

NGHIÊN CỨU TÁCH ĐƯỜNG KHỬ CỦA LÒNG TRẮNG TRỨNG GIA CẦM BẰNG PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC ĐỂ NÂNG CAO CHẤT LƯỢNG BỘT TRỨNG

LÊ VĂN HOÀNG*, LÊ THỊ LIÊN THANH **, BÙI THẾ VINH***,
VƯƠNG BẢO THY***, MẠC THỊ HÀ THANH****

Ngày nhận bài: 25/8/2019 - Ngày gửi phản biện: 27/8/2019

Tóm tắt

Phản ứng Melanoidin được hình thành bởi sự hiện diện đồng thời của 2 thành phần: đường khử và acid amin. Phản ứng này là nguyên nhân tạo sẫm màu không mong muốn cho sản phẩm thực phẩm.

Nghiên cứu ứng dụng phương pháp sinh học (nấm men) để loại bỏ thành phần đường khử có trong lòng trắng trứng gia cầm (LTTGC) nhằm giải quyết tận gốc căn nguyên hình thành phản ứng Melanoidin, góp phần tạo ra bột lòng trắng trứng đạt chuẩn làm phụ gia tự nhiên trong sản xuất thực phẩm đồng thời làm chất nền trong chế tác các dạng thực phẩm có chất lượng cao.

Abstract

Melanoidin reaction is formed by the presence of two components: reducing sugars and amino acid. It is the reason causing the undesirable dark color for food products.

Researches on the application of biological methods (by yeast fermentation) to desugar egg white which are aimed to stop melanoidin reactions, help to produce standard white egg powder as a natural additive in food production as well as substrates to manipulate high-quality food.

1. Đặt vấn đề

Sau sữa, trứng gia cầm (TGC) là thực phẩm vừa có giá trị dinh dưỡng cao lại vừa có những chức năng công nghệ đặc thù trong chế tác các sản phẩm thực phẩm nhờ vào các

đặc tính tự nhiên vốn có: khả năng hydrat hóa, khả năng hòa tan, khả năng tạo gel, khả năng tạo nhớt, khả năng tạo bột, khả năng tạo nhũ tương, v. v...

Lòng trắng trứng gia cầm (LTTGC) chứa thuần túy protein là albumine nên giá trị dinh dưỡng thấp hơn lòng đỏ. Nhưng, bù lại nó sở hữu nhiều chức năng công nghệ nổi bật như khả năng hấp thụ và giữ nước, khả năng đông tụ và tạo gel, khả năng tạo bột, chống kết tinh... Vì vậy, LTTGC thường được sử dụng

* Giáo sư - Tiến sĩ khoa học, Trường Đại học Cửu Long

** Phó Giáo sư - Tiến sĩ, Trường Đại học Cửu Long

*** Tiến sĩ, Trường Đại học Cửu Long

**** Trường Đại học Bách khoa Đà Nẵng

2.2.2 Phương pháp hóa sinh (phương pháp Kjeldahl)

Xác định hàm lượng protein toàn phần của LTT theo nguyên tắc:

Vô cơ hóa protein bằng H_2SO_4 đậm đặc (96% - 98%) với xúc tác $CuSO_4$ & K_2SO_4 ở nhiệt độ cao, sản phẩm của quá trình sẽ tạo NH_3 . Cho NH_3 hấp thụ ngay vào dung dịch H_2SO_4 0,1N. Chuẩn độ lượng H_2SO_4 0,1N dư bằng NaOH 0,1N. Áp dụng công thức sẽ tính được hàm lượng protein thực có trong mẫu thử.

2.2.3 Phương pháp hóa lý

2.2.3.1 Xác định pH của LTT

Dùng pH-meter để xác định pH của LTT

Nguyên tắc: Đo suất điện động phát sinh trên 2 bề mặt thủy tinh hoàn toàn đồng nhất và có cấu trúc hoàn toàn giống nhau. Ở bên trong và bên ngoài của điện cực thủy tinh - là điện cực có khả năng trao đổi ion H^+ sẽ làm xuất hiện một lớp điện tích kép trên bề mặt phân chia thủy tinh và dung dịch, từ đó xuất hiện một bước nhảy thế. Suất điện động xuất hiện trên 2 bề mặt trong và ngoài của điện cực thủy tinh có liên quan đến pH của dung dịch mẫu đo. Suất điện động đo được sẽ chuyển sang thang đo pH và trị số pH sẽ hiển thị trên màn hình máy. Độ chính xác đạt 1/100.

2.2.3.2 Xác định hàm lượng đường khử bằng phương pháp Nelson

Nguyên tắc: Cho dung dịch Cu^{2+} vào dung dịch chứa đường khử cần xác định, đun sôi trong khoảng thời gian cần thiết để tạo kết tủa Cu_2O màu đỏ gạch được hình thành từ Cu^{2+} với nhóm – CHO của đường khử. Hòa tan kết tủa này trong dung dịch arseno – molybden, dung dịch có màu xanh da trời. Cường độ màu

phụ thuộc vào lượng kết tủa tạo thành. So màu ở bước sóng 660 nm.

Dùng ngay mẫu phân tích làm dung dịch nền để pha chế dãy mẫu chuẩn, đọc chỉ số mật độ quang(OD) trên máy đo quang phổ UV-VIS để xây dựng đường chuẩn. Từ đường chuẩn dùng phương pháp ngoại suy tuyến tính để tìm nồng độ chưa biết của mẫu cần phân tích. Độ chính xác đạt 1/1000.

2.2.3.3 Xác định tổng lượng nấm men bằng cách đo mật độ quang (DO)

Sử dụng nấm men *Sacharomyces cerevisiae* (*S.cerevisiae*) với nhiều giống khác nhau tương ứng với liều lượng dùng khác nhau và trong các điều kiện thực nghiệm khác nhau nhằm chuyển hóa tối đa lượng đường có trong LTT nghiên cứu. Thực hiện quá trình sinh học này là biện pháp hữu hiệu và an toàn cho mục tiêu dùng bột từ LTT với tư cách phụ gia thực phẩm. Đặc biệt trong sản xuất bánh- kẹo- mứt vốn rất cần đến khả năng tạo nở, tạo gel, tạo nhũ cao.

Nguyên tắc: Khi pha lỏng chứa nhiều phần tử không tan sẽ dễ hình thành hệ huyền phù tạo trạng thái đục cho pha lỏng, do các cấu tử không tan này có khả năng cản ánh sáng và phân tán chùm ánh sáng tới. Tế bào nấm men thuộc thực thể không tan nên khi hiện diện trong môi trường lỏng cũng tạo độ đục. Mức độ đục của môi trường chứa tế bào nấm men được xác định trên máy quang phổ UV- VIS DR/4000U ứng với bước sóng từ 550- 610 nm. Giá trị OD biểu thị mối quan hệ giữa mật độ tế bào có trong một đơn vị thể tích ứng với bước sóng đo. Từ đó tính được số lượng tế bào/ ml huyền phù.

3. Kết quả và thảo luận

Bản chất của phản ứng melanoidin vừa mang tính hóa học lẫn sinh học tạo ra phức

màu bền và là phản ứng không thuận nghịch[5]. Do đó, trong kỹ nghệ việc loại trừ cơ hội để hình thành melanoidin là giải pháp quan trọng, đồng thời đạt được nhiều mục đích công nghệ khác. Sự hiện diện thành phần đường còn là cơ hội cho việc hình thành phản ứng caramen khi sử dụng bột LTT có xử lý nhiệt cao. Hơn thế nữa, loại đường còn đảm bảo tính ổn định cho albumine ở dạng rắn trong thời gian bảo quản. Việc nghiên cứu tách đường có từ LTT sẽ là bước nghiên cứu đầu tiên nhằm lựa chọn công nghệ phù hợp đảm bảo hiệu quả cho mục đích sản xuất lần ứng dụng bột từ LTT hoàn thiện hơn [4].

Điều kiện thực nghiệm:

* Nhân giống và nuôi sinh khối nấm men: Nấm men từ các ống giống gốc được bảo quản trong các môi trường giữ giống sẽ được hoạt hóa trước khi tiến hành nuôi sinh khối.

Nuôi sinh khối nấm men trong môi trường nước malt đã tiệt trùng ($Bx=12\%$, $pH=6$) trên máy lắc vòng ổn nhiệt ở nhiệt độ 25°C trong 18 – 24h để đạt giá trị OD thích hợp.

* Tách nước sơ bộ có trong LTT:

Có nhiều phương pháp tách ẩm từ LTT đã được nghiên cứu ứng dụng (lọc chân không, bay hơi chân không, sấy đối lưu cưỡng bức, sấy bức xạ hồng ngoại,...). Mỗi phương pháp có những ưu, nhược riêng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi chọn phương pháp sấy đối lưu cưỡng bức để tăng chất khô của LTT tươi từ 12,05% lên 22% nhằm gia tăng hiệu năng lên men và giảm chi phí nhiệt ở các công đoạn tiếp theo.

* Sử dụng các chủng nấm men *S. cerevisiae* lần lượt có ký hiệu: B, H, TB, RD, BM và RV với liều lượng sử dụng từ 1,15 đến 1,35 kg nấm men/1 tấn LTT tươi [5]

3.1 Khảo sát khả năng chuyển hóa đường của các chủng nấm men thực nghiệm

Tùy thuộc vào chủng nấm men sử dụng, hiệu năng biến thiên hàm lượng đường khử được biểu diễn trên các hình 3.1 (ứng với các chủng nấm men B, H, BM) và hình 3.2 (ứng với các chủng TB, RV, RD). Các hình 3.1 & 3.2 cho thấy:

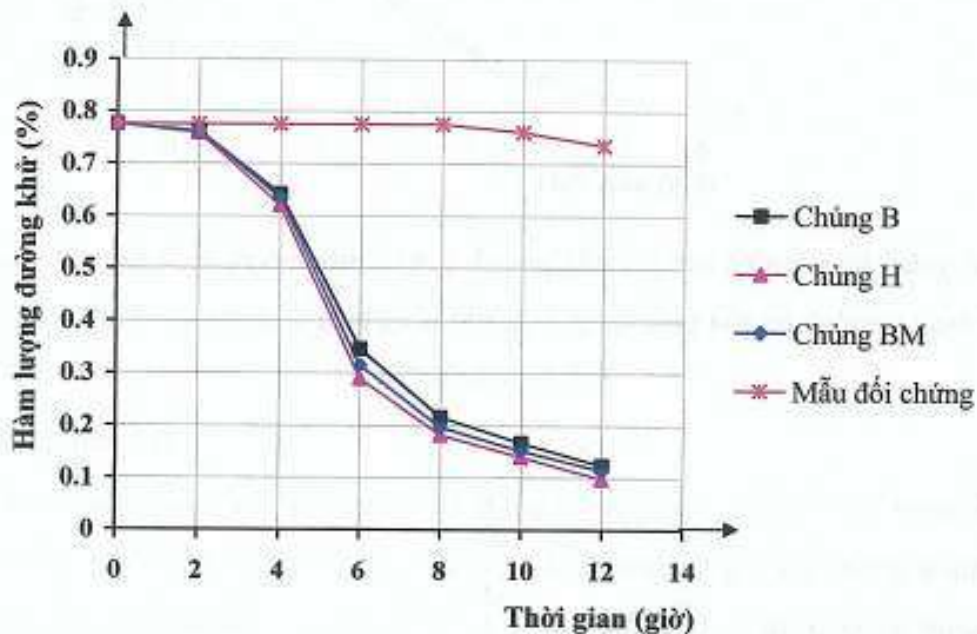
1/ Theo thời gian, với sự hiện diện của xúc tác sinh học nấm men đều có vai trò làm giảm nhanh đáng kể lượng đường khử có trong LTT tươi. Đường cong về sự thay đổi này có 3 phân khúc như sau:

+ Giai đoạn đầu ứng với thời gian lên men kéo dài gần 02 h kể từ khi bổ sung nấm men, hàm lượng đường khử giảm không đáng kể bởi tại thời điểm này nấm men mới chỉ làm quen để dần thích nghi với môi trường nên tốc độ lên men chậm (tương ứng với pha despart).

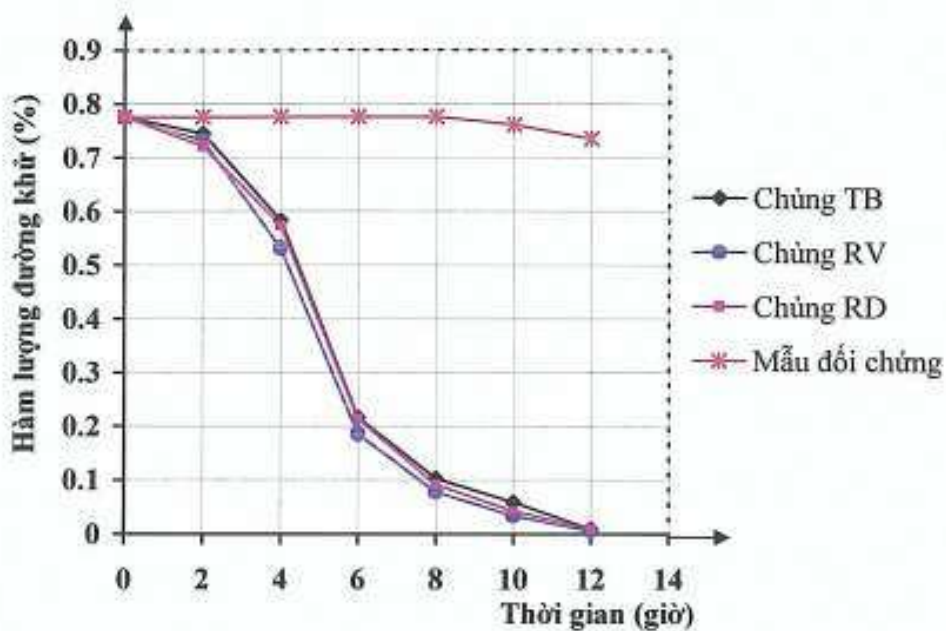
+ Giai đoạn lên men ứng với thời gian từ 2 – 8h cho thấy: tốc độ lên men khá nhanh (đặc biệt trong giai đoạn từ 4 – 6h). Ở giai đoạn này, lượng đường khử có trong LTT được chuyển hóa gần hết được thể hiện bằng đường cong dốc đứng trên các hình 3.1 và 3.2 (tương ứng với pha logarid).

+Giai đoạn sau 8h lên men sự biến thiên lượng đường khử hầu như không đáng kể bởi nguồn cung cấp hydratecarbon cho nấm men gần như cạn kiệt nên sinh khối nấm men tại thời điểm này gần như đạt đỉnh. Giai đoạn này tương ứng với pha cân bằng – giai đoạn bắt đầu của pha suy tàn trong chu kỳ phát triển chung của vi sinh vật.

2/ Trong cùng điều kiện lên men được định hướng bởi các giống nấm men thực nghiệm khác nhau, sau 12h lên men, hàm lượng đường khử còn lại trong LTT tương ứng với từng chủng nấm men thực nghiệm như sau:



Hình 3.1 Sự thay đổi hàm lượng đường theo thời gian lên men (h) của các chủng B, H, BM



Hình 3.2 Ảnh hưởng của thời gian lên men (h) đến sự chuyển hóa đường khử của các chủng nấm men TB, RV, RD

- Chủng B: 0,124%
- Chủng BM: 0,114%
- Chủng H: 0,098%

- Chủng TB: 0,009%
- Chủng RD: 0,009%
- Chủng RV: 0,006%

Từ kết quả trên dễ dàng nhận thấy: Cường lực xúc tác chuyển hóa đường đối với các chủng RV, TB, RD đạt hiệu quả cao thể hiện rõ trên các đường cong biến thiên lượng đường khử gần như tiệm cận với trục hoành (hình 3.2) bởi các chủng nấm men này vốn thích ứng trong các dịch lên men có áp suất thẩm thấu cao như dịch nước quả, dịch tinh bột, rỉ đường nên phù hợp với môi trường lên men như LTT có độ nhớt cao.

Kết quả thu được từ thực nghiệm cho phép chọn chủng nấm men RV làm tác nhân sinh học cho quá trình tách đường từ LTT nhằm thỏa mãn yêu cầu là phụ gia tự nhiên với nhiều công dụng.

3/ Giá trị pH đo được tương ứng với từng thời gian lên men của các mẫu thực nghiệm có sự thay đổi nhẹ theo khuynh hướng:

- Mẫu đối chứng (lên men tự nhiên không bổ sung nấm men) có trị số pH tăng nhẹ (0,4 đơn vị so với trị số ban đầu) do CO_2 hình thành từ quá trình lên men chưa đủ gây ra sự thay đổi pH, có chăng chỉ chủ yếu do tác động của quá trình nhiễm khuẩn đặc biệt là sinh tổng hợp enzym thủy phân, cơ chất có trong LTT bị chuyển hóa tạo ra 1 số sản phẩm có vai trò làm tăng pH.

- Ngược lại, đối với các mẫu thực nghiệm có sử dụng các chủng nấm men khác nhau đều có trị số pH giảm nhẹ (0,02 – 0,05 đơn vị so với ban đầu) trong cùng thời gian lên men như nhau (12h). Sự thay đổi giá trị pH này có thể giải nghĩa bởi tốc độ lên men nhanh đã làm cho CO_2 sinh ra tự bão hòa trong dịch LTT – là nguyên nhân chính làm giảm trị số pH. Tuy nhiên, do lượng đường khử trong LTT ít nên lượng CO_2 không đủ lớn để tạo ra sự thay đổi đáng kể về pH.

3.2 Nghiên cứu ảnh hưởng của pH đến hiệu quả lên men tách đường từ LTT của chủng nấm men RV

Chủng nấm men thực nghiệm có mã hiệu RV cho kết quả chuyển hóa đường khử triệt để nhất so với 05 chủng khác (như kết quả đã trình bày trong phần 3.1). pH tự nhiên của LTT thường dao động từ 7,4 – 9 đều là pH không thích hợp cho sự phát triển của nấm men. Để khẳng định vai trò của pH đến hiệu quả lên men tách đường nhưng không làm ảnh hưởng tới cấu trúc và tính chất của albumin – protein chính yếu của LTT. Nghiên cứu chọn điều chỉnh pH từ 7,6 xuống 6,8 và 7,0 – là các pH lân cận trung tính và trung tính đảm bảo cho sự sinh trưởng và phát triển bình thường của nấm men [2]

Điều kiện thực nghiệm:

- * LTT được tách nước sơ bộ có hàm ẩm ($w=78,3\%$)

- * Hàm lượng đường khử 0,776%

- * Sinh khối nấm men sử dụng 1,25 kg/tấn LTT

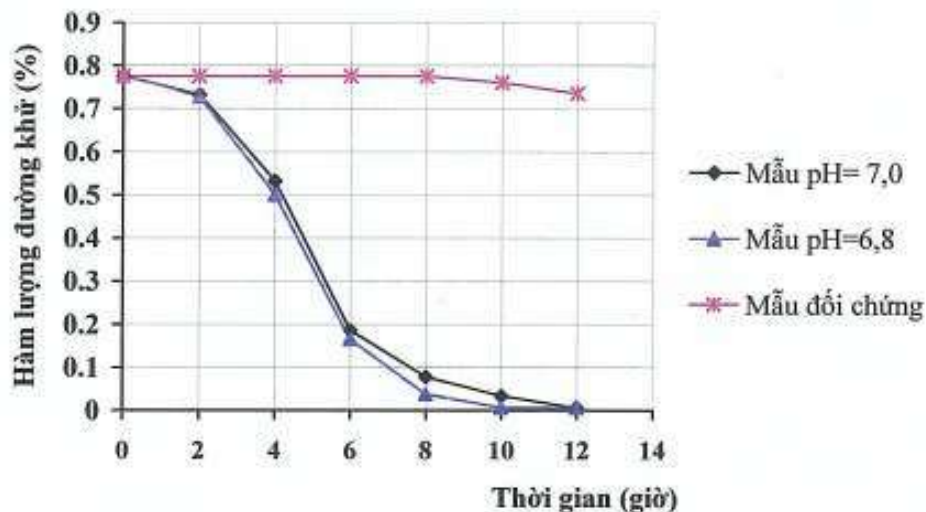
- * Mẫu thử có pH 6,8 và 7,0

- * Điều chỉnh pH bằng dung dịch acid citric

Kết quả nghiên cứu được trình bày trên hình 3.3 cho thấy:

- Qui luật chuyển hóa đường vẫn tuân thủ theo chu kỳ phát triển của vi sinh vật (3 giai đoạn). Kết quả trên hình 3.3 được coi như một lần kiểm chứng lại kết quả đã thu được trong các thực nghiệm trước về khuynh hướng chuyển hóa đường của nấm men.

Pha logarid của giai đoạn phát triển sinh khối tỷ lệ thuận với tốc độ chuyển hóa đường. Tuy nhiên, tốc độ tiêu thụ đường khử phụ thuộc vào pH.



Hình 3.3 Sự thay đổi lượng đường khử (%) phụ thuộc vào pH của môi trường lên men

- Thời gian lên men để đạt cùng giá trị về tốc độ chuyển hóa đường sẽ khoảng 6h ứng với cả pH=7,0 và pH=6,8. Tuy có sự chênh lệch về khả năng chuyển hóa nhưng không đáng kể bởi lẽ mức chênh lệch của pH thực nghiệm chỉ 0,2 – giá trị này chưa đủ tác động đến nấm men có nghĩa khi nấm men vốn là vi sinh vật có hoạt lực tốt trong phạm vi biến động của pH_{op} với chúng khá lớn[1]

- Hàm lượng đường sót còn lại gần như tiệm cận với trục hoành chứng tỏ nấm men vẫn phát triển và chuyển hóa cơ chất thích hợp được ở pH gần trung tính vốn không phải là pH_{op} cho nấm men. Kết thúc quá trình này là 12h ứng với pH=7,0 và 10h ứng với pH=6,8.

Kết luận:

1/ 6 chủng nấm men đều cho khả năng loại đường khử khỏi LTT tốt nhưng đạt hiệu quả cao nhất là chủng có mã hiệu RV. Với chủng này, hiệu quả chuyển hóa đường kết thúc trong khoảng 12h (lượng đường sót chỉ còn 0,006%)

2/ Kết quả của nghiên cứu tìm được giá trị pH từ 6,8 – 7,0 vẫn cho khả năng tạo sinh khối nấm men tốt để đảm bảo mục tiêu chuyển hóa hết lượng đường khử có trong LTT sau 10 – 12h lên men, cho dù pH_{op} của nấm men là từ 4,5 – 5,0. Giá trị pH thực nghiệm có ý

nghĩa lớn trong việc bảo toàn được đặc tính tự nhiên của protein LTT trong quá trình lên men loại đường khử. Đồng thời, thời gian diễn tiến tách đường khỏi LTT(từ 10 – 12h) đã không làm "nhiễm bẩn" môi trường lên men nên kết quả nghiên cứu chắc chắn sẽ là đóng góp có nghĩa về mặt công nghệ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đăng Đức, Đặng Hồng Miên và cộng sự (1976). Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật, tập 1- NXB Khoa học & Kỹ thuật, Hà Nội
2. Nguyễn Đức Lượng, Nguyễn Chúc, Nguyễn Văn Việt Mẫn (2002). Vi sinh vật thực phẩm- NXB ĐHQG TP Hồ Chí Minh
3. Davis C., Reeves R.(2002). High value opportunities from the chicken egg. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation, Australia
4. Stoianova L.G., Vorobeva L.I., Lozov K.I. (1976). Desugarization of egg white by microorganisms, 12(4):629-35, "Prikl biokhim Microbiol"
5. Thapon J.I., Bourgeois C.M.(1996). L'oeuf et les ovoproduits - Collection sciences et techniques agro- alimentaires, Paris.