổi đến hàm lượng vitamin C, ảnh hưởng của nhiệt độ lên tính chất hoạt hóa của enzyme Pectinase và nồng độ enzyme Pectinase đã được khảo sát. Kết quả phân tích cho thấy thực hiện ly trích theo phương pháp tách ép công nghiệp từ nguyên liệu tươi, bổ sung enzyme Pectinase 0.8%, gia nhiệt ở 40°C trong thời gian 120 phút giúp cải thiện tốt hiệu suất ly trích hàm lượng vitamin C trong quả ổi nữ hoàng (*Psidium guajava*).

Từ khóa: tuổi quả, hàm lượng vitamin C, enzyme Pectinase, ổi nữ hoàng.

1. Đặt vấn đề

Cây ổi (*Psidium guajava*) là loài cây ăn quả thuộc họ Đào kim nương, hiện nay được trồng ở nhiều vùng của nước ta, điển hình tại Cần Thơ, Vĩnh Long, Đồng Tháp và đã trở thành loại quả cây đặc trưng của các vùng miền. Quả ổi được xếp vào loại quả cây giàu dưỡng chất và rất tốt cho sức khỏe, do trong ổi chứa nhiều vitamin C, chất xơ, có lợi cho tiêu hóa, giúp giảm cân, giảm stress, giúp cải thiện làn da. Hiện nay, các giống

ổi được trồng phổ biến là ổi nữ hoàng, ổi lê Đài Loan, ổi Ruby và ổi không hạt. Trong đó, ổi Nữ hoàng được trồng rất nhiều ở khu vực ĐBSCL, do có hàm lượng vitamin C cao hơn so với những giống ổi khác. Ngoài để ăn tươi, việc nghiên cứu ly trích và ứng dụng enzyme trong sản xuất các sản phẩm từ quả ổi nữ hoàng là vấn đề cần được quan tâm, nhằm đa dạng hóa các sản phẩm từ loại quả này, từ đó góp phần đáp ứng nhu cầu của người tiêu dùng hiện nay.

2. Tổng quan nghiên cứu và cơ sở lý thuyết

Trên thế giới, các nước có diện tích trồng ổi lớn nhất hiện nay là: Ấn Độ, Trung Quốc, Hawaii, Malaysia,... Ở Đài Loan, ổi là một món ăn phổ biến, được bán trên nhiều góc phố và chợ đêm trong thời tiết nóng. Ở Đông Nam Á, ổi thường được ăn kèm với hỗn hợp bột khô mặn chua ngọt. Món uống trà lá cây với dịch quả ổi chín được gọi là món “Trà ổi” và món thạch rau câu với nước ép ổi đang thịnh hành ở các nước Brazil, Colombia và Venezuela. Món thạch ổi được dùng làm nhân bánh mì lát để ăn điểm tâm và ăn dặm, kết hợp với uống nước “trà ổi” là cách ăn rất phổ biến ở Nam Mỹ như là thức ăn - bài thuốc của thời đại đang bị ô nhiễm. Quả ổi được xem là một loại cây ăn quả bổ dưỡng có lợi cho cơ thể con người. Trong ổi chứa rất nhiều chất chống oxy hóa và đa dạng khoáng chất tốt cho da. Đặc biệt, quả ổi có hàm lượng vitamin C gấp 3 lần so với quả cam quýt. Ngoài ra, quả ổi còn chứa lycopene và các hợp chất có hoạt tính sinh học khác. Vitamin C đảm nhiệm nhiều chức năng, như: chức năng miễn dịch, thúc đẩy sự hình thành collagen, tham gia vào quá trình chuyển hóa cholesterol và bài tiết chất độc khỏi cơ thể... (Lê Thị Hợp và Nguyễn Thị Hoàng Lan, 2010). Một số nghiên cứu về ly trích và tinh sạch các hoạt chất sinh học từ lá ổi đã được công bố (Hồ Bá Vương và ctv 2015; Lại Thị Ngọc Hà và ctv 2005), tuy nhiên nghiên cứu trên quả ổi nữ hoàng thì còn hạn chế (Nguyễn Thị Huyền Trang 2012). Hơn nữa, việc ứng dụng enzyme và tìm ra điều kiện tối ưu để ly trích nhằm tăng hiệu suất thu hồi các chất là vấn đề được quan tâm, nhất là trong nghiên cứu ly trích các chất từ các loại quả cây hiện nay. Có nhiều nghiên cứu về enzyme Pectinase trong ly trích các sản phẩm từ chuối, chà là,... Tuy nhiên, ứng dụng enzyme này trong ly trích các chất từ quả ổi nữ hoàng còn khiêm tốn. Trên cơ sở đó, việc khảo sát nồng độ enzyme Pectinase cũng như thời gian và nhiệt độ thích hợp đến quá trình ly trích vitamin C từ quả ổi nữ hoàng đã được thực hiện.

3. Phương tiện nghiên cứu

3.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây ổi được canh tác tại xã Trường Long, huyện

Phong Điền, TP. Cần Thơ. Nguyên liệu thí nghiệm là quả ổi nữ hoàng (*Psidium guajava*) trong độ tuổi thuần thực (giai đoạn thu hoạch).

3.2. Nội dung thực hiện

3.2.1. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của độ tuổi quả ổi đến hàm lượng vitamin C và các hợp chất có hoạt tính sinh học trong ổi nữ hoàng.

Mục tiêu: nhằm xác định hàm lượng vitamin C, độ Brix và pH dịch quả theo độ tuổi của quả ổi nữ hoàng từ đó lựa chọn mẫu quả thích hợp cho các thí nghiệm tiếp theo.

Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức độ tuổi quả, gồm: quả non (1 tháng tuổi), quả gần trưởng thành (1,5 tháng tuổi), quả trưởng thành (2 tháng tuổi) và quả chín (2,5 tháng tuổi). Mỗi nghiệm thức có 5 lần lặp lại, 3 quả/lặp lại.

3.2.2. Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của nhiệt độ lên khả năng phân giải của enzyme Pectinase

Mục tiêu: xác định được nhiệt độ thích hợp để enzyme Pectinase có thể hoạt động tối ưu.

Thí nghiệm gồm 5 nghiệm thức nhiệt độ, mỗi nghiệm thức gồm 5 lần lặp lại.

Cách tiến hành: Cho hỗn hợp pectin 1% và dung dịch enzyme Pectinase 1% vào ống nghiệm với tỷ lệ 15:2 (mL). Tiến hành gia nhiệt tại 6 mốc nhiệt độ (°C) 35, 40, 45, 50, 55, 60 bằng phương pháp đun cách thủy ổn định nhiệt với thời gian 90 phút. Sản phẩm tạo thành là acid galacturonic tạo màu với thuốc thử DNS (dinitrosalicylic acid) được đo ở bước sóng 575 nm. Hoạt tính enzyme Pectinase đo bởi lượng đường khử được cắt ra từ pectin bằng phương pháp dinitrosalicylic acid. Một đơn vị hoạt tính enzyme Pectinase được đo bởi 1 μ mol galacturonic acid giải phóng trong 1 phút trên 1 mL. Sử dụng đường chuẩn D-galacturonic acid.

3.2.3. Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của nồng độ enzyme Pectinase và thời gian trích ly vitamin C từ quả ổi nữ hoàng

Mục tiêu của thí nghiệm là xác định thời gian xử lý và nồng độ phức hệ enzyme Pectinase bổ sung nhằm tăng hiệu suất ly trích vitamin C từ ổi nữ hoàng.

Cách tiến hành: Quả ổi nữ hoàng sau khi rửa sạch được đem cân định lượng 1 kg mẫu/nghiệm thức và xay nhuyễn. Thí nghiệm gồm 2 nhân tố

(nồng độ enzyme và thời gian xử lý) được thực hiện ở điều kiện nhiệt độ thích hợp nhất (chọn từ nghiệm thức tốt nhất của thí nghiệm nhiệt độ). Quá trình xử lý với enzyme Pectinase các nồng độ 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8% và 1% trong các khoảng thời gian 1 giờ, 2 giờ và 3 giờ. Mỗi nghiệm thức gồm 5 lần lặp lại.

Định lượng vitamin C của dịch quả (mg/100 g trọng lượng quả tươi): Hàm lượng vitamin C (ascorbic acid) của dịch quả được xác định theo phương pháp của Muri (1900; được trích dẫn bởi Nguyễn Minh Chơn et al., 2005, và Nguyễn Thị Huyền Trang và ctv., 2012) dựa trên tính khử của 2,6-dichlorophenol indophenol.

Hàm lượng vitamin C được xác định theo công thức:

$$X_{\text{vitamin C}} = \frac{(a - b) \times 0.088 \times V \times 100}{v \times m}$$

Trong đó: X: hàm lượng vitamin C (mg/100g)

V: thể tích tổng của dịch ổi (mL)

v: thể tích sử dụng để chuẩn độ (mL)

m: khối lượng thịt ổi được sử dụng trong 100mL.

a: thể tích DIP sử dụng để chuẩn độ mẫu thật (mL)

b: thể tích DIP sử dụng để chuẩn độ mẫu đối chứng (mL)

Độ Brix dịch quả (%): Hàm lượng chất khô hòa tan tổng số (°Bx) được xác định bằng chiết quang kế hiện số Atago (Nhật Bản) theo TCVN 414:1987

pH dịch quả: pH của dịch quả được đo trực tiếp bằng máy pH cầm tay hiệu Hanna, do Nhật Bản sản xuất.

Hoạt tính enzyme Pectinase đo bởi lượng đường khử được cắt ra từ pectin bằng phương pháp dinitrosalicylic acid. Một đơn vị hoạt tính enzyme Pectinase được đo bởi 1 μmol galacturonic acid giải phóng trong 1 phút trên 1 mL. Sử dụng đường chuẩn D-galacturonic acid.

Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được thu

Bảng 1. Ảnh hưởng của độ tuổi ổi đến hàm lượng Vitamin C, pH và độ Brix trong dịch quả ổi nữ hoàng

Độ tuổi	Vitamin C (mg/100 gram tươi)	pH	Brix
Quả non (1 tháng tuổi)	49,63 ^d	4,45	6,3 ^b
Quả gần trưởng thành (1,5 tháng tuổi)	54,5 ^c	4,43	6,17 ^b
Quả trưởng thành (2 tháng tuổi)	81,08 ^b	4,49	6,1 ^b
Quả chín (2,5 tháng tuổi).	149,01 ^a	4,30	9,47 ^a
F	**	ns	**
CV(%)	1,9	1,8	9,2

Trong cùng một cột, các số có ký tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê; **: khác biệt thống kê ở mức 1%, ns: không khác biệt thống kê.

thập và xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS 21.0. Phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định Duncan được sử dụng để kết luận về sự sai khác giữa trung bình các nghiệm thức ở mức độ ý nghĩa $P < 0,05$.

4. Kết quả và thảo luận

Kết quả khảo sát cho thấy theo từng độ tuổi phát triển của ổi, hàm lượng vitamin C, độ pH, độ Brix trong dung dịch quả ổi nữ hoàng có sự chuyển biến đáng kể (Bảng 1). Nhìn chung, hàm lượng vitamin C và độ Brix của dịch ổi nữ hoàng có sự thay đổi theo độ tuổi quả, trong đó loại quả chín (2,5 tháng tuổi) có hàm lượng vitamin C và độ Brix cao nhất (lần lượt là 149,01 mg/g TLT và 9,47%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê 1% so với các nghiệm thức quả còn lại. Tuy nhiên, pH dịch quả giữa các nghiệm thức quả lại không khác biệt ý nghĩa thống kê.

4.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên khả năng phân giải của enzyme Pectinase

Chế phẩm enzyme thương mại thường chứa nhiều phức hợp enzyme (Nguyễn Đức Lượng, 2004). Pectinase thương mại là một phức hệ enzyme bao gồm Pectinase, hemicellulose, cellulase và protease. Khi bổ sung chế phẩm enzyme vào dịch quả thì phức hợp các enzyme sẽ

lần lượt phân cắt các thành phần cấu tạo của tế bào như pectin cellulose, hemicellulose. Kết quả của việc này làm phá vỡ cấu trúc thành tế bào, đây vốn là cơ quan che chở bên ngoài của tế bào làm giải phóng các thành phần bên trong bao gồm cả nước và các hợp chất tan (Nguyễn Công Hà và ctv., 2014). Hợp chất pectin và hemicellulose thường tồn tại ở vách tế bào của các loại rau quả. Trong quá trình nghiền và trích ly dịch quả, các hợp chất này sẽ phóng thích cùng với dịch quả làm cho dịch quả có trạng thái keo. Do đó, dịch quả không thoát ra được trong quá trình ép và dịch quả có tính sệt và độ nhớt cao, khả năng giữ nước lớn. Vì thế, việc trích ly dịch quả bằng cách lọc rất khó khăn và hiệu suất trích ly dịch quả không cao (Đặng Thị Thu, 2004). Enzyme Pectinase hoạt động ở khoảng pH 4,0 - 5,0 và nhiệt độ 30 - 50°C (Nguyễn Văn Mùi, 2011). Nhìn chung, mỗi loại enzyme có nhiệt độ tối thích nhất định nên khi tăng hay giảm nhiệt độ ngoài khoảng tối ưu thì hiệu quả xúc tác sẽ giảm. Kết quả Bảng 2 cho thấy khi cho enzyme Pectinase tác dụng với cơ chất pectin và gia nhiệt ở nhiều mức nhiệt độ khác nhau (từ 35 - 60°C). Sản phẩm tạo thành là acid galacturonic tạo màu với thuốc thử DNS. Hoạt tính enzyme đo bởi lượng đường khử được tạo thành từ pectin bằng phương pháp Miller. Kết quả cho thấy, hoạt tính enzyme hoạt động tối ưu nhất (2,53) ở mức nhiệt 40°C và giảm dần ở nhiệt độ dưới hoặc trên 40°C, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% (Bảng 2).

4.2. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ enzyme Pectinase và thời gian trích ly vitamin C từ quả ổi nữ hoàng (Bảng 3)

Khi gia tăng nồng độ enzyme Pectinase, hàm

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên tính hoạt hóa của enzyme Pectinase

Nghiem thứ (Nhiệt độ, độ C)	Hoạt tính của Enzyme pectinase
35	0,68 ^{de}
40	2,53 ^a
45	1,61 ^b
50	1,27 ^c
55	0,72 ^d
60	0,41 ^e
F	**
CV(%)	18.2

Trong cùng một cột, các số có ký tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê; **: khác biệt thống kê ở mức 1%.

lượng vitamin C có xu hướng gia tăng theo. Trong đó, nồng độ enzyme 0,8% cho hàm lượng vitamin C cao nhất (173,26 mg/100g TLT) và khác biệt ở mức 1% so với các nồng độ còn lại, tuy nhiên không khác biệt so với nồng độ enzyme 1% (173,15 mg/100g TLT). Điều này có thể được giải thích do Pectinase phân giải pectin và protopectin không hòa tan trong thịt quả, tạo điều kiện để dịch bào thoát ra nhiều hơn, đồng thời việc này làm gia tăng lượng chất khô hòa tan trong dịch quả (Tapre and Jain, 2014). Kết quả ở Bảng 3 cũng cho thấy thời gian ly trích có tác động đến hàm lượng vitamin C hình thành, trong đó hàm lượng vitamin C cao nhất là ở thời gian ly trích 2 và 3 giờ (lần lượt là 151,06

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme Pectinase và thời gian ly trích đến hàm lượng Vitamin C (mg/100g TLT) trong quả ổi nữ hoàng

Nồng độ enzyme Pectinase (%)	Thời gian xử lý (giờ) (B)			
	1	2	3	Trung bình (A)
0,2	115,57 ^{def}	120,15 ^{de}	128,25 ^{de}	121,32 ^d
0,4	138,92 ^{de}	142,56 ^{de}	125,31	135,60 ^c
0,6	146,32 ^d	147,14 ^d	153,47 ^c	148,97 ^b
0,8	153,18 ^c	173,54 ^a	173,07 ^a	173,26 ^a

Nồng độ enzyme Pectinase (%)	Thời gian xử lý (giờ) (B)			
	1	2	3	Trung bình (A)
1	170,96 ^b	173,89 ^a	173,54 ^a	172,13 ^a
Trung bình (B)	148,99 ^b	151,06 ^a	150,73 ^a	
F Nồng độ E (A)	**			
F Thời gian (B)	**			
F (A x B)	**			
CV (%)	8,6			

Trong cùng một cột hay hàng, các số có ký tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê; **: khác biệt thống kê ở mức 1%.

và 151,73 mg/100g TLT). Khác biệt có ý nghĩa thống kê 1% so với thời gian ly trích 1 giờ.

Mặt khác, kết quả thống kê ở Bảng 3 cũng cho thấy có sự tương tác có ý nghĩa thống kê 1% giữa nồng độ Pectinase và thời gian ly trích đến hàm lượng vitamin C trong quả ổi nữ hoàng. Trong đó, nghiệm thức nồng độ Pectinase 0,8% với thời gian ly trích 2 và 3 giờ cho hàm lượng vitamin C cao nhất (lần lượt là 173,54 và 173,07 mg/100g TLT) so với các nghiệm thức còn lại, nhưng lại không khác biệt

so với nghiệm thức Pectinase 1% ở thời gian thủy phân 2 và 3 giờ (lần lượt là 173,89 và 173,54 mg/100g TLT).

5. Kết luận

Hàm lượng vitamin C và độ Brix của dịch quả ổi nữ hoàng cao nhất ở giai đoạn quả chín. Đồng thời, trong quá trình ly trích vitamin C của loại trái này cho thấy có thể sử dụng Pectinase nồng độ 0,8% với thời gian ly trích 2 giờ ở nhiệt độ 40°C đã cho thấy có hiệu quả cao ■

Lời cảm ơn:

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Cần Thơ. Mã số đề tài: TSV2022-53.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Hồ Bá Vương, Nguyễn Xuân Duy, Nguyễn Anh Tuấn. (2015). Ảnh hưởng của điều kiện chiết đến hàm lượng polyphenol và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết từ lá ổi (*Psidium guajava*L.), *Tạp chí Dược học*, 473, 33-38.
2. Lại Thị Ngọc Hà, Vũ Thị Thoan, Trần Văn Hiếu. (2012). Polyphenol từ lá ổi: hàm lượng, khả năng kháng oxy hóa và điều kiện tách chiết. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm* 8(4).
3. Lê Thị Hợp và Nguyễn Thị Hoàng Lan. (2010). *Giáo trình Dinh dưỡng*. NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ.
4. Nguyễn Minh Chơn, Phan Thị Bích Trâm, Nguyễn Thị Thu Thủy. (2005). *Giáo trình thực tập sinh hóa*. Tủ sách Đại học Cần Thơ.
5. Tapre, A. R. and Jain, R. K. (2014). Pectinases: Enzymes for fruit processing industry. *Int. Food Res. J.*, 21(2): 447-453.

Ngày nhận bài: 6/10/2022

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 6/11/2022

Ngày chấp nhận đăng bài: 16/11/2022

Thông tin tác giả:

1. MAI TRẦN XUÂN NGUYỄN¹

2. PHẠM NGỌC QUỲNH ANH¹

3. LÊ NHƯ BÌNH¹

4. PHẠM THỊ MỘNG NGHI¹

5. NGUYỄN NGỌC MINH TRINH¹

6. NGUYỄN VĂN ÂY^{2*}

¹Viện Công nghệ sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

²Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả chịu trách nhiệm

SOME FACTORS AFFECTING THE VITAMIN C EXTRACTION ABILITY FROM “QUEEN” GUAVA BY USING PECTINASE ADDITION

● MAI TRAN XUAN NGUYEN¹

● PHAM NGOC QUYNH ANH¹

● LE NHU BINH¹

● PHAM THI MONG NGHI¹

● NGUYEN NGOC MINH TRINH¹

● NGUYEN VAN AY²

¹Institute of Food and Biotechnology

²College of Agriculture, Can Tho University

ABSTRACT:

The study examines the factors affecting the vitamin C extraction ability from “Queen” guava (*Psidium guajava*.) by using pectinase addition. The study explores the impact of temperature extraction on the the activity of pectinase and the pectinase concentration, and the impact of guava age on the content of vitamin C. The study finds out that if the industrial extraction method is used for fresh materials with 0.8% pectinase at 40°C for 120 minutes, the extraction efficiency of vitamin C from “Queen” guava will be improved.

Keywords: fruit age, vitamin C content, pectinase, *Psidium guajava*.