

# NÂNG CAO HÀM LƯỢNG VÀ THÀNH PHẦN HÓA HỌC TINH DẦU VỎ CAM SỬ DỤNG PHƯƠNG PHÁP CHUNG CẤT KẾT HỢP ENZYME

Nguyễn Văn Chung\*, Vũ Thị Hường, Nguyễn Thị Anh Thư,  
Huỳnh Thị Lê Dung, Đoàn Thanh Sơn, Phùng Thị Bích Ngọc, Phan Trần Huỳnh Như  
Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

\*Email: chungnv@huit.edu.vn

Ngày nhận bài: 26/7/2024; Ngày nhận bài sửa: 29/8/2024; Ngày chấp nhận đăng: 04/9/2024

## TÓM TẮT

Tinh dầu vỏ cam là nguồn hương liệu tự nhiên có giá trị cao trong việc chế biến hương cam sử dụng vào các sản phẩm thực phẩm. Phương pháp thu nhận tinh dầu cam truyền thống là chưng cất cuốn hơi nước vỏ cam để thu tinh dầu và tiếp tục chế biến để có hương liệu dùng trong thực phẩm. Nghiên cứu này thực hiện nhằm nâng cao hàm lượng và chất lượng tinh dầu cam sành (*Citrus nobilis*) thu được. Vỏ cam được tách lấy phần vỏ xanh là phần chủ yếu chứa tinh dầu để giảm được khoảng 50% khối lượng nguyên liệu không cần thiết cho quá trình chiết xuất tinh dầu mà không làm giảm đáng kể hàm lượng tinh dầu thu được. Hàm lượng tinh dầu thu được từ phần vỏ xanh của trái cam kết hợp sử dụng enzyme pectinase 0,2% và cellulase 0,2% tăng lần lượt 0,46% và 0,48% so với mẫu chưng cất hơi nước truyền thống không sử dụng enzyme. Kết quả phân tích bằng phương pháp GC-MS cho thấy tinh dầu vỏ cam sành thu được bằng phương pháp cất cuốn hơi nước có hỗ trợ enzyme pectinase và cellulase chứa 32 cấu tử, trong đó số lượng các hợp chất chứa oxy tăng 4 cấu tử so với mẫu thu được bằng phương pháp không sử dụng enzyme.

*Từ khóa:* Tinh dầu cam, pectinase, cellulase, thành phần cấu tử tinh dầu cam.

## 1. MỞ ĐẦU

Tinh dầu vỏ cam từ lâu đã là nguồn chất thơm tự nhiên được khai thác sử dụng phổ biến trong sản xuất hương liệu thực phẩm dùng pha chế đồ uống, bánh kẹo và kem [1]. Thành phần chính của tinh dầu cam gồm nhóm các hợp chất terpene, là các chất có cấu tạo chỉ bởi mạch carbon và hydro không tan trong nước do chúng không phân cực [1]. Các chất có mùi thơm có giá trị là các nhóm chất rượu, aldehyde, ester như terpineol, linalyl acetate... là các chất dễ hòa tan trong nước và nhiệt độ sôi khá thấp so với terpene nên thường bay hơi mạnh khi ở nhiệt độ cao, đặc biệt trong quá trình chưng cất tinh dầu bằng phương pháp cất cuốn theo hơi nước [1].

Trong quá trình sử dụng tinh dầu cam để phối chế hương liệu phục vụ mục đích thực phẩm, cần thiết phải loại bỏ phần lớn các hợp chất hydrocarbon không chứa oxy (terpene) vì các hợp chất này không có lợi về mặt dinh dưỡng và có thể gây tác hại cho hệ tiêu hóa, chủ yếu giữ lại các thành phần cấu tử chứa oxy [2].

Phương pháp khai thác tinh dầu truyền thống thường được áp dụng là cất cuốn theo hơi nước. Trong quá trình chưng cất, tinh dầu không tan trong nước tạo thành hỗn hợp hơi đẳng phí, sau đó được ngưng tụ trong thiết bị làm lạnh, phân tách lớp có thể thu được lớp tinh dầu nổi lên phía trên và loại bỏ lớp nước ở dưới [1]. Ưu điểm của phương pháp cất cuốn theo hơi nước để khai thác các loại tinh dầu nói chung và tinh dầu vỏ cam nói riêng là dễ làm, chi phí thấp. Tuy nhiên, do ảnh hưởng của nhiệt độ sôi của nước (100 °C) nên các cấu tử chứa oxy, là thành phần tạo mùi thơm chủ yếu của tinh dầu, bị tổn thất do mức độ tạo hỗn hợp đẳng phí với nước kém hơn terpene, dễ bị thất thoát ra môi trường [1].

Dựa trên cấu trúc của lớp vỏ, có thể thấy hầu hết tinh dầu vỏ cam tập trung thành các túi khu trú ở lớp vỏ màu xanh bên ngoài cùng, lớp vỏ trắng hầu như không có các túi tinh dầu. Do đó, nếu loại bỏ bớt lớp vỏ trắng sẽ giảm đáng kể lượng nguyên liệu không cần thiết trong quá trình xử lý và thu hồi tinh

dầu [3]. Ngoài ra, với cấu trúc giàu cellulose và pectin, để giải phóng tinh dầu ở dạng tự do tốt nhất mà không sử dụng năng lượng nhiệt, enzyme cellulase và pectinase có thể sử dụng hỗ trợ quá trình tách tinh dầu [1]. Hàm lượng pectin trong vỏ cam tính theo tỷ lệ vỏ tươi từ 1,9-2,5% tùy độ ẩm của vỏ [3], trong khi đó cellulose đóng vai trò chủ yếu trong cấu trúc màng của túi chứa tinh dầu ở vỏ cam. Trong quá trình chưng cất cuốn theo hơi nước, pectin là thành phần có tính chất tạo gel, tăng độ nhớt của dịch nước chưng cất làm giảm tốc độ thoát của tinh dầu, đặc biệt đối với các cấu tử có khối lượng phân tử thấp và phân cực như các hợp chất chứa oxy [1]. Vì vậy, sử dụng enzyme để thủy phân cellulose và pectin sẽ có hiệu quả làm tăng tốc độ giải phóng tinh dầu khi tạo hỗn hợp hơi đẳng phí với nước, sẽ làm tăng hiệu suất thu hồi tinh dầu và tăng tỷ lệ các hợp chất chứa oxy trong tinh dầu thu được. Nhằm giảm thiểu mức tổn thất chất có mùi thơm trong tinh dầu vỏ cam, nghiên cứu này khảo sát phương pháp tiền xử lý cơ học và kết hợp enzyme nhằm nâng cao hàm lượng và chất lượng tinh dầu thu được, giữ được mùi thơm tự nhiên của cam khi ứng dụng làm hương liệu sản xuất các sản phẩm đồ uống, bánh kẹo và kem.

## **2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Nguyên vật liệu**

Cam sành nguyên trái có nguồn gốc từ các tỉnh Miền Tây (Tiền Giang, Bến Tre và Trà Vinh), được xếp vào nhóm giống lai tự nhiên [4], tên khoa học là *Citrus nobilis* (gọi tắt là cam sành miền Tây).

Enzyme sử dụng trong nghiên cứu là celulase và pectinase của hãng Novozymes (Đan Mạch), được cung cấp bởi Công ty TNHH Brenntag Việt Nam. Enzyme cellulase dạng rắn (hoạt độ  $\geq 100$  U/g, khoảng nhiệt độ hoạt động (30 - 60) °C, nhiệt độ tối thích 40 °C, pH hoạt động 4,0 - 5,5 và pH tối thích 4,8). Enzyme Pectinex SP-L dạng lỏng (hoạt độ 3.300 PGNU/g, nhiệt độ hoạt động (30 - 55) °C, nhiệt độ tối thích 40 °C, pH hoạt động 2,6 - 6,5 và pH tối thích 4,3).

### **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

#### *2.2.1. Phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước thu nhận tinh dầu từ vỏ cam xử lý cơ học*

Cân 100 g vỏ xanh đã thu được bằng phương pháp chà (ước tính lượng tinh dầu thu được không vượt quá 10 mL), cho vào bình cầu 1.000 mL cổ nhám, bổ sung 500 mL nước cất. Quá trình chưng cất được thực hiện cho đến khi thể tích tinh dầu thu được không thay đổi.

#### *2.2.2. Phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước thu nhận tinh dầu từ vỏ cam xử lý cơ học kết hợp enzyme*

Cân 100 g vỏ xanh của trái cam sau khi chà, cho vào bình cầu 1.000 mL và bổ sung 500 mL nước cất, enzyme pectinase và cellulase được sử dụng mỗi loại 0,2% enzyme, thêm 0,5% acid citric so với khối lượng vỏ. Bình chưng cất được gia nhiệt và duy trì nhiệt độ 35 – 40 °C trong thời gian 30 phút để hoạt hóa enzyme ở nhiệt độ tối thích. Sau đó tăng nhiệt độ chưng cất như quá trình chưng cất thông thường, thời gian chưng cất được tiến hành liên tục cho đến khi thể tích tinh dầu thu nhận không tăng.

#### *2.2.3. Phương pháp trích ly tinh dầu vỏ cam bằng dung môi có hỗ trợ enzyme*

Quá trình chuẩn bị nguyên liệu tương tự như phương pháp chưng cất cuốn như trên. Phần xanh của vỏ cam được cho vào bình cầu cổ nhám và bổ sung enzyme mỗi loại 0,2% và 0,5% acid citric, gia nhiệt đến 40 °C, giữ nhiệt độ này trong 30 phút để hoạt hóa enzyme. Khi kết thúc thời gian ủ enzyme, vỏ cam và dung dịch được cho vào máy xay sinh tố và xay nghiền kỹ trong 10 - 15 phút. Chiết tinh dầu trong mẫu bằng ether petrol, 3 lần mỗi lần với 100 mL, khuấy nhẹ 30 vòng/phút trong thời gian 20 phút và chuyển vào phễu chiết để lắng tách lớp. Lớp ether hòa tan tinh dầu nổi bên trên được chiết ra, gom lượng ether sau khi trích ly ở cả 3 lần và chưng cất thu hồi dung môi ở 35 °C có hỗ trợ chân không để loại bỏ triệt để ether. Tinh dầu thu được sử dụng làm mẫu phân tích sắc ký GC-MS.

### **2.3. Phương pháp phân tích**

#### *2.3.1. Xác định tỷ lệ (%) vỏ xanh của trái cam*

Cam nguyên trái được rửa sạch, để ráo nước và dùng bàn chà nạo lớp vỏ xanh bên ngoài cho đến khi tách hầu hết lớp vỏ xanh. Cân khối lượng lớp vỏ xanh thu được. Tỷ lệ (%) vỏ xanh như sau:

$$\% \text{ vỏ xanh} = \frac{m_{\text{vỏ xanh}}}{m_{\text{ban đầu}}} \times 100$$

### 2.3.2. Đo tỷ trọng của tinh dầu

Đo tỷ trọng tinh dầu theo phương pháp của Datta [5]. Bình tỷ trọng 5 mL được rửa sạch, tráng lại bằng acetone, cân trọng lượng bình không và mao quản, để khô và nạp tinh dầu vào tới cổ bình. Lắp nhẹ nút có mao quản cho tinh dầu tràn đầy mao quản, lau phần còn thừa tràn mao quản bằng giấy lọc, cân lại bình có chứa tinh dầu. Thực hiện tương tự với nước cất và cân khối lượng nước tương tự như tinh dầu. Tính tỷ trọng của tinh dầu theo công thức.

$$d_{20/20} = \frac{m_{td} - m_0}{m_w}$$

Trong đó,  $d_{20/20}$ : tỷ trọng của tinh dầu so với nước ở nhiệt độ 20 °C;  $m_{td}$ : khối lượng bình và tinh dầu;  $m_0$ : khối lượng bình rỗng;  $m_w$ : khối lượng của nước cất trong cùng bình tỷ trọng ở nhiệt độ 20 °C.

### 2.3.4. Đo độ chiết quang của tinh dầu

Tinh dầu thu được sau khi cất cuộn hơi nước được lọc qua giấy lọc có bổ sung lớp sulfate natri khan để làm khô. Sử dụng khúc xạ kế PAL-BX/RI (Atago, Nhật Bản) để đo chỉ số chiết quang.

### 2.3.5. Phân tích thành phần cấu tử của tinh dầu

Tinh dầu thu được trước khi phân tích GC-MS được xử lý, làm khô bằng sulfate natri khan để đảm bảo độ chính xác của kết quả phân tích. Phân tích thực hiện theo nghiên cứu của Zelalem trên thiết bị GC/MS/MS-7890B (Agilent, Mỹ) bởi Trung tâm phân tích Quốc tế, Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh.

## 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

### 3.1. Kết quả khảo sát tỷ lệ vỏ và hàm lượng tinh dầu cam sành

Kết quả khảo sát tỷ lệ thành phần vỏ và lượng tinh dầu của trái cam được trình bày ở Bảng 1. Kết quả cho thấy tỷ lệ vỏ (nguyên vỏ) và vỏ xanh của cam sành miền Tây tương tự như kết quả của Lưu Minh Châu và cộng sự [6]. Tuy nhiên, tỷ lệ vỏ so với khối lượng quả cam dao động khá lớn phụ thuộc từng loại cam và nơi trồng, tỷ lệ giữa vỏ xanh và vỏ trắng dao động trong khoảng  $\pm 50\%$ .

Bảng 1. Kết quả khảo sát tỷ lệ vỏ và hàm lượng tinh dầu cam

| STT | Chỉ tiêu                                   | Kết quả   |
|-----|--|-----------|
| 1   | Khối lượng quả trung bình (g/quả)          | 147 - 156 |
| 2   | Tỷ lệ vỏ (nguyên vỏ xanh và trắng)/quả (%) | 24,8      |
| 3   | Tỷ lệ vỏ xanh/quả (%)                      | 12,1      |
| 4   | Hàm lượng chất khô của vỏ (%)              | 21,6      |
| 5   | Hàm lượng chất khô của vỏ xanh (%)         | 20,6      |
| 6   | Tỷ lệ vỏ xanh/vỏ nguyên                    | 1:2       |
| 7   | Hàm lượng tinh dầu vỏ xanh (%)             | 6,04      |
| 8   | Hàm lượng tinh dầu của vỏ (nguyên vỏ) (%)  | 3,08      |

Như vậy, nếu xử lý ban đầu tách bớt vỏ trắng khi chuẩn bị chiết xuất tinh dầu sẽ giảm được khoảng 50% khối lượng nguyên liệu không có giá trị, hạn chế tổn thất dung môi và thể tích thiết bị dụng cụ chung cất. Để sản xuất quy mô công nghiệp có thể nghiên cứu chế tạo thiết bị chà nạo phần vỏ xanh để đảm bảo tính ổn định về tỷ lệ vỏ xanh thu hồi và có năng suất cao.

Kết quả ở Bảng 1 cũng cho thấy hàm lượng tinh dầu thu được sau khi tách bỏ phần vỏ trắng tăng gần gấp đôi so với mẫu để nguyên vỏ. Hàm lượng tinh dầu thu được ở Bảng 1 tương tự với kết quả của Đào Tấn Phát và cộng sự [7] đối với nguyên liệu cam miền Tây. Phương pháp chà tách lấy phần vỏ xanh trước khi chiết xuất tinh dầu thu được hàm lượng tinh dầu gần tương đương với cất nguyên vỏ (tính theo tỷ lệ khối lượng vỏ từng loại) nhưng giảm khoảng 50% lượng nguyên liệu không có ích đưa vào chung cất hoặc trích ly. Điều này có ý nghĩa kinh tế - kỹ thuật lớn trong mô hình khai thác tinh dầu

vỏ cam ở quy mô công nghiệp, tiết kiệm năng lượng và giảm đáng kể thể tích thiết bị sử dụng. Vì vậy, vỏ xanh của cam được chọn để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

### **3.2. Đặc tính và thành phần cấu tử của tinh dầu cam sành**

#### *3.2.1. Tính chất vật lý của tinh dầu cam sành*

Vỏ xanh của cam sành sau khi được chà tách khỏi cam nguyên trái được xác định bằng phương pháp cất cuốn theo hơi nước trong dụng cụ chưng cất tinh dầu dạng Clevenger [5]. Kết quả phân tích hàm lượng và tính chất vật lý của tinh dầu được trình bày ở Bảng 2.

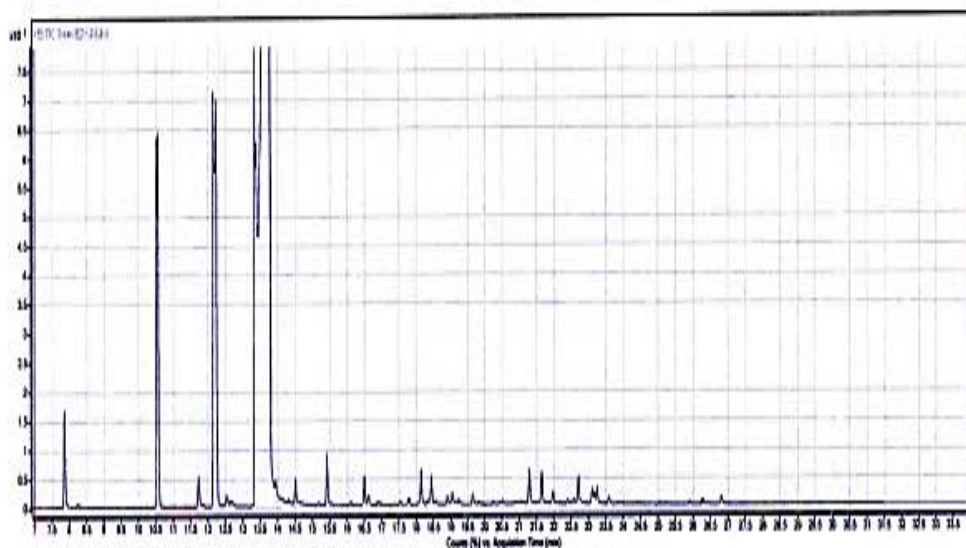
*Bảng 2. Tính chất vật lý tinh dầu cam sành*

| STT | Đặc tính                             | Kết quả   |
|-----|--------------------------------------|-----------|
| 1   | Tỷ trọng $d_{20/20}$                 | 0,867     |
| 2   | Độ quay cực                          | 1,464     |
| 3   | Màu sắc                              | Không màu |
| 4   | Độ hòa tan trong cồn 96% (v/v)       | 1:2,5     |
| 5   | Độ hòa tan trong cồn tuyệt đối (v/v) | Vô hạn    |

Theo kết quả ở Bảng 2, tinh dầu cam có tỷ trọng là 0,867, nhẹ hơn nước. Tỷ trọng này là phù hợp đối với nhiều loại tinh dầu, đặc biệt là những tinh dầu có thành phần chủ yếu là các hợp chất không phân cực như terpene [1]. Tinh dầu cam có độ quay cực là 1.464, không màu, độ hòa tan trong cồn 96% v/v là 1:2.5 và tan vô hạn trong cồn tuyệt đối. Kết quả này cho thấy tinh dầu cam đạt yêu cầu về tiêu chuẩn vật lý và có thể được sử dụng chế biến thành hương liệu thực phẩm sử dụng cho các sản phẩm thực phẩm, căn cứ tiêu chuẩn TCVN 11424:2016 ISO 3140:2011 [8].

#### *3.2.2. Thành phần cấu tử của tinh dầu cam sành*

Kết quả phân tích thành phần các cấu tử có trong tinh dầu vỏ xanh cam sành (thu nhận bằng phương pháp xử lý cơ học) được trình bày ở Bảng 3 và biểu đồ phổ các hợp chất trong tinh dầu cam sành chưng cất từ vỏ xanh được thể hiện ở Hình 1. Tỷ lệ % khối lượng của nhóm cấu tử chứa oxy và nhóm thuần hydrocarbon được tính theo khối lượng tổng cộng % hàm lượng của từng cấu tử.



*Hình 1. Phổ chạy chế độ scan GC-MS mẫu tinh dầu cam chưng cất từ vỏ xanh*

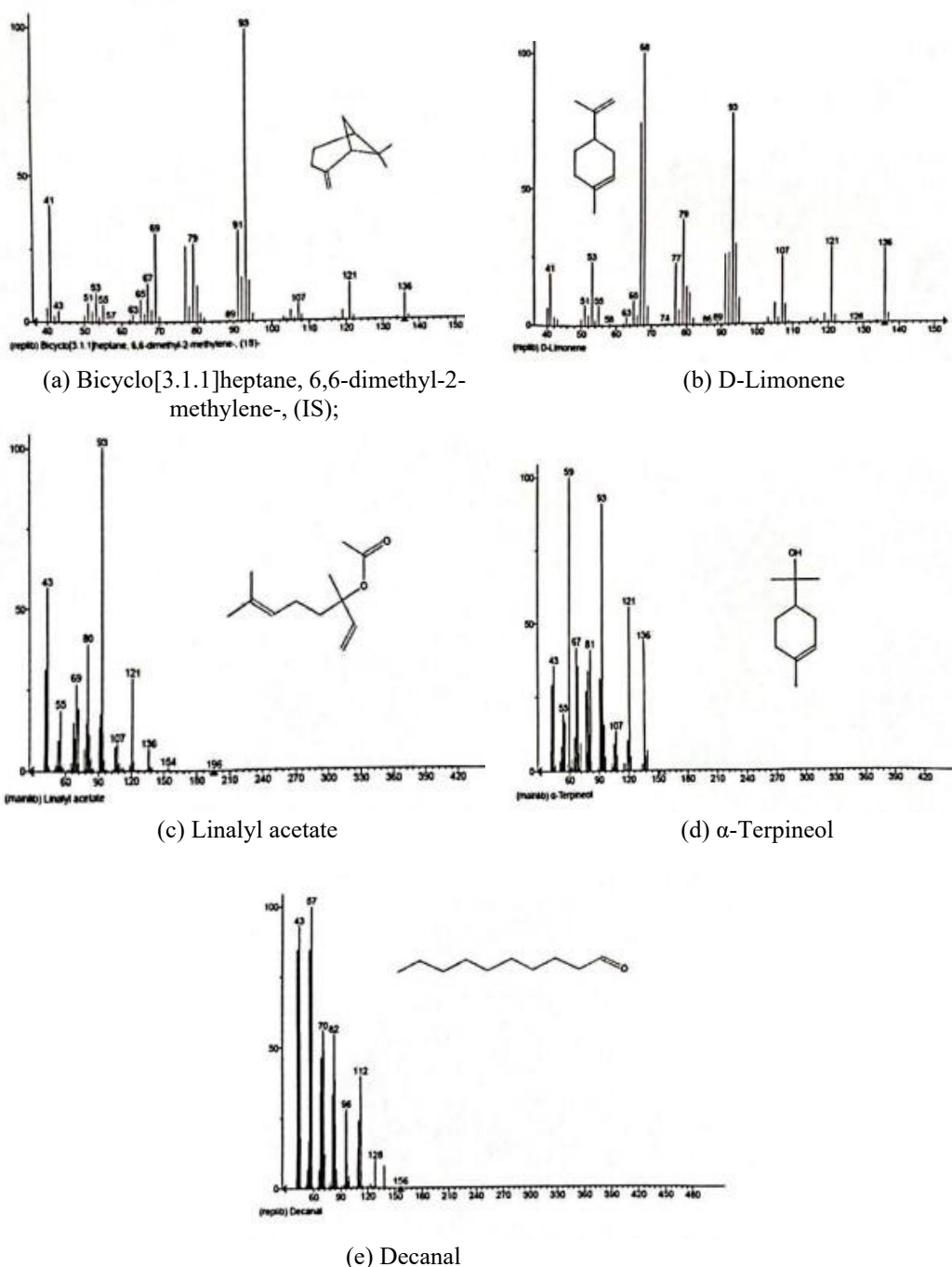
Kết quả phân tích GC-MS ở Bảng 3 cho thấy số cấu tử phân tích được là 28, tỷ lệ phần trăm hàm lượng số cấu tử chứa oxy của cam sành là 17,8%, bằng khoảng 50% so với giống cam Bergamot của châu Âu đang sử dụng làm nguyên liệu chính để khai thác tinh dầu cam (37,7%) [2]. Theo kết quả nghiên cứu của Lưu Minh Châu và cs [6], Phạm Thị Kim Phượng [9], các giống cam khác của nước ta có hàm lượng hợp chất chứa oxy khá thấp ( $\leq 10\%$ ). Số liệu tiêu chuẩn tinh dầu cam ngọt của Việt Nam của TCVN [8] cũng đề cập tới hàm lượng limonene trong tinh dầu cam là 93%. Trong khi đó, các kết quả phân tích của

Lê Thị Thu Trang và cs [4] không định tính và định lượng được số cấu tử chứa oxy trong cam sành cùng loại. Nguyễn Văn Lợi và cs [10] công bố kết quả một số cấu tử chính tạo mùi thơm cho tinh dầu cam sành Hàm Yên, không thấy đề cập tới tổng số cấu tử của tinh dầu. Số lượng cấu tử chứa oxy khá cao trong mẫu tinh dầu cam sành miền Tây cho thấy tiềm năng sản xuất hương liệu tự nhiên của loại nông sản này nếu được nghiên cứu đầy đủ hơn về kỹ thuật khai thác tinh dầu cam quy mô công nghiệp.

Bảng 3. Thành phần tinh dầu cam chung cất từ vỏ xanh

| STT                   | Tên cấu tử  | Hàm lượng (%)   | Thời gian lưu (phút) |
|-----------------------|---|-----------------|----------------------|
| 1                     | Diacetone alcohol   | 8,27            | 7,857                |
| 2                     | $\alpha$ -Pinene  | 0,72            | 10,545               |
| 3                     | $\beta$ -Phellandrene                                       | 0,16            | 11,721               |
| 4                     | Bicyclo[3. 1 . 1 ]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)- | 9,65            | 12,17                |
| 5                     | Octanal   | 0,43            | 12,516               |
| 6                     | D-Limonene  | 68,80           | 68,80                |
| 7                     | Methyl 2,6-bis([(benzyloxy)carbonyl]amino)hexanoate         | 0,1             | 13,89                |
| 8                     | 1-Octanol   | 0,35            | 14,495               |
| 9                     | Linalyl acetate   | 2,10            | 15,41 1              |
| 10                    | 1 R,4R-p-Mentha-2, 8-dien- 1 -ol                            | 0,12            | 1 6,103              |
| 11                    | <i>trans</i> -Sabinene hydrate                              | 0,41            | 17,788               |
| 12                    | $\alpha$ -Terpineol   | 1,88            | 18,142               |
| 13                    | Decanal   | 1,73            | 18,445               |
| 14                    | Ethyl iso-allochololate                                     | 0,19            | 18,566               |
| 15                    | 2-Octen- 1 -ol, 3,7-dimethyl-                               | 0,86            | 19,05                |
| 16                    | 2-Cyclohexen- 1 -one, 3-methyl-6-( 1- methylethenyl)-, (S)- | 0,15            | 20,424               |
| 17                    | L-Perillaldehyde  | 0,52            | 20,502               |
| 18                    | p-Mentha- 1 (7),8( 1 0)-dien-9-ol                           | 0,21            | 20,856               |
| 19                    | Docosahexaenoic acrd, 1,2,3 - propanetriyl ester            | 0,25            | 21,038               |
| 20                    | N,N'-B is (Carbobenzyloxy)-lysine methyl(ester)             | 0,11            | 21,288               |
| 21                    | 13-Heptadecyn-1 -ol   | 0,15            | 22,394               |
| 22                    | (R)-lavandulyl acetate                                      | 0,32            | 23,172               |
| 23                    | alfa.-Copaene   | 0,19            | 23,241               |
| 24                    | $\beta$ -copaene  | 0,15            | 23,587               |
| 25                    | Lauraldehyde  | 0,14            | 23,829               |
| 26                    | Methyl 10, 1 3-octadecadiynoate                             | 0,10            | 23,967               |
| 27                    | $\sigma$ -Cadinene, (+)-                                    | 0,13            | 26,82                |
| 28                    | Dipalmitin  | 0,12            | 35,177               |
| Tổng kê theo cấu trúc |   | Số lượng cấu tử | Tỷ lệ hàm lượng (%)  |
| 1                     | Tổng số cấu tử chứa oxy                                     | 22              | 17,8                 |
| 2                     | Tổng số cấu tử thuần hydrocarbon (terpene)                  | 6               | 82,2                 |

Hình 2 cho thấy phổ GC-MS của một số chất có hàm lượng phần trăm cao trong tinh dầu cam sành miền Tây. Trong đó, các hợp chất được ghi nhận bao gồm Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)-, D-Limonen, Linalyl acetate,  $\alpha$ -Terpineol và Decanal. Trong số các cấu tử này, Linalyl acetate,  $\alpha$ -Terpineol và Decanal là các cấu tử chứa oxy được ghi nhận là các chất tạo mùi thơm đặc trưng cho mùi trái cây.



Hình 2. Phổ GC-MS của một số chất có hàm lượng % cao trong tinh dầu cam chưng cất từ vỏ xanh

### 3.3. Cải tiến phương pháp thu nhận tinh dầu cam sành bằng sử dụng hỗn hợp enzyme

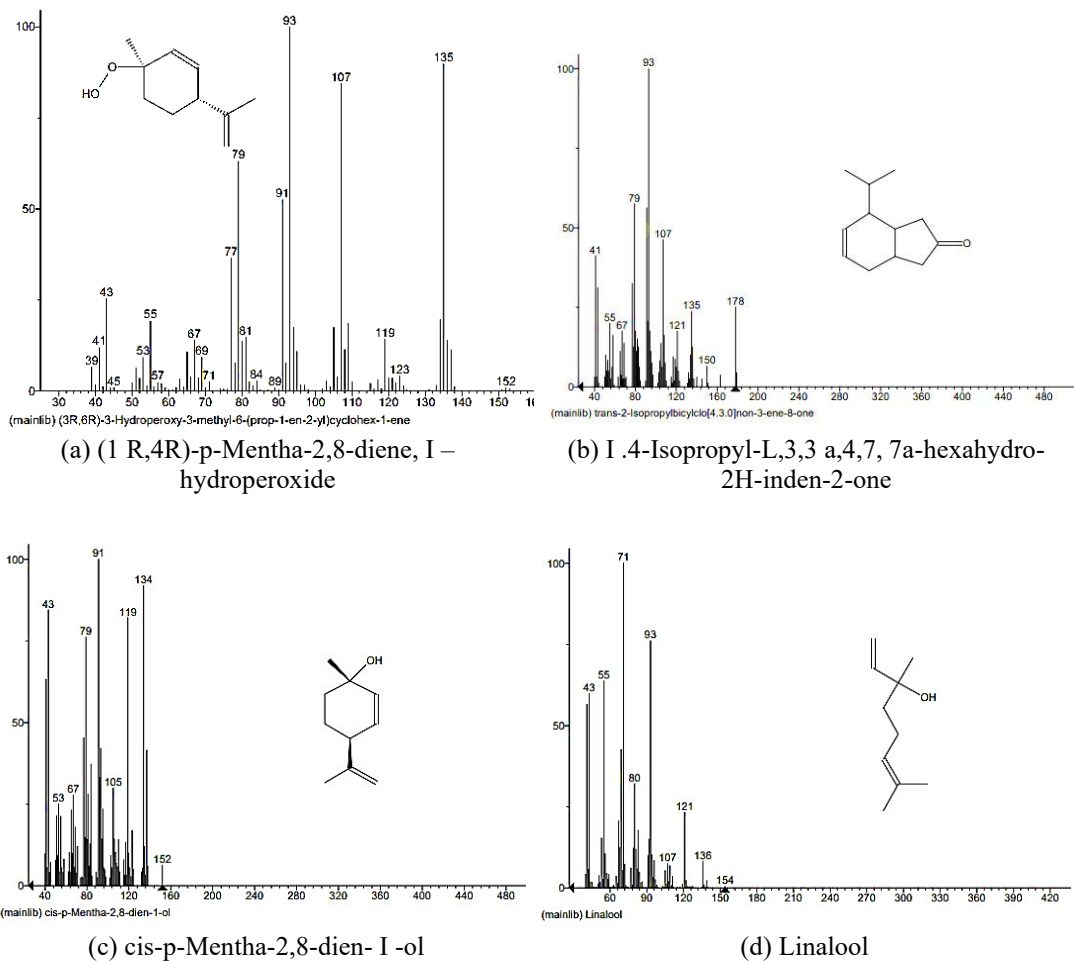
Nhằm tăng hàm lượng tinh dầu cam thu được, tăng các hợp chất chứa oxy, các phương pháp chiết xuất khác nhau đã được sử dụng và kết quả được tổng hợp ở Bảng 4. Kết quả cho thấy, chưng cất lôi cuốn hơi nước truyền thống (P1) thu được hàm lượng tinh dầu thấp nhất, chưng cất lôi cuốn có sử dụng hỗn hợp enzyme (P2) cho thấy cải thiện so với phương pháp truyền thống (P1) vì enzyme làm giảm độ nhớt và cải thiện sự di chuyển của tinh dầu, giúp tinh dầu dễ bay hơi hơn. Phương pháp trích ly dung môi có sử dụng hỗn hợp enzyme (P3) thu được hàm lượng tinh dầu cao nhất. Điều này có thể được giải

thích do các enzyme phá vỡ cấu trúc tế bào của nguyên liệu, làm cho tinh dầu dễ dàng tách ra hơn, dung môi hòa tan và chiết xuất tinh dầu hiệu quả [3].

Bảng 4. Hàm lượng tinh dầu thu được theo các phương pháp chiết xuất khác nhau

| Dữ liệu thu được                         | Các phương pháp chiết xuất tinh dầu           |   |  |
|--|---|---|--|
|  | Chung cất lôi cuốn hơi nước truyền thống (P1) | Chung cất lôi cuốn có sử dụng hỗn hợp enzyme (P2) | Trích ly dung môi có sử dụng hỗn hợp enzyme (P3) |
| Hàm lượng tinh dầu (vỏ xanh) (%)         | 6,04  | 6,50  | 6,92   |
| Hàm lượng tổng các hợp chất chứa oxy (%) | 17,8  | 18,2  | 18,3   |

Kết quả phân tích hàm lượng tổng các hợp chất chứa oxy tỷ lệ thuận với hàm lượng tinh dầu thu được. Đối với mẫu P3, khi trích ly bằng dung môi, các chất sáp là các thành phần không bay hơi khi chung cất, hòa tan trong dung môi hữu cơ làm tăng hàm lượng chất chiết thu được. Khi chiết lại bằng ethanol 96% v/v, các thành phần sáp bị loại bỏ, lượng tinh dầu bay hơi của mẫu trích ly thu được là tương đương với lượng tinh dầu thu được ở mẫu chung cất theo hơi nước.



Hình 3. Phổ GC-MS của các cấu tử xuất hiện khi sử dụng hỗn hợp enzyme pectinase và cellulase trong quá trình chung cất và trích ly tinh dầu bằng dung môi

Hàm lượng của một số cấu tử xuất hiện trong mẫu có sử dụng hỗn hợp enzyme pectinase và cellulase so với mẫu chung cất lôi cuốn hơi nước kiểu truyền thống tuy không lớn nhưng thể hiện hiệu quả của enzyme trong việc giải phóng triệt để các thành phần tinh dầu trong nguyên liệu ở dạng tự do, dễ dàng được cất cuốn hoặc chiết xuất bằng dung môi. Điều đó chứng minh hiệu quả của các enzyme

làm tăng hàm lượng thu hồi tinh dầu 0,46% và cải thiện chất lượng tinh dầu thu được bằng việc thu hồi bổ sung một số cấu tử chứa oxy. Ngoài ra, phương pháp áp dụng enzyme hỗ trợ làm tăng số cấu tử tinh dầu trong mẫu thu được lên 32 cấu tử (tăng thêm 4 cấu tử, Hình 3), các hợp chất chứa oxy tăng 3 cấu tử so với mẫu tinh dầu cất cuốn hơi nước truyền thống không sử dụng enzyme.

*Bảng 5. Một số cấu tử được phát hiện trong tinh dầu cam thu được theo các phương pháp chiết xuất khác nhau*

| Tên các cấu tử  | Thời gian lưu (phút) | Phương pháp chiết xuất                   |   |   | Hàm lượng (%) |
|---|----------------------|--|---|---|---------------|
|   |                      | Chưng cất lôi cuốn hơi nước truyền thống | Chưng cất lôi cuốn hơi nước có sử dụng hỗn hợp enzyme | Trích ly dung môi có sử dụng hỗn hợp enzyme |               |
| cis-p-Mentha-2,8-dien- 1 -ol                            | 21,288               | -  | +   | +   | 0,16          |
| (1 R,4R)-p-Mentha-2,8-diene, 1 -hydroperoxide           | 21,642               | -  | +   | +   | 0,15          |
| 1 .4-Isopropyl-L,3,3 a,4,7, 7a-hexahydro-2H-inden-2-one | 23,112               | -  | +   | +   | 0,25          |
| Linalool  | 23,242               | -  | -   | +   | 0,09          |

Ghi chú: (-) không xuất hiện; (+) có xuất hiện.

Kết quả ở Bảng 5 cũng cho thấy số cấu tử tinh dầu thu được ở mẫu trích ly bằng dung môi hữu cơ có khác biệt so với mẫu chưng cất hơi nước do liên kết hóa lý giữa các thành phần sáp và các cấu tử bay hơi khá phức tạp và có xu hướng lưu giữ các chất bay hơi khi chưng cất hơi nước, làm giảm lượng cấu tử thu được bởi sáp không hòa tan trong nước và không bay hơi khi chưng cất [1]. Tuy nhiên, số lượng các chất bị lưu giữ trong thành phần sáp với hàm lượng không đáng kể so với tổng hàm lượng các chất thu được bằng phương pháp cất cuốn theo hơi nước. Do đó, phương pháp chưng cất cuốn hơi nước tốt hơn phương pháp trích ly về phương diện công nghệ bởi không cần sử dụng dung môi hữu cơ trong sản xuất.

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu khảo sát quá trình chiết xuất tinh dầu vỏ cam với kỹ thuật chà loại bỏ vỏ trắng có ý nghĩa kinh tế - kỹ thuật trong việc giảm được 50% lượng nguyên liệu không cần thiết khi khai thác tinh dầu bằng phương pháp chưng cất hoặc trích ly dung môi mà không làm giảm đáng kể hàm lượng tinh dầu cam thu được. Hàm lượng tinh dầu thu được từ phần vỏ xanh của trái cam kết hợp sử dụng enzyme pectinase và cellulase 0,2% tăng lần lượt 0,46% và 0,48%, tăng 4 cấu tử trong tinh dầu thu được so với mẫu chưng cất hơi nước truyền thống không sử dụng enzyme.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này do Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh bảo trợ và cấp kinh phí theo Hợp đồng số 107/HĐ-DCT ngày 15 tháng 8 năm 2023.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Chung - Tinh dầu thiên nhiên và chất thơm trong thực phẩm, NXB Giáo dục Việt Nam, 2018. ISBN: 978-604-0-14745-5.
2. Valussi M., Donelli D., Firenzuoli F., Antonelli M. - Bergamot oil: Botany, production, pharmacology. *Encyclopedia* **1** (1) (2021) 152-176. <https://doi.org/10.3390/encyclopedia1010016>.
3. Buket Aydeniz-Guneser - Cold pressed orange (*Citrus sinensis*) oil, Department of Food Engineering, Engineering Faculty, Usak University, Usak, Turkey, 2022.
4. Lê Thị Thu Trang, Khuất Hữu Trung, Đàm Thị Thu Hà, Kiều Thị Dung, Lã Tuấn Nghĩa, Hoàng Trọng Cảnh - Đánh giá đa dạng di truyền một số giống cam địa phương ở Việt Nam bằng chỉ thị SSR. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn kỳ 2- tháng 9/2021, 107-112.
5. Datta P. R. - Official analytical methods of the American Spice Trade Association - 2 ed. (1968).

6. Lưu Minh Châu, Bùi Thị Ngọc Bích, Thái Dương Ngọc Duyên, Trần Thúy An, Nguyễn Huỳnh Anh Thư, Đoàn Thị Kiều Tiên, Trần Thị Giang, Trần Bạch Long, Huỳnh Xuân Phong, Nguyễn Ngọc Thanh - Xác định hàm lượng phenolic, flavonoid và khả năng chống oxy hóa của cam sành (*Citrus nobilis*). Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên **228** (13) (2023) 374-382. <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.8474>
7. Đào Tấn Phát, Ngô Thị Cẩm Quyên, Trần Thị Kim Ngân, Phạm Trí Nhựt, Trần Thiện Hiền, Nguyễn Thanh Việt, Mai Huỳnh Cang, Đỗ Đình Nhật, Lưu Xuân Cường - Nghiên cứu mô hình động học của quá trình chiết xuất và thành phần hóa học của tinh dầu vỏ cam (*Citrus sinensis*). Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Nguyễn Tất Thành số **8** (2018) 19-25.
8. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 11424:2016 ISO 3140:2011 Tinh dầu cam ngọt [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], thu được bằng phương pháp chiết cơ học vỏ quả.
9. Phạm Thị Kim Phượng - So sánh thành phần hóa học cao Ethanol, Chloroform và tinh dầu vỏ cam sành quả (*Citrus nobilis*). Journal of Educational Equipment: Applied research, Special 2 issue July 2022, 94-96.
10. Nguyễn Văn Lợi, Nguyễn Thị Minh Tú, Hoàng Đình Hòa - Nghiên cứu tách chiết và xác định hoạt tính sinh học của các thành phần tạo hương trong tinh dầu vỏ bưởi và vỏ cam của Việt Nam, Tạp chí Khoa học và Công nghệ **51** (2) (2013) 153-162.

#### ABSTRACT

#### IMPROVING THE QUANTITY AND CHEMICAL COMPONENT OF ORANGE ESSENTIAL OIL BY USING ENZYME-ASSISTED TREATMENT

Nguyễn Văn Chung\*, Vũ Thị Hương, Nguyễn Thị Anh Thư,  
Huỳnh Thị Lê Dung, Đoàn Thanh Sơn, Phùng Thị Bích Ngọc, Phan Trần Huỳnh Nhu  
*Ho Chi Minh City University of Industry and Trade*

\*Email: chungnv@huit.edu.vn

Orange peel essential oil is a precious source of natural flavoring in the processing of orange flavor used as an additive to food products. The traditional method of extracting orange essential oil is to peel off the orange peel and steam distilling to collect the essential oil, then more processing needs to have flavors used in food. The study aims to improve the quantity and quality of orange essential oil. The green peel which is the main part containing essential oil reduces about 50% of the volume of raw materials not needed for the essential oil extraction process without significantly reducing the quantity of the essential oil obtained. The number of essential oils obtained from the green peel of oranges combined with the use of pectinase and cellulase enzymes increased by 0.46% and 0.48%, respectively, compared to traditional steam distillation samples without the use of enzymes. The results of analysis by GC-MS method showed that orange peel essential oil, grown in Vietnamese Southern Western, included a total of 32 constituents obtained by steam distillation method with the support of pectinase and cellulase enzymes, of which the proportion of oxygen-containing compounds increase of 4 constituents compared to the sample without the use of enzymes.

*Keywords:* Orange essential oil, pectinase and cellulase, components of orange essential oil.