

ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH TIỀN XỬ LÝ DỊCH ÉP VỎ DƯA HẤU BẰNG ENZYME PECTINASE ĐẾN CHẤT LƯỢNG DỊCH VỎ THU HỒI

Vi Nhã Trân, Trần Tường Vi, Nguyễn Thị Yến Vi, Lê Thị Thanh Thảo, Phạm Võ Minh Thuận, Nguyễn Minh Thuận, Nguyễn Ngọc Trang Thùy, Nguyễn Phúc Huy

TÓM TẮT

Title: Effect of pretreating watermelon rind juice with enzyme pectinase on the quality of the recovered rind juice

Từ khóa: Dưa hấu, độ dẫn điện, enzyme, L-citrulline, tổng chất rắn hòa tan

Keywords: Electrical conductivity, enzyme, L-citrulline, total dissolved solids, watermelon

Lịch sử bài báo

Ngày nhận bài: 03/04/2024

Ngày nhận kết quả bình duyệt: 11/04/2024

Ngày chấp nhận đăng bài: 09/07/2024

Tác giả: Trường Đại học Kỹ thuật – Công nghệ Cần Thơ,

Email liên hệ: vntran@ctuetc.edu.vn

Dưa hấu (*Citrullus lanatus*) là cây trồng phổ biến tại Việt Nam và chủ yếu được dùng ăn tươi. Thịt quả được khai thác triệt để tạo ra các sản phẩm đa dạng trên thị trường nhưng vỏ dưa hấu đều bị thải bỏ ra môi trường. Mục đích của nghiên cứu là xác định các yếu tố của tiền xử lý nguyên liệu bằng enzyme pectinase ảnh hưởng đến chất lượng nước dịch ép vỏ để chế biến các sản phẩm nước uống lên men từ vỏ dưa hấu. Enzyme pectinase được sử dụng để thủy phân pectin nhằm nâng cao hiệu suất thu hồi dịch vỏ, đánh giá chất lượng nước ép vỏ qua các chỉ tiêu như độ brix, pH dịch lọc, hàm lượng L-citrulline, tốc độ lọc, tổng chất rắn hòa tan (TDS) và độ dẫn điện. Kết quả cho thấy, khi xử lý dịch vỏ dưa hấu bằng chế phẩm enzyme pectinase với nồng độ bổ sung 0,04%, pH dịch ép là 5,5 cho hiệu suất thu hồi dịch đạt 80,26% với tốc độ lọc 45,06 ml/phút. Khi ủ enzyme tại 35°C trong 90 phút cho kết quả TDS = 8125,33 ppm với độ dẫn điện 14190 μ S/cm, hàm lượng L-citrulline đạt 1215,84 mg/L.

ABSTRACT

Watermelon (*Citrullus lanatus*) is a popular crop in Vietnam and is mainly used freshly. The pulp is thoroughly exploited to create a variety of products on the market, however, the watermelon rind is all thrown away into the environment. The study aimed to determine the factors of pretreatment of raw materials with the enzyme pectinase that affected the quality of watermelon rind juice for processing fermented drinks from watermelon rind. Pectinase was used to hydrolyze pectin to improve the efficiency of rind juice recovery, evaluate the quality of the rind juice through the value of brix, pH, the L-citrulline content, filtration speed, total dissolved solids (TDS) and conductivity. The results showed that when treating watermelon rind juice with pectinase 0,04%, pH 5.5, the recovery efficiency was 80.26% with the filtration rate of 45.06 ml/min. When incubating the enzyme at 35°C for 90 minutes, the results were TDS = 8125.33 ppm, conductivity of 14190 μ S/cm, L-citrulline content reached 1215.84 mg/L.

1. Giới thiệu

Dưa hấu là một loại trái cây nhiệt đới phổ biến và được trồng rải vụ quanh năm ở đồng bằng sông Cửu Long. Khi nhu cầu sử

dụng và chế biến sản phẩm từ dưa hấu ngày càng tăng thì vỏ dưa hấu thải ra môi trường như một phụ phẩm ngày càng lớn. Với thành phần chiếm đến 30 - 35% tổng khối

lượng quả và giàu L-citrulline hơn thịt quả (Rimando và Perkins-Veazie, 2005). Vỏ dưa hấu là một nguồn tài nguyên tốt nên được tận dụng để tiêu thụ L-citrulline, một loại acid amin rất quan trọng trong việc sản xuất nitric oxide để cải thiện sức khỏe tim mạch, tăng cường miễn dịch và các lợi ích về sức khỏe tình dục (Ridwan et al., 2018), đồng thời đa dạng hóa cho sản phẩm từ dưa hấu. Ngoài ra, trong nghiên cứu của Hind Abdallah (2017), trong vỏ dưa hấu còn có độ ẩm dao động từ 85-95%, carbohydrate dao động từ 62,00 - 87,14% (căn bản khô), trong khi hàm lượng chất béo rất thấp. Kali là khoáng chất chủ yếu và dao động trong khoảng 100,50 - 489,24 mg/100 g, vitamin C (2,50 - 8,30 mg/100 g), vitamin B6 (0,060 - 0,150 mg/100 g) và vitamin E (0,01 - 0,04 mg/100 g) (Abu-Hiamed, 2017).

Theo Shruti et al. (2022) thì vỏ dưa hấu được bổ sung vào sản phẩm như bơ trái cây, bánh quy, mayonnaise, kẹo dẻo, bánh bông lan (Dubey et al., 2022). Tuy nhiên, ứng dụng của vỏ dưa hấu trong ngành nước giải khát vẫn còn hạn chế. Ở Việt Nam, dưa hấu được trồng rộng rãi có sản lượng lớn và hầu như đều bị bỏ đi. Vì vậy vấn đề đặt ra cho các nhà công nghệ thực phẩm là tìm ra các biến số để tạo ra các sản phẩm từ vỏ dưa hấu nhằm nâng cao giá trị sử dụng của loại quả này và giải quyết vấn đề ô nhiễm môi trường.

Thông thường, các ngành công nghiệp chế biến thực phẩm và trái cây sử dụng nhiều loại enzyme để nâng cao chất lượng sản phẩm cũng như giảm chi phí sản xuất. Enzyme được xem là chất xúc tác sinh học và tăng tốc độ các phản ứng sinh học khác nhau (Jadaun, 2018). Một trong số đó có enzyme pectinase, một enzyme có lợi trong quá trình tách nước trái cây và làm trong nước trái cây có hàm lượng pectin cao. Tuy nhiên trong quá trình sử dụng enzyme này,

một số yếu tố sẽ ảnh hưởng đến tốc độ phản ứng của enzyme pectinase như nồng độ enzyme và nồng độ cơ chất, nhiệt độ (Phạm Thị Trân Châu và Phan Tuấn Nghĩa, 2007), pH (Whitaker et al., 2002), thời gian ủ enzyme (Nguyễn Nhật Minh Phương & cs., 2011). Do đó trong quá trình chế biến sản phẩm nước uống từ vỏ dưa hấu với quá trình tiền xử lý bằng enzyme pectinase, sẽ không tránh khỏi các thành phần dinh dưỡng và chất lượng của vỏ dưa bị ảnh hưởng. Vì vậy vấn đề nghiên cứu về điều kiện tiền xử lý dịch ép vỏ dưa hấu bằng enzyme pectinase là rất cần thiết. Bên cạnh đó, với kết quả nghiên cứu được có thể định hướng cho các đề tài trong tương lai để sản xuất các sản phẩm nước giải khát từ vỏ dưa hấu khi có sử dụng enzyme pectinase cho quá trình tiền xử lý nguyên liệu.

2. Nguyên vật liệu và phương pháp

2.1. Nguyên vật liệu

Dưa hấu Thành Long (ruột đỏ, có hạt) được mua tại nhà vườn quận Bình Thủy, Thành phố Cần Thơ. Quả dưa hấu sau khi mua về sẽ được rửa sạch bằng dung dịch NaCl 10% rồi được rửa lại dưới vòi nước chảy để loại bỏ đất, bụi và vi sinh vật bám trên vỏ dưa hấu. Dùng dao bằng thép không gỉ để tách riêng vỏ và thịt quả. Vỏ dưa hấu sẽ được ép bằng máy ép trái cây ở nhiệt độ phòng. Dịch ép được tiếp tục lọc qua giấy lọc bằng thiết bị lọc chân không được loại bỏ các thành phần lơ lửng của thịt quả. Dịch lọc từ nguyên liệu được xem là mẫu đối chứng. Mẫu đối chứng được xác định chỉ tiêu đánh giá ngay sau khi ép.

2.2. Bố trí thí nghiệm

2.2.1. Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ enzyme pectinase bổ sung và pH của dịch quả đến chất lượng dịch quả thu hồi

Vỏ dưa hấu sau khi ép thu lấy dịch vỏ, cân 50 g dịch vỏ dưa hấu rồi bổ sung

enzyme pectinase với tỉ lệ lần lượt là 0,02%; 0,04%; 0,06% (w/w) và điều chỉnh pH của dịch quả ở pH 3,5; 4,5; 5,5 bằng acid citric và sodium carbonate bão hòa. Sau đó ủ ở 45°C trong thời gian 45 phút. Tiếp theo bất hoạt enzyme ở 90°C trong 5 phút. Dùng giấy lọc để thu hồi dịch quả. Xác định các chỉ tiêu đánh giá và so sánh với mẫu đối chứng.

2.2.2. Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ủ enzyme pectinase đến chất lượng dịch quả thu hồi

Thí nghiệm được chuẩn bị tương tự mục 2.2.1 nhưng mẫu được ủ ở nhiệt độ lần lượt là 25°C, 35°C, 45°C trong thời gian lần lượt là 15, 45 và 90 phút. Tiếp theo bất hoạt enzyme ở 90°C trong 5 phút. Dùng giấy lọc để thu hồi dịch quả. Xác định các chỉ tiêu đánh giá và so sánh với mẫu đối chứng.

2.3. Các chỉ tiêu đánh giá

Hiệu suất thu hồi (%):

$$H (\%) = \frac{m_i}{m_o} \times 100\%$$

Với m_i là khối lượng dịch ép thu được sau khi đã tiến xử lý (g)

m_o là khối lượng dịch ép trước khi đem tiến xử lý (g) ($m_o = 50$ g)

Hàm lượng L-citrulline (mg/L): Các mẫu được chuẩn bị và đo độ hấp thụ bằng máy quang phổ UV-Vis tại bước sóng 490 nm (Wenge et al., 2010). Hàm lượng L-citrulline được tính theo phương trình đường chuẩn đã được xây dựng ($y = 551,92x + 18,176$; $R^2 = 0,99$). Hàm lượng L-citrulline của mẫu phân tích:

$$X (\text{mg/L}) = x * f$$

Trong đó: f là hệ số pha loãng mẫu.

x là l-citruline sau pha loãng (mg/L)

X là hàm lượng L-citrulline trong mẫu ban đầu (mg/L)

Độ Brix và giá trị pH: Độ Brix xác định bằng dụng cụ brix kế, pH bằng máy đo pH để bàn.

Tốc độ lọc v (ml/phút): Đong thể tích dịch trước khi lọc là V (ml). Bấm đồng hồ từ lúc lọc cho tới khi quá trình lọc kết thúc để xác định thời gian lọc là t (phút).

$$v = \frac{V}{t}$$

Tổng chất rắn hòa tan TDS (ppm) và độ dẫn điện EC ($\mu\text{S/cm}$): xác định bằng thiết bị đo chất lượng nước cầm tay.

2.4. Xử lý kết quả

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần lặp. Các số liệu khảo sát được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và phân tích thống kê bằng phần mềm Statgraphics Centurion XV.I để xác định mức độ khác biệt ý nghĩa 5%.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của tỉ lệ enzyme pectinase bổ sung và pH của dịch quả đến chất lượng dịch quả thu hồi

Việc sản xuất các loại nước ép trái cây và rau quả bị ảnh hưởng bởi các phương pháp xử lý khác nhau. Các enzyme tạo điều kiện cho quá trình trích ly nước trái cây và cải thiện chất lượng sản phẩm. Ngoài ra, enzyme giúp làm mềm các mô thực vật nên dẫn đến việc giải phóng các thành phần trong tế bào giúp cho quá trình trích ly thu được năng suất cao. Vì vậy thí nghiệm khảo sát về tỉ lệ enzyme pectinase bổ sung và giá trị pH góp phần làm rõ về ứng dụng của enzyme trong việc cải thiện chất lượng dịch quả thu hồi. Kết quả ảnh hưởng của tỉ lệ enzyme pectinase bổ sung và pH dịch ép đến chất lượng dịch lọc thu hồi được trình bày ở bảng 1 và bảng 2.

Bảng 1. Kết quả ảnh hưởng của tỉ lệ enzyme pectinase bổ sung và pH của dịch quả đến hiệu suất thu hồi, hàm lượng L-citrulline và tốc độ lọc của dịch ép

Tỉ lệ enzyme pectinase (%)	pH	Chỉ tiêu đánh giá		
		Hiệu suất thu hồi (%)	Hàm lượng L-citrulline (mg/L)	Tốc độ lọc (ml/phút)
Mẫu đối chứng (*)		55,68 ± 0,001	1277,47 ± 125,954	19,93 ± 0,0132
0,02	3,5	72,73 ^e	1086,51 ^c	99,08 ^a
	4,5	76,24 ^c	1105,46 ^c	38,17 ^e
	5,5	74,20 ^{de}	1111,53 ^{bc}	29,17 ^h
0,04	3,5	74,52 ^d	1135,45 ^{ab}	80,62 ^b
	4,5	72,84 ^e	1133,05 ^{ab}	33,62 ^f
	5,5	80,26 ^a	1142,62 ^a	45,06 ^d
0,06	3,5	76,18 ^c	1132,87 ^{ab}	75,90 ^c
	4,5	77,92 ^b	1147,40 ^a	31,68 ^g
	5,5	75,14 ^{cd}	1151,27 ^a	44,03 ^d
		F = 27,57	F = 0,45	F = 332,90
		P = 0,0000	P = 0,7720	P = 0,0000

Ghi chú: () số liệu trung bình của 3 lần lặp lại. Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột biểu thị sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%*

Kết quả nghiên cứu thể hiện ở Bảng 1 cho thấy khi bổ sung enzyme pectinase thì hiệu suất thu hồi dịch quả và tốc độ lọc cao hơn nhưng hàm lượng L-citrulline giảm đi so với mẫu không có sử dụng enzyme pectinase. Kết quả hiệu suất thu hồi và tốc độ lọc có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các mẫu có nồng độ enzyme bổ sung và pH dịch ép khác nhau. Tuy nhiên hai nhân tố này không tương tác đồng thời và ảnh hưởng đến hàm lượng L-citrulline. Tại nồng độ enzyme 0,04% và pH 5,5 cho hiệu suất thu hồi cao nhất, hàm lượng L-citrulline tại nồng độ 0,06% enzyme pectinase lớn nhất tại pH 4,5 và không khác biệt thống kê tại pH 5,5. Ngược lại khi nồng độ enzyme bổ sung ít nhất là 0,02% tại pH thấp nhất là 3,5 thì tốc độ lọc đạt giá trị cao nhất.

Cụ thể là khi nồng độ enzyme pectinase bổ sung càng nhiều thì trong quá trình nghiền dịch quả, pectin trong vỏ dưa hấu (Nguyễn Kim Đông & cs., 2020) sẽ phóng thích theo làm cho độ nhớt cao, trích ly nước khó. Khi bổ sung pectinase vào quá trình nghiền thì enzyme sẽ phân cắt các thành phần cấu tạo trên thành tế bào, phá vỡ cấu trúc và giải phóng các thành phần bên trong tế bào (Nguyễn Minh Thủy & cs., 2013). Chính vì vậy lượng dịch quả tăng lên đáng kể, hiệu suất thu hồi dịch quả tăng lên; tuy nhiên khoảng giá trị pH tối ưu của mỗi enzyme khác nhau, phụ thuộc vào loại enzyme và nguồn thu nhận của enzyme (Whitaker et al., 2002). Joshi & cs. (2008) cũng cho rằng pH cũng ảnh hưởng đến hoạt động của enzyme (Joshi et al., 2008). Tuy nhiên với khoảng pH có tính acid 3,5 - 5,5, L-citrulline tồn tại ở dạng trung tính (Curis et al., 2005) trong thịt vỏ quả cho nên hàm lượng L-citrulline chỉ bị ảnh hưởng bởi lượng dịch quả thu hồi

được mà không bị ảnh hưởng bởi giá trị pH của dịch ép, do đó lượng quả thu hồi tăng khi nồng độ enzyme tăng.

Mặt khác, trong vỏ dưa hấu ngoài thành phần pectin, L-citrulline thì trong vỏ dưa hấu còn chứa carbohydrate và khoáng chất, vì vậy enzyme pectinase chỉ tác động trên cơ chất pectin, điều này làm cho các thành phần khác không bị phân hủy nên khó đi qua được giấy lọc, gây nên hiện tượng tắc nghẽn trên giấy lọc. Điều này giải thích rằng khi enzyme được bổ sung càng nhiều nhưng pH tăng sẽ làm hoạt động enzyme giảm đi đáng kể, dẫn đến hiệu suất lọc giảm đi. Mặc dù Seifzadeh & cs. (2018) cho rằng enzyme giúp làm giảm quá trình tắc nghẽn nhưng trong nghiên cứu của tác giả, kết quả cũng cho thấy nồng độ enzyme tăng thì dòng permeate càng tăng nhưng khi nồng độ enzyme đạt đến giới hạn nào đó, cụ thể là

17,4% pectinase thì tùy loại hợp chất trong dòng permeate tăng (đối với phenol tổng) hoặc giảm (đối với tannin tổng).

Ngoài ra, lượng enzyme thêm vào và pH của dịch ép cũng ảnh hưởng đến các kết quả khác như độ brix, pH sau lọc, TDS và EC. Cụ thể là độ Brix giảm đi so với mẫu đối chứng nhưng không bị ảnh hưởng đồng thời bởi hai nhân tố là lượng enzyme bổ sung và pH của dịch ép. Giá trị pH dịch lọc tăng khi pH ban đầu tăng nhưng giảm khi tỉ lệ enzyme tăng khi cùng pH ban đầu. Tổng chất rắn hòa tan cũng có chiều hướng thay đổi tương tự với giá trị pH. Tuy nhiên độ dẫn điện giảm đi so với mẫu chưa xử lý và đạt giá trị cao nhất tại 0,04% pectinase và pH 5,5.

Bảng 2. Kết quả ảnh hưởng của tỉ lệ enzyme pectinase bổ sung và pH của dịch quả đến độ brix, giá trị pH, nồng độ muối và độ dẫn điện sau tiền xử lý

Tỉ lệ enzyme pectinase (%)	pH	Chỉ tiêu đánh giá			
		Độ brix	Giá trị pH	Tổng chất rắn hòa tan (ppm)	Độ dẫn điện ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
Mẫu đối chứng (*)		$3,83 \pm 0,289$	$4,90 \pm 0,055$	$6512,50 \pm 2,50$	
0,02	3,5	$3,5^a$	$3,43^{fg}$	$7669,00^f$	$13674,00^g$
	4,5	$3,5^a$	$4,44^e$	$7956,33^e$	$14321,00^f$
	5,5	$3,5^a$	$5,72^a$	$8120,33^a$	$14572,00^b$
0,04	3,5	$3,5^a$	$3,40^g$	$7636,00^h$	$13675,30^g$
	4,5	$3,5^a$	$4,48^d$	$8027,00^c$	$14363,00^e$
	5,5	$3,4^b$	$5,61^c$	$8049,00^b$	$14613,00^a$
0,06	3,5	$3,5^a$	$3,45^f$	$7652,00^g$	$13704,00^g$
	4,5	$3,5^a$	$4,45^e$	$7956,00^e$	$14405,30^d$
	5,5	$3,5^a$	$5,67^b$	$8003,00^d$	$14488,30^c$
		F = 4,00	F = 14,45	F = 112,67	F = 19,12
		P = 0,0171	P = 0,0000	P = 0,0000	P = 0,0000

Ghi chú: (*) số liệu trung bình của 3 lần lặp lại. Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột biểu thị sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%

Từ kết quả bảng 2 có thể thấy quá trình tiền xử lý bằng enzyme pectinase không ảnh hưởng đến hàm lượng chất khô hòa tan trong dịch ép, điều này có nghĩa những chất rắn lơ lửng trong dung dịch (TSS: Total Suspended Solids) đã bị giữ lại trên bề mặt giấy lọc, cho nên độ brix của dịch lọc không thay đổi hoặc thay đổi rất ít. Trong nghiên cứu của tác giả Phan Thị Kiều Linh (2020) pectinase được thêm vào càng nhiều sẽ làm tăng độ brix (Phan Thị Kiều Linh, 2020). Tuy nhiên trong công nghiệp nước giải khát lên men, pH dung dịch được điều chỉnh thấp hơn 6,0 để quá trình lên men diễn ra tốt, do đó hoạt động của enzyme bị giảm đi (Joshi et al., 2008). Vì vậy trong nghiên cứu này, ngoài pH dịch ép thì quá trình lọc cũng ảnh hưởng lượng chất rắn lơ lửng trong dịch ép. Do đó giá trị brix trong nghiên cứu có kết quả ngược lại với tác giả Phan Thị Kiều Linh.

Đối với giá trị pH, ở hai giá trị pH 3,5 và 4,5, cùng một lượng enzyme bổ sung thì pH sau lọc đều giảm đi so với pH dịch ép ban đầu và mẫu chưa xử lý. Nguyên nhân là do trong quá trình thủy phân pectin bằng pectinase đi kèm với việc giải phóng các oligome galacturonic acid (Ninga et al., 2021). Tuy nhiên ở pH 5,5 thì kết quả pH trong dịch lọc có chiều hướng tăng lên. Điều này chứng tỏ trong dịch lọc của thành phần bị ảnh hưởng bởi pH và enzyme pectinase. Theo Considine và Kulik (2008), giá trị pI của L-citrulline là 5,9 (Considine & Kulik, 2008), vì vậy có thể giải thích rằng trong dịch lọc có chứa L-citrulline và khi pH dịch ép càng gần giá trị pI thì giá trị pH sẽ tăng lên. Ngoài ra, theo kết quả của bảng 1, hàm lượng L-citrulline không bị ảnh hưởng bởi enzyme và pH nhưng sự xuất hiện của L-citrulline trong dịch lọc sẽ làm thay đổi giá trị pH.

Đối với kết quả tổng chất rắn hòa tan, ngược lại với phần chất rắn lơ lửng nằm trên giấy lọc thì các chất rắn hòa tan đi qua lỗ lọc bị ảnh hưởng nhiều bởi thành phần enzyme, pH dịch ép và quá trình lọc (thể hiện qua giá trị $F = 112,67$) hơn so với các chỉ tiêu đánh giá khác. Như vậy trong dịch sau lọc, các chất rắn hòa tan có thể là các acid amin (L-citrulline), galacturonic acid được giải phóng sau quá trình thủy phân pectin và các khoáng chất. Các thành phần tăng lên khi nồng độ pectinase tăng và pH tăng. Tuy nhiên độ dẫn điện dịch sau lọc giảm đi và giảm ít nhất tại 0,04% enzyme và pH 5,5. Sự giảm độ dẫn điện của dịch vỏ dưa hấu sau khi xử lý có thể là do hiện tượng chelat hóa tồn tại giữa một số cation và nhóm anion của quá trình thủy phân pectinase. Mặt khác, trong vỏ dưa hấu có chứa đường và khoáng chất là các ion như K^+ , Na^+ ,... (Abu-Hamed, 2017). Do đó các ion âm từ các muối khoáng sẽ tương tác với các ion H^+ làm giảm pH và độ dẫn điện. Kết quả nghiên cứu tương tự có sự chiều thay đổi về độ dẫn điện như nghiên cứu của nhóm tác giả Ninga (Ninga et al., 2021). Tóm lại, tỉ lệ enzyme pectinase sẽ không ảnh hưởng đến L-citrulline nhưng ảnh hưởng đến pH của dịch lọc, tổng các chất hòa tan và khoáng chất. Ở nồng độ enzyme 0,04% và pH 5,5 có hiệu suất thu hồi dịch quả cao nhất, các giá trị TDS, EC và hàm lượng L-citrulline cao cho nên với nồng độ và pH thích hợp này được dùng cố định cho thí nghiệm sau.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ủ enzyme pectinase đến đến chất lượng dịch quả thu hồi

Nhiệt độ và thời gian thủy phân có ảnh hưởng rất lớn đến phản ứng enzyme. Khi enzyme hoạt động ở điều kiện nhiệt độ cao hơn nhiệt độ tối ưu thì hoạt tính của enzyme sẽ bị giảm hoặc bị mất hoạt tính

(Khatrī et al., 2015). Nếu thời gian quá ngắn không đủ thủy phân, lượng dịch quả thu hồi ít và khả năng làm trong dịch quả thấp. Ngược lại thời gian thủy phân quá dài sẽ không làm trong thêm dịch quả mà còn làm tổn thêm nhiều thời gian cho quá trình tiền xử lý nguyên liệu (Suresh & Thangavelu, 2010). Kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ và

thời gian ủ enzyme pectinase đến chất lượng dịch lọc thu hồi được trình bày ở bảng 3 và bảng 4.

Bảng 3. Kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ủ enzyme pectinase đến hiệu suất thu hồi, hàm lượng L-citrulline và tốc độ lọc của dịch ép

Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	Chỉ tiêu đánh giá		
		Hiệu suất thu hồi (%)	Hàm lượng L- citrulline (mg/L)	Tốc độ lọc (ml/phút)
Mẫu đối chứng (*)		55,68 ± 0,001	1277,47 ± 125,954	19,93 ± 0,0132
25	15	52,82 ^d	1249,88 ^b	3,33 ^a
	45	57,60 ^b	1268,09 ^{ab}	1,72 ^c
	90	53,48 ^d	1157,89 ^d	0,46 ^g
35	15	55,58 ^c	1288,51 ^a	3,13 ^a
	45	50,06 ^e	1155,32 ^d	1,92 ^b
	90	47,52 ^f	1215,84 ^c	0,29 ^h
45	15	53,50 ^d	1204,80 ^c	1,56 ^d
	45	68,30 ^a	1137,29 ^d	1,09 ^e
	90	45,54 ^g	1209,96 ^c	0,77 ^f
		F = 131,56	F = 31,65	F = 225,10
		P = 0,0000	P = 0,0000	P = 0,0000

Ghi chú: (*) số liệu trung bình của 3 lần lặp lại. Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột biểu thị sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%

Kết quả nghiên cứu thể hiện ở Bảng 3 cho thấy nhiệt độ 45°C và thời gian ủ 45 phút thu được hiệu suất thu hồi cao nhất nhưng hàm lượng L-citrulline cao nhất ở nhiệt độ thấp hơn là 35°C và thời gian ủ ngắn là 15 phút làm cho quá trình lọc xảy ra nhanh hơn. Cả ba chỉ tiêu đánh giá là hiệu suất thu hồi, hàm lượng L-citrulline và tốc độ lọc đều bị ảnh hưởng đồng thời của hai nhân tố nhiệt độ và thời gian.

Nhiệt độ hoạt động thích hợp của enzyme pectinase hoạt động vào khoảng 30 - 50°C, tuy nhiên pectinase từ *Aspergillus* hoạt động tốt ở nhiệt độ trên 50°C (Khatrī et al., 2015). Ở nhiệt độ vào khoảng 70°C, phần lớn enzyme bị mất hoạt động, gọi là nhiệt độ tới hạn (Phạm Thị Trân Châu và

Phan Tuấn Nghĩa, 2007). Kết quả nghiên cứu cho thấy tại nhiệt độ 45°C, hoạt động của enzyme diễn ra mạnh. Tuy nhiên thời gian quá ngắn là 15 phút thì không đủ pectinase thủy phân pectin trong dịch ép vỏ dưa hấu, thời gian quá dài là 90 phút thì hiệu suất thu hồi giảm đi khá nhanh và nhỏ hơn mẫu đối chứng, điều này chứng tỏ dưới tác dụng của nhiệt, thời gian càng dài thì dịch ép vỏ dưa hấu sẽ bị biến tính bởi một thành phần khác trong vỏ dưa hấu. Ngoài ra, Zhang (2023) cũng chỉ ra rằng tại nhiệt độ 30 - 50°C và pH 5 - 8 là điều kiện cho enzyme polyphenol oxidase (PPO) hoạt động tốt (Zhang, 2023). Do đó tại nhiệt độ khảo sát và pH thực hiện thí nghiệm là 5,5 có thể đã hoạt hóa hoạt tính của PPO trong

dịch ép vỏ dừa hầu với hàm lượng polyphenol có trong vỏ dừa hầu là $63,33 \pm 1,455$ mg TAE/g (Dieng et al., 2017). Do đó tốc độ lọc tại điều kiện nhiệt độ và thời gian này sẽ giảm đi. Hàm lượng L-citrulline cũng bị giảm đi nhưng bị ảnh hưởng không đáng

kể so với hai chỉ tiêu đánh giá còn lại (thể hiện qua giá trị $F = 31,65$).

Bảng 4. Kết quả ảnh hưởng của tỉ lệ enzyme pectinase bổ sung và pH của dịch quả đến độ brix, giá trị pH, nồng độ muối và độ dẫn điện sau tiền xử lý

Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	Chỉ tiêu đánh giá			
		Độ brix	Giá trị pH	Tổng chất rắn hòa tan (ppm)	Độ dẫn điện (μs/cm)
Mẫu đối chứng (*)		3,83 ± 0,289	4,90 ± 0,055	6512,50 ± 2,50	16184 ± 4,00
25	15	3,50 ^a	4,49 ^e	7381,67 ^f	13689,00 ^{cd}
	45	3,50 ^a	4,50 ^{de}	7594,00 ^e	13564,70 ^d
	90	3,00 ^b	4,51 ^d	8013,00 ^{ab}	14331,00 ^a
35	15	3,00 ^b	4,53 ^c	8038,67 ^a	14099,00 ^{ab}
	45	3,00 ^b	4,55 ^b	7915,00 ^{bc}	13891,30 ^{bc}
	90	3,00 ^b	4,55 ^b	8125,33 ^a	14190,00 ^a
45	15	3,00 ^b	4,56 ^b	7793,00 ^d	13871,00 ^{bc}
	45	2,90 ^c	4,56 ^b	7863,67 ^{cd}	14291,00 ^a
	90	3,00 ^b	4,58 ^a	7785,33 ^d	14286,00 ^a
		F = 4,05	F = 5,29	F = 24,38	F = 9,26
		P = 0,0317	P = 0,0054	P = 0,0000	P = 0,0003

Ghi chú: (*) số liệu trung bình của 3 lần lặp lại. Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột biểu thị sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%

Các chỉ tiêu đánh giá còn lại là độ brix, giá trị pH, tổng chất rắn hòa tan và độ dẫn điện của dịch vỏ đã xử lý đều bị ảnh hưởng bởi hai nhân tố nhiệt độ và thời gian ủ enzyme khi xét về mặt thống kê có ý nghĩa 5%. Ngoài ra, các mẫu đều có khuynh hướng giảm giá trị so với mẫu chưa xử lý nhưng tổng chất rắn hòa tan dễ dàng đi qua giấy lọc, cho kết quả TDS cao hơn mẫu đối chứng và cũng là chỉ tiêu đánh giá bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ và thời gian ủ nhiều hơn ba chỉ tiêu còn lại ($F = 24,38$). Đối với trái cây, tổng chất rắn hòa tan cao là điều mong muốn. Các chất rắn hòa tan trong mẫu bao gồm các khoáng chất hòa tan, carbohydrate (đường) và các hóa chất hòa tan khác như acid amin, enzyme,... (Saxena et al., 2014). Tuy nhiên với tác động của nhiệt độ và thời gian ủ, pH của dịch lọc giảm đi, cùng với sự

xuất hiện của các ion kim loại đã kìm hãm hoạt động của enzyme, dẫn đến độ brix và độ dẫn điện giảm đi. Nguyên nhân được giải thích tương tự như kết quả ở bảng 2, là do hoạt động của enzyme pectinase tại nhiệt độ và thời gian thích hợp, pectin bị phân hủy, đã giải phóng các nhóm carboxylic, làm cho pH giảm, đồng thời các cation kim loại trong vỏ dừa hầu sẽ tương tác với monome acid galacturonic hoặc các phân tử oligome có trong môi trường do đó độ dẫn điện giảm đi ở thời gian 15 và 45 phút. Tuy nhiên thời gian ủ kéo dài đến 90 phút thì độ dẫn điện lại tăng lên là do sự giảm pH xảy ra trong khoảng thời gian này và sự chiếm ưu thế của các loại acid galacturonic liên hợp bởi pH của các mẫu lớn hơn giá trị pK_a của dung dịch đệm của acid galacturonic (Ninga et al., 2021). Tóm lại nhiệt độ và thời gian ủ có

ảnh hưởng đến hoạt động của enzyme, do đó các chỉ tiêu đánh giá đều bị ảnh hưởng bởi hai nhân tố này. Tại nhiệt độ 45°C và 45 phút cho kết quả hiệu suất thu hồi cao nhất, tuy nhiên kết hợp với kết quả của thí nghiệm 1 có thể thấy hiệu suất thu hồi ở thí nghiệm 2 thấp hơn thí nghiệm 1. Vì vậy đối với ép vỏ dưa hấu, quá trình tiền xử lý bằng enzyme pectinase ở pH acid thì không cần ủ enzyme nhằm đảm bảo các hợp chất trong vỏ không bị ảnh hưởng.

4. Kết luận

Vỏ dưa hấu với các thành phần dinh dưỡng rất có lợi cho sức khỏe của con người, đặc biệt là nguồn nguyên liệu giàu L-citrulline có thể nghiên cứu, khai thác và

thu hồi L-citrulline hoặc pectin. Tuy nhiên trong thực tế, vỏ dưa hấu vẫn chưa khai thác triệt để và bị lãng phí khi bị loại bỏ ra môi trường. Với lượng nước chứa nhiều trong vỏ, vỏ dưa hấu có thể dùng làm nguyên liệu để sản xuất các loại nước uống như nước ép, nước giải khát hoặc nước lên men. Qua nghiên cứu này, kết quả đã cho thấy nguyên liệu vỏ dưa hấu sau khi ép nếu sử dụng enzyme pectinase để xử lý nhằm làm trong dịch ép và tăng hiệu suất thu hồi thì các thông số về nồng độ enzyme, pH dịch ép được điều chỉnh để phù hợp cho quá trình lên men cho các sản phẩm nước lên men, nhiệt độ và thời gian ủ enzyme đều ảnh hưởng đến chất lượng của dịch ép vỏ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abu-Hamed, H. (2017). Chemical Composition, Flavonoids and β -sitosterol Contents of Pulp and Rind of Watermelon (*Citrullus lanatus*) Fruit. *Pakistan Journal of Nutrition*, 16, 502-507. doi:10.3923/pjn.2017.502.507
- Considine, G. D., & Kulik, P. H. (2008). Amino acids. In *Van Nostrand's Scientific Encyclopedia Tenth Edition* (Vol. 1, pp. 184 - 190).
- Curis, E., Nicolis, I., Moinard, C., Osowska, S., Zerrouk, N., Bénazeth, S., & Cynober, L. (2005). Almost all about citrulline in mammals. *Amino Acids*, 29(3), 177-205. doi:10.1007/s00726-005-0235-4
- Phạm Thị Trân Châu & Phan Tuấn Nghĩa (2007). *Enzyme và ứng dụng*: Nhà xuất bản Giáo dục.
- Dieng, S. I. M., Diallo, A. J., FALL, A. D., Diatta-Badji, K., Diatta, W., Sarr, A., & Bassene, E. (2017). Total polyphenols and flavonoids contents of aqueous extracts of watermelon red flesh and peels (*Citrullus lanatus*, Thunb). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(5), 801-803.
- Dubey, S., Rajput, H., & Batta, K. (2022). Utilization of Watermelon Rind (*Citrullus lanatus*) in Various Food Preparations: A Review. *Chemical Science Review and Letters*, 11(41), 77-82.
- Nguyễn Kim Đông, Lê Hùng Mạnh & Lâm Thị Huyền Trân (2020). Chiết xuất pectin từ vỏ dưa hấu ứng dụng chế biến mứt đông khóm và nha đam. *Hue University Journal of Science: Natural Science*, 129, 69-75. doi:10.26459/hueuni-jns.v129i1C.5538
- Jadaun, J. (2018). Pectinase: A Useful Tool in Fruit Processing Industries. *Nutrition*

- & *Food Science International Journal*, 5. doi:10.19080/NFSIJ.2018.05.555673
- Joshi, V., Parmar, M., & Rana, N. (2008). Purification, characterization of pectinase produced from apple pomace and its evaluation in the fruit juice extraction and clarification. *Journal of Biotechnology - J BIOTECHNOL*, 136. doi:10.1016/j.jbiotec.2008.07.1866
- Khatri, B., Bhattarai, T., Shrestha, S., & Maharjan, J. (2015). Alkaline thermostable pectinase enzyme from *Aspergillus niger* strain MCAS2 isolated from Manaslu Conservation Area, Gorkha, Nepal. *SpringerPlus*, 4, 488. doi:10.1186/s40064-015-1286-y
- Phan Thị Kiều Linh (2020). Đánh giá hiệu quả của enzyme pectinase đến quá trình thu hồi dịch nho - dâu tằm. *Tạp chí công thương*, 18, 101-111.
- Ninga, K. A., Carly Desobgo, Z. S., De, S., & Nso, E. J. (2021). Pectinase hydrolysis of guava pulp: effect on the physicochemical characteristics of its juice. *Heliyon*, 7(10), e08141. doi:10.1016/j.heliyon.2021.e08141
- Nguyễn Nhật Minh Phương, Chế Văn Hoàng, Lý Nguyễn Bình & Châu Trần Diễm Ái (2011). Tác động enzyme pectinase đến khả năng trích ly dịch quả và các điều kiện lên men đến chất lượng rượu vang xoài sau thời gian lên men chính. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*(20a), 127-136.
- Ridwan, R., Abdul Razak, H. R., Adenan, M., & Saad, W. (2018). Separation of L-arginine and L-citrulline in Red And Yellow Crimson Watermelon (*Citrullus Lanatus*) Juices Extract using HPLC Gradient Mode. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 22, 785-793. doi:10.17576/mjas-2018-2205-06
- Rimando, A. M., & Perkins-Veazie, P. M. (2005). Determination of citrulline in watermelon rind. *J Chromatogr A*, 1078(1-2), 196-200. doi:10.1016/j.chroma.2005.05.009
- Saxena, D., Sabikhi, L., Chakraborty, S. K., & Singh, D. (2014). Process optimization for enzyme aided clarification of watermelon juice. *J Food Sci Technol*, 51(10), 2490-2498. doi:10.1007/s13197-012-0720-1
- Suresh, B., & Thangavelu, V. (2010). Optimization and kinetics of pectinase enzyme using *Aspergillus niger* by solid-state fermentation. *Indian Journal of Science and Technology*, 3. doi:10.17485/ijst/2010/v3i8/29899
- Nguyễn Minh Thủy, Nguyễn Thị Nếp, Nguyễn Phú Cường, Nguyễn Thị Mỹ Tuyền, Đinh Công Dinh & Hồ Thanh Hương Thủy (2013). Khảo sát ảnh hưởng của các thành phần bổ sung và điều kiện xử lý đến chất lượng nước khóm – chanh dây. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 27(b), 48-55.
- Wenge, L., Zhao, S., Cheng, Z., Wan, X., Yan, Z., & King, S. R. (2010). Lycopene and citrulline contents in watermelon (*Citrullus lanatus*) fruit with different ploidy and changes during fruit development. *Acta Horticulturae*, 871, 543-550. doi:10.17660/ActaHortic.2010.871.75
- Whitaker, J. R., Voragen, A. G. J., & Wong, D. W. S. (2002). *Handbook of Food Enzymology*. Boca Raton: CRC Press.
- Zhang, S. (2023). Recent Advances of Polyphenol Oxidases in Plants. *Molecules*, 28(5). doi:10.3390/molecules28052158