

ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ ĐỘ CHẤN ĐẾN HOẠT ĐỘNG CỦA ENZYME GÂY BIẾN MÀU TRONG QUẢ NHÂN LÔNG HUNG YÊN

Nguyễn Thị Hạnh¹, Đinh Lê Khanh², Nguyễn Văn Hưng¹

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu nhằm xác định ảnh hưởng của chế độ chần đến hoạt độ của enzyme polyphenoloxidase (PPO) và enzyme peroxidase (POD) gây hóa nâu quả nhân lông Hung Yên (*Dimocarpus longan*) để từ đó xác định chế độ uần xử lý thích hợp trước các công đoạn chế biến tiếp theo. Quả nhân lông Hung Yên sau khi lựa chọn được thời gian và nhiệt độ thích hợp, đã tiến hành chần nhân trong dung dịch axit citric ở pH 2,0-3,5 hoặc dung dịch NaHSO₃ nồng độ 0,1-0,3% và theo dõi sự thay đổi hoạt độ của 2 enzyme PPO và POD theo thời gian chần. Màu đối chứng là màu chần trong nước thường ở cùng nhiệt độ. Kết quả nghiên cứu cho thấy chần trong dung dịch axit citric có pH 3 ở 90°C trong 5 phút làm mất hoạt tính của enzyme PPO và POD. Đặc biệt, nếu sử dụng tác nhân chần NaHSO₃ ở nồng độ 0,1% chỉ cần chần nhân từ 3-4 phút cho kết quả tương tự.

Từ khóa: Nhân lông, axit citric, bisulfit natri (NaHSO₃), polyphenoloxidase, peroxidase.

1. BẬT VẤN ĐỀ

Cây nhân (*Dimocarpus longan*) thuộc họ Bồ hòn (Sapindaceae), là cây ăn quả được trồng phổ biến ở các nước cận nhiệt đới và nhiệt đới, đặc biệt là ở các nước thuộc khu vực châu Á. Ở Việt Nam, nhân được trồng rộng khắp cả nước, một số tỉnh lựa chọn cây nhân là cây ăn quả chủ lực như Bắc Giang, Hưng Yên, Tiền Giang,... với diện tích trồng và sản lượng lớn. Nhân lông Hung Yên có quả to hơn các giống nhân khác, khối lượng trung bình đạt 11-12 gam/quả, quả to khoảng 14-15 gam/quả. Quả chín an giòn và ngọt đậm.

Quả nhân trong quá trình sơ chế biến và bảo quản dễ bị hóa nâu trong không khí. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra nguyên nhân do hoạt động của một số enzyme oxy hóa khử trong cùi nhân, điển hình là enzyme polyphenoloxidase (PPO) và enzyme peroxidase (POD). Yueming Jiang và cộng sự (2002) đã cho rằng xử lý nhiệt kết hợp chiếu xạ có thể giữ được màu sắc của vỏ quả nhân. Athwat Chumyarn cùng cộng sự (2014) đã khảo sát hiệu quả khử trùng của clo dioxide (ClO₂) ở các nồng độ khác nhau để giảm sự hóa nâu của vỏ quả nhân và chỉ ra phương

pháp này có hiệu quả trong việc kéo dài thời gian bảo quản nhân từ 1 đến 5 ngày [2, 4, 6, 10].

Một số nghiên cứu gần đây đã cho thấy hoạt độ của enzyme PPO và POD phụ thuộc rất lớn vào điều kiện pH và nhiệt độ. Ở điều kiện pH thấp, các enzyme rất dễ bị vô hoạt ở nhiệt độ cao trong thời gian ngắn. Có rất nhiều phương pháp được sử dụng để vô hoạt các enzyme này như sử dụng chất oxy hóa NaClO₂, SO₂, chiếu xạ, sử dụng áp suất cao, sử dụng axit để thay đổi pH... Trong các phương pháp trên thì sử dụng SO₂ và axit để thay đổi pH môi trường kết hợp với nhiệt độ cao là một phương pháp hiệu quả và dễ áp dụng [1, 7, 9].

Trong phạm vi nghiên cứu này đã nghiên cứu ảnh hưởng nhiệt độ, thời gian và tác nhân chần đến hoạt độ của 2 enzyme PPO và POD hóa nâu trong cùi nhân. Quả nhân sau thu hoạch được chần trong dung dịch axit citric ở pH 2,0-3,5; dung dịch NaHSO₃ 0,1-0,3% ở nhiệt độ 90°C và theo dõi sự thay đổi hoạt độ enzyme trong khoảng thời gian nhất định. Kết quả của nghiên cứu này đã xác định chế độ thích hợp để tiền xử lý quả nhân làm định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Nguyên liệu nhân (*Dimocarpus longan*) thuộc giống nhân lông được trồng và thu hoạch tại huyện

¹ Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm.

Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

² Viện Nghiên cứu Rau quả

Email: hanh.nguyenth@hust.edu.vn

Sau đó dùng lưới nhựa nhân được lấy mẫu vào chính... năm 2018 đạt 160 - 170 ngày... khối lượng trung bình đạt 11...

Nhân được thu hái nhẹ nhàng vào buổi sáng khi... sau đó được buộc thành chùm và... về phòng thí nghiệm. Quả được bố trí thí nghiệm trong...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

2.2.1.1. Nghiên cứu lựa chọn nhiệt độ và thời gian chín

Quả nhân được tách cành, rửa sạch và để ráo, định lượng 1 kg/mẫu, sau đó đem chần trong nước sạch với tỉ lệ nguyên liệu : nước = 1:3 ở các nhiệt độ 85°C, 90°C và 95°C. Theo dõi nhiệt độ của củ nhân trong 9 phút kể từ khi bắt đầu chần, tần suất 1 phút/lần. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức lặp lại 3 lần và ở cùng một thời điểm.

Quả nhân sau khi chần ở các nhiệt độ khác nhau với các khoảng thời gian khác nhau được đem đi tách củ và xác định hoạt độ enzyme PPO và POD. Sau đó tỷ lệ hoạt độ enzyme còn lại so với hoạt độ enzyme ban đầu (%).

2.2.1.2. Nghiên cứu lựa chọn tác nhân chần

Ảnh hưởng của dung dịch axit citric đến hoạt lực enzyme PPO và POD

Quả nhân sau khi làm sạch được chần trong dung dịch axit citric có pH=2; pH=2,5; pH=3; pH=3,5 ở nhiệt độ 90°C và thời gian 5 phút. Sau đó tiến hành xác định hoạt độ enzyme PPO và POD. Mẫu đối chứng là mẫu nhân được chần trong nước thường cùng điều kiện.

Ảnh hưởng của dung dịch NaHSO₃ đến hoạt lực enzyme PPO và POD

Sử dụng NaHSO₃ với nồng độ 0,1%; 0,2%; 0,3% bổ sung vào nước chần và tiến hành chần nhân ở nhiệt độ 90°C và thời gian 5 phút. Sau đó tiến hành xác định hoạt độ enzyme PPO và POD. Mẫu đối chứng là mẫu nhân được chần trong nước thường cùng điều kiện.

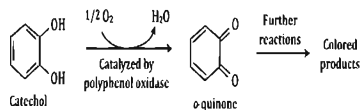
2.2.2. Phương pháp phân tích

Xác định nhiệt độ củ nhân bằng nhiệt kế đo tâm

Xác định hoạt độ enzyme polyphenoloxidase

Phương pháp trích ly và xác định hoạt độ enzyme PPO thực hiện dựa theo phương pháp của Athiwat Chumyam cùng cộng sự (2013) [3].

Lấy 2 g thịt quả nghiền nhỏ trong 20 ml dung dịch đệm phosphatkali pH=6,2 trong 5 phút. Sau đó ly tâm 5 phút ở 9000 g, 20°C và thu nhận phần dịch nổi là enzyme thô. Chuẩn bị hỗn hợp phản ứng 2 ml gồm: 1,3 ml đệm phosphate kali pH=7,5; 0,2 ml catechol 0,2M và 0,5 ml enzyme thô. Hỗn hợp được giữ trong 5 phút ở 30°C sau đó độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 420nm bằng máy quang phổ. Mẫu kiểm chứng gồm 1,3 ml đệm phosphate kali pH = 7,5 và 0,2 ml catechol 0,2M.



Hình 1. Cơ chế phản ứng hóa nâu của enzyme PPO

Một đơn vị hoạt độ enzyme PPO (U=Abs/ml*phút) được xác định là lượng enzyme gây ra sự thay đổi 0,01 độ hấp thụ trong một đơn vị thời gian (1 phút), hoạt độ enzyme được tính theo công thức:

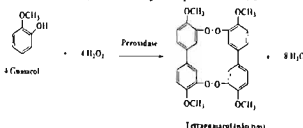
$$A = \frac{\Delta Abs}{0,01 \cdot V_1 \cdot \Delta t} \text{ (Abs/ ml*phút)}$$

Trong đó: ΔAbs là kết quả đo độ hấp phụ OD.

Δt là thời gian phản ứng (5 phút).

V_1 là thể tích enzyme đem phản ứng (0,5 ml).

Xác định hoạt lực enzyme peroxidase



Hình 2. Cơ chế phản ứng tạo tetraguaiacol nâu tím của enzyme POD

Phương pháp trích ly và xác định hoạt độ enzyme POD tương tự PPO [3]. Tiến hành thu nhận enzyme thô. Sử dụng guaiacol làm chất nền. Chuẩn bị hỗn hợp phản ứng 2,5 ml gồm: 2,3 ml đệm natri axetat pH= 6,0; 0,05 ml guaiacol 0,1%; 0,05 ml H₂O₂ 0,1% và 0,1 ml enzyme thô. Ống chứa hỗn hợp phản ứng được ủ trong 5 phút ở trong bể ổn nhiệt 30°C và độ hấp thụ được đo ở 470 nm. Mẫu kiểm chứng gồm

9,23 ml đệm natri axetat pH=6,0; 0,05 ml guaiacol 1%, 0,05 ml H₂O₂ 0,1%.

Một đơn vị hoạt độ enzyme POD (Abs/ml*phút) được xác định bằng lượng enzyme gây ra sự thay đổi 0,01 độ hấp phụ trong một đơn vị thời gian, hoạt độ enzyme POD được tính theo công thức:

$$A = \frac{\Delta Abs}{0.01 \cdot V_2 \cdot \Delta t} (Abs/ ml \cdot \text{phút})$$

Trong đó: ΔAbs là kết quả đo độ hấp phụ OD.

Δt là thời gian phản ứng (5 phút).

V_2 là thể tích enzyme đem phản ứng (ml).

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

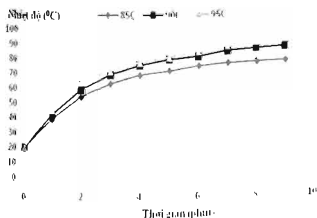
Kết quả thí nghiệm được phân tích ANOVA và kiểm định LSD (5%) bằng phần mềm thống kê SAS 9.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu lựa chọn nhiệt độ và thời gian chín

3.1.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chín đến nhiệt độ củi nhân

Chần có tác dụng loại bỏ một phần vi sinh vật bám trên bề mặt quả nhân, vô hoạt một số enzyme gây biến màu của quả nhân và nguyên liệu sau khi chần sẽ dễ tách vỏ, tách hạt hơn do liên kết giữa các phần của quả nhân bị yếu đi dưới tác dụng của nhiệt độ. Tuy nhiên, nếu chần ở nhiệt độ quá cao trong thời gian quá dài sẽ làm cho quả bị quá nhiệt, mất chất dinh dưỡng (vitamin dễ dàng bị phân hủy, chất khô bị hao hụt...), cấu trúc quả bị mềm. Chính vì vậy việc lựa chọn nhiệt độ và thời gian chần thích hợp cho nguyên liệu là cần thiết.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ chần đến nhiệt độ củi nhân theo thời gian

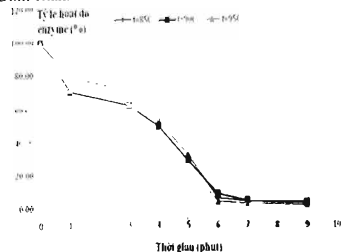
Để đánh giá sự biến đổi chất lượng của quả nhân trong quá trình chần, đã tiến hành theo dõi sự thay đổi nhiệt độ của củi nhân theo thời gian ở các nhiệt độ chần khác nhau. Kết quả sự thay đổi nhiệt độ tâm của củi nhân khi chần được thể hiện trên hình 3.

Từ kết quả thu được trên hình 3 ta thấy rằng nhiệt độ môi trường chần càng cao thì nhiệt độ củi nhân tăng càng nhanh. Ở cùng một điều kiện nhiệt độ, nhiệt độ củi nhân tỷ lệ thuận với thời gian chần. Ở phút thứ 5, nhiệt độ củi nhân đều đạt trên 70°C, tuy nhiên có sự chênh lệch đáng kể giữa nhiệt độ củi nhân ở ba nhiệt độ chần: ở 85°C, nhiệt độ củi đạt 72,4°C thấp hơn nhiều so với nhiệt độ củi ở 90°C là 80,1°C và ở 95°C là 81,3°C. Tuy nhiên để lựa chọn được điều kiện chần thích hợp cần phải đánh giá được hoạt độ của 2 enzyme PPO và POD, đây là 2 enzyme ảnh hưởng đến sự biến đổi màu của củi nhân. Cụ thể là, khi 2 enzyme này hoạt động càng mạnh thì tốc độ hóa nâu của củi nhân khi để trong không khí càng lớn.

3.1.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chần đến hoạt độ enzyme PPO và POD

Quả nhân sau khi chần ở các nhiệt độ và thời gian khác nhau được đem đi tách củi và xác định hoạt độ enzyme PPO và POD để đánh giá mức độ vô hoạt các enzyme này dưới tác động của nhiệt độ. Kết quả nghiên cứu được thể hiện trên hình 4 và 5.

Kết quả thu được trên hình 4 và 5 cho thấy nhiệt độ càng cao thì mức độ enzyme PPO và POD bị vô hoạt càng lớn. Các enzyme gần như bị mất hoạt tính khi chần ở nhiệt độ từ 85°C đến 95°C từ phút thứ 6 trở đi và gần như bị vô hoạt trong 9 phút của quá trình chần.



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ chần đến hoạt độ enzyme PPO theo thời gian

Ân Thi, Hưng Yên. Quả nhân được lấy mẫu vào chính vụ thu hoạch tháng 8 năm 2018 đạt 160 - 170 ngày tuổi kể từ khi đậu quả, khối lượng trung bình đạt 11-12 gam/quả.

Nhân được thu hái nhẹ nhàng vào buổi sáng khi thời tiết khô ráo, sau đó được buộc thành chùm và xếp quả vào trong thùng xốp đục lỗ và vận chuyển về phòng thí nghiệm. Quả được bố trí thí nghiệm trong ngày.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

2.2.1.1. Nghiên cứu lựa chọn nhiệt độ và thời gian chín

Quả nhân được tách cành, rửa sạch và để ráo, định lượng 1 kg/mẫu, sau đó đem chần trong nước sạch với tỉ lệ nguyên liệu : nước = 1:3 ở các nhiệt độ 85°C, 90°C và 95°C. Theo dõi nhiệt độ của củi nhân trong 9 phút kể từ khi bắt đầu chần, tần suất 1 phút/lần. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức lặp lại 3 lần và ở cùng một thời điểm.

Quả nhân sau khi chần ở các nhiệt độ khác nhau với các khoảng thời gian khác nhau được đem đi tách củi và xác định hoạt độ enzyme PPO và POD. Sau đó tỷ lệ hoạt độ enzyme còn lại so với hoạt độ enzyme ban đầu (%).

2.2.1.2. Nghiên cứu lựa chọn tác nhân chần

Ảnh hưởng của dung dịch axit citric đến hoạt lực enzyme PPO và POD

Quả nhân sau khi làm sạch được chần trong dung dịch axit citric có pH=2; pH=2,5; pH=3; pH=3,5 ở nhiệt độ 90°C và thời gian 5 phút. Sau đó tiến hành xác định hoạt độ enzyme PPO và POD. Mẫu đối chứng là mẫu nhân được chần trong nước thường cùng điều kiện.

Ảnh hưởng của dung dịch NaHSO₃ đến hoạt lực enzyme PPO và POD

Sử dụng NaHSO₃ với nồng độ 0,1%; 0,2%; 0,3% bổ sung vào nước chần và tiến hành chần nhân ở nhiệt độ 90°C và thời gian 5 phút. Sau đó tiến hành xác định hoạt độ enzyme PPO và POD. Mẫu đối chứng là mẫu nhân được chần trong nước thường cùng điều kiện.

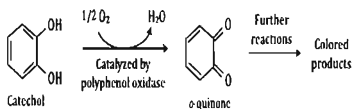
2.2.2. Phương pháp phân tích

Xác định nhiệt độ củi nhân bằng nhiệt kế đo tâm

Xác định hoạt độ enzyme polyphenoloxidase

Phương pháp trích ly và xác định hoạt độ enzyme PPO được thực hiện dựa theo phương pháp của Athiwait Chumyam cùng cộng sự (2013) [3].

Lấy 2 g thịt quả nghiên nhỏ trong 20 ml dung dịch đệm phosphate pH=6,2 trong 5 phút. Sau đó ly tâm 5 phút ở 9000 g, 20°C và thu nhận phần dịch nổi là enzyme thô. Chuẩn bị hỗn hợp phản ứng 2 ml gồm: 1,3 ml đệm phosphate kali pH=7,5; 0,2 ml catechol 0,2M và 0,5 ml enzyme thô. Hỗn hợp được giữ trong 5 phút ở 30°C sau đó đo hấp thụ quang phổ ở bước sóng 420nm bằng máy quang phổ. Mẫu kiểm chứng gồm 1,3 ml đệm phosphate kali pH = 7,5 và 0,2 ml catechol 0,2M.



Hình 1. Cơ chế phản ứng bóa nâu của enzyme PPO

Một đơn vị hoạt độ enzyme PPO (U=Abs/ml*phút) được xác định là lượng enzyme gây ra sự thay đổi 0,01 độ hấp thụ trong một đơn vị thời gian (1 phút), hoạt độ enzyme được tính theo công thức:

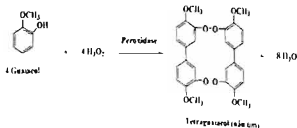
$$A = \frac{\Delta Abs}{0,01 \cdot V_1 \cdot \Delta t} \text{ (Abs/ ml} \cdot \text{phút)}$$

Trong đó: ΔAbs là kết quả đo độ hấp phụ OD.

Δt là thời gian phản ứng (5 phút).

V_1 là thể tích enzyme đem phản ứng (0,5 ml).

Xác định hoạt lực enzyme peroxidase



Hình 2. Cơ chế phản ứng tạo tetraguaiacol nâu tím của enzyme POD

Phương pháp trích ly và xác định hoạt độ enzyme POD tương tự PPO [3]. Tiến hành thu nhân enzyme thô. Sử dụng guaiacol làm chất nền. Chuẩn bị hỗn hợp phản ứng 2,5 ml gồm: 2,3 ml đệm natri axetat pH= 6,0; 0,05 ml guaiacol 0,1%; 0,05 ml H₂O₂ 0,1% và 0,1 ml enzyme thô. Ống chứa hỗn hợp phản ứng được ủ trong 5 phút ở trong bể ổn nhiệt 30°C và đo hấp thụ được đo ở 470 nm. Mẫu kiểm chứng gồm

có 2,3 ml đệm natri axetat pH=6,0; 0,05 ml guaiacol 0,1%; 0,05 ml H₂O₂ 0,1%.

Một đơn vị hoạt độ enzyme POD (U=Abs/ml*phút) được xác định bằng lượng enzyme gây ra sự thay đổi 0,01 độ hấp phụ trong một đơn vị thời gian, hoạt độ enzyme POD được tính theo công thức:

$$A = \frac{\Delta Abs}{0.01 \cdot V_2 \cdot \Delta t} \text{ (Abs/ml*phút)}$$

Trong đó: ΔAbs là kết quả đo độ hấp phụ OD.

Δt là thời gian phản ứng (5 phút).

V_2 là thể tích enzyme đem phản ứng (0,1 ml).

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

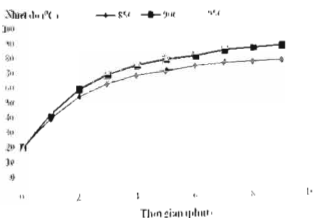
Kết quả thí nghiệm được phân tích ANOVA và kiểm định LSD (5%) bằng phần mềm thống kê SAS 610.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu lựa chọn nhiệt độ và thời gian chần

3.1.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chần đến nhiệt độ củi nhân

Chần có tác dụng loại bỏ một phần vi sinh vật bám trên bề mặt quả nhân, vô hoạt một số enzyme gây biến màu của quả nhân và nguyên liệu sau khi chần sẽ dễ tách vỏ, tách hạt hơn do liên kết giữa các phần của quả nhân bị yếu đi dưới tác dụng của nhiệt độ. Tuy nhiên, nếu chần ở nhiệt độ quá cao trong thời gian quá dài sẽ làm cho quả bị quá nhiệt, mất chất dinh dưỡng (vitamin dễ dàng bị phân hủy, chất khô bị hao hụt...), cấu trúc quả bị mềm. Chính vì vậy việc lựa chọn nhiệt độ và thời gian chần thích hợp cho nguyên liệu là cần thiết.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ chần đến nhiệt độ củi nhân theo thời gian

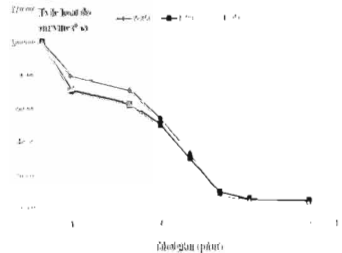
Để đánh giá sự biến đổi chất lượng của quả nhân trong quá trình chần, đã tiến hành theo dõi sự thay đổi nhiệt độ của củi nhân theo thời gian ở các nhiệt độ chần khác nhau. Kết quả sự thay đổi nhiệt độ tâm của củi nhân khi chần được thể hiện trên hình 3.

Từ kết quả thu được trên hình 3 ta thấy rằng nhiệt độ môi trường chần càng cao thì nhiệt độ củi nhân tăng càng nhanh. Ở cùng một điều kiện nhiệt độ, nhiệt độ củi nhân tỷ lệ thuận với thời gian chần. Ở phút thứ 5, nhiệt độ củi nhân đều đạt trên 70°C, tuy nhiên có sự chênh lệch đáng kể giữa nhiệt độ củi nhân ở ba nhiệt độ chần: ở 85°C, nhiệt độ củi đạt 72,4°C thấp hơn nhiều so với nhiệt độ củi ở 90°C là 80,1°C và ở 95°C là 81,3°C. Tuy nhiên để lựa chọn được điều kiện chần thích hợp cần phải đánh giá được hoạt độ của 2 enzyme PPO và POD, đây là 2 enzyme ảnh hưởng đến sự biến đổi màu của củi nhân. Cụ thể là, khi 2 enzyme này hoạt động càng mạnh thì tốc độ hòa nâu của củi nhân khi để trong không khí càng lớn.

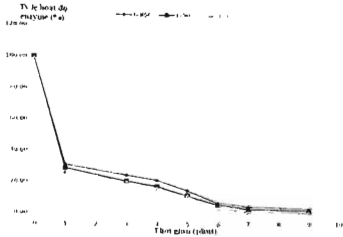
3.1.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chần đến hoạt độ enzyme PPO và POD

Quả nhân sau khi chần ở các nhiệt độ và thời gian khác nhau được đem đi tách củi và xác định hoạt độ enzyme PPO và POD để đánh giá mức độ vô hoạt các enzyme này dưới tác động của nhiệt độ. Kết quả nghiên cứu được thể hiện trên hình 4 và 5.

Kết quả thu được trên hình 4 và 5 cho thấy nhiệt độ càng cao thì mức độ enzyme PPO và POD bị vô hoạt càng lớn. Các enzyme gần như bị mất hoạt tính khi chần ở nhiệt độ từ 85°C đến 95°C từ phút thứ 6 trở đi và gần như bị vô hoạt trong 9 phút của quá trình chần.



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ chần đến hoạt độ enzyme PPO theo thời gian



Hình 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ chần đến hoạt độ enzyme POD theo thời gian

Mức độ vô hoạt các enzyme này ở các nhiệt độ chần khác nhau có sự khác biệt không đáng kể. PPO và POD bị mất hoạt tính rất nhanh sau khoảng 1 phút sau chần (hoạt độ còn lại lần lượt là 70,45% và 28,96% ở 90°C so với ban đầu). Sau đó thì hoạt độ giảm dần, sau khi chần ở thời gian 5 phút ở 90°C thì hoạt độ PPO của củi nhân còn lại là 28,76% và hoạt độ POD còn lại là khoảng 11,48% và sau 6 phút thì hoạt độ còn lại không đáng kể.

Nhiệt độ chần cao và thời gian chần dài có thể hạn chế sự biến màu do enzyme nhưng làm cho cấu trúc của củi nhân bị nhũn, nhân bị giảm thành phần hương đi rất nhiều và mất mát chất khô ra môi trường chần. Vì vậy với độ chần 90°C và thời gian chần 5 phút là hợp lý để hạn chế sự hoạt động của các enzyme oxy hóa khử cũng như giảm các tác động bất lợi của nhiệt tới chất lượng sản phẩm.

3.2. Nghiên cứu lựa chọn tác nhân chần

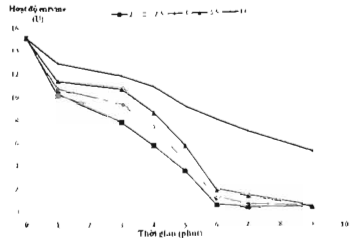
3.2.1. Ảnh hưởng của dung dịch axit citric đến hoạt độ enzyme PPO và POD

Enzyme PPO và POD nhạy cảm trong môi trường có pH thấp và có mặt các chất có tính oxy hóa khi kết hợp với gia nhiệt ở nhiệt độ cao. Vì vậy sử dụng axit citric để hạ pH của dung dịch chần nhằm tăng hiệu quả vô hoạt enzyme của quá trình chần. Cùng với tác dụng hạ pH của dung dịch chần, axit citric còn có khả năng kết hợp với nguyên tố ở trung tâm hoạt độ enzyme PPO và POD làm bất hoạt các enzyme này [5].

Quả nhân sau khi làm sạch được chần trong dung dịch axit citric có pH=2; 2,5; 3 và 3,5 ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 5 phút. Sau đó được mang đi xác định hoạt độ enzyme PPO và POD. Mẫu đối

chứng là mẫu nhân được chần trong nước thường cùng điều kiện nhiệt độ.

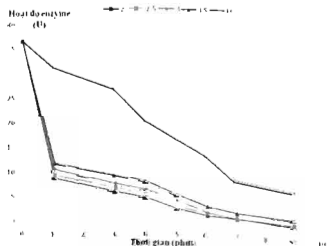
Kết quả nghiên cứu hoạt độ enzyme PPO trong củi nhân sau khi chần trong các môi trường có pH khác nhau được thể hiện trên hình 6.



Hình 6. Ảnh hưởng của dung dịch axit citric đến hoạt độ enzyme PPO trong thời gian

Kết quả trên hình 6 cho thấy trong cùng một điều kiện nhiệt độ, ở pH càng thấp thì enzyme càng dễ bị vô hoạt. Tuy nhiên sự khác biệt này không nhiều. Ở pH thấp và cùng điều kiện nhiệt độ chần thì hiệu quả vô hoạt enzyme lớn hơn rất nhiều so với mẫu kiểm chứng. Khi chần ở pH=3, trong 5 phút thì hoạt độ enzyme PPO trong củi nhân còn 4,36 U (còn lại 28,76%), trong khi đó ở mẫu kiểm chứng enzyme PPO trong củi nhân còn 9,24 U (còn lại 60,95%), điều đó chứng tỏ sử dụng axit citric để hạ thấp pH có hiệu quả vô hoạt enzyme PPO rõ rệt.

Kết quả nghiên cứu sự thay đổi của hoạt độ enzyme POD sau khi chần tại pH khác nhau được thể hiện trên hình 7.



Hình 7. Ảnh hưởng của dung dịch axit citric đến hoạt độ enzyme POD trong thời gian chần

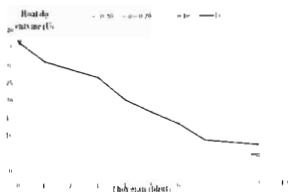
Từ dữ liệu trên hình 7 cho thấy hoạt độ enzyme POD của củ nhân khi chần ở các pH khác nhau cũng có xu hướng giảm tương tự như hoạt độ enzyme PPO. pH càng thấp thì khả năng vô hoạt enzyme càng cao. Đặc biệt enzyme POD nhạy cảm hơn so với enzyme PPO rất nhiều khi chần ở các điều kiện pH khác nhau. Khi chần ở pH=3, sau 1 phút, hoạt độ enzyme POD đã giảm từ 36,6 U xuống còn 10,6 U (còn lại 28,96%). Điều đó cho thấy, enzyme POD nhạy cảm với nhiệt độ hơn so với enzyme PPO. Hoạt độ enzyme POD khi chần trong môi trường axit giảm nhanh hơn rõ rệt so với mẫu kiểm chứng.

Như vậy, kết quả phân tích trên đồ thị hình 6 và 7 cho thấy rằng chần trong điều kiện pH=3 ở nhiệt độ 90°C trong 5 phút là hợp lý để vô hoạt enzyme hóa nâu trong củ nhân mà không ảnh hưởng đến chất lượng của củ nhân sau khi chần.

3.2.2. Ảnh hưởng của dung dịch NaHSO₃ đến hoạt độ enzyme PPO và POD

Sử dụng NaHSO₃ ở các nồng độ khác nhau bổ sung vào dung dịch chần để tăng khả năng vô hoạt các enzyme này. NaHSO₃ có khả năng ức chế hoạt động của enzyme, gốc HSO₃ có thể phản ứng trực tiếp với các quione để giảm sự hình thành hợp chất màu nâu [8].

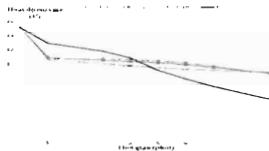
Sử dụng NaHSO₃ với nồng độ 0,1%; 0,2% và 0,3% bổ sung vào dung dịch chần và tiến hành chần nhân ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 9 phút và đánh giá hiệu quả vô hoạt enzyme PPO và POD tương tự như thí nghiệm sử dụng axit citric. Mẫu kiểm chứng là mẫu nhân được chần trong nước thường cùng điều kiện nhiệt độ. Kết quả hoạt độ enzyme PPO và POD tại các nồng độ NaHSO₃ được thể hiện ở hình 8 và 9.



Hình 8. Ảnh hưởng của nồng độ NaHSO₃ đến hoạt độ enzyme POD trong thời gian chần

Kết quả thí nghiệm trên hình 8 chỉ ra rằng, hoạt độ enzyme POD cũng bị vô hoạt rất nhanh khi chần trong dung dịch NaHSO₃ với nồng độ khác nhau. Tuy nhiên hiệu quả vô hoạt enzyme POD ở các nồng

độ NaHSO₃ khác nhau không có sự khác biệt nhiều. Hiệu quả vô hoạt enzyme của dung dịch NaHSO₃ có sự khác biệt rõ rệt so với mẫu kiểm chứng. Theo số liệu trên hình 8 cho thấy để giảm đi 82,51% hoạt tính enzyme POD chỉ cần chần trong NaHSO₃ 0,1% trong 1 phút.



Hình 9. Ảnh hưởng của nồng độ NaHSO₃ đến hoạt độ enzyme PPO trong thời gian chần

Kết quả thí nghiệm thể hiện ở hình 9 cho thấy, hoạt độ enzyme PPO cũng giảm đi khi chần trong dung dịch NaHSO₃ ở các nồng độ khác nhau, khác biệt hẳn so với mẫu kiểm chứng và có xu hướng giảm như hoạt độ enzyme PPO. Tuy nhiên, hoạt độ enzyme PPO trong củ nhân ở nồng độ khác nhau đó không có sự khác biệt nhiều. Enzyme PPO bị vô hoạt nhanh ở những phút đầu tiên sau khi chần, nếu tiếp tục chần hơn 4 phút thì hoạt độ enzyme này giảm đi không đáng kể. Vì vậy, nếu sử dụng NaHSO₃ để giảm hoạt độ enzyme PPO và POD trong củ nhân thì có thể sử dụng NaHSO₃ ở nồng độ 0,1% và rút ngắn thời gian chần từ 3-4 phút.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu về đánh giá ảnh hưởng của chế độ chần đến hoạt độ của 2 enzyme PPO và POD gây biến màu của quả nhân đã cho thấy ảnh hưởng tích cực của nhiệt độ, thời gian và tác nhân chần đến hoạt động của 2 enzyme này. Kết quả đã chỉ ra khi chần nhân ở nhiệt độ 90°C trong 5 phút trong môi trường axit citric có pH 3 làm mất hoạt tính của enzyme PPO và POD. Đặc biệt, nếu sử dụng tác nhân chần NaHSO₃ ở nồng độ 0,1% chỉ cần chần nhân từ 3-4 phút có thể cho kết quả tương tự. Kết quả nghiên cứu làm tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo để phát triển các sản phẩm từ quả nhân lông Hưng Yên.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Bách khoa Hà Nội (HUST) trong đề tài mã số T2018-PC-013.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Esma Hande Alici, Gulnur Arabaci (2016). *Determination of SOD, POD, PPO and CAT Enzyme Activities in Rumex obtusifolius L.* Annual Research & Review in Biology, 11(3): 1-7.

2. J. Li, Y. Jiang, S. Miao (2009). *Changes in quality attributes of longan juice during storage in relation to effects of thermal processing.* Journal of Food Quality, 32(1): 48-57.

3. Kobkiat Saengnil, Athiwat Chumyam, Bualuang Faiyue, Jammong Uthaibutra (2014). *Use of chlorine dioxide fumigation to alleviate enzymatic browning of harvested 'Daw' longan pericarp during storage under ambient condition.* Postharvest Biology and Technology, 91: 49-56.

4. K. Saengnil, A. Chumyam, B. Faiyue, and J. Uthaibutra (2014). *Use of chlorine dioxide fumigation to alleviate enzymatic browning of harvested 'Daw' longan pericarp during storage under ambient conditions.* Postharvest Biology and Technology, 91: 49-56.

5. P. M. Lee, K.-H. Lee, M. Ismail and A. Karim (1991). *Biochemical studies of cocoa bean*

polyphenol oxidase. Journal of Science and Food Agriculture, 55(2): 251-260.

6. S. Zhang, H. Lin, M. Lin, Y. Lin, Y. Chen, H. Wang, Y. Lin, J. Shi (2019). *Lasiodiopodia theobromae (Pat.) Griff. & Maubl. reduced energy status and ATPase activity and its relation to disease development and pericarp browning of harvested longan fruit.* Food Chemistry, 275: 239-245.

7. Nguyễn Minh Chon, Nguyễn Phương Thủy (2006). *Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ lên sự hóa nâu gây ra bởi enzyme peroxidase từ hạt sen.* Tạp chí Nghiên cứu Khoa học, 6: 24-32.

8. T. A. Demet Kavrayan (2001). *Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from peppermint (menthapiperita).* Food Chemistry, 74(2): 147-154.

9. V. T. Pham, M. Herrero and J. I. Hormaza (2015). *Phenological growth stages of longan (Dimocarpus longan) according to the BBCH scale.* Scientia Horticulturae, 189: 201-207.

10. Yueming Jiang, Zhaoqi Zhang, D. C Joyce and Saichol Ketsa (2002). *Postharvest biology and handling of longan fruit (Dimocarpus longan Lour.).* Postharvest Biology and Technology, 26(3): 241-252.

THE EFFECTS OF BLANCHING MODES TO ENZYME ACTIVITY CAUSES THE COLOR CHANGE OF HUNG YEN LONGAN

Nguyen Thi Hanh¹, Dinh Le Khanh², Nguyen Van Hung¹

¹Institute of Biology and Food Technology, School of Hanoi University of Science and Technology

²Fruit and Vegetable Research Institute

Email: hanh.nguyenth1@hust.edu.vn

Summary

The purpose of this research is determine the effect of blanching modes to activity of the enzyme polyphenoloxidase (PPO) and the enzyme peroxidase (POD) causing browning of Hung Yen longan (*Dimocarpus longan*) to determine the pre-treatment modes before processing Hung Yen longans were harvested at suitable ripening, were blanched at 85°C, 90°C and 95°C for 9 minutes. After selecting the time and temperature, longans were blanched in citric acid solution at pH 2.0-3.5 or NaHSO₃ solution at 0.1-0.3% concentration and monitoring the activity change of two enzymes PPO and POD during blanching time. The control sample is a blanched in water at the same temperature. The study results showed that blanching in citric acid solution at pH 3, 90°C for 5 minutes deactivated the enzyme PPO and POD. Especially, the NaHSO₃ is used at 0.1% concentration, longans were only blanched for 3-4 minutes for the same results.

Keywords: Longan, citric acid, bisulfite natr, polyphenoloxidase, peroxidase.

Người phản biện: PGS.TS. Phạm Anh Tuấn

Ngày nhận bài: 6/3/2020

Ngày thông qua phản biện: 7/4/2020

Ngày duyệt đăng: 14/4/2020