

NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH THỦY PHÂN TINH BỘT HẠT SEN HỒNG ĐỒNG THÁP (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) BẰNG AMYLASE

• NGUYỄN HOÀNG NAM¹ - VƯƠNG BẢO THY¹ - VÕ THANH BEO¹ -
NGUYỄN NGỌC QUÍ¹ - TRẦN NGỌC ĐIệp¹ - ĐẶNG XUÂN ĐÀO¹ -
NGUYỄN LÊ TẤN THIÊN¹ - TRẦN HỮU THANH HUY¹ - BUI THẾ VINH^{1,*}

¹Khoa Sau Đại học, Trường Đại học Cửu Long

*Người chịu trách nhiệm bài viết: Email: btvinhvnm@yahoo.com.vn

TÓM TẮT:

Hạt sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) là nguồn cung cấp tinh bột quý, nhưng tiềm năng chế biến thành siro glucose chức năng vẫn chưa được khai thác đầy đủ tại Việt Nam. Hạt của giống sen hồng Đồng Tháp có hàm lượng carbohydrate cao được xác định là nguyên liệu đầy hứa hẹn cho sản xuất dịch thủy phân bằng enzyme. Nghiên cứu này nhằm xác định loại enzyme amylase phù hợp nhất (α -amylase, β -amylase, glucoamylase) cho quá trình thủy phân tinh bột hạt sen hồng Đồng Tháp. Đồng thời xác định các yếu tố công nghệ ảnh hưởng đến quá trình chuyển hóa tinh bột hạt sen thành dịch giàu glucose bao gồm nhiệt độ, pH, nồng độ enzyme amylase được chọn và thời gian thủy phân. Kết quả nghiên cứu cho thấy enzyme α -amylase phù hợp nhất và điều kiện tối ưu cho quá trình thủy phân tinh bột hạt sen là 90°C, pH 6,5, nồng độ α -amylase 0,075% (v/w) và thời gian 30 phút. Tại điều kiện tối ưu này, dịch thủy phân đạt độ Brix 9,83 °Bx, hàm lượng đường khử 14,41%, đường tổng 36,75% và lượng tinh bột dư chỉ còn 3,72% và chỉ số Dextrose Equivalent (DE) tính toán đạt 48,12%. Nghiên cứu đã xây dựng thành công quy trình thủy phân tinh bột hạt sen bằng α -amylase, tạo cơ sở cho việc sản xuất siro glucose chất lượng cao từ nguồn nguyên liệu bản địa.

Từ khóa: enzyme amylase, hạt sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.), sự thủy phân, tinh bột.

1. Đặt vấn đề

Hạt sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) là một trong những nông sản truyền thống có giá trị cao tại nhiều quốc gia châu Á, được sử dụng rộng rãi vừa làm thực phẩm vừa làm dược liệu. Thành phần dinh dưỡng của hạt sen có chứa hàm lượng carbohydrate rất cao, chiếm khoảng 60-70% trọng

lượng khô, với thành phần chủ yếu là tinh bột (Bangar et al., 2022). Tận dụng nguồn nguyên liệu giàu tinh bột này để sản xuất siro glucose chức năng không chỉ tạo ra sản phẩm có giá trị gia tăng cao, mà còn góp phần giải quyết đầu ra cho nông sản địa phương, nâng cao thu nhập cho người nông dân.

Trong bối cảnh nhu cầu toàn cầu về các sản phẩm thay thế đường saccharose ngày càng gia tăng, siro glucose và siro maltose từ tinh bột thực vật đang được quan tâm rộng rãi (Musdalifa et al., 2024). Siro glucose (glucose syrup) là sản phẩm của quá trình thủy phân tinh bột, được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm như chất tạo ngọt, chất độn, chất điều chỉnh độ nhớt và nguyên liệu lên men (Permanasari et al., 2018). Đặc biệt, dịch đường thu được từ thủy phân tinh bột hạt sen được đánh giá có chỉ số đường huyết (glycemic index - GI) thấp hơn so với saccharose, phù hợp với đối tượng người tiêu dùng mắc bệnh đái tháo đường hoặc có nhu cầu kiểm soát cân nặng (Sopawong et al., 2022). Amylase là nhóm enzyme thủy phân có khả năng xúc tác sự phân giải tinh bột thành các oligosaccharide và đường đơn giản hơn, đóng vai trò trung tâm trong chuyển hóa carbohydrate ở cả hệ sinh vật và công nghệ thực phẩm (Mehta & Satyanarayana, 2016).

Mặc dù có tiềm năng lớn, các nghiên cứu hệ thống về thủy phân tinh bột hạt sen tại Việt Nam vẫn còn rất hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng thủy phân tinh bột hạt sen của ba loại enzyme amylase, đồng thời tối ưu hóa các điều kiện phản ứng của enzyme được lựa chọn, bao gồm nhiệt độ, pH, nồng độ enzyme và thời gian thủy phân, nhằm thu nhận siro glucose có hiệu suất chuyển hóa tinh bột cao nhất.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Nghiên cứu sử dụng hạt sen giống Sen hồng Đồng Tháp và chế phẩm enzyme amylase thương mại có hoạt lực cao. Hạt sen được thu hoạch tại huyện Tháp Mười, tỉnh Đồng Tháp vào tháng 8/2025. Các hạt đạt độ chín sinh lý đồng đều, không bị tổn thương cơ học hay sâu bệnh được lựa chọn phục vụ nghiên cứu.

Ba loại enzyme amylase thương mại được sử dụng:

- α -amylase (Termamyl SC, hoạt tính 40.000 U/mL, Novozymes, Đan Mạch) - nguồn gốc từ *Bacillus licheniformis*.

- β -amylase (hoạt tính 2.400 U/mL, do Công ty

TNHH ICFOOD Việt Nam cung cấp).

- Glucoamylase (Spirizyme Fuel, hoạt tính 260.000 U/mL, Novozymes, Đan Mạch).

2.2. Quy trình thực nghiệm và bố trí thí nghiệm

2.2.1. Quy trình thủy phân tổng quát

Quy trình thủy phân được thực hiện theo nghiên cứu của (Bùi Thị Hồng Phương và cộng sự, 2019). Hạt sen sau thu hoạch được tách vỏ, loại bỏ tâm sen, rửa sạch và ngâm trong nước cất theo tỷ lệ 1:3 (w/v) ở 30°C trong 3 giờ. Sau đó, nguyên liệu được nghiền với nước ấm (50°C) theo tỷ lệ nước:nguyên liệu 4:1 (v/w) để thu nhận huyền phù. Huyền phù được hồ hóa bằng cách gia nhiệt ở 90°C trong 30 phút, kết hợp khuấy liên tục. Sau khi hạ nhiệt độ huyền phù xuống mức khảo sát, pH của hệ được điều chỉnh bằng dung dịch HCl 0,1 M hoặc NaOH 0,1 M theo thiết kế thí nghiệm. Enzyme *amylase* (theo thiết kế thí nghiệm) được bổ sung và hỗn hợp được ủ ở nhiệt độ và thời gian thí nghiệm trong bình điều nhiệt có khuấy từ. Kết thúc phản ứng, hỗn hợp được gia nhiệt nhanh đến 100°C trong 10 phút để vô hoạt hoàn toàn enzyme. Mẫu sau đó được ly tâm ở $10.000 \times g$ trong 15 phút (4°C). Dịch nổi được thu nhận và bảo quản ở -20°C cho đến khi phân tích. Cặn ly tâm được sấy khô để xác định hàm lượng tinh bột còn lại.

2.2.2. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình thủy phân

Ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến quá trình thủy phân tinh bột được khảo sát theo phương pháp đơn biến, các yếu tố còn lại được giữ cố định. Các chỉ tiêu dùng để đánh giá hiệu quả thủy phân bao gồm độ hòa tan chất khô tổng số (°Bx), hàm lượng đường khử (%), hàm lượng đường tổng (%), và hàm lượng tinh bột còn lại sau thủy phân (%). Quá trình khảo sát được tiến hành theo năm nhóm điều kiện như sau:

- *Loại enzyme*: thí nghiệm được thực hiện với 4 nghiệm thức: đối chứng (không enzyme), α -amylase, β -amylase, glucoamylase.

- *Nhiệt độ thủy phân*: Thí nghiệm được thực hiện ở bốn mức 70°C, 80°C, 90°C và 100°C.

- *pH*: Môi trường phản ứng được điều chỉnh tại 3 mức pH 5,5; 6,5 và 7,5.

- *Nồng độ enzyme*: Chế phẩm enzyme được bổ sung ở năm mức 0,03; 0,05; 0,07; 0,10 và 0,13% (v/w).

- *Thời gian thủy phân*: Mẫu được ủ trong các khoảng 15 phút, 30 phút, 45 phút và 60 phút để xác định thời điểm phản ứng đạt hiệu suất cao nhất.

2.3. Các phương pháp phân tích

2.3.1. Phương pháp xác định độ Brix

Độ Brix (°Bx) (đại diện cho tổng chất rắn hòa tan) được đo trực tiếp từ dịch nổi bằng khúc xạ kế kỹ thuật số (Model MRC, hãng Isarel) ở 20°C.

2.3.2. Phương pháp xác định hàm lượng đường khử

Hàm lượng đường khử (Reducing sugar content - RS) được xác định bằng phương pháp sử dụng thuốc thử acid 3,5-dinitrosalicylic (DNS) (Miller, 1959). Hút 1mL dịch mẫu pha loãng, thêm 0,5mL thuốc thử DNS (1g DNS + 30g C₄H₄O₆KNa.4H₂O + 0,5g Na₂SO₃ trong 80 mL NaOH 0,5 N, định mức 100 mL), đun cách thủy 5 phút, làm nguội ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ quang học của mẫu sau phản ứng màu được đo tại bước sóng 540 nm. Đường chuẩn được xây dựng với D-glucose tinh khiết ở nồng độ từ 0-1,0 mg/mL.

Hàm lượng đường khử được tính theo công thức:

$$G (\%) = X \times \frac{V_m \times 100 \times f}{1000 \times m}$$

Trong đó: X là nồng độ đường từ đường chuẩn (mg/mL); V_m là thể tích định mức (100 mL), f là hệ số pha loãng, m là khối lượng mẫu (g).

2.3.3. Phương pháp xác định hàm lượng đường tổng

Hàm lượng đường tổng số (Total sugar content - TS) được xác định theo phương pháp phenol-acid sulfuric (Nielsen, 2010). Hỗn hợp 1 mL dịch mẫu pha loãng, thêm 0,5 mL phenol 5% và 2,5 mL H₂SO₄ đậm đặc, lắc đều, ủ nhiệt độ phòng 20 phút, độ hấp thụ quang học của mẫu sau phản ứng màu được đo tại bước sóng 490 nm và nồng độ đường tổng số được quy đổi dựa trên đường chuẩn glucose (%). Hàm lượng đường tổng (X) được tính theo công thức:

$$X(\%) = \frac{C \times V \times f}{m} \times 100$$

Trong đó: C là nồng độ đường từ đường chuẩn (0 – 100 µg/mL); V là thể tích định mức dịch trích mẫu (mL); f là hệ số pha loãng; m là khối lượng mẫu tinh bột ban đầu (mg).

2.3.4. Phương pháp xác định hàm lượng tinh bột

Hàm lượng tinh bột tổng được xác định theo TCVN 13282:2021 dựa trên nguyên tắc thủy phân tinh bột thành glucose bằng hệ enzyme α-amylase bền nhiệt và amyloglucosidase, sau đó định lượng glucose bằng thuốc thử glucose oxidase-peroxidase (GOPOD). 100 mg mẫu được chiết với 10 mL ethanol 80%, xử lý với DMSO ở 95°C, thủy phân lần lượt bằng α-amylase (3000 U/mL) ở 95-100°C và amyloglucosidase (200 U/mL) ở 50°C (pH đệm acetat). Lấy 0,1 mL dịch thủy phân sau khi được định mức, ly tâm, lọc, và cho phản ứng với 3,0 mL GOPOD. Đo và đọc giá trị độ hấp thụ A của mỗi dung dịch thử ở bước sóng 510 nm so với mẫu trắng. Hàm lượng tinh bột (%) được tính theo công thức:

$$TS(\%) = \Delta A \times F \times 1000 \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} = \Delta A \times \frac{F}{W} \times 90$$

Trong đó: ΔA : Độ hấp thụ của mẫu trừ đi mẫu trắng; F: Hệ số chuyển đổi từ độ hấp thụ sang µg glucose (F = 100 (µg D-glucose) chia cho độ hấp thụ GOPOD của 100 µg D-glucose này); W là trọng lượng mẫu thử (mg) tính theo chất khô; 1/1000: hệ số chuyển đổi đơn vị từ µg sang mg; 100/W: hệ số chuyển đổi sang 100 mg mẫu thử; 162/180: hệ số chuyển đổi từ glucose tự do sang glucose dạng khan.

2.3.5. Phương pháp xác định hàm chỉ số DE

Xác định chỉ số DE (Dextrose Equivalent): Chỉ số này đại diện cho mức độ thủy phân tinh bột, được tính toán dựa trên tỷ lệ phần trăm giữa hàm lượng đường khử thu được và tổng lượng chất khô của mẫu. Chỉ số DE được xác định bằng phương pháp Lane-Eynon theo tiêu chuẩn TCVN 10376:2014 (ISO 5377:1981). DE (%) = G (%) × 100/Tổng chất khô (%).

Bảng 1. Hiệu suất thủy phân của 3 loại enzyme amylase

Nghiệm thức	Độ Brix (°Bx)	Đường khử (%)	Chỉ số DE (%)
Đối chứng (không enzyme)	3,23 ± 0,25c	3,44 ± 0,07d	24,27 ± 0,61d
α-amylase	4,40 ± 0,17a	8,28 ± 0,08a	44,71 ± 0,70a
β-amylase	4,13 ± 0,12b	8,02 ± 0,06b	42,63 ± 0,34b
Glucoamylase	4,23 ± 0,25ab	7,75 ± 0,10c	39,76 ± 1,27c

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo kiểm định LSD ($p < 0,05$).

2.4. Phân tích thống kê
Các dữ liệu thu được trong quá trình nghiên cứu được tính toán bằng phần mềm Microsoft Excel 2016. Phân tích phương sai (ANOVA) ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$ và kiểm định LSD được thực hiện bằng phần mềm Statgraphics Centurion XV.

3. Kết quả và thảo luận
3.1. Ảnh hưởng của loại enzyme amylase đến hiệu suất thủy phân

Để xác định loại enzyme amylase phù hợp nhất cho quá trình thủy phân tinh bột hạt sen hồng Đồng Tháp, nghiên cứu tiến hành so sánh hiệu suất của ba chế phẩm enzyme thương mại: α-amylase, β-amylase và glucoamylase. Các thí nghiệm được thực hiện trong cùng điều kiện (nhiệt độ 90°C; pH 6,5; nồng độ enzyme mỗi loại 0,05%; thời gian 30 phút), sử dụng mẫu đối chứng không bổ sung enzyme làm cơ sở so sánh. Hiệu suất thủy phân được đánh giá thông qua độ Brix, hàm lượng đường khử và chỉ số DE (Dextrose Equivalent). Kết quả chi tiết được trình bày ở Bảng 1.

Kết quả trên Bảng 1 cho thấy α-amylase có hiệu suất thủy phân vượt trội so với hai loại enzyme

β-amylase và Glucoamylase thông qua các chỉ số DE (44,71%), độ Brix (4,40 °Bx) và hàm lượng đường khử (8,28%) cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại. Sự vượt trội của α-amylase được giải thích bởi cơ chế endo-amylase: enzyme cắt ngẫu nhiên các liên kết α-1,4 bên trong chuỗi tinh bột, tạo nhiều đầu khử và làm giảm nhanh độ nhớt; trong khi β-amylase và glucoamylase là các exo enzyme tấn công từ đầu không khử với tốc độ chậm hơn (Mehta & Satyanarayana, 2016). Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trên tinh bột gạo huyết rồng của Dương Thị Ngọc Hạnh & Nguyễn Minh Thủy (2014) và tinh bột củ ấu của Trần Ngọc Diệp (2023). Do đó, α-amylase được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình thủy phân bởi enzyme α-amylase

3.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ
Để xác định khoảng nhiệt độ tối ưu cho hoạt động của α-amylase, thí nghiệm được tiến hành ở bốn mức nhiệt độ (70, 80, 90, 100°C), giữ cố định pH 6,5, nồng độ enzyme 0,05% và thời gian 30

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến các chỉ tiêu của dịch thủy phân

Nhiệt độ (°C)	Độ Brix (°Bx)	Đường khử (%)	Đường tổng (%)	Tinh bột dư (%)
70	6,23 ± 0,25c	5,17±0,08d	18,56±0,40d	9,85±0,52a
80	6,83 ± 0,29b	8,55±0,09c	23,11±0,53c	8,24±0,48b
90	7,13 ± 0,12b	10,16±0,11a	26,83±0,61a	5,58±0,38d
100	7,40 ± 0,17a	9,84±0,13b	25,25±0,58b	6,61±0,41c

Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột, các giá trị theo sau bởi một chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

phút. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất thủy phân được đánh giá thông qua độ Brix, hàm lượng đường khử, đường tổng và lượng tinh bột dư. Kết quả trung bình được trình bày ở Bảng 2.

Kết quả phân tích trên Bảng 2 cho thấy nhiệt độ có ảnh hưởng rất có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Khi nhiệt độ tăng: hiệu quả thủy phân được cải thiện rõ rệt: độ Brix tăng từ 6,23 lên 7,40 °Bx, hàm lượng đường khử từ 5,17% lên 10,16%, và hàm lượng đường tổng từ 18,56% lên 26,83% và hàm lượng tinh bột chưa thủy phân giảm từ 9,85% xuống 5,58%. Các chỉ tiêu của dịch thủy phân đều đạt giá trị tối ưu 90°C.

Rõ ràng là sự gia tăng mạnh của hàm lượng đường khử khi nhiệt độ tăng từ 70°C lên 90°C, cho thấy nhiệt độ cao không chỉ giúp hồ hóa hoàn toàn tinh bột (phá vỡ cấu trúc tinh thể, làm tăng khả năng tiếp cận của enzyme với cơ chất) mà còn tối ưu hóa hoạt tính của α -amylase, đẩy nhanh tốc độ phân giải liên kết nội phân tử. Tuy nhiên, ở 100°C, đường khử giảm xuống còn 9,84%. Sự sụt giảm

này chứng tỏ α -amylase đã bắt đầu bị biến tính nhiệt một phần, mất đi một phần hoạt tính xúc tác mặc dù cơ chất đã được hồ hóa hoàn toàn (Mehta & Satyanarayana, 2016). Bên cạnh đó, hàm lượng tinh bột chưa thủy phân giảm từ 9,85% (70°C) xuống thấp nhất là 5,58% ở 90°C, sau đó tăng trở lại ở 100°C (lên 6,61%). Ở nhiệt độ thấp, tốc độ khuếch tán cơ chất đến trung tâm hoạt động của enzyme bị hạn chế, dẫn đến hiệu suất thủy phân thấp; ngược lại, khi nhiệt độ vượt quá ngưỡng tối ưu, cấu trúc bậc ba của α -amylase bị biến tính một phần, làm giảm ái lực giữa enzyme và cơ chất, dẫn đến sụt giảm hoạt độ xúc tác cũng như hiệu suất tổng thể (Mehta & Satyanarayana, 2016; Lưu Thị Lệ Thủy và cộng sự, 2021).

3.2.2. Ảnh hưởng của pH

Ảnh hưởng của pH được khảo sát ở ba mức (5,5; 6,5; 7,5), giữ cố định nhiệt độ 90°C, nồng độ enzyme 0,05% và thời gian 30 phút. Các chỉ tiêu đánh giá thông qua độ Brix, hàm lượng đường khử, đường tổng và lượng tinh bột dư. Bảng 3 tổng

Bảng 3. Ảnh hưởng của pH đến các chỉ tiêu của quá trình thủy phân

pH	Độ Brix (°Bx)	Đường khử (%)	Đường tổng (%)	Tinh bột dư (%)
5,5	6,97± 0,40ab	9,85±0,08b	24,940,52b	6,47±0,40a
6,5	7,13± 0,12a	10,16±0,11a	26,83±0,61a	5,58±0,38b
7,5	6,67± 0,29b	9,13±0,12c	23,63±0,55c	6,19±0,38ab

Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột, các giá trị theo sau bởi một chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ α -amylase đến các chỉ tiêu của quá trình thủy phân

Nồng độ enzyme (% v/w)	Độ Brix (°Bx)	Đường khử (%)	Đường tổng (%)	Tinh bột dư (%)
0,03	6,40 ± 0,17c	9,21 ± 0,14c	24,33 ± 0,63c	6,24 ± 0,34b
0,05	7,23 ± 0,25b	10,31 ± 0,04b	27,10 ± 0,35b	5,26 ± 0,31c
0,075	8,23 ± 0,25a	11,81 ± 0,15a	29,73 ± 0,44a	4,71 ± 0,34d
0,10	7,07 ± 0,12b	9,43 ± 0,13c	25,48 ± 0,63c	5,67 ± 0,41c
0,13	6,13 ± 0,12c	8,84 ± 0,13d	22,01 ± 0,35d	7,06 ± 0,36a

Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột, các giá trị theo sau bởi một chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

hợp giá trị trung bình của các chỉ tiêu tại mỗi mức pH.

Phân tích kết quả trên Bảng 3 cho thấy pH có ảnh hưởng đến toàn bộ các chỉ tiêu theo dõi. Kết quả cho thấy pH 6,5 là giá trị tối ưu cho quá trình thủy phân. Tại pH này, độ Brix (7,13 °Bx), hàm lượng đường khử (10,16%) và đường tổng (26,83%) đều đạt giá trị cao nhất, đồng thời hàm lượng tinh bột dư (5,58%) đạt giá trị thấp nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Sự phụ thuộc của α -amylase vào pH được giải thích bởi cấu trúc của trung tâm hoạt động enzyme. α -amylase có hoạt tính tối ưu trong khoảng pH 6,0-7,0 (Mehta & Satyanarayana, 2016). Ở pH 6,5, các nhóm carboxyl (Glu, Asp) trong vùng xúc tác tồn tại ở trạng thái ion hóa thích hợp, cho phép liên kết hiệu quả với cơ chất tinh bột và thực hiện phản ứng thủy phân liên kết glycoside. Khi pH tăng lên 7,5 (môi trường hơi kiềm), sự ion hóa của các nhóm chức bị thay đổi: nhóm -COOH có thể chuyển thành -COO⁻, làm giảm ái lực của enzyme đối với liên kết α -1,4-glycoside; đồng thời cấu trúc bậc ba của enzyme có thể bị ảnh hưởng, dẫn đến giảm hoạt độ xúc tác. Ở pH 5,5 (môi trường acid nhẹ), hoạt tính của α -amylase cũng bị suy giảm, có thể do sự proton hóa quá mức của các nhóm chức năng trong trung tâm hoạt động, làm cản trở quá trình liên kết và phân giải cơ chất (Nguyễn Đức Lượng, 2004).

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Trần Ngọc Diệp (2023) trên tinh bột củ ấu (pH tối ưu

6,0) và của Phạm Thị Mỹ Trâm và cộng sự (2016) trên tinh bột hạt mít (pH tối ưu 6,5). Do đó trong nghiên cứu này, pH 6,5 được xác định là giá trị tối ưu cho quá trình thủy phân tinh bột hạt sen bằng α -amylase.

3.2.3. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme

Sau khi chọn được nhiệt độ 90°C và pH 6,5, thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của nồng độ α -amylase ở năm mức: 0,03; 0,05; 0,075; 0,10 và 0,13% (v/w) trong thời gian cố định 30 phút. Mục đích là xác định nồng độ enzyme tối ưu để đạt hiệu suất thủy phân cao nhất. Kết quả được trình bày ở Bảng 4.

Kết quả từ Bảng 4 cho thấy, nồng độ enzyme có ảnh hưởng rất rõ rệt đến hiệu suất thủy phân. Khi tăng nồng độ từ 0,03% lên 0,075%, tất cả các chỉ tiêu đều được cải thiện đáng kể: độ Brix tăng từ 6,40 lên 8,23 °Bx; đường khử tăng từ 9,21% lên 11,81%; đường tổng tăng từ 24,33% lên 29,73%; trong khi tinh bột dư giảm từ 6,24% xuống còn 4,71% - mức thấp nhất trong tất cả các nghiệm thức. Sự gia tăng này phản ánh nguyên lý cơ bản của động học enzyme: ở điều kiện cơ chất dư thừa, vận tốc phản ứng tỷ lệ thuận với nồng độ enzyme, do đó hiệu suất thủy phân tăng khi tăng lượng enzyme (Nguyễn Trọng Cẩn, 1998).

Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ enzyme lên 0,10% và 0,13%, hiệu suất thủy phân lại giảm. Hàm lượng đường khử giảm lần lượt còn 9,43% và 8,84%; hàm lượng đường tổng giảm lần lượt còn 25,48% và 22,01%, và tinh bột dư tăng trở lại lần

Bảng 5. Sự thay đổi các chỉ tiêu theo thời gian thủy phân

Thời gian (phút)	Độ Brix (°Bx)	Đường khử (%)	Đường tổng (%)	Tinh bột dư (%)
15	7,40 ± 0,17c	11,08 ± 0,19c	30,49 ± 0,44c	5,74 ± 0,45b
30	9,83 ± 0,29a	14,41 ± 0,15a	36,75 ± 0,52a	3,72 ± 0,35d
45	8,90 ± 0,36b	12,94 ± 0,16b	33,32 ± 0,36b	4,44 ± 0,38c
60	8,40 ± 0,17b	12,13 ± 0,13b	32,17 ± 0,29b	5,15 ± 0,34b

Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột, các giá trị theo sau bởi một chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

lượt đạt 5,67% và 7,06%. Điều này cho thấy hiện tượng ức chế cơ chất (substrate inhibition) hoặc ức chế do sản phẩm (product inhibition) xuất hiện khi nồng độ enzyme vượt quá ngưỡng bão hòa. Cụ thể, khi nồng độ enzyme quá cao so với cơ chất, các phân tử enzyme dư thừa có thể cạnh tranh lẫn nhau, hình thành các phức hợp enzyme - enzyme không hoạt động hoặc cản trở quá trình liên kết với cơ chất. Ngoài ra, ở nồng độ cao, lượng sản phẩm (đường khử) sinh ra nhanh chóng tích lũy và đóng vai trò như chất ức chế cạnh tranh hoặc không cạnh tranh, làm chậm phản ứng (Nguyễn Đức Lượng, 2004). Hiện tượng tương tự cũng đã được báo cáo trên tinh bột gạo huyết rồng (Dương Thị Ngọc Hạnh & Nguyễn Minh Thủy, 2014) và tinh bột củ ấu (Trần Ngọc Điệp, 2023), mặc dù nồng độ tối ưu có thể khác nhau tùy thuộc vào nguồn cơ chất và chế phẩm enzyme.

So sánh với các nghiên cứu khác: Dương Thị Ngọc Hạnh và Nguyễn Minh Thủy (2014) sử dụng α -amylase (Termamyl 120L) để thủy phân tinh bột gạo huyết rồng và xác định nồng độ tối ưu là 0,18% -cao gấp 2,4 lần so với kết quả của chúng tôi (0,075%). Điều này chứng tỏ tinh bột hạt sen có cấu trúc dễ bị enzyme tấn công hơn tinh bột gạo, có thể do hàm lượng amylose thấp hơn hoặc kích thước hạt tinh bột nhỏ hơn, tạo điều kiện thuận lợi cho sự khuếch tán và liên kết của enzyme.

Tóm lại, từ các phân tích trên, nồng độ α -amylase tối ưu được chọn là 0,075% (v/w). Tại nồng độ này, hiệu suất thủy phân đạt giá trị cao nhất, đồng thời tránh lãng phí chế phẩm enzyme và hạn chế các hiệu ứng ức chế không mong muốn.

3.2.4. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân

Bảng 5 trình bày ảnh hưởng của thời gian thủy phân (15 - 60 phút) lên các chỉ tiêu, được thực hiện trong điều kiện tối ưu đã xác định: nhiệt độ 90°C, pH 6,5 và nồng độ α -amylase 0,075% (v/w).

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy thời gian thủy phân ảnh hưởng rõ rệt đến hiệu suất chuyển hóa tinh bột. Khi tăng thời gian từ 15 phút lên 30 phút, độ Brix tăng từ 7,40 lên 9,83 °Bx; hàm lượng đường khử tăng từ 11,08% lên 14,41%; hàm lượng đường tổng tăng từ 30,49% lên 36,75%; trong khi tinh bột dư giảm từ 5,74% xuống 3,72%; kết quả có ý

nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Xu hướng này cho thấy α -amylase hoạt động hiệu quả nhất trong khoảng 15-30 phút, khi enzyme xúc tác mạnh quá trình cắt các liên kết α -1,4-glycosid trong phân tử tinh bột, tạo thành các dextrin ngắn hơn và các chất hòa tan làm tăng độ Brix và hàm lượng đường khử (Nguyễn Đức Lượng, 2004). Giá trị cao nhất của các chỉ tiêu đường được ghi nhận tại 30 phút, đồng thời hàm lượng tinh bột dư đạt mức thấp nhất. Điều này cho thấy 30 phút là thời điểm phản ứng đạt trạng thái tối ưu trong điều kiện khảo sát, phù hợp với nguyên lý thủy phân tinh bột bằng enzyme khi tốc độ phản ứng ban đầu còn cao và lượng cơ chất vẫn đủ lớn để enzyme tiếp tục xúc tác hiệu quả (Bisswanger, 2017).

Khi kéo dài thời gian lên 45 và 60 phút, các chỉ tiêu về đường bắt đầu giảm. Cụ thể, đường khử giảm xuống còn 12,94% và 12,13%; độ Brix giảm xuống còn 8,90 °Bx và 8,40 °Bx; đường tổng giảm xuống còn 33,32% và 32,17%; trong khi tinh bột dư tăng trở lại lên 4,44% và 5,15%; kết quả có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Sự suy giảm này có thể liên quan đến hiện tượng ức chế sản phẩm, khi các sản phẩm thủy phân tích lũy trong môi trường phản ứng làm giảm tốc độ xúc tác của enzyme, đồng thời hoạt tính của α -amylase có thể suy giảm dần do bất hoạt nhiệt trong điều kiện duy trì nhiệt độ cao kéo dài (Apar & Özbek, 2004; Mehta & Satyanarayana, 2016).

Kết quả này cho thấy thời gian thủy phân là một trong những yếu tố quyết định hiệu suất chuyển hóa tinh bột thành các cấu tử hòa tan. Trong phạm vi thí nghiệm này, 30 phút là thời gian thích hợp nhất để đạt hiệu quả thủy phân cao nhất, đồng thời hạn chế sự suy giảm hoạt tính enzyme ở các thời gian dài hơn.

3.2.5. Chỉ số DE ở điều kiện thủy phân tối ưu

Dưới điều kiện tối ưu đã xác định, quá trình thủy phân tinh bột hạt sen hồng Đồng Tháp bằng α -amylase được thực hiện hiệu quả nhất ở 90°C, pH 6,5, nồng độ enzyme 0,075% (v/w) và thời gian 30 phút cho chỉ số DE đạt 48,12%. Giá trị DE thu được nằm trong khoảng điển hình của sirô glucose thương mại (DE 40-60) (Kabrita, n.d.), cho thấy dịch thủy phân có tiềm năng ứng dụng

tốt làm chất tạo ngọt tự nhiên hoặc làm cơ chất cho các quá trình lên men trong công nghiệp thực phẩm.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã so sánh hiệu quả thủy phân tinh bột hạt sen hồng Đồng Tháp của 3 enzyme amylase, qua đó xác định α -amylase là enzyme phù hợp nhất. Từ kết quả khảo sát các yếu tố công nghệ, điều kiện tối ưu cho quá trình thủy phân

bằng α -amylase được xác định ở nhiệt độ 90°C, pH 6,5, nồng độ enzyme 0,075% (v/w) trong thời gian 30 phút. Ở điều kiện này, siro glucose thu được đạt độ Brix 9,83 °Bx, hàm lượng đường khử 14,41%, đường tổng 36,75%, tinh bột dư 3,72% và chỉ số DE 48,12%. Các kết quả trên cho thấy tiềm năng ứng dụng công nghệ enzyme trong sản xuất siro glucose chất lượng cao từ hạt sen bản địa, góp phần đa dạng hóa sản phẩm và gia tăng giá trị kinh tế cho chế biến nông sản Việt Nam■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

- Bùi Thị Hồng Phương, Nguyễn Mạnh Đạt, Đỗ Thị Thủy Lê, Đỗ Thị Thanh Huyền & Nguyễn Thị Hồng Linh (2019). Nghiên cứu quá trình dịch hóa và tạo maltodextrin từ tinh bột khoai lang bằng chế phẩm enzyme công nghiệp. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm*, 15(5+6), 9-17.
- Dương Thị Ngọc Hạnh & Nguyễn Minh Thủy (2014). Sử dụng enzyme α -amylase trong thủy phân tinh bột từ gạo huyết rồng. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, Số chuyên đề: Nông nghiệp(1), 61-67.
- Kabrita. (n.d.). Glucose syrup là gì. <https://www.kabrita.vn/blogs/dinh-duong-cho-be/glucose-syrup-la-gi>
- Lưu Thị Lệ Thủy, Trịnh Minh Phương, Trần Mỹ Linh, Võ Tấn Hậu & Nguyễn Thị Thà (2021). Nghiên cứu sự thủy phân tinh bột hạt sen bởi enzyme α -amylase. *Tạp chí Khoa học & Công nghệ*, 44.
- Nguyễn Đức Lượng (2004). Công nghệ enzyme. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.
- Nguyễn Trọng Cẩn (1998). Công nghệ enzyme. Nhà xuất bản Nông nghiệp TP. Hồ Chí Minh.
- Phạm Thị Mỹ Trâm, Nguyễn Thị Phương Hảo, Cao Đăng Khiêm, Trần Duy Linh, Võ Gia Linh, Nguyễn Thị Diễm Thúy & Trần Đạt Vinh (2016). Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng lên quá trình thủy phân tinh bột hạt mít thành nguyên liệu sản xuất ethanol. *Tạp chí Khoa học Đại học Thủ Dầu Một*, 3(28), 19-26.
- Trần Ngọc Diệp (2023). Sử dụng enzyme alpha-amylase và glucoamylase thương mại thủy phân tinh bột của thịt củ ấu. *Tạp chí Khoa học Đại học Cửu Long*, 31, 45-54.
- Apar, D. K., & Özbek, B. (2004). α -Amylase inactivation by temperature during starch hydrolysis. *Process Biochemistry*, 39(9), 1137-1144. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00224-3](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00224-3)
- Bangar, S. P., Dunno, K., Kumar, M., Mostafa, H., & Maqsood, S. (2022). A comprehensive review on lotus seeds (*Nelumbo nucifera* Gaertn.): Nutritional composition, health-related bioactive properties, and industrial applications. *Journal of Functional Foods*, 89, 104937. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.104937>
- Bisswanger, H. (2017). Enzyme kinetics: Principles and methods. John Wiley & Sons.
- Mehta, D., & Satyanarayana, T. (2016). Bacterial and archaeal α -amylases: Diversity and amelioration of desirable characteristics for industrial applications. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1129. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01129>
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Musdalifa, M., Laga, A., & Rahman, A. N. (2024). Glucose syrup production through enzymatic methods and acid hydrolysis using different starch sources: A systematic review. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 18(11), 8976-8992. <https://doi.org/10.1007/s11694-024-02852-9>
- Nielsen, S. S. (2010). Phenol-sulfuric acid method for total carbohydrates. Trong S. S. Nielsen (Ed.), *Food analysis laboratory manual* (pp. 47-53). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1463-7_6

Permanasari, A. R., Yulistiani, F., Purnama, R. W., Widjaja, T., & Gunawan, S. (2018). The effect of substrate and enzyme concentration on the glucose syrup production from red sorghum starch by enzymatic hydrolysis. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 160, 012002. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/160/1/012002>

Sopawong, P., Warodomwichit, D., Srichamnong, W., Methacanon, P., & Tangsuphoom, N. (2022). Effect of physical and enzymatic modifications on composition, properties and in vitro starch digestibility of sacred lotus (*Nelumbo nucifera*) seed flour. Foods, 11(16), 2473. <https://doi.org/10.3390/foods11162473>

Ngày nhận bài: 15/4/2026

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 25/4/2026

Ngày chấp nhận đăng bài: 6/5/2026.

ENZYMATIC HYDROLYSIS OF PINK LOTUS SEED STARCH FROM DONG THAP (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) USING AMYLASE

- NGUYEN HOANG NAM¹
- VUONG BAO THY¹
- VO THANH BEO¹
- NGUYEN NGOC QUI¹
- TRAN NGOC DIEP¹
- DANG XUAN DAO¹
- NGUYEN LE TAN THIEN¹
- TRAN HUU THANH HUY¹
- BUI THE VINH¹ *

¹Graduate School, Cuu Long University

*Corresponding author, Email: btvinhvn@yahoo.com.vn

ABSTRACT:

Lotus seeds (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) are a valuable starch source; however, their potential for producing functional glucose syrup has not been fully exploited in Vietnam. Pink lotus seeds from Dong Thap, characterized by high carbohydrate content, are identified as a promising raw material for enzymatic hydrolysis. This study aimed to determine the most suitable amylase enzyme (α -amylase, β -amylase, glucoamylase) for starch hydrolysis, and to evaluate the effects of technological factors including temperature, pH, enzyme concentration, and hydrolysis time. The results indicate that α -amylase is the most appropriate enzyme, with optimal conditions of 90°C, pH 6.5, enzyme concentration of 0.075% (v/w), and hydrolysis time of 30 minutes. Under these conditions, the hydrolysate achieved 9.83 °Bx, reducing sugar content of 14.41%, total sugar content of 36.75%, residual starch of 3.72%, and a Dextrose Equivalent (DE) of 48.12%. The study successfully established a hydrolysis process for lotus seed starch, providing a basis for producing high-quality glucose syrup from local raw materials.

Keywords: amylase enzyme, lotus seed (*Nelumbo nucifera* Gaertn.), hydrolysis, starch.