

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG LÀM MỀM THỊT CỦA *ENZYME BROMELIN* THU ĐƯỢC TỪ PHẦN PHẾ LIỆU DỨA - CHỒI NGỌN

LÊ THỊ THANH MAI *
NGUYỄN KIỀU HÙNG **



Hình số 1: Chồi dứa sau khi làm sạch lá chồi

Dứa là loài thực vật rất đặc biệt, vừa là một loại cây ăn trái, vừa là nguồn nguyên liệu để tạo ra những sản phẩm có giá trị thương phẩm cao như: enzyme bromelin dùng trong thực phẩm, y học. Ở Việt Nam đã có nhiều nghiên cứu nhằm tìm ra quy trình thu nhận enzyme bromelin từ các phần khác nhau của cây dứa đặc biệt là từ phế liệu của các nhà máy dứa đóng hộp, nhưng việc dùng enzyme bromelin lĩnh vực chế biến thực phẩm-làm mềm thịt chưa được quan tâm. Trong bài báo này chúng tôi trình bày

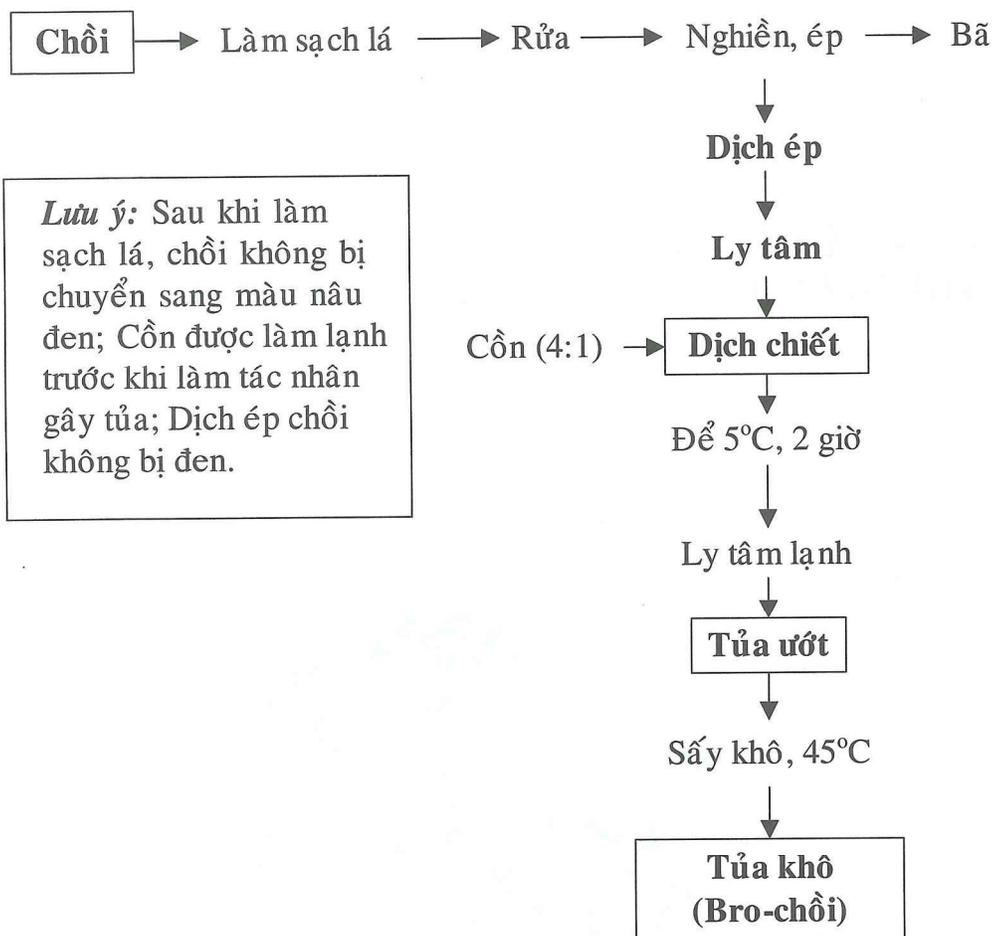
kết quả nghiên cứu xác định điều kiện tối ưu cho quá trình làm mềm thịt của enzyme bromelin - sản phẩm thu được từ phần phế liệu dứa - chồi ngọn (hình số 1), làm cơ sở sản xuất bột làm mềm thịt.

I. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

- Phế liệu dứa-phần chồi ngọn (Công ty Thực phẩm Xuất khẩu Tân Bình).
- Chuẩn bị enzyme bromelin từ phần phế liệu chồi ngọn dứa (Bro -C) theo quy trình tóm tắt được trình bày ở Sơ đồ số 1.
- Enzyme bromelin của hãng Merck (Bro -M)
- Thịt bò dai.
- Xác định hoạt tính protease theo

* Tiến sĩ, Trưởng Khoa Công nghệ Sinh học, ĐH Mở TP.HCM

** Công ty Thanh Sơn Hóa nông



Sơ đồ số 1: Sơ đồ thu nhận bromelin từ 5-10 kg chôi đã làm sạch lá

phương pháp Dole(1) (EDU) với cơ chất là casein, dung dịch đệm phosphat 0,05M, pH 7. Nồng độ casein trong hỗn hợp phản ứng là 0,6%. Tổng thể tích hỗn hợp phản ứng là 11 ml. Hoạt độ enzyme được xác định ở 37°C trong 10 phút. Làm ngưng phản ứng bằng dung dịch TCA 0,11M trong sodium acetat 0,22M và acetic acid 0,33M.

Một đơn vị EDU là lượng enzyme làm tăng sự hấp thu của 1 μ g Tyrosine trong 1 phút.

-Xác định hoạt tính đông tụ sữa (MCU)(2)

Để đánh giá mức độ tác động của chế phẩm enzyme bromelin, người ta thường thể hiện qua các đơn vị hoạt tính như GDU (gelatin dissolving units), MCU (milk clotting units), FIP (Federation Internationale du

Pharmaceutiques) hoặc những đơn vị do chính các nhà sản xuất đặt ra cho sản phẩm của họ như "Rorer" units (Rhône Poulenc Rorer Pharmaceutics, Inc.). Phần lớn các đơn vị này thường không thể so sánh hoặc quy đổi được. Hiện nay, để đánh giá độ mạnh của enzyme bromelin, người ta thường sử dụng các đơn vị như MCU, GDU.

- Các phương pháp hoá sinh thường dùng trong phòng thí nghiệm.

- Phương pháp xác định nồng độ enzyme thích hợp để làm mềm thịt.

Chọn tùy ý nồng độ enzyme từ thấp đến cao. Cân trọng lượng của mẫu thịt và chọn nồng độ enzyme xác định để tính ra trọng lượng của enzyme tương ứng với hồng độ trên. Cho hết lượng enzyme này hòa tan trong 20ml nước cất. Ngâm từng mẫu thịt trong từng nồng độ enzyme khác nhau trong thời gian 5 phút.

Lấy mẫu thịt ra đem chế biến trong 2 phút, thử cảm quan, chọn nồng độ enzyme bromelin thích hợp để làm mềm thịt.

- Xác định thời gian tối ưu để enzyme bromelin làm mềm thịt

Cân thịt, ngâm mẫu thịt trong nồng độ enzyme thích hợp trong các thời gian khác nhau: 3, 5, 7, 9, 11 phút. Lấy thịt ra, đem chế biến trong vòng 2 phút, thử cảm quan để xác định thời gian thích hợp để thịt mềm ở mức độ vừa phải.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Điều kiện tối ưu để làm mềm thịt bò bằng Bro-M

a. Nồng độ Bro-M

Thí nghiệm được tiến hành lần lượt trên các mẫu thịt đã ướp Bro-M (384,6 MCU/mg enzyme) ở các nồng độ khác nhau trong cùng thời gian 5 phút. Kết quả thực nghiệm được *Bảng số 1. Ảnh hưởng của nồng độ Bro-M đến độ mềm của thịt*

Mẫu	Khối lượng thịt (g)	Enzym		Thời gian thủy phân (phút)	Cảm quan
		Khối lượng (mg)	% theo khối lượng thịt		
1	16,97	8,48	0,05	5	Thịt rất dai
2	14,09	14,5	0,10	5	Thịt rất dai
3	12,58	18,9	0,15	5	Thịt rất dai
4	9,94	19,9	0,20	5	Dai
5	16,21	40,5	0,25	5	Dai
6	11,51	34,5	0,30	5	Dai
7	12,09	42,3	0,35	5	Dai
8	12,43	49,7	0,40	5	Dai
9	12,53	56,4	0,45	5	Dai
10	11,34	56,7	0,50	5	Dai
11	11,16	61,4	0,55	5	Dai
12	10,42	62,5	0,60	5	Dai
13	12,65	82,2	0,65	5	Hơi dai
14	12,13	84,9	0,70	5	Hơi dai
15	10,97	82,3	0,75	5	Hơi dai
16	11,25	90,0	0,80	5	Hơi mềm
17	11,72	99,5	0,85	5	Hơi mềm
18	12,12	109,0	0,90	5	Hơi mềm
19	12,50	118,8	0,95	5	Mềm, đàn hồi tốt
20	11,59	115,9	1,00	5	Mềm, đàn hồi hơi kém
21	11,28	124,1	1,10	5	Hơi rã, vị hơi đắng
22	11,38	136,5	1,20	5	Hơi rã, có vị đắng

trình bày ở Bảng số 1.

Kết quả cho thấy, nếu dùng nồng độ enzyme thấp ($\leq 0,9\%$ so với khối lượng thịt), thịt vẫn còn cứng. Ngược lại, nếu nồng độ enzyme cao ($\geq 1,1\%$ so với khối lượng thịt), thịt bị rã, và có vị đắng. Nồng độ 0,95% (tổng hoạt tính là 365,37 MCU) là tốt nhất để làm mềm thịt.

b. Thời gian

Thí nghiệm được tiến hành lần lượt trên các mẫu thịt đã ướp Bro-M (0,95%) trong các thời gian khác nhau. Kết quả được trình bày ở Bảng số 2.

Bảng số 2. Ảnh hưởng của thời gian ướp đến độ mềm của thịt (0,95% enzyme bromelin/khối lượng thịt)

Thời gian ướp (phút)	Khối lượng thịt (g)	Khối lượng enzyme (mg)	Cảm quan
3	12,41	117,8	Thịt hơi cứng, có độ đàn hồi tốt, thịt có vị ngọt
5	12,44	118,2	Thịt mềm, độ đàn hồi tốt, bề mặt thịt mịn, thịt có vị ngọt
7	12,75	121,1	Thịt mềm, độ đàn hồi kém, vị chua đắng
9	12,62	119,8	Thịt hơi rã, không còn độ đàn hồi, có vị đắng
11	12,84	121,9	Thịt rã, có vị đắng

Thời gian thủy phân tốt nhất là 5 phút. Nếu thời gian ngắn hơn thì không đủ để làm thịt mềm, còn nếu để lâu quá thì thịt có vị đắng.

Như vậy, khi dùng enzyme để làm mềm thịt bò dai thì nồng độ của enzyme và thời gian ướp enzyme ảnh hưởng nhiều đến độ mềm của thịt. Nếu nồng độ enzyme càng cao, thời gian ướp enzyme càng lâu thịt càng mau mềm. Nồng độ enzyme quá cao sẽ làm thịt có vị đắng nên nồng độ enzyme thích hợp để làm mềm thịt là 0,95% và thời gian ướp thích hợp là 5 phút. Ngược lại nồng độ enzyme và thời gian ướp enzyme càng ngắn thì thịt lâu mềm hơn.

c. Hàm lượng đạm amin, đạm amoniac được hình thành trong các mẫu thí nghiệm

Mỗi mẫu được làm thí nghiệm 10 lần để lấy giá trị trung bình cộng. Kết quả thực nghiệm được trình bày ở Bảng số 3.

Ghi chú:

Bảng số 3. Hàm lượng nitơ formol

Mẫu	1	2	3	4
Khối lượng thịt (g)	12,490	12,339	12,412	12,278
Khối lượng enzyme (mg)	0	117,05	118,52	117,66
Thể tích NaOH 0,1N (ml)	2,05	2,85	3,20	3,50
Lượng nitơ formol/mẫu thịt (g)	$32,5 \cdot 10^{-4}$	$43,8 \cdot 10^{-4}$	$49,1 \cdot 10^{-4}$	$54,8 \cdot 10^{-4}$
Lượng nitơ formol/kg thịt (g)	0,229	0,321	0,355	0,400

- Mẫu 1: mẫu thịt được rã đông
- Mẫu 2: mẫu thịt được ướp enzyme trong thời gian 3 phút
- Mẫu 3: mẫu thịt được ướp enzyme trong thời gian 5 phút
- Mẫu 4: mẫu thịt được ướp enzyme trong thời gian 7 phút

Mẫu 1 có lượng nitơ formol thấp nhất, điều này chứng tỏ sự tự thủy phân của thịt chậm, thịt sẽ lâu mềm. Ở mẫu 2, 3, 4, lượng nitơ formol tạo thành cao hơn (cao nhất ở mẫu 4), chứng tỏ enzyme thủy phân nhanh các protein thịt vì vậy thịt mau mềm. Thời gian và nồng độ enzyme càng tăng thì tốc độ thủy phân nhanh và lượng nitơ formol tạo thành càng cao.

Bảng số 4. Hàm lượng amoniac tạo thành trong quá trình làm mềm thịt

Mẫu	1	2	3	4
Khối lượng thịt (g)	14,009	14,686	14,690	14,836
Khối lượng enzyme (mg)	0	139,53	140,06	140,09
Thể tích NaOH 0,1N (ml)	9,9	9,55	9,4	9,25
Lượng NH ₃ /mẫu thịt (g)	132,6.10 ⁻⁴	128.10 ⁻⁴	126.10 ⁻⁴	124,3.10 ⁻⁴
Lượng NH ₃ /kg thịt (g)	0,948	0,873	0,859	0,84

Ghi chú:

- Mẫu 1: mẫu thịt được rã đông
- Mẫu 2: mẫu thịt được ướp enzyme trong thời gian 3 phút
- Mẫu 3: mẫu thịt được ướp enzyme trong thời gian 5 phút
- Mẫu 4: mẫu thịt được ướp enzyme trong thời gian 7 phút

Nếu không bổ sung enzyme thì lượng amoniac cao nhất và lượng amoniac giảm dần khi tăng nồng độ enzyme lên. Như vậy, dùng enzyme để làm mềm thịt, rút ngắn thời gian chế biến, sẽ làm tăng chất lượng của thực phẩm lên.

2. Khảo sát khả năng làm mềm thịt của Bro-C

Từ kết quả nghiên cứu ở II.1, có thể ghi nhận điều kiện cần thiết khi sử dụng Bro-M làm mềm thịt là:

- Lượng Bro-M chiếm 0,95% so với khối lượng thịt (tổng hoạt tính đưa vào khoảng 3.000 MCU/g thịt);
- Thời gian ướp tốt nhất là: 5 phút;

Chúng tôi tiến hành so sánh khả năng làm mềm thịt của Bro-C (33,6 MCU/mg) với Bro-M (320 MCU/mg), cơ chất sử dụng là thịt bò dai có cùng khối lượng, kích thước (dày 1 cm, rộng 3 cm, dài 3,3 cm), lượng enzyme sử dụng có tổng hoạt tính đồng tụ sữa bằng nhau, cùng thời gian ướp, sau đó thử cảm quan. Kết quả được trình bày ở Bảng số 5.

Bảng số 5. So sánh khả năng làm mềm thịt của Bro-C với Bro-M

Enzym	Bro-M				Bro-C			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Khối lượng thịt (g)	16,98	16,4	16,68	16,6	17,08	16,49	16,43	15,4
Diện tích mặt ngoài (cm ²)	32,40	31,50	32,40	31,50	32,40	31,50	31,50	30,00
Khối lượng enzyme (mg)	160	155	155	155	1.524	1.471	1.466	1.000
Thời gian ướp enzyme (phút)	5	5	5	5	5	5	5	5
Tổng hoạt tính	51.200	49.600	49.600	49.600	51.206	49.426	49.258	33.600
Hoạt tính/g thịt	3.015	3.024	2.974	2.988	2.998	2.997	2.998	2.049
Hoạt tính/ml/cm ² thịt	79,01	78,73	76,54	78,73	79,02	78,45	78,19	56,00
Cảm quan	Mềm vừa, đàn hồi, không có vị đắng				Quá mềm, có vị đắng			Mềm nhiều, không đắng

Kết quả trên cho thấy, khác với Bro-M, lượng Bro-C sử dụng thích hợp nhất là 56 MCU/ml/cm² thịt. Tuy nhiên, do thịt mềm nhiều và lượng enzyme không hòa tan hết trong dung dịch nên chúng tôi tiến hành khảo sát khả năng làm mềm thịt của Bro-C ở những nồng độ thấp hơn. Mỗi mẫu thịt thí nghiệm có khối lượng là 20 gram (kích thước trung bình của miếng thịt 1x3-3,5x4, diện tích mặt ngoài từ 38-43 cm²), kết quả được minh họa ở Bảng số 6.

Bảng số 6. Khảo sát độ mềm của thịt bằng phương pháp cảm quan

Mẫu	1	2	3	4	5	6
Khối lượng enzyme (gram)	1,00	0,75	0,50	0,30	0,20	0,10
Điểm đạt được (*)	3,4	3,5	4,2	3,3	1,4	0,6

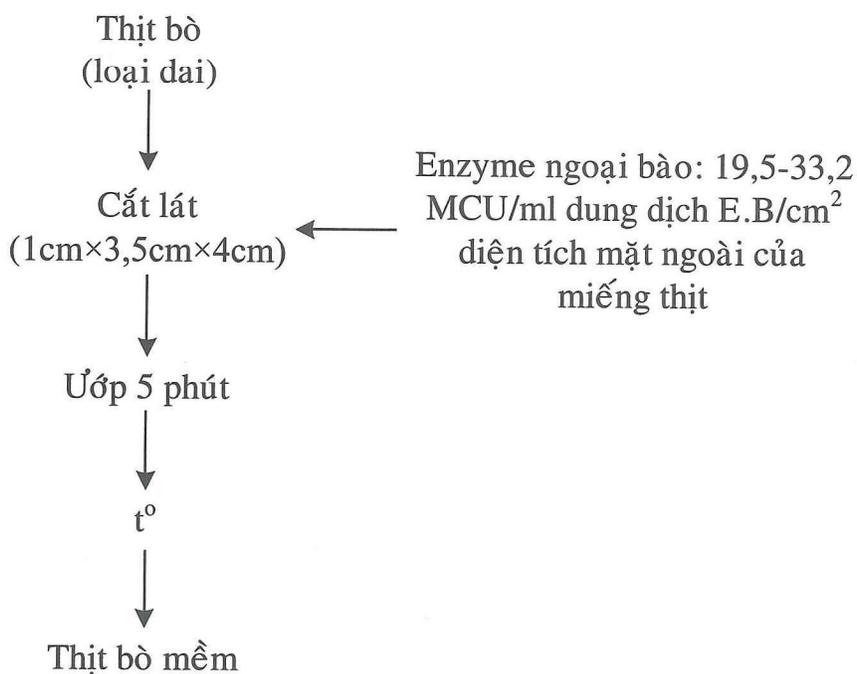
(*) Chỉ tiêu đánh độ mềm của thịt bò sau khi ướp enzyme bromelin bằng phương pháp cảm quan được quy định như sau:

Điểm	5	4	3	2	1	0
Độ mềm	Thịt mềm, không rã	Thịt mềm, hơi bị rã	Thịt bị rã	Thịt hơi dai	Thịt dai	Thịt quá dai

Kết quả cho thấy mẫu 3 có độ mềm tốt nhất, kế là mẫu 4. Như vậy, lượng enzyme cần thiết để làm mềm thịt tính theo diện tích mặt ngoài của miếng thịt trong khoảng 19,5-33,2 MCU/ml dung dịch/cm².

Như vậy, enzyme bromelin thu nhận từ phần phế liệu của chồi ngọn tuy hoạt tính thấp hơn Bro-M nhưng hoàn toàn có thể sử dụng trong công nghệ làm mềm thịt. Bổ sung enzyme sẽ rút ngắn thời gian làm thịt mềm (đặc biệt có ý nghĩa đối với loại thịt bò dai), lượng đạm formol sinh ra cao hơn, lượng đạm amoniac tạo thành trong quá trình thủy phân protein gây thối giảm xuống, đồng thời các thành phần dưỡng chất trong thịt không mất đi so với cách làm mềm thịt thông thường là bảo quản lạnh đông.

Quy trình làm mềm thịt bò bằng chế phẩm enzyme bromelin thu từ phần phế liệu chọn ngọn được mô tả ở Sơ đồ số 2.



Sơ đồ số 2. Quy trình làm mềm thịt bò

Thịt bò (loại dai) được cắt lát với kích thước ước tính như sau: dày 1-1,5cm, dài 4,0 cm, rộng 3,5 cm. Pha dung dịch làm mềm thịt theo cách tính như sau 19,5-33,2 MCU/ml dung dịch ướp/cm² diện tích mặt ngoài của miếng thịt. Sau đó để thịt trong dung dịch ướp trong 5 phút, rồi nhúng nhanh vào dầu nóng (như cách chế biến bò beefsteak).

Để tài chỉ dừng lại ở xác định tỉ lệ enzyme bromelin cần thiết có trong dung dịch ướp thịt. Để tạo ra gói bột làm mềm thịt, cần phải có những nghiên cứu tiếp theo về các gia vị được phối trộn vào và đưa ra cách chế biến để người tiêu dùng dễ sử dụng hơn.

CHÚ THÍCH

- (1) Enzyme Development Corporation
 (2) Nguyễn Lâm Dũng và tập thể. Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh học. Tập 3. NXB KHKT, 1978

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Đức Lượng, Lê Thị Thanh Mai và tập thể (2004): “Nghiên cứu xử lý phế liệu nhà máy đồ hộp dứa để sản xuất enzyme bromelin, phân sinh học và thức ăn gia súc”. Đề tài nghiệm thu cấp Thành phố. Nghiệm thu năm 2004.
2. Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (2002): “Báo cáo tình hình sản xuất và tiêu thụ dứa. Phương pháp phát triển và giải pháp thực hiện”. Hà Nội.
3. Lê Thị Thoa và tập thể (1979) : “Báo cáo tổng hợp nghiên cứu về bromelin”.
4. Nguyễn Đức Lượng, Cao Cường (2003): “Thí nghiệm Hóa Sinh học”. NXB ĐHQG TPHCM.
5. Phạm Thị Trân Châu, Phạm Tiến Hoà, Nguyễn Thị Bảo (1987) : “Thành phần và một số tính chất của chế phẩm bromelain chồi ngọn dứa tây (Ananas Comosus L. – Group Queen)”
6. Nguyễn Đình Huyền và tập thể (1994) : “Nghiên cứu và sản xuất enzyme bromelin”. Đề tài nghiệm thu cấp Bộ. Mã số B91-07-03. Nghiệm thu ngày 09/9/1994.
7. Đỗ Thành, Nguyễn Xuân Thắng (1985) : “Phương pháp tách nhanh bromelain từ bã dứa”
8. Lê Thị Thanh Mai (1997) : Luận án PTS khoa học Sinh học “Nghiên cứu về enzyme bromelin và con đường ứng dụng của chúng”. Trường Đại học Khoa học Tự nhiên TPHCM
9. Phạm Thị Trân Châu, Phan Tiến Hòa, Nguyễn Thị Bảo (1987): “Thành phần và một số tính chất của chồi ngọn dứa Tây (Ananas Comosus L.-group Queen). Tạp chí sinh học, 9 (4): 3-9.
10. Food Engineering Int'l., June 1977 : “Taiwan pineapples create food enzyme”.
11. Helmut Uhlig (2000): “Industrial enzymes and their applications”. John Wiley and Sons, Inc, Newyork.
12. Anthony J. Cichoke, D.C (1998): “Bromelin: The active enzyme that helps us make the most of what we eat”. Keats Publishing, Inc. New Cacaac, Connecticut.
13. Anthony J. Cichoke (1998): “The complete book of enzyme therapy”. Avery, a member of Penguin Putnam Inc..
14. <http://www.dole-plantation.com>: Dole Plantation Hawaii

TÓM TẮT

Phần trắng của chồi ngọn dứa - phế liệu của quá trình sản xuất dứa đóng hộp - có thể được dùng như là nguồn cung cấp enzyme bromelin (Bro-C). Chúng có thể được dùng để làm mềm thịt. Kết quả nghiên cứu đã xác định điều kiện tối ưu khi dùng enzyme bromelin chồi làm mềm thịt bò: Kích thước miếng thịt bò (cao x dài x rộng) : 1-1,5 cm x 4,0 cm x 3,5 cm; Dung dịch enzyme: 19,5-33,2 MCU/ml/cm²; Giữ miếng thịt bò trong dung dịch enzyme trong 5 phút.

SUMMARY

The white upper parts of pineapples – used to be a scrap in the process of pineapple canning - can now be a source for bromelian (Bro-C) to tenderize meat. The research results shows that the optimal conditions for ensuring beef tenderness are:

- Beef size (H.L.W): 1-1,5 cm x 4,0 cm x 3,5 cm.
- Enzyme solution: 19,5-33,2 MCU/ml/cm²
- Meat is marinated in the enzyme solution for 5 minutes.