

NGHIÊN CỨU SỰ ỔN ĐỊNH CỦA ACID ASCORBIC TRONG ĐIỀU KIỆN XỬ LÝ NHIỆT KẾT HỢP VỚI ÁP SUẤT CAO (MÔ HÌNH MẪU)

Nguyễn Minh Thủy¹

¹ Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 05/08/2014

Ngày chấp nhận: 27/04/2015

Title:

Model studies on the stability of ascorbic acid degradation during thermal treatment in combination with high pressure

Từ khóa:

Acid ascorbic, Áp suất, Độ bền, Động học, Nhiệt

Keywords:

Ascorbic acid, Kinetics, Pressure, Stability, Thermal degradation

ABSTRACT

Thermal and combined high pressure-thermal degradation kinetics of ascorbic acid in sodium acetate buffer (0.2 M, pH 5.0) and sodium phosphate buffer (0.1 M, pH 7.0) were studied at different molar ratios between oxygen and ascorbic acid. Thermal degradation of ascorbic acid could be described by a biphasic model, suggesting that the degradation occurred through aerobic and anaerobic pathways. It was observed that the ascorbic acid degradation had already occurred during pressure build up probably due to oxidation (aerobic degradation). When the oxygen was totally used up, the anaerobic degradation dominated and took place much more slowly than aerobic degradation. Thus, it seemed that ascorbic acid was stable at pressures up to 700 MPa combined with temperatures up to 70°C (up to 100 min of treatment after pressure build up). However, ascorbic acid was degraded at extreme pressure temperature combinations such as temperatures above 70°C combined with pressures above 700 MPa. The molar ratio between ascorbic acid and oxygen was an important parameter to estimate the proportion of ascorbic acid aerobic degradation and to determine the concentration of ascorbic acid needed to protect other nutrients during processing.

TÓM TẮT

Động học phân hủy nhiệt và kết hợp nhiệt độ – áp suất của acid ascorbic (với tỷ lệ phân tử giữa oxy và acid ascorbic khác nhau) trong dung dịch đệm acetate (0,2 M, pH 5,0) và phosphate (0,1 M, pH 7,0) đã được nghiên cứu. Sự phân hủy nhiệt của acid ascorbic (AA) có thể được mô tả theo mô hình hai giai đoạn, cho thấy sự phân hủy xảy ra thông qua con đường hiếu khí và kỵ khí. Hơn nữa, sự phân hủy AA xảy ra ngay trong giai đoạn gia áp khi xử lý áp suất, chủ yếu do quá trình oxy hóa (phân hủy hiếu khí). Khi oxy được tiêu thụ hết trong phản ứng, sự phân hủy yếm khí chiếm ưu thế và diễn ra chậm hơn rất nhiều so với phân hủy hiếu khí. Do đó, acid ascorbic thể hiện khả năng ổn định ở áp suất cao (700 MPa kết hợp với nhiệt độ lên đến 70°C) sau 100 phút xử lý. Tuy nhiên, AA bị phân hủy ở điều kiện kết hợp nhiệt và áp suất cực cao, nhiệt độ trên 70°C kết hợp với áp suất trên 700 MPa. Tỷ lệ phân tử giữa acid ascorbic và oxy là thông số quan trọng để ước tính hàm lượng acid ascorbic bị phân hủy hiếu khí và để xác định nồng độ acid ascorbic cần thiết để bảo vệ các chất dinh dưỡng khác trong quá trình chế biến.

1 GIỚI THIỆU

Rau quả là nguồn chính của vitamin C trong chế độ ăn của con người. Hàm lượng vitamin C được đánh giá dựa vào hàm lượng acid ascorbic (AA) và dạng oxy hóa của nó (DHAA), hợp chất này cũng cho thấy hoạt tính sinh học tương tự như AA. Tuy nhiên, trong quá trình chế biến, AA dễ dàng bị oxy hóa một cách thuận nghịch để chuyển thành DHAA. Phản ứng thủy phân không nghịch đảo của DHAA sẽ tạo thành 2,3 acid diketogulonic liên quan đến sự tổn thất hoạt tính vitamin C (Tauscher, 1995). Nhiều nghiên cứu cho thấy AA nhạy cảm với nhiệt, có thể dễ dàng bị phá hủy trong chế biến và bảo quản thực phẩm. Các tác động ảnh hưởng đến sự ổn định vitamin C bao gồm nhiệt độ, hàm lượng oxy, pH và ánh sáng (Ottaway, 2002). Các thông tin về sự ổn định của vitamin C trong dung dịch đậm và mô hình thực phẩm đã được công bố (Taoukis *et al.*, 1998; Van den Broeck *et al.*, 1998; Vieira *et al.*, 2001), tuy nhiên kết quả về độ bền và động học phân hủy của AA trong quá trình chế biến vẫn còn nhiều mâu thuẫn (Wilson *et al.*, 1995; Roig *et al.*, 1995; Van den Broeck *et al.*, 1998; Vieira *et al.*, 2000; Rojas và Gerschenson, 2001; Blasco *et al.*, 2004). Ngoài ra, các thông tin về động học phân hủy AA trong điều kiện xử lý kết hợp nhiệt và áp suất vẫn còn hạn chế. Nhằm đánh giá tác động của quá trình chế biến nhiệt và áp suất cao đến sự ổn định của vitamin C, sự phân hủy AA trong mô hình mẫu được nghiên cứu dưới điều kiện đẳng áp và đẳng nhiệt - đẳng áp trên cơ sở động học. Ảnh hưởng của pH và tỷ lệ phân tử giữa oxy và AA đến sự ổn định của AA cũng được đánh giá.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Chuẩn bị mẫu

AA tinh khiết (khối lượng phân tử = 176,13, p.a., Merck, Darmstadt, Germany) được sử dụng cho nghiên cứu này. Với từng thí nghiệm, dung dịch AA được chuẩn bị hàng ngày bằng cách hòa tan AA (50, 100, 250, 500 µg/ml) trong dung dịch đệm acetate (0,2 M, pH 5,0) hoặc đệm phosphate (0,1 M, pH 7,0) trong bể điều nhiệt (25°C). Sau khi chuẩn bị mẫu và trước khi xử lý nhiệt, dung dịch AA với các nồng độ khác nhau được sục không khí ẩm (tốc độ dòng chảy = 350 cc/phút) trong 20 phút ở 25°C để đạt được khoảng 8,0 ppm oxy hòa tan (\approx 0,25 mM) trong các mẫu. Sau đó nồng độ oxy được đo bằng dụng cụ đo Strathkelvin oxygen meter (model 782, Glasgow, Scotland). Các mẫu được cho vào microtube bằng nhựa dẻo 0,3 mL (Elkay,

Leuven, Belgium) và được xử lý nhiệt hoặc xử lý kết hợp nhiệt độ và áp suất.

2.2 Xử lý nhiệt

Thí nghiệm xử lý nhiệt được thực hiện trong bể điều nhiệt bằng nước (khi nhiệt độ < 90°C) hoặc bằng dầu (khi nhiệt độ \geq 90°C). Mẫu được chuẩn bị (như đã đề cập) và được xử lý ở các nhiệt độ 80, 90 và 100°C. Sau mỗi thời gian xử lý nhiệt, các mẫu được giữ trong nitơ lỏng để hạn chế sự phân hủy tiếp theo. Sau đó, đo hàm lượng acid ascorbic còn lại ở các mẫu xử lý bằng hệ thống Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Mẫu trắng (C₀) là mẫu không xử lý nhiệt. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.3 Xử lý kết hợp nhiệt và áp suất

Mẫu sau khi được chuẩn bị sẽ xử lý trong hệ thống áp suất cao ở quy mô pilot (thiết bị áp suất cao multivessel Resato, Roden, Hà Lan), bao gồm sáu bộ phận điều nhiệt thể tích 40 ml có thể chịu được áp lực lên đến 800 MPa kết hợp với nhiệt độ từ 40 đến 70°C. Để nghiên cứu động học phân hủy của AA, sự kết hợp áp suất (400 - 750 MPa) và nhiệt độ (70 - 80°C) được thực hiện. Mẫu AA trong 0,3 ml ống nhựa dẻo (Elkay, Leuven, Bỉ) được cho vào các bình áp lực đã được cân bằng ở nhiệt độ mong muốn. Sau khi đủ thời gian gia áp, mẫu được giữ trong bình 2 phút và sau đó được trữ trong nitơ lỏng cho đến khi đo nồng độ AA còn lại bằng HPLC. Mỗi thí nghiệm xử lý được thực hiện ba lần.

2.4 Xác định và định lượng hàm lượng AA bằng hệ thống Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC - High Performance Liquid Chromatography)

Hệ thống HPLC (1200 Series Agilent Technology) sử dụng cột sắc ký RP-C₁₈ (Eclipse XDB-C₁₈, 5µm, 4,6 x 150 mm, Agilent Technologies, Germany) và phần mềm ChemStation để xác định và định lượng AA. Nhiệt độ của cột sắc ký được duy trì ở 25°C. AA được dò tìm bằng đầu dò UV ở bước sóng 254 nm. Pha động (eluent) là hỗn hợp dung dịch đệm acid acetic (10 mM, pH 3,0) và 1 mM Na₂EDTA với tốc độ dòng chảy 0,4 ml/min. Mẫu được tiêm tự động với thể tích 20 µL. Đỉnh (peak) AA được tìm thấy ở thời gian lưu khoảng từ 2,7 đến 3,0 phút sau khi mẫu được tiêm. Hàm lượng AA được tính toán dựa vào diện tích đỉnh AA so với đường chuẩn đã được xây dựng. Hệ số tương quan (r^2) của đường chuẩn trong nghiên cứu này là > 0,98.

2.5 Phân tích dữ liệu

Sự phân hủy động học của AA hầu hết tuân theo mô hình động học bậc 1 (Viberg *et al.*, 1997; Van den Broeck *et al.*, 1998; Karhan *et al.*, 2004; Özkan *et al.*, 2004). Dưới điều kiện đẳng nhiệt, tốc độ hằng số phân hủy k có thể được tính toán dựa trên phương trình 1.

$$C_t = C_o \exp(-kt) \quad (1)$$

Trong đó C_t là hàm lượng còn lại của AA ở thời gian xử lý t (mM); C_o là hàm lượng AA ban đầu (mM); k là hằng số tốc độ phân hủy và t là thời gian xử lý (phút).

Khi có sự hiện diện của oxy, AA có thể phân hủy theo hai con đường hiếu khí và yếm khí mà mỗi con đường phản ứng tuân theo mô hình động học bậc 1. Do đó, phương trình 1 có thể được sửa đổi thành phương trình 2.

$$C_t = C_a \exp(-k_a t) + C_{an} \exp(-k_{an} t) \quad (2)$$

Trong đó C_a là tỷ lệ phân hủy hiếu khí (% hoặc mM); C_{an} là tỷ lệ phân hủy yếm khí (% hoặc mM); k_a là hằng số tốc độ phân hủy hiếu khí và k_{an} là hằng số tốc độ phân hủy yếm khí. Các thông số động học này có thể được ước tính bằng phương pháp phân tích hồi quy phi tuyến tính. Sự phụ thuộc nhiệt độ của hằng số tốc độ phân hủy k được ước tính là năng lượng hoạt hóa (E_a) từ phương trình Arrhenius (phương trình 3).

$$\ln(k) = \ln(k_{ref}) + \left[\frac{E_a}{R_T} \left(\frac{1}{T_{ref}} - \frac{1}{T} \right) \right] \quad (3)$$

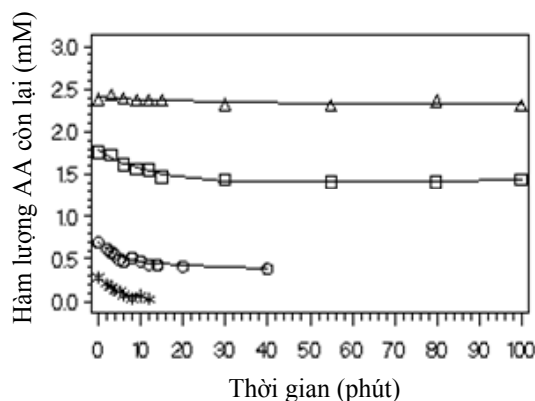
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của quá trình xử lý nhiệt đến độ bền của AA

3.1.1 Ảnh hưởng của tỷ lệ phân tử giữa oxy và AA đến độ bền của AA

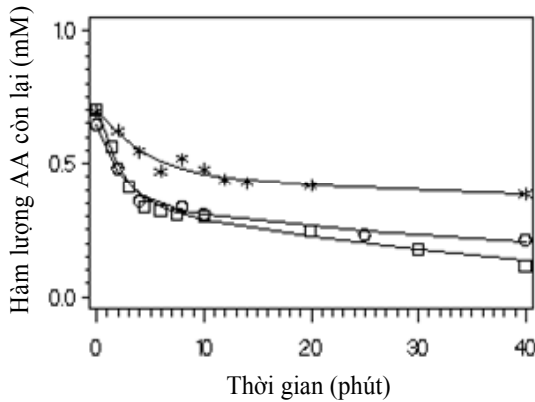
Ảnh hưởng của tỷ lệ phân tử giữa oxy và AA đến độ bền của vitamin trong dung dịch đệm acetate (0,2 M, pH 5,0) và phosphate (0,1 M, pH 7,0) trong quá trình xử lý nhiệt được nghiên cứu. Hàm lượng ban đầu của oxy hòa tan trong các mẫu là 0,25 mM và hàm lượng của AA là 50 µg/ml (≈ 0,28 mM), 100 µg/ml (≈ 0,57 mM), 250 µg/ml

(≈ 1,42 mM) và 500 µg/ml (≈ 2,84 mM). Sự giảm hàm lượng AA (thể hiện như là hàm số của thời gian ở nhiệt độ cố định) xảy ra theo hai giai đoạn, được minh họa ở Hình 1 cho quá trình xử lý nhiệt ở 80°C. Với hàm lượng AA khoảng 0,28 mM và hàm lượng oxy 0,25 mM, hầu hết sự phân hủy AA xảy ra ở điều kiện hiếu khí, AA sử dụng hoàn toàn hàm lượng oxy ban đầu (0,25 mM). Ở tỷ lệ hàm lượng AA và oxy cao hơn (khoảng 1,42:0,25 mM/mM và 2,84:0,25 mM/mM), AA tiếp tục phân hủy thông qua con đường yếm khí. Các kết quả tương tự đạt được đối với các giá trị nhiệt độ xử lý và pH khác nhau (dữ liệu không đưa ra đầy đủ ở đây).

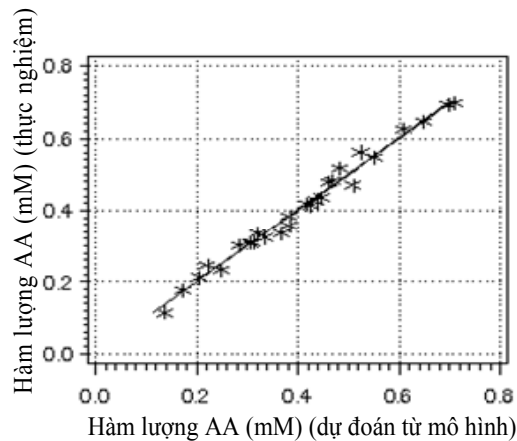


Hình 1: Hàm lượng AA còn lại theo thời gian xử lý ở 80°C với các hàm lượng AA ban đầu khác nhau 0,28 mM (*); 0,57 mM (o); 1,42 mM (□); 2,84 mM (Δ) trong dung dịch đệm phosphate (0,1 M, pH 7,0) với hàm lượng oxy ban đầu 0,25 mM

Độ bền nhiệt của AA trong điều kiện xử lý nhiệt từ 80 đến 100°C cũng được khảo sát. Kết quả khảo sát cho thấy khi tăng nhiệt độ xử lý thì tốc độ phân hủy AA cũng tăng (Hình 2). Để ước tính các thông số động học, mô hình 2 giai đoạn (phương trình 2) được sử dụng. Sự tương quan giữa các giá trị AA dự đoán theo mô hình và giá trị thực nghiệm được tìm thấy (Hình 3). Kết quả phân tích và ước tính được thể hiện ở Bảng 1 cho thấy hằng số tốc độ phản ứng tăng khi nhiệt độ tăng (trên 80°C). Tuy nhiên, nhiệt độ xử lý khác nhau không ảnh hưởng đến tỷ lệ AA phân hủy ở điều kiện hiếu khí (C_a - tính bằng mM) và yếm khí (C_{an} - tính bằng mM).



Hình 2: Hàm lượng AA còn lại theo thời gian xử lý nhiệt ở các nhiệt độ khác nhau 80°C (*), 90°C (o) và 100°C (□) (hàm lượng AA ≈ 0,57 mM trong dung dịch đệm phosphate (0,1 M, pH 7,0) với hàm lượng oxy ban đầu khoảng 0,25 mM



Hình 3: Tương quan giữa các giá trị AA từ thực nghiệm và giá trị ước tính từ mô hình (hàm lượng AA ≈ 0,57 mM) phân hủy trong dung dịch đệm phosphate buffer (0,1 M, pH 7,0) ở các nhiệt độ khác nhau (80 đến 100°C) sử dụng phương trình 2

Bảng 1: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến độ bền AA (100 µg/ml ≈ 0,57 mM) trong dung dịch đệm phosphate (0,1 M, pH 7,0^a)

T (°C)	k_a (phút ⁻¹)	k_{an} (x10 ⁻³ phút ⁻¹)	C_a (%)	C_a (mM) ^b	C_{an} (%)	C_{an} (mM)
80	0,20±0,08 ^c	3,69±3,87	36,29±7,23	0,25±0,05	64,17±7,38	0,45±0,05
90	0,41±0,11	12,90±4,22	47,53±5,97	0,31±0,04	52,89±5,26	0,34±0,03
100	0,45±0,12	24,20±5,49	50,33±6,18	0,35±0,04	51,34±5,58	0,36±0,04
E_a (kJ/mol)	44,4±18,8 ^d	103,2±18,0	/	/	/	/
	$r^2 = 0,85$	$r^2 = 0,97$	/	/	/	/

Ghi chú: ^aHàm lượng oxy ban đầu ≈ 0,25 mM, ^bHàm lượng được tính toán theo phân tử gam của AA là 176.13 Da, ^cSai số chuẩn tiệm cận của hồi quy phi tuyến tính, ^dSai số chuẩn của hồi quy tuyến tính

Khi hàm lượng oxy được sử dụng hết cho phản ứng, sự phân hủy AA trong điều kiện yếm khí xảy ra và sự phân hủy này chậm hơn so với phân hủy AA trong điều kiện hiếu khí. Một vài giá trị sai số chuẩn của thông số động học (trong điều kiện yếm khí) được ước tính tương đối lớn là do số lượng các dữ liệu thực nghiệm thu được còn ít trong cả hai giai đoạn hiếu khí và yếm khí. Để có thể đạt được độ chính xác cao hơn cho việc ước tính các thông số động học, các thí nghiệm nên được thực hiện trong khoảng thời gian dài hơn.

Với tỷ lệ hàm lượng AA và oxy cao hơn (hàm lượng AA là 250 µg/mL ≈ 1,42 mM hoặc 500 µg/mL ≈ 2,84 mM và oxy 0,25 mM), một phần của sự phân hủy hiếu khí ở giai đoạn đầu (của nghiên cứu động học) ít rõ ràng hơn so với phân hủy yếm khí. Kết quả cho thấy sự phân hủy của AA xảy ra chủ yếu thông qua con đường yếm khí. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu của Nagy (1980), Robertson và Samaniego (1986), Roig *et al.* (1995). Một kết quả nghiên cứu tương tự cũng được báo cáo bởi Wilson *et al.* (1995). Các kết quả này làm rõ lý do vì sao một số tác giả đã báo cáo động học phân hủy của AA tuân theo mô hình động học bậc 1 (Van den Broeck *et al.*, 1998; Vieira *et al.*, 2001; Rojas và Gerschenson, 2001; Giannakourou và Taoukis, 2003; Blasco *et al.*, 2004), trong khi những tác giả khác đã mô tả sự phân hủy của AA theo mô hình hai giai đoạn hiếu khí và yếm khí (Roig *et al.*, 1995; Wilson *et al.*, 1995). Hơn nữa, Manso *et al.* (2001) đã áp dụng mô hình Weibull để mô tả động học phân hủy AA. Theo Gregory (1996) và Gibbons *et al.* (2001), AA có thể chuyển thành DHAA (Dehydroascorbic acid) khi có sự hiện diện của oxygen. Phản ứng này có thể đảo ngược bởi tác nhân khử mạnh như dithiothreitol (DTT). Tiếp theo DHAA phân hủy thông qua quá trình thủy phân tạo thành acid 2,3-diketogulonic.

Trong điều kiện yếm khí, AA phân hủy thông qua một số giai đoạn để tạo thành furfural thay vì DHAA (Smoot và Nagy, 1980; Robertson và Samaniego, 1986). Yuan và Chen (1998) báo cáo rằng không có DHAA được hình thành đáng kể trong điều kiện yếm khí nhưng AA phân hủy do sự phân cắt vòng và nhận phân tử nước, sau đó phân ứng khử carboxyl và sắp xếp giữa các phân tử, cuối cùng khử nước để tạo thành furfural. Khi có sự hiện diện của oxygen, AA bị oxy hóa để tạo thành DHAA và một phân tử AA sử dụng một phân tử oxygen (phương trình 4).

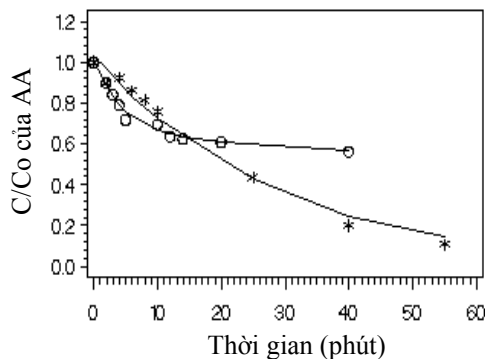


Ottaway (2002) và Oey *et al.* (2006) phát hiện ra rằng hàm lượng AA phân hủy hiệu quả khoảng 2 lần so với nồng độ phân tử oxy ban đầu. Những dữ liệu này cho thấy sự phân hủy của H₂O₂ thành H₂O và O₂.

Kết quả trong nghiên cứu cho các giá trị ước tính C_a trong khoảng 0,3 mM, gần với nồng độ oxy ban đầu là 0,25 mM. Sự phụ thuộc nhiệt độ của hằng số tốc độ phân hủy AA trong khoảng nhiệt độ nghiên cứu có thể được mô tả bởi các phương trình Arrhenius (phương trình 3). So sánh các giá trị E_a, sự nhạy cảm nhiệt độ của các giá trị k cho quá trình phân hủy AA trong điều kiện hiếu khí thấp hơn so với trong điều kiện yếm khí (Bảng 1).

3.1.2 Ảnh hưởng của pH

Kết quả nghiên cứu cho thấy pH có thể ảnh hưởng đến độ bền nhiệt của AA. Moser và Bendich (1990) cho rằng độ bền nhiệt tối đa của AA thể hiện ở giá trị pH từ 4 đến 6. Sự tồn thất AA phụ thuộc vào cường độ gia nhiệt và cũng là hệ quả của diện tích bề mặt tiếp xúc với nước, oxy, pH và sự hiện diện của kim loại (Naidu, 2003). Như đã thảo luận (với tỷ lệ nồng độ AA và oxy ≈ 0,57:0,25 mM), sự phân hủy nhiệt của AA xảy ra chủ yếu trong điều kiện hiếu khí do quá trình oxy hóa. AA phân hủy hiệu quả ở pH 7,0 nhanh hơn ở pH 5,0. Tuy nhiên, với tỷ lệ AA oxy cao hơn (≈ [1,42:0,25] và [2,84:0,25]), sự phân hủy của AA xảy ra chủ yếu trong điều kiện yếm khí. Trong trường hợp này, sự phân hủy AA chậm lại ở các giá trị pH cao hơn (Hình 4). Kết quả nghiên cứu của Coker *et al.* (1993) cho rằng khi tăng pH từ 0,5 đến 11 sẽ giảm sự phân hủy yếm khí của AA, trong khi phân hủy hiếu khí tối đa của AA lại được tìm thấy ở giá trị pH cao hơn. Từ quan điểm nhiệt động học, quá trình oxy hóa có chiều hướng xảy ra trong môi trường kiềm do sự giảm năng lực oxy hóa khử acid ascorbic (Manuel de Villena *et al.*, 1989).



Hình 4: Ảnh hưởng của thời gian xử lý đến tỷ lệ hàm lượng AA (AA ban đầu C_o ≈ 0,57 mM) [trong dung dịch đệm acetate (0,2 M, pH 5,0) (*) và phosphate (0,1 M, pH 7,0) (o)] ở 80°C (hàm lượng oxy ban đầu là 0,25 mM), C là hàm lượng AA ở thời gian t (phút)

Quá trình oxy hóa lại bị ức chế trong môi trường acid và ở nhiệt độ thấp. So sánh các giá trị E_a được ước tính, độ nhạy với nhiệt độ của các giá trị k ở pH 7 thấp hơn ở pH 5,0 (Bảng 2). Cơ chế phân hủy yếm khí AA cũng chưa được hiểu đầy đủ. Nhiều tác giả cho rằng AA có thể bị phân hủy yếm khí do tách trực tiếp của cầu nối 1,4-lacton. Sự mở vòng lacton có chiều hướng xảy ra ở pH thấp (pH từ 3 đến 4) (Gregory, 1996). Có thể quan sát thấy rằng sự phân hủy AA phụ thuộc vào nồng độ oxy và pH. Kết quả tương tự về ảnh hưởng của pH đến sự phân hủy yếm khí cũng được tìm thấy trong một số tài liệu lý thuyết. Van den Broeck *et al.* (1998) đã báo cáo rằng phân hủy yếm khí của AA thường chậm tiến triển ở pH cao hơn (dựa trên giá trị D được xác định ở 140°C).

Rojas và Gerschenson (2001) đề cập đến sự phân hủy tối ưu của AA ở pH thấp hơn 5,5 (đối với sự phân hủy yếm khí của AA trong hệ thống dung dịch). Vieira *et al.* (2000) báo cáo rằng cầu nối lacton của DHAA rất dễ bị thủy phân, thậm chí ở pH thấp và Ottaway (2002) chỉ ra rằng tốc độ phân hủy AA trong dung dịch nước phụ thuộc vào pH với tốc độ tối đa ở pH khoảng 4.

Theo Yuan và Chen (1998), AA phân hủy trong điều kiện acid thường xảy ra theo hai con đường phản ứng. Dưới điều kiện hiếu khí có xúc tác ion-hydro, AA được chuyển thành acid 2-furoic và 3-hydroxy-2-pyrone thông qua DHAA và trong điều kiện yếm khí, AA lại tiếp tục bị phân hủy tạo thành furfural. Tuy nhiên, các giá trị pH cao không có lợi cho sự hình thành của furfural, acid 2-furoic và 3-hydroxy-2-pyrone, nhưng giá trị pH cao có thể thúc đẩy việc tạo thành một hợp chất không rõ.

Bảng 2: Ảnh hưởng của pH đến độ bền của AA ($\approx 1,42$ mM) trong dung dịch đệm acetate (0,2 M, pH 5,0^a) và phosphate (0,1 M, pH 7,0^a)

T (°C)	k_a (min ⁻¹)*	C_a (%)	C_a (mM) ^b	C_{an} (%)	C_{an} (mM)
<i>Acetate buffer (0.2 M, pH 5.0)</i>					
80	0,03±0,02	4,68±8,92	0,08±0,15 ^c	95,25±8,69	1,55±0,14
90	0,09±0,03	14,08±3,72	0,20±0,05	86,58±3,88	1,24±0,06
100	0,44±0,17	23,95±3,47	0,38±0,05	76,05±2,26	1,19±0,04
E_a (kJ/mol)	155,27±11,75 ^d $r^2 = 0,99$	/	/	/	/
<i>Phosphate buffer (0,1 M, pH 7,0)</i>					
80	0,08±0,02	23,79±3,04	0,42±0,05	77,08±3,12	1,36±0,06
90	0,25±0,21	16,01±6,50	0,25±0,10	85,81±5,89	1,32±0,09
100	0,38±0,09	17,58±1,87	0,30±0,03	82,29±1,74	1,39±0,03
E_a (kJ/mol)	87,38±22,20 $r^2 = 0,94$	/	/	/	/

Ghi chú: ^aHàm lượng oxy ban đầu $\approx 0,25$ mM, ^bTính toán theo phân tử gam của AA là 176,13 Da, ^cSai số chuẩn tiệm cận của hồi quy phi tuyến tính, ^dSai số chuẩn của hồi quy tuyến tính, * k_{an} không thể được ước tính đầy đủ do dữ liệu hạn chế

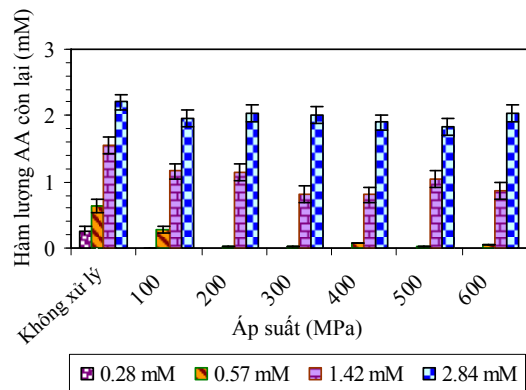
3.2 Ảnh hưởng của áp suất đến độ bền của AA

3.2.1 Ảnh hưởng của tỷ lệ phân tử giữa oxy và AA đến độ bền của AA

Ảnh hưởng của nồng độ AA (trong khoảng 50 mg/ml $\approx 0,28$ mM đến 500 mg / ml $\approx 2,84$ mM) đến độ bền áp của AA (15 phút) đã được nghiên cứu ở 40 và 70°C kết hợp với áp suất khác nhau từ 100 tới 600 MPa cùng với sự hiện diện của 0,25 mM nồng độ oxy ban đầu. Kết quả thu được ở tất cả các xử lý kết hợp áp suất và nhiệt độ cho thấy nồng độ trung bình của AA trong khoảng 0,40 mM trong mẫu đã bị phân hủy ở áp suất tương đối thấp (100 MPa) sau 15 phút xử lý. Có thể thấy ở Hình 5, khoảng 100 mg/ml ($\approx 0,57$ mM) của AA trong mẫu (nồng độ oxy ban đầu $\approx 0,25$ mM) bị phân hủy ở 200 MPa trong 15 phút xử lý. Điều này có thể là do sự phân hủy hiệu khí AA ban đầu xảy ra trong thời gian gia áp. Kết quả tương tự cũng được thu nhận (Oey *et al.*, 2006).

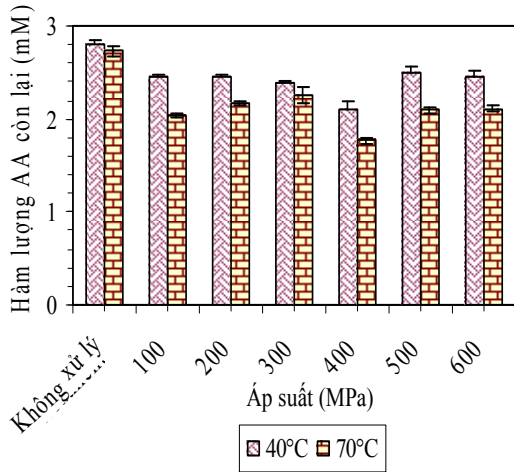
Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng AA phân hủy trong điều kiện hiệu khí khoảng 1,5 đến 1,6 lần hàm lượng oxy ban đầu. Ở mức độ áp suất cao hơn (trên 100 MPa), không thấy sự phân hủy AA tiếp theo sau 15 phút xử lý. Có thể kết luận rằng sự bền áp của AA cũng phụ thuộc vào tỷ lệ phân tử giữa oxy và AA. Ở áp suất không đổi, khi tăng nhiệt độ từ 40 đến 70°C thì sự phân hủy AA cũng tăng lên một ít (Hình 6). Như vậy, việc loại bỏ oxy có thể ổn định AA trong quá trình chế biến. Phát hiện này cũng phù hợp với các nghiên cứu

trước đây cho thấy khả năng hạn chế sự suy giảm hàm lượng AA trong sản phẩm thực phẩm bằng cách loại khí, như hoạt động bài khí trong công nghệ đóng hộp hoặc đóng gói chân không (Roig và *ctv.*, 1995; Ottaway, 2002).



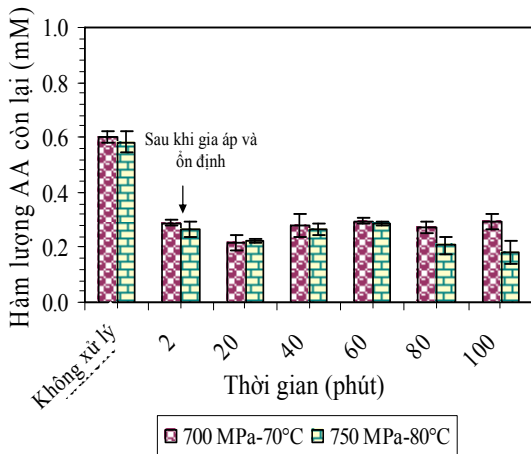
Hình 5: Ảnh hưởng của áp suất đến hàm lượng AA còn lại sau 15 phút xử lý (với các hàm lượng AA ban đầu khác nhau) (trong dung dịch đệm phosphate (0,1 M, pH 7,0) ở 70°C, hàm lượng oxygen $\approx 0,25$ mM). Các sai số thể hiện trên cột là độ lệch chuẩn của giá trị trung bình

Để nghiên cứu động học phân hủy AA theo áp suất, xử lý kết hợp áp suất - nhiệt độ với thời gian dài hơn (đến 100 phút) đã được thực hiện. Sự oxy hóa AA tăng trong thời gian gia áp và sau 2 phút để đạt cân bằng (khoảng 0,4 mM AA bị tổn thất).



Hình 6: Ảnh hưởng của áp suất đến hàm lượng AA còn lại sau 15 phút xử lý (ở các nhiệt độ xử lý khác nhau) (AA ≈ 2.84 mM) trong dung dịch đệm acetate (0,2 M, pH 5,0) và hàm lượng oxy ban đầu 0,25 mM. Các sai số thể hiện trên hình cột là độ lệch chuẩn của giá trị trung bình

Khi oxy được tiêu thụ hoàn toàn và thời gian xử lý áp suất kéo dài hơn thì cũng không ảnh hưởng hoặc ít ảnh hưởng đến sự phân hủy AA. Trong mọi trường hợp, AA đã rất ổn định trong điều kiện đẳng nhiệt - đẳng áp (đến 700 MPa và 70°C), không có suy giảm hơn nữa của AA được quan sát trong khoảng 100 phút xử lý áp suất. Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ lên đến 80°C ở 750 MPa, sự phân hủy tiếp tục của AA được tìm thấy (Hình 7).

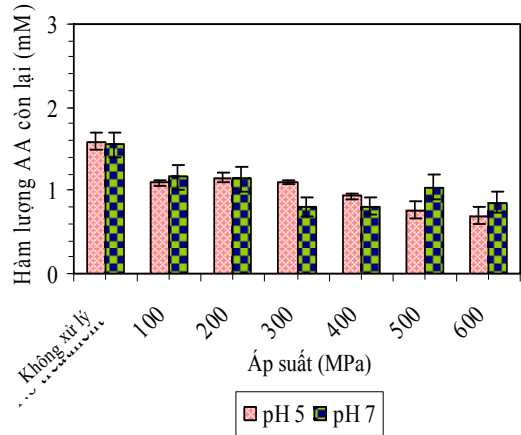


Hình 7: Ảnh hưởng của thời gian xử lý đến hàm lượng AA còn lại [AA ≈ 0,57 mM trong dung dịch đệm phosphate (0,1 M, pH 7,0) - hàm lượng oxy 0,25 mM]. Sai số trên hình cột là độ lệch chuẩn của giá trị trung bình

Theo kết quả nghiên cứu của Van den Broeck *et al.* (1998), AA không ổn định ở điều kiện kết hợp nhiệt độ và áp suất cực cao (850 MPa và nhiệt độ từ 60 - 80°C) và hằng số tốc độ phân hủy của AA ở 850 MPa tăng khi nhiệt độ tăng từ 65 đến 80°C.

3.2.2 Ảnh hưởng của pH

Kết quả khảo sát cho thấy pH dường như không ảnh hưởng có ý nghĩa đến độ bền của AA khi xử lý áp suất cao (Hình 8).



Hình 8: Ảnh hưởng của áp suất (xử lý trong 15 phút 70°C) đến hàm lượng AA [AA ban đầu ≈ 1,42 mM và hàm lượng oxy ban đầu]. Sai số ở hình cột là độ lệch chuẩn của giá trị trung bình

Sự phân hủy của AA trong dung dịch đệm acetate (0,2 M, pH 5,0) và phosphate (0,1 M, pH 7,0) ở 70°C kết hợp với các mức độ áp suất xử lý khác nhau hầu như giống nhau. Có lẽ do pH của đệm phosphate không ổn định dưới điều kiện áp suất cao, pH có thể giảm 0,3 đơn vị cho mỗi mức độ áp suất gia tăng 100 MPa (Neuman *et al.*, 1973; Kitamura và Itoh, 1987; Hayert *et al.*, 1999).

4 KẾT LUẬN

Hàm lượng oxy hòa tan có ảnh hưởng quan trọng đến sự ổn định AA. Do đó, nồng độ oxy giảm là cần thiết để bảo vệ AA trong quá trình chế biến. Sự phân hủy AA trong dung dịch trong quá trình xử lý nhiệt tuân theo mô hình hai giai đoạn và có thể được sử dụng để mô tả các thông số động học của quá trình xử lý nhiệt. Có thể thấy rõ sự tăng nhiệt độ sẽ làm tăng sự phân hủy của AA. Ở tất cả các điều kiện xử lý nhiệt, pH có ảnh hưởng khác nhau đối với sự phân hủy hiếu khí và yếm khí của AA.

Trong hệ thống mẫu, AA bị phân hủy trong hệ thống mô hình xử lý áp suất cao (lên tới 600 MPa và 70°C) trong thời gian ngắn (15 phút). Hầu hết sự phân hủy AA xảy ra trong quá trình gia áp. Ảnh hưởng của pH đến sự bền áp của AA cũng không rõ ràng, có thể do sự bất ổn định pH của dung dịch đệm.

Khi kết hợp áp suất - nhiệt độ với thời gian xử lý dài (lên đến 100 phút), AA cũng không hoặc phân hủy thêm rất ít (áp suất và nhiệt độ lên đến 700 MPa và 70°C, tương ứng) sau khi gia áp. Tuy nhiên, AA phân hủy ở nhiệt độ trên 70°C kết hợp với áp suất cao hơn 700 MPa. Kết quả nghiên cứu phù hợp với kết quả được đề cập trong các tài liệu tham khảo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Blasco R, Esteve MJ, Frigola A, Rodrigo M. 2004. Ascorbic acid degradation kinetics in ushrooms in a high-temperature short-time process controlled by a thermoresistometer. *Lebensmittel Wissenschaft Technologie*, 37, 171-175.
- Coker GL, Davey KR, Kristall Z. 1993. Modelling the combined effect of pH and temperature on the denaturation of vitamins in a tubular steriliser. In *Asia Pacific Conference of Chemical Engineers CHEMECA' 93*, Melbourne, September 26-29, 107-112. Cited by Van Den Broeck I, Ludikhuyze L, Weemaes C, Van Loey A, Hendrickx M. 1998. Kinetics for isobaric-isothermal degradation of L-ascorbic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 2001-2006.
- Giannakourou MC, Taoukis PS. 2003. Kinetic modeling of vitamin C loss in frozen vegetables under variable storage conditions. *Food Chemistry*, 83, 33-41.
- Gibbons E, Allwood MC, Neal T, Hardy G. 2001. Degradation of dehydroascorbic acid in parenteral nutrition mixtures. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 25, 605-611.
- Gregory JF. 1996. Vitamins. In Fennema OR (ed). *Food Chemistry*. New York: Marcel and Dekker, 590-600.
- Hayert M, Perrier-Cornet JM, Gervais P. 1999. A simple method for measuring the pH of acid solutions under high pressure. *Journal of Physical Chemistry*, 103, 1785-1789.
- Karhan M, Aksu M, Tetik N, Turhan I. 2004. Kinetic modeling of anaerobic thermal degradation of ascorbic acid in rose hip (*Rosa Canina* L) pulp. *Journal of Food quality*, 27, 311-319.
- Kitamura Y, Itoh T. 1987. Reaction volume of protonic ionization for buffering agents. Prediction of pressure dependence of pH and pOH. *Journal of Solution Chemistry*, 16, 715-725.
- Manuel De Villena FJ, Asensio Martin A, Polo Díez LM, Pérez Pérez R. 1989. Kinetic determination of ascorbic acid in fruit juices and pharmaceutical preparations. *Microchemical Journal*, 39, 112-118.
- Manso MC, Oliveira FAR, Oliveira JC, Frías JM. 2001. Modelling ascorbic acid thermal degradation and browning in orange juice under aerobic conditions. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 303-312.
- Moser U, Bendich A. 1990. Vitamin C. In: *Handbook of Vitamins (Edited by: Machlin LJ)*. Marcel Dekker, New York, Chapter 5.
- Nagy S. 1980. Vitamin C content of citrus fruit and their products: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28, 8-18.
- Naidu KA. 2003. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition Journal*, 2-7.
- Neuman RC, Kauzmann W, Zipp A. 1973. Pressure dependence of weak acid ionization in aqueous buffers. *Journal of Physical Chemistry*, 77, 2687-2691
- Oey I, Verlinde P, Hendrickx M, Van Loey A. 2006. Temperature and pressure stability of L-ascorbic acid and/or [6s] 5-methyltetrahydrofolic acid: A kinetic study. *European Food Research and Technology*, 223, 71-77.
- Ottaway PB. 2002. The stability of vitamins during food processing. In "The nutrition handbook for food processors". Edited by Henry CJK and Chapman C. CRC Press. Boca Raton Boston New York Washington, DC, 259.
- Özkan M, Kirca A, Cameroglu B. 2004. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. *Journal of Food Chemistry*, 88, 591-597.

18. Robertson GL, Samaniego CML. 1986. Effect of initial dissolved oxygen levels on the degradation of ascorbic acid and the browning of lemon juice during storage. *Journal of Food Science*, 51, 184-187.
19. Roig MG, Rivera ZS, Kennedy JF. 1995. A model study on rate of degradation of L-ascorbic acid during processing using home-produced juice concentrates. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 46(2), 107-115.
20. Rojas AN, Gerschenson LN. 2001. Ascorbic acid destruction in aqueous model systems: an additional discussion. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 1433-1439.
21. Smoot JM, Nagy S. 1980. Effects of storage temperature and duration on total vitamin C content of canned single-strength grapefruit juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28, 417-421.
22. Taoukis PS, Panagiotidis P, Storofos NG, Butz P, Fister H, Tauscher B. 1998. Kinetics of vitamin C degradation under high pressure-moderate temperature processing in model systems and fruit juices. *High Pressure Food Science, Bioscience and Chemistry*. Royal Society of Chemistry, 310-316.
23. Tauchers B. 1995. Pasteurization of food by hydrostatic high pressure: chemical aspects, *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 200, 3-13.
24. Van den Broeck I, Ludikhuyze L, Weemaes C, Van Loey A, Hendrickx M. 1998. Kinetics for isobaric-isothermal degradation of L-ascorbic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (5), 2001-2006.
25. Viberg U, Jägerstad M, Öste R, Sjöholm I. 1997. Thermal processing of 5-methyltetrahydrofolic acid in the UHT region in the presence of oxygen. *Food Chemistry*, 59 (3), 381-386.
26. Vieira MC, Teixeira AA, Silva CLM. 2000. Mathematical modeling of the thermal degradation kinetics of vitamin C in Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) nectar. *Journal of Food Engineering*, 43: 1-7.
27. Vieira MC, Teixeira AA, Silva CLM. 2001. Kinetic parameters estimation for ascorbic acid degradation in fruit nectar using the Partial Equivalent Isothermal Exposures (PEIE) method under non-isothermal continuous heating conditions. *Biotechnology Progress*, 17: 175-181.
28. Wilson RJ, Beezer AE, Mitchell JC. 1995. A kinetic-study of the oxidation of L-ascorbic-acid (vitamin-C) in solution using an isothermal microcalorimeter. *Thermochimica Acta*, 264, 27-40.
29. Yuan JP, Chen F. 1998. Degradation of ascorbic acid in aqueous solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 5078-5082.