

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG DỊCH THỦY PHÂN TINH BỘT BỞI ENZYME AMYLASE THƯƠNG MẠI TRONG CHẾ BIẾN KẸO MỀM

● HUỲNH THỊ PHƯƠNG LOAN - NGUYỄN BẢO LỘC - LÊ THANH THÚY

TÓM TẮT:

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hiệu quả của quá trình thủy phân tinh bột tăng lên đáng kể khi kết hợp 2 loại enzyme α -amylase và glucoamylase. So với tinh bột gạo và bắp, dịch thủy phân của tinh bột sắn có hàm lượng glucose, maltose và chỉ số DE cao nhất. Kết quả phân tích về cấu trúc và đánh giá cảm quan cho thấy, kẹo mềm làm từ mật tinh bột của sắn cho kết quả khả quan, không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với kẹo mềm được làm từ mạch nha thương mại.

Từ khóa: amylase, tinh bột, thủy phân, kẹo mềm.

1. Đặt vấn đề

Tinh bột là nguồn dự trữ chính của nhiều cây trồng quan trọng như lúa mì, gạo, ngô, sắn và khoai tây,... Trong nhiều năm qua, đã có sự chuyển dịch từ phương pháp thủy phân tinh bột bằng acid cho đến việc sử dụng enzyme chuyển hóa tinh bột trong sản xuất maltodextrin, tinh bột biến tính, đường glucose và fructose. Quá trình thủy phân tinh bột sử dụng acid vô cơ như HCl và H_2SO_4 cho kết quả rất khó kiểm soát và sẽ tạo nhiều sản phẩm không mong muốn, không an toàn đối với sức khỏe của người tiêu dùng. Do vậy, ứng dụng enzyme để thủy phân tinh bột bằng enzyme amylase đã góp phần quan trọng, tạo các sản phẩm chuyển hóa từ tinh bột đảm bảo an toàn thực phẩm (Dương Thị Ngọc Hạnh và Nguyễn Minh Thủy, 2014). Do đó, sử dụng enzyme sản xuất mật tinh bột để chế biến kẹo mềm cũng nhằm mục tiêu đa dạng hóa các sản phẩm từ tinh bột, tăng giá trị sử dụng của nguồn nguyên liệu này. Trong quá trình sản xuất kẹo mềm, hàm lượng mật tinh bột sử dụng khá cao. Tuy nhiên, nguồn mật tinh bột này được sản xuất theo phương pháp truyền thống, nên khó khống chế các tỷ lệ trong thành

phần của mật tinh bột như dextrin, maltose và glucose. Công trình “Nghiên cứu khả năng sử dụng dịch thủy phân tinh bột bởi enzyme amylase thương mại trong chế biến sản phẩm kẹo mềm”, với mục tiêu nghiên cứu là lựa chọn được loại tinh bột thích hợp, để khi thủy phân bằng enzyme amylase thương mại sẽ cho sản phẩm mật tinh bột mang đặc tính phù hợp và có khả năng thay thế mạch nha trong quá trình chế biến kẹo mềm.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng/vật liệu nghiên cứu

Tinh bột gạo, tinh bột sắn (tinh bột năng), tinh bột bắp được sản xuất bởi Công ty TNHH SX TM XNK Vĩnh Thuận - Việt Nam; Enzyme Thermo-Stable Acid Alpha-amylase AHA-400 và Gluco-Amylase GA-150 (Công ty ICFOOD, Việt Nam); Mạch nha: Corn syrup (xuất xứ Hàn Quốc).

2.2. Phương pháp xác định hàm lượng đường khử (Schörmüller, J., 1969)

a. Chuẩn bị mẫu

Cân trọng lượng mẫu khoảng 5g, chuyển vào bình định mức 100ml, thêm 60ml nước cất được đun nóng vào bình định mức, lắc đều trong 3 phút. Sau đó, lấy ra làm nguội dưới vòi nước lạnh. Thêm vào

5ml dung dịch Carrez I (lắc đều), thêm tiếp 5ml dung dịch Carrez II (lắc đều). Thêm nước cất vào bình định mức, đến vạch 100ml, sau đó tiến hành lọc qua giấy lọc.

b. Chuẩn độ

Lấy 10ml dung dịch sau khi lọc cho vào bình tam giác 250ml, cho thêm 25 ml dung dịch Luff-Schoorl và 50ml nước cất. Đun sôi dung dịch trong thời gian chính xác là 10 phút. Sau đó, lấy ra làm nguội dưới vòi nước lạnh. Cho thêm 3g KI và thêm từ từ 25ml dung dịch H_2SO_4 25%, lắc nhẹ cho hết bọt. Đem dung dịch này đi chuẩn độ bằng $Na_2S_2O_3$ 0,1N, đến khi màu chuyển từ vàng sẫm sang màu trắng đục, thì kết thúc phản ứng (sử dụng tinh bột làm chất chỉ thị). Ghi nhận số ml $Na_2S_2O_3$ 0,1N sau khi chuẩn độ mẫu. Song song, phân tích mẫu trắng làm mẫu đối chứng. Ghi nhận số ml $Na_2S_2O_3$ 0,1N sau khi chuẩn độ mẫu trắng.

*** Cách tính kết quả:**

mL $Na_2S_2O_3$ chuẩn độ mẫu trắng - mL $Na_2S_2O_3$ chuẩn độ mẫu thử = X mL sodiumthiosulphate. Dùng X để tra bảng Luff Schoorl, tính được hàm lượng đường khử.

$$\% \text{đường khử} = \frac{\text{hàm lượng đường khử (mg)} \times 20 \times 100}{\text{khối lượng mẫu (mg)}}$$

2.3. Phương pháp xác định hàm lượng đường maltose (Schörmüller, J., 1969)

Hút 20ml dung dịch sau khi lọc ở bước 2.2.a, cho vào bình định mức 100ml, cho vào 2 ml HCl đậm đặc, đun hỗn hợp ở 60-70°C trong 5 phút, cho thêm nước cất đến vạch 100ml của bình định mức. Hút 10ml dung dịch trong bình định mức cho vào bình tam giác 250ml, cho thêm 25 ml dung dịch Luff-Schoorl, và 50ml nước cất. Các bước tiếp theo thực hiện tương tự như mục 2.2.b.

*** Cách tính kết quả:**

$X\% = (\text{đường khử sau khi thủy phân} - \text{đường khử trước khi thủy phân}) \times 0,95$

* Tính toán chỉ số DE dựa theo công thức (Rong và cộng sự, 2009):

$$DE = \frac{\% \text{ đường khử} \times 100}{\text{hàm lượng chất khô hòa tan (°Brix)}}$$

2.4. Các bước tiến hành trong quá trình chế biến kẹo mềm

Chuẩn bị hỗn hợp (1) bao gồm dịch trích chanh dây (12%), dịch trích nhãn (24%), bổ sung 20% mật tinh bột (từng loại như: gạo, bắp, sắn, Corn syrup), bổ sung 25% đường saccharose. Đồng thời chuẩn bị 12% gelatin hòa tan trong 7% nước ấm (2). Gia

nhiệt hỗn hợp (1) ở 80°C trong 6 phút và làm nguội hỗn hợp đến 70°C, bổ sung gelatin (2) vào hỗn hợp (1) và khuấy đều, rót kẹo vào khuôn, ổn định kẹo trong thời gian 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó tiến hành tách kẹo ra khỏi khuôn, tiến hành đo các chỉ tiêu liên quan đến chất lượng của kẹo, như:

- Cấu trúc của kẹo: sử dụng máy đo cấu trúc RHEO TEXTURE ANALYZER (xuất xứ Nhật Bản).

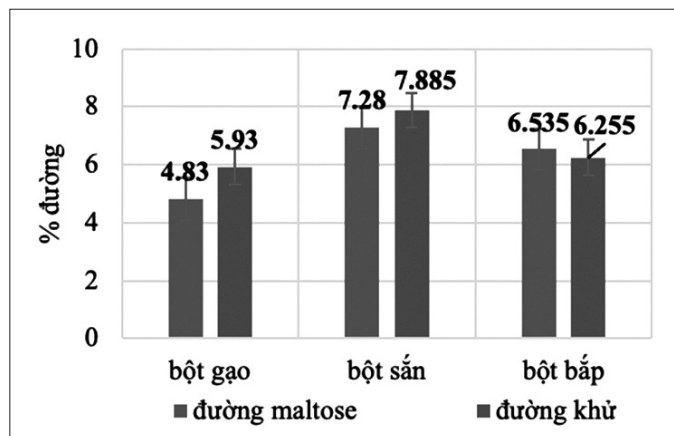
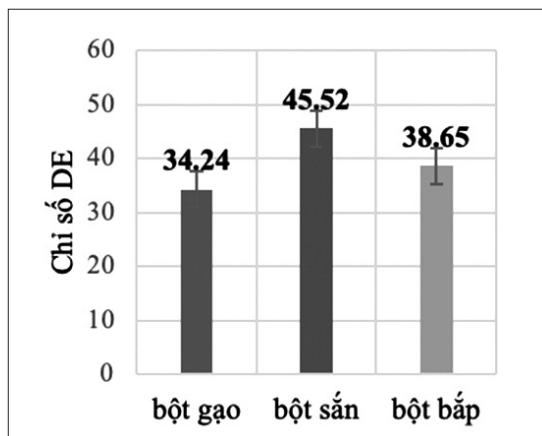
- Đánh giá cảm quan: Phương pháp mô tả định lượng QDA (Kemp *et al.*, 2009).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của loại tinh bột đến thành phần dịch thủy phân khi sử dụng enzyme α -amylase

Cấu trúc của tinh bột có ảnh hưởng đáng kể đến khả năng thủy phân của enzyme amylase (Hoàng Kim Anh, 2007), do đó nghiên cứu tiến hành đánh giá sự ảnh hưởng của loại tinh bột đến hoạt tính của enzyme α -amylase. Thông qua việc phân tích thành phần hóa học của dịch thủy phân thu nhận được, bao gồm: hàm lượng glucose, maltose và chỉ số DE, từ đó có thể lựa chọn được nguồn nguyên liệu tinh bột thích hợp để sản xuất kẹo mềm. Khảo sát được tiến hành bằng cách chuẩn bị 3 loại hỗn hợp tinh bột và nước theo tỷ lệ 1:4, bao gồm các loại tinh bột như: tinh bột bắp, tinh bột gạo, tinh bột sắn. Điều chỉnh giá trị pH của hỗn hợp với giá trị pH 6,2, gia nhiệt hỗn hợp đến khi tinh bột được hồ hóa hoàn toàn, làm nguội hỗn hợp đến nhiệt độ 82°C. Sau đó, bổ sung enzyme α -amylase với nồng độ 0,3%, thủy phân ở điều kiện nhiệt độ 82°C trong 42 phút, sau đó tiến hành vô hoạt enzyme. Dung dịch sau khi thủy phân sẽ được phân tích để xác định hàm lượng đường glucose và maltose, chỉ số DE. Kết quả thống kê cho thấy, sự ảnh hưởng của loại bột đến hoạt động của enzyme α -amylase rất rõ rệt, sự khác biệt thống kê có ý nghĩa 5% cho cả 3 chỉ tiêu phân tích: hàm lượng glucose, maltose và chỉ số DE của dịch thủy phân. Trong đó, dịch thủy phân từ tinh bột sắn có hàm lượng glucose, maltose và chỉ số DE là cao nhất (Hình 1). Kết quả nghiên cứu có điểm tương đồng với nghiên cứu của Khady Ba *et al.* (2013). Nhóm tác giả nghiên cứu quá trình sản xuất dextrin bằng cách thủy phân tinh bột thông qua việc sử dụng enzyme amylase có sẵn trong lúa miến nảy mầm. Kết quả cho thấy bột sắn cho năng suất thủy phân cao nhất, sản phẩm của quá trình thủy phân chứa phân tử oligosaccharide có phân bố trọng lượng phân tử rộng và tỷ lệ maltose cao.

Hình 1: Thành phần của dịch thủy phân bằng enzyme α -amylase từ các loại tinh bột khác nhau



3.2. Ảnh hưởng của loại tinh bột đến thành phần của dịch thủy phân khi sử dụng enzyme glucoamylase

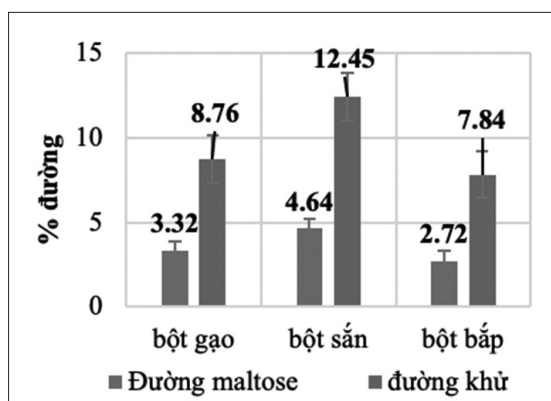
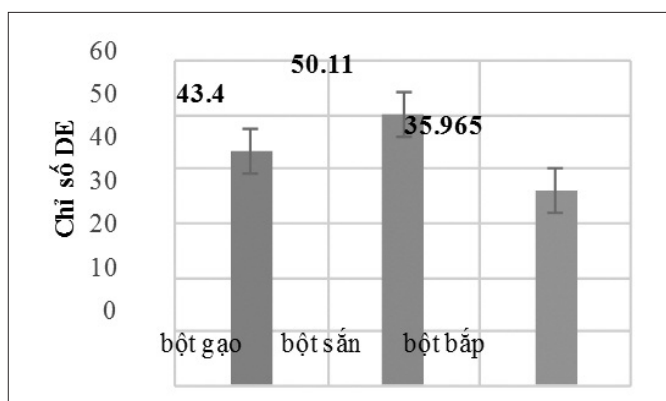
Nghiên cứu khảo sát sự ảnh hưởng của loại tinh bột đến khả năng thủy phân của enzyme glucoamylase, được tiến hành bằng cách chuẩn bị 3 loại hỗn hợp tinh bột và nước theo tỷ lệ 1:4, bao gồm các loại tinh bột như: tinh bột bắp, tinh bột gạo, tinh bột sắn. Điều chỉnh giá trị pH của dịch thủy phân với giá trị pH 2,5. Sau đó, bổ sung enzyme glucoamylase với nồng độ 0,2% và thủy phân ở nhiệt độ 58°C trong 28 phút, sau đó tiến hành vô hoạt enzyme. Kết quả thống kê cho thấy, sự ảnh hưởng của loại tinh bột đến khả năng thủy phân của enzyme glucoamylase rất rõ ràng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% thể hiện ở cả 3 chỉ tiêu phân tích: hàm lượng đường khử, maltose và chỉ số DE, kết quả trình bày ở Hình 2. Bên cạnh đó, dịch

thủy phân từ tinh bột sắn có hàm lượng glucose và chỉ số DE là cao nhất, khác biệt có ý nghĩa so với tinh bột gạo và bắp.

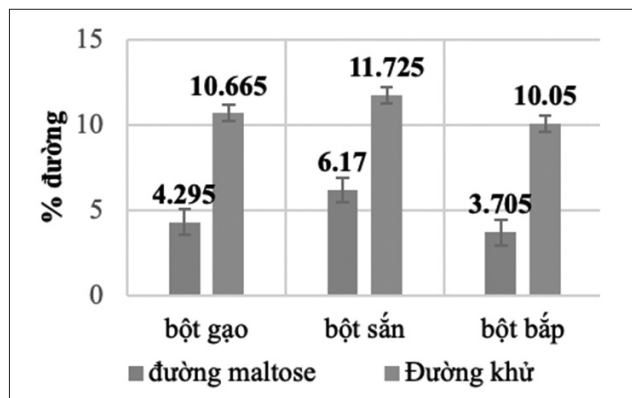
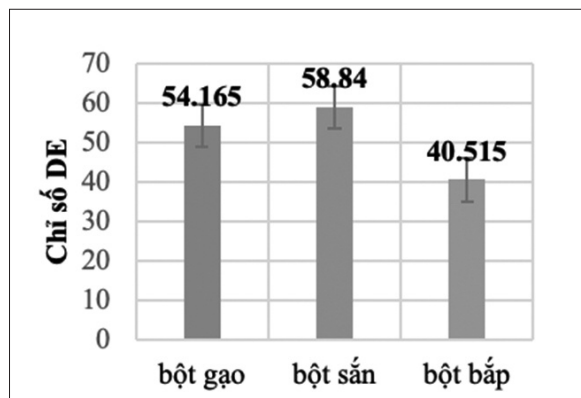
3.3. Ảnh hưởng của loại tinh bột đến thành phần của dịch thủy phân khi sử dụng kết hợp enzyme α -amylase và glucoamylase

Sử dụng đồng thời α -amylase và glucoamylase tạo điều kiện thuận lợi hơn cho sự tiếp cận của cả hai enzyme đối với phân tử amylose và amylopectin trong cấu trúc của hạt tinh bột, kết quả là thủy phân diễn ra với hiệu suất cao hơn (Hoàng Kim Anh, 2007). Enzyme α -amylase sẽ cắt mạch tinh bột tại một số điểm ngẫu nhiên làm lộ ra các đầu không khử, tạo điều kiện dễ dàng cho sự tiếp cận của enzyme glucoamylase với cơ chất dễ dàng hơn. Nghiên cứu được tiến hành như sau: Chuẩn bị 3 loại hỗn hợp tinh bột và nước theo tỷ lệ 1:4, bao gồm các loại tinh bột như: tinh bột bắp, tinh bột gạo,

Hình 2: Thành phần của dịch thủy phân bằng enzyme glucoamylase từ các loại tinh bột khác nhau



Hình 3: Thành phần của dịch thủy phân bằng enzyme α -amylase kết hợp với enzyme glucoamylase từ các loại tinh bột khác nhau



tinh bột năng. Thực hiện quá trình thủy phân các loại tinh bột trong điều kiện tối ưu được tìm thấy ở thí nghiệm 1 và 2. Kết quả phân tích các chỉ tiêu: hàm lượng đường glucose và maltose, chỉ số DE, được trình bày ở Hình 3.

Kết quả thống kê cho thấy, khi kết hợp 2 loại enzyme α -amylase và glucoamylase để thủy phân tinh bột, hiệu suất thủy phân tăng lên rõ rệt, dịch thủy phân có hàm lượng đường khử và chỉ số DE tăng cao hơn so với sử dụng một loại enzyme riêng lẻ. Qua kết quả ở Hình 3 cho thấy, dịch thủy phân từ tinh bột sắn có hàm lượng glucose, maltose và chỉ số DE cao nhất so với dịch thủy phân thu nhận từ tinh bột gạo và bắp. Nguyên nhân là do sự khác nhau về kích thước và cấu trúc của hạt tinh bột dẫn đến quá trình hồ hóa và khả năng bị thủy phân bởi enzyme cũng có sự khác biệt đáng kể. Hạt tinh bột sắn có hình tròn có kích thước 10-30nm, hạt tinh bột bắp có hình đa giác hoặc tròn, hạt tinh bột gạo có hình đa giác, kích thước 2-10nm (Lê Văn Hoàng và Trương Thị Minh Hạnh, 2007). Bên cạnh kích thước và cấu tạo của hạt tinh bột cũng có sự khác biệt giữa tinh bột sắn, bắp và gạo. Đặc biệt là sự hình thành các lỗ xốp trong hạt tinh bột, giúp nước thâm

nhập làm trương nở hạt tinh bột, cấu trúc hạt bị phá vỡ, các liên kết hydro giữa các phần tử trong cấu trúc tinh thể bị phá hủy, tạo điều kiện cho enzyme thủy phân dễ dàng hơn. Bởi vì tinh bột sắn có cấu trúc hạt tương đối xốp, liên kết giữa các phần tử trong cấu trúc tinh thể yếu, vì vậy cấu trúc hạt tinh bột dễ phân cắt bởi enzyme hơn so với tinh bột bắp và gạo (Hoàng Kim Anh, 2007).

3.4. Khảo sát khả năng thay thế mạch nha bằng mật tinh bột sản xuất từ quá trình thủy phân của enzyme amylase trong sản xuất kẹo mềm

Dịch thủy phân thu nhận từ quá trình thủy phân tinh bột bằng enzyme α -amylase kết hợp với enzyme glucoamylase, từ nguồn nguyên liệu là: tinh bột sắn, tinh bột gạo và tinh bột bắp sẽ được trung hòa đến pH 6,5 và cô đặc đến nồng độ chất khô 70%, xấp xỉ với với nồng độ chất khô của sản phẩm mạch nha thương mại (Corn syrup). Sản phẩm mật tinh bột thu nhận sau quá trình cô đặc được phân tích các chỉ tiêu hóa học, trình bày ở Bảng 1.

Kết quả trình bày ở Bảng 1 cho thấy, so với mạch nha thương mại (Corn syrup), mật tinh bột sản xuất từ các loại tinh bột sắn, gạo và bắp có hàm

Bảng 1. Thành phần hóa học của các loại mật tinh bột và mạch nha thương mại

Loại mật tinh bột	Brix (%)	Độ ẩm (%)	Đường khử (%)	Maltose (%)	DE
Sắn	72 ^b	28,47 ^b	21,3 ^b	4,9 ^b	64,8 ^b
Gạo	67 ^a	37,48 ^c	14,4 ^a	3,3 ^a	44,9 ^a
Bắp	65 ^a	39,09 ^d	13,5 ^a	2,7 ^a	43,6 ^a
Corn syrup	75 ^c	20,19 ^a	32,2 ^c	5,4 ^b	93,0 ^c

Ghi chú: Các giá trị có các kí tự chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

lượng glucose, maltose; chỉ số DE khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%. Khảo sát tiến hành sử dụng 3 loại mật tinh bột này để chế biến kẹo mềm.

Bảng 2. Ảnh hưởng của loại mật tinh bột đến cấu trúc kẹo mềm

Loại mật tinh bột	Lực nén (g lực)	Lực cắt (g lực)
Sắn	419,5 ^a	730,4 ^a
Gạo	446,6 ^{ab}	896,2 ^b
Bắp	472,5 ^b	765,2 ^a
Corn syrup	449,0 ^{ab}	789,2 ^{ab}

Ghi chú: Các giá trị có các kí tự chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy, cấu trúc của kẹo mềm làm từ mật tinh bột chế biến từ 3 loại tinh bột sắn, gạo và bắp có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%, nhưng không khác biệt so với kẹo mềm được chế biến từ sản phẩm mạch nha thương mại (Corn syrup). Kết quả ở Bảng 3 cũng cho thấy, các chỉ tiêu về cảm quan được phân tích và đánh giá sự khác biệt giữa sản phẩm kẹo mềm được chế biến từ 3 loại mật tinh bột và sản phẩm mạch nha thương mại không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức tin cậy 5%. Qua kết quả phân tích thành phần hóa học của các loại mật tinh bột (Bảng 1) và kết quả phân tích cấu trúc và đánh giá cảm quan đã thể hiện khả năng sử dụng mật tinh bột chế biến từ tinh bột sắn để thay thế mạch nha thương mại trong quy trình sản xuất kẹo mềm.

Bảng 3. Ảnh hưởng của mật tinh bột đến giá trị cảm quan của kẹo mềm

Loại mật tinh bột	Điểm cảm quan			
	Màu sắc	Cấu trúc	Mùi	Vị
Gạo	3,2 ^a	3,0 ^a	2,4 ^a	2,9 ^{ab}
Bắp	3,3 ^a	3,5 ^{ab}	2,6 ^a	2,4 ^a
Sắn	4,7 ^b	4,2 ^b	4,1 ^b	3,6 ^{bc}
Corn syrup	4,8 ^b	4,5 ^b	4,7 ^b	4,4 ^c

Ghi chú: Các giá trị có các kí tự chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

4. Kết luận

Từ các kết quả của nghiên cứu cho thấy, khi thủy phân các loại tinh bột (sắn, gạo và bắp) bằng từng loại enzyme riêng lẻ là: α -amylase và glucoamylase, hoặc kết hợp 2 loại enzyme này với nhau để làm hiệu suất thủy phân, dịch thủy phân từ tinh bột sắn luôn đạt hàm lượng glucose và maltose, chỉ số DE cao nhất so với dịch thủy phân từ tinh bột gạo và bắp. Sử dụng dịch thủy phân thu được từ quá trình thủy phân của tinh bột sắn để sản xuất mật tinh bột sử dụng trong chế biến kẹo mềm. Kết quả phân tích về cấu trúc và đánh giá cảm quan cho thấy, kẹo mềm làm từ mật tinh bột của sắn cho kết quả cấu trúc và giá trị cảm quan khá tốt, không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mẫu kẹo làm từ mạch nha thương mại. Điều đó cho thấy, mật tinh bột thu được từ bột sắn hoàn toàn có thể thay thế mạch nha thương mại trong công nghệ sản xuất kẹo mềm ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Dương Thị Ngọc Hạnh và Nguyễn Minh Thủy (2014). Sử dụng enzyme -amylase trong thủy phân tinh bột từ gạo huyết rồng. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 1, 61-67.
2. Hoàng Kim Anh (2007). *Hóa học thực phẩm*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
3. Khady Ba, Mario Aguedo, Emmanuel Tine et al. (2013). Hydrolysis of starches and flours by sorghum malt amylases for dextrins production. *European Food Research and Technology*, 236, 905-918.
4. Lê Văn Hoàng và Trương Thị Minh Hạnh (2007). *Tinh bột khai thác và ứng dụng*, Nhà xuất bản Đà Nẵng, Đà Nẵng.
5. Sarah E. Kemp, Tracey Hollowood, Joanne Hort (2009). *Sensory evaluation: A Practical Handbook*, Wiley-Blackwell, USA.

6. Schörmüller, J. (1969). *Carbohydrate in food*. Springer-Verlag, Berlin, 5, 195-292.
7. Y. Rong, M. Sillick, C.M. Gregson. (2009). Determination of Dextrose Equivalent Value and Number Average Molecular Weight of Maltodextrin by Osmometry. *Journal of Food Science*, 74(1), C33-C40.

Ngày nhận bài: 4/7/2022

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 4/8/2022

Ngày chấp nhận đăng bài: 10/8/2022

Thông tin tác giả:

1. HUỲNH THỊ PHƯƠNG LOAN¹

2. NGUYỄN BẢO LỘC¹

3. LÊ THANH THÚY²

¹Trường Đại học Cần Thơ

²Chi cục An toàn vệ sinh thực phẩm tỉnh Sóc Trăng

A STUDY ON USING THE HYDROLYZED SOLUTION OF TAPIOCA STARCH FROM THE AMYLASE-ASSISTED HYDROLYSIS PROCESS TO MAKE SOFT CANDY

● HUYNH THI PHUONG LOAN¹

● NGUYEN BAO LOC¹

● LE THANH THUY²

¹Can Tho University

²Food Safety Authority of Soc Trang Province

ABSTRACT:

This study's results show that the combination of α -amylase and glucoamylase significantly improves the hydrolysis process's yield. Compared with rice and corn starch, the hydrolyzed solution of tapioca starch has the highest content of glucose and maltose, and the highest value of DE index. The study's structural analysis and sensory evaluation also indicate that the soft candy, made from the tapioca starch molasses, has quite good results which have no statistically differences compared to those of soft candy made from commercial corn syrup.

Keywords: amylase, starch, hydrolyse, soft candy.