

TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH THỦY PHÂN TINH BỘT KHOAI LANG TÍM BẰNG ENZYME α -AMYLASE TRONG SẢN XUẤT NƯỚC KHOAI LANG TÍM LÊN MEN

Nguyễn Hoàng Anh^{1*}, Nguyễn Thị Diệp¹

Lê Nguyễn Đăng¹, Phan Đức Tài¹, Lê Huỳnh Anh Thư¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định điều kiện tối ưu cho quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím. Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ khoai/nước 5 – 40%, pH 4,5 - 6,5, nhiệt độ 60 – 80°C, thời gian thủy phân 40 – 80 phút và nồng độ enzyme α -amylase 0,01 - 0,05% cho quá trình thủy phân đến hàm lượng đường khử đã được nghiên cứu. Thực hiện thiết kế thực nghiệm cấu trúc có tâm cho 4 nhân tố đã được áp dụng để tối ưu hóa quá trình thủy phân tinh bột, kết quả mô hình thống kê xác định dịch thủy phân có hàm lượng đường khử cao nhất là 25,934 g/kg tại các điều kiện tối ưu: pH = 5,5, nhiệt độ 71°C, thời gian thủy phân 61 phút và nồng độ enzyme α -amylase 0,03%. Kết quả thực nghiệm tương thích cao với mô hình, số liệu nghiên cứu là tiền đề để xây dựng quy trình sản xuất nước khoai lang tím lên men.

Từ khóa: *Alpha-amylase, khoai lang tím, lên men, tối ưu hoá, thủy phân tinh bột.*

1. MỞ ĐẦU

Khoai lang (*Ipomoea batatas*) là một loại cây trồng thích nghi với nhiều vùng sinh thái nhiệt đới và cận nhiệt đới, có giá trị dinh dưỡng [1, 2]. Khoai lang là thực phẩm phổ biến, hữu ích cho sức khỏe con người do chứa nhiều tinh bột, protein, acid amin, vitamin A, B, C, E và hơn 10 loại nguyên tố vi lượng cần thiết khác như canxi, kẽm, sắt, magie, kali, natri, photpho,... Đặc biệt, khoai lang tím còn chứa nhiều hợp chất chống oxy hóa mạnh như: phenol, anthocyanin, anthocyanidin... giúp bảo vệ các lipoprotein tỷ trọng thấp khỏi các quá trình oxy hóa, loại bỏ các gốc tự do, ngăn ngừa ung thư, cải thiện chức năng thị giác, ức chế kết tụ tiểu cầu và nhiều chức năng sinh lý khác. Trong số các giống khoai lang được trồng phổ biến ở đồng bằng sông Cửu Long, giống khoai lang tím Nhật HL491 được trồng với diện tích khá lớn (chiếm trên 78%) do có năng suất cao (trên 25 tấn/ha), phẩm chất tốt, phù hợp với mục đích xuất khẩu [3, 4]. Qua kết quả điều tra tình hình canh tác khoai lang tím Nhật tại Vĩnh Long cho thấy, giá thành khoai lang tím Nhật luôn biến động bất thường [5, 6]. Bên cạnh đó, khoai lang tím giá rất rẻ nếu khoai bị gãy vỡ do thu hoạch, do vận chuyển hoặc do không đạt kích cỡ [7]. Với lượng khoai

không đạt tiêu chuẩn như vậy sẽ được người dân tận dụng làm thức ăn cho gia súc hoặc bỏ đi vô cùng lãng phí mà không mang lại bất kỳ lợi ích kinh tế nào. Do đó, vấn đề đặt ra là phải tận dụng nguồn nguyên liệu không đạt chuẩn này và cũng như tìm được đầu ra ổn định hơn cho nông dân. Cho đến thời điểm hiện tại đã có một số nghiên cứu về các sản phẩm lên men từ khoai lang tím của Nguyễn Văn Thành và cộng sự (2019) [8], Hoàng Thị Lệ Hằng và cộng sự (2018) [9]. Tuy nhiên, các nghiên cứu vẫn có sự khác biệt về tính chất của sản phẩm cũng như chỉ mới tập trung nhiều vào khảo sát, tối ưu hóa các thông số tại công đoạn lên men rượu, do đó các công đoạn đóng vai trò tiền đề cho lên men có thể kể đến như dịch hóa vẫn chưa được khảo sát đầy đủ. Vì thế với mục tiêu hoàn thiện quy trình sản xuất nước khoai lang tím lên men việc tối ưu hóa các yếu tố: tỷ lệ cơ chất, pH, nhiệt độ, nồng độ enzyme, thời gian thủy phân tinh bột tại công đoạn dịch hóa là điều cần thiết. Ngoài ra, khi nói đến tính chất sản phẩm thì đây cũng là yếu tố tạo nên sự khác biệt cho nghiên cứu, mang xu hướng nước giải khát lên men có độ cồn thấp và còn lại đường khử, kết hợp bổ sung CO₂ sẽ tạo nên sự đổi mới làm đa dạng hóa hơn dòng sản phẩm nước trái cây lên men trên thị trường hiện nay.

Mục tiêu của nghiên cứu là xác định điều kiện tối ưu cho quá trình thủy phân tinh bột với ứng dụng chế phẩm enzyme α -mylase tạo hàm lượng đường khử cao nhất cho các quá trình thủy phân tinh bột

¹ Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh

*Email: anhnh@fst.edu.vn

(dịch hoá), chuẩn bị cho quá trình đường hóa bằng enzyme gluco-amylase, hướng tới sản xuất các sản phẩm lên men như rượu, nước giải khát có cồn từ đó tạo ra các sản phẩm có giá trị kinh tế, giải quyết đầu ra cho loại nguyên liệu này.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hóa chất

2.1.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu khoai lang tím Nhật Bản có tên khoa học là *Ipomoea batatas* thuộc họ *Convolvulaceae* được mua tại hệ thống siêu thị Big C thành phố Hồ Chí Minh có nguồn gốc xuất xứ từ xã Tân Thành, huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long, độ tuổi thu hoạch khoảng 110 ngày sau khi vùi hom xuống dưới đất [10]. Chế phẩm enzyme α -amylase (từ vi khuẩn *Bacillus licheniformis*, 135 KNU/g, tên thương mại là Termamyl 120L) của hãng Novozymes, Đan Mạch.

2.1.2. Hóa chất

Acid citric; sodium hydrogen carbonate; 3,5 dinitrosalicylic acid; potassium sodium tartrate; sodium hydroxide; nước cất.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chuẩn bị mẫu

Khoai lang tím → Rửa sạch → Hấp chín → Làm nguội → Xay nhuyễn → Cân vào bình tam giác (250 g/mẫu) → Điều chỉnh pH → Điều chỉnh nhiệt độ

→ Bổ sung enzyme → Ủ enzyme → Làm nguội → Xác định hàm lượng đường khử [11].

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Nghiên cứu này tập trung vào công đoạn thủy phân tinh bột trong quy trình chế biến sản phẩm, các thí nghiệm được thực hiện như sau:

Thực hiện lần lượt theo trình tự 5 thí nghiệm được bố trí gồm một nhân tố: tỉ lệ khối lượng khoai/khối lượng nước (5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%); pH (4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5); nhiệt độ (60°C, 65°C, 70°C, 75°C, 80°C); thời gian thủy phân (40 phút, 50 phút, 60 phút, 70 phút, 80 phút) và nồng độ enzyme α -amylase (0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%) để xác định các thông số sơ bộ làm tiền đề thực hiện mô hình tối ưu hóa của các nhân tố ảnh hưởng đến hoạt động thủy phân của enzyme α -amylase trong sản xuất nước khoai lang tím lên men.

2.2.3. Tối ưu hóa quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím bằng enzyme α -amylase

Áp dụng thiết kế thực nghiệm cấu trúc có tâm (CCD: central composite design) để tối ưu hóa quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím bằng enzyme α -amylase. Các yếu tố khảo sát được thể hiện trong bảng 1. Mỗi thí nghiệm đều được xử lý tương tự mục 2.2.1 với tỉ lệ khoai/nước là 35%.

Bảng 1. Các yếu tố trong ma trận thực nghiệm theo mô hình CCD

Biến	Yếu tố	Mức				
		$-\alpha$	-1	0	1	α
X_1	pH	5,00	5,25	5,50	5,75	6,00
X_2	Nhiệt độ (°C)	65,0	67,5	70,0	72,5	75,5
X_3	Thời gian (phút)	50	55	60	65	70
X_4	Nồng độ enzyme (%)	0,020	0,025	0,030	0,035	0,040

Kết quả xác định được điều kiện tối ưu cho quá trình dịch hóa khoai lang tím trên cơ sở mô hình thực nghiệm thống kê mô tả tương hợp kết quả thực nghiệm. Mô hình bậc 2 tổng quát để dự đoán các điều kiện tối ưu có dạng như sau:

$$Y_i = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_4X_4 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2 + a_{44}X_4^2 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{14}X_1X_4 + a_{23}X_2X_3 + a_{24}X_2X_4 + a_{34}X_3X_4$$

Trong đó: Y_i là hàm lượng đường khử (g/kg); X_1 : pH; X_2 : nhiệt độ (°C); X_3 : thời gian thủy phân (phút);

X_4 : nồng độ enzyme (%); a_0, a_{ii}, a_{ij} là các hệ số của phương trình hồi quy [12].

2.2.4. Phương pháp phân tích hóa lí

- Xác định hàm lượng tinh bột theo TCVN 4594: 1988 [13]: Tiến hành cân 5 - 20 g mẫu, chuyển toàn bộ vào bình tam giác dung tích 250 ml, tráng kỹ cốc cân bằng nước cất, lượng nước cho vào bình khoảng 100 - 150 ml. Thêm 5 ml axit clohydric đặc vào bình khoảng 100 - 150 ml. Thêm 50 ml axit clohydric đặc vào bình mẫu, đậy nút cao su có cắm ống sinh hàn

ngược và đun trên bếp cách thủy sôi trong 2 giờ. Lấy bình ra làm nguội, trung hòa mẫu bằng natri hydroxit 30%, khử protit, lọc, định mức. Hút 5 - 25 ml dịch lọc, chuyển vào bình tam giác dung tích 250 ml, thêm vào bình 50 ml hỗn hợp pheling A, B và tiếp tục đun, lọc, hòa tan và chuẩn độ. Ghi số ml kali pemanganat 0,1N đã dùng. Hàm lượng tinh bột (X) tính bằng % theo công thức: $X = (X_1 - X_2) \times 0,9$. Trong đó: X_1 là hàm lượng glucit tổng số và X_2 là hàm lượng đường tổng số xác định theo phương pháp Bertrand.

- Xác định hàm lượng đường khử bằng phương pháp đo quang phổ với thuốc thử DNS [11]: Tiến hành cân 1,5 gam dịch sau thủy phân cho vào bình định mức 100 ml, tiếp tục cho nước cất tới vạch định mức và lọc vào cốc. Hút 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm vào mỗi ống nghiệm 0,5 ml thuốc thử DNS, lắc đều các ống nghiệm. Để các ống nghiệm vào nồi cách thủy đang sôi đúng 5 phút, lấy ra làm nguội đến nhiệt độ 25 – 30°C rồi đo mật độ quang ở bước sóng 540 nm. Tính kết quả dựa vào độ hấp thụ của dung dịch mẫu tính ra nồng độ glucose theo đường chuẩn: $y = 5,4533x + 0,0175$ ($R^2 = 0,9994$). Hàm lượng đường khử được tính theo công thức:

$Glucose (g/kg) = C_x \times \frac{V_2}{V_1} \times \frac{V_{dm}}{m}$. Trong đó: C_x : hàm lượng glucose tính theo đường chuẩn (g/kg); V_1 , V_2 , V_{dm} lần lượt là: thể tích mẫu lấy đi phân tích, thể tích bình định mức trong dây chuẩn, thể tích bình định mức sau xử lý mẫu (ml); m : khối lượng mẫu (g).

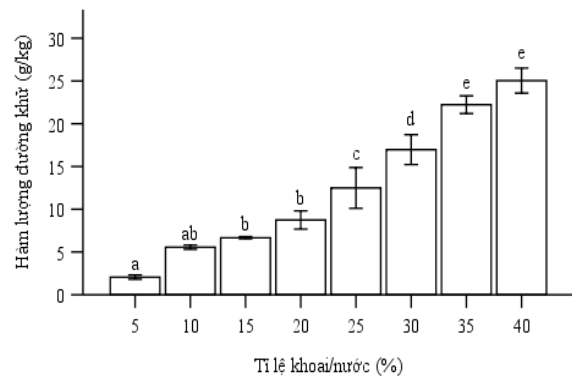
2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, kết quả được trình bày ở dạng giá trị trung bình $\pm$ giá trị sai số. Kết quả được tính toán bằng phần mềm Microft Office Excel 2010 và phần mềm thống kê IBM SPSS Statistics 2. Kết quả phân tích ANOVA với độ tin cậy 95%, so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức qua phép thử LSD. Quy trình mô hình hóa và tối ưu hóa thực nghiệm được thực hiện trên phần mềm MINITAB ($\alpha = 5\%$). Đồ thị được vẽ bằng chương trình Microsoft Office Excel 2010 và IBM SPSS Statistics 2.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tỉ lệ khoai/nước đến hàm lượng đường khử trong quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím

Thí nghiệm tiến hành dựa trên cơ chất là tinh bột trong nguyên liệu khoai lang tím. Với mục tiêu là xác định ảnh hưởng của tỉ lệ khoai/nước đến hoạt tính của enzyme α -amylase trong quá trình thủy phân. Kết quả khảo sát lượng đường khử sinh ra khi dịch hóa tinh bột khoai lang với các mức tỉ lệ khối lượng khoai/khối lượng nước (5% - 40%) ở điều kiện pH 5,5; nhiệt độ 60°C; nồng độ enzyme 0,03% trong thời gian thủy phân 60 phút được trình bày ở hình 1.

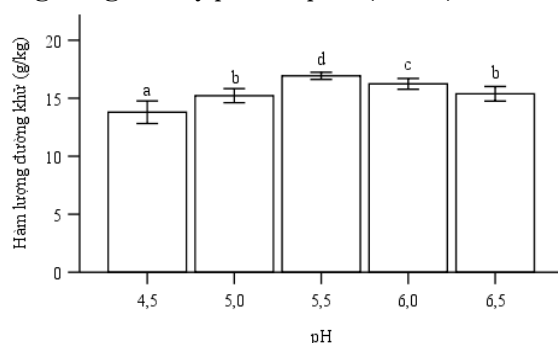


Hình 1. Ảnh hưởng của tỉ lệ khoai/nước đến hàm lượng đường khử trong quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím

Phân tích kết quả nghiên cứu (Hình 1), cho thấy mức độ thủy phân thay đổi khi thay đổi tỉ lệ khoai/nước. Khi tăng tỉ lệ khoai/nước thì hàm lượng đường khử sinh ra cũng tăng. Hàm lượng đường khử tăng nhanh khi tăng tỉ lệ khoai/nước 5 - 30% do ban đầu hàm lượng tinh bột trong mẫu thấp, khả năng tiếp cận giữa enzyme và cơ chất lớn, kéo theo khả năng phân cắt liên kết α -1 - 4 glucoside trong tinh bột thành đường tăng. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng tỉ lệ khoai/nước lên 35% đến 40% thì hàm lượng đường khử sinh ra tăng ít và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê tại mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$. Do toàn bộ lượng enzyme cho vào đã kết hợp được với cơ chất và đạt hàm lượng đường khử cực đại. Khi tăng tỉ lệ khoai/nước quá cao sẽ ảnh hưởng đến độ nhớt của dịch khoai, gây cản trở hoạt động của enzyme α -amylase, do đó hàm lượng đường khử sinh ra tăng nhưng không đáng kể. Từ số liệu thống kê (hình 1), có 2 nghiệm thức cho kết quả hàm lượng đường khử cao là 35% ($22,229 \pm 1,040$ g/kg) và 40% ($25,041 \pm 1,459$ g/kg). Như vậy, để đem lại hiệu quả kinh tế, tỉ lệ khoai/nước 35% là nghiệm thức được chọn để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của pH đến hàm lượng đường khử trong quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím

pH môi trường ảnh hưởng đến mức độ ion hóa cơ chất, enzyme và đặc biệt ảnh hưởng đến độ bền enzyme. Chính vì thế pH có ảnh hưởng rất mạnh đến phản ứng của enzyme [14]. pH tối thích cho hoạt động của enzyme α -amylase là 4 đến 6 [15]. Do đó, giá trị pH từ 4,5 đến 6,5 được chọn làm khảo sát tại các điều kiện thủy phân: Tỷ lệ khoai/nước 35% (thí nghiệm 3.1); nhiệt độ 60°C, nồng độ enzyme 0,03% trong thời gian thủy phân 60 phút (Hình 2).



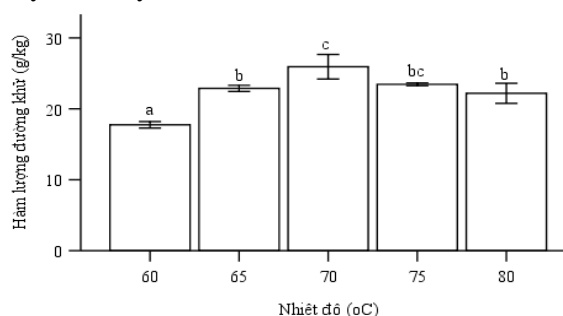
Hình 2. Ảnh hưởng của pH đến hàm lượng đường khử trong quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím

Kết quả xử lý thống kê ở mức ý nghĩa 5% cho thấy, pH có ảnh hưởng đến quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím bằng enzyme α -amylase. Hàm lượng đường khử sinh ra tăng dần khi pH tăng từ 4,5 - 5,5 nhưng khi tăng đến 6,5 thì hàm lượng đường khử có xu hướng giảm do vận tốc phản ứng enzyme sẽ tăng dần và đạt đến điểm cực đại tại giá trị pH tối ưu, vượt quá giới hạn pH này hoạt động xúc tác của enzyme sẽ giảm [14]. Ở pH 5,5, hàm lượng đường khử sinh ra đạt cực đại tương đương $16,932 \pm 0,123$ g/kg. Kết quả phân tích thống kê cho thấy, hoạt động thủy phân của enzyme α -amylase tại các mức pH 5,0; 5,5; 6,0 đều cho hàm lượng đường khử cao và có sự khác biệt có nghĩa so với mức pH = 4,5, tại mức ý nghĩa 5%. Như vậy, có thể chọn giá trị pH = 5,5 là giá trị pH thích hợp nhằm tạo điều kiện cho enzyme α -amylase hoạt động tốt. Kết quả này phù hợp so với nghiên cứu trước đây của Jagatee S *et al.* (2015) [15].

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng đường khử trong quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím

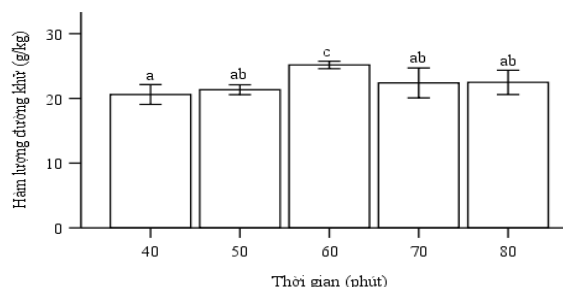
Tiến hành thủy phân với nhiệt độ thay đổi trong khoảng 60 – 80°C [16] và cố định 4 yếu tố tỷ lệ khoai/nước: 35% (mục 3.1), pH: 5,5 (mục 3.2), nồng độ enzyme 0,03% trong thời gian 60 phút. Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở hình 3.

Kết quả xử lý thống kê ở mức ý nghĩa 5%, cho thấy nhiệt độ có ảnh hưởng đến quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím bằng enzyme α -amylase. Kết quả nghiên cứu thu được (Hình 3) cho thấy, hàm lượng đường khử tăng dần khi nhiệt độ tăng từ 60°C đến 70°C. Khi tiếp tục tăng nhiệt độ trên 70°C, hàm lượng đường khử có xu hướng giảm do tốc độ phản ứng enzyme chỉ tăng đến một giới hạn nhiệt độ nhất định, vượt quá giới hạn đó tốc độ phản ứng enzyme sẽ giảm và dẫn đến mức triệt tiêu [14]. Tại nhiệt độ 70°C, hàm lượng đường khử tạo thành sau thủy phân đạt cao nhất $25,937 \pm 1,735$ g/kg và có sự khác biệt có nghĩa so với khi dịch hóa ở 65°C và 80°C. Như vậy, ở điều kiện 70°C là nhiệt độ thích hợp cho hoạt động enzyme α -amylase.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng đường khử trong quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím

3.4. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến hàm lượng đường khử trong quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím



Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng đường khử trong quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím

Thời gian thủy phân được tiến hành khảo sát trong khoảng 40 đến 80 phút. Cố định 4 yếu tố tỉ lệ khoai/nước: 35% (thí nghiệm 3.1), pH: 5,5 (thí nghiệm 3.2), nhiệt độ 70°C (thí nghiệm 3.3). Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở hình 4.

Kết quả phân tích one-way ANOVA cho thấy, thời gian thủy phân có ảnh hưởng đến hàm lượng đường khử. Lượng đường tăng khi thời gian thủy phân từ 40 phút đến 60 phút. Kết quả dịch hóa khoai lang tím (Hình 4), mốc thời gian 60 phút cho lượng đường cao nhất $25,163 \pm 0,578$ g/kg. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng thời gian đường hóa thì hàm lượng đường khử lại giảm xuống. Điều này hoàn toàn phù hợp với lý thuyết. Thời gian thủy phân dài có thể tạo điều kiện tiếp xúc giữa cơ chất và enzyme làm cho quá trình thủy phân xảy ra tốt hơn, tạo ra nhiều sản phẩm. Sau đó, các sản phẩm sinh ra sẽ đóng vai trò như chất kìm hãm không cạnh tranh và kìm hãm hoạt động của enzyme nhiều [14].

Như vậy, thời gian thủy phân 60 phút là phù hợp cho nghiên cứu này nhằm tiết kiệm thời gian và đem lại hiệu quả kinh tế. So với nghiên cứu Jagatee S *et al.* (2015) [15], thời gian thủy phân dài hơn, có thể giải thích là do điều kiện thủy phân khác nhau về nồng độ enzyme 0,02%, pH = 5,2 và nguồn gốc của enzyme khác nhau, dẫn đến thời gian thủy phân dài hơn.

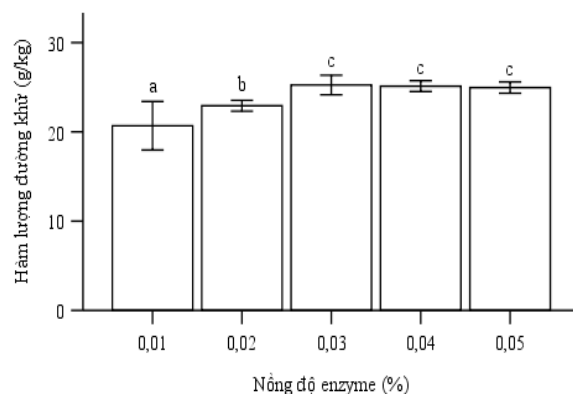
3.5. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme α -amylase đến hàm lượng đường khử trong quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím

Nồng độ enzyme ảnh hưởng lớn đến quá trình chuyển hóa cơ chất, đây là yếu tố tác động đến hiệu quả của phản ứng thủy phân. Nồng độ enzyme thích hợp sẽ cho tốc độ phản ứng thủy phân nhanh và đạt hàm lượng đường khử cao.

Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở hình 5 cho thấy, nồng độ enzyme α -amylase có ảnh hưởng đến hoạt động của enzyme trong quá trình thủy phân khoai lang tím tại mức ý nghĩa 5%. Khi tiến hành thay đổi nồng độ enzyme từ 0,01 đến 0,03% thì hàm lượng đường khử tăng (nồng độ enzyme 0,01% hàm lượng đường khử sinh ra là $20,681 \pm 1,096$ g/kg, tương tự 0,02% là $22,922 \pm 0,244$ g/kg và tại 0,03% là $25,245 \pm 0,440$ g/kg. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ enzyme lên 0,04% và 0,05% thì hàm lượng đường khử sinh ra không có sự khác biệt có nghĩa so với nồng độ 0,03% do giai đoạn đầu khi thừa nồng độ cơ chất,

vận tốc phản ứng phụ thuộc tuyến tính vào nồng độ enzyme, hàm lượng đường khử sinh ra tăng lên nhưng khi nồng độ enzyme tăng tới một mức độ nào đó thì vận tốc phản ứng tăng không đáng kể [17]. Chính vì vậy, cần xác định nồng độ enzyme thích hợp để quá trình dịch hóa xảy ra nhanh và đem lại hiệu quả kinh tế.

Trong nghiên cứu này, nồng độ enzyme α -amylase 0,03% được chọn là điều kiện để thủy phân dịch khoai lang tím và thu được dịch có hàm lượng đường khử cao nhất là $25,245 \pm 0,440$ g/kg. Kết quả này phù hợp so với nghiên cứu trước đây của Nguyễn Văn Thành và cs (2019) [8] nồng độ enzyme 0,03% được chọn là nghiệm thức thích hợp nhất cho quá trình dịch hóa.



Hình 5. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến hàm lượng đường khử trong quá trình thủy phân tinh bột khoai tím

3.6. Tối ưu hóa quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím bằng enzyme α -amylase

Dựa vào kết quả của các thí nghiệm trên, có thể thấy rằng tỉ lệ khoai/nước có ảnh hưởng đến quá trình dịch hóa khoai lang tím, cụ thể khi tăng tỉ lệ khoai/nước 5 – 35% thì hàm lượng đường khử tăng. Tuy nhiên khi tiếp tục tăng đến 40% thì hàm lượng đường khử tăng nhưng không khác biệt có ý nghĩa, vì vậy cố định tỉ lệ khoai/nước là 35%. Các nhân tố tham gia vào phương trình là X_1 : pH 5,0 - 6,0, X_2 : nhiệt độ 65 - 75°C, X_3 : thời gian thủy phân 50 - 70 phút, X_4 : nồng độ enzyme 0,02 - 0,04% có ảnh hưởng đến quá trình dịch hóa dịch khoai lang tím. Kết quả thực nghiệm tối ưu hóa với hàm mục tiêu là hàm lượng đường khử được thể hiện ở bảng 2, giá trị các hệ số hồi quy và ($\alpha = 0,05$) được trình bày trong bảng 3.

Bảng 2. Thiết kế thực nghiệm và giá trị hàm mục tiêu theo mô hình CCD

STT	Biến mã hóa				Biến thực				Hàm lượng đường khử (g/kg)	
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	pH	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	Nồng độ enzyme (%)	Thực nghiệm	Dự đoán
1	0	0	2	0	5,50	70,0	70	0,030	21,577	22,050
2	0	0	0	0	5,50	70,0	60	0,030	25,124	25,646
3	1	1	-1	1	5,75	72,5	55	0,035	21,699	20,779
4	1	1	1	1	5,75	72,5	65	0,035	22,392	20,637
5	0	2	0	0	5,50	75,0	60	0,030	20,232	21,700
6	2	0	0	0	6,00	70,0	60	0,030	19,173	19,598
7	-1	-1	1	1	5,25	67,5	65	0,035	19,947	19,639
8	0	0	0	0	5,50	70,0	60	0,030	25,082	25,646
9	1	1	-1	-1	5,75	72,5	55	0,025	22,148	21,209
10	0	0	-2	0	5,50	70,0	50	0,030	18,543	19,450
11	-1	1	-1	1	5,25	72,5	55	0,035	20,436	19,817
12	1	-1	-1	-1	5,75	67,5	55	0,025	16,972	17,097
13	0	0	0	0	5,50	70,0	60	0,030	25,611	25,646
14	0	0	0	0	5,50	70,0	60	0,030	26,467	25,646
15	-2	0	0	0	5,00	70,0	60	0,030	18,565	18,518
16	1	1	1	-1	5,75	72,5	65	0,025	20,966	22,687
17	0	-2	0	0	5,50	65,0	60	0,030	16,524	17,440
18	0	0	0	2	5,50	70,0	60	0,040	19,035	19,122
19	0	0	0	-2	5,50	70,0	60	0,020	20,232	19,522
20	1	-1	1	1	5,75	67,5	65	0,035	19,458	19,217
21	-1	1	1	-1	5,25	72,5	65	0,025	21,944	21,297
22	-1	1	1	1	5,25	72,5	65	0,035	19,047	19,787
23	-1	-1	-1	1	5,25	67,5	55	0,035	18,373	18,517
24	0	0	0	0	5,50	70,0	60	0,030	25,915	25,646
25	1	-1	-1	1	5,75	67,5	55	0,035	18,806	18,207
26	0	0	0	0	5,50	70,0	60	0,030	25,693	25,646
27	-1	-1	-1	-1	5,25	67,5	55	0,025	16,361	16,867
28	-1	-1	1	-1	5,25	67,5	65	0,025	19,825	19,609
29	0	0	0	0	5,50	70,0	60	0,030	25,926	25,646
30	-1	1	-1	-1	5,25	72,5	55	0,025	20,599	19,707
31	1	-1	1	-1	5,75	67,5	65	0,025	20,355	19,727

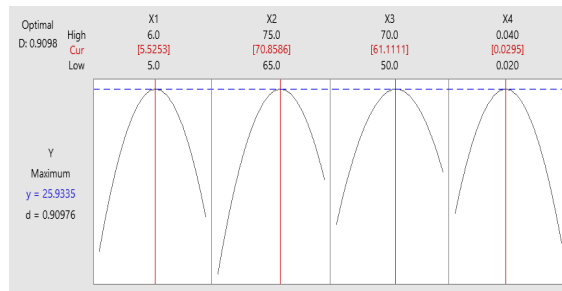
Bảng 3. Các hệ số hồi quy của mô hình

Nội dung	Hàm lượng đường khử (g/kg)			a ₂₂	-0,2431	-10,91	0,000
	Giá trị hệ số hồi quy	Giá trị T	Giá trị P				
a ₀	-2258	81,20	0,000	a ₃₃	-0,049	-8,22	0,000
Tuyến tính			0,087	a ₄₄	-63223	-8,90	0,000
a ₁	259,800	1,82	0,000	Tương tác			
a ₂	33,960	6,47	0,003	a ₁₂	0,509	1,22	0,239
a ₃	8,230	3,56	0,736	a ₁₃	-0,022	-0,43	0,671
a ₄	7493,000	-0,34	0,087	a ₁₄	-108,000	0,85	0,409
Bậc 2				a ₂₃	-0,023	-2,87	0,011
a ₁₁	-26,350	-10,12	0,000	a ₂₄	-30,800	-1,54	0,143
				a ₃₄	-16,200	-1,64	0,121
				R ²	0,957		
				P value of lack of fit	0,047		

Bảng 3 cho thấy, mối tương quan của hàm lượng đường khử sinh ra với các biến: pH, nhiệt độ, thời gian, nồng độ enzyme α -amylase có nghĩa ($P < 0,05$). Phương trình hồi quy thể hiện tương quan của điều kiện thủy phân đến hàm lượng đường khử thu nhận được thiết lập và sử dụng để dự đoán hàm lượng đường khử tạo thành từ quá trình dịch hóa:

$$Y = -2258 + 259,8 X_1 + 33,96 X_2 + 8,23 X_3 + 7493 X_4 - 26,35 X_1^2 - 0,2431 X_2^2 - 0,049 X_3^2 - 63223 X_4^2 + 0,509 X_1 X_2 - 0,022 X_1 X_3 - 108 X_1 X_4 - 0,023 X_2 X_3 - 30,8 X_2 X_4 - 16,2 X_3 X_4$$

Các giá trị tối ưu của các biến độc lập trong bước đường hóa cũng được xác định từ phần mềm MINITAB. Các điều kiện tối ưu cho giai đoạn này là X_1 : 5,5; X_2 : 71°C; X_3 : 61 phút và X_4 : 0,03%. Hàm lượng đường khử dự đoán theo các điều kiện nêu trên là Y : 25,934 g/kg.



Hình 6. Mô hình tối ưu hoá của quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím bởi các thông số pH, nhiệt độ, thời gian, nồng độ enzyme

Để kiểm định các giá trị dự đoán của mô hình, các điều kiện tối ưu được thực hiện độc lập với ba lần lặp lại và giá trị trung bình của hàm lượng đường khử đạt được là $25,941 \pm 0,352$ g/kg, tương đương với giá trị ước tính của mô hình được thiết lập. Đồng thời tiến hành đối sánh kết quả phân tích hàm lượng tinh bột ban đầu trong nguyên liệu khoai lang tím là 21,2 g/100 g và hàm lượng tinh bột còn lại trong dịch khoai lang tím sau thủy phân bằng enzyme α -amylase (giai đoạn dịch hóa) với các thông số tối ưu là 4,99 g/100 g, cho thấy hiệu suất đạt khá cao (76,46%).

4. KẾT LUẬN

Từ kết quả mô hình tối ưu hóa quá trình thủy phân tinh bột khoai lang tím bằng enzyme α -amylase trong sản xuất nước khoai lang tím lên men ghi nhận tại điều kiện với các thông số pH: 5,5; nhiệt độ: 71°C, thời gian: 61 phút và nồng độ enzyme α -amylase:

0,03% cho dịch thủy phân đạt hàm lượng đường khử cao nhất dự đoán là 25,934 g/kg. Đồng thời kết quả thực nghiệm ở các điều kiện tối ưu được thực hiện độc lập, ba lần lặp lại, với giá trị trung bình của hàm lượng đường khử đạt được là $25,941 \pm 0,352$ g/kg cho thấy sự tương thích rất cao với mô hình. Vì thế việc nghiên cứu thủy phân tinh bột bằng enzyme α -amylase có thể là ứng dụng bền vững cho sản xuất các sản phẩm từ nguyên liệu khoai lang tím.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. V. D. Truong, Z. Hu, R. L. Thompson, G. C. Yencho and K. V. Pecota (2012). Pressurized liquid extraction and quantification of anthocyanins in purple-fleshed sweet potato genotypes. *Journal of Food Composition and Analysis* 96-103.
2. P.-M. a. Monika (2015). Sweet potato as a super food. *International Journal of Ayurveda and Pharma Research* 557-562.
3. M. Kano, Takayanagi, T., Harada K., Makino K. and Ishikawa F (2005). Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoea batatas* cultivar Ayamurasaki. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 979-988.
4. Nguyễn Xuân Lai (2011). Nghiên cứu xây dựng quy trình thâm canh tổng hợp cây khoai lang vùng đồng bằng sông Cửu Long. Báo cáo tổng kết kết quả thực hiện đề tài thuộc dự án khoa học công nghệ nông nghiệp vốn vay ADB. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.
5. Nguyễn Ngọc Hương, Nguyễn Thị Lang, Nguyễn Trọng Phước, Trần Bình Tân, Trịnh Thị Lữ, Trần Thị Thanh Xà, Nguyễn Văn Hiếu, Trần Văn Theo và Bùi Chí Bửu (2013). Đánh giá các giống khoai lang (*Ipomoea batatas* L.) mới chọn tạo theo hướng năng suất, phẩm chất cao tại đồng bằng sông Cửu Long, tập 2. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 139-148.
6. Đào Xuân Tùng (2010). Phân tích chuỗi giá trị khoai lang tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long. Luận văn Thạc sĩ khoa học chuyên ngành Phát triển nông thôn. Viện Nghiên cứu Phát triển đồng bằng sông Cửu Long. Trường Đại học Cần Thơ
7. Lê Vĩnh Phúc, Nguyễn Bảo Vệ, Lê Thị Thanh Hiền (2014). Điều tra kỹ thuật canh tác và khảo sát dinh dưỡng kali, canxi trên khoai lang (*Ipomoea batatas* Lam.) tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long.

Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ, chuyên đề: Nông nghiệp 14-23.

8. Nguyễn Văn Thành, Nguyễn Minh Nhật, Nguyễn Ngọc Thanh (2019). Lên men rượu vang khoai lang tím Nhật (*Ipomoea batatas*). Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ, 55 (Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học) 125-133.

9. Hoàng Thị Lệ Hằng, Nguyễn Thị Thu Hường (2018). Nghiên cứu chế biến nước uống lên men lactic từ củ khoai lang tím Nhật Bản (giống *Murasakimasari*). Tạp Chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam 60 (12).

10. Nguyễn Danh Đoàn Trang (2014). Hoàn thiện hệ thống kênh phân phối sản phẩm khoai lang tím Nhật trên địa bàn huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long. Luận văn Thạc sĩ kinh tế. Trường Đại học Cần Thơ.

11. Lê Thị Hồng Ánh, Nguyễn Thị Hải Hòa, Phạm Thị Cẩm Hoa, Nguyễn Cẩm Hường, Vũ Hoàng Yến (2017). Giáo trình phân tích hóa lý thực phẩm 1. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh, 103 - 108.

12. A. Dargahi, M. R. Samarghandi, A. Shabanloo, M. M. Mahmoudi (2021). Statistical modeling of phenolic compounds adsorption onto low-cost adsorbent prepared from aloe vera leaves wastes using CCD-RSM optimization: effect of

parameters, isotherm, and kinetic studies. Biomass Conversion and Biorefinery.

13. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4594: 1988 (ST SEV 3450 – 81) (1988). Đồ hộp. Phương pháp xác định đường tổng số, đường khử và tinh bột.

14. Nguyễn Đức Lượng, Cao Cường, Nguyễn Thị Ánh Tuyết, Lê Thị Thủy Tiên, Tạ Thu Hằng, Huỳnh Ngọc Oanh, Nguyễn Thúy Hương, Phan Thị Huyền (2004). Công nghệ enzyme. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

15. Jagatee S, Pradhan C, Dash PK, Sahoo S, Mohanty RC (2015). Optimization for saccharification of sweet potato (*Ipomoea batatas* L) flour for enhanced ethanol production. Int J Sci Technol Manag 67-76.

16. MU Li-ping, LEI Ji, LI Bo, LI Xiao-jiang (2010). Development of a Purple Sweet Potato Beverage. School of Bioengineering, Xihua University, Chengdu 610039, China.

17. Đào Thị Mỹ Linh, Nguyễn Thị Quỳnh Mai, Vy Ngọc Huyền, Lê Thị Hồng Phượng, Nguyễn Thị Hoàng Mai (2017). Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men acid citric của chủng *Aspergillus niger* từ dịch thủy phân bã mía bằng enzyme cellulase. Tạp chí Khoa học - Trường Đại học An Giang, số 13 (1), 109 – 119.

OPTIMIZATION OF THE HYDROLYSIS OF PURPLE SWEET POTATO STARCH BY α -AMYLASE IN THE PRODUCTION OF FERMENTED JUICE

Nguyen Hoang Anh, Nguyen Thi Diep,

Le Nguyen Dang, Phan Duc Tai, Le Huynh Anh Thu

Summary

This study was conducted to optimize purple sweet potato starch's hydrolysis. The 5-factor central composite design (CCD) was used to study effects of sweet potato/water ratio 5 – 40%, pH 4.5 - 6.5, temperature 60 – 80°C, hydrolysis time 40 – 80 minutes and α -amylase concentration 0.01–0.05% on reducing sugar's content and hydrolysis yield. At optimized conditions of pH 5.5, 71°C; 0.03% α -amylase and 61 minutes, maximum reducing sugar content and hydrolysis yield were 25.934 g/kg. The determined model was highly compatible with experimental results and would be applied for purple sweet potato fermented beverage's production.

Keywords: *Alpha-amylase, fermentation, purple sweet potato, optimize, starch hydrolysis.*

Người phản biện: PGS.TS. Đỗ Văn Chương

Ngày nhận bài: 6/9/2021

Ngày thông qua phản biện: 6/10/2021

Ngày duyệt đăng: 13/10/2021