

HOẠT TÍNH ENZYME POLYPHENOL OXIDASE TỪ MỘT SỐ LOẠI NẤM ĂN Ở VIỆT NAM

POLYPHENOLOXIDASE ACTIVITY OF SEVERAL EDIBLE MUSHROOM SPECIES
IN VIETNAM

Nguyễn Xuân Duy

Trường Đại học Nha Trang

Email: duy.ntu.edu@gmail.com

TÓM TẮT

Hoạt tính enzyme polyphenoloxidase (PPO) của bảy loại nấm ăn tiêu thụ phổ biến ở Việt Nam được nghiên cứu, gồm: Nấm rơm (NR), Đông cô (ĐC), Bào ngư (BN), Kim châm (KC), Đùi gà (ĐG), Linh chi trắng (LCT) và Hải sản (HS). Thêm vào đó, khả năng chịu nhiệt của PPO cũng được xác định. Kết quả nghiên cứu cho thấy tất cả các loại nấm đều có hoạt tính PPO và hoạt tính khác nhau phụ thuộc theo loài. NR có hoạt tính PPO cao nhất 2.959 đơn vị, theo sau bởi LCT (406), HS (333), ĐG (306), BN (208), ĐC (193) và KC (19). Dịch chiết PPO chịu ảnh hưởng đáng kể bởi nhiệt độ, đặc biệt là ở nhiệt độ lớn hơn 80°C. Ở 80°C, hoạt tính PPO giảm gần 97,3% sau 30 phút và gần như mất hoàn toàn hoạt tính ở 100°C chỉ sau 10 phút. Kết quả nghiên cứu có tiềm năng ứng dụng trong ngành công nghiệp chế biến nấm và các sản phẩm từ nấm ăn.

Từ khóa: Nấm ăn; polyphenoloxidase; khả năng chịu nhiệt; Việt Nam; enzyme

ABSTRACT

Polyphenoloxidase (PPO) activity of seven edible mushrooms consumed commonly in Vietnam was investigated. They included Straw mushroom, Shiitake listen, Oyster mushroom, Winter Mushroom, King Oyster Mushroom, Crab mushroom and seafood mushroom. In addition, the thermal stability of PPO was also determined. Research results showed that all of mushrooms had PPO activity and their activity is different depending on each species. Straw mushroom had the highest PPO activity with 2,959 units, followed by Crab mushroom (406), seafood mushroom (333), King Oyster Mushroom (306), Oyster mushroom (208), Shiitake listen (193) and Winter Mushroom (19). The PPO extract was influenced significantly by temperature, particularly at over 80°C. At 80°C, the PPO activity decreased approximately 97.3% for 30 mins and its activity was nearly zero at 100°C for 10 mins. Research results have some application potentials in the edible mushroom and mushroom products processing industry.

Key words: Edible mushroom; polyphenoloxidase; thermal stability; Vietnam; enzyme

1. Đặt vấn đề

Nấm ăn là một nguồn thực phẩm bổ dưỡng đã được sử dụng lâu đời trong các bữa ăn của con người. Mỗi quan tâm sử dụng nấm ăn tăng lên khi gần đây kết quả nghiên cứu cho thấy trong nấm ăn chứa nhiều thành phần dinh dưỡng quý giá, có tác dụng tốt cho sức khỏe (Xiaofei Xu và cộng sự, 2011). Nấm thường được sử dụng ở dạng tươi hơn là các dạng chế biến khác vì khả năng bảo toàn các chất dinh dưỡng quý trong nguyên liệu. Tuy nhiên, việc sử dụng nấm ăn ở dạng tươi thường đối mặt với một số bất lợi, chẳng hạn như thời hạn sử dụng ngắn, nấm dễ bị biến đổi chất lượng, làm giảm giá trị cảm quan và có thể gây tổn thất về mặt kinh tế. Một trong những hư hỏng thường gặp của nấm tươi đó là

nấm bị thâm đen trong quá trình bảo quản sau thu hoạch. Hiện tượng này cũng đã được báo cáo bởi một số nhà chế biến nấm tươi trong nước.

Người ta tin rằng sở dĩ nấm thường dễ bị biến đen sau thu hoạch có thể là do các phản ứng sinh hóa xảy ra trong nguyên liệu sau thu hoạch, trong đó có liên quan đến hoạt động của enzyme trong bản thân nguyên liệu. Nhằm góp phần làm rõ vấn đề trên cũng như xác nhận nguyên nhân gây nên hiện tượng sẫm màu của nấm ăn sau thu hoạch, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu xác định hoạt tính enzyme polyphenoloxidase trong một số loại nấm ăn tiêu thụ phổ biến ở Việt Nam. Nghiên cứu này sẽ góp phần làm rõ nguyên nhân gây nên hiện tượng biến đen của nấm ăn sau thu hoạch.

2. Giải quyết vấn đề

2.1. Nguyên liệu nấm ăn

Bảy loại nấm ăn, gồm: Nấm rơm, nấm đông cô, nấm bào ngư, nấm kim châm, nấm đùi gà, nấm linh chi trắng và nấm hải sản được tuyển chọn để nghiên cứu. Tất cả các loại nấm được mua từ chợ Vĩnh Hải và siêu thị Maximax tại thành phố Nha Trang trong 12/2012. Nấm sử dụng là loại nấm tươi, có chất lượng tốt. Chi tiết tiết về các loại nấm được trình bày trong Hình 1 và Bảng 1.

Bảng 1. Các loại nấm sử dụng trong nghiên cứu

Tên thường gọi	Tên tiếng Anh	Tên khoa học
Nấm rơm	Straw mushroom	<i>Volvariella volvacea</i>
Nấm kim châm	Winter Mushroom	<i>Flammulina velutipes</i>
Nấm bào ngư	Oyster mushroom	<i>Pleurotus ostreatus</i>
Nấm linh chi trắng	Crab mushroom	<i>Tremella fuciformis</i>
Nấm đùi gà	King Oyster Mushroom	<i>Pleurotus eryngii</i>
Nấm đông cô	Shiitake listen	<i>Lentinus edodes</i>
Nấm hải sản	Seafood mushroom	<i>Hypsathyra maritima</i>



Hình 1. Bảy loại nấm ăn sử dụng trong nghiên cứu. 1: Nấm rơm, 2: Nấm đông cô, 3: Nấm bào ngư, 4: Nấm kim châm, 5: Nấm đùi gà, 6: Nấm linh chi trắng, 7: Nấm hải sản.

2.2. Hóa chất

L-DOPA(L-3,4-dihydroxyphenylalanine) tinh khiết mua từ công ty Sigma Aldride, USA. NaH_2PO_4 và Na_2HPO_4 sử dụng loại tinh khiết, hạng phân tích (Merck, Đức).

2.3. Chiết enzyme polyphenoloxidase

Nấm ăn được xay nhỏ bằng máy nghiền (Super Blender, MX - T2GN, Matsushita Electric Industrial Co., Ltd, Japan) trước khi thực hiện quá trình chiết enzyme polyphenoloxidase (PPO). Dung dịch chiết PPO được sử dụng là đệm phosphate pH 6,8, tỷ lệ nguyên liệu so với dung dịch chiết là 1:5 (g/ml). Quá trình chiết được thực hiện trên thiết bị đồng hóa hóa (IKA, T18B, Ultra – Turax, Germany), với tốc độ 10.000 rpm trong thời gian 5 phút. Hỗn hợp thu được tiến hành ly tâm ở tốc độ 8.000 rpm trong 15 phút ở 4°C (Centrifuge, Labentech, Mega 17R, Germany). Phần dịch trong thu được sau ly tâm chứa PPO, được đem đi xác định hoạt tính ngay.

2.4. Xác định hoạt tính polyphenoloxidase

Hoạt tính enzyme polyphenoloxidase được xác định theo phương pháp của Chen và Cubo (2002) với một vài hiệu chỉnh nhỏ. Tóm tắt: 0,5 ml dịch chiết chứa enzyme PPO được trộn với 1,5 ml nước cất trước khi thêm 0,5 ml cơ chất L-DOPA (1 mg/ml pha trong nước cất). Độ hấp thụ quang học được đo ở bước sóng 475 nm trên máy quang phổ kế UV-Vis (Genesys 20, Thermo scientific, Germany). Một đơn vị hoạt độ enzyme PPO được định nghĩa là sự tăng lên 0,001 đơn vị của độ hấp thụ quang học ở bước sóng 475 nm/phút ở điều kiện tiến hành thí nghiệm.

2.5. Xác định khả năng chịu nhiệt của polyphenoloxidase

Khả năng chịu nhiệt của enzyme polyphenoloxidase được xác định ở nhiệt độ 30 °C, 45°C, 60°C, 80°C và 100°C sử dụng bể ổn nhiệt (Elma, S 300H, Elmasonic, Germany). Hoạt tính PPO được xác định sau mỗi 10 phút ở điều kiện nhiệt độ chỉ ra. Phần trăm hoạt tính PPO còn lại được tính toán. Mỗi quan hệ giữa hoạt tính enzyme còn lại so với thời gian cho biết tính ổn định nhiệt của PPO tại mỗi nhiệt độ nghiên cứu.

2.6. Xác định độ ẩm

Hàm lượng ẩm của nấm ăn được xác định theo phương pháp của AOAC 952.08 (1990).

2.7. Xử lý số liệu

Các thí nghiệm được tiến hành lặp ba lần, kết quả báo cáo là giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Hàm lượng ẩm, hoạt tính enzyme polyphenoloxidase của các loại nấm được xử lý trên phần mềm Statistica 8.0 (Stasoft, Tulsa, OK, USA). Tiêu chuẩn Tukey's HSD được sử dụng để đánh giá sự khác biệt giữa các giá trị với $p < 0,05$.

3. Kết quả nghiên cứu và bình luận

3.1. Hàm lượng ẩm của các loại nấm ăn

Bảng 2 trình bày hàm lượng ẩm của bảy loại nấm. Nhìn chung, hàm lượng ẩm trong nấm khá cao, dao động từ 82,8% (nấm Đùi gà) đến 89,4% (nấm rơm). Nấm đùi gà có hàm ẩm thấp nhất nên có cấu trúc cơ thịt cứng và dai nhất. Ngược lại, nấm rơm và nấm Hải sản có hàm lượng ẩm cao nhất (89,4% và 89,2%) nên có cấu trúc cơ thịt mềm và lỏng lẻo. Do đó, trong bảo quản và chế biến loại nấm này dễ bị tổn thương cơ học và hư hỏng hơn các loại nấm còn lại.

Bảng 2. Hàm lượng ẩm của bảy loại nấm ăn

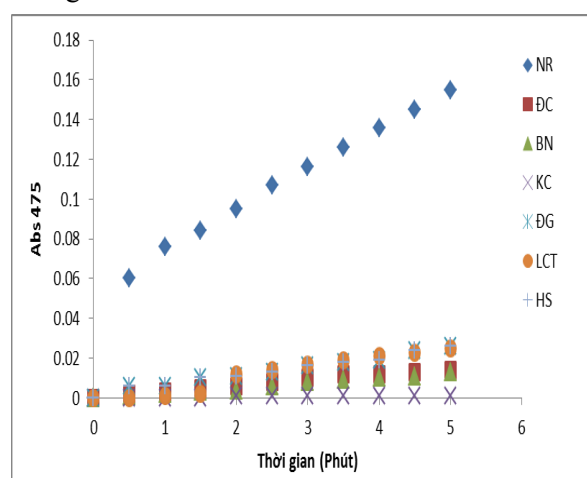
Loại nấm	Hàm lượng ẩm (%)
Nấm rơm (NR)	89,36 $\pm$ 0,29 ^a
Đông cô (ĐC)	85,38 $\pm$ 0,25 ^c
Bào ngư (BN)	82,80 $\pm$ 0,90 ^d
Kim châm	87,41 $\pm$ 0,32 ^b
Đùi gà (ĐG)	84,46 $\pm$ 0,18 ^c
Linh chi trắng	87,40 $\pm$ 0,23 ^b
Hải sản (HS)	89,18 $\pm$ 0,03 ^a

Chữ cái khác nhau theo cột chỉ ra sự khác nhau $p < 0,05$.

3.2. Hoạt tính enzyme polyphenoloxidase

Hoạt tính enzyme polyphenoloxidase (PPO) của bảy loại nấm ăn được trình bày trong Hình 2 và Bảng 3. Như được dự đoán từ trước, nấm rơm có hoạt tính PPO cao nhất với 2.959 đơn vị hoạt độ, nấm kim chi có hoạt độ thấp nhất với 19 đơn vị hoạt độ. Nấm Linh chi trắng, nấm Hải sản và nấm Đùi gà có hoạt tính PPO

không khác nhau đáng kể ($p > 0,05$), với hoạt độ dao động từ 306 đến 406 đơn vị. Hoạt độ PPO của nấm Đông cô và Bào ngư cũng không có sự khác biệt đáng kể ($p > 0,05$), với giá trị của chúng lần lượt là 193 và 208 đơn vị. Từ kết quả nghiên cứu có thể cho phép dự đoán rằng nấm rơm dễ bị biến đen hơn so với các loại nấm khác trong quá trình bảo quản sau thu hoạch. Điều này cũng đã được xác nhận qua thực tế. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy rằng tất cả các loại nấm đều có hoạt tính PPO, điều này có thể lý giải vì sao nấm sau khi thu hoạch thường bị biến đen khi điều kiện bảo quản không phù hợp và thời gian kéo dài.



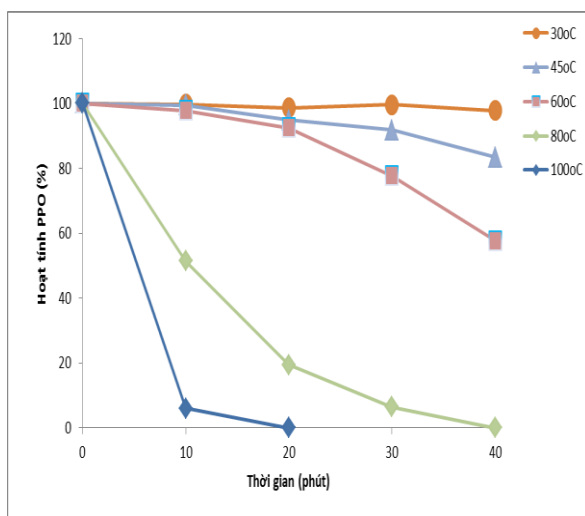
Hình 2. Động học của phản ứng oxy hóa L-DOPA bởi dịch chiết nấm ăn trong điều kiện thí nghiệm: 0,5 ml dịch chiết nấm ăn + 1,5 ml đệm pH 6,8 + 0,5 ml L-DOPA (1 mg/ml).

Bảng 3. Hoạt độ polyphenoloxidase của bảy loại nấm ăn

Loại nấm	PPO (Đơn vị/g w.w)	PPO (Đơn vị/g d.b)
Nấm	315 $\pm$	2959,1
Đông	28,3 $\pm$	193,3 $\pm$
Bào	26,2 $\pm$	207,7 $\pm$
Kim chi	2,1 $\pm$	19,3 $\pm$
Đùi gà	52,6 $\pm$	305,6 $\pm$
Linh	51,1 $\pm$	405,7 $\pm$
Hải sản	51,7 $\pm$	332,9 $\pm$

w.w = khối lượng ướt, d.b = khối lượng chất khô, chữ cái khác nhau theo cột chỉ ra sự khác nhau $p < 0,05$.

3.3. Khả năng chịu nhiệt của polyphenoloxidase



Hình 3. Động học quá trình bất hoạt polyphenoloxidase trong dịch chiết nấm rơm ở điều kiện thí nghiệm: 0,5 ml dịch chiết nấm + 1,5 ml đệm pH 6,8 + 0,5 ml L-DOPA (1 mg/ml).

Khả năng chịu nhiệt của enzyme polyphenoloxidase được trình bày trong Hình 3. Kết quả cho thấy hoạt tính của PPO chịu ảnh hưởng

bởi nhiệt độ. Hoạt tính tương đối ổn định ở 30°C và giảm nhẹ ở 45°C sau 40 phút (giảm 16,6%). Tuy nhiên, nếu tăng nhiệt độ lên 60°C thì hoạt tính PPO giảm 42,3% và gần như mất hoàn toàn hoạt tính ở nhiệt độ 80°C sau 30 phút (giảm 97,3%). Hoạt tính PPO sẽ mất gần như hoàn toàn chỉ sau gần 10 phút ở 100°C (hoạt tính giảm 98,6%). Sở dĩ nhiệt có khả năng bất hoạt PPO là vì bản chất PPO là một protein nên khi gia nhiệt làm biến tính protein nên enzyme bị mất hoạt tính. Kết quả đạt được từ nghiên cứu này cho thấy có thể sử dụng nhiệt độ để bất hoạt enzyme PPO trong nấm ăn.

4. Kết luận

Bảy loại nấm ăn đều có hoạt tính enzyme polyphenoloxidase và hoạt tính của chúng được xếp theo thứ tự giảm dần như sau: Nấm rơm > nấm Linh chi trắng > nấm Hải sản > nấm Đùi gà > nấm Bào ngư > nấm Đông cô > nấm Kim chi. Hoạt tính enzyme polyphenoloxidase ảnh hưởng bởi nhiệt độ và có thể sử dụng nhiệt độ cao để bất hoạt enzyme này. Cụ thể: 80°C trong 30 phút hoặc 100°C trong 10 phút. Kết quả nghiên cứu này có ý nghĩa thiết thực cho ngành công nghiệp chế biến nấm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Helrich K, editor, *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 5th ed. Arlington, Va.: AOAC Inc, 1990.
- [2] Qing-Xi Chen and Isao Kubo, "Kinetics of mushroom tyrosinase by quercetin", *J. Agric. Food Chem.*, 50, 2002, pp. 4108-4112.
- [3] Xiaofei Xu, Huidan Yan, Jian Chen, Xuwu Zhang, "Bioactive proteins from mushrooms", *Biotechnology Advances*, 29, 2011, pp. 667-674.

(BBT nhận bài: 20/07/2013, phản biện xong: 03/09/2013)