

THU NHẬN CHẤT XƠ TỪ BÃ ĐIỀU BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦY PHÂN BỞI α -AMYLASE VÀ TIỀN XỬ LÝ CHẦN

● HUỖNH THỊ CẨM HẰNG - NGUYỄN THỊ THÚY VY
- PHẠM THỊ THÙY DƯƠNG - ĐỒNG THỊ ANH ĐÀO

TÓM TẮT:

Quả điều được lấy hạt để chế biến hạt điều có giá trị cao, phần thịt quả có thể thu nhận dịch quả để chế biến rượu vang, bã điều còn lại có thể được tận dụng thu nhận chất xơ. Nghiên cứu này nhằm thu nhận và tinh sạch chất xơ từ bã điều để ứng dụng trong thực phẩm. Chất xơ được tinh sạch từ bã điều bởi quá trình chần tiền xử lý và quá trình thủy phân bởi enzyme α -amylase. Điều kiện chần phù hợp là: nhiệt độ chần 90°C, thời gian chần 8 phút, tỷ lệ nước/bã là 4/1 (v/w) có thể loại bỏ tannin, các chất có thể hòa tan trong nước và vi sinh vật. Quá trình thủy phân bởi α -amylase nhằm loại bỏ các gluxit không tan như oligosaccharide, tinh bột. Điều kiện thích hợp cho quá trình thủy phân bằng enzyme α -amylase là: tỷ lệ dung dịch đậm/bã là 5/1 (v/w), pH 5,5; hàm lượng enzyme α -amylase 2% (v/w_{chất khô}) ở nhiệt độ thủy phân 85°C trong 90 phút.

Từ khóa: α -amylase, chất xơ, protease, quả điều, thủy phân.

1. Đặt vấn đề

Điều hay đào lộn hột thuộc loài *A. occidentale*, chi *A. occidentale* là một loại cây công nghiệp nhiệt đới dài ngày có nguồn gốc từ Brazil. Trên thế giới, điều được trồng chủ yếu ở các quốc gia có khí hậu nhiệt đới, trong đó Việt Nam là quốc gia có diện tích canh tác điều lớn nhất thế giới [1], [2]. Ở Việt Nam, cây điều không có nhiều ở miền Bắc, nhưng được trồng nhiều ở miền Nam, phổ biến ở các tỉnh: Bình Dương - Bình Phước (82.000 ha), Đồng Nai (35.000 ha), Bà Rịa - Vũng Tàu (20.000 ha), Tây Ninh (10.000 ha), Bình Thuận,... Điều được thu

hoạch chủ lấy hạt, còn phần thịt quả bị vớt bỏ, gây ra ô nhiễm môi trường ở các vùng đất canh tác và chế biến điều. Trong phần thịt quả có chứa hàm lượng cao các chất dinh dưỡng như vitamin B1, vitamin B6, vitamin K, polyphenols, amino acid, một số khoáng chất như K, Mg, đường khử, axit amin, hợp chất polyphenol có thể được thu nhận bằng quá trình nghiền ép để chế biến nước uống và thải ra bã điều. Bã còn sót một lượng carbohydrate, protein, khoáng, và chứa một lượng lớn chất xơ có vai trò quan trọng đối với sức khỏe con người. Chế độ ăn uống giàu chất xơ giúp hỗ trợ điều trị, ngăn

ngừa hoặc giảm thiểu các bệnh về đường tiêu hóa và bệnh tim mạch [3], [4]. Do đó, việc tận dụng nguồn phụ phẩm dồi dào, đa dạng hóa các sản phẩm từ điều là việc cần thiết. Hiện nay, chất xơ được tạo ra bằng kỹ thuật tách chiết với các loại dung môi như nước nóng, acid hoặc sử dụng enzyme thủy phân. Trong đó, phương pháp sử dụng enzyme thủy phân được coi là có hiệu quả tốt nhất do điều kiện phản ứng enzyme ở nhiệt độ thấp, thân thiện với môi trường.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Trái điều tươi được thu hoạch ở tỉnh Đồng Nai. Thời điểm thu hoạch vào khoảng tháng 11÷12 và tháng 3÷4 hàng năm, cây điều được 10 năm tuổi, thu hoạch trái già, chín. Sau khi thu hoạch, điều được bảo quản trong điều kiện lạnh đông -18°C. Trước khi sử dụng, điều được tiến hành rã đông và được ép nước, lấy bã làm nguyên liệu thí nghiệm.

Chế phẩm enzyme -Amylase (Termamyl SC), hoạt tính 120 KNU-S/g được cung cấp bởi Novozyme, Đan Mạch. ethanol 98% NaOH, HCl, acid sulfuric, giấy quỳ, ethanol, diethyl ether được cung cấp Chemsol, Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị mẫu

30g nguyên liệu được chần với nước theo tỷ lệ nước/bã (4/1, v/w) ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 10 phút. Sau đó, mẫu được bổ sung enzyme - amylase ở điều kiện khảo sát tương ứng như sau: pH 4÷6, tỷ lệ đậm/bã lần lượt là 3/1; 4/1; 5/1; 6/1; 7/1, nhiệt độ thủy phân 75÷95°C, thời gian 30÷120 phút, hàm lượng enzyme 0÷6% (v/w).

Mẫu sau khi thủy phân được rửa bằng nước và tiếp tục rửa bằng etanol và lọc, sấy, nghiền mịn để thu sản phẩm là chất xơ gồm cả chất xơ hòa tan và xơ không hòa tan.

2.2.2. Phương pháp xác định hàm lượng chất xơ

Cân 5g nguyên liệu, thêm 400ml dung dịch acid sulfuric nồng độ 5% và đun đến sôi trong tủ hút, thỉnh thoảng lắc nhẹ để nguyên liệu không bám vào thành cốc. Đun sôi trong 30 phút. Trong quá trình đun bổ sung nước vào phần nước bay hơi. Sau đó, thêm vào 50ml nước lạnh và lọc nhanh qua vải lọc, rửa cặn bằng nước sôi cho đến

khi dịch rửa không còn acid (thử bằng giấy quỳ). Sau đó, phần cặn được sấy và nung đến khối lượng không đổi.

Tính toán kết quả:

Hàm lượng chất xơ (H) tính bằng % chất khô, xác định theo công thức:

$$H(\%) = \frac{(m_1 - m_2) \times 100 \times 100}{m_0 \times (1 - w)}$$

Trong đó:

m_1 : khối lượng cặn sau sấy, g

m_2 : khối lượng cặn sau khi nung, g

m_0 : khối lượng mẫu, g

w: độ ẩm nguyên liệu, %

2.2.3. Xác định hàm lượng tannin [ISO 9648:1988]

Nguyên tắc: chiết tách tanin bằng cách lắc với dimethylformamide (HCON(CH₃)₂). Sau khi ly tâm, bổ sung ferric ammonium citrate và ammonia vào phần dịch nổi sau khi ly tâm (lượng hóa chất thêm vào là bội số của phần dịch nổi sau khi ly tâm) và xác định bằng quang phổ kế tại bước sóng 525nm. Hàm lượng tanin được xác định dựa trên một đường cong chuẩn của acid tannic.

2.2.4. Xác định hiệu suất tách tanin

Nguyên tắc: tanin hòa tan một phần trong nước và được tách ra ở cuối giai đoạn chần, tỷ số lượng tanin được tách ra và lượng tanin có trong nguyên liệu trước khi chần chính là hiệu suất tách tanin.

$$H(\%) = \frac{m_1}{m_0} \times 100$$

Trong đó: m_0 là lượng tanin có trong nguyên liệu
 m_1 là tanin còn lại sau quá trình chần

Trong nghiên cứu này, mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần. Các dữ liệu được phân tích phương sai (ANOVA) nhằm kiểm định độ tin cậy với mức ý nghĩa 5% để đánh giá sự khác biệt, sử dụng phần mềm STATGRAPHICS XV.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả phân tích thành phần chế phẩm xơ từ bã điều (Bảng 1)

3.2. Kết quả khảo sát quá trình tiền xử lý nguyên liệu (Hình 1)

Quá trình chần sẽ loại bỏ các thành phần tan trong nước và ít dinh dưỡng, khó tiêu hóa như glycoside, alkaloids, phytates, oligosaccharides

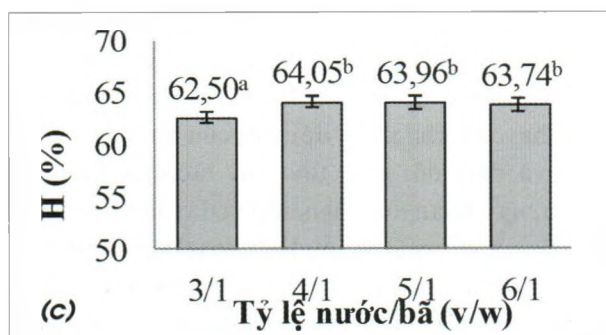
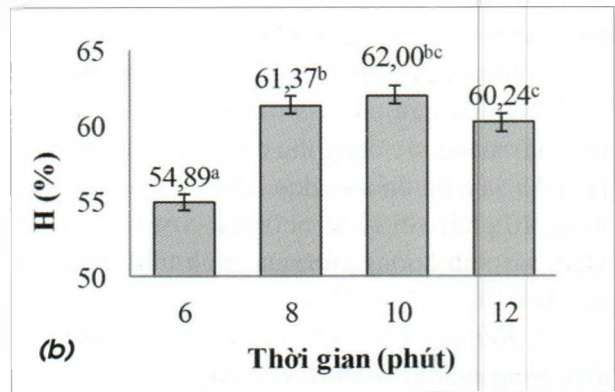
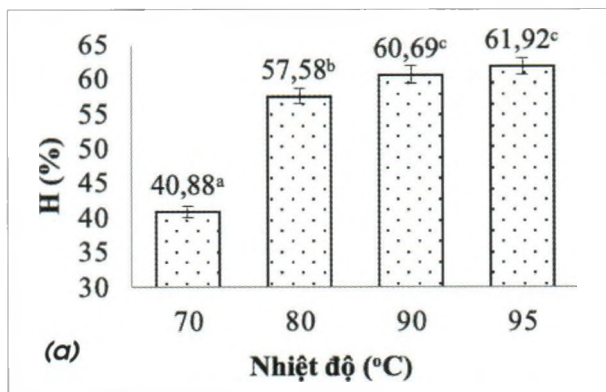
Bảng 1. Kết quả phân tích thành phần chế phẩm xơ từ bã điều

STT	Chỉ tiêu	Đơn vị (%w/w)	Ghi chú
1	Độ ẩm	51,72 ± 0,73	
2	Hàm lượng tinh bột	2,78 ± 0,08	
		5,76 ± 0,16	Tính theo khô tuyệt đối
3	Hàm lượng pectin	15,75 ± 0,12	
		32,62 ± 0,24	Tính theo khô tuyệt đối
4	Hàm lượng protein	8,1 ± 0,21	Tính theo khô tuyệt đối
5	Hàm lượng cellulose	10,79 ± 0,58	
		22,36 ± 1,21	Tính theo khô tuyệt đối
6	Hàm lượng tannin có trong nguyên liệu ban đầu	150 ± 23 (ppm)	Tính theo khô tuyệt đối
7	Chất béo	0,6 ± 0,02	Tính theo khô tuyệt đối

Nguồn: Nhóm tác giả thực hiện

Hình 1: Ảnh hưởng của các yếu tố của quá trình chần đến hiệu suất tách loại tannin:

(a) Ảnh hưởng của nhiệt độ, (b) Ảnh hưởng của thời gian (c) Ảnh hưởng của tỷ lệ nước/bã



Nguồn: Nhóm tác giả thực hiện

và tannin [13]. Do tannin chiếm hàm lượng đến 1,6%w/w trong bã điều [5,6,7] nên hàm mục tiêu của thí nghiệm này sẽ khảo sát trên sự thay đổi

hàm lượng tannin trước và sau chần. Theo Zhang và Hamazu (2004), Racchi và cộng sự (2002) thì chần là phương pháp loại bỏ tannin hiệu quả hơn so với các phương pháp xử lý nhiệt khác [8,9].

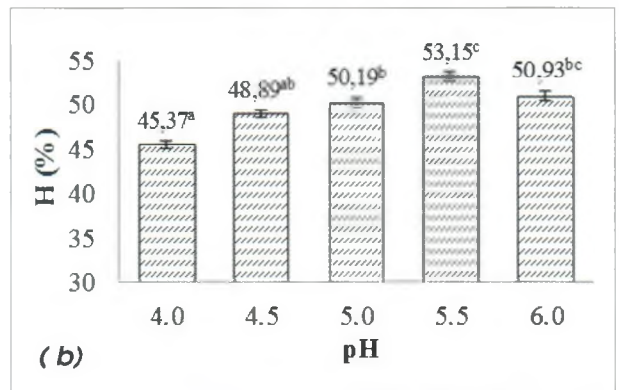
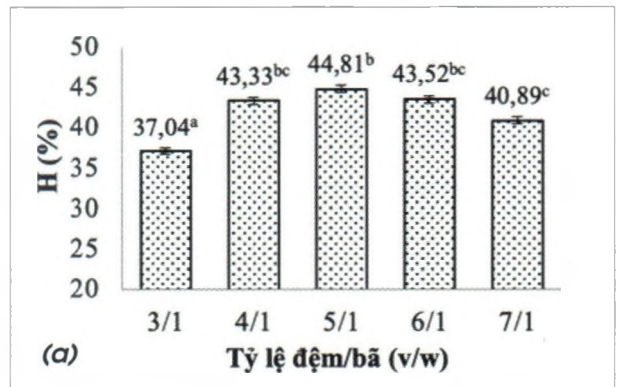
Hình 1 thể hiện sự ảnh hưởng của nhiệt độ chần (a), thời gian chần (b) và tỷ lệ nước/bã (c) đến hiệu suất chiết tách tannin. Hiệu suất tách tannin tăng tỷ lệ thuận với nhiệt độ, thời gian và tỷ lệ nước/bã (v/w) trong quá trình chần lần lượt từ 40,88% ÷ 61,92%; 54,89% ÷ 60,24%; 62,50% ÷ 64,05%. Tuy nhiên, khi nhiệt độ đạt đến 95°C, thời gian 10 phút và tỷ lệ nước/bã (v/w) 4/1 thì hiệu suất tách tannin tăng không đáng kể, không có sự khác biệt về mặt thống kê ($p < 0,05$). Khi

càng tăng nhiệt độ xử lý đến 90°C thì hiệu suất loại bỏ các cấu tử trên càng lớn, do quá trình khuếch tán các phân tử nước vào cấu trúc của bã điều càng diễn ra mãnh liệt. Mặt khác, chần nhiệt độ cao sẽ làm yếu đi liên kết giữa tannin và protein trong bã điều, từ đó làm tannin dễ dàng được hòa tan vào môi trường nước. Nhưng đến khi nhiệt độ lớn hơn 90°C thì hầu hết protein bị biến tính làm thay đổi cấu trúc bậc 4, chúng bao bọc phân tử tannin nên hiệu suất chiết không tăng [10]. Nghiên cứu của JN Nwosu và cộng sự (2010) trên hạt măng tây cũng cho kết quả tương tự, khi chần trong 10 phút thì hàm lượng tannin giảm xấp xỉ 65% [11]. Nghiên cứu của SR Williams (1997) cho kết quả hiệu suất tách tannin chỉ đạt xấp xỉ 40% khi chần dưới 70°C [12]. Trong nghiên cứu của TC Mosha và cộng sự (1995) khảo sát sự thay đổi hàm lượng tannin theo thời gian chần trên 5 loại rau củ khác nhau, tác giả ghi nhận khi tăng thời gian chần từ 5 phút lên 10 phút thì hiệu suất tách tannin có thể tăng đến 10%, trong khi các thành phần dinh dưỡng không có biến đổi đáng kể [10]. Nghiên cứu của Nwosu và cộng sự (2010) trên hạt măng tây cũng thu được kết quả tương tự [11]. Vì vậy, bã điều sẽ được chần ở nhiệt độ 90°C trong 10 phút với tỷ lệ nước/bã (v/w) là 4/1. Để khảo sát ảnh hưởng của quá trình thủy phân bởi amylase, thu nhận chất xơ.

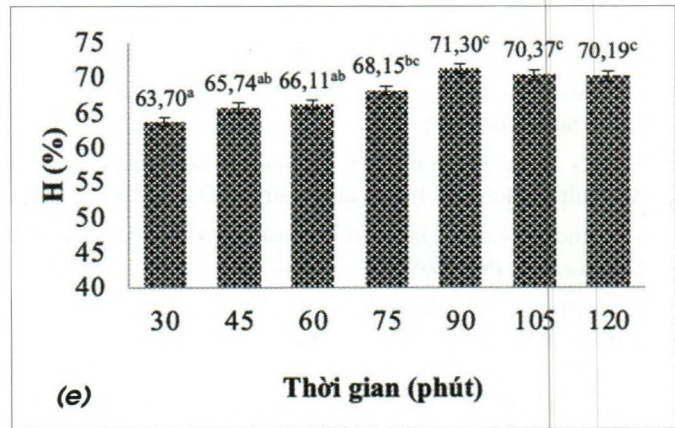
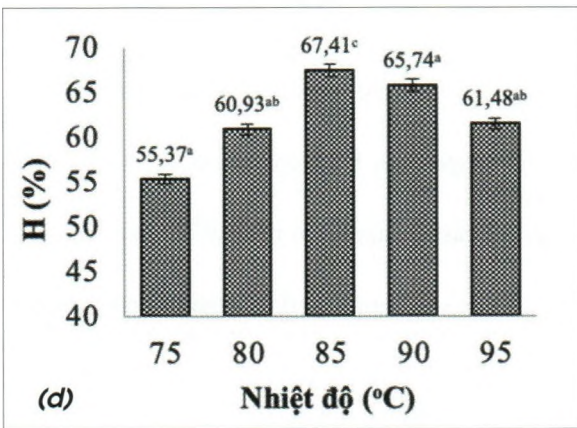
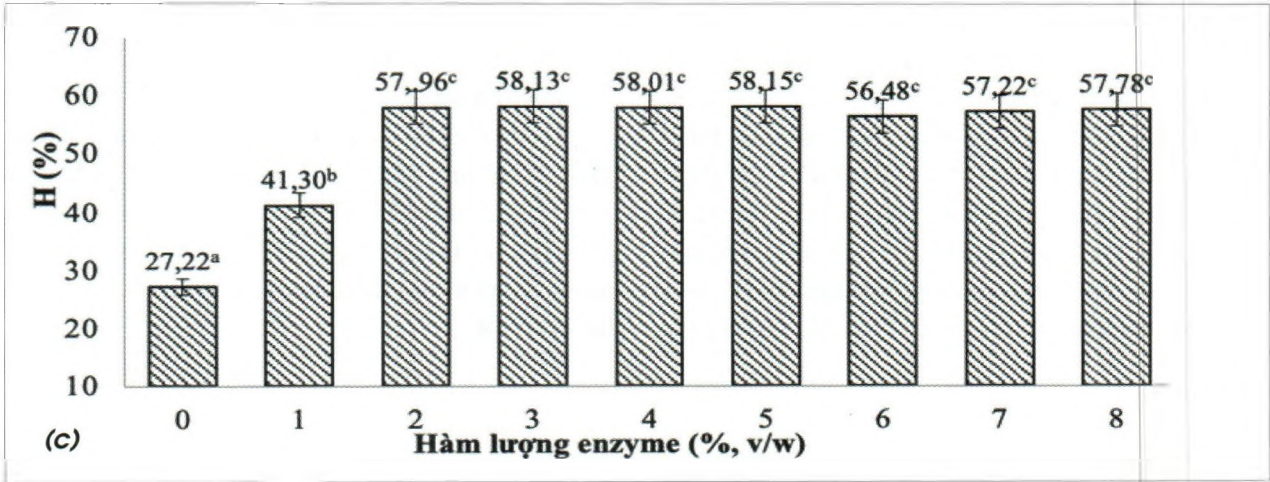
3.3. Kết quả khảo sát quá trình thủy phân bã điều bằng enzyme α -amylase (Hình 2)

Quá trình thủy phân tinh bột trong bã điều bằng enzyme α -amylase bị ảnh hưởng bởi các yếu tố như: nhiệt độ, thời gian, hàm lượng enzyme, pH và tỷ lệ dung dịch đậm/bã (v/w) được biểu thị qua Hình 2. Trong Hình 2a cho thấy khi bổ sung một lượng ít dung dịch đậm thì độ nhớt dịch thủy phân cao, enzyme tiếp xúc với cơ chất không hiệu quả, hàm lượng chất xơ thu được thấp. Ngược lại, khi tăng tỷ lệ dung dịch đậm vào dịch thủy phân sẽ làm tăng hàm lượng chất xơ thu được, do độ nhớt của dịch giảm, tạo điều kiện cho cơ chất tiếp xúc với enzyme được dễ dàng và xúc tác thủy phân được nhiều chất hơn [14]. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng tỷ lệ đậm thì hàm lượng chất xơ sau quá trình thủy phân không tăng nữa do sự tiếp xúc giữa cơ

Hình 2: Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thủy phân bã điều bằng enzyme α -amylase
 (a) Ảnh hưởng tỷ lệ đậm/bã (v/w); (b) Ảnh hưởng của pH; (c) Ảnh hưởng của hàm lượng α -amylase; (d) Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân; (e) Ảnh hưởng thời gian thủy phân



chất và enzyme đã đạt được mức tối đa, sản phẩm sinh ra nhiều có thể gây ức chế ngược lại enzyme [15]. Trong Hình 2b, pH có ảnh hưởng đến vận tốc phản ứng do pH thay đổi, ảnh hưởng đến trạng thái ion hóa của các nhóm chức có khả năng ion hóa tham gia vào trung tâm hoạt động của enzyme, làm thay đổi khả năng liên kết của enzyme với cơ chất và thay đổi hoạt tính xúc tác enzyme [16]. Giá trị này hoàn toàn phù hợp vì đây là khoảng pH tối ưu của enzyme α -amylase hoạt động (pH 5.5). Vượt ra khỏi ngưỡng pH hoạt động, enzyme có thể bị biến tính làm giảm hoặc mất hoạt tính khiến cho quá trình thủy phân tinh bột kém hiệu quả. Thêm vào đó, pH thay đổi cũng làm thay đổi mức ion hóa cơ chất hay phân ly cơ chất, sự thay đổi pH dẫn đến biến đổi cấu trúc protein, làm ảnh hưởng tính chất của trung tâm liên kết cơ chất và hoạt động



Ghi chú: Giá trị biểu diễn là trung bình 3 lần lặp lại lấy 2 chữ số thập phân \pm độ lệch chuẩn. Những giá trị nghiệm thức có các ký tự giống nhau không có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê với mức ý nghĩa $p < 0,05$.

Nguồn: Nhóm tác giả thực hiện

của enzyme dẫn đến hiệu suất xúc tác thay đổi [17]. Ở Hình 2c cho thấy khi tăng hàm lượng enzyme sẽ làm tăng phản ứng giữa enzyme và cơ chất phức enzyme-cơ chất càng cao, kết quả tạo ra sản phẩm càng nhiều và làm tăng tốc độ phản ứng, do đó làm tăng hiệu suất thủy phân, dẫn đến làm tăng hàm lượng chất thải sau quá trình thủy phân. Tuy nhiên, khi tăng hàm lượng enzyme lên cao, nồng độ cơ chất không đổi thì phức enzyme-cơ chất không tăng nữa, tốc độ phản ứng tăng dần đến cực đại và duy trì ổn định [16], dẫn đến hiệu suất thủy phân không tiếp tục tăng (Hàm lượng enzyme : 2 %v/wchất khô). Hình 2d ở nhiệt độ thích hợp, hoạt tính enzyme là cao nhất, phản ứng thủy phân diễn ra nhanh, làm tăng hiệu suất thủy phân tinh bột, làm cơ sở cho dextrin dễ dàng hòa

tan vào dịch chiết. Bên cạnh đó, nếu nhiệt độ quá cao sẽ làm biến tính bất thuận nghịch protein khiến một phần enzyme bị vô hoạt dẫn đến hiệu suất thủy phân giảm [18]. Đối với chế phẩm enzyme -amylase, nhiệt độ phù hợp là $85 \pm 90^\circ\text{C}$, điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả của thí nghiệm [14]. Khi nhiệt độ thủy phân cao hơn 90°C , hiệu suất thủy phân có xu hướng giảm do chế phẩm Termamyl SC không hoạt động tối ưu trong vùng nhiệt độ này. Khi thời gian thủy phân ngắn, sự tiếp xúc giữa cơ chất và enzyme chưa đủ để phá hủy hết liên kết; còn khi thời gian thủy phân đủ dài, sự tiếp xúc giữa cơ chất và enzyme tăng làm cho tinh bột bị thủy phân càng nhiều, đưa đến hiệu suất thủy phân tăng cao, làm hàm lượng chất thải sau quá trình thủy phân tăng cao. Nhưng đến một

thời điểm xác định, thì hàm lượng tinh bột giảm xuống thấp, khả năng tiếp xúc giữa enzyme và cơ chất cũng giảm đi, từ đó dẫn đến hiệu suất thủy phân không tiếp tục tăng theo thời gian thủy phân nữa. Hiệu suất thu nhận chất xơ cao nhất đạt được sau quá trình thủy phân ở điều kiện thích hợp về tỷ lệ dung dịch/bã. pH, nhiệt độ, thời gian với sản phẩm bao gồm 2 loại xơ là xơ hòa tan chiếm 46% và xơ không tan (cellulose) là 29%, hàm lượng tạp

còn lại là protein 4,97%, tro là 3,43%, độ ẩm sản phẩm 6,38%.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã tìm ra điều kiện thủy phân bã điều để thu nhận chất xơ, với tỷ lệ đậm/bã là 5/1 (v/w), hàm lượng enzyme 2%, pH tối thích ở 5,5, nhiệt độ thủy phân 85°C trong 90 phút đạt được hiệu suất thu nhận chất xơ là 71,3% ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Morton, Julia Frances (2013). *Fruits of warm climates*. USA: Echo Point Books and Media.
2. Statistics, F.A.O (2006). Major food and agricultural commodities and producers. Retrieved from: <https://www.fao.org/>.
3. U. S. D. A. SR28 (2016). *National Nutrient Database for Standard Reference*. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory, p. Release 28.
4. I., and Arora, A. Das (2017). Post-harvest processing technology for cashew apple - A review. *Journal of Food Engineering*, 194, 87-98.
5. Mecha, I., and Adegbola, T. A. (1980). Chemical composition of some southern Nigeria forage eaten by goats. Browse in Africa. The current state of knowledge. International Livestock Centre for Africa (ILCA). *Addis Ababa, Ethiopia*, 303-306.
6. Keir, B., Van Lai, N., Preston, T. R., Orskov, E. R. (1997). Nutritive value of leaves from tropical trees and shrubs: 1 In vitro gas production and in sacco rumen degradability. *Livestock Research for Rural Development*, 9(3), 24-30.
7. Reddy, D. V., Elanchezian, N. (2008). Evaluation of tropical tree leaves as ruminant feedstuff based on cell contents, cell wall fractions and polyphenolic compounds. *Cellulose (ADF-ADL)*, 14, 17-52.
8. Zhang, D., Hamazu, Y. (2004). Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*, 88, 503-509.
9. Racchi, M., Daglia, M., Lanni, C., Papetti, A., Govoni, S., Gazzani, G. (2002). Antiradical activity of water soluble components in common diet vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1272-1277.
10. Mosha, T. C., Gaga, H. E., Pace, R. D., Laswai, H. S., Mtebe, K. (1995). Effect of blanching on the content of antinutritional factors in selected vegetables. *Plant Foods for Human Nutrition*, 47(4), 361-367.
11. J. N. Nwosu (2010). Effect of soaking, blanching and cooking on the antinutritional properties of asparagus bean (*Vigna sesquipedis*) flour. *Natural Sciences*, 8(8), 163-167.
12. S. R. Williams (1997). *Nutrition and diet therapy*, 3rd ed. NY: CV Mosby Co.,
13. Phillips, R. D., Abbey, B. W. (1989). Composition and flatulence-producing potential of commonly eaten Nigerian and American legumes. *Food Chemistry*, 33(4), 271-280.
14. S. Chiba (1988). *Handbook of amylases and related enzymes: Amylase Research*. Oxford: Pergamon Press.
15. Longstaff, M. A., McNab, J. M. (1991). The effect of concentration of tannin-rich bean hulls (*Vicia faba* L.) on activities of lipase (EC 3.1. 1.3) and α -amylase (EC 3.2. 1.1) in digesta and pancreas and on the digestion of lipid and starch by young chicks. *British Journal of Nutrition*, 66(1), 139-147.
16. Pen, J., Molendijk, L., Quax, W. J., Sijmons, P. C., van Ooyen, A. J., van den Elzen, P. J., Hoekema, A. (1992). Production of active *Bacillus licheniformis* alpha-amylase in tobacco and its application in starch liquefaction. *Nature Biotechnology*, 10(3), 292-296.

17. Reddy, N. S., Nimmagadda, A., amp; Rao, K. S. (2003). An overview of the microbial α -amylase family. *African Journal of Biotechnology*, 2(12), 645-648.

18. D. French. (1981). Amylases: Enzymatic mechanisms. *In Trends in the Biology of Fermentations for Fuels and Chemicals*. US: Springer.

Ngày nhận bài: 8/6/2022

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 8/7/2022

Ngày chấp nhận đăng bài: 18/7/2022

Thông tin tác giả:

1. HUỲNH THỊ CẨM HẰNG^{1,*}

2. NGUYỄN THỊ THÚY VY¹

3. PHẠM THỊ THÙY DƯƠNG²

4. ĐỒNG THỊ ANH ĐÀO³

¹Trung tâm Y tế quận Tân Phú, Thành phố Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh

³Trường Đại học Bách khoa - Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

EXTRACTING DIETARY FIBER FROM CASHEW BY USING HYDROLYSIS WITH α -AMYLASE

● HUYNH THI CAM HANG ¹

● NGUYEN THI THUY VY¹

● PHAM THI THUY DUONG²

● DONG THI ANH DAO³

¹Tan Phu District Medical Center (Ho Chi Minh City)

²Ho Chi Minh City University of Food Industry

³Ho Chi Minh City University of Technology

ABSTRACT:

This paper presents the results of the study on fiber extraction from cashew residues by using hydrolysis with α -amylase. The optimal blanching conditions are the blanching temperature of 90°C, the blanching time of 8 minutes, the 4:1 ratio of water to pulp. The optimal conditions for the hydrolysis process with α -amylase are the 5:1 ratio of buffer to pulp, the pH of 5.5, the α -amylase content of 2% (v/wdry substance), and the water temperature at 85°C for 90 minutes.

Keywords: α -amylase, fiber, protease, cashew, hydrolysis.