# NGHIÊN CỨU HOÀN THIỆN QUY TRÌNH LÊN MEN TỎI ĐEN TỪ TỎI TRẮNG

**PGS.TS. NGUYỄN ĐỨC VƯỢNG**
**ThS. NGUYỄN MẬU THÀNH**
**NGUYỄN ĐỨC MINH**
Trường Đại học Quảng Bình

**1. Giới thiệu**

Từ lâu, tỏi được xem như là phương thuốc truyền thống, giúp tăng cường sức đề kháng, ngăn chặn bệnh tiêu chảy, hạn chế giun sán, xử lý các bệnh về tim mạch, viêm khớp và mệt mỏi [1]. Thành phần chính trong tỏi có nhiều ảnh hưởng là các hợp chất hữu cơ chứa lưu huỳnh và các enzyme có hoạt tính sinh học. Trong số chúng, allicin được xem như là một loại thuốc bởi nó có khả năng chống vi khuẩn, tiêu diệt các khối u, chống bệnh mỡ máu. Mặc dù tỏi đã được dùng rộng rãi như là một loại gia vị và thuốc chữa bệnh nhưng tỏi vẫn bị hạn chế bởi mùi và vị khó chịu của nó. Tuy nhiên, mùi và vị khó chịu này có thể biến mất thông qua quá trình xử lý nhiệt. Dựa trên cơ sở này người ta lên men tạo tỏi đen bằng nhiệt nhằm cải thiện mùi vị và chất lượng của tỏi, đặc biệt có thể tạo nên tỏi đen với những chức năng mới. Thông qua quá trình lên men bằng nhiệt, các hợp chất kém bền và có mùi khó chịu trong tỏi trắng sẽ chuyển thành các hợp chất bền và không có mùi, tỏi đen thường có vị ngọt - chua thay thế cho các mùi và vị khác trong tỏi trắng. Trong số đó phải kể đến những hợp chất có khả năng chống oxi hóa hòa tan được trong nước như S-allyl cysteine, ankaloid, flavonoid [2].

Với nhiều lý do trên mà hiện nay tỏi đen đang dần dần thay thế cho tỏi trắng bởi hàm lượng chất dinh dưỡng của nó rất cao, đặc biệt là các chất chống oxi hóa. Nhiều báo cáo đã chỉ ra rằng, tỏi đen có khả năng chống oxi hóa mạnh hơn so với tỏi trắng và có khả năng ngăn chặn sự chuyển hóa của các loại bệnh và sự tổn thương gan do bia rượu.

Ở Việt Nam cũng đã có một số công trình nghiên cứu về tỏi đen như tỏi đen của Học viện Quân y, tỏi đen của Trường Đại học Bách khoa Hà Nội. Kết quả cho thấy, hàm lượng một số chất tăng: gluxit tăng 1,6 lần, S-allyl cysteine tăng 6 lần. Trên thế giới, tỏi đen được nghiên cứu từ lâu và tập trung vào các nội dung như nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men tỏi đen [1, 4], xác định hàm lượng một số chất trong tỏi đen [3, 5], chiết các hợp chất chống oxi hóa từ tỏi đen [6], thử hoạt tính sinh học của một số hợp chất trong tỏi đen [6, 7]. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, hàm lượng các chất trong tỏi đen sau khi được lên men phụ thuộc nhiều vào quy trình công nghệ (nhiệt độ, thời gian). Vì vậy, việc lựa chọn các điều kiện lên men để thu được sản phẩm có chất lượng đòi hỏi phải tìm hiểu kỹ lưỡng nhằm hoàn thiện quy trình lên men tỏi đen. Bên cạnh đó việc xác định và đánh giá các hợp chất có hoạt tính sinh học trong tỏi đen như polyphenol, S-allyl cysteine là rất cần thiết. Chính vì vậy, trong bài viết này chúng tôi muốn hoàn thiện quy trình lên men tự nhiên tỏi đen, đồng thời xác định hàm lượng các chất trong tỏi đen và tỏi trắng để đánh giá quy trình lên men tỏi đen có phù hợp hay không. Đây là kết quả nghiên cứu của nhiệm vụ sự nghiệp KH&CN "Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất rượu tỏi đen" do trường Đại học Quảng Bình chủ trì thực hiện.

**2. Thực nghiệm**

***2.1. Nguyên liệu và hóa chất***

- Tỏi trắng được thu mua tại địa bàn tỉnh Quảng Bình trong năm 2016. Tỏi sau khi thu

mua xong thì để khô, làm sạch, chọn các củ tỏi có tép tỏi chắc.

- Hóa chất: $K[Fe(CN)_6]$, $(CH_3COO)_2Zn$, NaOH, thuốc thử Folin-Ciocalteu, $Na_2CO_3$, nước cất. Tất cả các hóa chất trên dùng trong quá trình phân tích và dung dịch của chúng được chuẩn bị bằng cách hòa tan chúng vào nước.

***2.2. Thiết bị***

- Máy điều nhiệt: Sử dụng các máy điều nhiệt tại phòng thí nghiệm Sinh học, Kỹ thuật công nghệ, Trường Đại học Quảng Bình.

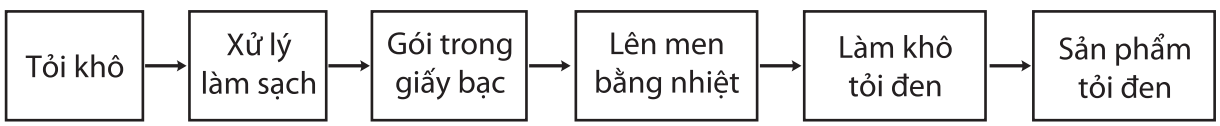
- Máy phân tích: Các phép phân tích được thực hiện tại Viện Dược liệu – Bộ Y tế.

**3. Kết quả và thảo luận**

***3.1. Quy trình lên men tỏi đen***

Sau khi nghiên cứu tổng quan về tình hình lên men tỏi đen từ tỏi trắng ở trong và ngoài nước, chúng tôi đã tiến hành lên men tỏi đen theo quy trình như sau (Hình 1):

**Hình 1: Quá trình lên men tỏi đen**




Nguyên liệu dùng để lên men tạo tỏi đen là những củ tỏi tươi sau khi thu mua tại các địa bàn ở Quảng Bình đã được phơi khô. Tỏi khô được chúng tôi lựa chọn và phân loại theo nguyên tắc chọn những củ tỏi to tròn, tép chắc, vỏ trắng, không mọc mầm. Sau đó làm sạch lớp đất, bụi bám trên vỏ và cắt ngắn cuống, rễ tỏi. Cần đảm bảo tỏi đã khô (độ ẩm khoảng 80%) để tránh tình trạng khi lên men tỏi đen bị nhão do trong tỏi còn chứa nhiều nước nên khi lên men sẽ làm nước bay hơi và ngưng tụ lại. Sắp xếp các củ tỏi vào trong giấy bạc rồi gói lại để khi lên men nhiệt được giữ cố định. Cho tỏi vào máy ủ nhiệt và điều chỉnh nhiệt độ đến $70^0$C trong thời gian từ 35-45 ngày là tỏi được lên men hoàn toàn. Sau khoảng thời gian trên thì đem tỏi đen ra khu vực thoáng khí để làm khô tỏi đen.

Theo dõi quá trình lên men tỏi (Hình 2), chúng tôi thấy có sự chuyển màu như sau: Sau 4 ngày lên men, màu trắng sáng của tỏi giảm dần, đồng thời màu đỏ tăng dần và lúc này tỏi vẫn còn vị nồng; ngày thứ 14 màu đỏ của tỏi tăng mạnh hơn và các tép tỏi đã có màu nâu nhạt, vị nồng của tỏi đã dịu hơn; ngày thứ 24 tỏi đã chuyển hẳn sang nâu sẫm, tép tỏi dẻo và có vị chua - ngọt; ngày thứ 45 tỏi đã chuyển hoàn toàn thành màu đen và có vị ngọt đậm hơn. Trong suốt quá trình lên men, màu đen của tỏi được hình thành không phải do phản ứng tạo màu của enzyme và phụ thuộc nhiều vào nhiệt độ của quá trình lên men. Trong quá trình này melanoidin được hình thành do phản ứng Maillard, là phản ứng xảy ra giữa đường và

**Hình 2: Màu sắc tỏi qua các thời gian lên men**

axit amin. Melanoidin là một polyme có khối lượng phân tử lớn và có màu nâu. Như vậy, sự chuyển màu của tỏi từ trắng sang đen là do phản ứng Maillard. Tỏi đen có vị ngọt là do hàm lượng đường trong tỏi tăng lên, đồng thời nó cũng có vị chua là do pH của tỏi giảm xuống. Theo kết quả nghiên cứu của Choi và cộng sự [3] cho thấy, tỏi trắng có giá trị pH = 6,33. Trong quá trình lên men, giá trị pH giảm dần từ 5,49 đến 3,74. Giá trị pH giảm cũng đồng nghĩa với hàm lượng axit tổng trong tỏi đen tăng lên trong quá trình lên men (từ 1,3 mg/kg trong ngày thứ 7 lên đến 2,6 mg/kg trong ngày thứ 35). Zhang và cộng sự [4] cho rằng, nếu thời gian lên men nhanh thì màu của tỏi sẽ chuyển từ trắng thành nâu nhạt, đồng thời xuất hiện các đốm trắng phân bố không đồng đều, còn khi tiến hành lên men với thời gian trung bình, màu sẽ chuyển từ nâu nhạt sang nâu sẫm và sản phẩm tỏi đen thu được vẫn thấy xuất hiện các đốm trắng. Tuy nhiên khi tiến hành lên men trong thời gian dài, màu của tỏi đen sẽ chuyển từ nâu sẫm thành đen.

Từ kết quả trên, chúng tôi lựa chọn quy trình lên men tối ưu với điều kiện nhiệt độ 70$^0$C và thời gian lên men là 35-45 ngày.

***3.2. Hàm lượng các chất trong tỏi trắng***

*3.2.1. Gluxit*

Gluxit hay cacbohydrat bao gồm đường, tinh bột, xenlulozơ và các hợp chất của cacbon và hydro. Trong quá trình lên men thì đường, tinh bột, xenlulozơ sẽ chuyển hóa thành đường fructozơ làm cho tỏi đen có vị ngọt. Đây là nguyên nhân làm cho tỏi đen sau khi lên men hoàn toàn có vị ngọt dễ chịu.

Chúng tôi tiến hành xác định hàm lượng gluxit trong tỏi trắng theo phương pháp Sadasivam và Manickam (1992). Thông qua phương pháp phân tích trên, hàm lượng gluxit trong tỏi tươi là 16,2g/100g (chiếm 16,2%). Kết quả này cho thấy hàm lượng gluxit trong tỏi tươi của chúng tôi nghiên cứu có giá trị thấp hơn nhiều so với trong tỏi tươi ở đảo Lý Sơn (chiếm 28,7%) được nghiên cứu bởi Học viện Quân y. Nghiên cứu của Jin-ichi Sasaki và cộng sự [12] chỉ ra rằng, hàm lượng của cacbohydrat trong tỏi trắng là 28,7%. Kết quả nghiên cứu của Choi và cộng sự [2] về hàm lượng đường

**Hình 3: Tép tỏi đen**

khử trên tỏi tươi được lấy ở Gyeongsangbuk-do, Hàn Quốc là 1,52 g/kg. Lượng đường khử ở đây chính là tất cả các loại đường có chứa tác nhân khử là các nhóm andehit và xeton. Do đó đường khử bao gồm tất cả các monosaccarit (glucozơ, fructozơ, galactozơ) và một số disaccarit (mantozơ, lactozơ), oligosaccarit, polysaccarit nên hàm lượng thấp hơn so với hàm lượng gluxit. Đường khử tham gia phản ứng với các amino axit trong phản ứng Maillard để tạo màu đen cho tỏi vì vậy mà được các nhà khoa học rất quan tâm.

*3.2.2. Polyphenol*

Trái với các phân tử phenol có cấu trúc nhỏ, polyphenol thường là các đại phân tử được lưu giữ trong các hốc của tế bào. Polyphenol có chứa các hợp chất phenol như pyrocatechol, resorcinol, pyrogallol, phloroglucinol. Polyphenol luôn chứa các nguyên tử hoặc nhóm nguyên tử khác nhau như nhóm hydroxy, ete và este do sự kết hợp của các phân tử với nhau.

Để xác định hàm lượng polyphenol tổng trong tỏi trắng, chúng tôi sử dụng phương pháp Anesini (2008). Hàm lượng polyphenol tổng được xác định trong tỏi tươi là 48,3mg/g (chiếm 4,83%). Kết quả này cao hơn so với một số nghiên cứu trước đây như Angeles và cộng sự [5] đã công bố hàm lượng polyphenol tổng trong tỏi trắng là 5,13 mg/g, Choi và cộng sự [3] đã xác định được hàm lượng polyphenol tổng trong tỏi trắng tại Hàn Quốc là 13,91 mg/g.

*3.2.3. S-allyl cysteine (SAC)*

SAC là một hợp chất hữu cơ, là thành phần tự nhiên của tỏi tươi. Đây cũng là dẫn xuất của amino axit cysteine với nguyên tử lưu huỳnh

được thêm vào gốc allyl. SAC là một chất chống oxi hóa, có khả năng ngăn chặn sự phát triển của các tế bào ung thư, giảm cholesterol, điều chỉnh lượng lipit.

Hàm lượng SAC được xác định theo phương pháp của Cho (2012). Hàm lượng SAC trong tỏi tươi là 0,38 mg/g (chiếm 0,038%). Theo kết quả nghiên cứu của Jin-ichi Sasaki[6] thì hàm lượng SAC trong tỏi trắng là 23,7 µg/g. Giá trị này thấp hơn so với kết quả của chúng tôi hơn 10 lần. Kết quả của nhóm nghiên cứu Sang Eun Bae [7] thì tỏi trắng ở vùng Uiseong, Hàn Quốc có hàm lượng SAC là 19,61 µg/g. Như vậy kết quả của chúng tôi cho thấy, tỏi trắng thu mua ở khu vực tỉnh Quảng Bình có hàm lượng SAC rất cao so với tỏi trắng của Hàn Quốc.

***3.3. Hàm lượng các chất trong tỏi đen***

*3.3.1. Gluxit*

Sau khi lên men tự nhiên tỏi tươi tạo tỏi đen, chúng tôi tiến hành xác định hàm lượng gluxit trong tỏi đen và so sánh với hàm lượng gluxit trong tỏi tươi. Kết quả cho thấy, hàm lượng gluxit trong tỏi đen là 22,8g/100g (chiếm 22,8%). Hàm lượng gluxit trong tỏi đen của chúng tôi thấp hơn so với tỏi đen Lý Sơn – Học viện Quân y (chiếm 47,9%) và tỏi đen – Trường Đại học Bách khoa Hà Nội (chiếm 50,6%) nhưng mức độ tăng của lượng gluxit từ tỏi tươi thành tỏi đen là tương tự nhau. Trong nghiên cứu của chúng tôi, hàm lượng gluxit sau khi lên men thành tỏi đen tăng 1,4 lần, trong khi đó của Học viện Quân y là 1,6 lần.

*3.3.2. Polyphenol*

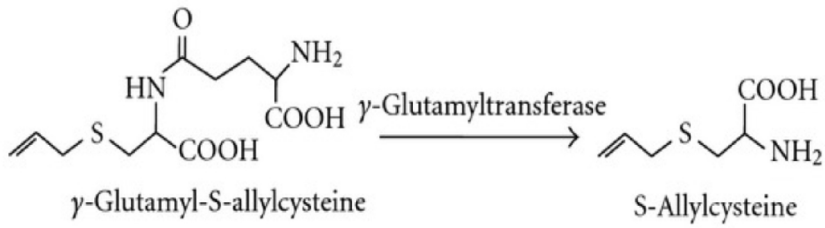
Hàm lượng polyphenol tổng trong tỏi đen được lên men theo quy trình của chúng tôi là 247,5mg/g (chiếm 24,75%) và tăng 5,12 lần so với tỏi trắng. Một số nghiên cứu cho thấy, một số thành phần hóa học tăng lên trong suốt quá trình lên men, đặc biệt là polyphenol. Theo Kim và cộng sự thì hàm lượng polyphenol trong tỏi đen tăng lên khoảng 5 lần. Kết quả nghiên cứu của Choi chỉ ra rằng, hàm lượng polyphenol tăng lên 4,19 lần sau 21 ngày lên men tạo tỏi đen (từ 13,91mg/g lên 58,33mg/g) nhưng sau đó thì hàm lượng này giảm dần, đến ngày thứ 35 thì còn 48,35mg/g. Tỏi đen được lên men theo công nghệ của Trường Đại học Bách khoa Hà Nội có hàm lượng polyphenol là 2.040mg/100g, thấp hơn so với tỏi đen được lên men theo quy trình công nghệ của chúng tôi.

*3.3.3. S-allyl cysteine (SAC)*

Kết quả phân tích đã xác định được hàm lượng SAC trong tỏi đen là 6,72mg/g (chiếm 0,672%) và giá trị này tăng lên 17 lần so với tỏi trắng. Hàm lượng SAC trong tỏi đen được lên men theo quy trình nghiên cứu của chúng tôi cao hơn nhiều so với tỏi đen được lên men theo quy trình công nghệ của Trường Đại học Bách khoa Hà Nội (390µ/g) và tỏi đen của Hàn Quốc, Nhật Bản (20-300 µ/g). Tỏi đen lên men theo công nghệ của Học viện Quân y có hàm lượng SAC tăng lên 6 lần. Nhiều công trình nghiên cứu trên thế giới cũng chỉ rõ hàm lượng SAC tăng trong quá trình lên men nhưng mức độ tăng là khác nhau. Theo kết quả nghiên cứu của Sang Eun Bae và cộng sự thì hàm lượng SAC tăng trong quá trình lên men và các mẫu tỏi lên men ở nhiệt độ thấp hơn có hàm lượng SAC cao hơn so với mẫu tỏi đen được lên men ở nhiệt độ cao. Ở nhiệt độ lên men là $40^0$C và thời gian lên men 45 ngày, hàm lượng SAC tăng lên hơn 6 lần (từ 19,61 µ/g lên 124,67 µ/g). SAC được hình thành do quá trình chuyển hóa của γ-glutamyl-S-allyl-L-cysteines (GSAC, $C_{11}H_{18}N_2O_5S$) nhờ enzym chuyển hóa khi có mặt xúc tác γ-glutamyltranspeptidase (γ-GTP) [8].

Vì thế trong quá trình lên men tỏi trắng thành tỏi đen hàm lượng SAC tăng lên, đồng thời hàm lượng γ-glutamyl-S-allyl-L-cysteines giảm xuống. Jin-ichi Sasaki và cộng sự [6] đã chỉ ra rằng, hàm lượng SAC trong tỏi đen tăng khoảng 8 lần (từ 23,7 µg/g lên 194,3

µg/g) đồng thời hàm lượng GSAC giảm khoảng 3 lần (từ 748,7 µg/g xuống 247,8 µg/g).




γ-Glutamyl-S-allylcysteine — S-Allylcysteine

**4. Kết luận**

Chúng tôi đã hoàn thiện quy trình lên men tự nhiên tỏi đen và đánh giá hàm lượng một số chất trong tỏi đen và tỏi trắng. Kết quả được tóm tắt lại như sau:

- Hoàn thiện quy trình lên men tự nhiên bằng nhiệt để chuyển tỏi trắng thành tỏi đen. Tiến hành lên men trong điều kiện 70$^0$C và thời gian lên men từ 35-45 ngày chúng tôi đã thu được tỏi đen có chất lượng cao.

- Sản phẩm tỏi đen thu được sau khi lên men được chúng tôi tiến hành sản xuất rượu tỏi đen. Với 30kg tỏi đen và 100 lít rượu sản xuất từ men riềng, chúng tôi đã ngâm được 100 lít rượu tỏi đen.

- Đánh giá hàm lượng một số chất: gluxit, polyphenol, S-allyl cysteine trong tỏi trắng và tỏi đen. Trong đó hàm lượng gluxit, polyphenol, s-allyl cysteine trong tỏi trắng lần lượt là 16,2 g/100g; 48,3 mg/g; 0,38 mg/g. Hàm lượng gluxit, polyphenol và S-allyl cysteine tăng lên trong suốt quá trình lên men. Hàm lượng của gluxit tăng khoảng 1,4 lần (từ 16,2 g/100g lên 22,8 g/100g), polyphenol tổng tăng 5,12 lần (từ 48,3 mg/g lên 247,5 mg/g), S-allyl cysteine tăng 17 lần (từ 0,38 mg/g lên 6,72 mg/g).

Với những giá trị đã đạt được, chúng tôi cho rằng quy trình lên men tự nhiên tỏi đen bằng nhiệt của chúng tôi đã hoàn thiện và có chất lượng cao ■

**Tài liệu tham khảo:**

1. Banerjee, S.K.; Maulik, S.K (2002). "Effect of garlic on cardiovascular isorders: A review". *Nutr. J*, *1*, 1-14.

2. Corzo-Martínez, M.; Corzo, N.; Villamiel, M (2007). "Biological properties of onions and garlic". *Trends Food Sci. Technol*, *18*, 609-625.

3. Choi, Il Sook, et al (2014). "Physicochemical and antioxidant properties of black garlic." *Molecules* 19.10: 16811-16823.

4. Zhang, Xinyan, et al (2015). "Effects of temperature on the quality of black garlic."*Journal of the Science of Food and Agriculture* .

5. Medina, M. Angeles Toledano, et al (2016). "Evolution of some physicochemical and antioxidant properties of black garlic whole bulbs and peeled cloves." *Food chemistry* 199: 135-139.

6. Sasaki, Jin-ichi, et al (2007). "Processed black garlic (Allium sativum) extracts enhance anti-tumor potency against mouse tumors." *Energy (kcal/100 g),* 227, 138.

7. Bae, Sang Eun, et al (2014). "Changes in S-allyl cysteine contents and physicochemical properties of black garlic during heat treatment." *LWT-Food Science and Technology* 55.1, 397-402.

8. Hanum, T, et al. (1995). "Characteristics of γ-glutamyl transpeptidase and alliinase of onion and their effects on the enhancement of pyruvate formation in onion macerates". *Journal of Food Biochemistry*, 19, 51- 65.