

KỸ THUẬT - CÔNG NGHỆ

NGHIÊN CỨU CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN HIỆU SUẤT
THỦY PHÂN NARINGIN TRONG NƯỚC CAM
BỞI ENZYME NARINGINASETrần Ngọc Điệp^{1*}, Lâm Thị Huyền Trân¹,
Đặng Xuân Đào¹, Nguyễn Ngọc Quý¹

Tóm tắt

Cam sành (*Citrus sinensis*) khó đưa vào chế biến công nghiệp vì nước cam bị đắng do chất naringin. Chất này có thể được loại bỏ bằng cách sử dụng enzyme naringinase. Nước cam sau khi được khử chất đắng có thể chế biến ra nhiều loại sản phẩm khác nhau. Vì vậy, mục đích của nghiên cứu là tìm điều kiện thích hợp cho enzyme naringinase thủy phân naringin trong nước cam. Trong quá trình thủy phân có nhiều yếu tố ảnh hưởng như nhiệt độ, pH, nồng độ enzyme và thời gian. Kết quả nghiên cứu cho thấy: nhiệt độ, pH, nồng độ enzyme và thời gian thích hợp cho enzyme naringinase thủy phân naringin trong nước cam là 50°C; 4,0; 0,2% và 1,5 giờ.

Từ khóa: nước cam, thủy phân, naringin, naringinase.

Abstract

Orange juice is difficult to process industrially because it is bitter due to naringin. This substance can be eliminated using the enzyme naringinase. Orange juice, after being de-bitter, can be processed into many different products. Therefore, the aim of the study is to find suitable conditions for the enzyme naringinase to hydrolysis naringin in orange juice. In the hydrolysis process, there are many influencing factors such as temperature, pH, enzyme concentration and time. The study results showed that the appropriate temperature, pH, enzyme concentration and time for the enzyme naringinase to hydrolysis naringin in orange juice were 50°C and 4.0, 0.2% and 1.5 hours.

Keywords: orange juice, hydrolysis, naringin, naringinase.

1. GIỚI THIỆU

Theo Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tỉnh Vĩnh Long, cây cam sành là một trong những loại cây ăn trái có tốc độ phát

triển nhiều nhất trong thời gian qua do liên tục nhiều năm giá cam sành trên thị trường ổn định ở mức khá cao (trung bình hơn 10.000 đồng/kg). Cùng với đó, nhà vườn áp dụng kỹ thuật canh tác mới có thể nâng năng suất cam sành lên từ 70 đến 100 tấn/ha (7 đến 10 tấn/công).

¹ Trường Đại học Cửu Long

* Người chịu trách nhiệm bài viết: Trần Ngọc Điệp
(Email: tranngocdiep@mku.edu.vn)

Với năng suất cao cộng với giá bán tốt nên người trồng cam sành thu lợi nhuận cao, bình quân 300 đến 500 triệu đồng/ha/năm. Đó chính là nguyên nhân làm cho nhiều người đổ xô trồng cam và thuê thêm đất, kể cả đất trồng lúa để trồng cam sành, đẩy giá thuê đất tăng lên từ 7 đến 9 triệu đồng/công/năm.

Hiện nay, toàn tỉnh Vĩnh Long có hơn 17.000 ha cam sành, tăng gần 3.000 ha so năm 2020. Cam sành được trồng nhiều nhất tại huyện Trà Ôn (gần 10.000 ha), huyện Tam Bình (hơn 3.300 ha), huyện Vũng Liêm (hơn 2.800 ha) (Huy, 2023).

Theo ông Nguyễn Văn Liêm, Phó Giám đốc Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tỉnh Vĩnh Long cho biết, trong sản xuất nông nghiệp nói chung và đối với cây cam sành nói riêng, ngành nông nghiệp luôn quan tâm tư vấn hỗ trợ kỹ thuật, khuyến cáo đầy đủ hàng năm cho nông dân thông qua các cuộc tập huấn, hội thảo, thông báo giá cả hàng hóa nông sản... nhưng có lẽ do lợi nhuận trước mắt thu được từ việc trồng cam sành trong thời gian qua là khá cao nên nhiều bà con đã “chạy theo” cây trồng này.

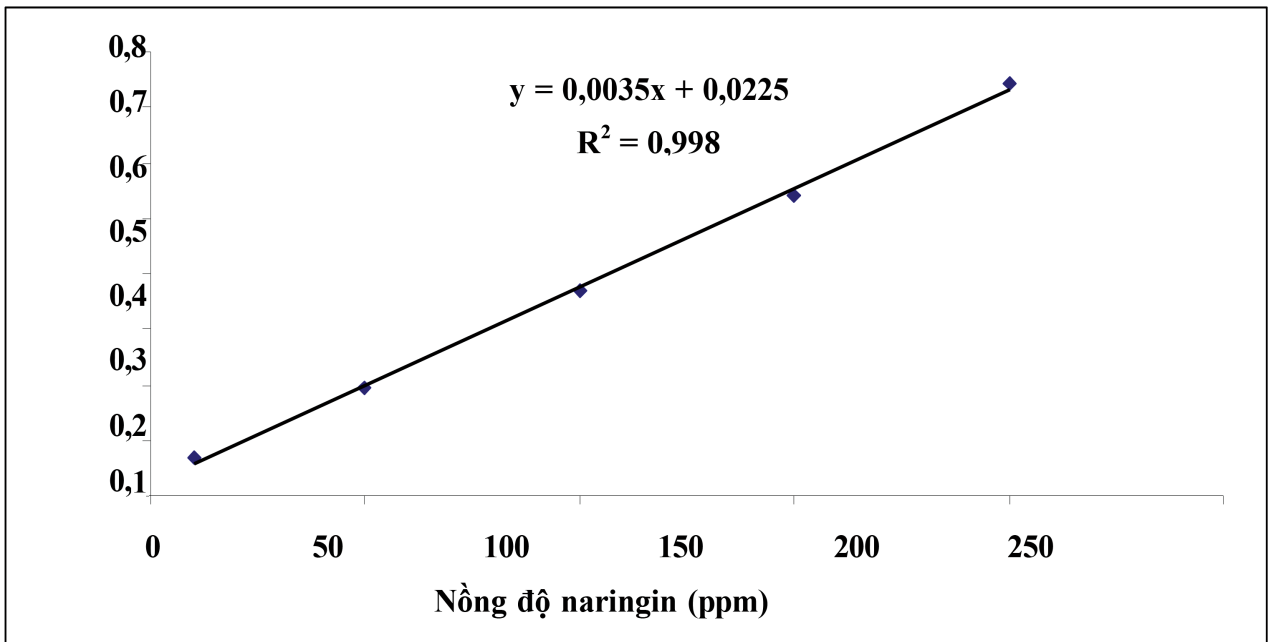
Thực tế, để chuyển đổi cơ cấu cây trồng, nông dân luôn chọn cây có hiệu quả kinh tế cao trong thời điểm trước mắt. Cam sành là loại cây dễ trồng, thích nghi với nhiều loại đất nên được nông dân trồng nhiều (Huy, 2023).

Mặt khác, cam sành là loại quả chỉ tiêu thụ nội địa và còn phải cạnh tranh với nhiều loại cam nhập khẩu từ các nước. Cam sành hiện chỉ phù hợp để dùng tươi, khó đưa vào chế biến công nghiệp nên cũng hạn chế về tiêu thụ. Với việc nông dân chuyển đổi ở

một cách tự phát như thời gian qua khiến sản lượng cam sành dư thừa, hệ lụy là bị rớt giá gây thua lỗ cho người sản xuất.

Cam sành khó đưa vào chế biến công nghiệp vì nước cam bị đắng do chất naringin (Kefford, 1990). Naringin là một glycoside flavonoid, có tên khoa học là 4',5,7-trihydroxyflavonone-7-rhamnoglucoside, đã được phát hiện, mô tả cấu trúc phân tử vào năm 1928, được phân lập từ trái cây họ cam, quýt và là nguồn gốc tạo ra vị đắng của chúng. Khối lượng phân tử của naringin là 580,5 g/mol với công thức phân tử là $C_{17}H_{23}O_{11}$ (Tripoli E. *et al.*, 2007). Vị đắng do naringin mang lại trong sản xuất nước ép trái cây có mùi có thể được loại bỏ bằng cách sử dụng enzyme naringinase (Ho PC *et al.*, 2001), nước cam đã được khử chất đắng chế biến ra các dạng sản phẩm khác như nước cam ép, mứt đông cam, nước cốt cam mật ong,... nhằm đa dạng hóa sản phẩm được chế biến từ nước cam, tìm đầu ra, nâng cao giá trị cho trái cam sành Vĩnh Long.

Naringinase là một enzyme được sử dụng trong sản xuất thương mại nước trái cây có mùi. Enzyme naringinase thủy phân các hợp chất naringin, hợp chất có vị đắng trong nước cam. Enzyme này chứa cả α -L-rhamnosidase (EC 3.2.1.40) và β -D-glucosidase (EC 3.2.1.21). Naringin có thể được thủy phân bởi α -L-rhamnosidase tạo ra rhamnose và prunin (4,5,7-trihydroxyflavonone-7-glucopyranoside), hoặc bởi β -D-glucosidase tạo ra prunin. Để việc sử dụng enzyme naringinase thủy phân naringin trong nước cam hiệu quả cần tìm điều kiện nhiệt độ, pH, nồng độ enzyme và thời gian thủy phân thích hợp.



Hình 2: Phương trình đường chuẩn naringin

Công thức tính Hiệu quả thủy phân naringin (%)

$$H\% = \frac{\text{Hàm lượng naringin trước thủy phân} - \text{hàm lượng naringin sau thủy phân}}{\text{Hàm lượng naringin trước thủy phân}} \times 100$$

2.4 Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Excel và STATGRAPHICS Centurion XVI để tính toán, thống kê số liệu, kiểm định bằng LSD với mức ý nghĩa 95%.

3. KẾT QUẢ - THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng nhiệt độ và pH đến quá trình thủy phân naringin trong nước cam bằng enzyme naringinase

Enzyme naringinase được sử dụng trong sản xuất thương mại nước trái cây có mùi. Naringin có nhiều trong trái cây chưa trưởng thành nhưng nồng độ của nó giảm khi quả chín. Độ đắng của dịch quả ép sau khi xử lý bằng enzyme giảm đi rất nhiều do tính đắng của prunin nhỏ hơn naringin khoảng 1/3. Nhờ

vậy, nước cam giảm vị đắng (Munish P. & Uttam C. B., 2000).

Theo các nghiên cứu và lý thuyết về các yếu tố ảnh hưởng đến động học enzyme thì nhiệt độ, pH, nồng độ enzyme và thời gian là 4 nhân tố quan trọng ảnh hưởng lớn đến quá trình thủy phân. Trong phạm vi đề tài này, sử dụng enzyme naringinase từ *Aspergillus niger* của công ty XI'AN AOGU BIOTECH CO., LTD Trung Quốc để thực hiện quá trình thủy phân naringin. Để quá trình thủy phân đạt hiệu quả cao, đề tài tiến hành khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và pH đến hoạt động của enzyme naringinase trên cơ chất nước cam (hàm lượng naringin trong nước cam nguyên liệu là 36,62 ppm). Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở Bảng 1 và 2.



Bảng 1: Hàm lượng naringin còn lại (ppm) trong nước cam sau thủy phân khi sử dụng enzyme naringinase ở nhiệt độ và pH khác nhau

Hàm lượng naringin còn lại (ppm)					
Mẫu	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0
40°C	33,29 ^U	31,00 ^P	19,12 ^E	23,86 ^I	26,71 ^M
45°C	32,14 ^T	30,70 ^O	18,14 ^B	22,14 ^H	24,71 ^K
50°C	32,14 ^T	30,71 ^O	17,86 ^A	20,14 ^F	22,14 ^I
55°C	32,14 ^T	31,00 ^P	18,71 ^C	21,86 ^G	25,86 ^L
60°C	33,29 ^U	31,15 ^S	19,29 ^D	22,86 ^H	27,28 ^N

Các giá trị trong bảng là kết quả trung bình của 3 lần lặp lại

Các chữ cái đỉnh kèm khác nhau thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Bảng 2: Hiệu quả thủy phân naringin (%) khi sử dụng enzyme naringinase ở nhiệt độ và pH khác nhau

Hiệu quả thủy phân (%)					
Mẫu	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0
40°C	9,04 ^u	15,35 ^p	45,77 ^e	34,84 ^j	27,06 ^m
45°C	12,23 ^t	16,14 ^o	50,46 ^b	39,54 ^h	32,52 ^k
50°C	12,23 ^t	16,14 ^o	51,23 ^a	45,00 ^f	39,54 ⁱ
55°C	12,23 ^t	15,35 ^p	48,91 ^c	40,31 ^g	29,38 ^l
60°C	9,09 ^u	14,94 ^s	47,32 ^d	37,58 ^h	25,51 ⁿ

Các giá trị trong bảng là kết quả trung bình của 3 lần lặp lại

Các chữ cái theo sau khác nhau trong bảng thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Kết quả phân tích thống kê cho thấy hai nhân tố nhiệt độ và pH ($p < 0,05$) có sự tương tác lẫn nhau. Hai nhân tố nhiệt độ và pH có ảnh hưởng đến hoạt động của enzyme anringinase. Kết quả bảng 1 cho thấy, ở nhiệt độ 50°C và pH 4,0 hàm lượng naringin còn lại thấp nhất (17,86 ppm) và đạt hiệu quả thủy phân cao nhất (51,23%) so với các

mức còn lại. Nhiệt độ có ảnh hưởng rất lớn đến phản ứng của enzyme. Tốc độ enzyme chỉ tăng đến một giới hạn nhiệt độ nhất định, vượt quá giới hạn đó tốc độ enzyme sẽ giảm và dẫn đến mức triệt tiêu (Nguyễn Đức Lượng, 2004). Vì vậy, quá trình thủy phân naringin trong nước cam của enzyme naringinase được thực hiện tốt nhất ở nhiệt độ 50°C. Trong một nghiên cứu khác của Nguyễn Trương Phương Tú (2022), enzyme naringinase khử đắng (naringin) trong nước ép bưởi tốt nhất ở nhiệt độ 55°C.

Đối với ảnh hưởng của nhân tố pH, hàm lượng naringin còn lại ở pH 4,0 thấp nhất

so với các mức khác. Theo Nguyễn Trương Phương Tú (2022), enzyme naringinase khử đắng (naringin) trong nước ép bưởi tốt nhất ở pH bằng 4,5. Theo Nguyễn Thị Minh Trang (2009), thì hàm lượng naringin sẽ giảm trong quá trình lên men rượu bưởi. Điều này chứng tỏ cùng một hệ enzyme nhưng trên những cơ chất khác nhau thì có các điều kiện hoạt động tối ưu khác nhau và hàm lượng naringin cũng có thể được làm giảm bằng các phương pháp khác nhau.

Tóm lại, sử dụng enzyme naringinase thương mại từ *Aspergillus niger* của công ty XI'AN AOGU BIOTECH CO., LTD Trung Quốc thủy phân naringin trong nước cam tốt nhất là ở điều kiện nhiệt độ 50°C và pH 4,0.

Bảng 3: Hàm lượng naringin còn lại (ppm) khi sử dụng enzyme naringinase ở nồng độ và thời gian khác nhau

Hàm lượng naringin còn lại (ppm)			
Mẫu	1 giờ	1,5 giờ	2 giờ
0,1%	20,23 ^G	19,15 ^F	19,12 ^E
0,2%	16,36 ^D	14,25 ^B	14,22 ^A
0,3%	16,32 ^C	14,20 ^A	14,21 ^A

Các giá trị trong bảng là kết quả trung bình của 3 lần lặp lại

Các chữ cái đỉnh kèm khác nhau thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Bảng 4: Hiệu quả thủy phân (%) khi sử dụng enzyme naringinase ở nồng độ và thời gian khác nhau

Hiệu quả thủy phân (%)			
Mẫu	1 giờ	1,5 giờ	2 giờ
0,1%	44,76 ^b	47,71 ^b	47,79 ^b
0,2%	55,32 ^b	61,09 ^a	61,16 ^a
0,3%	55,43 ^a	61,22 ^a	61,20 ^a

Các giá trị trong bảng là kết quả trung bình của 3 lần lặp lại

sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Các chữ cái đỉnh kèm khác nhau thể hiện

Trong điều kiện nồng độ cơ chất thích hợp, thì vận tốc phản ứng tuyến tính với nồng

3.2 Ảnh hưởng của nồng độ và thời gian đến quá trình thủy phân naringin trong nước cam bằng enzyme naringinase

Ngoài hai yếu tố nhiệt độ và pH, hai yếu tố nồng độ enzyme và thời gian cũng có ảnh hưởng rất lớn đến khả năng thủy phân naringin trong nước cam của enzyme naringinase. Vì vậy, để tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình thủy phân, nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng nồng độ enzyme naringinase và thời gian đến khả năng khả năng thủy phân naringin trong nước cam đã được thực hiện.

Hiệu quả thủy phân naringin theo nồng độ enzyme naringinase và thời gian thủy phân được trình bày ở Bảng 3 và 4.

- [4] Nguyễn Trọng Cẩn (1998), *Công nghệ enzyme*, Nhà xuất bản Nông nghiệp TP. Hồ Chí Minh.
- [5] Nguyễn Trương Phương Tú (2022), *Nghiên cứu ứng dụng enzyme trong khử đắng nước ép bưởi*, Luận văn Thạc sĩ Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh.
- [6] Thanh Huy (2023), Tiêu điểm trong ngày 17 tháng 2 năm 2023. Tiêu điểm trong ngày 17 tháng 2 năm 2023 (hcmcpv.org.vn)
- [7] Ho PC, Saville DJ, Wanwimolruk S., (2001), *Inhibition of human CYP3A4 activity by grapefruit flavonoids, furanocoumarins and related compounds*, *J Pharm Sci*; 4:217-27.
- [8] Kefford, J.F., and Chandler, B.V. (1990). *The chemical constituents of citrus fruit. Advances in food research*. Supplement 2, Chichester, C.O. (E.M. Mrak and G.F. Stewart, eds.), Academic Press, New York.
- [9] Munish P. & Uttam C. B.. (2000). *Production, purification, and characterization of the debittering enzyme naringinase*. *Biotechnology Advances* 18(3):207-217.
- [10] Tripoli E., Guardia M. L., Giammanco S., Majo D. D., Giammanco M., (2007). *Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review*. *Food Chem*; 104:466-79.