ĐẠI HỌC ĐA NANG
TRƯỜNG ĐẠI HỌC BÁCH KHOA
KHOA HÓA

HÓA SINH II

Bài giảng

Biên soạn: TS. Đặng Minh Nhật

Đà Nẵng, 2007

CHƯƠNG 1 - KHẢ NĂNG CHUYỂN HOÁ CỦA PROTEIN, GLUXIT, LIPIT

1.1 CÁC BIẾN ĐỔI CỦA PROTEIN TRONG QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT VÀ BẢO QUẢN

1.1.1 BIẾN ĐỔI DO NHIỆT

Các quá trình chế biến thực phẩm bao gồm đun nóng, làm lạnh, sấy, sử lý hoá chất, lên men, chiếu bức xạ và các quá trình xử lý khác. Trong đó, đun nóng là quá trình chế biến được sử dụng phổ biến nhất.

Thông thường, đun nóng được thực hiện nhằm mục đích vô hoạt vi sinh vật và các enzym nội sinh (endogenous enzyme) gây các phản ứng oxy hoá hoặc thuỷ phân không mong muốn khi bảo quản hoặc để biến đổi hỗn hợp các thành phần nguyên liệu thực phẩm không hấp dẫn thành sản phẩm thực phẩm có kết cấu đồng nhất và có sức lôi cuốn về mặt cảm quan. Hơn nữa, một số protein như β-lactoglobulin và α-lactalbumin từ sữa bò và protein từ đậu nành có thể gây dị ứng, trở thành vô hại nhờ quá trình này.

Tuy nhiên, các ảnh hưởng có lợi nhờ quá trình đun nóng thực phẩm giàu protein nói chung thường đi kèm với một số ảnh hưởng xấu, làm giảm giá trị dinh dưỡng và các tính chất chức năng của protein.

Gia nhiệt vừa phải

Gia nhiệt vừa phải chỉ làm protein biến tính và giúp cải thiện giá trị dinh dưỡng của sản phẩm, do:

- làm mất độc tính của các độc tố có bản chất protein (như enterotoxin cuả *Staphyloccocus aureus*) hoặc của các chất kìm hãm các enzym đường tiêu hoá (như antitripxin Kunitz và Bowman có trong hạt đậu tương).

- làm vô hoạt các enzym (protease, polyphenoloxidase, lipoxydase…) vốn xúc tác phản ứng phá huỷ các vitamin.

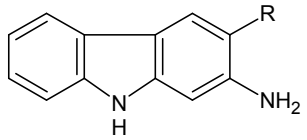
- làm tăng khả năng tiêu hoá của một số protein do làm duỗi mạch peptit của chúng, giải toả các gốc axit amin trước đây bị vùi trong phân tử, do đó tạo điều kiện cho protease tác dụng được thuận lợi hơn.Vd.: colagen, glixinin đậu tương, ovalbumin…

Thanh trùng

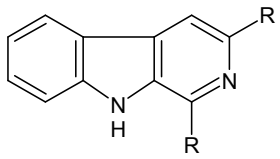
Gia nhiệt kiểu thanh trùng ở nhiệt độ lớn hơn 110-115 ^{o}C các sản phẩm giàu protein như thịt, cá, sữa sẽ gây phá huỷ một phần các gốc xistin, xistein hình thành nên H_2S, dimetylsulfua, axit xisteic và hợp chất bay hơi khác khiến cho các sản phẩm này có mùi đặc trưng.

Gia nhiệt khan

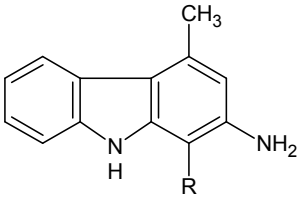
Gia nhiệt khan protein ở nhiệt độ trên 200 ^oC (nhiệt độ rán thịt và cá) tạo ra α, β hoặc γ cacbolin do phản ứng vòng hoá của tryptophan:



α-cacbolin
(R=H hay CH_3)



β-cacbolin
(R=H hay CH_3)



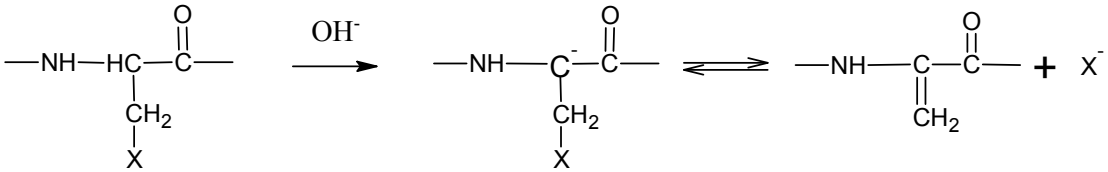
γ-cacbolin
(R=H hay CH_3)

Gia nhiệt ở nhiệt độ cao

Gia nhiệt ở nhiệt độ cao (hơn 200 ^oC) thực phẩm giàu protein có pH trung tính hoặc kiềm tính sẽ xảy ra:

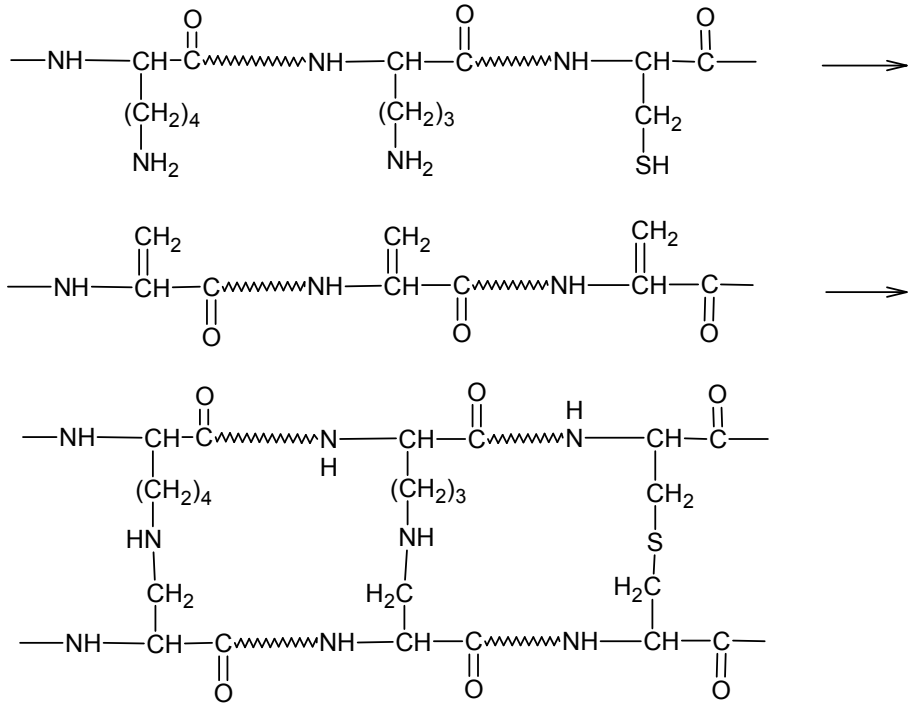
- Thuỷ phân các liên kết peptit và đồng phân hoá các gốc axit amin, tạo ra hỗn hợp raxemic do đó làm giảm giá trị dinh dưỡng đi 50%, do các đồng phân D được tạo thành khó bị tiêu hoá hơn;
- Phá huỷ một số axit amin: như arginin sẽ bị chuyển thành ornitin, ure, xitrulin và amoniac. Xistein bị chuyển thành dehydroalanin. Gia nhiệt ở môi trường kiềm, serin, treonin và lizin cũng bị phá huỷ;
- Tạo cầu nối đồng hoá trị kiểu lyzinoalanin, ornitinoalanin hoặc lantionin liên kết gốc dehydroalanin (DHA) ở chuỗi polypeptit này với các gốc lyzin, ornitin hoặc gốc xistin ở chuỗi polypeptit khác.

Gốc DHA được tạo ra do phản ứng loại β gốc xistein hoặc phosphoserin:

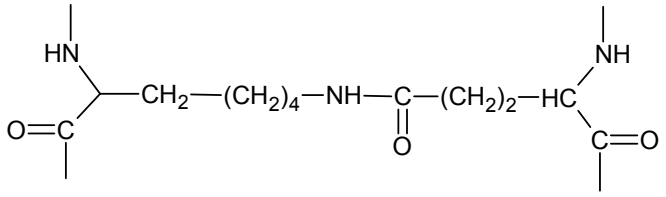


(X là SH hoặc $–PO_3H_2$) gốc DHA

Mạch polypeptit có chứa gốc lizin, gốc ornitin hoặc gốc xistein sẽ kết hợp với mạch polypeptit có chứa gốc DHA theo sơ đồ sau:



Khi xử lý nhiệt thịt hoặc cá ở nhiệt độ cao hơn nhiệt độ thanh trùng thì còn tạo ra cầu đồng hoá trị kiểu izopeptit giưã gốc lizin cuả chuỗi peptit này với gốc glutamic hoặc gốc aspartic cuả chuỗi peptit khác:



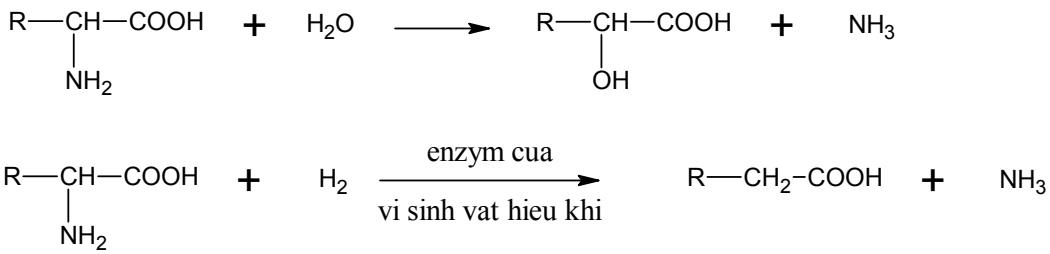
Cầu izopeptit

Về phương diện dinh dưỡng, việc tạo ra cầu đồng hoá trị izopeptit trong cùng một phân tử hoặc giưã các phân tử sẽ làm giảm độ tiêu hoá cuả nitơ, giảm hệ số sử dụng protein và giá trị sinh học cuả protein. Hơn nưã do hiệu ứng không gian các cầu đồng hoá trị (glutaminlizyl hoặc aspartyl-lizyl) sẽ ngăn cản không cho các protease đến được vùng đặc hiệu để thuỷ phân do đó làm cho quá trình tiêu hoá protein bị chậm lại.

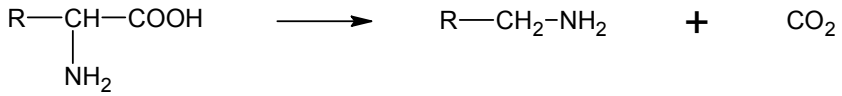
1.1.2 BIẾN ĐỔI DO ENZYM

Trong quá trình bảo quản các thực phẩm giàu protein thường xảy ra hiện tượng ôi thối làm mất giá trị dinh dưỡng cuả thực phẩm. Nguyên nhân là do tác dụng cuả enzym có sẵn trong thực phẩm, cũng như cuả vi sinh vật xâm nhập từ môi trường ngoài vào. Khi đó protein bị chuyển hoá theo những phản ứng cơ bản sau:

a) Phản ứng khử amin:

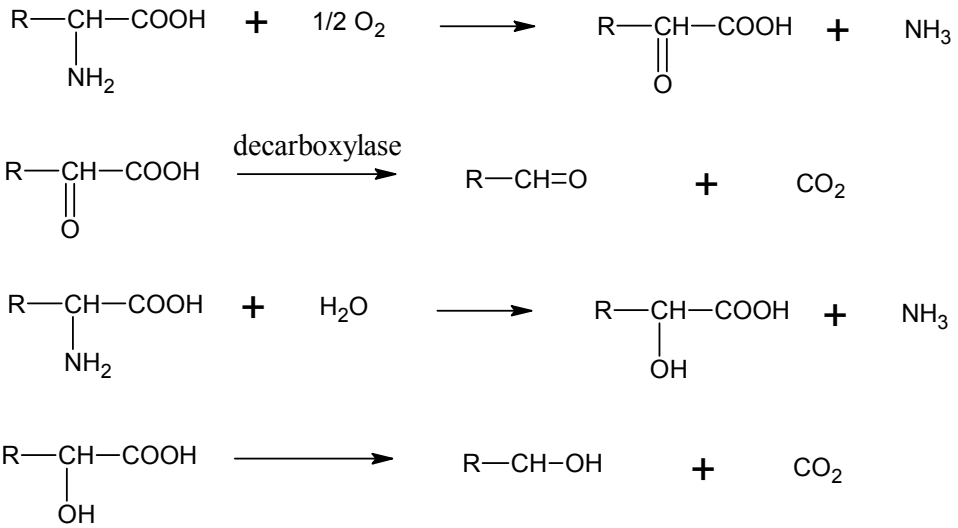


b) Phản ứng khử nhóm carboxyl:

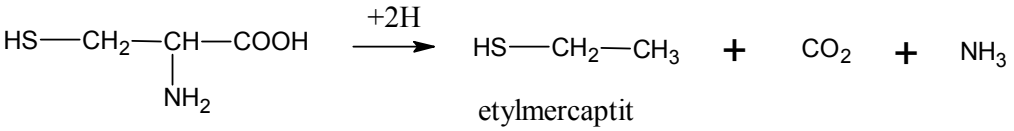


Phản ứng này tạo thành các amin khác nhau. Từ lizin tạo thành cardaverin, từ histidin tạo thành histamin, là những chất độc.

c) Phản ứng khử amin khử carboxyl:

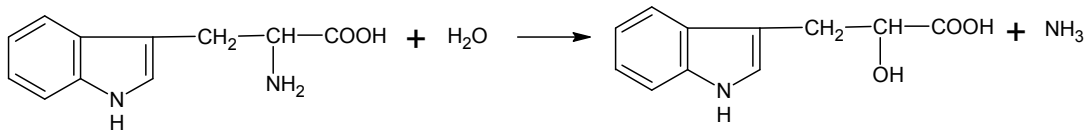


d) Phản ứng tạo thành mercaptan. Thường xảy ra đối vơí các axit amin có chưá lưu huỳnh:

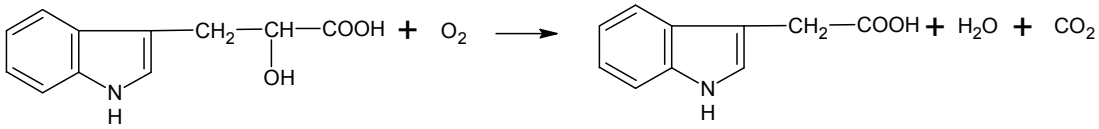


e) Phản ứng tạo thành scatol, crezol, phenol: do các vi sinh vật gây thối rưã thường gặp trong đường ruột và trong quá trình cất giữ protein chuyển hoá các axit amin vòng thành các sản phẩm độc có mùi khó chịu như: scatol, indol, crezol, phenol.

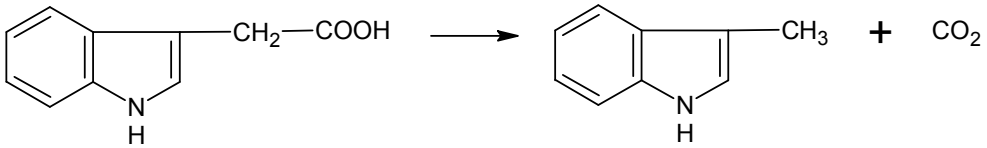
- Phản ứng tạo scatol, indol:



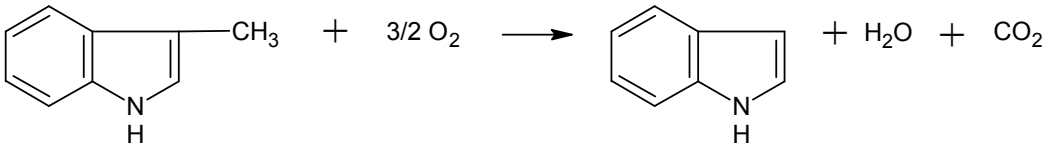
tryptophan axit indoloxypsopinic



axit indolaxetic

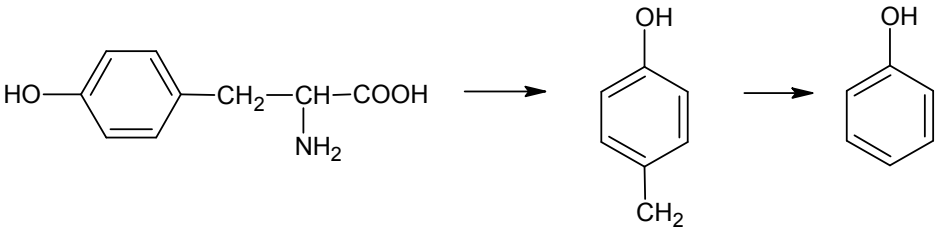


scatol



indol

- Phản ứng tạo thành crezol, phenol:

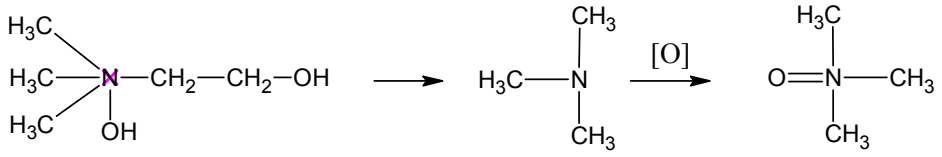


tyrosine crezol phenol

f) Phản ứng tạo thành di- trimethylamin từ các lipoprotein.

Phần lipit sau khi tác từ lipoprotein sẽ bị chuyển hoá thành các di-trimethylamin:

Ví dụ:



colin trimetyl amin oxytrimetylamin (mui tanh)

g) Phản ứng tạo thành phosphin: Xảy ra với phosphoprotein và nucleoprotein. Nguồn tạo thành phosphin là các axit phosphoric có trong protein được giải phóng ra khi phân huỷ. Phosphin là khí không màu, mùi thối, rất độc

1.2 KHẢ NĂNG CHUYỂN HOÁ CUẢ CARBOHYDRAT

1.2.1 SỰ PHÂN GIẢI CUẢ DISACARIT VÀ POLYSACARIT

Sự phân giải cuả disacarit và polysacarit thực hiện theo hai kiểu: thuỷ phân và phosphoryl phân.

a) Thuỷ phân: là quá trình phân giải có sự tham gia cuả nước.

Dưới tác dụng cuả nhiều loại enzym:

Polysaccarit →oligosaccarit→monosaccarit

Ví dụ: tinh bột, glycogen→dextrin→maltose→glucose; quá trình phân giải này được thực hiện nhờ các enzym α-amylase, β-amylase và γ-amylase (glucoamylase).

b) Phosphoryl phân: quá trình phân giải, trong đó axit phosphoric đóng vai trò cuả nước trong quá trình thuỷ phân, xảy ra dưới tác dụng cuả enzym phosphorylase.

Phosphorylase chỉ tác dụng vào liên kết 1,4 cuả phân tử tinh bột và sẽ dừng lại khi tới liên kết 1,6. Tác dụng cuả nó chỉ tiếp tục được sau khi liên kết 1,6 được giải phóng nhờ enzym amylo-1,6-glucosidase. Có thể coi phosphorylase là enzym glucosyl transferase, vì nó xúc tác cho sự chuyển gốc glucose tới gốc axit phosphoric. Quá trình phản ứng cứ tiếp diễn lần lượt và tạo nên hàng loại phân tử glucose-1-phosphat.

Sự phân giải glycogen cũng tiến hành tương tự và cũng tạo nên glucose-1-phosphat. Các disacarit cũng có thể bị tác dụng cuả enzym phosphorylase tương ứng và tạo nên dẫn xuất phosphat cuả monosacarit đồng thời giải phóng một monosacarit thứ hai.

Ví dụ enzym maltosephosphorylase xúc tác cho quá trình phân giải maltose thành glucose-1-phosphat và glucose nhờ sự tham gia cuả H_3PO_3.

Phản ứng phosphorylase nói trên là thuận nghịch nên có thể xúc tác cho sự phân giải các polysacarit và oligosacarit cũng như sự tái tổ hợp chúng.

1.2.2 SỰ CHUYỂN HOÁ CUẢ CÁC MONOSACARIT

Về bản chất quá trình này bao gồm các phản ứng oxy hoá khử sinh học được thực hiện bởi một loạt các enzym có trong ti thể. Kết quả là phân tử hexose (chủ yếu là glucose) bị oxy hoá hoàn toàn tạo ra các sản phẩm vô cơ là khí CO_2 và nước, còn năng lượng mà chất hữu cơ giải phóng ra được tích luỹ trong liên kết cao năng ATP.

Tuỳ thuộc vào điều kiện không có hay có oxy mà sự phân giải glucose xảy ra theo hai hướng chính:

- Phân giải kỵ khí: bao gồm giai đoạn đường phân và sự lên men kỵ khí.

- Phân giải háo khí (còn gọi là quá trình hô hấp): bao gồm cả giai đoạn đường phân, sự oxy hoá axit pyruvic và chu trình Crep.

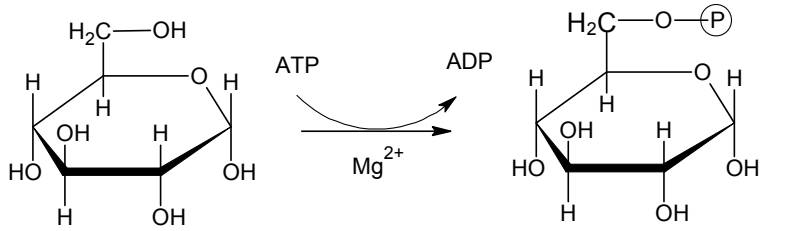
Như vậy hai quá trình trên đều có chung chuỗi phản ứng từ glucose đến axit pyruvic.

1.2.2.1 Sự đường phân

Quá trình này được phát hiện bởi Embden, Meyerhof và Parnas. Đây là quá trình phức tạp, được xúc tác bởi nhiều enzym và không có sự tham gia cuả oxy. Phân tử đường lần lượt trải qua các giai đoạn: hoạt hoá, cắt đối phân tử hexose (6C) tạo thành 2 phân tử đường triose (3C), loại hydro cuả triose-phosphat tạo thành phospho glycerat, chuyển sản phẩm trên thành axit pyruvic.

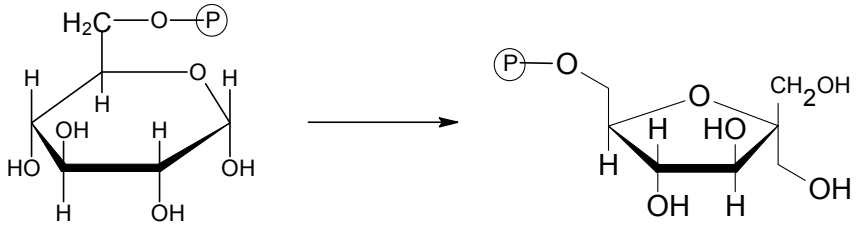
a) Giai đoạn hoạt hoá phân tử hexose: gồm 3 phản ứng

- phản ứng tạo thành glucose-6-phosphat nhờ enzym phospho-gluco-kinase với sự tham gia cuả Mg^{2+}:



Glucose Glucose-6-phosphat

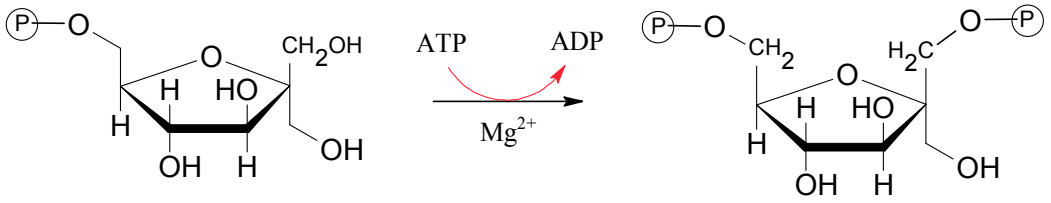
- Phản ứng đồng phân hoá do enzym isomerase xúc tác:



Glucose-6-phosphat Fructose-6-phosphat

Cấu tạo dạng vòng furan có liên kết kém bền vững hơn, do đó mạch cacbon dễ bị cắt hơn.

- Fructose-6-phosphat tiếp tục bị phosphoryl hoá lần thứ hai nhờ enzym phospho fructose kinase với sự tham gia cuả phân tử ATP (adenosin triphosphat)

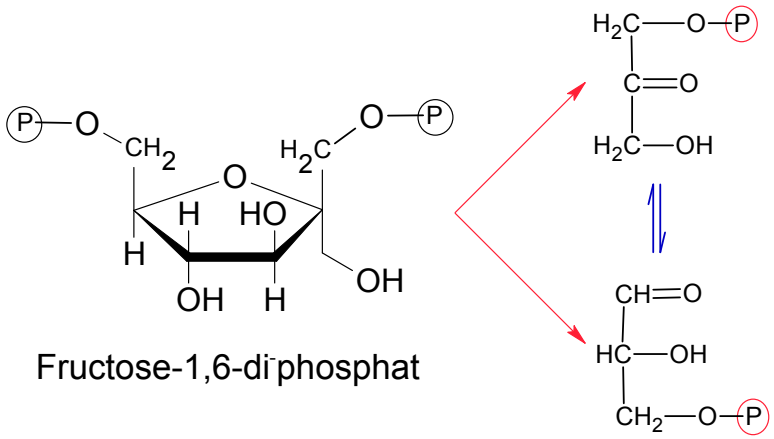


Fructose-6-phosphat

Fructose-1,6-di-phosphat

Do cấu tạo đối xứng, nó dễ bị cắt mạch cacbon ở điểm giữa.

b) Giai đoạn cắt mạch cacbon:



Fructose-1,6-di-phosphat

Aldolase là enzym xúc tác sự phân ly fructose-1,6-diphosphat thành hai phân tử triose phosphat (dihydroxy axeton phosphat và glyxeraldehyd-3-phosphat). Hai triose phosphat này có thể chuyển hoá lẫn nhau nhờ enzym đồng phân (triose-phosphat-isomerase). Cân bằng cuả phản ứng này lệch về phía tạo thành glyxeraldehyt-3-phosphat. Bởi vậy, từ 1 phân tử fructose-1,6-diphosphat sẽ tạo thành 2 phân tử glyxeraldehyd-3-phosphat.

c) Giai đoạn oxy hoá:

Được thực hiện nhờ glyxeraldehyt-3-phosphat dehydrogenase. Enzym này có coenzym là NAD^+, trong trung tâm hoạt động có nhóm -SH.

Trong phản ứng này gốc phosphat cao năng cuả axit 1,3-diphosphoglyxeric chuyển cho ADP. Đó cũng là kiểu phosphoryl hoá ADP thành ATP. Phản ứng này rất có ý nghĩa vì năng lượng giải phóng trong quá trình oxy hoá được tích lũy trong phân tử ATP, bảo đảm cung cấp năng lượng cho hoạt động tế bào trong điều kiện

không có oxy. Phản ứng do enzym 3-phospho glyxerat kinase xúc tác và tạo thành axit 3-phospho glyxeric:

Axit 3-phospho glyxeric biến đổi thành axit 2-phospho glyxeric nhờ enzym phospho glyxerat mutase:

d) Sự tạo thành axit pyruvic: bao gồm

- quá trình loại nước nhờ enolase xúc tác tạo thành axit phospho enolpyruvic, có chứa liên kết cao năng.

- Quá trình chuyển gốc phosphat cao năng cho ADP để tạo thành axit enol pyruvic và ATP:

Dạng enol của axit pyruvic không bền và nó sẽ chuyển thành dạng xeton bền hơn.

e) Sự chuyển hoá các sản phẩm cuối cùng của quá trình đường phân.

Như vậy, sau quá trình đường phân, ngoài ATP sản phẩm tạo thành sẽ là NADH và pyruvat. Sự chuyển hoá tiếp theo của chúng phụ thuộc vào các con đường chuyển hoá khác nhau ở tế bào. NADH phải được chuyển hoá trở lại về dạng NAD^+, nếu không sẽ làm hạn chế quá trình đường phân. NADH có thể quay lại dạng NAD^+ trở lại bằng con đường hiếu khí và kỵ khí. Cả hai đều con đường đều gắn với sự chuyển hoá tiếp theo của pyruvat. Số phận của pyruvat trong tế bào sẽ phụ thuộc vào sự có mặt của oxy.

Trong điều kiện hiếu khí, pyruvat bị oxy hoá trong chu trình axit xitric, tạo thành CO_2 và đồng thời tạo ra thêm NADH (và $FADH_2$) và trong điều kiện hiếu khí các phân tử NADH được tạo ra từ quá trình đường phân và chu trình axit xitric sẽ bị oxy hoá trở lại thành $NADH^+$ qua chuỗi vận chuyển electron ở ty thể.

Trong điều kiện kỵ khí, pyruvat sẽ được chuyển hoá theo cách khác.

- Sự tạo thành axit lactic: dưới tác dụng của lactat dehydrogenase, axit pyruvic bị khử thành axit lactic:

Phản ứng xảy ra trong mô cơ động vật thì tạo thành axit L-lactic, còn trong quá trình lên men lactic do các vi sinh vật gây ra thì tạo thành D-lactic.

- Lên men rượu: một số vi sinh vật như nấm men có khả năng biến đổi axit pyruvic thành rượu etylic. Quá trình xảy ra theo hai bước. Bước đầu axit

pyruvic bị khử nhóm carboxyl thành CO_2 và axetaldehyt nhờ enzym pyruvat decarboxylase có coenzym là thiamin pyrophosphat (chứa vitamin B_1) và Zn^{2+}. Bước hai, axetaldehyt bị khử thành etanol. Phản ứng được xúc tác bởi alcohol dehydrogenase:

- Sự tạo thành α-glyxerophosphat và glyxerin

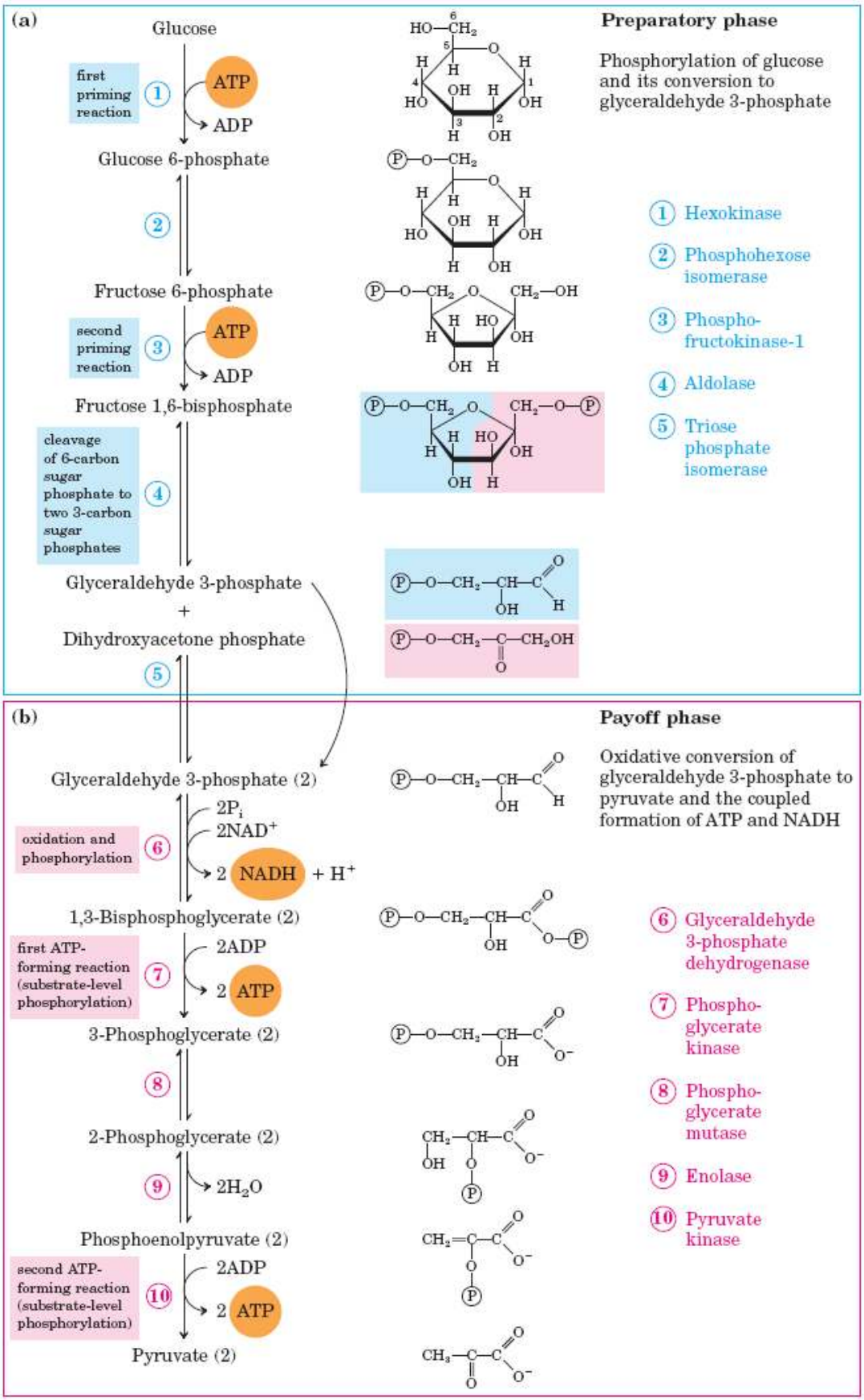
Sự lên men glucose cuả nấm men luôn kèm theo tạo thành một lượng nhỏ glyxerin:

Tất cả các phản ứng khử axit pyruvic ở trên đều giúp NADH chuyển hoá trở lại dạng NAD^+ cần thiết cho quá trình đường phân.

Quá trình đường phân và lên men được tóm tắt ở bảng sau:

Quá trình oxy hoá kỵ khí 1 phân tử glucose tạo thành 2 phân tử axit pyruvic đã sử dụng 2 ATP và tạo ra được 4 ATP, như vậy tích luỹ được 2 ATP. So với năng lượng dự trữ cuả phân tử glucose, quá trình này chỉ giải phóng một phần nhỏ năng lượng. Phần lớn năng lượng vẫn còn tàng trữ trong sản phẩm cuối cùng (axit lactic, etanol v.v.). Như vậy đối với các vi sinh vật kỵ khí, để bảo đảm đủ năng lượng cho các hoạt động sống, chúng phải phân giải một lượng lớn đường, tạo thành một lượng lớn sản phẩm cuối cùng là những hợp chất hữu cơ (rượu, axit hữu cơ v.v.). Người ta đã lợi dụng điều đó để sản xuất rượu, bia, cồn, axit hữu cơ v.v.

f) Sự tham gia cuả các cơ chất khác vào quá trình đường phân


(a)
Glucose
first priming reaction
1
ATP
ADP
Glucose 6-phosphate
2
Fructose 6-phosphate
second priming reaction
3
ATP
ADP
Fructose 1,6-bisphosphate
cleavage of 6-carbon sugar phosphate to two 3-carbon sugar phosphates
4
Glyceraldehyde 3-phosphate
+
Dihydroxyacetone phosphate
5
Preparatory phase
Phosphorylation of glucose and its conversion to glyceraldehyde 3-phosphate
1 Hexokinase
2 Phosphohexose isomerase
3 Phospho-fructokinase-1
4 Aldolase
5 Triose phosphate isomerase
(b)
Glyceraldehyde 3-phosphate (2)
oxidation and phosphorylation
6
2Pi
2NAD+
2 NADH + H+
1,3-Bisphosphoglycerate (2)
first ATP-forming reaction (substrate-level phosphorylation)
7
2ADP
2 ATP
3-Phosphoglycerate (2)
8
2-Phosphoglycerate (2)
9
2H2O
Phosphoenolpyruvate (2)
second ATP-forming reaction (substrate-level phosphorylation)
10
2ADP
2 ATP
Pyruvate (2)
Payoff phase
Oxidative conversion of glyceraldehyde 3-phosphate to pyruvate and the coupled formation of ATP and NADH
6 Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
7 Phospho-glycerate kinase
8 Phospho-glycerate mutase
9 Enolase
10 Pyruvate kinase

1.2.2.2 Chu trình Crep

Quá trình phân giải háo khí glucose xảy ra theo 4 giai đoạn chính:

- Từ glucose đến axit pyruvic: các phản ứng giống với sự đường phân kỵ khí
- Từ axit pyruvic đến axetyl-CoA
- Oxy hoá axetyl-CoA qua chu trình Crep
- Oxy hoá các coenzym khử qua chuỗi hô hấp

Trong điều kiện có oxy, axit pyruvic bị oxy hoá hoàn toàn đến CO_2 và H_2O và giải phóng toàn bộ năng lượng còn lại. Các phản ứng cuả quá trình này xảy ra theo một chu trình, mang tên nhà bác học phát hiện ra nó gọi là chu trình Crep (Krebs).

a) Sự khử carboxyl oxy hoá axit pyruvic thành axetyl-CoA:

Trước khi tham gia vào chu trình, axit pyruvic bị khử nhóm carboxyl đồng thời bị oxy hoá dưới tác dụng cuả một phức hệ đa enzym có tên là pyruvat oxydase hay pyruvat decarboxylase.

Phương trình tổng quát cuả giai đoạn này như sau:

b) Các phản ứng trong chu trình Crep

- *Giai đoạn 1:* nhờ xúc tác cuả enzym citrat syntase, nhóm axetyl cuả axetyl-CoA sẽ được chuyển cho axit oxaloaxetic để tạo thành axit axetic, đồng thời giải phóng coenzym A.

- *Giai đoạn 2:* axit xitric bị biến đổi thành dạng đồng phân cuả nó là axit izoxitric, quá trình này được xúc tác bởi enzym aconitase.

- *Giai đoạn 3:* xảy ra sự oxy hoá axit izoxitric dưới tác dụng cuả enzym izoxitrat dehydrogenase. Axit izoxitric bị khử hydro, 2 nguyên tử hydro cuả nó được chuyển cho coenzym $NADP^+$. Kết quả tạo thành $NADPH+H^+$ và axit oxaloxucxinic. Ngay sau đó, axit oxaloxucxinic lại bị khử carboxyl để biến thành axit α-xetoglutaric. Một nguyên tử carbon lại được tách ra khỏi cơ chất dưới dạng CO_2.

- *Giai đoạn 4:* axit α-xetoglutaric lại bị khử carboxyl oxy hoá do phức hệ enzym α-xetoglutarat dehydrogenase xúc tác. Phản ứng này cũng tương tự như sự oxy hoá axit pyruvic ở giai đoạn trên và cần các coenzym như tiamin pyrophosphat, axit lipoic, coenzym A và NAD^+ tham gia. Sản phẩm cuả phản ứng là axit dicarboxylic dạng hoạt động, đó là xucxinyl coenzym A (có chưá liên kết tio-este giàu năng lượng) và một nguyên tử cacbon bị tách ra ở giai đoạn này là phân tử CO_2.

- *Giai đoạn 5:* Năng lượng trong liên kết cao năng cuả xucxinyl-coenzym A được chuyển thành liên kết cao năng cuả GTP, nhờ tác dụng cuả enzym xucxinat-tiokinase, cuối cùng năng lượng được chuyển từ GTP cho ÁDP để tổng hợp nên ATP. Đây là phản ứng duy nhất trong chu trình Crep xảy ra sự tích luỹ năng lượng trong ATP.

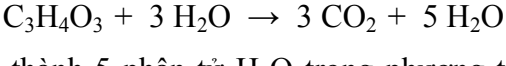
- *Giai đoạn 6:* axit xucxinic bị oxy hoá thành axit fumaric nhờ tác dụng cuả xucxinat dehydrogenase. Enzym này có coenzym là FAD, khi nhận hydro từ cơ chất sẽ trở thành $FADH_2$. Hydro cuả $FADH_2$ được tiếp tục chuyển cho hệ thống vận chuyển điện tử để tạo thành nước và tổng hợp được 2 ATP.

- *Giai đoạn 7:* axit fumaric được hydrat hoá sẽ tạo thành axit malic nhờ enzym fumarat hydratase.

- *Giai đoạn 8:* axit malic vưà được tạo thành sẽ bị oxy hoá thành axit oxaloaxetic dưới tác dụng cuả enzym malat dehydrogenase có coenzym là NAD^+. Khi phân tử axit oxaloaxetic ban đầu tham gia vào chu trình được tái tạo thì chu trình đã khép kín. Đây không phải hoàn toàn là phân tử axit oxaloaxetic ban đầu, bởi vì trong các phản ứng nó đã nhường 2 nguyên tử cacbon ở dạng CO_2 và được bổ sung bằng hai nguyên tử cacbon mới từ axetyl-coenzym A. Phân tử oxaloaxetic mới này lại tiếp tục ngưng tụ với phân tử axetyl-coenzym A và chu trình được lặp lại.

Như vậy qua một vòng cuả chu trình Crep, gốc axetyl hoạt động đã tạo ra 2 phân tử CO_2. Từ axit pyruvic thì tạo ra được 3 phân tử CO_2. Các phân tử CO_2 được tạo thành từ chu trình Crep có thể được sử dụng vào các quá trình khác nhau trong cơ thể (sự carboxyl hoá, tổng hợp ure, tổng hợp nucleotit. (hình vẽ)

Qua sơ đồ trên có thể thấy rằng, khi oxy hoá hoàn toàn 1 phân tử axit pyruvic, có 5 cặp nguyên tử hydro được tách khỏi cơ chất để tạo thành các coenzym khử: 1 [$NADPH+H^+$], 3[$NADH+H^+$] và 1 $FADH_2$. Trong thành phần, phân tử axit pyruvic chỉ chưá 4 nguyên tử hydro, như vậy các nguyên tử hydro còn lại là cuả phân tử nước trong môi trường tế bào tham gia vào. Phương trình tổng quát cuả sự oxy hoá axit pyruvic như sau:



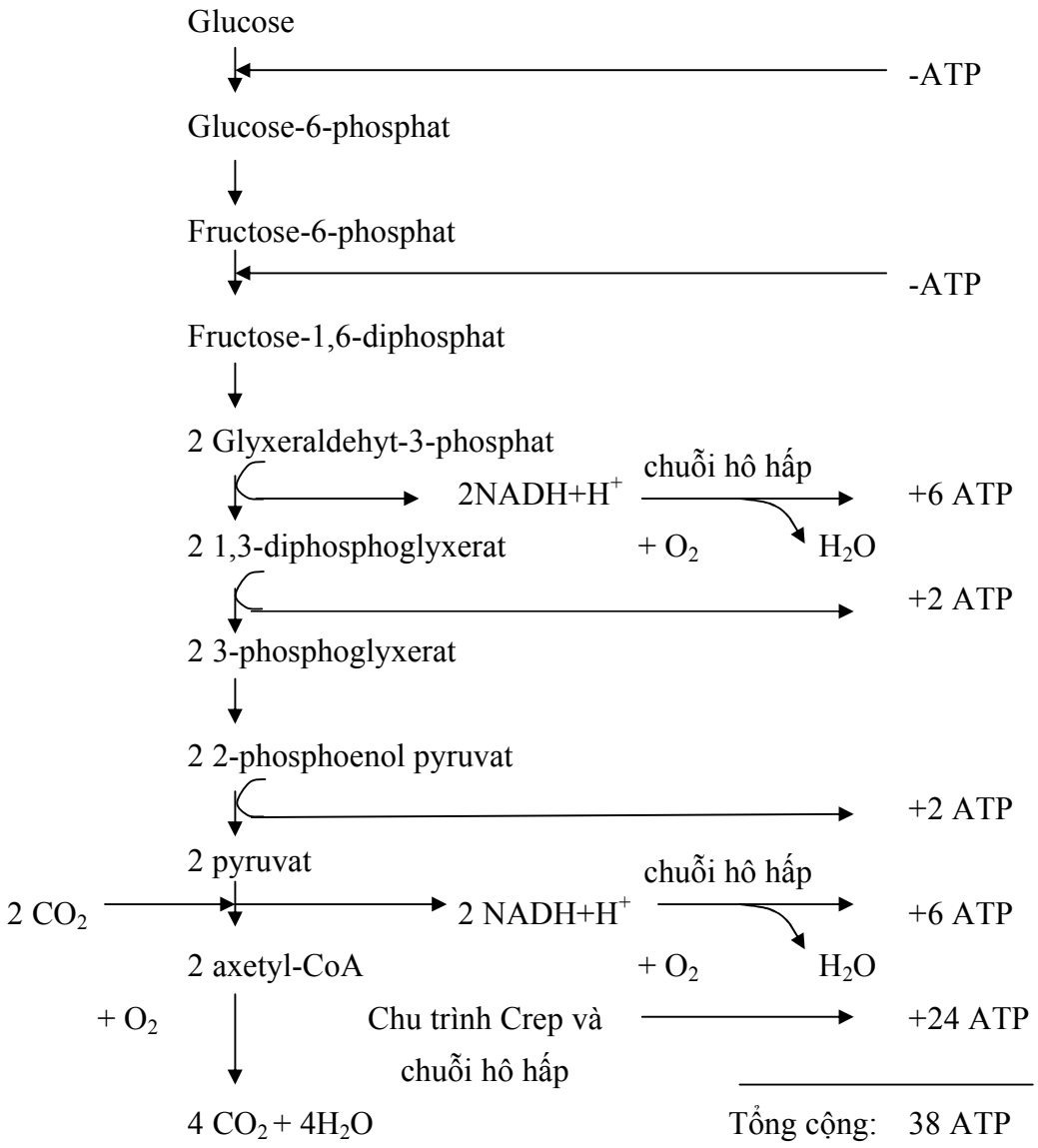
$$C_3H_4O_3 + 3\,H_2O \rightarrow 3\,CO_2 + 5\,H_2O$$

Sự tạo thành 5 phân tử H_2O trong phương trình trên là kết quả cuả sự oxy hoá các coenzym khử nhờ hệ thống vận chuyển điện tử, đồng thời thông qua quá trình này cũng tổng hợp được một số lớn liên kết cao năng.

c) Tổng kết năng lượng khi oxy hoá hoàn toàn một phân tử glucose

Năng lượng trong phân tử glucose chủ yếu được giải phóng ở giai đoạn phân giải háo khí. Cứ 1 vòng cuả chu trình Crep giải phóng được 12 ATP ở các giai đoạn phản ứng.

Tuy nhiên, trước khi đi vào chu trình Crep, phân tử glucose phải trải qua các phản ứng cuả giai đoạn đường phân và phản ứng khử carboxyl oxy hoá axit pyruvic. Hoá năng cuả glucose giải phóng ở cac giai đoạn phản ứng được tổng kết như sau:



Khi oxy hoá hoàn toàn 1 phân tử gam glucose sẽ thu được 686 kcal. Nhưng để tổng hợp ATP từ ADP và P_i cần cung cấp 8-10 kcal/mol. Bởi vậy nếu toàn bộ năng lượng được phân giải một mol glucose đều được dùng để tổng hợp ATP thì sẽ thu được 686/9≈76 mol ATP.

Thực tế chỉ tạo được 38 mol ATP, chiến 50% tổng số năng lượng. Như vậy còn 50% được giải phóng ở dạng nhiệt năng

d) Ý nghiã cuả chu trình Crep

Thông qua chu trình này, phân tử glucose bị oxy hoá hoàn toàn đến CO_2, H_2O và giải phóng toàn bộ năng lượng một phần dưới dạng hoá năng trong ATP và một phần ở dạng nhiệt năng có tác dụng giữ ấm tế bào. Từ ATP có thể tổng hợp nên GTP, XTP, UTP là nguồn năgn lượng cần thiết cho các quá trình sinh tổng hợp các chất khác nahu tỏng cơ thể.

Chu trình Crep tạo ra nhiều coenzym khử. Các coenzym khử ngoài vai trò tạo thành ATP còn dùng để khử các liên kết kép, các nhóm carbonyl, nhóm imin trong các phản ứng cần thiết cho tế bào.

Chu trình Crep còn là nguồn cacbon cho các quá trình tổng hợp khác nhau. Ví dụ axetyl-CoA có thể dùng để tổng hợp các axit béo, steroit, axetoaxetat hoặc axetyl colin. CO_2 dùng để tổng hợp ủe, tổng hợp mới AMP và trong các phản ứng carboxyl hoá khác. Một số xetoaxit trong chu trình như α-xetoglutaric và oxaloaxetic thường là nguyên liệu để tổng hợp các axit amin glutamic và aspartic.

Cũng vì vậy chu trình Crep là mắt xích liên hợp, là điểm giao lưu cuả nhiều đường hướng phân giải và tổng hợp các chất khác nhau trong tế bào, đồng thời cũng là đường hướng chính để phân giải các hợp chất hữu cơ.

1.2.2.3 Sự oxy hoá trực tiếp glucose. Chu trình pentose phosphat

Ở cơ thể sinh vật còn có một kiểm phân giải glucose thành CO_2 và H_2O nhưng không trải qua quá trình đường phân và chu trình Crep. Trong quá trình này, các phản ứng cũng tạo thành một chu trình mà các sản phẩm trung gian chủ yếu là các pentose phosphat. Vì vậy người ta gọi đó là chu trình pentose phosphat. Ngoài ra, căn cứ vào chất "cửa ngõ" cuả chu trình là glucose-6-phosphat, người ta còn gọi là chu trình hexose monophosphat. Đây là quá trình oxy hoá trực tiếp glucose vì sự oxy hoá xảy ra ở ngay giai đoạn hexose chứ không phải qua triose như ở quá trình đường phân. Chu trình này do Dickens-Horecker nghiên cứu và phát hiện.

a) Các phản ứng: gồm 2 giai đoạn phản ứng

- Giai đoạn oxy hoá glucose glucose-6-P

Glucose-6-P là chất đầu tiên gia nhập vào chu trình. Nó bị oxy hoá dưới tác dụng cuả enzym glucose-6-P dehydrogenase (có coenzym là $NADP^+$), biến thành axit 6-P-gluconic. Tuy nhiên, giai đoạn này có tạo thành một sản phẩm trung gian là 6-P-glucono-δ-lacton, chất này sau đó bị thuỷ phân thành axit 6-P-gluconic.

Quá trình oxy hoá lần thứ 2 dưới tác dụng cuả enzym 6-P-gluconat dehydrogenase (có coenzym $NADP^+$) tạo thành axit 3-xeto-6-P-gluconic, rồi sau đó chất này bị khử carboxyl tạo thành D-ribulose-5-P.

Trong toàn bộ chu trình chỉ xảy ra 2 lượt oxy hoá (phản ứng 1 và 3) như đã nêu ở trên. Kết quả là từ 1 hexose phosphat qua 1 vòng cuả chu trình tạo ra 1 pentose phosphat, 1 phân tử CO_2 và 2 ($NADP+H^+$)

- Giai đoạn tái tạo hexose phosphat

Để sự oxy hoá được tiếp tục, pentose phosphat vừa tạo thành cần trải qua những biến đổi để tái tạo lại hexose phosphat, khép kín chu trình. Những biến đổi này có thể chia thành 2 bước sau:

Bước 1: Sự đồng phân hoá cuả ribulose-5-P

Ribulose-5-P là một xetopentose, nó có thể chuyển thành dạng aldose là ribose-5-P nhờ tác dụng cuả phosphoribo isomerase. Mặt khác, ribulose-5-P có thể biến đổi thành dạng đồng phân epime (ở vị trí cacbon thứ 3) là xilulose-5-P nhờ tác dụng cuả enzym phospho-xetopento-epimerase. Hai phản ứng này có vị trí quan trọng, nó được coi là điểm nối giữa giai đoạn đầu và giai đoạn tiếp theo cuả chu trình.

Bước 2: Sự biến đổi tương hỗ giữa các pentose-P và các hexose-P

Có hai kiểu phản ứng quan trọng tỏng giai đoạn này. Đó là sự chuyển aldol hoá và sự chuyển xetol hoá.

Sự chuyển aldol hoá là sự chuyển một nhóm 3 nguyên tử cácbon (dihydroxy axeton) của một ketose phosphat (ví d: fructose-6-P hoặc xetoheptulose-7-P) cho chất nhận là một aldose phosphat (ví dụ, glyxeraldehyt-3-P hoặc erytrose-4-P).

Sự chuyển hoá xetol hoá là sự chuyển một nhóm 2 nguyên tử cacbon (xetol hoặc glycolaldehyt) cuả chất cho là xetose phosphat cho chất nhận là một aldose phosphat.

Cứ 6 phân tử glucose-6-P tham gia vào chu trình thì 5 phân tử được tái tạo, 1 phân tử bị oxy hoá hoàn toàn đến CO_2 và tạo thành 12 coenzym khử ($NADPH+H^+$). Quá trình oxy hoá glucose-6-P qua chu trình pentose phosphat được trình bày ở hình vẽ.

b) Tổng kết năng lượng: phương trình tổng quát một vòng chu trình như sau:

$$6 \text{ glucose-P} + 12\ NADP^+ \rightarrow 5 \text{ glucose-6-P} + 6\ CO_2 + P_v + 12\ NADPH + 12\ H^+$$

Hoặc viết ở dạng đơn giản:

$$1\text{-glucose-6-P} + 12\ NADP^+ \rightarrow 6\ CO_2 + P_v + 12\ (NADPH + H^+)$$

Cứ mỗi phân tử glucose-6-P bị oxy hoá hoàn toàn trong chu trình tạo ra được 12 phân tử $NADPH + H^+$. Nếu hydro được chuyển qua hệ thống vận chuyển điện tử, cho phép tạo thành 36 ATP. Do cần 1 ATP để phosphoryl hoá glucose ban đầu thành glucose-6-P, nên còn thu được 35 ATP. Đó là số năng lượng tương đương với

sự oxy hoá hoàn toàn 1 phân tử glucose qua sự đường phân và chu trình Crep (38 ATP). Đồng thời, cũng hơn hẳn mức năng lượng do sự phân giải glucose trong điều kiện kỵ khí (quá trình đường phân chỉ tạo ra 2 ATP).

c) Ý nghiã cuả chu trình pentose phosphat:

- Chu trình cung cấp các pentose phosphat là nguyên liệu cần thiết cho sự sinh tổng hợp nucleotit, có trong thành phần cấu tạo cuả các coenzym và axit nucleic.

- Cung cấp NADPH cần thiết cho các phản ứng khác nhau, nhất là trong sự tổng hợp axit béo và steroit.

Trong điều kiện các NADPH bị oxy hoá qua chuỗi hô hấp sẽ tạo thành một lượng đáng kể ATP.

- Chu trình cho phép các cơ thể quang hợp tổng hợp được xacarit và các chất hữu cơ khác từ CO_2.

Tóm lại, trong cơ thể sinh vật, sự phân giải đường có thể tiến hành theo nhiều kiểu khác nhau. Các kiểu này bổ sung cho nhau có thể xảy ra song song cùng nhau hoặc một vài kiểu chiếm ưu thế ở những điều kiện nhất định. Điều đó cũng nói lên sự phong phú cuả các quá trình thích nghi cuả vi sinh vật đối với môi trường sống, vì quá trình phân giải đường cung cấp năng lượng chủ yếu cho mọi hoạt động sinh sống cuả cơ thể.

1.3 CHUYỂN HOÁ CỦA LIPIT

1.3.1 Khả năng chuyển hoá cuả lipit

Trong điều kiện bảo quản cũng như trong cơ thể, lipit có thể bị chuyển hoá để tạo thành những phẩm vật khác nhau. Các quá trình chuyển hoá này rất phức tạp, dưới tác dụng cuả một loạt các nhân tố và có enzym hoặc không có enzym xúc tác.

1.3.1.1 Sự ôi hoá

Khi bảo quản lâu, dưới tác dụng cuả nhiều nhân tố như ánh sáng, không khí, nhiệt độ, nước và vi sinh vật..., lipit bị thay đổi trạng thái, màu sắc và có mùi vị khó chịu. Thường người ta gọi quá trình tổng hợp này là sự ôi hoá. Thực chất cuả sự ôi hoá là quá trình oxy hoá. Tuy vậy, nếu dựa vào cơ chế phản ứng thì có thể phân ra ôi hoá do thuỷ phân và ôi hoá do oxy hoá.

a) Ôi hoá do phản ứng thuỷ phân

Phản ứng thuỷ phân lipit cũng có thể xảy ra, khi có enzym cũng như không có enzym xúc tác.

Trường hợp thứ nhất xảy ra trong pha "béo" và chỉ có nước hoà tan trong lipit (dầu, mỡ) mới tham gia phản ứng, nghĩa là phản ứng tiến hành trong môi

trường đồng thể. Khi trong lipit có mặt nước với một lượng đáng kể, nhưng ở nhiệt độ thường, thì vận tốc phản ứng cũng rất bé. Vì lẽ ở nhiệt độ thường vận tốc phản ứng thuỷ phân rất chậm. Hơn nữa khả năng không hoà tan cuả pha nước trong pha "béo" cũng ngăn cản sự tiếp xúc cần thiết giữa chúng.

Trường hợp thuỷ phân do enzym xúc tác thường xảy ra ở trên bề mặt tiếp xúc giữa lipit và nước. Enzym lipase xúc tác phản ứng thuỷ phân có thể có trong nguyên liệu cũng như do vi sinh vật mang vào.

Chúng ta đều biết lipase là một globulin. Nó xúc tác không những phản ứng thuỷ phân mà cả phản ứng tổng hợp nữa. Do đó cân bằng phản ứng phụ thuộc vào từng điều kiện cụ thể mà có thể chuyển dịch về phải cũng như về trái. Khi hàm ẩm cao thì sự thuỷ phân ưu thế hơn sự tổng hợp. Ngược lại, trong hạt khô thì sự tổng hợp lại ưu thế hơn. Lipase có trong hạt và trong các cơ quan dinh dưỡng cuả cây. Lipase có nhiều trong hạt thầu dầu. Tác dụng tối ưu cuả lipase cuả hạt là ở 35-38°C. Hoạt độ cuả nó giảm xuống một cách đáng kể khi chế biến thuỷ nhiệt các hạt cũng như khi ép nóng các hạt có dầu. Phản ứng thuỷ phân lipit sẽ tăng mạnh khi hạt bị nghiền cơ học hoặc bị tổn thương do côn trùng. Lipase có đặc hiệu thấp so với cấu trúc cuả lipit nhưng lại có đặc hiệu quang học cao đối với những cơ chất có hoạt quang. Nói chung đối với những cơ chất không mang điện tích thì độ dài cuả mạch cacbon cuả axit béo tham gia trong lipit có ý nghiã lớn đối với hoạt độ cuả lipase.

Trường hợp đơn giản nhất cuả sự ôi hoá do phản ứng thủy phân thường thấy khi bảo quản bơ và margarin. Khi đó sẽ giải phóng ra axit butyric là axit có mùi rất khó chịu.

Trong chế biến lương thực, để bảo quản được hạt, bột và tấm, vai trò quyết định là nhiệt độ và thủy phân. Chẳng hạn bột khi ở nhiệt độ dưới 5 ^{o}C vẫn bảo quản được tốt ngay cả khi có hàm ẩm cao. Người ta nhận thấy rằng khi bảo quản bột có hàm ẩm cao hơn 15% thì phản ứng thuỷ phân chủ yếu là do emzym của nấm mốc. Khi đó độ axit cũng tăng liên do tích tụ cac axit hữu cơ hoà tan và bột sẽ có mùi vị khó chịu. Người ta còn nhận thấy đối với bột khô, nấm mốc không phát triển được, độ axit cũng tăng nhưng không có mùi vị axit, vì chủ yếu là tạo ra những axit béo không hoà tan trong nước.

b) Ôi hoá do phản ứng oxy hoá khử

Ôi hoá theo kiểu này là phổ biến nhất trong bảo quản các lipit. Thường người ta phân biệt hai loại: ôi hoá hoá học và ôi hoá sinh học.

Ôi hoá hoá học là quá trình tự oxy hoá. Khi đó xảy ra sự tấn công các gốc axit béo tự do cũng như kết hợp bởi oxy phân tử. Áp suất của oxy và lượng nối đôi trong phân tử axit béo có ảnh hưởng đến tiến trình phản ứng. Sản phẩm đầu tiên là hydro peroxit. Từ đó tạo nên aldehyt no và không no, xeton, axit mono- và

dicarboxylic, aldoaxit, xetoaxit, epoxyt v.v. Ngoài ra còn có thể trùng hợp hoá các sản phẩm oxy hoá nữa.

Đa số những chất này có vai trò quyết định trong việc phát triển mùi vị.

Ôi hoá sinh hoá học lại bao gồm sự ôi hoá do enzym lipoxygenase và sự ôi hoá xeton. Kiểu ôi hoá thứ hai này thường đặc trưng đối với lipit có chứa axit béo no với phân tử lượng trung bình và thấp, khi có hàm ẩm đáng kể. Khi đó axit béo bị β-oxy hoá và decarboxyl hoá, kết quả sẽ là tích tụ các alkylmetylxeton có mùi khó chịu.

Khi lipit bị ôi hoá, thường bị mất hoạt tính vitamin. Vì lẽ khi đó các axit béo không no cao phân tử cũng như các vitamin đều bị phá huỷ bởi các phẩm vật oxy tích tụ trong lipit.

Các sản phẩm oxy hoá của lipit thường làm vô hoạt enzym và đặc biệt làm giảm hoạt độ của suxinoxydase, xitocromoxydase và colinoxydase.

Sản phẩm oxy hoá còn có khả năng phản ứng cao với protein. Hợp chất tạo thành này bền vững, không hoà tan trong nước cũng như trong dung môi hữu cơ và cũng không bị phân ly bởi enzym.

Người ta còn cho rằng sự phát triển của bệnh vữa xơ động mạch là do sự tạo thành phức giữa sản phẩm oxy hoá của lipit với protein có trong thành phần của thành huyết quản.

Lipit bị oxy hoá còn kìm hãm sự phát triển của động vật.

Cơ chế của quá trình ôi hoá hoá học

Quá trình ôi hoá hoá học là phản ứng chuỗi nên thường có 3 thời kỳ sau:

- ***Phát sinh:***

Đầu tiên, phản ứng được khơi mào bằng việc một vài phân tử lipit (RH) bị oxy hoá để tạo thành gốc tự do:

$R^{\bullet}$: gốc của axit béo no hoặc không no tự do hoặc gốc của axit béo trong phân tử glyxerit;

$H^{\bullet}$: nguyên tử H ở C_{α} so với nối đôi, hoặc nguyên tử H của nhóm metylen bất kỳ trong axit béo no.

Để tạo thành gốc, nghĩa là để đứt liên kết C-H trong phản ứng trên đòi hỏi năng lượng là 70-100 kcal/mol.

Tuy nhiên khi có oxy hoà tan thì tương tác giữa RH ban đầu với oxy sẽ xảy ra một cách mạnh mẽ hơn. Vì lẽ sự tạo thành gốc theo phản ứng lưỡng phân dưới đây đòi hỏi năng lượng chỉ là 47 kcal/mol.

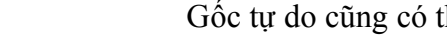
$$RH + O_2 \rightarrow R^{\bullet} + HO_2^{\bullet}$$

Trường hợp khi nồng độ RH cao thì có thể xảy ra phản ứng tam phân:

$$RH + O_2 + HR_1 \rightarrow R^\bullet + H_2O_2 + R_1^\bullet$$

Phản ứng này đòi hỏi năng lượng còn bé hơn phản ứng lưỡng phân.

Gốc tự do cũng có thể phát sinh khi có ion kim loại giao chuyển:



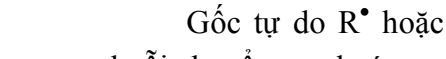
$$M^{3+} + RH \rightarrow M^{2+} + R^\bullet + H^\bullet$$

$$M^{2+} + ROOH \rightarrow M^{3+} + RO^\bullet + OH^\bullet$$

Phát triển

Gốc tự do $R^\bullet$ hoặc $RO^\bullet$ được tạo thành do quá trình khơi mào sẽ bắt đầu chuỗi chuyển oxy hoá:

$$R^\bullet + O_2 \rightarrow RO_2^\bullet \qquad (1)$$



$$RO_2^\bullet + RH \rightarrow ROOH + R^\bullet \qquad (2)$$

Phản ứng (1) đặc biệt nhanh, thực tế không cần năng lượng hoạt hoá. Còn năng lượng hoạt hoá của phản ứng (2) là 4-12 kcal/mol. Từ đây ta thấy gốc $RO_2^\bullet$ là gốc chủ đạo trong mạch oxy hoá và phản ứng có ý nghĩa quyết định vận tốc phát triển của quá trình tự oxy hoá là phản ứng tương tác giữa gốc $RO_2^\bullet$ với phân tử lipit (phản ứng (2)).

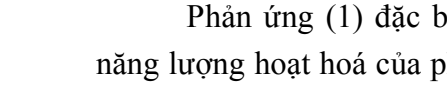
Từ hydroperoxit sẽ phân mạch để cho những gốc tự do theo đường hướng sau:

$$ROOH \rightarrow RO_2^\bullet + {}^\bullet OH \qquad (3)$$

Hoặc

$$2\,ROOH \rightarrow RO_2^\bullet + H_2O + RO^\bullet \qquad (4)$$

Hoặc



$$ROOH + RH \rightarrow RO^\bullet + H_2O + R^\bullet \qquad (5)$$

Việc đứt liên kết O-O để tạo thành hai gốc tự do theo phản ứng (3) đòi hỏi năng lượng hoạt hoá 30-35 kcal/mol.

Sự liên hợp các hydroperoxit thành dime theo phản ứng (4) sẽ thuận lợi khi nồng độ hydroperoxit lớn. Việc tạo nên dime (do liên kết hydro) sẽ làm yếu liên kết O-H và O-O, do đó làm giảm bới năng lượng phân giải dime thành các gốc.

Hydroperoxit có thể phân giải theo phản ứng (5) đòi hỏi năng lượng hoạt hoá bé hơn phản ứng đơn phân (3).

Cần chú ý rằng gốc peroxit có xu hướng phản ứng với sản phẩm đã bị oxy hoá hơn là với phân tử chưa bị oxy hoá do chỗ trong sản phẩm đã bị oxy hoá thường chứa các liên kết C-H có khả năng phản ứng hơn.

Gốc peroxit cũng có thể đứt nguyên tử H - đặc biệt ở vị trí β do quá trình nội phân và cũng có thể kếp hợp với nối đôi olefin. Vì vậy việc chuyển hoá các gốc peroxit sẽ đưa tới tạo nên không những hydroperoxit mà cả peroxit polyme, peroxit vòng, oxit, aldehyt và các sản phẩm khác.

Do quá trình phát triển của chuỗi phản ứng oxy hoá với các phản ứng phân mạch (3), (4), (5) nên tích tụ gốc alcoxyl $RO^{\bullet}$, peroxit $ROO^{\bullet}$ và hydroxyl $^{\bullet}OH$.

Từ gốc alcoxy có thể tạo nên những sản phẩm thứ cấp như rượu, xeton, aldehyt v.v.: $RO^{\bullet} + R'H \rightarrow ROH + R'O^{\bullet}$

rượu gốc tự do

Tương tác của hai gốc alcoxyl:

Tương tác của gốc alcoxyl với gốc alkyl:

Hoặc

Hoặc từ hydroperoxit và gốc alkyl cũng tạo ra xeton:

Aldehyt cũng có thể được tạo thành từ xeton bằng cách oxy hoá chúng đến α-xetohydroperoxit rồi đến aldehyt và axit:

Ngoài ra, trong lipit bị oxy hoá còn có thể tạo thành các sản phẩm trùng hợp cao phân tử:

Hoặc

Kết thúc:

Việc đứt mạch, nghĩa là mất các gốc tự do xảy ra chủ yếu do kết quả tương tác của các gốc theo cơ chế lưỡng phân:

$$\left.\begin{array}{l} R^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow \\ R^{\bullet} + RO_2^{\bullet} \rightarrow \\ RO_2^{\bullet} + RO_2^{\bullet} \rightarrow \end{array}\right\} \text{sản phẩm phân tử}$$

Năng lượng hoạt hoá của cac phản ứng này rất không đáng kể (1-2 kcal/mol) do đó vận tốc phản ứng rất lớn.

Các yếu tố ảnh hưởng đến vận tốc oxy hoá

Các yếu tố kích thích

Ảnh hưởng của axit béo tự do: axit béo tự do có tác dụng xúc tác quá trình oxy hoá, làm tăng nhanh sự phân giải hydroperoxit thành các gốc.

Ảnh hưởng của oxy: vận tốc tự oxy hoá phụ thuộc vào lượng oxy trong môi trường. Vì sự phát sinh chuỗi phản ứng chủ yếu phụ thuộc vào RH + O_2.

Ảnh hưởng của nhiệt độ: nhiệt độ có ảnh hưởng lớn đến vận tốc phản ứng hoá học. Tăng nhiệt độ, lượng peroxit tạo thành tăng. Ở nhiệt độ 40-45 ^oC và cao hơn, sự phân giải hydroperoxit sẽ tăng.

Ảnh hưởng của trạng thái lipit: bề mặt tiếp xúc của chất béo với không khí càng lớn thì vận tốc oxy hoá càng cao. Vận tốc tự oxy hoá còn phụ thuộc vào chiều dày của lớp. Khi lớp dày thì oxy xâm nhập khó. Giảm nhiệt độ đến lúc chất béo chuyển sang trạng thái rắn thì vận tốc oxy hoá cũng giảm.

Ảnh hưởng của ion kim loại chuyển tiếp: các ion cũng như các hợp chất của kim loại chuyển tiếp có tác dụng xúc tác sự oxy hoá lipit. Thực nghiệm cho thấy rằng khi có mặt sắt ở trong dầu với lượng 0,2-10 mg/kg sắt sẽ làm giảm độ bền của dầu đối với oxy hoá 20-50%. Với Cu chỉ cần 0,05-0,2 mg/kg sẽ làm giảm độ bền của dầu đối với oxy hoá 20-50%.

Ion kim loại chuyển tiếp có các electron độc thân và thực chất là gốc. Nhưng tính chất "gốc" ở chúng thể hiện yếu do đó chúng có thể tồn tại trong dung dịch với nồng độ lớn. Tuy nhiên chúng có thể chuyển hoặc lấy electron từ một hạt bão hoà hoá trị nào đó để tạo thành gốc tự do hoạt động hoặc gốc ion.

$$M^{n+} + RO^{\bullet} \rightarrow M^{(n+1)+} + RO^{-}$$

$$M^{n+} + RO_2^{\bullet} \rightarrow M^{(n+1)+} + RO_2^{-}$$

$$M^{(n+1)} + RO_2^{\bullet} \rightarrow M^{n+} + R^{+} + O_2$$

Ảnh hưởng của năng lượng mặt trời và tia ion: năng lượng ánh sáng đặc biệt là tia cực tím và tia ngắn của quang phổ nhìn thấy có tác dụng xúc tác quá trình oxy hóa lipit. Có lẽ năng lượng ánh sáng sẽ quang phân hydroperoxit thành các gốc tự do.

Ảnh hưởng của nước: người ta nhận thấy rằng nước có tác dụng làm tăng tính ổn định của chất béo sữa đối với sự oxy hóa ở nhiệt độ 95 ^oC và không có ảnh hưởng gì đến mỡ lợn ở 50 ^oC.

Ảnh hưởng của yếu tố kìm hãm

Vận tốc phản ứng $RO_2^{\bullet}$ + RH có thể được làm giảm bằng cách hướng các phản ứng của gốc peroxit theo chiều khác.

Điều đó đạt được bằng cách đưa vào trong lipit chất chống oxy hóa InH_2, nghĩa là chất có khả năng phản ứng dễ dàng với gốc $RO_2^{\bullet}$ hơn:

$$RO_2^{\bullet} \begin{cases} \nearrow InH_2 \rightarrow ROOH + {}^{\bullet}InH \\ \searrow RH \end{cases}$$

Kết quả là thay gốc peroxit $RO_2^\bullet$ bằng gốc của chất chống oxy hóa $In^\bullet$ là gốc yếu không thể tương tác với phân tử lipit. Các gốc $In^\bullet$ sẽ bị vô hoạt do sự tổ hợp:

$$RO_2^\bullet + InH_2 \rightarrow In^\bullet$$

$$In^\bullet + In^\bullet \rightarrow In\text{-}In$$

$$RO_2^\bullet + In^\bullet \rightarrow ROOIn$$

Điều kiện đó thỏa mãn được bằng cách đưa vào những chất chống oxy hóa có bản chất phenol hoặc amin v.v. Phenol có năng lượng liên kết của nguyên tử hydro trong nhóm hydroxyl rất bé (60-70 kcal). Một cách khác để giảm nồng độ $RO_2^\bullet$ là làm giảm vận tốc phản ứng phát sinh ra chúng.

Kìm hãm sự oxy hóa bằng cách làm đứt mạch

Cơ chế tác dụng của những chất chống oxy hóa loại này (như phenol, amin) có thể như sau:

$$RO_2^\bullet + InH_2 \rightarrow ROOH + {}^\bullet InH$$

$${}^\bullet InH + {}^\bullet InH \rightarrow {}^\bullet In + InH_2$$

gốc không hoạt động

hoặc $$RO_2^\bullet + InH_2 \rightarrow {}^\bullet[RO_2InH_2]$$

$${}^\bullet[RO_2InH_2] + RO_2^\bullet \rightarrow \text{sản phẩm bền}$$

hoặc $$RO_2^\bullet + InH_2 \rightarrow ROOH + {}^\bullet InH$$

$${}^\bullet InH + RO_2^\bullet \rightarrow \text{sản phẩm bền}$$

Kìm hãm sự oxy hoá bằng cách làm giảm vận tốc phát sinh mạch

Ví dụ, các sulfua có khả năng phá huỷ hydroperoxit:

$$ROOH + R_1SR_2 \rightarrow ROH + R_1SOR_2$$

$$ROOH + R_1SOR_2 \rightarrow ROH + RSO_2R_2$$

Các sulfua kiểu này như tiuam (tetration, tetrametyltiuramdisulfua)

Vô hoạt các hợp chất chứa kim loại có hoạt động xúc tác

Các kim loại chuyển tiếp có thể tương tác với hydroperoxit để tạo thành gốc tự do, đồng thời kim loại chuyển sang hoá trị khác:

$$Fe^{2+} + ROOH \rightarrow Fe^{3+} + RO^\bullet + {}^\bullet OH$$

$$Fe^{3+} + ROOH \rightarrow Fe^{2+} + RO_2^\bullet + H^+$$

Vì vậy phải chọn những chất chống oxy hoá có khả năng tạo phức với ion kim loại quá đó mà "phong toả" được sự chuyển electron từ mức N tới mức M, nghiã là loại trừ được khả năng chuyển hóa trị. Những chất chống oxy hoá loại này như axit xitric, axit malic, axit fitinic...

Axit carboxymetylmercaptosucxinic có "tính năng" khá mạnh thường được dùng để bảo quản dầu đậu, dầu bông.

Trong bảo quản lipit, người ta có thể dùng cộng tính cuả hai chất để làm tăng hiệu quả cuả chất chống oxy hoá. Chất làm tăng tính chất chống oxy hoá cuả chất kia gọi là chất hiệp trợ. Chất hiệp trợ này có hoặc không có tính chất chống oxy hoá. Bản chất cuả chúng có thể là vô cơ hay hữu cơ. Axit phosphoric, axit ascorbic, axit xitric và muối cuả chúng, polyphosphat, axit amin, xephalin là những chất thuộc loại đó. Cơ chế hiệp trợ cuả chúng là ở chổ chúng là những chất cho hydro để khử các dạng chất kìm hãm đã bị oxy hoá. Chẳng hạn kìm hãm sự oxy hoá chất béo bằng hỗn hợp axit ascorbic và quinon. Axit ascorbic chuyển hydro đến quinon để cho chất này có tác dụng được với gốc peroxit. Quá trình chuyển hydro cũng được coi là sự hiệp trợ cuả axit ascorbic với tocoferol. Tác dụng hiệp trợ cuả α-alanin đến hydroquinon trong chống oxy hoá cho dầu hướng dương là ở chổ khi bị deamin hoá đến axit pyruvic thì đồng thời cũng khử được hydroquinon đã bị oxy hoá.

Các chất như tocoferol, xemazol, phosphatit, gossipol, quercetin...là những chất chống oxy hoá tự nhiên, vì thường chưá trong trong các nguồn lipit tự nhiên. Trong quá trình khai thác và tinh luyện, những chất này có thể bị mất đi, do đó những nguồn lipit này dễ bị ôi hoá. Một số chất chống oxy hoá cũng được tân tạo khi gia công các hạt có dầu như melanoidin, gossiphosphatit, melanophosphatit...Hiện nay người ta còn sử dụng nhiều chất chống oxy hoá tổng hợp như butyloxyanizol, butyloxytoluen, dodexigalat v.v. trong bảo quản dầu mỡ.

c) Cơ chế cuả quá trình ôi hoá sinh học

Ôi hoá do enzym lipoxydase

Trong quá trình khai thác cũng như bảo quản, lipit và đặc biệt là dầu mỡ, có thể bị oxy hoá dưới tác dụng xúc tác cuả enzym lipoxydase để tạo thành những sản phẩm khác nhau.

Lipoxydase hay lipoxygenase là enzym oxyhoas khử, thường có tên hệ thống là linoleat:O_2 oxydoreductase (1.13.1.13). Enzym lipoxygenase xúc tác sự oxy hoá các axit béo không no chưá 2-3 nối kép (hoặc nhiều hơn) như axit linoleic, linolenic, axit arachidic. Điểm đặc biệt là lipoxygenase chỉ oxy hoá dạng cis-cis còn dạng cis-trans hoặc trans-trans thì hoàn toàn không có tác dụng. Cả 3 axit này đều bị oxy hoá với vận tốc như nhau. Điểm khác là các hydro peroxit được tạo thành ở đây có hình thể cis-trans và có hoạt động quang học. Cơ chế tác dụng cuả lipoxygenase như sau:

Từ hydroperoxit sẽ chuyển hoá một cách bình thường để tạo ra epoxit, aldehyt, xeton và những phẩm vật oxy hoá khác.

Nhiều hợp chất hữu cơ là những chất kìm hãm cuả lipoxygenase. Propylgalat, dephenylamin và oxyquinolin là những chất kìm hãm lipoxygenase. Tác dụng kìm hãm cuả những chất này là ở chổ làm giảm vận tốc oxy hoá linoleat và hấp thụ oxy.

Lipoxygenase có nhiều trong hạt đậu tương và trong hạt hoà thảo. pH tối ưu cuả lipoxygenase cuả đậu tương là 9,0 và cuả các cây khác là 7,0. Lipoxygenase cuả động vật có pH tối ưu từ 4-7.

Ôi hoá xeton

Ôi hoá xeton thường đặc trưng đối với lipit chưá axit béo no, phân tử lượng trung bình, thấp. Chẳng hạn, trong bảo quản bơ và margarin khi bị nhiễm nấm mốc (*Aspergillus, Penicillium*) thường xảy ra kiểu ôi hoá này. Dưới tác dụng cuả các enzym cuả vi sinh vật, axit béo bị β-oxy hoá và decarboxyl hoá mà kết quả là tạo ra các alkylmetylxeton có mùi khó chịu.

Sơ đồ phản ứng như sau:

d) Sự oxy hoá các axit béo trong cơ thể sinh vật

Trong mô động vật cũng như thực vật, cac axit béo còn bị chuyển hoá oxy hoá theo một đường hướng riêng, thực hiện theo từng nấc, mỗi nấc axit béo lại bị cắt ngắn đi một mảnh hai cacbon ra khỏi phân tử. Các axit béo chưa no, trước tiên phải được khử thành axit béo no, sau đó mới bị oxy hoá theo con đường đó. Quá trình oxy hoá axit béo theo đường hướng này cũng có tên là β-oxy hoá. Lược đồ các phản ứng cuả quá trình β-oxy hoá axit béo bao gồm 5 phản ứng:

- Phản ứng 1: là phản ứng hoạt hoá axit béo nhờ axyl coenzym A CoA-SH, ATP và sự xúc tác cuả enzym axyl-CoA-syntetase:

Pyrophosphat vưà tạo thành sẽ bị phân giải thành axit phosphoric (khi có enzym pyrophosphatase xúc tác) do đó cân bàn g pảh ứn gsẽ chuyển dịch về phiá phải.

- Phản ứng 2: là phản ứng oxy hoá axyl CoA nhờ enzym axyl CoA dehydrogenase. Enzym này là một flavoprotein có nhóm ngoại là FAD:

Các enzym này khác nhau về tính chất lý học và về tính chất đặc hiệu theo độ dài cuả mạch carbon cuả cơ chất.

- Phản ứng 3 do enzym enoyl-CoA-hydratase xúc tác:

- Phản ứng 4 do enzym β-oxyaxylCoA dehydrogenase chưá nhóm ngoại là NAD xúc tác:

- Phản ứng 5 bao gồm việc chuyển nhóm axyl cuả phân tử β-xetoaxylCoA lên một phân tử coenzym A mới. Enzym xúc tác phản ứng này là β-xetoaxylCoA thiolase

Như vậy cứ qua 5 phản ứng thì phân tử axit béo lại ngắn đi hai nguyên tử cacbon để tạo thành axetyl CoA. Quá trình cứ thể được lặp đi lặp lại nhiều lần cho đến khi toàn bộ sản phẩm cuối cùng là axetyl CoA. Từ Axetyl CoA sẽ đi vào chu trình Krebs (hoặc chu trình glyoxylic) để cung cấp năng lượng cho cơ thể sinh vật.

Khi oxy hoá một phân tử lipit đơn giản (ví dụ tristearin) thì sẽ cung cấp cho cơ thể 458 mol ATP.

Như vậy cùng với carbohydrat, lipit là nguồn năng lượng dự trữ to lớn cuả cơ thể.

CHƯƠNG 2: CÁC CHẤT MÀU

2.1 Ý NGHĨA CỦA CÁC CHẤT MÀU TRONG SẢN XUẤT THỰC PHẨM

Chất lượng cuả các sản phẩm thực phẩm không những bao hàm giá trị dinh dưỡng mà còn bao hàm cả giá trị cảm quan cuả chúng nưã. Màu sắc là một chỉ số quan trọng cuả giá trị cảm quan. Màu sắc cuả các sản phẩm thực phẩm không chỉ có giá trị về mặt hình thức mà còn có tác dụng sinh lý rất rõ rệt. Màu sắc thích hợp sẽ giúp cho cơ thể đồng hoá thực phẩm dễ dàng. Vì vậy trong kỹ thuật sản xuất thực phẩm người ta không chỉ bảo vệ màu sắc tự nhiên mà còn cho thêm chất màu mới, tạo ra những màu sắc thích hợp với tính chất và trạng thái cuả sản phẩm.

Có thể thực hiện được điều đó bằng những cách sau:

- Xây dựng một quy trình gia công nguyên liệu, bán thành phẩn để bảo toàn được tối đa các chất màu có sẵn trong nguyên liệu;

- Tách ra, cô đặc và bảo quản các chất màu từ chính nguyên liệu thực vật đó hoặc từ các nguyên liệu khác giàu màu sắc ấy. Sau đó từ các chất màu tự nhiên đã cô đặc này có thể dùng để nhuộm màu cho chính nguyên liệu mà từ đó ta đã thu được chất màu hoặc cho những dạng nguyên liệu hoàn toàn khác.

- Tổng hợp nhân tạo các chất màu giống như các màu tự nhiên cuả sản phẩm thực phẩm rồi dùng chúng để nhuộm màu cho các sản phẩm khác mà ở dụng tự nhiên không đủ mạnh hoặc bị mất màu ban đầu do quá trình chế biến.

- Dùng các biện pháp kỹ thuật thích hợp để điều chỉnh các phản ứng theo chiều tạo ra những chất màu mới từ những hợp phần có trong nguyên liệu.

Dựa vào quá trình hình thành có thể chia chất màu thành hai loại:

- các chất màu tự nhiên

- các chất màu hình thành trong quá trình gia công kỹ thuật.

2.2 Các chất màu tự nhiên

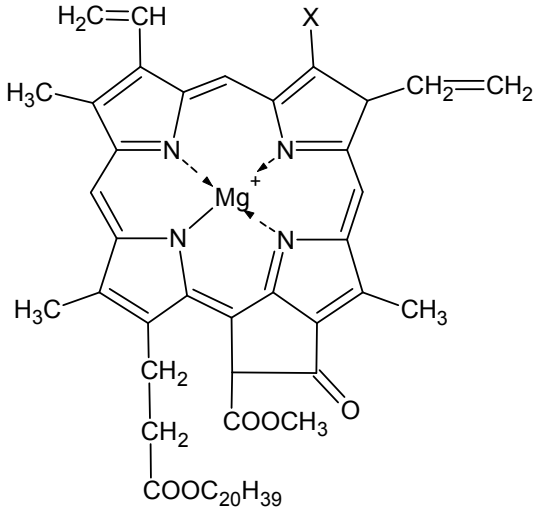
Các chất màu tự nhiên thường gặp chủ yếu ở trong các nguyên liệu thực vật, có thể chia làm ba nhóm chính:

- Clorofil, diệp lục hay chất màu xanh lá cây;
- Các carotenoit có trong lục lạp, trong quả và rau màu da cam, màu vàng và đôi khi màu đỏ
- Các chất màu flavonoit có trong các không bào, có màu đỏ, xanh và vàng,

2.2.1 Clorofil

Màu xanh lá cây cuả thực vật là do có mặt clorofil. Chất màu này đóng rất quan trọng trong quá trình quang hợp. Nó không những cho màu xanh mà còn che mờ các chất màu khác. Clorofil có trong lục lạp hoặc hạt diệp lục, phân tán ở nguyên sinh chất. Nó chiếm khoảng 1% chất khô.

Clorofil có hai dạng: clorofil a và clorofil b. Clorofil b có màu nhạt hơn. Tỷ lện giữa clorofil a và clorofil b trong thực vật khoảng 3:1.



Hình 7.1 Cấu tạo của clorofil a và b:

a – X là CH_3; b – X là CHO

Tính chất

a) Dưới tác dụng của nhiệt độ và axit cuả dịch bào màu xanh bị mất đi, một mặt là do protein đông tụ làm vỏ tế bào bị phá huỷ, mặt khác là do liên kết giưã clorofil và protein bị đứt làm cho clorofil dễ dàng tham gia phản ứng 7.1 để takp ra feofytin có màu xanh oliu:

$$\text{Clorofil} + 2\,HX \rightarrow \text{Feofytin} + MgX_2 \qquad (7.1)$$

b) Khi cho tác dụng với kiềm nhẹ như cacbonat kiềm, kiềm thổ thì chúng sẽ trung hoà axit và muối axit cuả dịch tế bào và tạo nên môi trường kiềm làm cho clorofil bị xà phòng hoá đẻ cho rượu phytol, metanol và axit clorofilinic.

Clorofil a + kiềm → $(C_{32}H_{30}ON_4Mg)(COONa)_2$ + CH_3OH + rượu phytol

Clorofil b + kiềm → $(C_{32}H_{28}O_2N_4Mg)(COONa)_2$ + CH_3OH + rượu phytol

Các axit $(C_{32}H_{30}ON_4Mg)(COONa)_2$ và $(C_{32}H_{28}O_2N_4Mg)(COONa)_2$ thu được do xà phóng hoá clorofil a và b đuwojc gọi là clorofilin hoặc clorofilit. Các axit cũng như muối cuả chúng đều cho sản phẩm màu xanh đậm.

Trong một số cây còn có enzym chlorophyllase cũng có thể thuỷ phân được các liên kết este này để giải phóng ra phytol và metanol. Enzym này thường được định vị trong các sắc lạp, khá bền với nhiệt và chỉ được hoạt hoá trong thời gian chín.

c) Clorofil cũng có thể bị oxy hoá do oxy và ánh sáng (quang oxy hoá), do tiếp xúc với các lipit bị oxy hoá hoặc do tác dụng của enzym lipoxydase. Các quá trình oxy hoá này có thể xảy ra trong các rau (nhất là rau sấy) bảo quản ở độ ẩm

tương đối dưới 30%; còn khi độ ẩm tương đối cuả không khí cao hơn thì clorofil lại bị biến đổi thành feofytin (phản ứng 7.1). Một số hưọp chát bay hơi có thể làm tăng (etylen) hay làm chậm (khí CO_2) sự biến hoá cuả clorofil.

d) Dưới tác dụng cuả Fe, Sn, Al, Cu thì Mg trong clorofil sẽ bị thay thế và sẽ cho các màu khác nhau sau:

- Với Fe sẽ cho màu nâu;
- Với Sn và Al cho màu xám;
- Với Cu sẽ cho màu xanh sáng.

Trong sản xuất thực phẩm, đặc biệt là trong sản xuất đồ hộp rau, người ta thường dùng các biện pháp sau đây để bảo vệ được màu xanh diệp lục:

- Gia nhiệt nhanh trong một lượng nước sôi lớn (3-4 l/kg) để giảm hàm lượng axit. Axit lúc này sẽ bị bay đi cùng với hơi nước;
- Gia nhiệt rau xanh trong nước cứng, cacbonat kiềm thổ sẽ trung hoà một phần axit cuả dịch bào.

Trong thực tế, để bảo vệ màu xanh cuả đậu đóng hộp, người ta cho vào hộp một ít dinatri glutamat hoặc để nhuộm màu xanh cho đậu vàng, người ta dùng clorofylin (clorofil + kiềm). Clorofil dễ bị hấp thụ trên bề mặt cuả hạt đậu và giữ được bền màu trên bề mặt đó làm cho màu hạt rất đẹp.

2.2.2 Carotenoit

Carotenoit là nhóm chất màu hoà tan trong chất béo làm cho rau và quả có màu da cam, màu vàng và màu đỏ. Nhóm này gồm từ 65-70 chất màu tự nhiên, tiêu biểu là caroten, licopen, xantofil, capxantin và xitroxantin. Carotenoit có trong đa số cây (trừ một số nấm) và hầu như có trong tất cả cơ thể động vật. Hàm lượng carotenoit trong lá xanh chiếm khoảng 0,07-0,2% chất khô, tỏng trường hợp hạn hữu người ta thấy nồng độ carotenoit rất cao, ví dụ trong bao phấn cuả nhiều loại hoa loa kèn có nhiều xantofil và anteracxantin.

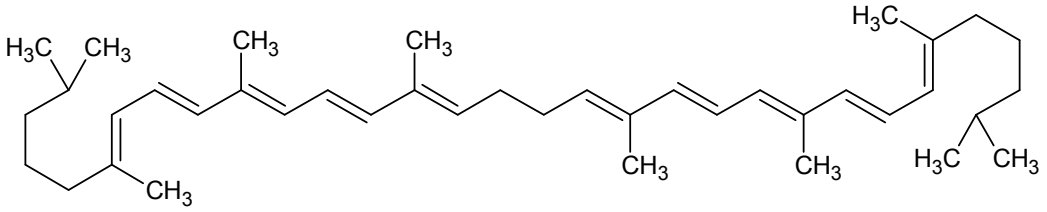
Tất cả carotenoit đề không hoà tan trong nước, rất nhạy đối với axit và chát oxy hoá, nhưng lại bền vững vơí kiềm. Một trong những đặc điểm cuả carotenoit là có nhiều nối đôi luân hợp tạo nên những nhóm mang màu cuả chúng. Màu cuả chúng phụ thuọc vào những nhóm này.

Tất cả carotenoit tự nhiên có thể xem như dẫn xuất cuả licopen.

2.2.2.1 Licopen

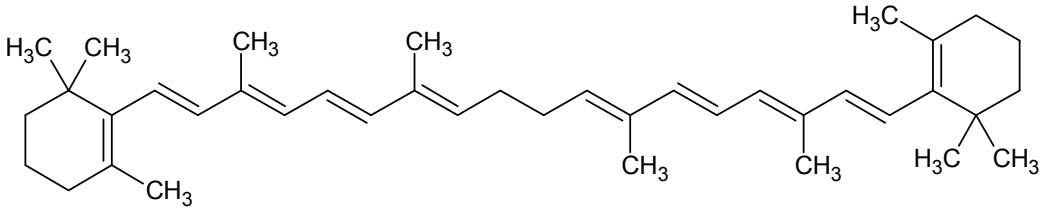
Licopen có trong quả cà chua và một số quả khác. Màu đỏ cuả cà chua chín chủ yếu do có mặt licopen mặc dù trong cà chua còng một loạt các cait khac nưã như: fitoflutin, α-caroten, β-caroten, γ-caroten, licopen. Trong quá trình chín, hàm

lượng licopen trong cà chua tăng lên 10 lần. Tuy nhiên, chất màu này không có hoạt tính vitamin. Licopen có cấu tạo như sau:

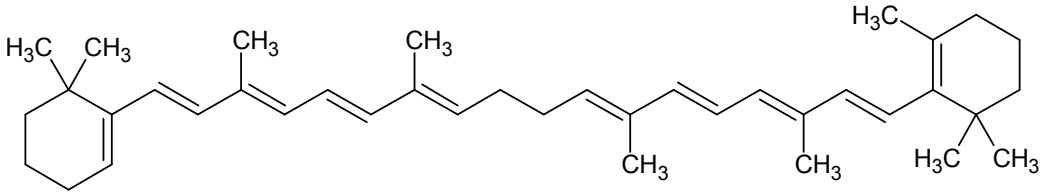


licopen

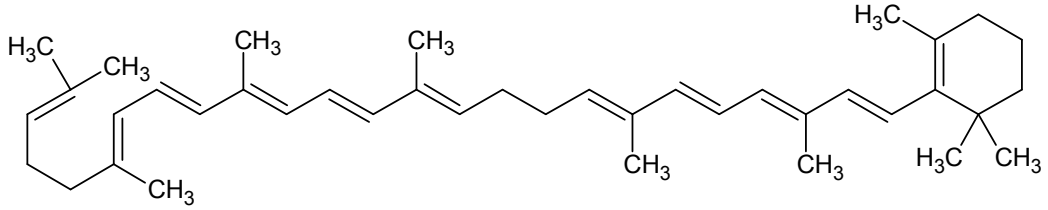
Bằng cách tạo thành vòng ở một đầu hoặc cả hai đàu cuả phân tử licopen thì sẽ được các đồng phân α. β, γ-caroten. Màu da cam cuả cà rốt, mơ chủ yếu là do caroten. Caroten có cấu tạo như sau:



β-caroten



α-caroten

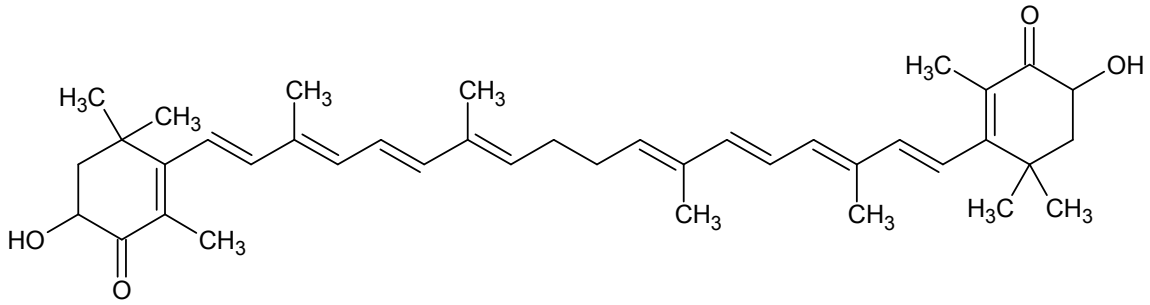


γ-caroten

Tất cả những carotenoit tự nhiên khác đều là dẫn xuất cuả licopen và caroten. Chúng được tạo thành bằng cách đưa nhóm hydroxyl, carbonyl hoặt metoxy vào mạch, nhờ phản ứng hydro hoá hoặc oxy hoá.

2.2.2.2 Xantofil

Xantofil có công thức $C_{40}H_{56}O_2$ và có được bằng cách gắn thêm hai nhóm hydroxyl vào phân tử α-caroten, do đó có tên 3, 3'-dihydroxy α-caroten và 3, 3'-dihydroxy β-caroten với tỷ lệ 2:1. Xantofil cùng với caroten có chuá trong rau xanh và cùng với caroten và licopen cuả cà chua.



Xantofil

2.2.2.3 Capxantin

Capxantin có công thức $C_{40}H_{58}O_3$ là chất màu vàng có trong ớt đỏ. Capxantin chiếm 7/8 tất cả chất màu cuả ớt. Capxantin là dẫn xuất cuả caroten, nhưng có màu mạnh hơn các carotenoit khác 10 lần. Trong ớt đỏ có các carotenoit nhiều hơn trong ớt xanh 35 lần.

2.2.2.4 Criptoxantin

Criptoxantin có công thức nguyên $C_{40}H_{58}O_3$ (3- hoặc 4- hydroxy β-caroten). Màu da cam cuả quít, cam chủ yếu là do criptoxantin.

2.2.2.5 Birxin

Birxin là chất màu đỏ có trong quả cây nhiệt đới tên là *Bixa orellana*, birxin được dùng để nhuộm màu dầu, margarin và các sản phẩm thực phẩm khác. Birxin là sản phẩm oxy hoá cuả các carotenoit có trong 40 nguyên tử cacbon.

2.2.2.6 Xitroxantin

Xitroxantin có công thức $C_{40}H_{50}O$. Xitroxantin có trong vỏ quả chanh. Xitroxantin có được khi kết hợp vào phân tử β-caroten một nguyên tử oxy để tạo thành cấu trúc furanoit.

2.2.2.7 Astarxantin

Astarxantin cũng là dẫn xuất cuả caroten và có tên gọi là 3, 3'-dihydroxy - 4,4'-dixeto-β-caroten.

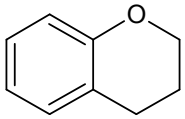
Trong trứng cuả loài giáp xác có chất màu xanh ve gọi là ovoverdin có thể coi như là muối dạng endil cuả astarxantin và nhóm amin cuả protein (kết hợp cuả astarxatin và protein).

Trong mai và giáp cuả cua, tôm astarxantin cũng tham gia vào thành phần cuả lipoprotein gọi là xianin.

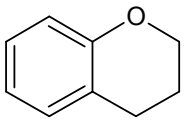
Trong quá trình gia nhiệt do protein bị biến tính và astarxantin bị tách ra dưới dạng chất màu đỏ.

2.2.3 Các chất màu nhóm flavonoit

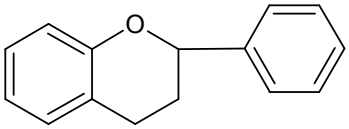
Các chấtmàu này hoà tan trong nước và chưá trong các không bào. Trong rau, quả và hoa, số lượng cũng như tỷ lệ cac flavonoit khác nhau, do đó làm cho chúng có nhiều màu sắc khác nhau: từ màu đỏ đến màu tím. flavonoit là những dẫn xuất cuả croman và cromon. Croman và cromon là những phenylpropan vì có chưá bộ khung cacbon C_6-C_3. Khi croman hoặc cromon ngưng tự với một vòng phenol nưã thì được dẫn xuất có tên là flavan.



croman

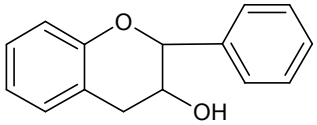


cromon

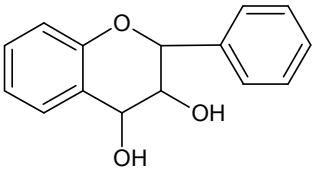


flavan

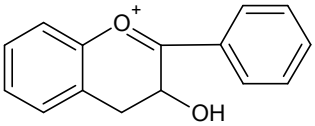
Dựa vào mức độ oxy hoá (hoặc khử) của dị vòng, có thể chia flavonoit ra các nhóm có dạng cấu trúc chủ yếu như sau:



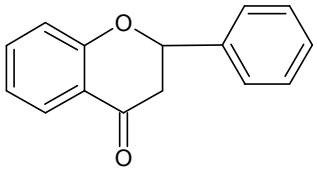
catesin (flavanol-3)



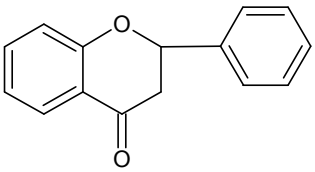
leucoantoxianidol (flavandiol-3,4)



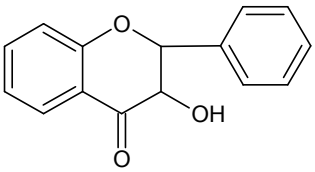
antoxianidol



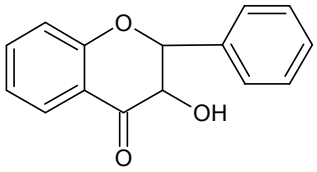
flavanon



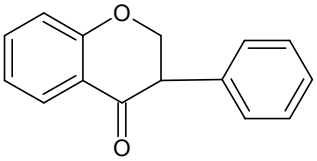
flavanon



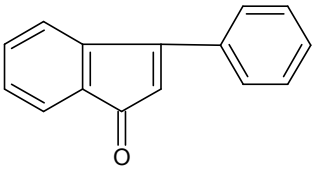
flavanodol



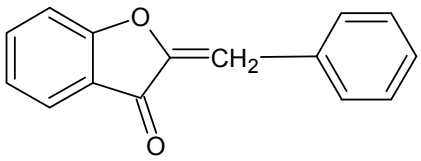
flavonol



izoflavon



chalcon

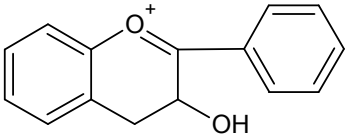


auron

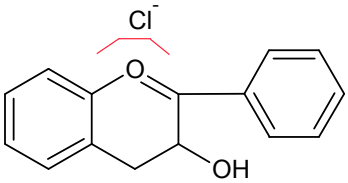
2.2.3.1Antoxian

Antoxian hay là antoxianozit là mono- diglucozit do gốc đường glucose, galactose hoặc rhamnose kết hợp với gốc aglucon có màu gọi là antoxianidin. Do đó, khi thuỷ phân antoxian thì được đường và antoxianidin (antoxianidol). Antoxian hoà tan trong nước, còn antoxianidol thì không hoà tan trong nước. Các antoxianidol và các antoxian là những chất tạo nên màu sắc cho hoa và quả. Các antoxianidol có màu đỏ, xanh, tím hoặc những gam màu trung gian.

Tất cả antoxianidol đều có chứa trong vòng pyran oxy hoá trị tự do. Tuy nhiên người ta chưa biến được chắc chắn nguyên tử nào: oxy hay cacbon mang điện tích dương tự do. Do đó antoxianidol thường được biểu diễn dưới dạng công thức trung tính:



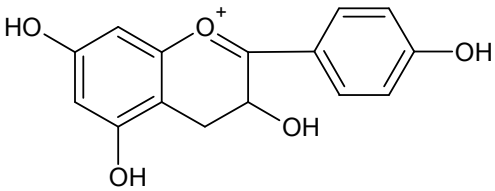
Công thức thường



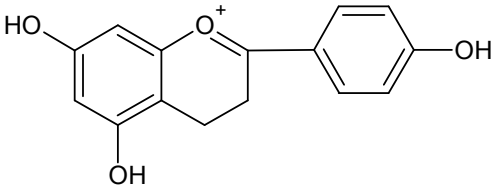
Công thức trung tính

Nhờ điện tích dương tự do này mà cac antoxianidol trong dung dịch axit tác dụng như những cation và tạo muối được với các axit. Còn trong dung dịch kiềm thì antoxianidol lại tác dụng như anion và tạo muối với bazơ.

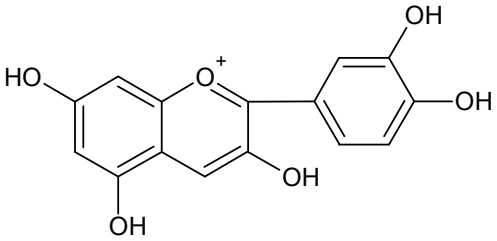
Thường gặp ba antoxianidol chính là: pelargonidol, xianidol và delfinidol. Còn apigenidol thì ít gặp hơn.



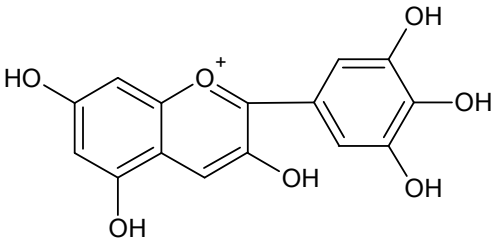
pelargonidol



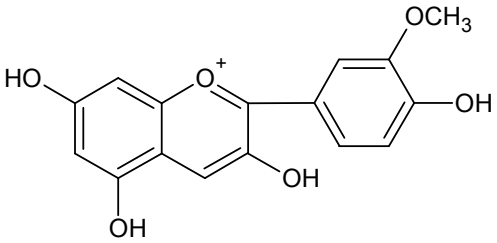
apigenidol



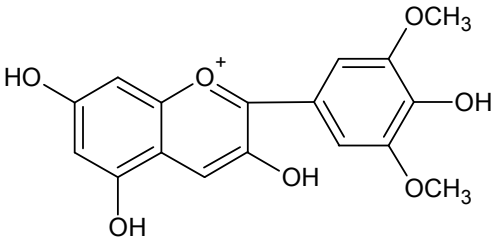
xianidol



delfinidol



xianidol



xirinhidol (malvidol)

Tính chất cuả antoxian

Nói chung các antoxian hoà tan tốt trong nước và trong dịch bão hoà. Khi kếp hợp với đường làm cho phân tử antoxian càng hoà tan hơn.

Màu sắc cuả các antoxian luôn luôn thay đổi phụ thuộc vào nhiệt độ, các chất màu có mặt và nhiều yếu tố khác,...Khi tăng số lượng nhóm OH trong vòng benzen thì màu càng xanh đậm (trong vòng benzen có thể có 1-2 hoặc 3 nhóm OH)

Mức độ metyl hoá các nhóm OH ở trong vòng benzen càng cao thì màu càng đỏ. Nếu nhóm OH ở vị trí thứ 3 kết hợp với các gốc đường thì màu sắc cũng sẽ thay đổi theo số lượng các gốc đường được đính vào nhiều hay ít.

Các antoxian cũng có thể tạo phức với các ion kim loại để cho các màu khác nhau: chẳng hạn muối kali sẽ cho với antoxian màu đỏ máu, còn muối canxi và magie sẽ cho với antoxian phức có màu xanh ve. Hoặc người ta cũng thấy phúc bồn tử đen sẽ chuyển sang màu xanh, còn anh đào thì chuyển sang màu tím khi có mặt thiếc, anh đào cũng sẽ có màu tím khi có mặt nhôm, nhưng nhôm lại không ảnh hưởng đến màu cuả nho đỏ. Các antoxian cuả nho chỉ thay đổi đáng kể khi có Fe, Sn hoặc Cu. Điểm đáng chú ý là màu sắc cuả các antoxian phụ thuộc rất mạnh vào pH môi trường.

Thông thường, khi pH>7, các antoxian cho màu xanh và khi pH<7, các antoxain có màu đỏ. Chẳng hạn, rubrobraxinin clorua là antoxian cuả bắp cải đỏ, là một triglucozit cuả xianidin.

Khi pH=2,4-4,0 thì có màu đỏ thắm; pH=4-6 thì có màu tím; pH=6 thì có màu xanh lam; pH là kiềm thì có màu xanh lá cây.

Hoặc như xianin có trong hoa hồng, màu sắc sẽ thay đổi khi pH cuả dịch bào thay đổi.

Màu sắc cuả antoxian còn có thể thay đổi do hấp thụ ở trên polysacarit.

Khi đun nóng lâu dài các antoxian có thể phá huỷ và mất màu, đặc biệt là các antoxian cuả dâu tây, anh đào, củ cải. Ngược lại, các antoxian cuả phúc bồn tử đen cũng trong điều kiện đó lại không bị thay đổi. Nhìn chung khi gia nhiệt, cac chất màu đỏ dễ dàng bị phá huỷ, còn chất màu vàng thì khó hơn.

Các màu sắc khác nhau cuả hoa có được là do tổ hơp các antoxianidin và cac este metylic cuả chúng với axit và bazơ.

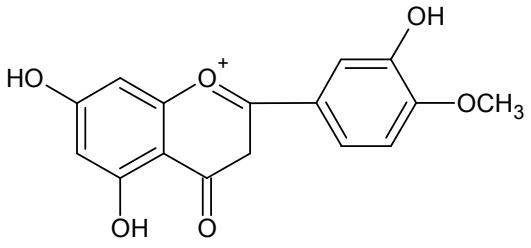
Tóm lại, trong môi trường axit, các antoxian là những bazơ mạnh (oxonium) và có thẻ tạo muối bền vững với axit. Antoxian cũng có khả năng cho muối với bazơ. Như vậy chúng có tính chất lưỡng tính. Muối với axit thì có màu đỏ, còn muối với kiềm có màu xanh.

Trong sản xuất đồ hộp, để bảo vệ màu sắc tự nhien, người ta có thể cho thêm chất chống oxy hoá, ví dụ, thêm rutin để bảo vệ màu cuả anh đào và mận, thêm tanin, axit ascorbic để bảo vệ màu cuả dâu và anh đào. Một biện pháp khác có thể bảo vệ được màu tự nhiên cuả các đồ hộp rau quả là thêm enzym glucooxidase, chăng hạn như thêm gluco oxidase để giữ màu tự nhiên cuả nước quả đục...

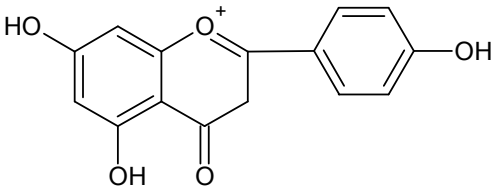
Các dẫn xuất cromon đáng chú ý hơn cả là flavanon và flavonol

2.2.3.2 Flavanon

So với các flavonoit khác thì các flavanon ít gặp hơn. Hesperidin và naringin là hai flavanon có trong vỏ cam quít bên cạnh các catesin có hoạt tính vitamin P. Aglucon cuả các glucozit này là hesperetol và naringenol:

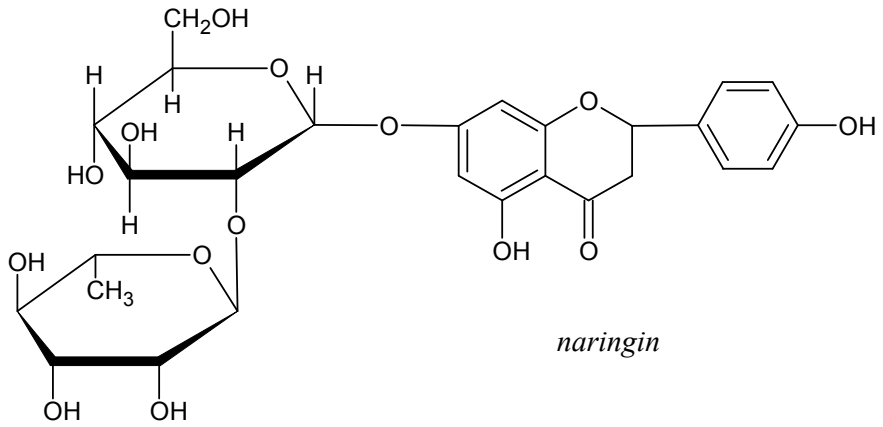


hesperetol



naringenol

Naringin là diholozit (với glucose và rhamnose) thường gây ra vị đắng cuả bưởi nhất là ở bưởi trước khi chín.



naringin

Naringin là một flavonoit không màu, ít tan trong nước, dễ dàng kết tuả dưới dạng các tinh thể nhỏ do đó gây khó khăn cho sản xuất nước quả cũng như puree cam quít. Khi quả chín, enzym nariginase phân cắt liên kết glucose-rhamnose do đó mất vị đắng.

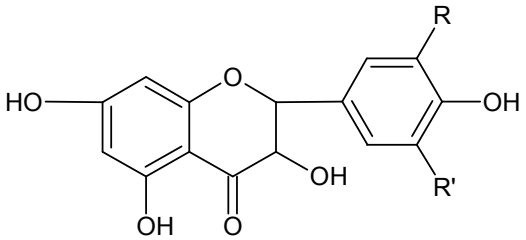
2.2.3.3 Flavonol

Flavonol là glucozit làm cho rau quả và hoa có màu vàng và da cam. Khi flavonol bị thuỷ phân thì giải phóng ra aglucon màu vàng. Các glucozit nhóm flavonol rât nhiều, nhưng thuwofng gặp hơn cả là nhưũng aglucon dẫn xuất sau đây:

Kempherol R=R'=H

Querxetol R=OH, R'=H

Mirixetin R=R'=OH



Astragalin là 3-glucozit cuả kempherol, có trong hoa tử vân anh, hoa dẻ ngựa, trong lá chè và trong hoa hồng. Querxetol có trong vỏ sồi, lá chè, táo, nho, thuốc lá, hoá huplông (hoa bia).

Rutin là 3-rhamnoglucozit cuả querxetol rất thường gặp ở trong cây. Rutin được ứng dụng rộng rãi trong y học làm thuốc bổ mao mạch.

Các flavonol đều hoà tan trong nước. Cường độ màu cuả chúng phụ thuộc vào vị trí nhóm OH: màu xanh nhất khi OH ở vị trí orto.

Flavonol tương tác với sắt cho ta phức màu xanh lá cây, sau chuyển sang màu nâu. Phản ứng này thường xảy ra khi gia nhiệt rau quả trong thiết bị bằng sắt hoặc bằng sắt tráng men bị dập.

Với chì axetat, flavonol cho phức màu vàng xám. Trong môi trường kiềm, flavonol rất dễ bị oxy hoá và sau đó ngưng tụ để tạo thành sản phẩm màu đỏ.

2.3 Các chất màu hình thành trong quá trình gia công kỹ thuật

Trong các nguyên liệu đưa vào chế biến thực phẩm, thường chứa một tổ hợp cac chât khác nhau. Trong quá trình gia công cơ nhiệt, chúng sẽ được tương tác với nhau để tạo thành những chất màu mới có ảnh hưởng tốt hoặc xấu đến thành phẩm.

Các phản ứng tạo màu trong thực phẩm thường phức tạp và đa dạng. Chẳng hạn như màu sắc cuả nước chè là do phản ứng oxy hoá các polyphenol bằng enzym, màu sắc xuất hiện khi sấy malt, khi nướng bánh mì hoặc trong các sản phẩm chế biến hạt khác lại hầu như chủ yếu do phản ứng ozamin. Nếu như trong các sản phẩm bánh kẹo, màu được tạo nên chủ yếu là do phản ứng caramen hoá các đường thì trong chế biến rau quả màu được hình thành nên còn do một loạt các phản ứng khác nữa.

Chung quy lại, các phản ứng tạo màu là những phản ứng oxy hoá và những phản ứng có enzym xúc tác không có enzym xúc tác. Đó là phản ứng trùng hợp hoá các phẩm vật oxy hoá cuả polyphenol và phản ứng giuã bisflavonoit với axit amin. Chúng gồm có:

- phản ứng giữa đường và axit amin;
- phản ứng dehydrat hoá các đường hay là phản ứng caramen hoá;
- phản ứng phân huỷ axit ascorbic, axit limonic, axit maleic, axit tartric và một số axit hữu cơ khác;
- phản ứng oxy hóa các hợp chất cuả sắt và tạo thành phức có màu;
- phản ứng tạo nên các sulfua kim loại có màu.

2.3.1 Tạo màu mới do phản ứng caramen

Phản ứng caramen hoá có ảnh hưởng lớn đến màu sắc cuả các sản phẩm giàu đường như bánh, kẹo, mứt...Phản ứng xảy ra mạnh mẽ ở nhiệt độ nóng chảy cuả đường. Chẳng hạn, với glucose ở 146-150 ^oC, fructose ở 95-100 ^oC, saccharose ở 160-180 ^oC, lactose 223-252 ^oC. Tuy nhiên, phụ thuộc vào nồng độ đường, thành phần pH cuả môi trường, thời gian đun nóng,...người ta vẫn tìm thấy các sản phẩm cuả sự caramen ở nhiệt độ thấp hơn điểm nóng chảy cuả đường. Ví dụ, saccharose có thể bắt đầu biến đổi này khi ở nhiệt độ 135 ^oC.

Giai đoạn đầu cuả phản ứng tạo nên các anhydrit cuả glucose, fructose, saccharose như glucozan, fructozan, sacarozan là những hợp chất không màu. Sau đó, bên cạnh sự dehydrat hoá còn xảy ra sự trùng hợp hoá các đường đã đượng dehydrat hoá để tạo thành các phẩm vật có màu nâu vàng.

Chẳng hạn, với saccharose, sơ đồ phản ứng caramen như sau:

$$C_{12}H_{22}O_{11} \rightarrow C_6H_{10}O_5 + C_6H_{10}O_5 + H_2O$$

Đến 185-190 ^oC sẽ tạo thành izosacarozan:

glucozan + levulozan → izosacarozan

$C_6H_{10}O_5 + C_6H_{10}O_5 \rightarrow C_{12}H_{20}O_{10}$

Khi ở nhiệt độ cao hơn sẽ mất đi 10% nước và tạo thành caramelan ($C_{12}H_{18}O_9$ hoặc $C_{24}H_{36}O_{18}$) có màu vàng:

$_2C_{12}H_{22}O_{10} \rightarrow (C_{12}H_{18}O_9)$ hoặc $C_{24}H_{36}O_{18} + {}_2H_2O$

izosacarozan caramelan

Khi mất đi 14% nước sẽ tạo thành caramelen:

$C_{12}H_{22}O_{10} + C_{24}H_{36}O_{18} \rightarrow C_{36}H_{48}O_{24}.H_2O + 3\ H_2O$

Và khi mất đi 25% nước sẽ tạo thành caramelin có màu nâu đen.

Cần chú ý rằng tất cả các sản phẩm caramen hoá đều có vị đắng.

2.3.2 Sự tạo màu mới do phản ứng melanoidin

Phản ứng ozamin, cacbonylamin, aminoza hay phản ứng melanoidin là phản ứng có vai trò đặc biệt quản trọng trong kỹ thuật sản xuất thực phẩm. Các hợp phần tham gia phản ứng là protein (hoặc các sản phẩm phân giải cuả chúng) và carbohydrat.

Điều kiện để phản ứng xảy ra được là chất tham gia phản ứng phải có nhóm carbonyl. Khác với phản ứng caramen hoá, phản ứng ozamin đòi hỏi năng lượng hoạt hoá bé hơn, nhưng để tiến hành phản ứng bắt buộc trong môi trường phản ứng phải có nhóm amin hoặc amoniac.

Dựa vào mức độ về màu sắc cuả các sản phẩm có thể chia thành ba giai đoạn kế tiếp nhau. Sản phẩm cuả giai đoạn đầu không màu và không hấp thụ ánh sáng cực tím. Giai đoạn này bao gồm hai phản ứng: phản ứng ngưng tụ carbonylamin và phản ứng chuyển vị Amadori. Sản phẩm cuả giai đoạn thứ hai không màu hoặc có màu vàng, nhưng hấp thụ mạnh ánh sáng cực tím. Giai đoạn này bao gồm phản ứng khử nước cuả đường, phân huỷ đường và các hợp chất amin. Sản phẩm cuả giai đoạn cuối có màu đạm. Giai đoạn này gồm có phảnứng ngưng tụ aldol, trùng hợp hoá aldehytamin và tạo thành hươp chất dị vòng chưá nitơ.

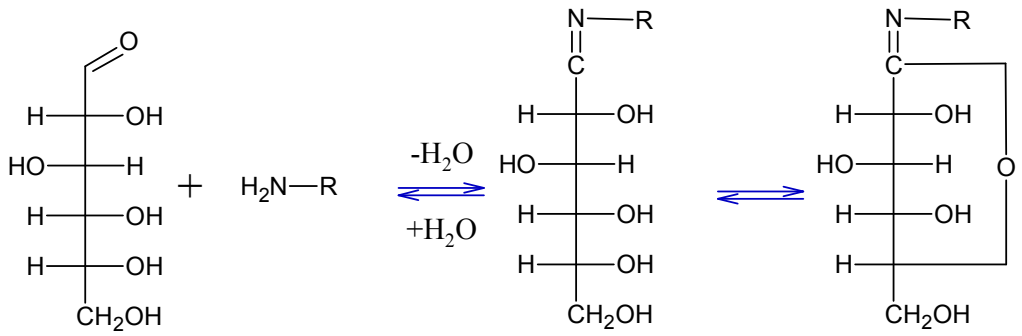
Thực tế trong hỗn hợp phản ứng có chưá đồng thời tất cả các sản phẩm, nhưng tỉ lượng cuả sản phẩm này hay sản phẩm khác chiếm ưu thế là phụ thuộc mức độ tiến hành cuả phản ứng.

2.3.2.1Các giai đoạn cuả phản ứng tạo melanoidin

a) Giai đoạn đầu cuả phản ứng tạo melanoidin

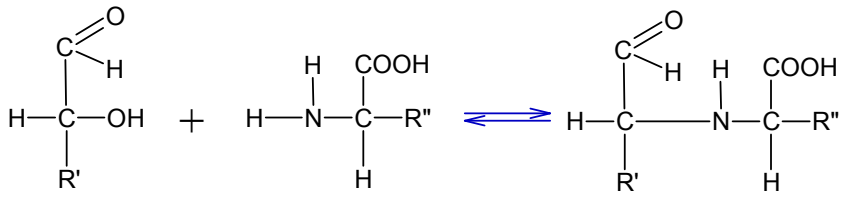
Phản ứng ngưng tụ cacbonylamin

Giai đoạn đầu tiên của sự tạo thành melanoidin là sự ngưng tụ đường với axit amin. Trong điều kiện nhiệt độ sinh lý thì tạo thành bazơ Schiff (hợp chất hữu cơ có nhóm -HC=N-) hoặc glycoside:



Glucose bazo schiff N-glucoside

Trong điều kiện sản xuất khi ở nhiệt độ cao, phản ứng được bắt đầu không phải từ N-glycoside mà từ sacaroamin (đường amin) theo sơ đồ:



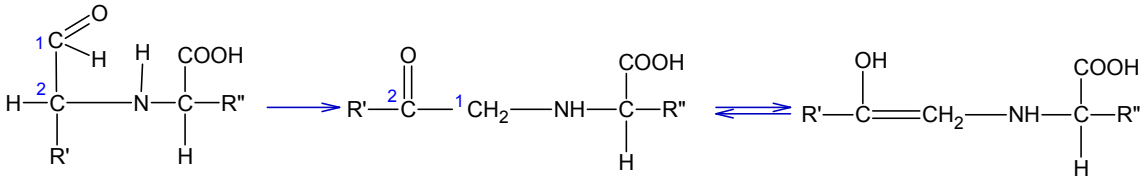
đường *hợp chất amin* *phức đường amin*

Phức đường amin được tạo thành không màu và không có tính chất nào cuả melanoidin cả.

Phản ứng này có thể tiến hành ở chỗ lạnh và qua một vài giờ thì đạt được cân bằng. Nhưng có thể tăng rất nhanh khi đun nóng hỗn hợp phản ứng.

Phản ứng chuyển vị Amadori

Khi ở nhiệt độ cao thì phức đường amin bị đồng phân hoá hay người ta còn gọi là bị chuyển vị nội phân Amadori. Kết quả là giữa nguyên tử cacbon thứ nhất và thứ hai phát sinh ra nối kép và tạo thành 1-amin-1dezoxy-2-ketose:



Phức đường amin *1-amin-1-desoxy-2-ketose* *dạng enol của 1-amin-1-desoxy-2-ketose*

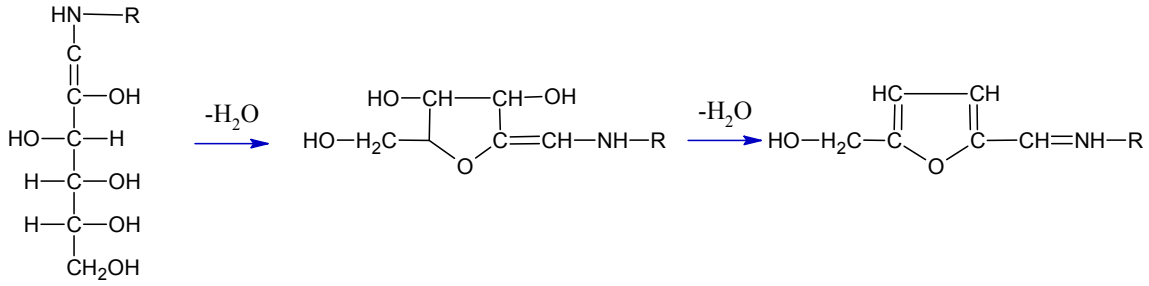
Phẩm vật cuả sự chuyển vị Amadori là hợpo chất có khả năng phản ứng và là chất khởi đầu để tạo thành polyme có màu sẫm gọi là melanoidin.

b) Giai đoạn trung gian cuả phản ứng melanoidin

Ở giai đoạn này xảy ra sự khử nước cuả 1-amin-1-desoxy-2-ketose tạo thành các sản phẩm phân ly khác nhau. Phụ thuộc vào điều kiện cuả môi trường và nhiệt độ mà giai đoạn trung gian có thể tiến hành bằng một vài con đường. Sự khử tạo thành furfurol hoặc hydroxymetylfurfurol là một trong những con đường khử nước cuả desoxyketose. Một con đườn gkhác là tạo thành reducton mạch hở. Con đường thức ba là phân huỷ hợp phần đường để tạo thành aldehyt, ãeton, diaxetyl. Con đường thứ tư là tạo thành ozon.

Tạo thành furfurol và ozon

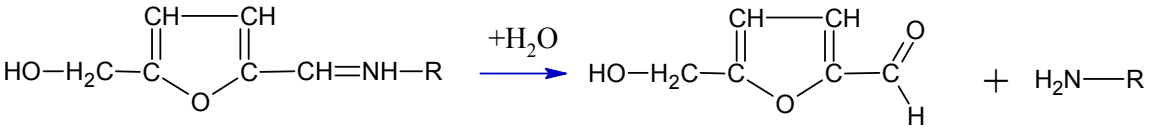
Nếu cấu tử đầu tiên cuả sự tạo thành melanoidin là glucose, thì sản phẩm chuyển vị Amadori khi đun nóng sẽ chuyển sang dạng furan và sau đó thành bazơ Schiff cuả hydroxymetylfurfurol:



1-amin-1-desoxy-2-ketose *bazơ shiff của hydroxymetyl furfurol*

Nếu đường khởi đầu không phải là hexose mà là pentose thì tạo thành bazơ Schiff cuả furfurol.

Sau này khi bị thuỷ phân, bazơ Schiff cuả hydroxymethylfurfurol hoặc cuả furfurol có thể bị phân huỷ để tạo thành hydroxymetylfurfurol hoặc furfurol và axit amin tự do theo sơ đồ:

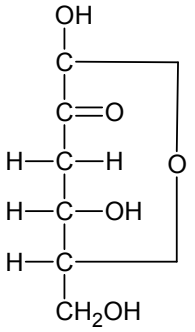


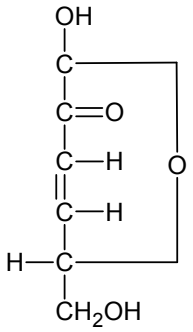
hydroxymetylfurfurol *axit amin*

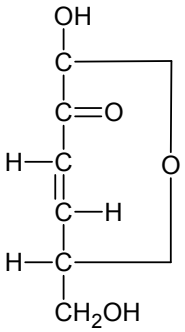
Đôi khi bazơ Schiff cuả hydroxymetylfurfurol và cuả furfurol cũng có thể ngưng tụ để tạo thành melanoidin chưa nitơ. Trong môi trường axit hoặc trung tính và ở nhiệt độ cao thì furfurol và các dẫn xuất cuả nó sẽ tạo thành trước tiên.

Một số tác giả đã tìm thấy một con đường khử nước khác cuả desoxyxetose. Ban đầu desoxyketose phản ứng với phân tử glucose để tạo thành difuranozamin.

Sau đó difuranozamin bị phân huỷ để tạo thành 3-dezoxyglucozon, cac ozon không no dạng cis và trans:







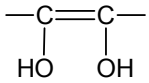
3-dezoxyglucozon *glucozon không no dạng cis* *glucozon không no dạng trans*

Hydroxymetylfurfurol cũng có thể được tạo thành. Các tác giả này cho rằng các sản phẩm vưà kể trên là những chất tiền thân cơ bản cuả các polyme có màu nâu sẫm.

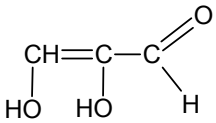
Tạo thành reducton có 6 cacbon

Các aminodezoxyketose được tạo thành khi chuyển vị Amadori, có thể bị khử đi hai phân tử H_2O để tạo thành các reducton có 6 cacbon.

Reducton là những hợp chất hữu cơ có tính chất chung là khử mạnh do có mặt nhóm endiol:

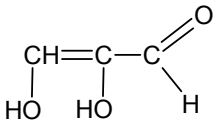


Theo thường lệ, nhóm endiol cuả reducton được liên kết với gốc aldehyt hoặc gốc axit. Ví dụ:

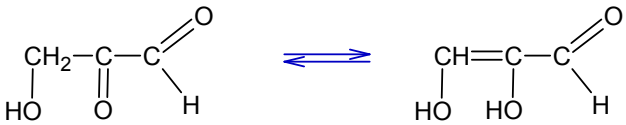


Do đó, những hợp chất này rất nhạy với phản ứng oxy hoá và khử.

Chẳng hạn, reducton đơn giản nhất là triozoreducton:



Chất này thực chất là enol cuả hydroxymetylglyoxal:

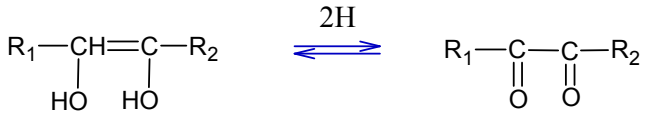


Hydroxymetylglyoxal *reducton hay là enolaldehyd*

của axit tartric

Sự tổ hợp cuả nhóm endiol với nhóm carbonyl làm cho các chất này có khả năng nhạy cảm đặc biệt với phản ứng oxy hóa và khử.

Khả năng phản ứng cuả reducton có thể dẫn đến sự khử hydro để chuyển nhóm endiol thành nhóm carbonyl



reducton *dehydroreducton*

Dĩ nhiên, reducton có thể dễ dàng kết hợp với oxy và chính đó là điều rất quan trọng cho sự bền vững cuảc cơvat.

Reducton không khử dung dịch Fehling lại dễ dàng khử iot và 2,6-diclophenolindophenol.

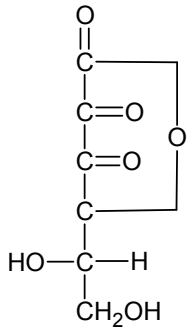
Axit dehydroascorbic có thể coi là một ví dụ cuả reducton có sáu cacbon.

Không phải chỉ riêng reducton mà cac dạng dehydro cuả chúng cũng tham gia vào việc tạo nên màu nâu.

Phân huỷ đường

Một trong những giai đoạn trung gian cuả phản ứng tạo melanoidin là sự phânhuỷ cấu tử đường cuẩn phẩm chuyển vị Amadori để tạo thành các phẩm vật khác nhauL triozoreducton, aldehyt pyruvic, axeton, axetoin, diaxetyl.

Một số chất tạo thành kh phân hủy đường có mfui vi và vị dễ chịu do đó quyết định chất lượng cuả sản phẩm.

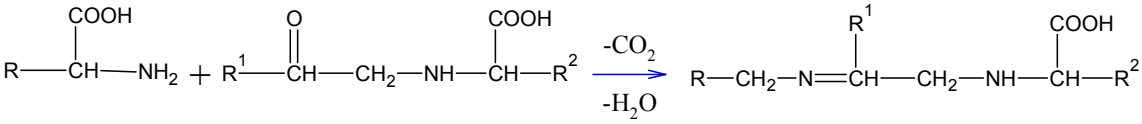


Axit dehydroascorbic

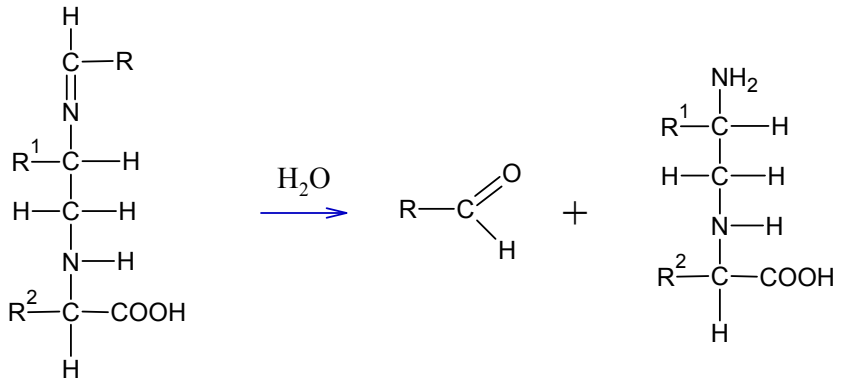
Phân huỷ các hợp chất amin

Trong quá trình tạo nên melanoidin thì CO_2, aldehyt và NH_3 là những phẩm vật cuả phản ứng khi ở nhiệt độ cao. Nguyên do cuả hiện tượng này là sự phân huỷ Strecker theo những hướng khác nhau:

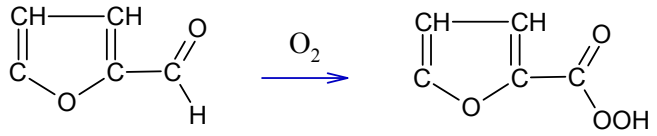
1/ Phẩm vật chuyển vị Amadori có thể kết hợp với axit amin để thoát ra CO_2 và H_2O:



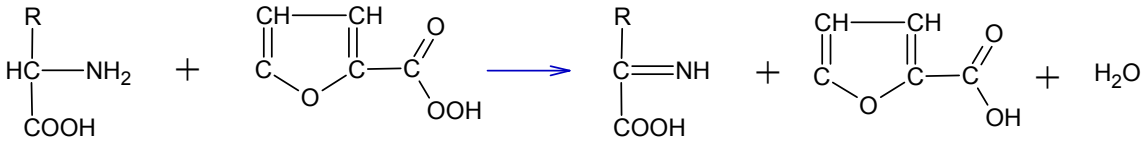
Bazơ Schiff được tạo thành bị phân ly thủy phân thành aldehyt và hợp chất amin. Chính hợp chất amin này sẽ cho các phẩm vật chưá ni tơ và có màu nâu sau này. Còn aldehyt được tạo thành trong phản ứng này, so với axit amin đã tham gia tương tác với aminodezoxyketose thì có ít hơn 1 cacbon.



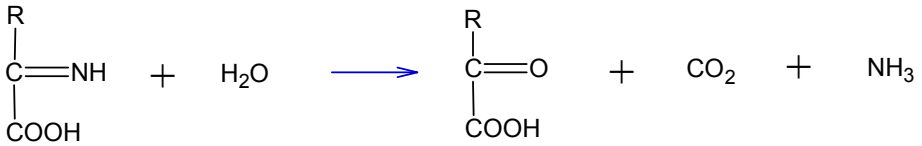
2/ Giưã furfurol hoặc hydroxymetylfurfurol và axit amin có thể xảy ra sự tương tác oxy hoá:



furfurol *axit furfurolic*



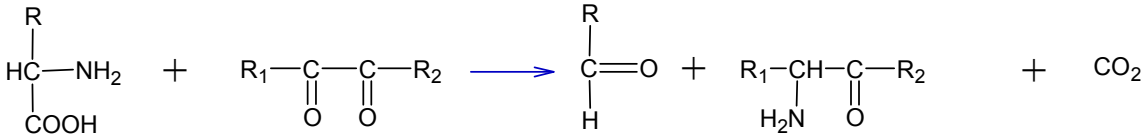
axit amin *axitimin* *axit furfurolic*



aldehyt

Kết quả là từ axit amin tạo thành aldehyt có ít hơn một nguyên tử cacbon.

3/ Aldehyt cũng có thể được tạo thành do kết quả cuả sự chuyển amin giưã axit amin với reducton



Giả sử, do sự chuyển amin mà dẫn đến hình thành nên aldehyt là phản ứng chủ yếu, thì rõ ràng là do kết quả cuả phản ứng đó mà ni tơ tham gia vào polyme màu nâu. Phần lớn CO_2 thoát ra trong quá trình tạo mela

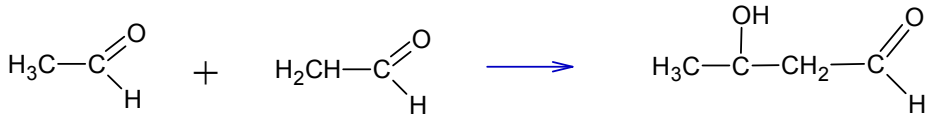
nều do axit amin bị phân hủy Strecker. Các aldehyt tạo thành đóng vai trò quan trọng trong việc hình thành hương vị cuả sản phẩm thực phẩm khi chế biến nhiệt.

c) Giai đoạn cuối cùng cuả phản ứng tạo melanoidin

Giai đoạn cuối cùng này bao gồm rất nhiều phản ứng phức tạp. Có thể chia thành hai kiểu phản ứng:

- Phản ứng ngưng tụ aldol với sự tạo thành polyme màu nâu không chưá nitơ;
- Phản ứng trùng hợp hoá aldehytamin với sự tạo thành các hơp chất nitưo dị vòng.

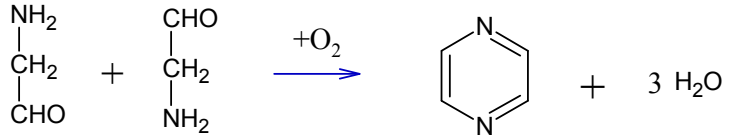
Sự ngưng tụ aldehyt axetic có thể cũng là ví dụ về sự ngưng tụ aldol:



aldehyt axetic *aldol*

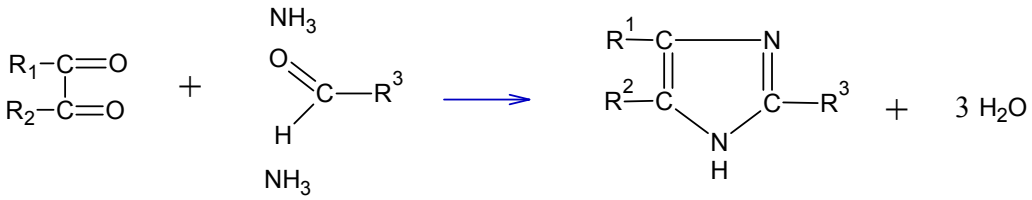
Khi đó nguyên tử hydro cuả nhóm metyl cuả một phân tử aldehyt này được liên kết với nguyên tử oxy cuả nhóm carbonyl cuả phân tử aldehyt thứ 2.

Sự trùng hơp hoá và oxy hoá đồng thời các aldehyt aminoaxetic dẫn đến tạo thành pyrazin.



Pyrazin có mùi dễ chịu nhưng yếu, hoà tan trong nước.

Khi trùng hợp hoá dehydroreducton với amoniac và aldehyt sẽ tạo thành hợp chất phức tạp có chưá vòng imidazol:



imidazol dẫn xuất

Ngoài những hợp chất đã kể, do kết quả cuả phản ứng ngưng tụ aldehyt, pyridin và pyrol cũng có thể được hình thành.

Sự ngưng tụ aldol chỉ tiến hành được khi caramen hoá dung dịch đường thuần khiết. Khi có mặt các hợp chất amin mặc dầu chỉ là vết cũng xảy ra đồng thời cả hai kiểu phản ứng.

Giai đoạn cuối cùng cuả phản ứng melanoidin sẽ tạo nên đầu tiên là các polyme không no hòa tan được trong nước, sau đến là các polyme không no và không hoà tan được trong nước, nhưng đều có màu đậm và có cùng tên gọi chung là melanoidin.

Các melanoidin hấp thụ mạnh tia cực tím (<220 nm), không khử được dung dịch Fehling, nhưng khử được iot và 2,6-diphenolindophenol. Khả năng hoà tan cuả melanoidin phụ thuộc vào nhiệt độ và phản ứng tiến hành.

Khi nhiệt độ cao thì quá trình xảy ra mãnh liệt hơn, nhưng melanoidin tạo thành có hương thơm kém hơn và ít hoà tan trong nước hơn. Các melanoidin không hoà tan về tính chất thì gần giống humin.

2.3.2 Điều kiện tiến hành cuả phản ứng melanoidin

a) Ảnh hưởng cuả axit amin và đường

Như đã thấy ở trên, cường độ sẫm màu cuả phản ứng phụ thuộc vào bản chất cuả axit amin, bản chất cuả đường, nồng độ chất khô nói chung trong dung dịch, nhiệt độ, pH và một loạt yếu tố khác.

Qua cơ chế phản ứng, ta thấy một trong những phản ứng cuả giai đoạn trung gian là tạo thành furfurol và oxymetylfurfurol có kèm theo sự tái tạo lại axit amin vốn đã tham gia tương tác với đường từ phản ứng đầu tiên. Như vậy, axit amin có thể xem như một chất xúc tác ở trong giai đoạn đầu. Mặt khác, melanoidin - sản phẩm cuối cùng cuả phản ứng lại là chất có chưá nitơ. Một phần axit amin tiêu tốn cho sự tân tạo aldehyt và thoát ra NH_3. NH_3 tương tác với đường và tạo ra melanoidin.

Các axit amin tham gia phản ứng khác nhau phụ thuộc vào nhiệt độ, pH và lượng nước. Cường độ phản ứng phụ thuộc vào loại axit amin.

Protein, peptit, amin, amon và một số chất chưá nitơ khác cũng có khả năng phản ứng với đường khử tạo thành chất có màu sẫm.

Cường độ cuả phản ứng melanoidin cũng phụ thuộc vào bản chất cuả đường khử và nồng độ đường. Glucose phản ứng mãnh liệt hơn cả, sau đến galactose và lactose. Tỷ lệ giữa axit amin và đường thích hợp nhất là 1/2 hoặc 1/3. Nói chung phản ứng có thể tiến hành ngay cả khi nồng độ axit amin không đáng kể và tỷ lệ axit amin/đường rất bé 1/40, thậm chí 1/300.

b) Ảnh hưởng cuả nước

Để phản ứng Maillard tiến hành cực đại thì xung quanh mỗi phân tử protein phải tạo nên lớp đơn phân glucose và lớp đơn phân nước. Như vậy, sự có mặt cuả

nước là điều kiện cần thiết để tiến hành phản ứng. Nồng độ chất tác dụng càng cao, lượng nước càng ít thì tạo thành melanoidin càng mạnh.

c) Ảnh hưởng cuả nhiệt độ và pH môi trường

Ở 0 ^oC và dưới 0 ^oC, phản ứng melanoidin không xảy ra. Cùng với sự tăng nhiệt độ, vận tốc phản ứng tăng lên rất mạnh mẽ. Ở các nhiệt độ khác nhau, các sản phẩm tạo thành cũng khác nhau. Người ta nhận thấy khi ở nhiệt độ từ 95-100 ^oC, phản ứng sẽ cho các sản phẩm có tính chất cảm quan tốt hơn cả. Khi nhiệt độ quá cao thì các melanoidin tạo được sẽ có vị đắng và mùi khét. Vì vậy trong sản xuất để thu được malt màu, người ta thường khống chế phản ứng melanoidin ở 160 ^oC (mặc dù lượng chất màu sẽ cực đại khi ở nhiệt độ 190 ^oC). Vì lẽ ở nhiệt độ trên 160 ^oC các melanoidin tạo thành sẽ không hoà tan trong nước, do đó làm giảm khả năng cho màu và độ trích ly cuả malt thu được.

Phản ứng Maillard có thể tiến hành trong một khoảng pH khá rộng, tuy nhiên trong moi trường kiềm phản ứng nahnh hơn. Trong khi môi trường axit (pH<3) quá trình tạo melanoidin thể hiện rất yếu và chủ yếu là sự phân hủy đường. Cùng với sự tăng nhiệt độ phản ứng sẽ được tăng nhanh ngay cả khi trong môi trường axit (pH=2).

d) Chất kìm hãm và chất tăng tốc phản ứng melanoidin

Phản ứng caramen hoá, oxy hoá và melanoidin là những phản ứng có ự tham gia cuả ác hợp chất carbonyl. Vì vậy chất kìm hãm là những chất phản ứng được với nhóm carbonyl như dimedon, hydroxyamin, bisulfit. Những chất này sẽ kết hợp với các chất khác nhau phát sinh ra ở trong giai đoạn trung gian, do đó làm ngừng các quá trình tiếp theo cuả phản ứng. Chẳng hạn dimedon kết hợp ;được vơi aldehyt nen có thể làm ngừng hẳn phản ứng tạo melanoidin. Khi sulfurơ, axit sulfurơ hoặc muối cuả nó (bisulfit cuả natri và kali) là những chất kfm hãm rât mạnh mẽ phản ứng tạo màu melanoidin. Tác dụng kìm hãm cuả axit sulfurơ có liên quan với các reducton:

Bằng cách đun nóng dung dịch glucose và sulfit ở 100 ^oC, người ta đã thu được hợp chất 3,4-didezoxy-4-sulfohexozon (III). Các dẫn xuất cuả axit sulfuric là những hợp chât rất bền vững, thậm chí bằng phương pháp thuỷ phân ngưòi ta vẫn không thể thu lại được SO_2 khi chưng cất. Do đó, các sản phẩm trung gian tương tự cuả phản ứng melanoidin đều không được chuyển hoá thành các hợp chất màu cuối cùng.

Ngoài ra, khi kết hợp nhóm rượu bậc 2 ở glucozon không no dạng trans, axit sulfurơ còn gạt bỏ khả năng vòng hoá sau này cuả glucozon (khi tương tác với amoniac).

Axit sulfurơ còn thể hiện tác dụng kháng khuẩn mạnh mẽ và là chất chống oxy hoá. Axit sulfurơ ổn định được axit ascorbic ở dạng hydroascorbic ở trong các sản phẩm. Người ta nhận thấy rằng, trong một số sản phẩm (nước chanh, nước nho, nước táo) khi lượng axit ascorbic bị giảm thì cường độ sẫm màu tăng lên, lượng axit amin và đường khử bị giảm xuống còn hàm lượng furfurol lại tăng lên. Có lẽ do tính khử cuả axit ascorbic và khả năng phản ứng cuả nó với các sản phẩm thực phẩm sẽ làm yếu sự tạo thành các melanoidin. Tuy chất kìm hãm axit ascorbic này làm tăng giá trị sinh học cuả sản phẩm, nhưng ý nghiã thực tiễn lại hạn chế, vì axit ascorbic cũng như những axit hữu cơ khác, khi phân huỷ sẽ cho hợp chất có màu sẫm. Ngoài ra, axit ascorbic là một reducton, nghiã là một sản phẩm trung gian cuả phản ứng melanoidin mà sau này sẽ tương tác với axit amin để tạo thành chất có màu sẫm.

Cần thấy rằng, trong các sản phẩm có màu đạm do antoxian truyền cho, thì dưới tác dụng cuả vitamin C, màu tự nhiên sẽ bị nhạt đi. Như vậy dùng axit ascorbic đểkìm hãm sự sẫm màu là không có giá trị vạn năng. Người ta chỉ có thể ứng dụng nó đối với từng sản phẩm cụ thể khi đã nghiên cứu kỹ thành phần hoá học cuả nó.

Chất kìm hãm phản ứng melanoidin tốt nhất là dimedon (dimetyldihydroreorxin). Nó có khả năng liên kết các furfurol và aldehyt do đó làm ngừng sự tạo thành melanoidin.

Dimedon trong những điều kiện nhất định có thể làm kết tuả hoàn toàn furfurol bằng cách tạo ra sản phẩm ngưng tụ (furfuroldimedon) (hai phân tử). Các chất oxy hoá ($KmnO_4$, H_2O_2, quinhydron) và các chất khử (H_2SO_3, natri hyposulfit, hydroquinon, hydro mới sinh) đều kìm hãm phản ứng tạo melanoidin nhưng với cường độ khác nhau:

Gần đây, người ta còn dùng este cuả axit pyrocacbonic làm chất kìm hãm phản ứng melanoidin. Este có cấu tạo như sau:

R_1 và R_2 có thể là gốc alkyl, aryl hoặc các gốc dị vòng (furfuryl).

Trong một số sản phẩm thực phẩm người ta còn dùng các anhydrit cacbonic cuả các α-hydroaxit như sau:

Về phương diện lý thuyết, hiệu quả kìm hãm cuả pyrocacbonat cũng như cuả anhydrit cacbonic thể hiện ở chỗ chúng tương tác với nhóm amin tự do. Do đó, axit amin trở nên không có khả năng phản ứng với nhóm cacbonyl cuả đường.

Các chất tăng tốc phản ứng melanoidin có axit lactic và phosphat. Muối cuả axit lactic làm tăng nhanh vận tốc phản ứng này rất mạnh. Dung dịch đệm phosphat

không những làm tăng nhanh vận tốc phản ứng giưã axit amin và glucose mà còn làm tăng phản ứng nâu hoá dung dịch glucose tinh khiết.

2.3.2.1Tính phổ biến cuả phản ứng Maillard

Như đã nêu ở trên, phản ứng giưã axit amin và đường xảy ra trong điều kiện rất dễ dàng, do đó phản ứng này rất phổ biến trong sản xuất và bảo quản các sản phẩm thực phẩm. Tuỳ thuộc vào yêu cầu về tính chất cảm quan cuả từng sản phẩm mà người ta hoặc tạo điều kiện để tăng cường phản ứng đén tối đa hoặc kìm hãm phản ứng đén mức tối thiểu.

Một tỏng những quá trình để tạo điều kiện phản ứng này phát triển tối đa là sản xuất bánh mì. Màu sắc cuả vỏ bánh mì hầu như do phản ứng này quyết định. Vì vậy những biện pháp kỹ thuật tương ứng trong quy trình sản xuất lên men để tạo axit amin tự do, đường khử, điều chỉnh nhiệt độ tỏng giai đoạn nướng đều nhằm mục đích đó.

Trong sản xuất bia (và cơvat) màu sắc và hương vị cuả bia phần lớn do malt quyết định. Các biện pháp kỹ thuật tỏng sản xuất malt đề nhằm điều hoà phản ứng melanoidin. Để thu được malt vàng, người ta chomọc mầm trong một thời gian ngắn, làm mất nước nhanh để thu được lượng axit amin và ít đường làm khó khăn cho phản ứng carbonylamin. Theo Manxev, do thuỷ phân axit amin và protein mà tích tụ những hợp chất có khả năng tạo thành chất thơm. Malt sáy ở nhiệt độ thấp quá sẽ ảnh huworng xấu đén vị cuả bi, còn khi sấy ở nhiệt quá cao, bia sẽ có vị khét. Vì vậy, khi sản xuất bia vàng cần phải kiểm tra sự tạo thành melanoidin và hạn chế thời gian đun sôi dung dịch lên men.

Trái lại trong sản xuất rượu người ta tìm cách kìm hãm phản ứng Maillard một cách triệt để. Vì phản ứng sẽ gây tổn thát tinh bột và đường, đồn gthời melanoidin tạo thành có tác dụng kìm hãm hoạt đọng cuả enzym.

Trong sản xuất thuốc lá, quá trình sấy, trước khi lên men và lên men cũng do phản ứng Maillard quyết định. Việc làm giảm độ ẩm cuả môi trường sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho phản ứng đó và tăng cường màu sẫm. Nguyên nhân cơ bản cuả sự tự ẩm hoá thuốc lá là phản ứng melanoidin có kèm theo thoát nước. Khi tỷ lệ giưã axit amin và đường bằng 1/2 thì lượng ẩm thoát ra là cực đại và lượng chất khô là cực tiểu. Thay đổi tỷ lệ này sẽ có ảnh hưởng nhanh chóng đến lượng nước thoát ra trong phản ứng.

Trong sản xuất đường, khi cô đặc, đường bị sẫm màu cũng là do phản ứng melanoidin. Phản ứng melanoidin còn có ảnh hưởng lớn đến việc chế biến rau quả cũng như bảo quản chúng. Người ta đã thấy rằng do phản ứng giưã đường nghịch đảo và axit amin hoặc muối amon mà tất cả sirô và nước quả cô đặc đều bị sẫm màu khi bảo quản, nhất là ở nhiệt độ cao. Trong đồ hộp quả và rau, người ta có khuynh hướng bảo vệ màu tự nhiên và hương thơm cuả chúng. Phản ứng Maillard luôn luôn

làm xấu đi không những tính chất cảm quan mà cả giá trị thực phẩm cuả sản phẩm nưã.

Tóm lại, phản ứng melanoidin rất phổ biến trong mọi sản phẩm thực phẩm có liên quan với gia nhiệt và thời gian bảo quản dài.

2.3.3 Sự tạo thành các chất màu do phản ứng oxy hoá polyphenol

Bên cạnh phản ứng melanoidin, còn có phản ứng tạo màu do oxy hoá các polyphenol có enzym và không enzym tham dự. Người ta cũng gọi là phản ứng sẫm màu do enzym.

2.3.3.1 Các cơ chất phenol

Hợp chất phenol là những chất mà phân tử có chứa vòng benzen, trong đó có một, hai hoặc nhiều hơn hai nhóm hydroxyl. Dựa vào đặc trưng cuả bộ xương cacbon, các hợp chất phenol tự nhiên có thể chia ra làm ba nhóm chính:

- nhóm hợp chất phenol C_6-C_1 (axit galic)
- nhóm hợp chất phenol C_6-C_3 (axit cafeic)
- nhóm hợp chất phenol C_6-C_3-C_6 (catechin và flavonoit)

Khả năng phản ứng tạo màu mạnh hay yếu phụ thuộc vào cấu trúc cuả phenol cũng như vào nguồn enzym xúc tác phản ứng oxy hoá này. Chẳng hạn, các metadiphenol thường là những cơ chất xấu.

Các cơ chất phenol chủ yếu cuả phản ứng tạo màu do enzym xúc tác như sau:

1/ Pyrocatechol và các dẫn xuất (ngoại trừ gaiacol hay o-metoxyphenol)

2/ 3,4-dihydroxyphenylalanin (DOPA)

3/ 3,4-dihydroxyphenyletylamin hay dopamin

là chất chính làm cho chuối bị sẫm màu.

4/ Axit galic

là axit có nhân thơm, khi bị oxy hoá thì cho màu đỏ sẫm, hoà tan được trong nước.

5/ Axit clorogenic, có trong táo, khoai tây và lê, là chất có khả năng tạo ra chất màu xanh đen khi phản ứng với sắt trong quá trình nấu khoai tây.

Khi giảm pH xuống nhỏ hơn 4 hoặc dùng các tác nhân tạo phức được với Fe như phosphat hoặc axit etylendiamintetraaxetic (EDTA, trong điều kiện cho phép) thì có thể tránh được phản ứng tạo màu này.

6/ Các flavonoit, trong đó có antoxian, flavon và flavanol là những hợp chất nguyên thuỷ đã có màu.

Catechin và leucoantoxianidol là những hợp chất không màu, dễ dàng bị oxy hoá (nhất là khi gia nhiệt trong môi trường axit), mất nước để chuyển thành những sản phẩm (antoxianidol) có màu khác nhau.

Catechin hay catechol là tên gọi chung cho các phenol có dạng flavanol-3

Quan trọng nhất trong nhóm này có catechin và galocatechin chứa nhiều trong lá chè:

- Catechin (3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavan)

- Galocatechin (3,5,7,3',4',5'-hexahydroxyflavan)

Trong phân tử catechin và galocatechin có hai nguyên tử cacbon bất đối xứng ở vị trí C_2 và C_3 do đó tạo ra nhiều đồng phân quang học (24 đồng phân).

7/ Tanin không những là cơ chất cuả phản ứng sẫm màu do enzym xúc tác mà còn góp phần tạo ra kết cấu và tạo vị cho các tổ chức thực vật. Người ta thường phân biệt hai nhóm tanin: tanin thuỷ phân và tanin ngưng tụ:

- Tanin thuỷ phân (tanin pyrogalic) là este cuả đường glucose với các axit polyphenolic khác nhau (axit galic, axit digalic, axit egalic, axit luteic). Este cuả glucose với axit galic là galotanin, cuả glucose với axit egalic là egalotanin. Dưới tác dụng cuả axit, kiềm hoặc enzym chúng bị thuỷ phân thành các chất ban đầu.

Chẳng hạn như tanin Trung Quốc là β-pentadigaloylglucose.

Tanin có tính chất thuộc da là hợp chất có khối lượng phân tử từ 500-3000, là este cuả axit digalic và glucose.

- Tanin ngưng tụ (hay tanin catechic) là hợp chất do các catechin ngưng tụ với nhau theo kiểu "đầu nối đuôi" ($C_{6'}$-C_8 với catechin) hoặc kiểu "đuôi nối đuôi" ($C_{6'}$-$C_{6'}$, với galocatechin) hoặc kiểu "đầu nối đầu" (C_4-C_8 với flavandiol -3,4) tạo thành. Tan nin ngưng tụ không bị phân giải bởi axit vô cơ cũng như bởi enzym.

2.3.3.2 Tính chất chung cuả các hợp chất polyphenol

a) Phản ứng oxy hoá khử

Dưới tác dụng cuả enzym polyphenoloxydase, cac polyphenol bị oxy hoá để tạo thành các quinon, Sơ đồ phản ứng như hình bên.

Bản thân các ortoquinon cũng là những chât oxyhoas. Nếu có các chất khử khác như vitamin C, glucose, chúng sẽ ngưng tụ với nhau và sẽ oxy hoá các chất đó theo sơ đồ sau:

b) Phản ứng cộng

Khi có mặt các axit amin thì các ortoquinon được tạo thành sẽ tiến hành phản ứng cộng hợp với axit main:

Các sản phẩm được tạo thành cuả phản ứng cộng lại có thể bị oxy hoá để tạo nên các ortoquinon tương ứng.

c) Phản ứng ngưng tụ

Các ortoquinon cũng dễ dàng ngưng tụ với nhau để tạo nên các sản phẩm có màu gọi chung là flobafen

Polyphenol + O_2 ortoquinon (1)

Ortoquinon + glucose → polyphenol + CO_2 + H_2O (2)

n (ortoquinon) → flobafen (3)

Trong điều kiện hô hấp bình thường thì phản ứng (1) và (2) chiếm ưu thế. Trái lại, trong điều kiện sản xuất thì phản ứng (1) và (3) chiếm ưu thế.

2.3.3.3 Chức năng cuả các polyphenol

Các polyphenol có tác dụng ức chế nấm. Người ta thường dùng phenol (axit cacbovic) làm chát khử trùng cũng với ý nghiã đó. Thực ra bình thường ở trong thực vật, tác dụng đó thể hiện tương đối yếu, nhưng sẽ tăng lênmột cách mạnh mẽ trong quá trình polyphenol bị oxy hoá bởi enzym. Thậm chí, một số polyphenol với một nồng độ nhất định có tác dụng kích thích sự phát triển cuả ký sinh trùng, còn tác dụng kìm hãm chỉ thể hiện ra trong quá trình oxy hoá chúng bởi enzym. Tuy nhiên, đóng vai trò quan trọng trong hiện tượng miễn dịch thực vật này không phải chỉ một mình polyphenol mà là hệ polyphenol-polyphenoloxydase. Người ta đã chứng minh rằng trong nhiều cây bị dập cơ học hay bị nhiễm trùng thì hàm lượng polyphenol và hoạt độ polyphenoloxydase đều tăng lên. Ở chổ mô bị dập nát bắt đầu tạo thành hợp chất polyphenol mới và kèm theo sự ngưng tụ oxy hoá trong lớp bề mặt. Sản phẩm ngưng tụ tạo thành lớp bảo vệ.

Nhiều polyphenol có hoạt tính sinh tố P, nghiã là có khả năng làm tăng độ đàn hồi và chuẩn hoá tính thấm cuả vi ti huyết quản. Trong số đó, catechin có hoạt

tính vitamin P cao hơn cả. Cần chú ý rằng, tất cả flavonoit có hoạt tính sinh học đều bắt buộc phải có hai nhóm ortohydroxyl , trong đó hydro cuả một nhóm có thể được thay thế bằng gốc bất kỳ. Vòng chính là florogluxin, vòng phụ là pyrocatechic.

Polyphenol là những chất chuyển hydro (electron) trong chuỗi hô hấp bình thường định cự ở ty thể. Ubichinon (coenzym Q) là một trong những chất này. Nhiều polyphenol là những chất chống oxyhoá, do đó chúng có ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm để làm bền chất béo. Hoạt tính chống oxy hoá cuả chúng có thể do:

- phenol tạo phức bền vững với các kim loại nặng, do đó làm mất tác dụng xúc tác cuả chúng.

- phenol là chất nhận các gốc tự do tức là có khả năng dập tắt các quá trình tạo ra gốc tự do.

7.3.3.4 Enzym xúc tác phản ứng oxy hoá phenol

Phản ứng tạo màu do enzym thưường gồm các giai đoạn sau:

Sự hydroxyl hoá các monophenol và oxy hóa các diphenol là hai "tác động" khác nhau và tách biệt nhau. Tuy nhiên đôi khi cùng một enzym cũng có thể xúc tác cả hai phản ứng. Nói chung, các enzym có nguồn gốc khác nhau sẽ có tỷ số hoạt lượng hydroxyl hoạt hoá lượng oxy hoá cũng như hàm lượng Cu^{+} và Cu^{2+} khác nhau.

Enzym xúc tác giai đoạn đầu có tên là monophenolase hoặc creosolase, còn enzym xúc tác giai đoạn hai có tên là polyphenolase hoặc catecholase. Tên gọi hệ thống cuả enzym đảm trách giai đoạn oxy hoá là orthodiphenoloxy oxydoreductase (E.C.1.10.3.1). Ở đây oxy phân tử đóng vai trò chất tiếp nhận hydro.

Polyphenoloxydase là metaloenzym có chưá khoảng 0,2% Cu ở tỏng phân tử. Chẳng hạn như polyphenoloxydase ở lá chè có khối lượng phân tử bằng 144 000 Da và có tới 7 mol đồng/mol.

Phương trình phản ứng oxy hoá các diphenol với polyphenol oxydase có thể như sau:

Ta thấy phương (7.1) tạo ra polyphenol oxydase ở dạng khử (chưá Cu^{+}) do đó có thể đưa tác động hydroxyl hoá monophenol vào phương trình tổng để cho đầy đủ hơn:

Như vậy, theo (7.4), chính diphenol có tác dụng xúc tác sự hydrõyl hoá các monophenol.

Các quinon tạo ra do hậu quả tác dụng cuả polyphenoloxydase cũng có thể oxy hoá các chất có thế oxy hoá khử bé hơn quinon:

Các chất như vitamin C, $NADH_2$, glutation dạng khử, xistein, cac antoxianidol...có thể khử các quinon thành diphenol.

Như vậy, polyphenol oxydase có thể oxy hoá được nhiều cơ chất khác nhau:

Do đó, về mặt này polyphenol oxydase cũng có vai trò tương tự như enzym xitocromooxydase (cũng chưá Cu) ở cuối chuỗi hô hấp.

7.3.3.5 Cơ chế chung cuả phản ứng tạo màu do enzym

Các chát màu được tạo thành do phản ứng kểu này thưường có tên gọi chung là melanin. Thực ra thuật ngữ melanin là phỏng theo tên gọi cuả một sản phẩm có màu do sự oxy hoá tyrozin bởi enzym tạo ra. Các chất màu cuả phản ứng sẫm màu enzym còn có tên nưã là flobafen.

Nói chung sản phẩm cuối cùng, thường có màu nâu, màu đen hoặc các gam màu trung gian như: hồng, đỏ, nâu, xanh đen, v.v.Phản ứng tạo thành các chất màu được bắt đầu từ quinon và không có enzym tham gia.

Đầu tiên quinon phản ứng với nước tạo ra trihydroxybenzen, tiếp đó các trihydroxybenzen lại phản ứng với các quinon khác để hình thành ra các hydroxyquinon và cuối cùng chính các hydroxyquinon này lại là nơi để ngưng tụ oxy hoá (ở giai đoạn này còn tiêu thụ oxy) dẫn đến tạo thành các polyme theo sơ đồ ở trên.

- Các quinon cũng có thể tác dụng với nhóm SH và NH_2 cuả protein, axit amin và amin theo cơ chế sau:

Quinonimin là phức giưã quinon và axit amin thường có màu nâu đỏ. Khi tạo thành phức này, axit amin kết hợp với cacbon ở vị trí para cuả một trong hai nhóm quinon. Nếu cả hai vị trí para caủ các nhóm quinon đều bị thay thế thì axit amin sẽ không kết hợp vào và phức quinon sẽ không được tạo thành. Nhiều thí nghiệm đã chứng tỏ màu đỏ được tạo thành một cách mạnh mẽ chỉ khi hợp chất nitơ tham gia vào phức có chưá nhóm amin bật hai (prolin). Nếu hợp chất có nhóm amin bậc 1 thì phức tạo thành có màu đỏ da cam, ít đậm hơn.

- Phức giưã quinon và polypeptit hoặc protein thì có màu nâu. Chất màu nâu được tạo thành trong lá thuốc khi sấy khô trong không khí là một phức thuộc kiểu này.

- Phức quinoimin không những có tác dụng tạo màu mà còn có tác dụng oxy hoá lượng axit amin thừa (không có enzym) tham gia, phân ly nó đến amoniac và α-xetoaxit hoặc aldehyt tương ứng theo sơ đồ sau:

7.3.3.7 Một số biện pháp phòng ngừa phản ứng sẫm màu do enzym xúc tác

Phản ứng sẫm màu do enzym xúc tác là phản ứng rất thường xảy ra trong quá trình ché bién các sản phẩm thưục phẩm có nguồn gốc thực vaajt như rau quả, cac sản phẩm dodò hộp rau quả, các sản phẩm chè, thuóc lá,v.v. CÓ nhiề unhân tố ảnh hưởng đén pahrnứng này như các nhân tố sau:

- nồng độ cơ chất phenol;
- hàm lượng và trjang thái cuả polyphenoloxydase
- nồng độ oxy;
- nồng độ quinon;
- pH v.v.

Trong thực tế để ngăng ngưà phản ứng ngưòi ta thưuòng ahy dùng nhưũn gbiện pháp kỹ thuật tương ứng sau:

- Tránh đụng dập gây tổn hại các mô, đê renzym không có điều kiện tiếp xúc với cơ chất tạo màu;

- Vô hoạt enzym polyphenol oxydase bằng nhiệt (chần, thanh trùng) rất có hiệu quả, nhưng có thể làm thay đổi tính chất cảm quan cuả sản phẩm do đó không thể áp dụng cho mọi trường hợp;

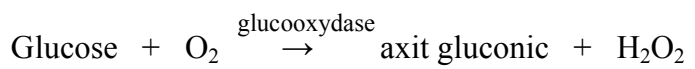
- Thêm các phụ gia có tính khử đẻ chuyẻn hoá qui non tahfnh phenol, do đó cũng làm chậm hoặc ngăng cản sự sẫm màu. Người ta hay dùng vitamin C cho vao các nước quả và các sản phẩm quả, cắt lát cũng với mục đíhc đó. Khi liều lượng vitamin C cao (có thể từ 0,5-1% so với khối lượng sản phẩm) enzym polyphenol oxydase có thể bị vô hoạt hoàn toàn trước khi lượng vitamin này biến hết trong môi trường;

- Nhúng ngập quả sau khi cắt lát hoặc sau khi gọt vỏ vaò trong dung dicjh nước muói njhat, dung dịch saccharose hoặc dung dịch glucose để hạn ché oxy xâm nhập vào quả cũng như đã ngăn cản quả hấp thụ oxy. Khi đường xâm nhập vào mô còng có tác dunng làm quả chắc lại do tăng áp suất thẩm thấu. Nói chung các quả để ở lạnh đông thường được bao bằn gsi rô (có thể dùng một phần si rô có nồn gđọ 30 -

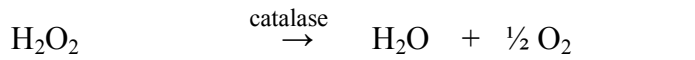
50% saccharose cho 3-7 phần quả). Trong trường hợp này, đường vưà có tác dụng như một chất bảo vệ lanh vưà chất giữ hương thơm cho quả.

- Dùng axit xitric làm giảm pH để làm chậm phản ứng sẫm màu;

- Lấy oxy trong các mô cuả quả bằng chân khôg haợc bằng các chất có khả năng sư rudjng oxy như axit ascorbic, hoặc như enzym glucooxydase và catalase:



$$\text{Glucose} + O_2 \xrightarrow{\text{glucooxydase}} \text{axit gluconic} + H_2O_2$$



$$H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} H_2O + \tfrac{1}{2} O_2$$

Tuy nhiên cần tránh làm yếm khí các mô thực vật để đảm bảo hoạt động sinh lý bình thường cho chúng. Cần chú ý là việc khử oxy phải đi kèm ngay với xử lý bảo quản và phải bao gói bằng bao bì không thấm oxy.

- SO_2 và bisulfit cũng có tác dụng ức chế phản ứng sẫm màu do enzym xúc tác. Hợp chất này chẳng những có tác dụng sát trùng (nhưng không phải với liều lượng dùng để chống phản ứng sẫm màu) mà còn có khả năng liên kết với các nhóm carbonyl cuả các đường cũng như phản ứng với các quinon. Nhưng có thể SO_2 tác dụng trực tiếp đến polyphenol oxydase. Người ta còn nhận thấy rằng axit ascorbic và tiamin có thể làm giảm liều lượng bisulfit. SO_2 còn có tác dụng bảo vệ màu sắc tự nhiên cho quả, đặc biệt là quả sấy (chuối sấy).

Trong thực tế, với những quả nhằm bảo quản lạnh đông, thì đầu tiên người ta nhúng (ngâm) 45 giây trong dung dịch $NaHSO_3$ 0,25%, tiếp đó ngâm 5 phút trong một dung dịch K_2HPO_4 0,2%. Chính K_2HPO_4 là tác nhân làm giảm khả năng phản ứng cuả polyphenol.

2.3.1 MỘT SỐ CHẤT MÀU TỰ NHIÊN VÀ TỔNG HỢP DÙNG TRONG THỰC PHẨM

Trong thực tế, người ta có thể dùng các chất màu tự nhiên hoặc tổng hợp để tạo màu cho các thực phẩm để làm tăng giá trị cảm quan cuả chúng. Các chất màu đỏ và màu vàng thường được sử dụng nhiều hơn. Carotenoit là nhóm chất màu tự nhiên được sử dụng nhiều nhất.

Cấu trúc và cách sử dụng cuả một số các chất màu tự nhiên và tổng hợp quan trọng trong thực phẩm được trình bày ở bảng 7.2:

CHƯƠNG III: CÁC CHẤT THƠM

3.1 Ý NGHĨA CỦA CÁC CHẤT THƠM TRONG SẢN XUẤT THỰC PHẨM

Cũng như màu sắc, hương thơm là một tính chát cảm quan quan trọng của thực phẩm, vì chúng có những tác dụng sinh lý rất rõ rệt. Chất thơm có ảnh hưởng đến hệ tuần hoàn, đến nhịp đạp cuả tim, đến hô hấp, đến nhịp thở, đến sự tiêu hoá, đến thính giác, thị giác và cả xúc giác nữa. Vì vậy trong sản xuất thực phẩm, người ta tìm mọi biện pháp kỹ thuật để bảo vệ những chất thơm tự nhiên, mặt khác người ta còn tìm cách để điều khiển các phản ứng tạo ra những hương thơm mới.

Thông thường, người ta thực hiện một trong ba biện pháp sau để tạo cho sản phẩm có hương thơm:

- Chất thơm vốn dễ bay hơi và thường không bền; vì vậy người ta dùng các biện pháp kỹ thuật và thiết bị phức tạp để thu hồi cac chất thơm đã bi tác ra khỏi sản phẩm trong quá trình gia nhiệt (đun hoặc cô đặc), tạo điều kiện giữ chúng lại, hấp thụ trở lại vào thành phẩm các chất thơm tự nhiên vốn có trong nguyên liệu ban đầu;

- Chưng cất và cô đặc các chất thơm tự nhiên từ các nguồn giàu chất thơm, sau đó dùng các chất thơm này để cho vào các sản phẩm thực phẩm khác nhau;

- Tổng hợp các chất thơm nhân tạo có mùi thích ứng để cho vào các sản phẩm thực phẩm.

3.2 Vài nét về mùi

Trong hơn hai triệu chất hữu cơ, thì 400.000 chất có mùi nhiều hoặc ít. Đa số chất thơm có mùi đặc trưng riêng cuả mình. Mùi cuả chúng do những nhóm nguyên tử đặc biệt gọi là nhóm mang mùi quyết định. Tuy nhiên nếu tăng số nhóm mang mùi tỏng một phân tử lên thì không làm tăng mùi mà lại làm yếu mùi và đôi khi còn làm tắt mùi hoàn toàn.

Những nhóm mang mùi cơ bản thường là nguyên tử O, S, N, P, As, Se. Các nhóm mang mùi hữu cơ là:

≡C-OH;

Có thể tăng mạnh haợc làm yếu mùi này bằng một mùi khác, hoặc cho mùi mới mà đôi khi không giống và hoàn toàn bất ngờ. Chẳng hạn, mùi xạ hương cuả trinitrobutyltoluen hoàn toàn mât đi khi thêm vào một lượwng nhỏ quinin sulfat là chất vốn không có mùi.

Mùi cuả cao su, iot, long não và gỗ bá hương khi phối hợp sẽ triệt tiêu lẫn nhau hoàn toàn. Mùi cuả vani để trong lạnh sẽ mất hoàn toàn qua một vài phút, nhưng nếu thêm một ít cumarin thì hương cuả vani sẽ cảm thấy được rất lâu.

Các chất rất giống nhau về cấu tạo và tính chất có thể có mùi khác nhau. Chẳng hạn, công thức cuả hai chất họ hàng eugenol và dihydroxyeugenol chỉ khác nhau ở mạch bên.

Nhưng eugenol là thành phần chủ yếu cuả dầu đinh hương và có mùi đinh hương mạnh, còn dihydroxyeugenol lại hầu như không có mùi.

Vanilin và izovanilin chỉ khác nhau ở vị trí cuả nhóm thế. Nhưng vanilin là hương liệu nổi tiếng nhất có mùi dễ chịu, còn izovanilin chỉ bắt đầu có mùi khi đun sôi.

Ngược lại, các chất hoàn toàn khác nhau có thể có mùi giống nhau. Chẳng hạn, công thức cuả xạ hương và các chất thay thế nó không giống nhau nhưng lại cho mùi giống nhau.

Đôi khi mùi còn phụ thuộc vào nồng độ cuả chất trong không khí. Chẳng hạn, mùi cuả ionon đậm đặc giống bá hương, nhưng khi ở trạng thái loãng thì ionon lại có mùi cây hoa tím.

Cần thấy rằng, nhiều hiện tượng liên quan đến mùi không thể giải thích được một cách chắc chắn, vì chưa có một quan niệm đầy đủ về khứu giác làm việc như thế nào và tại sao một chất nào đó lại có mùi.

3.2.1 Thuyết hoá học về mùi

3.2.2 Thuyết lý học về mùi

3.3 Các chất mùi tự nhiên

3.3.1 Tinh dầu và nhựa

Các chất mùi thường gặp trong tự nhiên là tinh dầu và nhựa. Tinh dầu và nhựa thuộc nhóm hợp chất izoprenoit, nghiã là những hợp chất được coi như là dẫn xuất cuả izopren. Nhóm hợp chất izoprenoit bao gồm rất nhiều chất: ngoài tinh dầu và nhựa, còn có steroit, carotenoit và cao su. Các chất thuộc nhóm izoprenoit có đặc tính chung là không hoà tan trong nước mà hoà tan trong các dung môi hữu cơ.

Tinh dầu và nhựa được tạo thành và thoát ra trong các cơ quan đặc biệt cuả cây: trong lông tuyến và vẩy đối với tinh dầu và trong ống nhựa đối với nhựa. Tinh dầu và nhựa có hương thơm nhất định quyết định mùi cuả nhiều cây, cuả hoa và quả.

Về bản chất hoá học, tinh dầu (và nhựa) thường là một hỗn hợp cac chức khác nhau: hydrocacbon, rượu, phenol, aldehyt, xeton, axit, este...Tuy nhiên quan trọng và thường gặp hơn cả trong hợp phần tinh dầu là terpen và các dẫn xuất chưá

oxy cuả terpen.

Terpen là hydrocacbon mạch thẳng hoặc vòng có công thức chung là $(C_{10}H_{16})_n$.

n=1 ta có monoterpen

n=1,5 ta có sesquiterpen

n=2 ta có diterpen

n=3 ta có triterpen

n=4 ta có tetraterpen

Các dẫn xuất chứa oxy cuả terpen thường là rượu, aldehyt, xeton v.v...

3.3.1.1 Monoterpen

Các monoterpen thẳng tiêu biểu là myrcen, oxymen và các dẫn xuất chưá oxy cuả chúng là linalol, geraniol, xitronelol, xitronelal và xitral.

Myrcen có trong một loạt tinh dầu. Trong tinh dầu cuả hoa huplông có 30-50% myrcen.

Linalol, geraniol và xitronelol đều là rượu:

Linalol có trong hoa lan chuông, trong quít và trong cây mùi. Linalol được dùng trong hương phẩm, dưới nguyên dạng hay dưới dạng este axetat. Người ta cho rằng hương thơm cuả đào là do các este khác nhau cuả formiat, valerianat cuả linalol quyết định.

Geraniol gặp trong tự nhiên ở trạng thái tự do cũng như ở dưới dạng este. Geraniol có trong tinh dầu khuynh diệp và cùng với xitronelol là thành phần chủ yếu cuả tinh dầu hoa hồng.

Xitronelol có trong tinh dầu hoa hồng, phong lữ và các tinh dầu khác. Xitronelol có mùi hoa hồng.

Xitral có chứa trong tinh dầu họ cam quýt và tỏng các tinh dầu khác. Xitral tương tác với axeton tạo thành ionon là hợp chất vòng có trong thành phần cuả phân tử caroten. Ionon và đồng phân cuả nó là iron có ứng dụng rộng rãi trong công nghiệp hương phẩm. Xitral là hỗn hợp cuả hai đồng phân hình học: dạng cis gọi là dạng a và dạng trans hay là dạng b.

Xitronelal gặp trong tự nhiên dưới dạng hai đối quang.

Monoterpen đơn vòng phổ biến và quan trọng hơn cả là limonen và các dẫn xuất chưá oxy cuả nó là menton, piperitenon, piperiton và carvon, v.v...

Limonen có trong nhựa, thông, trong tinh dầu cam, chanh và thì là:

Piperitenon, piperiton, pulegon, menton và mentol hợp thành nhóm menton có trong tinh dầu bạc hà.

Piperitenon là chất không hoạt quang do không có tâm bất đối xứng. Menton có hai tâm bất đối xứng và mentol có 3 tâm bất đối. Mối liên quan tương hỗ về cơ cấu giữa limonen và cac dẫn xuất chứa oxy cuả nó có thể biểu diễn bằng sơ đồ như hình bên:

Trong số các monoterpen hai vòng có pinen và camphen chưá trong tinh dầu chanh và dẫn xuất oxy cuả chúng là borneol và camphor.

Phân tử pinen là tổ hợp vòng sáu cạnh và bốn cạnh gồm hai đồng phân α- và β-pinen. Pinen là hơp phần cuả nhiều tinh dầu và là cấu tử chủ yếu cuả dầu thông. Nó cho dầu thông mfui đạc trưng, dễ dàng bọ oxy hóa trong không khí chuyển thành sản phẩm dạng nhựa.

Camphen có cấu tạo đối xứng và gồm hai vòng năm cạnh. Camphen có chứa trong tinh dầu chanh, tinh dầu loại lavăng, tinh dầu họ hoa trắc bách, tinh dầu linh sam và trong nhiều tinh dầu khác.

Borneol là rượu bậc 2 có chứa trong tinh dầu long não, lavăng, họ *Rosmarinus*. Borneol ở thể rắn. Khi oxy hoá borneol thì tạo thành camphor. Camphor có trong tinh dầu cuả nhiều thảo mộc.

Cũng như borneol, camphor ở thể rắn. Camphor có trong gỗ và lá cây long não. Camphor được ứng dụng rộng rãi trong y học làm chất kích thích hoạt động cuả tim. Trong công nghiệp hoá học, camphor dùng để chế tạo xenluloit và thuốc nổ không khói.

3.3.1.2 Sesquiterpen

Sesquiterpen có thẻ xem như hợp chất do ba đơn vị izopren tạo nên, có công thức chung là $C_{15}H_{24}$. Sesquiterpen cũng chia ra mạch thẳng và mạch vòng. Đa số sesquiterpen là hợp chất đơn vòng hoặc đa vòng. Những sesquiterpen thẳng và vòng tiêu biểu là farnezen, xinhiberen, humulen, cardinen và α-xantalen. Trong đó, đặc biệt là xinhiberen có nhiều trong tinh dầu gừng, humulen có trong tinh dầu huplông.

Trong số dẫn xuất chưá oxy cuả sesquiterpen có farnezol, nerolidol, xantonin.

Farnezol rất phổ biến trong tự nhiên. Farnezol có trong tinh dầu cam, chanh, hoa hồng và trong một số tinh dầu khác.

Nerolidol có trong tinh dầu cuả hoa cam và trong nhựa thơm Pêru. Nerolidol

có ứng dụng quan trọng trong kỹ nghệ nước hoa với danh nghiã là chất cố định mùi, nghiã là chất có khả năng làm giảm được độ bay hơi cuả chất có nhiệt độ sôi thấp và dễ dàng bay hơi khi trộn với nó. Các chất cố định mùi có mùi thơm tương tự như nerolidol được coi là quý.

Xantonin có trong họ thầu dầu. Xantonin được dùng rộng rãi làm thuốc tẩy giun sán. Khi hoà tan trong kiềm, xantonin tạo thành muối cuả axit xantonic. Khi axit hoá môi trường thì lại được xantonin.

3.3.1.3 Diterpen

Diterpen có công thức chung là $C_{20}H_{32}$. Trong tự nhiên, diterpen bao gồm một số hợp chất không lớn. Diterpen hoàn toàn không bị bay hơi cùng với hơi nước. Đặc biệt phổ biến rộng rãi trong các nhựa là axit nhựa.

Khi chích một chỗ ở trên vỏ thông thì sẽ cho thông tiết ra một thứ nhựa mà nếu chưng cất hơi nước thì sẽ được phần bay hơi và phần không bay hơi. Khi làm nguội phần không bay hơi, ta sẽ được một thể thuỷ tinh màu nâu gọi là canifol. Phần bay hơi cuả dầu thông chủ yếu là pinen. Còn cafinol chính là hỗn hợp phức tạp các axit, có công thức chung là $C_{19}H_{29}COOH$ và có tên chung là axit nhựa.

Axit abietic là chất tiêu biểu cuả axit nhựa chiếm phần chính trong canifol.

So với các axit nhựa khác, axit abietic tương đói bền vững, mặc dù nó rất dễ dàng bị oxy hóa trong không khí. Tuy nhiên trong nhựa "nguyên thuỷ" axit abietic chỉ chiếm một lượng rất nhỏ. Trong quá trình hình thành nên canifol, axit abietic mới được tạo nên từ một loạt các chất tiền thân linh động khác có tên gọi chung là galipot. Axit levopimaric nằm trong galipot đó. Khi gia nhiệt cũng như dưới tác dụng cuả axit, axit levopimaric chuyển thành axit abietic. Axit levopimaric khác với axit abietic về vị trí cuả nối đôi.

3.3.1.4 Triterpen

Triterpen thường gặp trong thực vật dưới dạng ết, glucozit hoặc ở trạng thái tự do. Tiêu biểu cho triterpen là squalen. Squalen có trong chất béo cuả gan cá mập, cũng như trong các cá khác.

Một triterpen khác đã được biết từ lâu là axit masticadienic. Axit này được dùng để làm sơn bóng.

Tính chất chung cuả tinh dầu

Nói chung, tinh dầu hoà tan rất ít ở trong nước và hoà tan nhiều trong rượu đậm đặc. Độ hoà tan cuả hai chất lỏng càng nhiều khi độ có cực cuả phân tử chúng càng lớn. Khi đầu tích điện dương cuả một phân tử này ở gần đầu tích điện âm cuả phân tử kia thì chúng sẽ hút lẫn nhau và dẫn đến liên hợp các phân tử. Độ hoà tan tương hỗ càng được tăng mạnh khi hằng số điện môi càng gần nhau và các yếu tố

liên hợp cuả chất đó càng gần nhau. Rượu etylic là dung môi có cực mạnh vì hằng số điện môi cuả nó rất lớn (ε=27). Do có cực mạnh nên nó có thể hoà tan trong nước theo tất cả các tỷ lệ và có khả năng hoà tan được nhiều chất hữu cơ trong đó có các cấu tử của tinh dầu.

Dưới tác dụng cuả oxy, một phần tinh dầu chủ yếu là các hợp chất không no bị oxy hoá và cho mùi nhựa.

Nói chung mùi thơm cuả tinh dầu là do este, phenol, aldehyt, xeton và nhưng hợp chất hữu cơ khác quyết định. Tổng lượng cuả những chất này thường chỉ chiếm đến 10% lượng tinh dầu, 90% còn lại là những chất đệm. Sesquiterpen là chất ổn định (chất đệm) đó.

Các chất thơm hình thành nên trong quá trình gia công kỹ thuật

Như chúng ta đều biết, sau các quá trình gia công kỹ thuật, không những trạng thái, màu sắc mà hương vị cuả các sản phẩm thực phẩm cũng bị thay đổi. Có những nguyên liệu hay bán thành phẩm qua những quá trình gia công kỹ thuật nào đó (chẳng hạn gia nhiệt) thì mùi thơm bị yếu đi hoặc mất đi hoàn toàn. Ngược lại, cũng có không ít trường họp, các sản phẩm sau khi qua một số gia công kỹ thuật nào đó thì hương thơm cuả chúng lại mạnh thêm, hoặc thậm chí sản phẩm từ chỗ không có mùi chuyển sang có mùi thơm hoàn toàn mới.

Nghiên cứu những chất thơm mới được tân tạo ra trong các quá trình gia công kỹ thuật cuả nhiều sản phẩm thực phẩm, người ta thấy rằng chúng thường là những hợp chất có nhóm carbonyl. Vì lẽ khi cho những chất liên kết được với nhóm aldehyt như đimeon, natri sulfit…vào các sản phẩm đó đều dẫn đến làm tắt mùi.

Vậy thì từ những hợp chất "nguyên thuỷ" nào và bằng con đường nào để tân tạo nên được những cấu tử aldehyt này?

3.4.1 Phản ứng Maillard là nguồn tạo ra aldehyt

Trong quá trình gia nhiệt, các axit amin tương tác với đường và tạo thành các aldehyt và reducton.

Bản thân các furfurol và oxymetylfurfurol cũng là những aldehyt vòng có mùi đặc trưng.

Furfurol có mùi táo và do đường pentose tạo thành. Oxymetylfurfurol có mùi thật dễ chịu và được tạo thành từ đường hexose.

Hai furfurol này có thể được tạo thành do tương tác cuả đường với axit amin quá phức hợp trung gian 1-amin, 1-ketose. Tuy nhiên chúng cũng có thể được tạo nên bằng con đường dehydrat hoá các đường.

Ngoài furfurol và oxymetylfurfurol, các aldehyt khác có thể được tân tạo do tương tác cuả axit amin với furfurol hoặc với các reducton theo sơ đồ phản ứng sau:

Với reducton thì sơ đồ phản ứng tổng quát như sau:

Từ sơ đồ phản ứng ta thấy các aldehyt $R_1CH=O$ được tân tạo ra có mạch cacbon ngắn hơn axit amin nguyên thuỷ một cacbon. Các aldehyt này do bản chất các axit amin nguyên thuỷ quyết định. Như vậy cũng có nghiã là hương thơm cuả các bản thành phẩm hay thành phẩm là do các axit amin quyết định.

Thực nghiệm cho thấy rằng từ lơxin sẽ cho aldehyt có mùi thơm cuả bánh mì, từ glyxin sẽ cho aldehyt có mùi mật và mùi thơm bia, từ valin và phenylalanin sẽ cho aldehyt có mùi thơm dịu cuả hoa hồng v.v.

3.4.2 Phản ứng quinonamin là nguồn tân tạo ra các aldehyt

Các aldehyt còn được tân tạo nên do tương tác cuả axit amin với polyphenol khi có sự xúc tác cuả enzym polyphenoloxydase hoặc trong điều kiện nhiệt độ cao. Sơ đồ phản ứng như trong hình 3.2. Từ đây chúng ta thấy aldehyt được tân tạo nên có mạch cacbon bé hơn mạch cacbon cuả axit amin nguyên thuỷ một nguyên tử cacbon. Như vậy, trong trường hợp này axit amin cũng đóng vai trò quan trọng trong việc tạo ra hương mới cuả sản phẩm.

Trong thực tế, khi chế biến nhiệt, các bán thành phẩm chè chưa được lên men, người ta nhận thấy rằng hàm lượng các axit amin như alanin, phenylalanin, valin, lơxin, izolơxin bị giảm đi, trong khi đó hàm lượng các aldehyt: axetaldehyt, phenylaxetic, butyric và valerianic tăng lên một cách tương ứng.

Trong điều kiện không gia nhiệt, nhưng có sự xúc tác cuả enzym polyphenoloxydase, phản ứng này cũng xảy ra một cách dễ dàng. Đó là trường hợp khi lên men các lá chè đã qua gia đoạn vò.

3.4.3 Tương tác giưã axit amin và axit ascorbic là nguồn tân tạo các aldehyt

Người ta còn nhận thấy rằng, các aldehyt có thể được hình thành nên do tương tác cuả axit amin với axit ascorbic khi có mặt catechin (polyphenol), ion Cu^{2+} hoặc khi gia nhiệt đến 80-90 ^oC. Ở đây rõ ràng cũng là phản ứng oxy hoá – deamin hoá các axit amin. Chúng ta đều biết, dưới tác dụng cuả Cu^{2+}, nhiệt độ…axit ascorbic bị oxy hoá đến axit dehydroascorbic. Axit dehydroascorbic cũng là một reducton, do đó có thể tương tác với các axit amin để tân tạo ra các aldehyt khác nhau:

Phản ứng Maillard có vai trò rất quan trọng trong sản xuất bánh mì và sản xuất bia. Các biện pháp kỹ thuật tương ứng khi nướng bánh mì cũng như khi sấy malt đều nhằm tạo ra hương thơm đặc trưng cho những sản phẩm đó.

Chẳng hạn, hương thơm cuả bánh mì được tân tạo nên sau khi nướng là một

hỗn hợp gồm 70 cấu tử thơm, trong đó quan trọng là furfurol, oxymetylfurfurol và aldehyt valerianic.

Trong sản xuất chè thì phản ứng quinonamin lại đặc biệt quan trọng. Người ta thấy rằng mùi thơm có thể được tân tạo ở trong giai đoạn làm héo và ủ (lên men). Nhưng mùi thơm đặc trưng cuả các sản phẩm chè thì được tân tạo ở trong giai đoạn sấy. Chẳng hạn, trong sản phẩm chè người ta đã tìm thấy 34 cấu tử thơm khác nhau, trong đó có aldehyt phenylaxetic, aldehyt izovalerianic, geraniol, rượu benzylic…

Các chất thơm tổng hợp

Một số chất thơm tổng hợp sau đây thường được dùng để tạo hương thơm cho các sản phẩm thực phẩm:

3.5 Các hình thơm (tổ hợp thơm)

3.5.1 Sự tạo ra hình thơm

Một hỗn hợp các cấu tử tương tác hài hoà với nhau qua đó mùi cuả các cấu tử đơn thể bị biến đổi đi để tân tạo ra một mùi thơm nhất định, gây cho khứu giác một cảm giác dễ chịu gọi là một hình thơm.

Trong một hình thơm, hàm lượng và vai trò cuả các cấu tử không giống nhau. Có những cấu tử cần có mặt với một lượng nhiều nhưng cũng có cấu tử thậm chí chỉ cần ở dạng vết. Có những cấu tử có vai trò quyết định hương thơm chủ yếu cuả hình thơm gọi là "chất nền thơm". Chất nền thơm trong một hình thơm có thể là một cấu tử thơm đơn thể (ví dụ, ionon cho mùi hoa tím) hoặc là hỗn hợp cuả một số chất thơm đơn thể hoặc là tổ hợp một vài mùi đơn giản. Có những cấu tử thường với lượng rất nhỏ nhưng có tác dụng làm tăng hay giảm hương, làm cho hình thơm được hoà hợp hoàn toàn, nghiã là tạo ra sự hài hoà cho hình thơm. Những chất này thường là indol, scatol, metylheptylxetol, phenyletylaxetat…Ngoài ra lại có cấu tử đóng vai trò chất định hương tạo khả năng giữ được mùi thơm cuả hình thơm. Chất định hương thường là các nhựa và bazam (nhựa benzoic, styrat), mus và xibec (động vật, tinh dầu tuyệt đối, các chất hữu cơ kết tinh (vanin, mus nhân tạo), các chất tổng hợp (dietylphtalat, benzylbenzoat…). Các chất định hương dạng nhựa làm cho dung dịch có độ nhớt cao. Chúng lại là hệ keo phân tán nên có khả năng hấp thụ năng lượng, khiến cho sự di chuyển cuả dung môi và các chất dễ bay hơi lên bề mătj cuả dung dicjh bị cản trở vì không đủ năng lượng để thắng ma sát nội tại. Còn những chất định hương dạng tinh thể có khả năng hấp thụ một lượng lớn chất thơm dễ bay hơi lên bề mặt mạng tính thể. Như vậy, chung quy chất định hương có tác dụng làm thay đổi áp xuất riêng cuả hỗn hợp và điều chỉnh sự bay hơi cuả các cấu tử.

Chẳng hạn hình thơm cuả hoa nhài gồm 15 cấu tử khác nhau.

3.5.2 Các tương tác tạo ra hình thơm

Trong quá trình phối hợp các cấu tử để tân tạo ra hình thơm, các tương tác lý học hoặc hoá học có vai trò quan trọng.

Tương tác lý học gây ra hiện tượng tạo cặn và lắng xuống.

Tương tác hoá học xảy ra giữa các cấu tử thơm với dung môi và giữa các cấu tử thơm với nhau…Các tương tác hoá học đó có thể biểu diễn dưới dạng những phản ứng sau.

3.5.2.1 Phản ứng cuả dung môi với cấu tử thơm

Dung môi thường là rượu, nên có thể phản ứng với aldehyt, xeton và este.

Ví dụ:

3.5.2.2 Phản ứng oxy hoá

Phản ứng oxy hoá rất quan trọng có ảnh hưởng đến chất lượng cuả hình thơm.

Chẳng hạn do phản ứng oxy hoá xitral và aldehytdexylic mà mùi cuả tinh dầu chanh bị thay đổi và độ nhớt tăng lên do axit tạo thành xúc tác cho quá trình polyme hoá các terpen và sesquiterpen.

Các aldehyt cũng có thể oxy hoá khử dưới tác dụng cuả vết kiềm để tạo ra este:

Có trường hợp phản ứng oxy hoá có ảnh hưởng tốt đến hương:

3.5.2.3 Phản ứng ngưng tụ

Xảy ra khi trong hình thơm có các chất chứa các nhóm định chức khác nhau (hoặc cùng chứa nhóm định chức có khả năng phản ứng)

3.5.2.4 Phản ứng chuyển este:

Quá trình tân tạo ra một hình thơm có thể chia thành ba giai đoạn:

- Giai đoạn đầu hay giai đoạn "tuổi trẻ", lúc này mùi cuả hình thơm chưa hoàn chỉnh, cường độ và sắc thái kém, mùi không chính xác;

- Giai đoạn "phát triể", lúc này mùi cuả hình thơm đã hoàn chỉnh, ổn định và cực đại, hoàn toàn đẹp đẽ;

- Giai đoạn “già”, ở giai đoạn này mùi vị giảm và xấu đi.

Trong thực tế, dựa vào kinh nghiệm người ta đã tạo ra được những hình thơm thích ứng dùng cho nước hoa, phấn sáp, xà phòng thơm và thực phẩm. Đặc biệt, các hình thơm dùng cho thực phẩm (kẹo, bánh, nước giải khát…) đòi hỏi các cấu tử phải có độ tinh khiết cao.