

Nghiên cứu chuyển hóa gellan thành gellan khử acyl

Nguyễn Thị Hồng Hà^{1,2*}, Trần Thị Mai¹, Lê Khánh Linh³, Nguyễn Thị Xuân Sâm²

¹Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch

²Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

³Trường THPT chuyên đại học sư phạm

Ngày nhận bài 1/3/2018; ngày chuyển phân biên 6/3/2018; ngày nhận phân biên 16/4/2018; ngày chấp nhận đăng 23/4/2018

Tóm tắt:

Gellan là một polysaccharit dị thể ngoại bào, được sản xuất bằng quá trình lên men chìm, sục khí bởi vi khuẩn *Sphingomonas paucimobilis*. Gellan với những hàm lượng acyl khác nhau sẽ cho ra những gel có tính chất khác nhau. Gellan tự nhiên cho ra gel mềm, đàn hồi, còn gellan khử acyl cho ra gel chắc, giòn. Nhờ tính chất của mỗi loại gellan mà nó được ứng dụng trong chế biến thực phẩm hay dùng tạo màng bao bảo quản quả tươi. Mục đích của nghiên cứu này là tạo được gellan khử acyl từ gellan để tăng khả năng ứng dụng của sản phẩm. Theo đó dịch nổi đã loại xác tế bào chứa gellan được khử nhóm acyl bằng cách điều chỉnh dịch lên men lên pH 10 bằng NaOH 2M, giữ ở 80°C trong vòng 10 phút, sau đó hạ pH về 7 bằng axit H₂SO₄ 2M (hoặc HCl). Gellan khử acyl trong dịch được kết tủa bởi ethanol 95% với tỷ lệ dịch:ethanol = 1:2 (v/v). Hiệu suất thu hồi đạt 85,6%, mức độ khử acyl đạt 86%. Kết tủa gellan khử acyl được sấy khô tạo chế phẩm dạng bột và được đóng trong túi Al/PE có thể bảo quản tại nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng trực tiếp. Chế phẩm gellan khử acyl có độ ẩm 6,47%, hàm lượng tro 7,54%, pH 7, độ bền gel 437 g/cm², nhiệt độ bắt đầu tạo gel $\geq 35^{\circ}\text{C}$, cho gel cứng và giòn.

Từ khóa: Gellan, gellan khử acyl, mức độ deacyl, *Sphingomonas paucimobilis*.

Chỉ số phân loại: 2.8

Mở đầu

Một số nghiên cứu cho thấy, gellan khử acyl tạo gel có đặc tính đông kết tương tự như agar và là tác nhân làm đông vượt trội với độ trong suốt cao, tạo gel giòn ở nồng độ thấp hơn nhiều so với thạch agar và có thể được ứng dụng để làm các loại thạch. Gellan khử acyl khi được tạo thành ở dạng gel lỏng có cấu trúc gel yếu, có thể giữ các tiểu phần ở trạng thái lơ lửng mà không làm thay đổi độ nhớt, dính của dung dịch. Nó được ứng dụng trong sản xuất đồ uống trái cây và bánh kẹo dẻo; cung cấp chất tạo gel cho nước giải khát với vị như của gelatin. Khi thêm gellan sẽ làm tăng nhiệt độ nóng chảy, giúp cho gel mềm, ngon ngọt, mọng nước nhưng lại không tan chảy và mất hình dạng của nó, đồng thời tạo trực quan tốt. Nhờ đặc tính ổn định trong môi trường axit nên gellan khử acyl rất có lợi thế ứng dụng trong sản xuất nước giải khát [1-4].

Gellan có cấu trúc hóa học của một hợp chất polysaccharide với đơn vị monomer là một tetrasaccharide mạch thẳng [$\rightarrow 3$]- β -D-Glc-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-GlcA-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-Glc(1 $\rightarrow$ 4)- α -L-Rha-(1 $\rightarrow$)]], trong đó có hai gốc D-glucopyranose (Glc), một gốc D-glucuronic acid (GlcA) và một gốc L-rhamnose (Rha) [5, 6]. Ngoài cấu trúc polymer của tetrasaccharide, gellan còn có các nhóm thế O-acetyl và O-glyceryl tại vị trí số 5 và số 2 của đơn vị đường glucose đầu chuỗi tetrasaccharide (gốc đường Glc ở liên kết [$\rightarrow 3$]- β -D-Glc-...]). Như vậy, trung bình cứ 2 phân tử glucose thì sẽ có 1 phân tử có gắn thêm nhóm acetate và glycerate, khối lượng phân tử của gellan vào khoảng 1-2x10⁶ Da [7, 8].

Cấu trúc hóa học cho thấy gellan là một polysaccharide khá bền vững. Vì vậy, thông thường phản ứng deacyl hóa (ĐĐA) thành gellan khử acyl diễn ra trong môi trường kiềm, nhiệt độ 90-95°C, thời gian phản ứng khoảng 10 phút [9, 10]. Dựa vào khả năng ĐĐA mà thu được gellan khử acyl có mức độ deacyl khác nhau. Gellan khử acyl có khối lượng phân tử khoảng 2-3x10⁵ Da [7, 8]. Mức độ acyl hóa của gellan quyết định khả năng ứng dụng của nó. Gellan có độ acyl hóa cao cho ra gel mềm, đàn hồi và với tính chất tạo vi màng, trong và ngăn cản sự tiếp xúc của oxy với sản phẩm, gellan được coi là chất lý tưởng sử dụng trong tạo màng bao gói ăn được. Màng gellan được sử dụng như là một lớp mỏng bao trên quả và do có khả năng hấp thụ một lượng lớn nước nên có thể giữ được độ tươi và chất lượng sản phẩm quả cũng như quả cắt lát, cải thiện kết cấu và các đặc tính cơ học, ngăn ngừa sự mất hương, cũng như giảm một số bệnh ở một số loại quả [11, 12]. Quá trình khử acyl đã tạo ra dạng gel cứng, giòn và có khả năng hình thành gel hồi phục nhiệt khi đun nóng và làm lạnh do sự vắng mặt của nhiều nhóm acetyl và glyceryl, nó được ứng dụng trong chế biến thực phẩm [1, 4, 13]. Mục đích của nghiên cứu này là xây dựng quy trình chuyển hóa và thu nhận gellan khử acyl, xác định các điều kiện bảo quản và đánh giá chất lượng sản phẩm.

Vật liệu và phương pháp

Dịch lên men chứa gellan: Được thu nhận theo Nguyễn Thị Hồng Hà và cs (2017) [14].

Các hóa chất: NaOH, H₂SO₄ 2M (hoặc HCl), ethanol 95%...

*Tác giả liên hệ: Email: ngthongha77@gmail.com

Study on the conversion of gellan into deacylated gellan

Thi Hong Ha Nguyen^{1,2*}, Thi Mai Tran¹, Khanh Linh Le³,
Thi Xuan Sam Nguyen²

¹Department of Post Harvest Biotechnology, VIAEP

²Ha Noi University of Science and Technology

³Ha Noi University of Education High School of Gifted Student

Received 1 March 2018; accepted 23 April 2018

Abstract:

Gellan, an exopolysaccharide, is produced by aerated and submerged fermentation using *Sphingomonas paucimobilis* bacteria strain. Gel made from gellan is characterised by variable properties which depend on the degree of acylation of gellan. Natural gellan (high acyl gellan) produces soft and elastic gel, whereas firm and crispy gel can be obtained from low acyl gellan. Depending on its characteristics, gellan can be used in either food processing or fruit preservation (e.g to produce preserving film). This study aims to produce deacylated gellan from natural gellan to increase the applicability of this product. Acyl component was cleaved from gellan by increasing the pH of fermentation medium to pH 10 using 2M NaOH. Reaction mixture was performed at 80°C for 10 minutes and neutralized to pH 7 using 2M H₂SO₄. Deacylated gellan in aqueous solution was precipitated by 95% ethanol at a gellan solution/ethanol ratio of 1:2 (v/v). The recovery efficiency of deacylated gellan was 85.6%. The deacylated gellan was then dried, powdered, and packed in an Al/PE bag which can be stored at room temperature, but avoiding direct exposure to the sun light. Deacylated gellan was characterised by moisture content of 6.47%, ash content of 7.54%, pH of 7, gel strength of 437 g/cm². This gellan product gave hard and crispy gel with the gel point temperature at 35°C above.

Keywords: Deacylated gellan, degree of deacylation, gellan, *Sphingomonas paucimobilis*.

Classification number: 2.8

Xác định hàm lượng gellan khử acyl bằng phương pháp đo quang: Gellan được xác định bằng phương pháp đo độ hấp thụ ở bước sóng $\lambda = 455$ nm dựa vào cường độ màu vàng tạo ra khi gellan khử acyl phản ứng với thionine trong sự có mặt của axit sulphuric đặc và cystein-HCl. Hàm lượng gellan khử acyl trong mẫu được tính toán dựa trên đường chuẩn gellan khử acyl [15].

Xác định mức độ ĐĐA của gellan khử acyl

Sử dụng phương pháp tương tự của Baxter và cs (1992)

[16]. Phương pháp phân tích phổ IR được sử dụng để chụp phổ hồng ngoại của các mẫu gellan trước và sau khử acyl. Dựa trên các phổ đồ nhận được của các mẫu gellan để đánh giá sự có mặt của nhóm chức, từ đó có thể tính toán được mức độ ĐĐA của các mẫu gellan. Trong nghiên cứu này, các mẫu gellan khác nhau được sấy khô, nghiền nhỏ và được trộn đều cùng với KBr, ép thành viên mỏng rồi được đo quang phổ IR. Phương pháp này được thực hiện trên thiết bị FT-IR Spectrum Two (Mỹ) tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam.

Mức độ ĐĐA của mẫu được tính theo công thức sau:

$$\text{ĐĐA} = 100 - \frac{h_{1720}}{h_{3400}} \times a$$

Trong đó: h_{1720} và h_{3400} là chiều cao các đỉnh phổ tại băng sóng 1720 và 3400 cm⁻¹ đặc trưng cho các nhóm carbonyl và nhóm -OH trong phân tử gellan, a là hệ số thực nghiệm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần (n = 3) và đánh giá kết quả ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Xác định cấu trúc gellan khử acyl bằng cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) [17]

Gellan khử acyl thu nhận từ lên men chủng *S. paucimobilis* GL12 được phân tích bằng phương pháp NMR tại Viện Hóa học (Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam) trên máy khối phổ Bruker Avance 500 MHz (Đức) ở 25°C. Dung dịch gellan khử acyl 1% trong D₂O (các ống có đường kính ngoài 5 mm) được thực hiện cho phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1 chiều (¹H, ¹³C) và 2 chiều (COSY, HSQC, HMBC). Phổ ¹H chấp nhận tín hiệu nhiễu để tìm kiếm tỷ lệ acetate và glycerate trong 100 lần quét (khoảng 5 phút). Dữ liệu được phân tích nhờ phần mềm Felix 95.0 (Molecular Simulations, San Diego, Calif.). Mức độ thay thế acyl trong gellan được tìm kiếm trong khu vực độ chuyển dịch hóa học δ_H 2,60±0,1 (CH₃ trong nhóm acetate), δ_H 1,75±0,1 (CH₃ trong Rha) và so sánh tỷ lệ tích phân của các tín hiệu này.

Xác định các điều kiện chuyển hóa gellan thành gellan khử acyl

Gellan được chuyển hóa thành gellan khử acyl theo phương pháp của Kang và cs [18] và West và cs [10] có cải tiến. Mỗi phương án thử nghiệm được tiến hành với 10 lít dịch lên men gellan đã loại xác tế bào.

Xác định pH thích hợp: Điều chỉnh pH của dịch lên men gellan bằng NaOH 2M đạt 4 mốc pH: 8, 9, 10 và 11. Nâng dịch lên 80°C trong 8 phút, làm nguội và điều chỉnh pH các mẫu xuống 7,0 bằng dung dịch HCl (ủ trong 10 phút). Ethanol 95% được thêm vào dịch với tỷ lệ dịch:ethanol là 1:2, đảo đều, kết tủa gellan khử acyl ở nhiệt độ phòng trong 10 giờ. Tiến hành ly tâm 4500 vòng/phút trong 15 phút, loại bỏ dịch nổi, thu kết tủa. Tủa được sấy đối lưu ở 80°C, sau 24 giờ thu được sản phẩm gellan khử acyl đem đi nghiền thành bột và đánh giá mức độ ĐĐA của các mẫu.

Xác định thời gian ĐĐA của gellan: Thử nghiệm ĐĐA

gellan được tiến hành như trên với các khoảng thời gian phản ứng thay đổi từ 4, 6, 8, 10 đến 12 phút. Sau đó tiến hành đánh giá mức độ ĐĐA của chế phẩm gellan nghiên cứu.

Xác định tỷ lệ dịch:ethanol cho kết tủa gellan khử acyl theo Fialho và cs (1999) [17]: Dịch nổi chứa gellan khử acyl được bổ sung với các tỷ lệ dịch lên men:ethanol 95% là 2:1, 1:1, 1:2 và 1:3 (v/v). Quá trình tủa được để 10 giờ, sau đó tiến hành ly tâm ở 4500 vòng trong 15 phút, thu tủa gellan khử acyl. Xác định hiệu suất thu hồi gellan khử acyl.

Xác định điều kiện sấy chế phẩm

Dịch tủa thu được từ 10 lít dịch lên men được sấy đổi lưu thu chế phẩm dạng bột với nhiệt độ của tác nhân sấy biến thiên từ 60 đến 100°C. Thời gian sấy được khảo sát từ 12 đến 28 giờ. Độ dày lớp vật liệu sấy thay đổi từ 4 đến 8 cm. Dàn đều chế phẩm, dùng que sắt nhọn kẻ thành các ô vuông có cạnh 1,5 cm, khi bề mặt khối sấy khô se tiến hành đảo để khối ô vuông gellan rời ra, rồi dàn đều, sau đó cứ 2 giờ lặp lại 1 lần. Sau 24 giờ thu sản phẩm gellan khử acyl đem đi nghiền thành bột, rồi đóng trong bao bì. Sau mỗi thí nghiệm, xác định lượng gellan khử acyl thu được để đánh giá hiệu suất thu hồi.

Xác định điều kiện bảo quản chế phẩm

Chế phẩm gellan được đóng túi trong màng Al/PE, được bảo quản ở điều kiện nhiệt độ 4±1°C và nhiệt độ phòng. Sau các khoảng thời gian 1, 3 và 6 tháng mẫu được lấy đi đánh giá các chỉ tiêu hóa lý và an toàn thực phẩm.

Phân tích các chỉ tiêu chất lượng của gellan khử acyl

Xác định độ nhớt trên nhớt kế Brookfield model LVDV - II/P (Mỹ); xác định độ ẩm (%) theo AOAC 920.05; xác định hàm lượng tro (%) theo AOAC 930.30; xác định hàm lượng chì theo AOAC 999.11; xác định hàm lượng asen theo AOAC 986.15.

Phương pháp xác định độ bền gel của gellan khử acyl: Đặc tính cấu trúc gel của gellan khử acyl được xác định bằng máy phân tích cấu trúc Texture Analyzer TA.XT2 (Anh), tiến hành theo phương pháp của Mao và cs (2000) [13].

Chuẩn bị gel: Hòa tan 1% gellan khử acyl trong nước khử ion ở nhiệt độ phòng (khoảng 22°C), sau đó tiến hành đun dung dịch gellan đến nhiệt độ 97-98°C, giữ 1 phút. CaCl₂ được thêm vào dung dịch để tạo gel ở nồng độ 30 mM. Dung dịch được khuấy trong 1 phút và đổ vào ống facol thể tích 50 ml. Gel được làm lạnh ở nhiệt độ 15°C trong 10 phút. Mẫu gel được duy trì ở nhiệt độ phòng (khoảng 22°C) trong 24-28 giờ trước khi đo.

Đo độ bền gel: Gel lấy khỏi ống facol, được xác định bằng máy đo cấu trúc. Sử dụng đầu đo bằng có đường kính 15 mm, cố định đường đi của đầu đo đâm vào sản phẩm, lực nén lớn nhất làm vỡ gel (điểm phá vỡ) được gọi là độ bền gel - gel strength (g/cm²). Thí nghiệm này được lặp lại 3 lần

cho mỗi phép đo [13, 19].

Kết quả thảo luận

Xác định các điều kiện chuyển hóa gellan thành gellan khử acyl

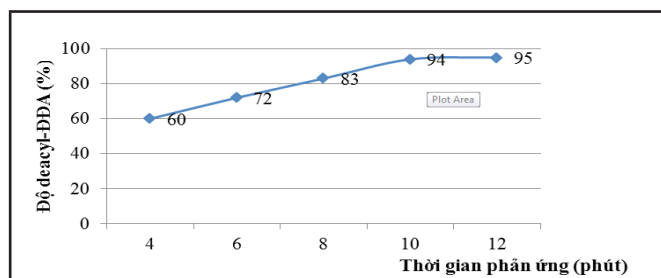
Xác định pH chuyển hóa: Khảo sát sự ảnh hưởng của pH đến mức độ ĐĐA của gellan cho thấy, pH (hay nồng độ kiềm) có ảnh hưởng trực tiếp đến mức độ ĐĐA, cụ thể ở pH 10 sau 8 phút ở nhiệt độ 80°C cho ĐĐA đạt 82%, khi tăng pH lên 11 mức độ deacyl hầu như không đổi (bảng 1). Do vậy, pH 10 là thông số công nghệ được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 1. Ảnh hưởng của pH tới mức độ ĐĐA của gellan.

pH	Mức độ deacyl - ĐĐA (%)
8	Không xác định
9	65
10	82
11	84

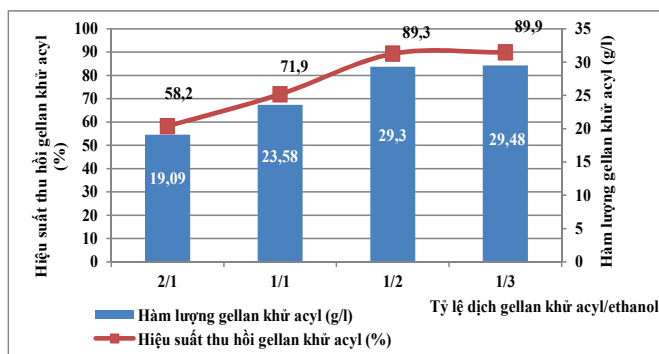
Xác định thời gian chuyển hóa: Khảo sát ảnh hưởng của thời gian phản ứng cho thấy, tốc độ ĐĐA xảy ra khá nhanh ở khoảng 4 phút đầu của phản ứng, sau đó xảy ra chậm dần. Sau 10 phút, ĐĐA của gellan thay đổi hầu như không đáng kể. Nguyên nhân là do nồng độ NaOH giảm sau giai đoạn đầu của quá trình deacyl hóa. Một nguyên nhân khác là giai đoạn đầu quá trình deacyl xảy ra đối với các nhóm acyl trên bề mặt của gellan, chúng tiếp xúc trực tiếp với NaOH nên tốc độ xảy ra khá nhanh. Với các nhóm acyl bên trong rất khó tiếp xúc, đòi hỏi thời gian khuếch tán lâu hơn của NaOH vào lớp bên trong. Vì vậy, tốc độ phản ứng deacyl hóa xảy ra rất chậm. Ngoài ra, do gellan có mạch polyme dài, đan xen, cuộn xoắn che lấp các nhóm chức nên rất khó loại bỏ hoàn toàn nhóm acyl. Kết quả này cũng tương tự như quá trình deacyl của chitosan. Theo tác giả Đặng Xuân Dự (2015) [20], ở nồng độ NaOH 50%, đun nóng ở 80°C sau khoảng 3 giờ phản ứng đã thu được chitosan chỉ có ĐĐA bằng 83%.

Trong trường hợp này, pH dịch khử điều chỉnh pH 10, sau 10 phút phản ứng ở 80°C, gellan khử acyl thu được có ĐĐA bằng 86% (hình 1).



Hình 1. Ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến mức độ ĐĐA của gellan.

Kết tủa gellan khử acyl bằng ethanol: Ethanol được lựa chọn để kết tủa gellan khử acyl. Để hiệu suất thu hồi gellan khử acyl cao nhất và tiết kiệm chi phí sản xuất, chúng tôi đã nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ dịch lên men gellan khử acyl/ethanol đến khả năng thu hồi gellan khử acyl. Dịch lên men đã qua bước deacyl được bổ sung ethanol theo các tỷ lệ dịch:ethanol là 2:1, 1:1, 1:2 và 1:3, kết tủa để 10 giờ, sau đó đánh giá hàm lượng gellan khử acyl thu được.



Hình 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ dịch gellan khử acyl/ethanol đến hiệu suất thu hồi.

Kết quả hình 2 cho thấy, hiệu suất thu hồi gellan khử acyl tăng dần khi tăng lượng ethanol trong dịch và đạt ổn định khi tỷ lệ dịch khử acyl/ethanol là 1/2, hiệu suất thu hồi đạt 89,3%.

Một điều khác được nhận thấy khi thực hiện phản ứng deacyl gellan trong môi trường kiềm là không những gellan được chuyển hóa thành gellan khử acyl, mà lượng chất màu vàng carotenoid trong dịch lên men cũng được loại bỏ theo dịch nổi, do vậy tủa thu được có màu khá sáng chỉ sau một lần thu hồi bằng ethanol.

Xác định điều kiện sấy chế phẩm

Để sản phẩm gellan khử acyl dễ sử dụng, dễ bảo quản thì cần tạo chế phẩm gellan khử acyl dạng bột. Gellan có đặc tính là một polymer, dễ tiến hành sấy phun, sấy đông khô... cần bổ sung chất trợ sấy. Khi bổ sung chất trợ sấy sẽ ảnh hưởng đến cấu trúc tạo gel của chế phẩm. Đồng thời, khi sử dụng các phương pháp sấy trên đòi hỏi thiết bị đắt tiền, không phải cơ sở sản xuất nào cũng có. Phương pháp sấy đối lưu khắc phục được những nhược điểm trên và cũng đã được ứng dụng trong sấy nhiều polymer sinh học thực phẩm như: Xanthanum, alginate, pullulan... [21]. Trong sấy đối lưu có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất sấy như: Nhiệt độ sấy, tốc độ thổi khí, thời gian sấy, độ dày lớp sấy và kích thước vật liệu sấy... Trong thực nghiệm này, chúng tôi trình bày về ảnh hưởng của nhiệt độ sấy, thời gian sấy và độ dày lớp sấy ở cùng điều kiện sấy.

Xác định nhiệt độ của tác nhân sấy: Nhiệt độ sấy sản phẩm được khảo sát ở 5 mức khác nhau là 60, 70, 80, 90 và 100°C. Sau 24 giờ thu hồi sản phẩm.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hiệu suất thu hồi gellan khử acyl.

Nhiệt độ sấy (°C)	Gellan khử acyl	
	Độ ẩm (%)	Hiệu suất thu hồi (%)
60	12,6	75,7
70	9,02	81,2
80	7,87	83,3
90	6,13	81,2
100	6,01	72,8

Kết quả bảng 2 cho thấy, nhiệt độ quá thấp hay quá cao đều có những tác động bất lợi cho quá trình sấy dịch tủa gellan khử acyl. Khi nhiệt độ không khí sấy là 60°C và 70°C thì độ ẩm các hạt vật liệu sấy vẫn còn khá cao, không đạt yêu cầu, sản phẩm bám nhiều vào dụng cụ sấy nên làm giảm hiệu suất thu hồi sản phẩm sau sấy. Khi nhiệt độ không khí sấy cao trên 90°C thì mặc dù đạt độ ẩm khá tốt nhưng làm cho một ít vật liệu sấy bị cháy, bám lên thành, sản phẩm sau sấy giảm mùi thơm và màu của khối hạt không đồng đều, đồng thời cũng làm giảm hiệu suất thu hồi sản phẩm sau sấy. Nhiệt độ không khí sấy 80°C là thích hợp nhất, khi đó hiệu suất thu hồi sản phẩm đạt 83,3%, độ ẩm 7,87%. Gellan khử acyl có màu trắng. Kết quả này cũng phù hợp với nhiều nghiên cứu trên thế giới cho thấy, đối với sấy gellan, nhiệt độ sấy tốt nhất là 80°C [22, 23].

Ảnh hưởng thời gian sấy: Trong quá trình sấy gellan khử acyl có thể dễ dàng nhận ra rằng, nhiệt độ và thời gian sấy có mối quan hệ qua lại với nhau, nhiệt độ càng thấp thì thời gian sấy sẽ càng lâu và ngược lại. Nhằm tiết kiệm được năng lượng dùng cho quá trình sấy, chúng tôi đã tiến hành khảo sát các thời gian sấy sản phẩm ở 12, 16, 20, 24 và 28 giờ. Kết quả về hiệu suất thu hồi sản phẩm và độ ẩm gellan khử acyl được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian sấy đến hiệu suất thu hồi gellan khử acyl.

Thời gian sấy (giờ)	Gellan khử acyl	
	Độ ẩm (%)	Hiệu suất thu hồi (%)
12	14,27	72,5
16	10,29	78,8
20	9,63	80,4
24	7,86	83,6
28	6,85	83,4

Thời gian sấy có ảnh hưởng rất lớn đến chất lượng sản phẩm sau sấy. Nếu kết thúc sấy sớm độ ẩm sản phẩm chưa đạt tối đa, nếu kết thúc muộn sẽ ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm cũng như làm tăng chi phí sản xuất. Kết quả ở bảng 3 cho thấy, độ ẩm của sản phẩm giảm dần theo thời gian sấy và đạt tối ưu sau 24 giờ, khi đó gellan có hiệu suất thu hồi sản phẩm là 83,6%, độ ẩm đạt 7,86%, kết quả này cũng phù hợp với kết quả của nhiều tác giả như Bajaj và cs (2007), Wang và cs (2006 và 2007) [1, 24, 25].

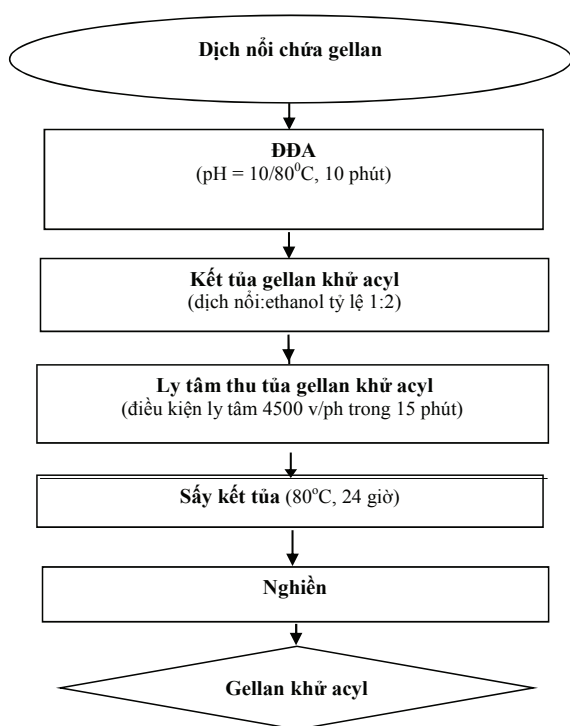
Ảnh hưởng của độ dày lớp vật liệu sấy: Độ dày lớp vật liệu sấy là một trong những yếu tố quan trọng của quá trình sấy sản phẩm. Độ dày quá lớn thì ở giữa khối ủ sẽ thiếu sự tiếp xúc với không khí, làm khô cục bộ ở bề mặt ngoài của khối sấy, còn nếu độ dày mỏng thì sẽ làm cháy vật liệu sấy, do đó ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm sấy. Thí nghiệm được tiến hành với các độ dày lớp vật liệu sấy khác nhau từ 2,5 đến 10 cm, kết quả được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của độ dày lớp vật liệu sấy đến hiệu suất thu hồi gellan khử acyl.

Độ dày lớp vật liệu sấy (cm)	Gellan khử acyl	
	Độ ẩm (%)	Hiệu suất thu hồi (%)
2,5	5,42	79,1
5,0	6,45	85,6
7,5	9,01	81,2
10	16,2	71,5

Độ dày vật liệu sấy là 7,5 và 10 cm thì quá trình sấy kém, xảy ra khô cục bộ, độ ẩm của sản phẩm sau sấy cao, không đạt yêu cầu đối với chỉ tiêu sản phẩm sấy. Khi độ dày khối ủ là 2,5 cm, độ ẩm khối ủ đạt yêu cầu, nhưng xảy ra hiện tượng cháy bề mặt, làm ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm sau sấy. Xét về mặt khoa học và kinh tế, độ dày khối sấy 5 cm là thích hợp nhất cho công nghệ sấy gellan khử acyl.

Từ các kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi đề xuất quy trình thu nhận gellan khử từ dịch lên men chủng *S. paucimobilis* GL12 như hình 3.



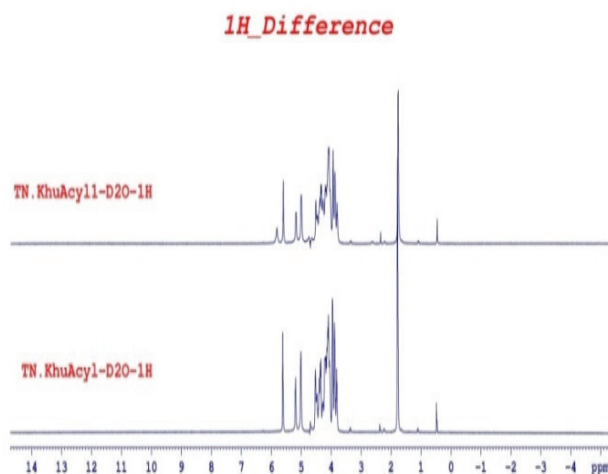
Hình 3. Quy trình công nghệ chuyển hóa gellan thành gellan khử acyl.

Từ hiệu suất của từng công đoạn trên, đã xác định được hiệu suất tổng của quá trình thu hồi chế phẩm gellan khử acyl dạng bột từ dịch lên men là 85,6%, độ ẩm đạt 6,45%, chế phẩm có dạng bột mịn, màu trắng, mùi thơm nhẹ.

Xác định cấu trúc và chất lượng gellan khử acyl thành phẩm

Xác định cấu trúc gellan khử acyl: Gellan khử acyl thu nhận theo quy trình trên đã được phân tích bằng phương pháp NMR tại Viện Hóa học (Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam).

Kết quả hình 4 cho thấy, phổ proton của gellan khử acyl do chủng *S. paucimobilis* GL12 tạo ra (ký hiệu TN.KhuAcyl1-D2O-1H) và phổ proton của gellan khử acyl chuẩn (ký hiệu TN.KhuAcyl-D2O-1H) là đồng nhất.



Hình 4. Phổ proton gellan khử acyl do chủng *S. paucimobilis* GL12 tạo ra.

Phân tích các chỉ tiêu hóa lý của gellan khử acyl: Kết quả phân tích các chỉ tiêu hóa lý, kim loại nặng và vi sinh vật của sản phẩm gellan khử acyl sau 6 tháng bảo quản tại Khoa Hóa học (Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội) và Bộ môn Thực phẩm và dinh dưỡng (Viện Công nghiệp thực phẩm) được trình bày ở bảng 5. Chế phẩm bột gellan khử acyl được đóng trong túi Al/PE với trọng lượng 50 g/túi. Chế phẩm có thể bảo quản tại nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng trực tiếp. Sản phẩm gellan khử acyl nghiên cứu có độ ẩm 6,58%, hàm lượng tro 7,31%, pH $7,0 \pm 0,2$, độ bền gel 437 g/cm², nhiệt độ bắt đầu tạo gel khoảng 35°C, gel cứng và giòn tương ứng với chế phẩm gellan khử acyl thương mại. Các chỉ tiêu vi sinh vật và kim loại nặng của chế phẩm đều đạt yêu cầu về giới hạn kim loại nặng và vi sinh vật cho phép trong thực phẩm.

Bảng 5. Kết quả phân tích chất lượng của sản phẩm gellan khử acyl.

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Gellan khử acyl của đề tài	Gellan khử acyl thương mại
Cảm quan				
Bột mịn, màu trắng sáng, vị thơm, tan trong nước				
Chỉ tiêu lý hóa				
1	Độ nhớt 1% ở 20°C	CP	40	
2	Cấu trúc gel		Gel cứng và giòn	Gel cứng và giòn
3	Nhiệt độ tạo gel	°C	35	30 đến 45
4	Độ ẩm	%	6,58	< 10
5	Hàm lượng tro	%	7,31	≤ 12
6	Độ bền gel	g/cm²	437	300-800
7	pH		7,0±0,2	6,5-8,0
Kim loại nặng				
1	Hàm lượng chì (Pb)	mg/kg	KPH	≤ 2,0
2	Hàm lượng Asen (As)	mg/kg	KPH	≤ 3,0
Vi sinh vật				
1	<i>E. coli</i>	CFU/g	KPH	KPH
2	<i>Salmonella</i>	CFU/g	KPH	KPH
3	<i>Coliforms</i>	CFU/25g	KPH	KPH
4	Tổng số vi khuẩn hiếu khí	CFU/g	7,5x10 ⁶	≤ 10 ⁴
5	Tổng số bào tử nấm men, mốc	CFU/g	KPH	≤ 4x10 ²

Ghi chú: KPH là không phát hiện, nghĩa là dưới ngưỡng phát hiện của phương pháp.

Kết luận

Đã xác định được các thông số công nghệ chuyển hóa gellan thành gellan khử acyl đạt độ deacyl 86%, quy trình có hiệu suất thu hồi là 85,6%. Chế phẩm gellan khử acyl thu được của nghiên cứu này có cấu trúc hóa học và các đặc tính hóa lý tương tự với mẫu chuẩn và mẫu thương phẩm. Các kết quả này là cơ sở quan trọng cho các nghiên cứu ứng dụng chế phẩm trong chế biến thực phẩm tiếp theo của nhóm nghiên cứu.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài “Nghiên cứu công nghệ sản xuất gellan từ vi sinh vật ứng dụng trong chế biến và bảo quản thực phẩm” (mã số ĐT.04.13/CNSHCB, Bộ Công thương). Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] B.I. Bajaj, et al. (2007), “Gellan Gum: Fermentative Production, Downstream Processing and Applications”, *Food Technol. Biotechnol.*, **45**(4), pp.341-354.
- [2] Edwin R. Morris, et al. (2012), “Gelation of gellan - A review”, *Food Hydrocolloids*, **28**, pp.373-411.
- [3] Hyuck Jin, et al. (2003), “Production of gellan gum by *Sphingomonas paucimobilis* NK2000 with soybean pomace”, *Biochemical Engineering Journal*, **16**, pp.357-360.
- [4] C. Ronnie Yuan, et al. (2015), *Calcium stable high acyl gellan gum for enhanced colloidal stability in beverages*, United States Pub. No.00443353.

[5] P. Jansson, B. Lingberg (1983), “Structural studies of gellan gum, an extracellular polysaccharide elaborated by *Pseudomonas elodea*”, *Carbohydrate Research*, **124**, pp.135-139.

[6] D.L. Taylor, et al. (2012), “Characterization of gellan gum by capillary electrophoresis”, *Australian Journal of Chemistry*, **65**(8), pp.1156-1164.

[7] Iurciuc, et al. (2015), “Gellan food applications”, *Cellulose Chem. Technol.*, **50**, pp.1-13.

[8] Vasiliki Evageliou, Dimitra Saliari (2017), “Limonene encapsulation in freeze dried gellan systems”, *Food Chemistry*, **223**, pp.72-75.

[9] K.S. Kang, G.T. Veeder (1982), *Polysaccharide S-60 and bacterial fermentation process for its preparation*, US patent 43377636.

[10] T.P. West (2003), “Effect of temperature on bacterial gellan production”, *World J. of Microbiology & Biotechnology*, **19**, pp.649-652.

[11] M.S. Tappia, et al. (2008), “Use of alginate- and gellan-based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya”, *Food Hydrocolloids*, **22**, pp.1493-1503.

[12] T.A. Trezza, J.M. Krochta (2000), “Color stability of edible coatings during prolonged storage”, *Journal of Food Science*, **65**(1), pp.1166-1169.

[13] R. Mao, et al. (2000), “Texture properties of high and low acyl mixed gellan gels”, *Carbohydrate Polymers*, **41**, pp.331-338.

[14] Nguyễn Thị Hồng Hà, Nguyễn Thị Thu Huyền, Vũ Thu Diễm, Nguyễn Thị Xuân Sâm (2017), “Tối ưu hóa điều kiện lên men gellan từ chủng *S. paucimobilis* GL12”, *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn*, **22**, tr.48-54.

[15] Horace Graham (1993), “Mg²⁺ selectively isolates gellan gum from dairy products”, *Journal of Food Science*, **58**(3), pp.539-543.

[16] A. Baxter, et al. (1992), “Improved method for i.r. determination of the degree of N-acetylation of chitosan”, *International J. of Biological Macromolecules*, **14**, pp.166-169.

[17] A.M. Fialho, et al. (1999), “Structures and properties of gellan polymers produced by *Sphingomonas paucimobilis* ATCC 31461 from lactose compared with those produced from glucose and from cheese whey”, *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, pp. 2485-2491.

[18] K.S. Kang, et al. (1982), *Deacetylated polysaccharide S-60*, US Patent 4326052.

[19] I.C. Stewart (2006), *Tissue culture gel firmness: Measurement and effects on growth*, Plant Tissue Culture Engineering, pp.329-337.

[20] Đặng Xuân Dư (2015), *Nghiên cứu cắt mạch chitosan bằng hiệu ứng ống vận H₂O/bức xạ coban - 60 để chế tạo oligochitosan*, Luận án tiến sĩ, Đại học Huế.

[21] Đặng Minh Nhật và cs (2005), *Kỹ thuật sấy nông sản thực phẩm*, Đại học Đà Nẵng.

[22] R.M. Banik, A. Santhiagu (2006), “Improvement in production and quality of gellan gum by *Sphingomonas paucimobilis* under high dissolved oxygen tension levels”, *Biotechnol. Lett.*, **28**, pp.1347-1350.

[23] M.K. Nampoothiri, C. Reeta Rani Singhanian (2003), “Fermentative production of gellan using *Sphingomonas paucimobilis*”, *Process Biochemistry*, **38**, pp.1513-1519.

[24] X. Wang (2006), “Modeling for gellan gum production by *Sphingomonas paucimobilis* ATCC 31461 in a simplified medium”, *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**(5), pp.3367-3374.

[25] X. Wang, et al. (2007), “De-proteinization of gellan gum produced by *Sphingomonas paucimobilis* ATCC 31461”, *J. Biotechnol.*, **128**, pp.403-407.