

1. MỞ ĐẦU

Siro fructoza là một loại đường quen thuộc trên thị trường thế giới, có hàm lượng calo thấp hơn đường kính từ 30-50% và đặc biệt độ ngọt của siro fructoza 42% tương đương với đường kính nên thường được sử dụng thay thế đường kính trong các sản phẩm như: sữa đặc, kem, các loại mứt quả đóng hộp, nước uống ít calo, siro đặc có hương, thức ăn tráng miệng, bánh ngọt...

Giá thành siro fructoza lại thấp hơn đường kính rất nhiều, ở Mỹ giá siro fructoza rẻ hơn đường kính từ 30 đến 40%, ở Nhật là 50-60%. Với những tính chất ưu việt của siro fructoza cả về chất lượng lẫn hiệu quả kinh tế nên sản lượng sản xuất siro fructoza trên thế giới ngày một tăng lên không ngừng.

Siro fructoza là sản phẩm được sản xuất từ tinh bột bằng phương pháp enzym thông qua hai công đoạn chính: thủy phân tinh bột thành glucoza và đồng phân hóa để chuyển glucoza thành fructoza. Quá trình sản xuất này sử dụng ba loại enzym là α -amylaza, glucoamylaza và glucoisomeraza. Trên thế giới quá trình thủy phân tinh bột thành glucoza đã phát triển mạnh mẽ sau những năm 1940, khi công nghệ sản xuất enzym đã được triển khai và phát triển trên quy mô công nghiệp. Đến những năm 1960, glucoza tinh thể đã được sản xuất và tiêu thụ với một số lượng lớn. Quá trình chuyển hoá glucoza thành fructoza phát triển hơn khi enzym glucoisomeraza được sản xuất trên quy mô công nghiệp. Vào những năm 1950 và đến năm 1967 nhà máy sản xuất siro fructoza đầu tiên đã được xây dựng ở Mỹ với độ chuyển hoá chỉ có 15%, nhưng chỉ một năm sau đó nhà máy đã nâng hiệu suất chuyển hoá lên 42% [1]. Cùng với siro glucoza, glucoza tinh thể, siro fructoza đã được sử dụng để thay thế đường sacaroza trong chế biến thực phẩm. Ở Mỹ, trong những năm 1990, sản lượng đường từ tinh bột được sản xuất ra chiếm 67% tổng lượng chất ngọt sử dụng [2].

Từ những năm 1950, quá trình thủy phân tinh bột bằng phương pháp enzym được bắt đầu trên quy mô công nghiệp và sản lượng siro fructoza tăng lên rất nhanh ở nhiều nước trên thế giới. Năm 1985, Canada đã sản xuất được 220.000 tấn, Nhật Bản 585.000 tấn. Từ những năm 1976, riêng ở Mỹ sản lượng đường và siro fructoza sản xuất được nhiều hơn 2,3 triệu tấn năm, trong những năm cuối của thế kỷ 20, sản lượng siro fructoza tăng 5 triệu tấn/ năm và tổng sản lượng đường từ tinh bột đạt 67% sản lượng đường cả nước.

Ở nước ta, công nghệ sản xuất đường từ tinh bột bằng phương pháp enzym đã được phát triển mạnh mẽ trong 10 năm lại đây. Hàng loạt nhà máy sản xuất siro glucoza phục vụ cho công nghiệp kẹo với công suất từ 10-20 tấn/ngày đã được xây dựng tại Sơn Tây, Việt Trì, Quảng Ngãi, Biên Hòa.. . Các sản phẩm từ tinh bột, đặc biệt là siro glucoza và đường glucoza đang được sản xuất với sản lượng lớn trên quy mô công nghiệp như Công ty kỹ nghệ 19/5 Sơn tây 2000 tấn siro glucoza, 100 tấn đường glucoza tinh thể một năm; Công ty Minh Dương 5000 tấn siro glucoza, 200 tấn glucoza tinh thể năm; Công ty bánh kẹo Hải Hà 3000 tấn siro glucoza năm; Công ty đường Quảng Ngãi 4800 tấn siro glucoza năm. Với sáng kiến của công ty Ong Nam Định, đường glucoza đã được sản xuất làm thức ăn cho ong. Siro fructoza cũng đã được sản xuất thành công tại Viện Công Nghiệp Thực Phẩm. Tuy nhiên, siro fructoza chỉ mới được nghiên cứu trong phòng thí nghiệm, và vẫn chưa có nơi nào ứng dụng vào sản xuất trên quy mô công nghiệp.

Việt nam là một nước nông nghiệp với một nguồn nguyên liệu tinh bột dồi dào, sẵn có, hàng năm nước ta xuất khẩu hàng triệu tấn gạo, ngoài ra ngô, khoai, sắn còn được trồng trên một diện tích lớn với sản lượng ngô là 1.034.200 tấn/năm, khoai lang 2.399.900 tấn/năm, sắn 2.211.500

tấn/năm, khoai tây 97.838 tấn/năm, ngoài ra còn các loại khác như dong giềng, kê ,tinh bột đao[4]...Toàn bộ nguồn tinh bột này mới chỉ được sử dụng một phần để chế biến, còn lại chủ yếu vẫn sử dụng dưới dạng tinh bột thô với giá thành thấp.

với vốn đầu tư không lớn, hy vọng rằng trong tương lai siro fructoza sẽ được tiếp tục đưa vào sản xuất để góp phần vào công cuộc chế biến nông sản trong kế hoạch 1.000.000 tấn đường năm 2000 của Đảng và Nhà nước ta.

Để có thêm điều kiện nâng cao hiệu quả kinh tế của tinh bột đồng thời tạo thêm sản phẩm mới cho xã hội, Viện Công nghiệp Thực phẩm mong muốn được tiếp tục nghiên cứu hoàn thiện công nghệ và thiết bị sản xuất siro fructoza trên quy mô công nghiệp phù hợp với điều kiện của nước ta giúp các nhà máy sản xuất glucoza tiến thêm một bước nữa, sản xuất được siro fructoza 42% để sử dụng trong công nghiệp thực phẩm.

Vì vậy chúng tôi đã nghiên cứu ứng dụng kết quả của đề tài: *“Hoàn thiện công nghệ sản xuất glucoza tinh thể bằng phương pháp enzym”* để chuyển hoá tinh bột thành đường glucoza làm nguyên liệu cho sản xuất siro fructoza với các nội dung chủ yếu:

- Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ nâng cao chất lượng dịch glucoza làm nguyên liệu cho sản xuất si ro fructoza
- Nghiên cứu ứng dụng enzym glucoisomeraza cố định để chuyển hoá glucoza thành fructoza.
- Nghiên cứu các phương pháp làm sạch dịch siro fructoza 42%.
- Nghiên cứu thu hồi và bảo quản dịch siro fructoza.
- Nghiên cứu chế tạo thiết bị phù hợp với công nghệ và điều kiện sản xuất của nước ta.

- Xây dựng mô hình dây chuyền công nghệ và thiết bị để sản xuất siro fructoza 42% bắt đầu từ nguyên liệu tinh bột cho đến khâu bảo quản sản phẩm.
- Sản xuất và ứng dụng thử nghiệm siro fructoza 42% vào một số sản phẩm thực phẩm.

2. TỔNG QUAN

2.1. TINH BỘT

2.1.1. Cấu trúc của phân tử tinh bột

Tinh bột là polysaccarit phổ biến nhất ở thực vật, là chất dinh dưỡng chủ yếu của người. Tinh bột được tích lũy chủ yếu trong các hạt, đặc biệt là hạt hòa thảo và các loại củ. Trong tự nhiên tinh bột là một hợp chất hữu cơ được phân bố rộng rãi sau cellulosa. Lượng tinh bột ở ngô, lúa mỳ vào khoảng 60- 75%, lúa gạo có thể đạt đến 75-80%, củ sắn 12- 33%, củ khoai tây 24-26% (bột sắn có 70-81% tinh bột, bột khoai tây 70-75%). Ngoài ra tinh bột còn có nhiều trong các loại rau quả và là nguồn dinh dưỡng chính cung cấp calo cho người và gia súc.

Amyloza và amylopectin là hai cấu tử chính cấu tạo nên phân tử tinh bột. Amyloza thường chiếm 12-25%, amylopectin chiếm 75-85% trọng lượng phân tử tinh bột. Phân tử lượng của amyloza từ 3.10^5 - 1.10^6 và amylopectin từ 5.10^4 - 1.10^6 . Cả amyloza và amylopectin đều được cấu tạo từ α - D-glucosa. Các gốc glucosa trong chuỗi kết hợp với nhau qua liên kết α -1,4-glucosit. Amylopectin có cấu trúc phân nhánh, ở điểm phân nhánh là liên kết α -1,6 glucosit. Tỷ lệ % giữa amyloza và amylopectin thay đổi tùy theo loại tinh bột.

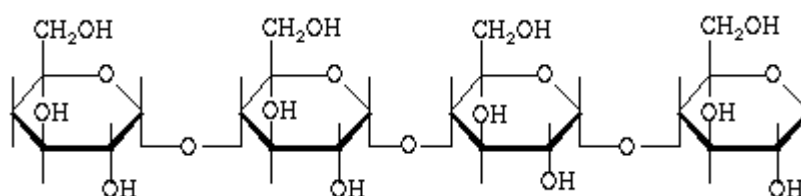
Amyloza có cấu tạo dạng chuỗi không phân nhánh dài gồm khoảng 300- 1000 gốc glucosa, xoắn được giữ vững nhờ liên kết hydro được tạo thành giữa nhóm OH tự do. Khi bị đun nóng, liên kết hydro bị cắt đứt, chuỗi amyloza duỗi thẳng ra. Amyloza thường được phân bố ở phần bên trong của hạt tinh bột [6]. Trong amyloza, các gốc glucosa được gắn với nhau bằng liên kết α -1,4 glucosit thông qua cầu oxi giữa nguyên tử cacbon

thứ nhất của glucoza này (nguyên tử các bon mang tính khử) và nguyên tử cacbon thứ tư của glucoza tạo nên chuỗi dài 200-1000 gốc glucoza. Vì thế amyloza chỉ gồm những mạch thẳng

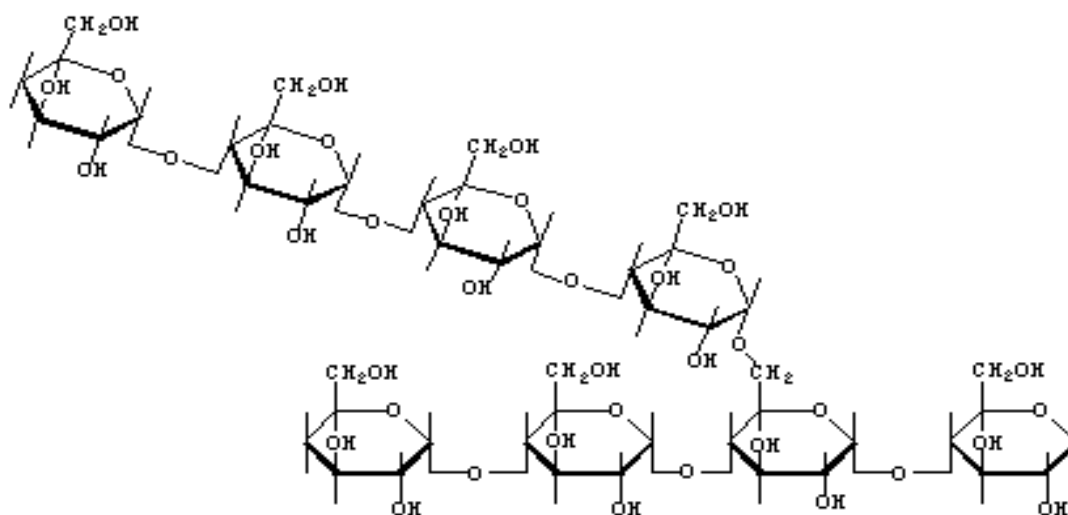
Amylopectin có chứa cả liên kết α -1,4 và liên kết α -1,6 glucozit, gồm một nhánh trung tâm (chứa liên kết α - 1,4 glucozit), từ nhánh này phát ra nhánh phụ có chiều dài khoảng vài chục gốc glucoza. Amylopectin được phân bố ở mặt ngoài hạt tinh bột [2]. Ngoài cấu trúc mạch thẳng, amylopectin còn có cấu trúc mạch nhánh, thông thường có 20-30 gốc glucoza giữa 2 điểm phân nhánh.

Sơ đồ cấu trúc của amyloza và amylopectin.

Amylose



Amylopectin



2.1.2. Đặc tính của tinh bột

Hai cấu tử của tinh bột là amyloza và amylopectin có tính chất hoá

học và lý học khác nhau. Amyloza khi tác dụng với phân tử iot có màu xanh, amylopectin cho màu nâu khi tác dụng với phân tử iot. Amyloza dễ tan trong nước ấm và tạo nên một dung dịch có độ nhớt không cao. Dung dịch của amyloza không bền khi nhiệt độ hạ thấp, các dung dịch đậm đặc của amyloza nhanh chóng tạo gel tinh thể và các kết tủa không thuận nghịch. Khả năng thoái hoá này phụ thuộc vào pH, sự có mặt của các ion kim loại, nồng độ amyloza và khối lượng phân tử của amyloza. Amylopectin có độ kết tinh thấp hơn rất nhiều. Amylopectin là phân tử hấp thụ nước nhiều khi nấu chín tinh bột và là thành phần chủ yếu tạo nên sự trương phồng của hạt tinh bột. Khi tinh bột được xử lý đồng thời bằng nước và nhiệt thì sẽ tạo ra hiện tượng hồ hoá. Nhiệt độ hồ hoá của các loại tinh bột nằm trong khoảng 55-70°C, các hạt tinh bột sẽ trương phồng lên hấp thụ nước vào các nhóm hydroxyl phân cực, khi đó độ nhớt của dịch tinh bột tăng lên rất cao, các hạt tinh bột trương nở và kết dính vào với nhau tạo thành paste. Nếu dịch tinh bột đặc thì khi làm nguội paste tinh bột sẽ tạo thành gel cứng [2].

Về mặt cảm quan tinh bột là các hạt rất mịn, màu trắng. Để bảo quản tốt, người ta giữ độ ẩm của tinh bột trong khoảng 12-14% nhằm ngăn ngừa sự phát triển của vi sinh vật. Trong công nghiệp thực phẩm, tinh bột được sử dụng để tạo sợi, tạo hình, giữ ẩm, tạo độ dẻo, và tăng độ bền của bao bì...

Tinh bột bị thủy phân bởi enzym (amylaza) hoặc axit tạo thành sản phẩm có phân tử lượng thấp hơn gọi là dextrin. Các dextrin có thể tiếp tục bị thủy phân tạo thành đường glucoza.

2.1.3. Vài nét về tinh bột sắn

Tinh bột sắn cũng có cấu tạo bởi hai cấu tử amyloza và amylopectin giống như các tinh bột khác. Amyloza chiếm 12-18%, amylopectin chiếm 78-80%. Nhiệt độ hồ hoá tinh bột sắn bắt đầu là 58°C và kết thúc ở 68°C.

Kích thước hạt tinh bột sắn là 15-20 μ m[1,3].

Tinh bột sắn về cảm quan có màu sáng trắng, nhưng khi hồ hoá trở nên trong và có màu xám. Khi hồ hoá độ nhớt tăng rất nhanh, độ kết dính cao hơn các tinh bột khác như tinh bột khoai lang, khoai tây...Ở nước ta sắn được trồng nhiều nhất, nhất là ở những vùng đồi núi, cây sắn chịu được các điều kiện khí hậu khắc nghiệt và không đòi hỏi sự chăm sóc nhiều, vì vậy tinh bột sắn là nguồn nguyên liệu dồi dào và rẻ tiền nhất. Tinh bột sắn được sử dụng chủ yếu trong nhiều ngành công nghiệp như công nghiệp thực phẩm (dùng trong sản xuất siro glucoza, đường glucoza, mì chính..) công nghiệp giấy và công nghiệp dệt.

2.1.4. Tình hình sản xuất và tiêu thụ sắn ở Việt Nam và Châu Á

Nguồn nguyên liệu ban đầu được lựa chọn để sản xuất siro fructoza là tinh bột sắn , đó là nguồn nguyên liệu vô cùng phong phú ở nước ta. Theo niên giám thống kê năm 2002 [4] cho thấy diện tích và sản lượng cây sắn như sau: Sắn: sản lượng 4157,7 nghìn tấn , diện tích : 329,4 nghìn ha

Cây sắn đầu tiên mọc ở vùng hoang vu Trung và Nam Châu Mỹ, về sau được trồng lan rộng sang Châu Phi, Châu Á. Cho tới nay sắn được trồng ở hầu hết các quốc gia trên thế giới, chủ yếu là các nước nằm trong vĩ độ 30⁰ Bắc và 30⁰ Nam, các nước Châu Mỹ La Tinh và Khu vực Đông Nam Á. Ở Việt Nam sắn được trồng vào cuối thế kỷ 19 và được coi là loại cây hoa màu quan trọng.

Bảng 2.1. Thành phần hoá học của củ sắn

Thành phần	Sắn vàng	Sắn trắng
Nước (%)	63,18	61,90
Tinh bột (%)	34,20	32,90
Đạm toàn phần (%)	0,61	0,13

Chất béo(%)	0,20	0,21
Chất khoáng(%)	0,50	0,53
Vitamin B ₁ (mg%)	31	58
Vitamin B ₂ (mg%)	75	75

Hiện nay Việt nam sản xuất được trên 2 triệu tấn sản tươi, đứng thứ 11 thế giới về sản lượng sản nhưng lại là nước xuất khẩu tinh bột sản đứng thứ 3 trên thế giới sau Thái Lan và indonexia[4].

Bảng 2.2. Hiện trạng và tiềm năng sử dụng, chế biến sản

Nước	Sản lượng (triệu tấn)	Hiện trạng đang sử dụng (theo mức độ sử dụng từ nhiều đến ít)	Tiềm năng chế biến và sử dụng
Thái Lan	18,08	- Thức ăn gia súc - Tinh bột và tinh bột biến tính	- Tinh bột biến tính - Thức ăn gia súc - Bột ngọt, lyzin
Indonexia	16,1	- Lương thực - Tinh bột và tinh bột biến tính - Thức ăn gia súc.	- Tinh bột - Tinh bột biến tính - Thức ăn gia súc và bột ngọt.
Ấn độ	5,98	- Lương thực - Tinh bột sử dụng nội địa	- Tinh bột - Tinh bột biến tính - Đồ uống, bánh kẹo
Trung Quốc	3,5	-Tinh bột sử dụng nội địa - Thức ăn gia súc	- Tinh bột , bột ngọt - Tinh bột biến tính - Thức ăn gia súc
Việt Nam	1,98	- Thức ăn gia súc - Tinh bột - Lương thực	- Tinh bột, bột ngọt - Thức ăn gia súc - Tinh bột biến tính

Thái Lan là nước trồng và xuất khẩu sắn đứng đầu thế giới, có trên 55% sản lượng sắn của Thái Lan được sử dụng dưới dạng sắn lát phơi khô dùng làm thức ăn gia súc, trong đó 90% được xuất khẩu sang Châu Âu và chỉ có 10% tiêu thụ nội địa. Gần 45% sản lượng còn lại được chế biến thành các sản phẩm, 60% sản phẩm loại này được xuất khẩu.

2.2. CÁC ENZIM THAM GIA TRONG QUÁ TRÌNH CHUYỂN HOÁ TINH BỘT THÀNH FRUCTOZA

Enzim là protein có hoạt tính xúc tác, hiệu suất xúc tác của enzim cực kỳ lớn, nó có thể gấp hàng trăm, hàng triệu lần so với các chất xúc tác vô cơ và hữu cơ khác. Điều quan trọng nữa là enzim có thể thực hiện hoạt động xúc tác trong điều kiện tự nhiên ở áp suất và nhiệt độ thường, pH môi trường nên trong sản xuất nếu sử dụng enzim thì thuận tiện hơn nhiều so với các loại chất xúc tác khác như axit, kiềm... Ngoài ra enzim còn xúc tác một cách có chọn lọc.

Trong động vật, thực vật và các vi sinh vật tồn tại nhiều enzim. Đến nay đã chiết tách được nhiều loại enzim với độ tinh khiết cao và đã sử dụng rộng rãi trong các ngành công nghiệp, đặc biệt là công nghiệp thực phẩm. Trong các nguồn nguyên liệu này thì vi sinh vật là nguồn nguyên liệu thích hợp nhất để sản xuất enzim ở quy mô công nghiệp

Trên thị trường thế giới, các sản phẩm enzim đạt trên 500 triệu USD / năm , trong đó 70% được dùng cho công nghiệp thực phẩm. Trong số đó có proteaza 500 tấn/ năm, glucoamylaza 50 tấn, α - amylaza 300 tấn / năm , β - amylaza tấn/ năm, glucoizomeraza 50 tấn /năm, rennet 10 tấn/ năm. Vào những năm gần đây, nhờ kỹ thuật cố định enzim mà có thể dùng đi dùng lại nhiều lần. Nhờ thành công này, những ngành sử dụng enzim đã mở rộng quy mô sản xuất sản phẩm và giảm được rất nhiều chi phí, ví dụ

Glucosyltransferase: 50 tấn/ năm, nhờ sử dụng enzym này mỗi năm sản xuất được 2.150.000 tấn siro glucoza - fructoza 42% và 1.450.000 tấn siro glucoza - fructoza 55%

Trong quá trình sản xuất fructoza từ nguyên liệu tinh bột có sử dụng 3 loại enzym: α - amylaza trong quá trình dịch hoá; glucoamylaza trong quá trình đường hoá và glucosyltransferase trong quá trình đồng phân hoá để chuyển hoá glucoza thành fructoza.

2.2.1. α -amylaza

Theo danh pháp quốc tế, α -amylaza gọi là α -1,4 glucan-4 glucanhydrolaza (EC 3.2.1.1), có khả năng phân cắt các liên kết α -1,4 glucosid trong phân tử polysaccharit một cách ngẫu nhiên không theo trật tự nào. Do đó α - amylaza có thể thủy phân được amyloza, amylopectin, glycogen và các sản phẩm trung gian của quá trình thủy phân. Nhưng không có khả năng thủy phân liên kết α - 1,6 và α - 1,3 glucosid [2,3,10]

Amylaza là enzym thủy phân tinh bột, đồng thời là một chế phẩm sinh học được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm, đặc biệt trong sản xuất siro chứa oligosaccharit, maltoza và glucoza. Enzym amylaza được dùng từ lâu đời theo phương pháp cổ truyền, để thủy phân tinh bột trong sản xuất mạch nha, rượu, bia.... Ngày nay, với các tiến bộ của khoa học kỹ thuật người ta đã sử dụng phương pháp enzym để thay thế phương pháp axit trước đây trên quy mô công nghiệp. Ở Mỹ, 75% siro và glucoza tinh thể được sản xuất bằng phương pháp enzym. Việc sử dụng amylaza ngày càng trở nên rộng rãi hơn kể từ khi có α -amylaza tinh chiết từ một số chủng vi sinh vật như *Bacillus licheniformis* được phát hiện là có tính bền nhiệt.

α - amylaza được phân bố rộng rãi trong các tế bào vi sinh vật. Các vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp α -amylaza là các chủng *Bacillus* (như *Bacillus acidodarius*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus*), *Streptomyces aureofaciens*, *Thermophilus vulgaris* và một số chủng *Pseudomonas*, *Aspergillus*, *Endomycopsis*..

Các α -amylaza thu nhận từ xạ khuẩn và nấm men có hoạt lực không cao, vì vậy phần lớn nghiên cứu được tập trung vào α -amylaza của nấm mốc và vi khuẩn. α - amylaza có trong nước bọt, hạt hoà thảo, đặc biệt có rất nhiều trong chế phẩm nuôi cấy nấm mốc, vi khuẩn . Nhiều vi sinh vật có khả năng tổng hợp α - amylaza, nhưng phổ biến nhất là các chủng vi khuẩn *Bacillus* và các chủng nấm mốc *Aspergillus*, *Rhizopus*. Xạ khuẩn và nấm men *Endomycopsis* cũng có khả năng tổng hợp α - amylaza [10,9], tuy nhiên hoạt độ α - amylaza của chúng không cao.

α -amylaza của nấm mốc: được chia làm 2 loại: chịu axit và kém chịu axit, thường hoạt động ở pH axit. α -amylaza của nấm mốc lần đầu tiên được phát hiện từ chủng *Aspergillus oryzae*. Sau này người ta tìm thấy *A. niger*, *A. awmori*, *Rhizopus ulencer*, *R. nevear* cũng có khả năng tổng hợp α -amylaza.

α -amylaza của vi khuẩn: được chia làm 2 loại: chịu nhiệt và kém chịu nhiệt; thường hoạt động ở pH trung tính hoặc kiềm nhẹ. α -amylaza của vi khuẩn là loại bền với nhiệt nhất so với các loại α -amylaza sinh ra từ các chủng vi sinh vật khác. α -amylaza của chủng *Bacillus stearothermophilus*, ở nhiệt độ 50-60°C bị mất hoạt tính sau 24 giờ; ở 90°C giảm hoạt lực 17% sau 6 phút trong khi α -amylaza của chủng *Bacillus subtilis* bị mất hoạt lực hoàn toàn.

Trong công nghiệp, α -amylaza của vi khuẩn được sử dụng rộng rãi nhất vì nó thường không có độc tố, lại có hoạt lực cao và chịu được nhiệt độ cao, trong khi α -amylaza của nấm mốc bị mất hoạt tính ngay sau khi hồ hoá. *Bacillus* là giống vi khuẩn có khả năng tổng hợp α - amylaza mạnh nhất và có ý nghĩa trong công nghiệp, nhất là *Bacillus subtilis*, *B. coagulans*, *B. stearothermophilus*, *B. licheniformis* .

α -amylaza từ các chủng vi sinh vật khác nhau có nhiều tính chất giống nhau nhưng cũng có các tính chất khác nhau. Chúng giống nhau chủ yếu về tính năng tác dụng với cơ chất nhưng lại rất khác nhau về khả năng bền vững với nhiệt độ và pH đồng thời các sản phẩm thủy phân cơ chất của chúng cũng rất khác nhau. Người ta phân biệt α - amylaza của nấm mốc làm 2 loại chủ yếu α -amylaza chịu axit và α - amylaza kém chịu axit. Với α -amylaza của vi khuẩn cũng phân biệt 2 loại α - amylaza kém bền nhiệt và α -amylaza bền nhiệt.

α - amylaza có bản chất là protit nên tan được trong nước và không bị phân hủy bởi proteaza. α -amylaza còn được gọi là enzym kim loại vì trong phân tử của enzym có ít nhất là 1 ion Ca^{++} nằm ở trung tâm hoạt động. Số lượng ion Ca^{++} trong phân tử enzym, mức độ liên kết của các ion Ca^{++} với protit rất khác nhau và phụ thuộc vào nguồn gốc của từng loại α - amylaza. Tất cả các enzym α -amylaza đều chứa từ 1-30 nguyên tử Ca^{++} /mol enzym. Hoạt lực của enzym không thay đổi khi thay thế tất cả các ion Ca^{++} bằng ion Mg^{++} , loại trừ ion Ca^{++} ở trung tâm hoạt động. Khi tách ion Ca^{++} ra khỏi enzym bằng EDTA thì enzym bị mất khả năng hoạt động, không còn khả năng thủy phân cơ chất và bị biến tính khi đun nóng, đặc biệt bị thủy phân bởi proteaza. Vì vậy, ion Ca^{++} đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì cấu trúc phân tử cũng như khả năng hoạt động của enzym này.

Tất cả các α -amylaza đều có khả năng phân hủy nhanh chóng phân tử tinh bột, làm thay đổi màu của iốt và giảm độ nhớt của tinh bột một cách nhanh chóng. Các sản phẩm thủy phân của α -amylaza là maltoza, oligosaccharid, maltotrioza và các dextrin phân tử thấp. α -amylaza tác động rất yếu lên các dextrin phân tử thấp như maltotrioza và đặc biệt yếu hơn nữa là maltoza. α -amylaza phân hủy amylopectin thành các dextrin có chứa 4 hoặc nhiều hơn gốc glucoza bằng các liên kết α -1,6 glucozit , maltoza và glucoza.

Sản phẩm thủy phân của các α -amylaza từ các chủng vi sinh vật khác nhau là các dextrin có phân tử lượng khác nhau. Khi thủy phân tinh bột, α -amylaza của chủng *Bacillus subtilis* tạo thành các dextrin có 9-10 cấu trúc glucoza, α -amylaza của *Bacillus amyloliquefaciens* tạo thành β -dextrin có chứa liên kết nhánh và không nhiều hơn 9 cấu trúc glucoza.

2.2.2. Glucoamylaza

Theo danh pháp quốc tế, glucoamylaza còn gọi là α -1,4 glucan glucohydrolaza, amyloglucozidaza, γ -amylaza. Glucoamylaza có khả năng thủy phân liên kết α -1,4 glucozit của phân tử tinh bột, cắt đứt từng đơn vị glucoza của phân tử tinh bột từ đầu không khử. Ngoài ra, glucoamylaza còn có khả năng phân cắt mỗi liên kết α -1,6 và α -1,3 glucozit nhưng với tốc độ chậm hơn.

Glucoamylaza được sinh tổng hợp từ các chủng mốc *Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori* hay *Rhizopus*. Glucoamylaza có nguồn gốc từ nấm mốc có tính bền nhiệt cao nhưng thường hay lẫn enzym transglucozidaza. Đó là một enzym chuyển nhóm glucozit thành oligosaccharid (quá trình chuyển hoá ngược). Vì vậy, để thu nhận được

glucoamylaza không lẫn transglucozidaza cần phải phân lập và tuyển chọn giống để loại bỏ enzym này[2,3,10,9]...

Hầu hết các glucoamylaza đều có đầy đủ 20 axit amin không thay thế. Tùy thuộc vào loại glucoamylaza của các chủng khác nhau mà số lượng axit amin cũng khác nhau

pH và nhiệt độ là 2 yếu tố ảnh hưởng mạnh đến hoạt độ của enzym. pH tối ưu cho hoạt động của các glucoamylaza là 3,3-3,5. Đa số glucoamylaza của mốc *Aspergillus* hoạt động tối thích ở 60°C. Glucoamylaza hoàn toàn bị vô hoạt ở 70°C.

Tất cả các glucoamylaza của nấm mốc đều là glucoprotein có chứa trong phân tử từ 5-20% hydratcacbon, trong đó chủ yếu là glucoza, glucoamin, manosa và galactosa. Trọng lượng phân tử của glucoamylaza nấm mốc vào khoảng 26.850-112.000 dalton. Chúng đều có chứa các amino axit: metionin, triptophan và xistein.

Glucoamylaza không thủy phân tinh bột ở dạng keo, vì thế cơ chất của glucoamylaza là sản phẩm dịch thủy phân tinh bột của α -amylaza. Khả năng thủy phân của glucoamylaza lên các cơ chất cũng khác nhau. Theo Fleming, glucoamylaza được chia làm 2 nhóm:

Nhóm 1: Thủy phân hoàn toàn tinh bột và β -dextrin

Nhóm 2: Thủy phân 80% tinh bột và 40% β -dextrin.

Glucoamylaza của 2 nhóm trên đều có khả năng thủy phân hoàn toàn dextrin.

Vận tốc thủy phân phụ thuộc vào độ dài và cấu trúc phân tử của các cơ chất: maltoza bị glucoamylaza thủy phân nhanh gấp 40 lần tốc độ thủy

phân isomaltoza; pullunaza mạch thẳng bị thủy phân chậm hơn 2% tốc độ thủy phân tinh bột.

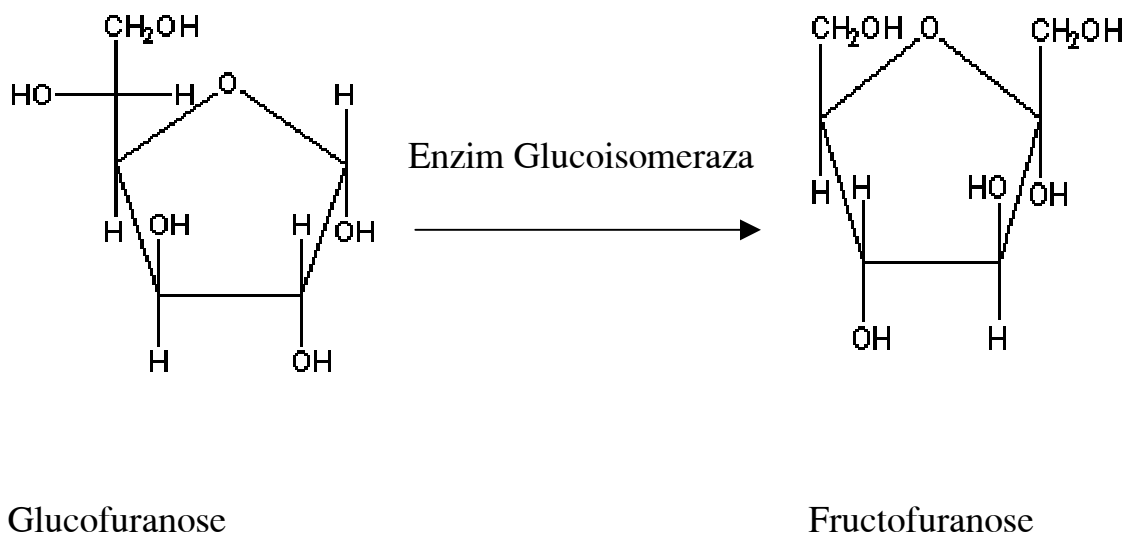
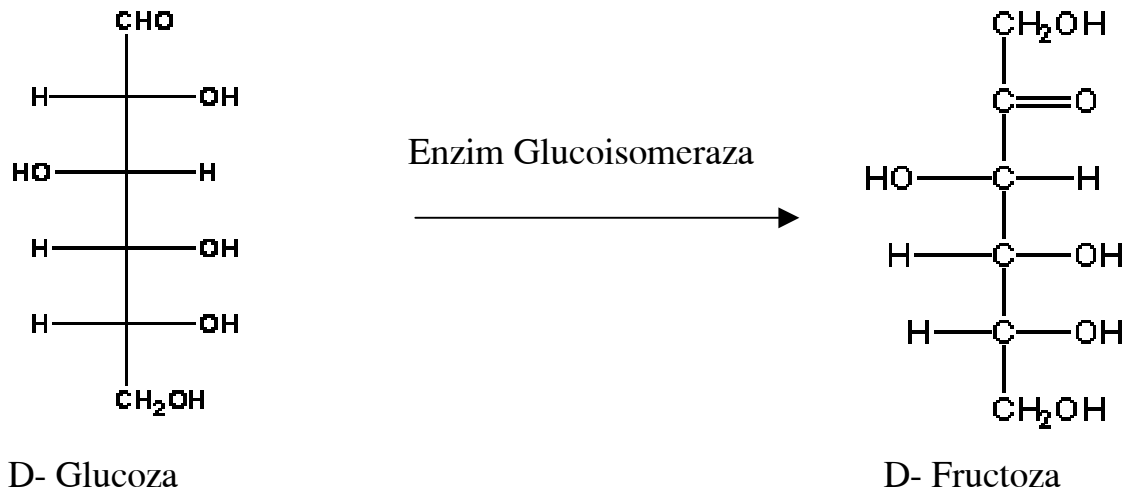
2.2.3. Glucoisomeraza.

Sản phẩm cuối cùng của quá trình thủy phân tinh bột là glucoza. Giai đoạn tiếp theo là quá trình chuyển hoá glucoza thành fructoza bằng enzym glucoisomeraza.

Glucoisomeraza là chất xúc tác của phản ứng chuyển hoá D-glucoza thành D-fructoza trong điều kiện chuẩn (pH, nhiệt độ, nồng độ cơ chất, nồng độ enzym...). Sau quá trình đồng phân sản phẩm tạo thành là fructoza ở dạng vòng và dạng thẳng.

Glucoisomeraza theo danh pháp quốc tế được gọi là D-xylose- keto-izomeraza (EC 5.3.1.5). Glucoisomeraza có tác dụng xúc tác phản ứng chuyển hoá glucoza thành fructoza. Dưới tác dụng của glucoisomeraza nhóm andehit (CHO) trong phân tử glucoza chuyển thành nhóm (C=O) trong phân tử fructoza[7,10,...]

**Sơ đồ chuyển hoá glucoza thành fructoza bằng enzyme glucoisomeraza
(glucoza và fructoza ở dạng mạch thẳng và dạng mạch vòng**



Ngoài ra glucoisomeraza còn được gọi là D- xyloza izomeraza vì người ta đã tìm ra một số vi sinh vật có khả năng tổng hợp enzym trên môi trường đòi hỏi phải có xyloza là nguồn hydratcacbon. Hơn nữa enzym này không những chuyển hoá D - glucoza thành D- fructoza mà cả D - xyloza thành D- xiluloza.

Glucoisomeraza được thu nhận chủ yếu từ vi sinh vật, phổ biến nhất là các chủng vi khuẩn *Bacillus*, phổ biến là: *Bacillus megaterium*, *B. coagulans*, *B. stearothermophiles*.

Nhóm xạ khuẩn có khả năng sinh tổng hợp glucoisomeraza mạnh nhất và có ý nghĩa công nghiệp nhất gồm: *Streptomyces albus*, *S. fradiae*, *S. olivaceus*, *S. olivochromogenes*. Các chủng xạ khuẩn *Streptomyces*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, cũng có khả năng tổng hợp glucoisomeraza nhưng enzym tổng hợp từ những chủng này kém mạnh mẽ và không bền nhiệt, Takasaki đã phân lập được hai chủng xạ khuẩn *Streptomyces*, *Albus* và *S. bikiniensis* từ đất, có khả năng tổng hợp glucoisomeraza trên môi trường chứa là xylan [10]..

Glucoisomeraza được thu nhận từ các nguồn khác nhau có tính chất giống nhau nhưng cũng có tính chất khác nhau. Đa số các chủng vi sinh vật có khả năng tổng hợp glucoisomeraza đều đòi hỏi môi trường có D-xyloza làm nguồn cacbon. Ngoài ra các chủng xạ khuẩn có thể tổng hợp glucoisomeraza trên môi trường chứa xylan như rơm rạ, bã mía, vỏ trấu...

Glucoisomeraza có bản chất là protein. Song enzym thu được nhận từ nguồn khác nhau có hàm lượng axit amin trong phân tử khác nhau. Đa số glucoisomeraza đều giàu alanin, leucin và glixin. Glucoisomeraza thuộc protein axit aspartic và axit glutamic trong phân tử enzym cao hơn hẳn các axit amin khác, chiếm tới 45- 55% tổng số các axit amin. Về thành phần axit amin trong phân tử glucoisomeraza thì ở *B. coagulans* thiếu xistein, ở *S. albus* có chứa 4,1- 33 nguyên tử gam Co^{2+} và Mg^{2+} / mol enzym vì vậy glucoisomeraza bền vững đối với các yếu tố gây biến tính.

Glucoisomeraza từ các nguồn khác nhau có trọng lượng phân tử tương tự nhau (165.000 – 191.000) ví dụ: Glucoisomeraza của *L. brevis* có

trọng lượng phân tử là 191.000, của *S. albus* là 165.000 , *B. coagulans* là 167.000

Nhiệt độ hoạt động của glucoisomeraza thay đổi trong khoảng 45 – 90°C ví dụ như *L. brevis* hoạt động ở 45°C, *S. murius* ở 60°C, *Actinoplanes, Missouriensis* ở 90°C. Glucoisomeraza thu nhận từ nguồn khác nhau có nhiệt độ hoạt động khác nhau. Hầu hết glucoisomeraza hoạt động tốt 50 - 65°C và pH 6,5- 8,0 [8,10].

Glucoisomeraza cố định

Sử dụng tế bào cố định cho phép sản xuất liên tục, dịch đường liên tục chảy qua khu vực chứa tế bào cố định với vận tốc phù hợp. Enzim ở dạng cố định sẽ tiếp xúc với các phân tử đường liên tục được đổi mới, nó sẽ thực hiện liên tục quá trình biến đổi sinh lý tạo ra sản phẩm hoà vào dòng chảy ra khỏi lò phản ứng. Sản phẩm đạt yêu cầu liên tục được lấy ra khỏi thiết bị còn enzim ở lại trong thiết bị

2.3. QUÁ TRÌNH CHUYỂN HOÁ TINH BỘT THÀNH ĐƯỜNG GLUCOZA

Quá trình chuyển hoá tinh bột thành đường glucoza dưới tác dụng của enzim thủy phân tinh bột là α – amylaza và glucoamylaza được chia ra làm hai giai đoạn: dịch hoá và đường hoá.

Quá trình dịch hóa sử dụng α -amylaza phân cắt ngẫu nhiên các liên kết α -1,4 glucosit trong phân tử tinh bột để tạo thành các dextrin và oligosaccarit mạch dài. Quá trình dịch hoá được xác định bởi DE dịch hoá (là lượng đường khử trong dung dịch sau quá trình dịch hoá).

Quá trình đường hoá sử dụng enzim glucoamylaza, enzim này có tác dụng phân cắt một cách có trật tự các liên kết α -1,4 và α -1,6 glucosit của các sản phẩm trung gian trong quá trình dịch hoá ở trên để tạo ra sản

phẩm cuối cùng chủ yếu là glucoza. Quá trình đường hoá được xác định bởi DE đường hoá.

2.3.1. Quá trình dịch hoá

Cơ chế chung của các α -amylaza là thuỷ phân không định vị các liên kết α -1,4 glucozit của các polysacharit. Enzim này phụ thuộc loại endoenzim, có nghĩa là các enzim tấn công các liên kết nội phân tử. Tác dụng của α -amylaza lên amyloza và amylopectin dẫn đến giảm nhanh độ nhớt cũng như làm mất khả năng nhuộm màu với iốt và tăng khả năng khử. Tuy nhiên α -amylaza không tấn công liên kết α -1,6 glucozit và vì vậy tạo ra một lượng các oligosaccharid, panoza, β -dextrin phân tử lượng thấp.

Dưới tác dụng của α -amylaza, dung dịch tinh bột bị loãng và độ nhớt bị giảm xuống, do đó quá trình này được gọi là quá trình dịch hóa.

2.3.2. Quá trình đường hoá

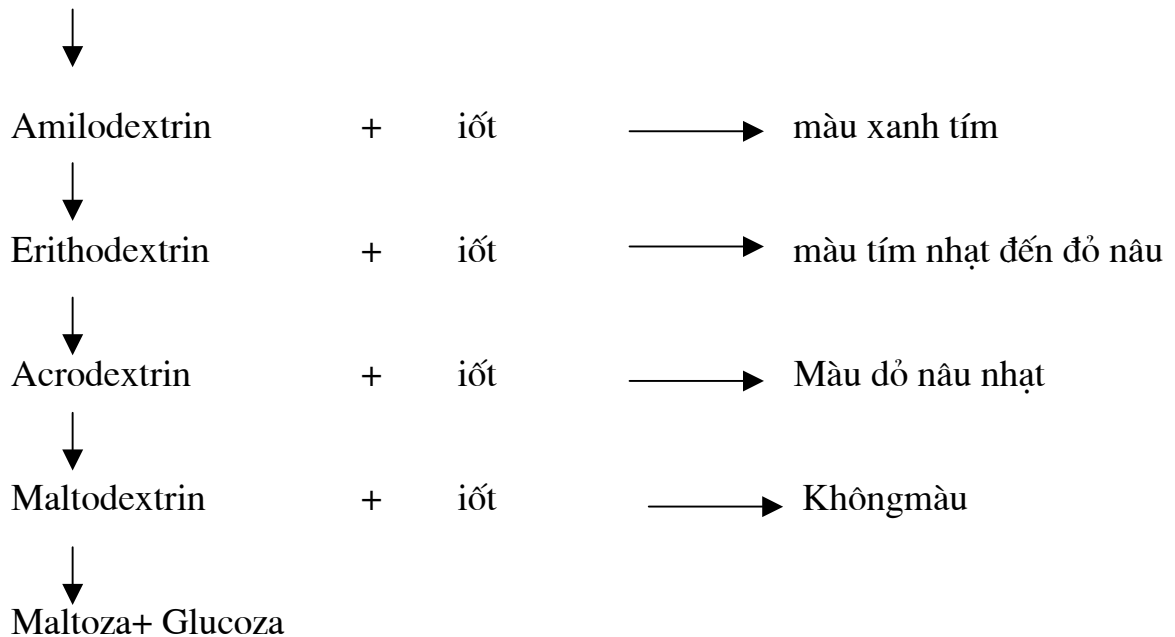
Bước tiếp theo giai đoạn dịch hoá là giai đoạn đường hoá sử dụng enzim glucoamylaza, kết quả là độ ngọt của dung dịch đường sẽ tăng lên do tác dụng của enzim glucoamylaza lên các maltodextrin và oligosacharide để tạo thành glucoza. Quá trình đường hoá hoàn toàn tạo ra sản phẩm glucoza và một phần nhỏ maltoza và isomaltoza.

Glucoamylaza thuỷ phân theo cơ chế đa mạch cắt các liên kết α -1,4 và α -1,6 glucozit để tạo ra sản phẩm cuối cùng là glucoza.

Quá trình thuỷ phân tinh bột nhờ enzim được tiến hành qua hàng loạt các sản phẩm trung gian có trọng lượng phân tử khác nhau gọi là dextrin. Lúc đầu thu được các dextrin phân tử lượng lớn, khác biệt với tinh bột về trọng lượng phân tử cũng như tác dụng với iốt. Sau đó các dextrin thu được

có phân tử lượng ngày càng thấp dần và tính chất tác dụng với iốt cũng thay đổi. Từ cơ chất đầu tiên là tinh bột đến sản phẩm cuối cùng là đường maltoza và glucoza, phản ứng thủy phân qua một loạt các sản phẩm trung gian theo thời gian như sơ đồ sau

Tinh bột



2.4. QUÁ TRÌNH CHUYỂN HÓA GLUCOZA THÀNH FRUCTOZA

Glucoza được chuyển hoá thành fructoza thông qua quá trình đồng phân. Đường fructoza có độ ngọt gấp đôi so với glucoza. Do enzym glucoisomeraza rất đắt nên thường được sử dụng ở dạng cố định. Sản phẩm thu được vừa có độ chuyển hóa cao và ít sản phẩm phụ.

Các sản phẩm chuyển hoá bao gồm: 42% fructoza + 54% glucoza; 55% fructoza + 41% glucoza có độ ngọt tương đương với đường kính.

Ở Mỹ, siro fructoza được sử dụng để thay thế đường kính trong đồ uống, thức ăn nhanh, bánh mỳ và đồ hộp. Siro fructoza tinh khiết có độ ngọt hơn hẳn đường kính được sản xuất ra từ siro fructoza 42%.

Do siro fructoza được sản xuất ra từ tinh bột sắn nên giá thành rẻ hơn đường kính (khoảng từ 4000- 5000 đ/kg), mà độ ngọt lại tương đương với đường kính, nên trong công nghiệp sản xuất thực phẩm siro fructoza được dùng để thay thế đường kính. Đặc biệt là hàm lượng calo của siro fructoza lại thấp hơn so với đường kính nên nó được sử dụng để chữa bệnh béo phì hiện đang là vấn đề được nhiều người quan tâm.

2.5. FRUCTOZA

D- fructoza là một monosaccarit rất phổ biến trong tự nhiên, thường gặp trong các quả chín, mật hoa, mật ong và là thành phần cấu tạo của polysaccarit thực vật như insulin (trong củ thuộc dược, củ cải đắng...).

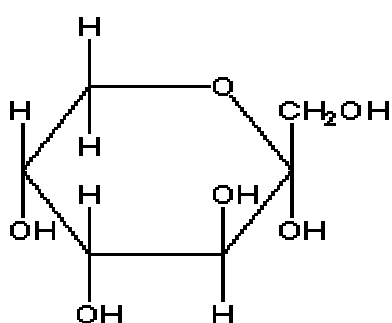
Khác với glucoza, fructoza là một monosaccarit ở dạng xeton, có khả năng làm quay mặt phẳng ánh sáng phân cực sang trái, kí hiệu dấu (-) cho nên fructoza còn được gọi là levuloze, fructoza cũng được gọi là đường hoa quả vì nó được tìm thấy trong các loại hoa quả, mật ong. Fructoza là loại đường có độ ngọt nhất nó thường được sử dụng để ngăn chặn tình trạng kết tinh trong kem. Bảng sau chỉ ra độ ngọt của một vài loại đường và đường thay thế.

Tên	Độ ngọt
Lactose	0.16
Glucose	0.75
Sucrose	1.00
Fructose	1.75
Aspartane	180
Acesulfane-k	200

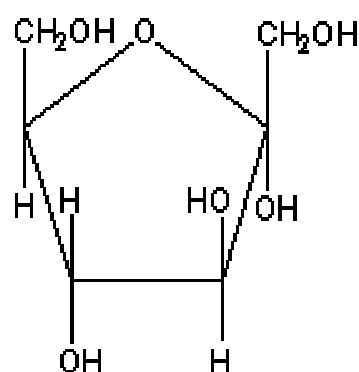
Saccharin	350
-----------	-----

2.4.1. Công thức cấu tạo của fructoza

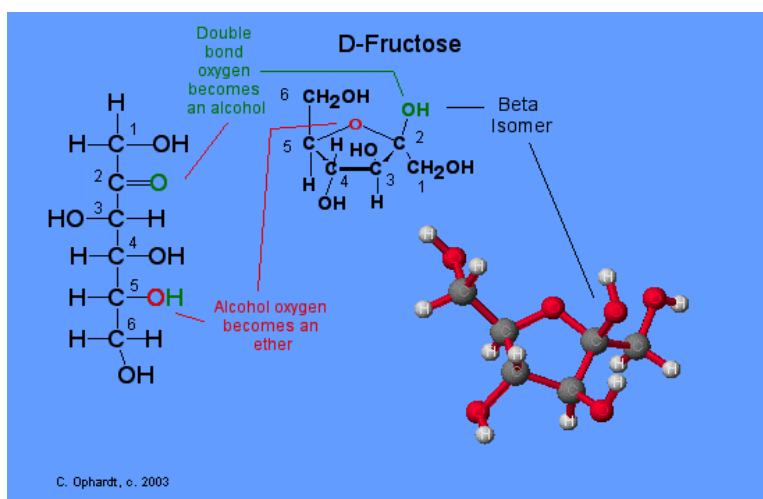
Fructoza có công thức cấu tạo là $C_6H_{12}O_6$, thường tồn tại ở dạng furanoza. Quá trình vòng hoá do nó có chức xeton của cacbon ở vị trí thứ hai tạo được cầu oxy với C_5 để tạo vòng furanoza.



Cấu trúc Fructopyranose



Cấu trúc Fructofuranose



2.4.2 Các tính chất của fructoza

Fructoza tinh khiết ở dạng tinh thể có màu trắng, vị ngọt gấp 1,7 lần độ ngọt của saccaroza. Do sự có mặt của nhiều nhóm hydroxyl trong phân tử nên fructoza dễ tan trong nước và không tan trong các dung môi hữu cơ. Tính chất hoá học quan trọng của fructoza là những tính chất của nhóm chức xeton.

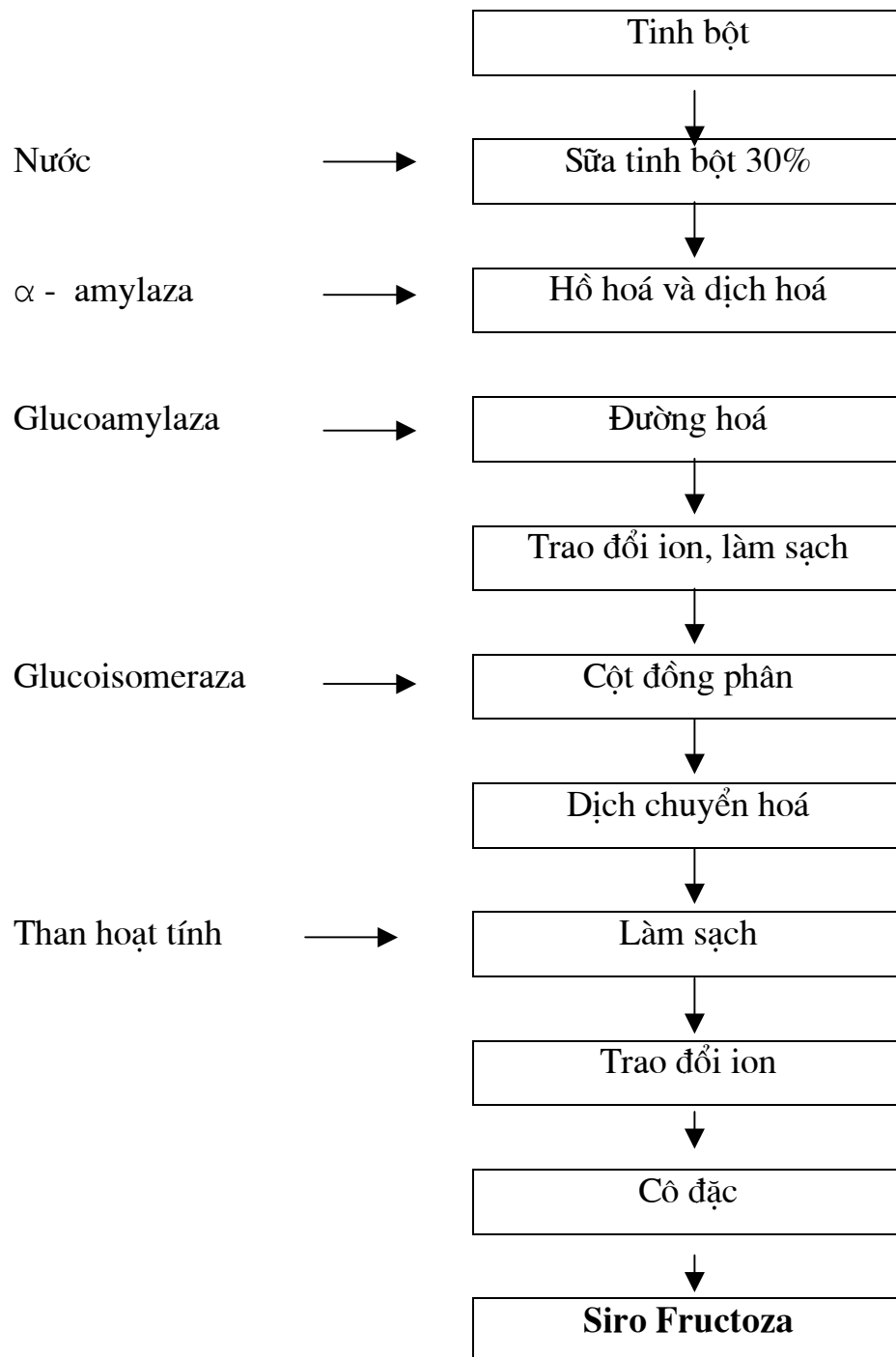
2.4.3 Một số ứng dụng của fructoza

Fructoza là sản phẩm được ứng dụng rộng rãi trong rất nhiều ngành, đặc biệt là công nghiệp thực phẩm. Fructoza được sử dụng trong công nghệ nước giải khát như nguồn chất để tăng độ ngọt, vị ngon của đồ uống. Dùng siro fructoza cho sản xuất nước giải khát pesi, cocacola và một số đồ uống khác. Mỹ sử dụng siro fructoza vào sản xuất nước giải khát Cocacola và pesi trên quy mô lớn, sản phẩm của hãng có mặt trên khắp các nước. Ngoài ra siro fructoza còn được sử dụng trong công nghệ đồ hộp, công nghệ chế biến kẹo, kem, sữa...

Siro fructoza là đường đơn, cơ thể có thể hấp thụ một cách dễ dàng. Hơn nữa độ ngọt của siro fructoza cao, cho nên rất phù hợp đối với người già và trẻ em. Sử dụng siro fructoza để sản xuất những thức ăn cần ít năng lượng. Đặc biệt siro fructoza còn sử dụng làm mật ong nhân tạo.

Fructoza được phát hiện vào những năm 1960, siro với hàm lượng fructoza cao hay HFS cũng đang được phát triển. Ở Mỹ fructoza là chất ngọt chính được sử dụng, trung bình người dân Mỹ tiêu thụ hết 37 gam fructoza mỗi ngày và khoảng 8 % năng lượng tổng cộng, độ ngọt gần gấp đôi so với đường kính. Khối lượng đường fructoza tìm thấy trong tự nhiên như trong các loại rau, hoa quả chiếm 40- 60 %

2.6. Quy trình công nghệ sản xuất siro fructoza bằng phương pháp enzym



3. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

3.1 NGUYÊN LIỆU

- **Tinh bột sắn**
 - Cảm quan: Bột mịn , trắng
 - Hàm lượng tinh bột: 82%
 - Độ ẩm: 15%
- **Một số chế phẩm enzym**

alpha - amylaza:

Chế phẩm enzym *Termamyl 120L* do Hãng Novo - Đan Mạch sản xuất từ chủng *Bacillus licheniformis*. Termamyl 120L dạng lỏng, chịu được nhiệt độ cao. Termamyl hoạt động ở nhiệt độ 90-105⁰C và pH: 6,0 – 7,5

Glucoamylaza

Chế phẩm *AMG* do Hãng Novo - Đan Mạch sản xuất từ chủng *Aspergillus niger* bằng phương pháp chìm. AMG được sử dụng trong quá trình đường hoá, ở dạng dịch lỏng, màu nâu và có tỉ trọng xấp xỉ 1,2 gam/ml. AMG hoạt động tốt ở nhiệt độ 60⁰C và pH = 4,5

Glucoizomeraza

Chế phẩm *Sweetzyme T* do hãng Novo - Đan mạch sản xuất từ chủng *Streptomyces muricus*, được sử dụng trong quá trình đồng phân. SweetzymeT ở dạng cố định, enzym gắn vào một chất mang không tan nhờ liên kết hoá trị, lực hấp thụ. SweetzymeT có dạng hạt khô, hình trụ, màu nâu kích thước 0,3 - 1mm, tỉ trọng xấp xỉ 0.33 gam/ml. Điều kiện hoạt động thích hợp nhất của SweetzymeT ở nhiệt độ : 60⁰ C và pH: 7,5

3. 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.2.1. Xác định độ ẩm của tinh bột (phương pháp sấy khô)

Đối với các loại ngũ cốc, bột ngũ cốc, độ ẩm (còn gọi là thủy phần) là tiêu chuẩn chất lượng quan trọng nhất và được quan tâm trước hết. Độ

ẩm của ngũ cốc ảnh hưởng trực tiếp tới việc bảo quản, đến quá trình xay xát, đến tỷ lệ thu được.

Để xác định độ ẩm của ngũ cốc dùng phương pháp sấy khô nhanh trong phòng thí nghiệm.

Cơ sở của phương pháp:

Sấy khô là phương pháp xác định được độ ẩm tự do, và vẫn còn một lượng nước nhỏ nằm lại trong nguyên liệu. Cơ sở của phương pháp này là sấy khô bột trong tủ sấy ở 105°C trong thời gian 40 phút. Đối với bột quá ướt (độ ẩm >18%) thì xác định độ ẩm bằng cách sấy sơ bộ ở 105 °C trong thời gian 30 phút, rồi sau đó sấy ở 130°C

Dụng cụ và hóa chất:

Cân phân tích hoặc cân kỹ thuật.

Chén sấy ẩm (thuỷ tinh) hoặc hộp nhôm có chiều cao 2-3 cm, đường kính 4-5 cm, có nắp.

Tủ sấy điều chỉnh nhiệt độ 105 °C và 130 °C.

Nhiệt kế đo được đến 200 °C.

Bình làm khô có chất hút ẩm silicagel hoặc axit sunfuric ($d=1,84$) hoặc canxi clorua khan.

Phương pháp tiến hành:

Cân chính xác 5 gram nguyên liệu bột đã nghiền nhỏ (đã rây qua rây kim loại có kích thước 0,5-0,8 mm), cho vào chén sấy ẩm hoặc hộp nhôm (đã sấy ở 105 °C và biết trọng lượng). Đưa chén sấy chứa bột vào tủ sấy, sấy ở nhiệt độ 130 °C trong 40 phút. Lấy chén ra để nguội trong bình làm khô 15 phút rồi đem cân đến trọng lượng không đổi.

Độ ẩm là hiệu số giữa trọng lượng bột trước và sau khi sấy, biểu thị bằng %. Từ 2 lần xác định, lấy kết quả trung bình, đó là độ ẩm của bột. Sai số giữa 3 lần xác định

Tính kết quả:

Kết quả được tính khi sai số giữa 2 lần cân không quá 0,2%

$$W = \frac{a + b}{a + c} \times 100\%$$

Trong đó:

- a trọng lượng hộp nhôm + nguyên liệu trước khi sấy (gram)
- b Trọng lượng hộp nhôm + nguyên liệu sau khi sấy (gram)
- c Trọng lượng hộp nhôm + nguyên liệu trước khi sấy (gram)

3.2.2. Xác định độ nhớt bằng mao quản hoặc bằng máy Brookfield của Mỹ

Cơ sở phương pháp : Khi cho chất lỏng chảy qua mao quản, độ nhớt của nó tỉ lệ thuận với thời gian chảy (t) và khối lượng riêng (d) của hệ thức:

$$\eta = k \cdot d \cdot t$$

Trong đó:

k: Hằng số của nhớt kế

d: Khối lượng riêng của dịch mẫu

t: Thời gian chảy của dịch mẫu

$$d_0, t_0$$

$$\eta = \eta_0 \cdot \frac{d \cdot t}{d_0 \cdot t_0}$$

η_0 : Độ nhớt của nước cất ở nhiệt độ đo

d_0 : Khối lượng riêng của nước cất ở nhiệt độ đo

t_0 : Thời gian chảy của nước cất ở nhiệt độ đo

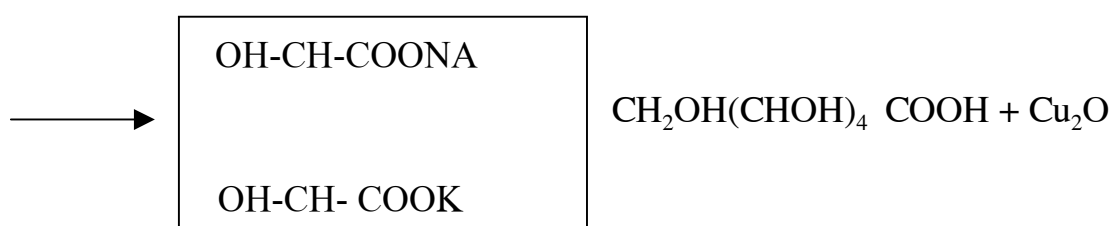
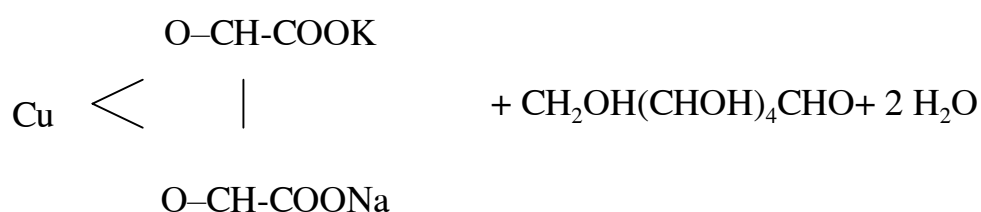
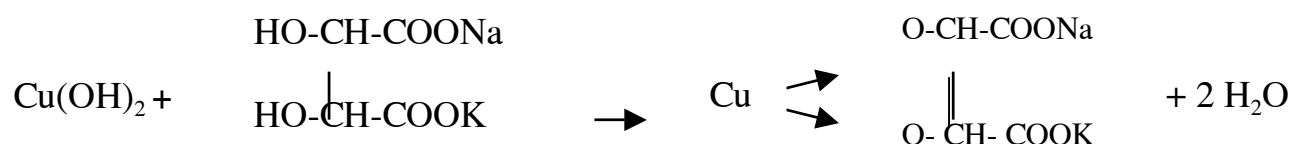
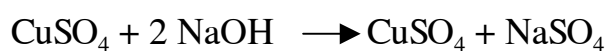
Nhớt kế này là một dụng cụ thủy tinh hình chữ U gồm hai nhánh: 1 và 2. Nhánh 2 là một mao quản có Φ xác định có khắc vạch định mức a và b giữa hai vạch là một bầu thể tích xác định. Khi tiến hành đo ta xác định thời gian cần thiết của chất lỏng chảy từ vạch a đến vạch b. Đo thời gian chảy của nước cất và các mẫu sau đó sau đó tính theo công thức. Đo mỗi mẫu 3 lần, lấy giá trị trung bình

Độ nhớt của tinh bột ban đầu: Xác định bằng máy đo độ nhớt Labor muszeripari muveek esztergom

3.2.3. Xác định đường khử bằng phương pháp Lane- Enon

Cơ sở của phương pháp:

Dùng hai dung dịch chính là CuSO_4 và $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ trong môi trường kiềm, tác dụng với dung dịch đường khử (có gốc CHO) tạo ra kết tủa Cu_2O màu đỏ



Khi lượng Fehling trong hỗn hợp phản ứng vừa hết thì lập tức đường sẽ khử và làm mất màu của methylene xanh, nhờ đó ta sẽ biết được điểm kết thúc của phản ứng.

Phương pháp tiến hành:

Pha loãng dịch đường đến nồng độ xấp xỉ 1%. Cho dịch đường đã chuẩn bị vào buret (burette) 50 ml.

Dùng pipet hút lấy 5 ml Fehling A và 5 ml Fehling B cho vào bình tam giác 250 ml rồi cộng thêm khoảng 10 ml nước cất và 3 giọt methylen xanh.

Lắc đều bình rồi đặt lên bếp điện hoặc đèn cồn và đun sao cho sau 1-2 phút thì sôi. Tiếp tục đun và dùng dịch đường để chuẩn cho tới khi mất màu của metylen xanh. Kết quả lần đầu thường không chính xác vì thế chỉ là số liệu khảo sát.

Dựa vào số ml dịch đường tiêu hao lần đầu ta làm lại thí nghiệm như sau. Sau khi cho hỗn hợp Fehling và nước cất vào bình tam giác, ta cho thêm một lượng dịch đường ít hơn 2-3 ml so với lượng tiêu hao, tiếp theo cũng làm tương tự như trên. Kết quả sẽ chính xác khi thời gian chuẩn kéo dài không quá 2-4 phút. Ghi số ml định giọt.

Tính kết quả:

Hàm lượng đường glucoza trong dịch pha loãng tính theo công thức sau:

$$DE = \frac{(a \times b)}{c} \times 100\%$$

Trong đó:

- a Hệ số điều chỉnh nồng độ Fehling
- b Số ml dịch đường tiêu hao
- c Số ml hỗn hợp Fehling A + B

3.2.4. Xác định nồng độ chất khô: Xác định nồng độ chất khô bằng máy chiết quang kế

3.2.5 Xác định đường fructoza: bằng phương pháp Cistein- cabazon và đo trên máy UV - 1601 PC

3.2.5. Xác định pH: Xác định pH bằng máy đo pH meter

3.2.6 Xác định độ trong , độ đục: bằng máy UV 1601PC của Nhật Bản

3.2.7. Sản phẩm được phân tích bằng máy sắc khí HPLC

3. 2.8. Phương pháp làm sạch dịch đường bằng than hoạt tính và trao đổi ion:

- Nhằm loại các tạp chất trong dịch đường và làm dịch đường trong, sạch hơn.
- Than hoạt tính có tác dụng tẩy màu cho dịch đường và hấp thụ tạp chất trong dung dịch đường. Lượng than sử dụng phụ thuộc vào chất lượng dịch đường, yêu cầu cần làm sạch và khả năng hấp thụ của than.
- Nhựa trao đổi ion: có tác dụng loại đi các cation và anion trong dịch đường.

Cách tiến hành:

- Tẩy màu dịch đường bằng than hoạt tính ở 80⁰C trong 30 phút. Sau đó, lọc than bằng máy lọc chân không.
- Sau khi tẩy màu bằng than hoạt tính, cho dịch đường chảy qua 2 cột trao đổi ion.

4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. NGHIÊN CỨU HOÀN THIỆN CÁC ĐIỀU KIỆN CÔNG NGHỆ CHO QUÁ TRÌNH CHUYỂN HOÁ TINH BỘT THÀNH GLUCOZA

Để có thể sử dụng si ro glucoza làm nguyên liệu cho sản xuất siro fructoza, si ro glucoza phải có độ tinh khiết cao (hàm lượng gluco phải đạt trên 99%) nhằm không làm ảnh hưởng tới hoạt lực của enzym cố định. Vì vậy cần tiến hành nghiên cứu xác định một số thông số kỹ thuật cho phù hợp với công nghệ như : Nồng độ sữa bột, tỷ lệ enzym dịch hoá và enzym đường hoá. Hiện tại trên thị trường có các chế phẩm enzym thuỷ phân tinh bột có hoạt lực cao là Termamyl và AMG của hãng Novo Đan mạch có thể dùng để nâng cao chất lượng siro glucoza. Các thí nghiệm xác định các điều kiện công nghệ được tiến hành với các enzym này.

1.1. Xác định nồng độ dịch tinh bột

Enzym hoạt động tốt khi nồng độ cơ chất thích hợp. Các thí nghiệm được tiến hành với các nồng độ sữa bột khác nhau. Kết quả chỉ ra trong bảng 1

Bảng 1.1: ảnh hưởng của nồng độ cơ chất đối với quá trình thuỷ phân tinh bột

STT	Nồng độ cơ chất (%)	DE dịch hoá	DE đường hoá
1	15	21,5	92,7
2	20	12,9	95,6
3	30	15,2	96,1
4	35	9,5	94,2

Như vậy nếu sử dụng enzym Termamyl 120L, nồng độ sữa bột có thể nâng lên đến 30% và DE đường hoá đạt được cao trên 95%.

1.2. Xác định lượng enzym dịch hoá thích hợp nhất

Lượng enzym Termamyl sử dụng cho quá trình dịch hoá được xác định ở điều kiện pH: 6, nhiệt độ : 95⁰C , thời gian dịch hoá 30 phút, nồng độ dịch bột là 30%

Bảng 1.2: Xác định tỷ lệ Termamyl 120L thích hợp nhất cho quá trình dịch hoá

STT	Tỷ lệ enzym (%)	DE dịch hoá	DE đường hoá
1	0,04	8,02	87,4
2	0,06	10,86	91,2
3	0,08	12,89	96,4
4	0,10	15,65	96,5
5	0,12	18,59	96,8

Enzim đường hoá là enzym glucoamylaza, khả năng hoạt động tốt nhất trên cơ chất là dextrin phân tử ngắn. Tốc độ thủy phân dextrin nhanh gấp 6 lần so với tốc độ thủy phân maltoza. Vì vậy, DE dịch hoá không nên cao quá ảnh hưởng tới thời gian đường hoá. Kết quả thu được cũng chỉ ra rằng với DE dịch hoá đạt 15,65 thì DE đường hoá là 96,5 và với DE dịch hoá đạt 18,59 thì DE đường hoá cũng chỉ đạt là 96,8, mà lượng enzym sử dụng lại nhiều hơn. Vì vậy, lượng enzym Termamyl dùng tốt nhất là 0,1% so với lượng tinh bột.

1.3. Xác định tỷ lệ enzym đường hoá thích hợp nhất cho quá trình đường hoá

AMG (amyloglucozidaza) là enzym được sử dụng cho quá trình đường hoá. Thí nghiệm được tiến hành xác định lượng AMG thích hợp, đủ để chuyển hoá tinh bột thành glucoza với hiệu suất cao nhất mà tiết kiệm được enzym.

Bảng 1.3: Xác định tỷ lệ AMG thích hợp nhất cho quá trình đường hoá

STT	Tỷ lệ enzym AMG (%)	DE đường hoá
1	0,06	73,12
2	0,08	86,91
3	0,10	95,72
4	0,12	96,28
5	0,15	96,59

Trong điều kiện đường hoá : pH= 4,5, DE dịch hoá =13, thời gian đường hoá= 48 giờ, nhiệt độ = 60 °C thì tỷ lệ enzym AMG thích hợp nhất là 0,1 %. Ở tỷ lệ này DE đường hoá đạt >95% sau 48 giờ thủy phân.

2. NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG ENZIM GLUCOISOMERAZA CỐ ĐỊNH ĐỂ CHUYỂN HOÁ GLUCOZA THÀNH FRUCTOZA.

Quá trình đồng phân sử dụng enzym cố định sweetzym T là chế phẩm glucoizomeraza do hãng Novo- Đan Mạch sản xuất.

Sự đồng phân hoá được tiến hành với 1 hệ thống liên tục trong lò phản ứng có tầng lớp enzym glucoisomeraza cố định. Do vậy trước khi tiến hành đồng phân hoá cần chuẩn bị dịch đường glucoza và chuẩn bị cột đồng phân.

Chuẩn bị dịch đường để chuyển hoá: Một cột phản ứng chứa enzym SweetzymT cố định được sử dụng trong thời gian dài nên một lượng lớn dịch đường chảy qua lớp enzym trong cột đồng phân theo thời gian tích tụ lại chất bẩn, mặc dù số lượng ít nhưng có thể đưa đến giảm tuổi thọ của enzym cố định. Một vài loại chất bẩn có thể gây mất hoạt tính của enzym hoặc có thể chất bẩn dính bám vào hạt enzym, dần dần che phủ bề mặt hoạt động của enzym, để đạt được tuổi thọ enzym tốt nhất và nồng độ fructoza cao thì yêu cầu dịch đường sạch có độ tinh khiết cao, giá trị DE đường hoá cao, nồng độ siro glucoza thích hợp.

Ion Mg^{++} , Ca^{++} trong dịch đường làm gia tăng hoạt tính và làm chất ổn định cho enzym. Hàm lượng Mg^{++} được bổ sung vào dịch đường còn tùy thuộc vào sự hiện diện của Ca^{++} . Tại một hàm lượng 1ppm Ca^{2+} hay thấp hơn trong dịch glucoza, gia tăng hàm lượng Mg^{2+} là 45ppm (tức là 0,6 g $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ / 1L dịch).

Ion Mg^{2+} trong dịch đường làm tăng hoạt tính và làm chất ổn định cho sweetzym T. Một hàm lượng Mg^{2+} cần bổ xung vào dịch đường còn tùy thuộc vào sự hiện diện của Ca^{2+} . Tại một hàm lượng 1ppm Ca^{2+} hay thấp hơn trong dung dịch glucoza, gia tăng hàm lượng Mg^{2+} là 45 ppm (tức là 0,6 g $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ / 1 lít dịch).

Dịch đường định mức đến một lít đun sôi trong 10 phút. Cân 0,6 gam $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ cho vào khuấy đều và tiếp tục đun sôi cách thuỷ khoảng 10-15 phút. Sau đó bắc ra để nguội và chỉnh pH bằng Na_2CO_3 hoặc $NaHCO_3$ tới pH = 7,3-7,5 (đo tại nhiệt độ phòng).

Enzim glucoisomeraza ở dạng cố định dạng hạt khô, hình trụ, màu nâu kích thước 0.3-1mm tỉ trọng 0,33 g/ml. Vì những tính chất trên của enzym nên trước khi đưa vào cột cần ngâm enzym trong dịch đường khoảng 20-30 phút với mục đích cho các hạt enzym trương nở đều. Lượng enzym thích hợp với chiều dài cột thiết kế cho phòng thí nghiệm.

Chuẩn bị cột đồng phân (trong phòng thí nghiệm): Sweetzym T được sử dụng trong quá trình đồng phân ở dạng cố định. Cho nên chuẩn bị cột đồng

phân là cần thiết. Hệ thống phản ứng đồng phân bao gồm cột đồng phân dài 40cm, đường kính 2,2cm đặt trong tủ ổn định nhiệt (mục đích để duy trì nhiệt độ trong suốt thời gian đồng phân). Phía trên cột đồng phân nối với bình chứa dịch đường bằng một đường ống dẫn. Phía dưới cũng dùng một ống dẫn nối cột đồng phân ra phía ngoài, thu nhận sản phẩm ở phía ngoài.

Như vậy dịch đường theo ống dẫn phía trên chảy vào cột đồng phân, phân tử đường glucoza đi qua tầng lớp enzym cố định, tiếp xúc với enzym và được chuyển hoá thành fructoza. Sau đó đi ra ngoài theo ống dẫn phía dưới.

Ảnh hưởng của các yếu tố đến hiệu suất chuyển hoá: Phản ứng chuyển hoá D- glucoza thành D- fructoza dưới tác dụng của sweetzym T phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: nồng độ enzym, bản chất và nồng độ cơ chất phản ứng (dịch đường glucoza), nhiệt độ, pH, các ion kim loại, tốc độ dòng chảy.

Ảnh hưởng tốc độ dòng chảy: Trong quá trình đồng phân dịch glucoza chảy qua cột đồng phân chứa enzym glucoisomerraza cố định chuyển hoá thành fructoza. Khi tốc độ dòng chảy nhanh dẫn tới hiệu suất chuyển hoá kém, các phân tử glucoza chưa kịp phản ứng. Khi tốc độ dòng chảy chậm thì hiệu suất chuyển hoá cao nhưng năng suất thấp. Vì vậy cần xác định tốc độ dòng chảy thích hợp sao cho dịch thu được có hàm lượng đường fructoza cao.

Bảng 2.3.1. Xác định tốc độ dòng chảy thích hợp

STT	Tốc độ dòng chảy (ml/phút)	Số đo trên máy Pek	Hàm lượng Fructoza (%)
1	5	0,482	45,9
2	8	0,466	44,4
3	12	0,452	43,1
4	15	0,431	41,7
5	18	0,398	37,9

6	20	0,374	36,1
7	25	0,324	30,5

Như vậy nếu duy trì tốc độ dòng chảy ở 8-15 ml/ phút là thích hợp nhất. Nếu tăng tốc độ dòng thì hàm lượng fructoza tạo thành giảm dần, chứng tỏ tốc độ dòng cao nhiều phân tử đường chảy qua tầng lớp enzym cố định và không được xúc tác phản ứng để chuyển hoá thành fructoza.

Tuy nhiên nếu duy trì tốc độ dòng quá thấp, hàm lượng fructoza thu được cao nhưng enzym sử dụng là enzym cố định nên nếu dịch đường glucoza lưu lại lâu có thể làm gia tăng tạo thành sản phẩm phụ ảnh hưởng đến tuổi thọ enzym. Mặt khác năng suất thu được không cao.

Ảnh hưởng của nồng độ dịch đường glucoza đến hiệu suất chuyển hoá

Để đạt được hiệu suất chuyển hoá cao cũng như vận tốc phản ứng lớn nhất cần xác định khoảng nồng độ cơ chất thích hợp nhất. Kết quả thí nghiệm được trình bày trong bảng dưới:

Quá trình đồng phân: Khối lượng enzym: 30 gam; DE đường hoá: > 98%; đường kính cột đồng phân: 2,5 cm; chiều dài cột: 40cm; nhiệt độ đồng phân: 60⁰c; pH = 7,5; tốc độ dòng chảy: 10 ml/ phút

Bảng 2.3.2. Ảnh hưởng của nồng độ cơ chất đến hiệu suất chuyển hoá

STT	Nồng độ dịch đường (°Bx)	Số đo trên máy P ek (D ⁰)	Nồng độ fructoza (%)
1	30	0,398	42,3
2	36	0,446	42,6
3	40	0,53	43,1
4	45	0,467	44,5
5	50	0,402	38,3
6	55	0,351	30,9

Từ kết quả cho thấy: Nồng độ đường glucoza ảnh hưởng mạnh đến hiệu suất tạo thành fructoza. Nồng độ đường tăng kéo theo vận tốc sự tạo thành fructoza cũng tăng, vận tốc phản ứng tỉ lệ thuận với nồng độ chất tham gia phản ứng. Tuy nhiên nếu nồng độ đường quá cao ($> 50^0\text{Bx}$) dẫn đến làm giảm khả năng khuếch tán của các phân tử đường glucoza tới trung tâm hoạt động của enzym, hơn nữa nồng độ cơ chất quá đặc làm enzym hoạt động khó khăn nên giảm hoạt tính của enzym, do đó nồng độ fructoza tạo thành sau quá trình chuyển hoá không cao.

Ngược lại nếu nồng độ đường quá loãng sẽ không đạt tỷ lệ tốt nhất giữa enzym và cơ chất. Mặt khác còn gia tăng sự nhiễm khuẩn ảnh hưởng đến pH đồng phân (làm giảm pH).

Qua nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ đường glucoza trong dung dịch đến sự tạo thành fructoza cho thấy: Để đạt được nồng độ fructoza (42-45%) và môi trường tốt cho enzym hoạt động thì nồng độ dịch glucoza 40-45Bx là phù hợp nhất.

2.3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ trong lò phản ứng tới hoạt lực của enzym

Hoạt lực của enzym được xác định bởi vận tốc của sự biến đổi glucoza thành fructoza trong thời gian nhất định. Độ ổn định phản ánh với khả năng của enzym để giữ hoạt tính trong thời gian sản xuất là kết quả giữa hiệu quả của hoạt tính và độ ổn định của enzym.

Nhiệt độ là yếu tố ảnh hưởng nhiều đến hoạt tính và độ ổn định cũng như tạo sản phẩm phụ.

Bảng 2.3.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ lên hoạt lực và độ ổn định của enzym

t^0 Ngày	10	20	30	40	50	60
50	39,2	39,0	39,3	39,1	39,3	39,2

60	42,4	42,6	42,0	41,5	42,0	40,0
80	50,0	47,3	41,0	38,1	41,0	36,2

Nhiệt độ đồng phân cao dẫn đến làm gia tăng vận tốc biến đổi glucoza thành fructoza. Đồng thời độ ổn định của enzym giảm vì nhiệt độ cao làm giảm tuổi thọ của enzym.

Nhiệt độ đồng phân thấp dẫn đến độ ổn định của enzym giữ được trong thời gian sản xuất, tuy nhiên nồng độ fructoza tạo được không cao đồng thời nhiệt độ thấp dễ bị nhiễm vi sinh vật.

Vì vậy nhiệt độ được duy trì ở 55- 60⁰C là thuận lợi nhất cho hoạt động của enzym.

2.3.4 Xác định kích thước cột đồng phân thích hợp

Trong quá trình chuyển hoá, chúng tôi cố định lượng enzym chuyển hoá, vì vậy cần chọn lựa cột đồng phân với đường kính, chiều dài cột sao cho phù hợp với lượng enzym cố định đó. Để đạt nồng độ fructoza cao chúng tôi tiến hành thí nghiệm trong cùng một điều kiện đồng phân nhưng đường kính cột thay đổi. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng sau

Bảng 2.3.4.Xác định đường kính cột đồng phân thích hợp.

STT	Đường kính cột (cm)	Số đo trên máy P ek (D ⁰)	Hàm lượng fructoza (%)
1	2,2	0,642	44,0
2	1,8	0,470	44,9
3	2,5	0,384	37,8

Điều kiện đồng phân: Nồng độ glucoza: 40%; pH = 7,5; nhiệt độ: 60⁰C; khối lượng enzym: 30 gam; tốc độ dòng chảy: 10 ml/ phút; chiều dài cột: 40cm.

Từ kết quả bảng trên cho thấy: Với cùng một khối lượng enzym 30 gam và chiều dài cột bằng nhau thì độ dài của tầng lớp enzym phụ thuộc vào đường kính cột. Đường kính cột càng lớn thì chiều dài tầng lớp enzym cột càng mỏng. Ngược lại đường kính cột càng nhỏ thì chiều dài tầng lớp enzym càng dày.

Dịch glucoza chảy qua tầng lớp enzym dày thì xác suất các phân tử glucoza được chuyển hoá nhiều hơn là tầng lớp enzym mỏng.

Như vậy với đường kính cột nhỏ, thì glucoza chảy qua tầng lớp enzym dày dẫn đến hiệu suất chuyển hoá thành fructoza cao. Ngược lại với đường kính cột to thì dịch glucoza chảy qua tầng lớp enzym thấp dẫn đến nồng độ fructoza tạo thành thấp. Tuy nhiên nếu đường kính cột quá nhỏ dễ gây khó khăn cho ta trong việc đưa enzym vào cột và lấy enzym ra khỏi cột.

Do vậy trong quá trình chuyển hoá trong phòng thí nghiệm chúng tôi sử dụng cột đồng phân đường kính 2,2cm, chiều dài cột 40cm.

Ảnh hưởng của nhiệt độ lên hoạt lực và độ ổn định của enzym trong quá trình chuyển hoá:

Nhiệt độ của đồng phân có ảnh hưởng mạnh mẽ đến hoạt tính và độ ổn định của enzym, cũng như sự tạo thành sản phẩm phụ. Kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của nhiệt độ lên hoạt lực và ổn định của enzym được trình bày trong bảng sau:

Bảng 2.3.5. ảnh hưởng của nhiệt độ lên hoạt lực và độ ổn định của enzym trong quá trình chuyển hoá

Ngày T ⁰	10	20	30	40	50	60
50	39,2	39,0	39,3	39,3	39,1	39,2
60	42,4	42,6	42,3	42,0	41,5	40,0
80	50,0	47,3	43,2	41,0	38,1	36,2

Nhiệt độ đồng phân càng cao đưa đến kết quả hoạt lực của enzym càng cao vì nhiệt độ cao làm gia tăng vận tốc biến đổi glucoza thành fructoza. Đồng thời độ ổn định của enzym giảm vì nhiệt độ cao làm giảm tuổi thọ của enzym.

Nhiệt độ đồng phân thấp dẫn đến kết quả độ ổn định của enzym giữ được trong thời gian sản xuất tuy nhiên nồng độ fructoza tạo được không cao, đồng thời ở nhiệt độ thấp dễ bị nhiễm khuẩn.

Vì vậy trong quá trình đồng phân duy trì ở nhiệt độ 55-60⁰C là thuận lợi nhất cho hoạt động của enzym. Nhiệt độ cao hơn hay thấp hơn nhiệt độ chuẩn đều làm ảnh hưởng đến sự biến đổi glucoza thành fructoza.

3. NGHIÊN CỨU CÁC PHƯƠNG PHÁP LÀM SẠCH DỊCH SIRO FRUCTOZA 42%.

Quá trình làm sạch dịch fructoza bằng than hoạt tính và trao đổi ion

Quá trình làm sạch dịch đường fructoza: Dịch đường thu hồi được sau quá trình chuyển hoá có màu vàng sẫm và có một số ion kim loại do đó cần làm sạch dịch. Làm sạch dịch đường fructoza (cũng giống như làm sạch dịch đường glucoza) bằng than hoạt tính và trao đổi ion.

Tẩy màu dung dịch bằng than hoạt tính: Dung dịch đường fructoza thu hồi được sau quá trình chuyển hoá đem cô đặc đến 50⁰Bx. Sau đó tẩy màu bằng than hoạt tính ở 80⁰C trong thời gian 30 phút. Rồi lọc bằng máy ép lọc chân không. Tỷ lệ than hoạt tính sử dụng tẩy màu được ghi lại trong bảng sau:

Bảng 6.2. Tỷ lệ than hoạt tính sử dụng để tẩy màu.

STT	Tỷ lệ than (%)	Màu dịch đường sau khi lọc	Độ trong của dịch sau khi lọc
1	0	Vàng sẫm	Trong
2	0,5	Vàng nhạt	Trong
3	0,7	Vàng nhạt đến trắng	Trong

Với tỷ lệ than hoạt tính là 0,7% và thời gian tẩy màu là 30 phút ở nhiệt độ 80°C, dịch đường sau khi lọc có màu vàng nhạt, trong. Sau đó chuyển tiếp sang trao đổi ion.

Làm sạch dịch bằng nhựa trao đổi ion: Khi làm sạch dịch bằng trao đổi ion chúng tôi chỉ sử dụng cột chứa cationit vì trong dịch chuyển hoá chứa một lượng rất ít anion.

Dịch đường ở 50⁰Bx cho chảy qua cột chứa nhựa cationit, đường kính cột 2 cm, chiều dài lớp nhựa trao đổi ion là 60 cm, khối lượng trao đổi là 20 gam. Ta khống chế dòng chảy sao cho khi ra khỏi cột không còn cation nữa. Siro fructoza thu được có màu vàng nhạt, trong, không mùi, độ ngọt cao.

4. NGHIÊN CỨU BẢO QUẢN SIRO FRUCTOZA 42%

Do tính chất của fructoza có khả năng hút ẩm lớn nên siro fructoza 42% cần được bảo quản trong các thùng có gioong kín, tránh sự xâm nhập của hơi nước. Để bảo quản siro fructoza trong thời gian dài ta tiến hành cô đặc một đến nồng độ 70⁰Bx, sau đó theo dõi thời gian bảo quản sản phẩm

Thí nghiệm được tiến hành bảo quản siro fructoza trong lọ thủy tinh có nắp đậy kín và can nhựa để ở nhiệt độ môi trường, sau đó theo dõi chất lượng dịch.

Bảo bì	Thời gian(Tháng)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Lọ thủy tinh trắng	*	*	*	*	*	*	*	*	*	+	+	+

Can nhựa màu	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	+
--------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

* tốt: dịch giữ được chất lượng ban đầu

+ dịch bắt đầu có thay đổi về chất lượng

Kết quả cho thấy đối với lọ thủy tinh trắng sau 9 tháng bảo quản màu sắc của dịch bắt đầu có sự biến đổi dịch trở nên sẫm màu hơn, tuy nhiên độ ngọt của dịch không bị giảm. Còn đối với can nhựa màu của dịch sau 11 tháng mới có hiện tượng sẫm màu. Vì vậy để bảo quản dịch tốt cần sử dụng bao bì có màu tối, nếu để lâu cần bổ sung chất ổn định màu.

5. XÂY DỰNG MÔ HÌNH DÂY CHUYỀN CÔNG NGHỆ VÀ THIẾT BỊ PHÙ HỢP ĐỂ SẢN XUẤT XIRO FRUCTOZA 42%.

Enzim sử dụng để chuyển hoá glucoza thành fructoza là glucoisomeraza ở dạng cố định, do đó quá trình chuyển hoá diễn ra bên trong cột đồng phân. Khi triển khai sản xuất thử nghiệm chúng tôi sử dụng chế phẩm Sweetzym T có bán trên thị trường, chế phẩm Sweetzym T giá thành cao nhưng có hoạt lực cao và tuổi thọ enzym dài nếu đảm bảo được các điều kiện kỹ thuật trong sản xuất[5].

Thiết kế cột đồng phân là một bước quan trọng, vì để chuyển hoá glucoza thành fructoza có hàm lượng 42 % đòi hỏi cột đồng phân phải đảm bảo các điều kiện :

- Van đầu vào và van đầu ra có thể điều chỉnh được tốc độ dòng chảy
- Giữ được nhiệt độ ổn định
- Chiều cao cột phù hợp với nhà xưởng sản xuất
- Đường kính cột thích hợp với công suất thiết kế của mỗi nhà máy
- Có kính quan sát mức dịch trên đỉnh cột

Tùy thuộc vào các nhà máy với công suất khác nhau có thể thiết kế cột đồng phân cho phù hợp. Chúng tôi đã nghiên cứu thiết kế cột đồng phân cho nhà máy có công suất thiết kế 2 tấn sản phẩm / ngày. Mô hình thiết kế này đã được áp dụng triển khai sản xuất thử tại Nhà máy đường Minh Dương - Hà tây.

- Kích thước cột đồng phân với công suất thiết kế 2 tấn sản phẩm / ngày:
 - + Đường kính cột: 0.3 m
 - + Chiều cao cột: 1.4 m
 - + Chiều cao lớp enzym: 1.0 m
- Số lượng cột: 2 chiếc
- Thùng chứa sản phẩm : 30m³
- Lượng enzym đưa vào cột: 22 kg

Qua triển khai sản xuất thử chúng tôi thấy mô hình thiết kế cột đồng phân trên là rất phù hợp. Nếu chiều cao cột quá cao dẫn đến dịch đường lưu lại lâu trong cột đồng phân ảnh hưởng đến màu sắc của sản phẩm, ngoài ra đường kính cột nhỏ rất khó khăn trong việc đưa enzym vào và tháo enzym ra khỏi cột. Ngược lại, nếu chiều dài cột quá thấp và đường kính cột lớn thì dịch đường glucoza chảy qua lớp enzym mỏng do vậy các phân tử glucoza không đủ thời gian để chuyển hoá thành fructoza.

XÁC ĐỊNH ĐIỀU KIỆN SẢN XUẤT THỰC NGHIỆM TẠI CÔNG TY MINH DƯƠNG, HOÀI ĐỨC, HÀ TÂY

Các điều kiện kỹ thuật cho quá trình chuyển hoá glucoza thành fructoza: Để chuyển hoá từ glucoza thành fructoza đạt kết quả tốt đòi hỏi các điều kiện kỹ thuật của quá trình chuyển hoá phải hết sức nghiêm ngặt như độ tinh khiết của đường glucoza cao, độ sạch của dịch đường , pH đầu vào , nhiệt độ đồng phân ... Vì vậy triển khai sản xuất siro fructoza trên quy mô công nghiệp cần xác định các điều kiện kỹ thuật cho quá trình chuyển hoá glucoza thành fructoza. Qua xác định các điều kiện kỹ thuật trong phòng thí nghiệm chúng tôi rút ra kết quả sau:

Rút ra các điều kiện kỹ thuật của quá trình chuyển hoá glucoza thành fructoza

- Đường khử (DE)	> 95%
- pH đầu vào	7 - 8

- pH đầu ra	6,5- 7,5
- Nhiệt độ trong cột phản ứng	55- 65 ⁰ C (nhiệt độ tối ưu 60 ⁰ C)
- Nồng độ dịch đường glucoza	35-55% (tối ưu : 40%)

Nghiên cứu xác định tốc độ dòng chảy thích hợp trong quá trình

chuyển hoá: Tốc độ dòng chảy có ảnh hưởng lớn đến hàm lượng fructoza tạo thành.

Khi tốc độ dòng chảy nhanh dẫn đến hiệu suất chuyển hoá kém. Khi tốc độ dòng chảy chậm thì hiệu suất chuyển hoá cao nhưng năng suất thấp. Vì vậy chúng tôi nghiên cứu điều chỉnh tốc độ dòng chảy thích hợp để có thể thu được hàm lượng fructoza 42%.

Qua sản xuất thử nghiệm chúng tôi áp dụng cột đồng phân mà đã được thiết kế trên thu được kết quả trình bày trong bảng 5.

Bảng 5.2: Xác định tốc độ dòng chảy thích hợp trong quá trình chuyển hoá glucoza thành fructoza

STT	Tốc độ dòng chảy (m ³ / giờ)	Hàm lượng fructoza (%)
1	0,3	45,2
2	0,6	43,5
3	0,1	42,0
4	1,5	33,6

Kết quả bảng trên cho thấy : Với mô hình cột đồng phân của đề tài thiết kế, nếu điều chỉnh tốc độ dòng chảy nhỏ hơn 0,1 m³/ giờ thì hiệu suất chuyển hoá cao nhưng tạo sản phẩm phụ ảnh hưởng đến hoạt lực của enzym và năng suất chuyển hoá thấp, do đó tính giá thành cho 1 kg sản phẩm tăng, ngoài ra khi dòng chảy với tốc độ thấp còn làm ứ chế hoạt động của enzym. Ngược lại nếu tốc độ dòng chảy nhanh > 1,5m³/ giờ thời gian tiếp xúc giữa enzym và cơ chất rút ngắn, nhiều phân tử đường glucoza chảy qua lớn enzym chưa kịp phản ứng với enzym để tạo thành fructoza, vì thế hiệu suất chuyển hoá thấp.

Vậy tốc độ dòng chảy có thể duy trì trung bình khoảng $0,1 \text{ m}^3/\text{giờ}$ đối với mô hình cột đồng phân công suất 2 tấn sản phẩm / ngày trên là thích hợp lý.

Thiết kế thêm một số mô hình cột đồng phân quy mô công nghiệp: Qua sản xuất thử nghiệm trên quy mô công nghiệp, chúng tôi đã nghiên cứu tính toán thiết kế thêm một số mô hình cột đồng phân thích hợp có thể áp dụng với các nhà máy với công suất thiết kế khác nhau. Dưới đây là mô hình thiết kế cột đồng phân

Bảng 5.3: Mô hình cột đồng phân với các công suất thiết kế khác nhau

STT	Công suất thiết kế của nhà máy	Số lượng cột	Kích thước cột đồng phân	Tốc độ dòng chảy
1	3 tấn sản phẩm/ ngày	2	- Đường kính cột: (D) 0.3 m - Chiều cao cột: (H): 1.2 m - Chiều cao lớp enzym: 0.9-1.0 m - Diện tích cột: 0.07 m²	Trung bình cho mỗi cột : 0.1 m ³ / giờ
2	1 tấn sản phẩm / ngày	2	- Đường kính cột: (D) 0.2 m - Chiều cao cột: (H): 1.0 m - Chiều cao lớp enzym: 0.7 m - Diện tích cột: 0.03 m²	Trung bình cho mỗi cột : 0.05 m ³ / giờ
3	2 tấn sản phẩm / ngày	4	- Đường kính cột: (D) 0.2 m - Chiều cao cột: (H): 1.0 m - Chiều cao lớp enzym: 0.7 m - Diện tích cột: 0.03 m²	Trung bình cho mỗi cột : 0.05 m ³ / giờ

6. ỨNG DỤNG SIRO FRUCTOZA 42 % TRONG MỘT SỐ SẢN PHẨM.

6.1. Ứng dụng siro Fructoza vào sản xuất nhân kẹo

Siro Fructoza 42% có độ ngọt tương đương với đường kính đã được ứng dụng để thay thế lượng đường kính trong sản xuất nhân kẹo cho công ty bánh kẹo Thăng long:

- Nhân dâu 1500 kg
- Nhân dứa 500kg

Sản phẩm kẹo sản xuất ra có vị ngọt dịu, mát gây cảm giác hương thơm tự nhiên hơn.

6.2. Ứng dụng siro fructoza vào sản xuất mật ong nhân tạo: Siro

fructoza được bổ sung thêm một số thành phần của mật ong như phấn hoa, vitamin, khoáng chất Để tạo hương mật ong chúng tôi đã tiến hành bổ sung một phần mật ong nhân. Kết quả thu được như sau:

Bảng 7.2 Xác định tỷ lệ mật ong thích hợp cho việc tạo hương

Tỷ lệ thay thế(%)	Cảm quan
5	Hương không rõ ràng
10	Có hương mật ong nhãn
15	Mùi hương rất rõ, khó phân biệt với mật ong thật

Kết quả thu được mở ra một hướng ứng dụng mới, trong chế biến thực phẩm những sản phẩm sử dụng mật ong, đặc biệt là trong sản xuất nhân kẹo mật ong với giá thành thấp.

7. ƯỚC TÍNH GIÁ THÀNH SẢN PHẨM

(Ước tính giá thành cho 1.000 sản phẩm/ ngày)

STT	Nguyên liệu	Đơn vị tính	Đơn giá (đồng)	Lượng dùng	Thành tiền (đồng)
1	Tinh bột	kg	3.500	1200	3850.000
2	Enzim TER	kg	110.000	0,86	89.700
3	Enzim AMG	kg	115.000	1	115.000
4	Enzim SweetzimT				100.000
5	Nước	M ³	6.500	60	390.000
6	Điện	KW	810	800	648.000
7	Nhân công	Người /ngày	25.000	20	500.000
8	Khấu hao thiết bị				200.000
	Tổng cộng				5.839.700

Vậy ước tính giá thành 1 kg siro fructoza 42% nồng độ 70Bx (độ ngọt của sản phẩm tương đương với độ ngọt của đường kính) là 5800 đồng. Trong nhiều sản phẩm thực phẩm đặc biệt là đồ uống có thể sử dụng siro fructoza 42% để thay thế đường kính mà giá thành sản phẩm không thay đổi.

8. CHẤT LƯỢNG SẢN PHẨM

- Dung dịch dạng dịch lỏng, có màu vàng sáng, trong, vị ngọt dịu , không mùi
- Nồng độ chất khô : 70- 72 Bx
- Hàm lượng fructoza : 40- 42%
- Hàm lượng glucoza : 55- 54%
- Độ tro : 0.3%

5. KẾT LUẬN

1. Đã xác định được các điều kiện kỹ thuật cần thiết để chuyển hoá tinh bột thành glucoza cho hiệu suất cao (95%):

- Nồng độ sữa bột thích hợp nhất cho quá trình thủy phân là 30%
- Giai đoạn dịch hoá: sử dụng Termamyl(α - amylaza) theo tỷ lệ: 0,08%
- Giai đoạn đường hoá: sử dụng AMG (glucozamyaza) với tỷ lệ: 0,1%

2- Đã xác định được các điều kiện công nghệ sử dụng enzym glucoizomeraza cố

** Điều kiện đồng hoá trong quy mô phòng thí nghiệm:*

- Nồng độ enzym sweetzym T: 30 gam/ cột có $\text{ĐK} = 2,2 \text{ cm}$; $l=40\text{cm}$.
- Nồng độ dịch đường glucoza: 40%
- Nhiệt độ chuyển hoá: 60°C , $\text{pH} = 7,5$
- Tốc độ phản ứng: 10 ml/ phút.

2. Đã xác định được phương pháp làm sạch dịch si ro fructoza :

- Dùng than hoạt tính theo tỷ lệ: 0,7%
- Dùng cột trao đổi ion : cation và anion

3. Đã xác định điều kiện bảo quản dịch siro fructoza : cô đặc đến nồng độ 70Bx sau đó bảo quản trong bao bì kín và sẫm màu kéo dài thời gian bảo quản trên 12 tháng.

4. Đã triển khai thiết kế cột đồng phân trên quy mô công nghiệp với công suất thiết kế 2 tấn sản phẩm / ngày:

+ Đường kính cột: 0.25 m; Chiều cao cột: 1.3 m; Chiều cao lớp enzym: 0.9 m

- Số lượng cột: 2 chiếc
- Thùng chứa sản phẩm : 30m^3

- Lượng enzym đưa vào cột: 22 kg
 - Tốc độ dòng chảy có thể duy trì trung bình khoảng 0,1 m³/ giờ đối
3. Đã ứng dụng si ro fructoza vào:
- Sản xuất 2 tấn nhân kẹo cứng ở công ty bánh kẹo Thăng long được người tiêu dùng ưa chuộng.
 - Sản xuất mật ong nhân tạo sử dụng si ro fructoza có hương, vị giống mật ong thật.
 - Đề tài đã nghiên cứu hoàn thiện được quy trình công nghệ sản xuất siro fructoza từ tinh bột trên quy mô công nghiệp. Triển khai sản xuất thử nghiệm tại Nhà máy đường Minh Dương - Hà tây, kết quả thu được sản phẩm siro fructoza 42% có độ ngọt thanh, vị mát, màu vàng sáng có thể thay thế đường kính trong các sản phẩm như nước giải khát, bánh kẹo các loại ...

Qua thực nghiệm chúng tôi đã lựa chọn được một số thiết bị phù hợp với yêu cầu kỹ thuật. Chúng tôi đã tận dụng các thiết bị có sẵn trong nhà máy và sửa chữa và làm mới lại một số thiết bị để phù hợp với dây chuyền sản xuất

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Jonh E. long and Cliton. 1986. *High fructose corn syrup*. *Biotechnology December*, Vol. 31, N0. 12, p. 860 - 873.
2. G. M. A. van Beynum and J. A. 1989. *Starch conversion technology*. P. 33-58
3. Kirk- otherman. *Encyclopedia of chemical Technology*, Vol. 4, p. 543-715.
4. Tổng cục thống kê . 2003. Niên giám thống kê 2002. Nhà xuất bản Hà Nội 2003.
5. .Novo enzym at work. 1989, p. 12-13
6. Novo Nordish Termamyl 120L. Product sheet, enzyme - business
7. Novo - Sweetzyme. *Useful operating hints*
8. Nguyen Thi Minh Hanh. 1996. Using enzims in production of corn syrup in Vientnam. *Regional worshop" Recent innovation in Bio-manufacturing"*. Department of Biotechnology Faculty of Science, Mahidol University, BangKok, ThaiLan. P 8-12
9. The Amylase research society Japan. 1995. Enzyme chemistry and moleccular biology of amylasae and related enzymes, p. 137-163
10. The Amylase research society Japan. 1988. amylasae and related enzymes