

THU NHẬN DỊCH CHIẾT GIÀU ANTHOCYANIN TỪ ĐÀI HOA BỤP GIẤM VÀ ỨNG DỤNG ĐỂ TẠO MÀU CHO KẸO DẼO

• Trần Ái Lan^(*), TS. Phan Ngọc Hòa^(**), Phạm Lê Diệu Hiền^(*)

Tóm tắt

Bài báo nghiên cứu phương pháp thu nhận dịch chiết từ đài hoa búp giấm để tạo màu tự nhiên cho kẹo dẻo. Quy trình trích ly bằng nước (có và không có sự hỗ trợ của enzyme Pectinex Ultra SP-L) được khảo sát với các thông số tỷ lệ búp giấm/nước, pH, nhiệt độ, thời gian, tỷ lệ enzyme. Dịch chiết thu được dùng để tạo màu cho kẹo dẻo. Tỷ lệ phối trộn dịch chiết vào kẹo được khảo sát và đánh giá cảm quan chất lượng của sản phẩm. Kết quả đạt được đối với phương pháp trích ly bằng enzyme Pectinex Ultra SP-L với hàm lượng 0,18% v/w, tỷ lệ búp giấm: nước là 1:30 (w/w), pH 3,4 trong 75 phút ở 54°C. Khi phối trộn theo tỷ lệ dịch chiết: đường là 30/45 ml/g để tạo màu cho kẹo thì sản phẩm cho màu sắc đạt mức yêu thích khá tốt.

Từ khóa: cây búp giấm, đài hoa búp giấm, enzyme Pectinex Ultra SP-L, kẹo dẻo, anthocyanin.

1. Mở đầu

Búp giấm hay Bụt giấm (*Hibiscus subdariffa* L.) là loài thuộc họ Cẩm quỳ (Malvaceae) có nguồn gốc ở Tây Phi. Cây dễ trồng, mọc được ở nhiều vùng thuộc châu Á như Malasia, Indonesia, Việt Nam. Bộ phận thường được sử dụng của cây búp giấm là đài hoa. Đài hoa búp giấm có tác dụng chống co thắt cơ trơn, làm hạ huyết áp và có tính kháng sinh, trị ho, viêm họng.

Các hợp chất có hoạt tính sinh học trong đài hoa búp giấm đã được xác định là các hợp chất anthocyanin như delphinidin-3-sambubioside, cyanidin-3-sambubioside, cyanidin-3-glucoside và delphinidin-3-glucoside [1]. Anthocyanin là chất màu thiên nhiên được sử dụng khá an toàn trong thực phẩm, tạo ra nhiều màu sắc hấp dẫn cho mỗi sản phẩm, ngoài ra anthocyanin còn là hợp chất có nhiều hoạt tính sinh học tốt cho sức khỏe con người và động vật.

Những đặc tính quý báu của anthocyanin đã mở ra hướng nghiên cứu ứng dụng hợp chất màu anthocyanin lấy từ thiên nhiên trong công nghệ chế biến thực phẩm. Năm 2014, Mgaya K. và cộng sự chứng minh sự kết hợp của dịch chiết búp giấm với nước trái cây giúp nâng cao hoạt tính chống oxi hóa cho sản phẩm [7]. Arueya G. L. và cộng sự (2014) đã nghiên cứu vi bao

anthocyanin bằng tinh bột bắp và ứng dụng vào sản xuất mứt jam đã giúp sản phẩm giữ được màu lâu hơn [2]. Ở Việt Nam, năm 2012, Nguyễn Thị Hiền và cộng sự đã nghiên cứu “Chiết tách anthocyanin từ đài hoa hibiscus sabdariffa - ứng dụng để sản xuất giấy chỉ thị phát hiện nhanh hàn the trong thực phẩm” [6]. Trong bài báo này, chúng tôi khảo sát một số quy trình thu nhận dịch chiết từ đài hoa búp giấm và thử nghiệm ứng dụng làm chất tạo màu để thay thế chất màu tổng hợp, tăng độ an toàn và giá trị dinh dưỡng cho kẹo dẻo.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

- Đài hoa búp giấm sấy khô được mua từ Công ty cổ phần Dược liệu Trung ương 2.

- Enzyme Pectinex Ultra SP-L (Novozymes, Đan Mạch) cung cấp bởi Công ty Trách nhiệm hữu hạn Nam Giang.

- Đường saccharose RE của Công ty cổ phần Đường Biên Hòa.

- Mật tinh bột (đường nha) được cung cấp bởi Công ty Bibica.

- Gelatin 250 độ Bloom (Pháp) được cung cấp bởi Công ty Ánh Sáng Châu Á (Asian Shine).

- Gum Arabic tên thương mại là InstantgumTM SC 10 do Công ty Ánh Sáng Châu Á cung cấp.

- Acid citric loại tinh khiết cho thực phẩm (Thái Lan) được mua tại Cửa hàng nguyên liệu bánh kẹo Hón Phong (1175 đường 3/2, quận 11, Thành phố Hồ Chí Minh).

^(*) Sinh viên, Khoa Kỹ thuật Hóa học, Trường Đại học Bách Khoa, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

^(**) Khoa Kỹ thuật Hóa học, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Thu nhận dịch từ đài hoa búp giấm

Đài hoa búp giấm khô đem nghiền đến kích cỡ $\leq 0,5$ mm rồi trích ly bằng nước. Điều kiện trích ly được khảo sát với hàm mục tiêu là hiệu suất thu hồi.

Các điều kiện cụ thể được khảo sát là: chế độ trích ly không có enzyme hỗ trợ và có enzyme hỗ trợ. Tỷ lệ búp giấm/nước thay đổi 1/10, 1/20, 1/30, 1/40, 1/50. Nhiệt độ trích ly là 30, 40, 50, 60°C. pH thay đổi với các giá trị 3,2; 3,6; 4; 4,4; 4,8. Hàm lượng enzyme 0; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2% v/w trong 30, 45, 60, 75, 90 phút. Tiến hành lọc thu dịch, xác định hàm lượng chất khô hoà tan, hàm lượng anthocyanin để chọn ra điều kiện trích ly cho hiệu suất thu hồi và hàm lượng anthocyanin cao nhất.

2.3. Sử dụng dịch chiết đài hoa búp giấm làm chất tạo màu cho kẹo dẻo

Dịch trích đựng trong lọ thủy tinh tối màu, đậy kín, giữ ở 4°C để tiến hành các thí nghiệm sau. Xác định công thức nấu kẹo bằng cách khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ dịch chiết đài hoa búp giấm theo phương pháp cho điểm thị hiếu của đánh giá cảm quan. Hội đồng đánh giá cảm quan gồm có 60 người tiến hành đánh giá cảm quan theo phép thử cho điểm thị hiếu theo thang điểm từ 1-9 (1: cực kì không thích, 9: cực kì yêu thích).

2.4. Phương pháp phân tích

- Tổng chất khô hòa tan [3].
- Hàm lượng anthocyanin theo phương pháp pH vi sai [4], [9].
- Phân tích độ ẩm theo TCVN 4069-85.
- Hiệu suất quá trình trích ly tính bằng công thức:

$$H = \frac{\text{Khối lượng chất khô hòa tan trong dịch lọc}}{\text{Khối lượng chất khô nguyên liệu ban đầu}} \cdot 100\%$$

- Đánh giá chất lượng cảm quan theo phương pháp cho điểm thị hiếu theo TCVN 3215-79.

- Các chỉ tiêu chất lượng của kẹo dẻo được xác định theo TCVN 5908-1995.

- Xác định hàm lượng đường khử theo TCVN 4075-85.

- Xác định hàm lượng đường tổng theo TCVN 4074-85.

- Xác định hàm lượng tro không tan trong acid HCl 10% theo TCVN 4071-85.

- Chỉ tiêu vi sinh theo QCVN 6-2:2010/BYT.

Số liệu thu được được xử lý bằng chương trình Statgraphics Plus, Microsoft office excel.

3. Kết quả và bàn luận

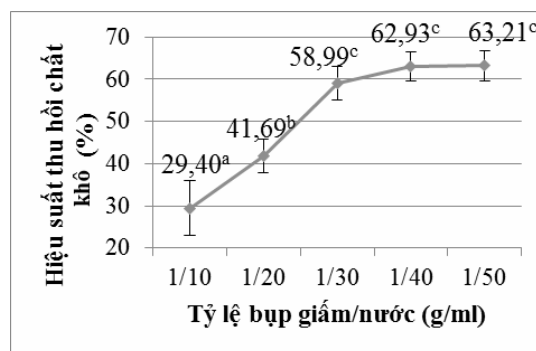
3.1. Kết quả khảo sát đài hoa búp giấm nguyên liệu

Bảng 1. Hàm lượng chất khô hòa tan và anthocyanin trong đài hoa búp giấm

pH	2,78
Hàm ẩm, %	16
Hàm lượng chất khô, %	84
Hàm lượng anthocyanin, %	0,764

3.2. Xác định tỷ lệ búp giấm với nước phù hợp cho quá trình trích ly

Đài hoa búp giấm sấy khô, sau khi nghiền nhỏ được trích ly với nước theo các tỷ lệ 1/10, 1/20, 1/30, 1/40, 1/50 ở 60°C trong 60 phút.



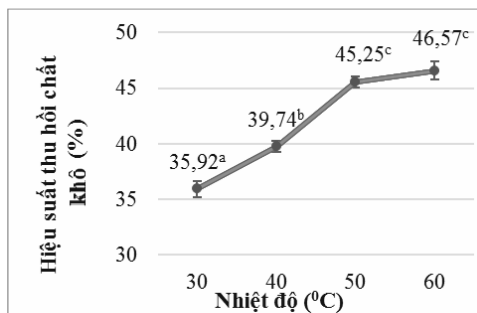
Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ đài hoa búp giấm/nước đến hiệu suất thu hồi chất khô

Dựa vào Hình 1, khi tăng tỷ lệ đài hoa búp giấm và nước, ta nhận thấy có sự tăng dần hiệu suất thu hồi chất khô. Khi trích ly, lượng dung môi thấp sẽ khiến tế bào hút ít nước, trương nở không triệt để, sự chênh lệch nồng độ giữa chất cần chiết và dung môi nước không cao, từ đó không trích hết lượng chất khô [8]. Cụ thể, khi tăng tỷ lệ búp giấm/nước từ 1/10 lên 1/30, hiệu suất tăng lần lượt từ 29,4% lên 58,99%. Tuy nhiên khi tiếp tục tăng tỷ lệ từ 1/40 lên 1/50 thì kết quả thu được không có sự khác biệt về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%. Do đó, tỷ lệ 1/30 là phù hợp nhất cho quá trình trích ly.

3.3. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi chất khô

3.3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Trích ly búp giấm ở các nhiệt độ 30, 40, 50 và 60°C trong thời gian 60 phút.

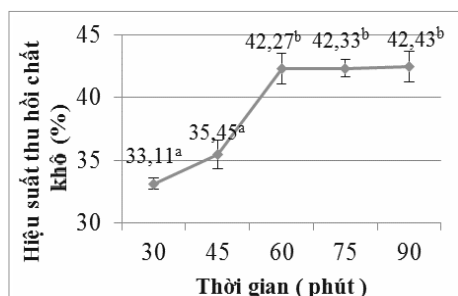


Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất thu hồi chất khô

Theo Hình 2, ta thấy hiệu suất tăng theo chiều tăng nhiệt độ trích ly. Cụ thể, khi tăng nhiệt độ từ 30°C lên 50°C, hiệu suất tăng từ 35,92% lên 45,25%. Tuy nhiên khi tăng nhiệt độ lên 60°C thì hiệu suất thu hồi không khác biệt đáng kể về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%. Do đó, chúng tôi lựa chọn nhiệt độ trích ly ở 50°C để tiến hành các thí nghiệm sau.

3.3.2. Ảnh hưởng của thời gian

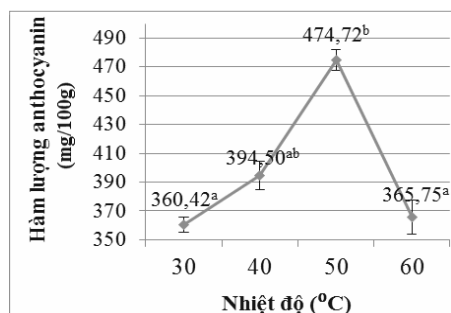
Trích ly búp giâm ở nhiệt độ 50°C trong khoảng thời gian 30, 40, 50, 60 phút.



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất thu hồi chất khô

Nhận thấy, khi tăng thời gian từ 45 phút lên 60 phút, hiệu suất tăng từ 35,45% lên 42,27%. Tuy nhiên khi tăng thời gian lên 75 phút và 90 phút thì hiệu suất thu hồi không khác biệt đáng kể về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%. Vậy thời gian trích ly phù hợp cho thí nghiệm này là 60 phút.

3.3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên anthocyanin



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng anthocyanin

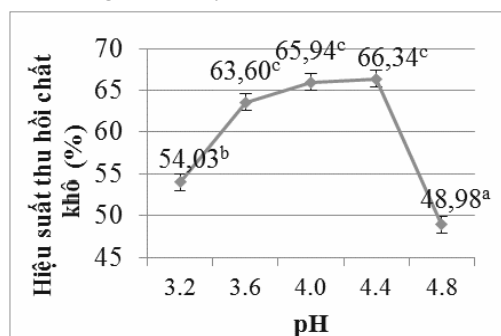
Theo Hình 4, khi nhiệt độ tăng từ 30°C lên 50°C thì lượng anthocyanin tăng đáng kể từ 360,42 mg/100 g lên đến 474,72 mg/100 g. Nhưng khi nhiệt độ tăng đến 60°C thì hàm lượng anthocyanin giảm mạnh chỉ còn 365,75 mg/100 g. Điều này có thể giải thích là khi gia nhiệt ở nhiệt độ cao và lâu dài thì anthocyanin có thể bị phá hủy hay mất màu [10].

Tóm lại, nhiệt độ và thời gian càng tăng thì hiệu suất thu hồi chất khô càng tăng, nhưng khi tăng thời gian trích ly và nhiệt độ trích ly vượt quá một ngưỡng nhất định thì hàm lượng anthocyanin trong dịch chiết lại giảm. Vì vậy, chọn trích ly ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 60 phút là phù hợp.

3.4. Khảo sát ảnh hưởng của enzyme Pectinex Ultra SP-L đến hiệu suất thu hồi chất khô

3.4.1. Ảnh hưởng của pH

Thí nghiệm được thực hiện ở các mức pH khác nhau 3,2; 3,6; 4; 4,4; 4,8 ở 50°C trong 60 phút với nồng độ enzyme 0,15% v/w.

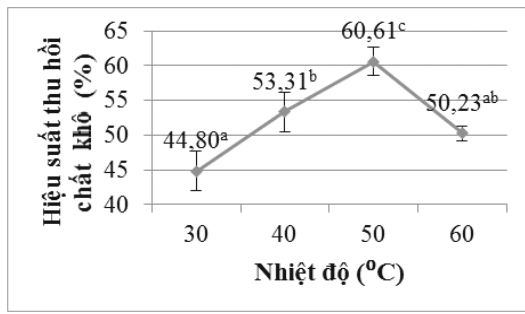


Hình 5. Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất thu hồi chất khô

Kết quả thực nghiệm theo Hình 5 cho thấy rằng khi trích ly ở pH 3,2 thì hiệu suất trích ly chỉ đạt 54,03%, khi tăng pH lên lần lượt từ 3,6 lên 4,4 thì hiệu suất tăng rõ rệt theo thứ tự 63,6%, 65,94% và 66,34% tương ứng. Tuy nhiên, khi tăng pH đến 4,8, hiệu suất trích ly giảm mạnh. Điều này có thể là do đến một ngưỡng pH nhất định, cấu trúc protein của enzyme bị biến tính bất thuận nghịch, làm enzyme giảm hoặc mất hoạt tính [10]. Chọn giá trị pH 3,6 để tiếp tục tiến hành các thí nghiệm sau.

3.4.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Trích ly búp giâm ở các nhiệt độ 30, 40, 50 và 60°C trong thời gian 60 phút với nồng độ enzyme 0,15% v/w.

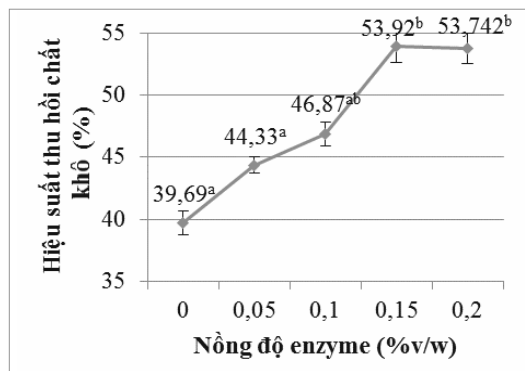


Hình 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất thu hồi chất khô

Theo Hình 6 ta thấy khi tăng nhiệt độ từ 30°C lên 50°C, hiệu suất tăng từ 44,80% lên 60,61%. Tuy nhiên khi tăng nhiệt độ lên 60°C vượt qua khoảng nhiệt độ tối thích của enzyme thì hiệu suất giảm xuống 50,23% do enzyme bị vô hoạt bất thuận nghịch. Lựa chọn nhiệt độ trích ly ở 50°C để thu được hiệu suất cao nhất.

3.4.3. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme

Thí nghiệm được thực hiện với các nồng độ enzyme (% v/w) 0; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 trong 60 phút.



Hình 7. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến hiệu suất thu hồi chất khô

Thực nghiệm cho thấy nồng độ enzyme càng tăng thì hiệu suất càng tăng do enzyme Pectinex Ultra SP-L xúc tác phản ứng thủy phân các protopectin không tan thành pectin tan, góp phần phá vỡ thành tế bào giúp dịch bào thoát ra nâng cao hiệu suất phản ứng [10]. Hiệu suất cao nhất là 53,92% ở nồng độ 0,15% v/w. Tuy nhiên tiếp tục tăng nồng độ enzyme lên 0,2% v/w thì hiệu suất thu được không có sự khác biệt so với mức 0,15% v/w. Nồng độ enzyme phù hợp cho quá trình trích ly là 0,15% v/w.

Tóm lại, dựa vào những kết quả thu được từ các thí nghiệm trên để đem lại điều kiện tốt nhất cho việc trích ly dài hoa búp giấm có thể chọn pH 3,6; nhiệt độ 50°C, nồng độ enzyme tính theo chất khô là 0,15% v/w và thời gian trích ly là 60 phút.

3.5. Tối ưu hóa các điều kiện trích ly búp giấm bằng enzyme Pectinex Ultra SP-L

Bố trí thí nghiệm tối ưu hóa trích ly dịch búp giấm được thực hiện theo phương pháp bề mặt đáp ứng bằng phần mềm Modde 5 với 4 nhân tố ở 5 mức độ. Thí nghiệm được thực hiện với 31 đơn vị với 7 đơn vị thí nghiệm trung tâm [5].

Bảng 2. Các nhân tố và mức độ khảo sát trong thí nghiệm tối ưu điều kiện trích ly búp giấm

Ký hiệu	Nhân tố	Đơn vị	Mức độ				
			-2	-1	0	1	2
Z ₁	pH	-	2,8	3,2	3,6	4	4,4
Z ₂	Nhiệt độ	°C	30	40	50	60	70
Z ₃	Nồng độ enzyme	%v/w	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25
Z ₄	Thời gian	phút	30	45	60	75	90

Ta có phương trình hồi quy thể hiện ảnh hưởng của các yếu tố đến hiệu suất như sau:

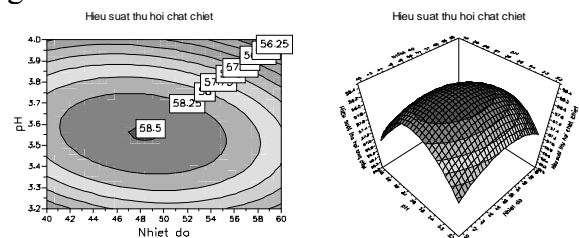
$$Y = 58,4604 - 0,2863x_1 - 0,2011x_2 + 0,1185x_3 - 0,1806x_1x_2 + 0,2231x_3x_4 - 0,6541x_1^2 - 0,4192x_2^2 - 0,1970x_3^2 (*)$$

Trong đó: $x_1 = (Z_1 - 3,6) / 0,4$
 $x_2 = (Z_2 - 50) / 10$
 $x_3 = (Z_3 - 0,15) / 0,05$
 $x_4 = (Z_4 - 60) / 15$

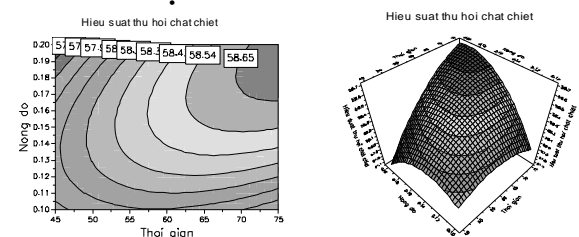
Thế các giá trị x_1, x_2, x_3, x_4 vào phương trình (*), ta được phương trình theo biến thực như sau:

$$Y = -8,4105 + 30,9777Z_1 + 0,5617Z_2 + 8,1679Z_3 - 0,0446Z_4 - 0,0452Z_1Z_2 - 0,2974Z_3Z_4 - 4,0883Z_1^2 - 0,0042Z_2^2 - 78,8100Z_3^2$$

Phương trình hồi quy được biểu diễn trong không gian ba chiều và hình chiếu lên bề mặt đáp ứng như sau:



Hình 8. Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ trích ly đến hiệu suất thu hồi chất khô



Hình 9. Ảnh hưởng của thời gian và nồng độ enzyme đến hiệu suất thu hồi chất khô

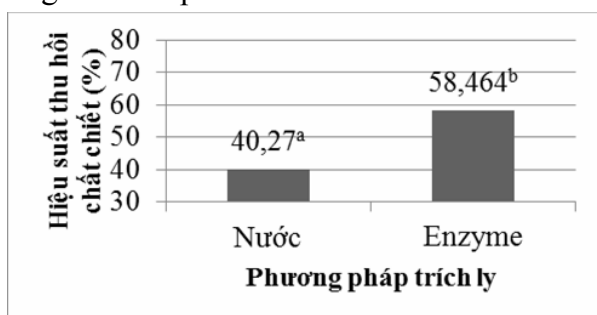
Kết quả tối ưu điều kiện trích ly dịch búp giấm xác định từ phần mềm: pH 3,43; nhiệt độ 53,7°C ở nồng độ enzyme 0,176% v/w trong 74,99 phút và hiệu suất thu hồi chất khô từ phương trình hồi quy là 58,567%.

Để kiểm chứng tính chính xác của giá trị nhận được từ phương trình hồi quy, chúng tôi tiến hành 3 thí nghiệm lặp lại độc lập ở điều kiện pH 3,4; nhiệt độ 54°C ở nồng độ enzyme 0,18% v/w trong 75 phút. Kết quả hiệu suất thu hồi chất khô từ thực nghiệm: 58,464% và hàm lượng anthocyanin: 597 mg/100 g. Chúng tôi nhận thấy không có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê giữa giá trị hiệu suất bằng thực nghiệm so với kết quả tính từ phương trình hồi quy. Điều này chứng tỏ phương trình hồi quy mà chúng tôi xây dựng được phù hợp với thực tế.

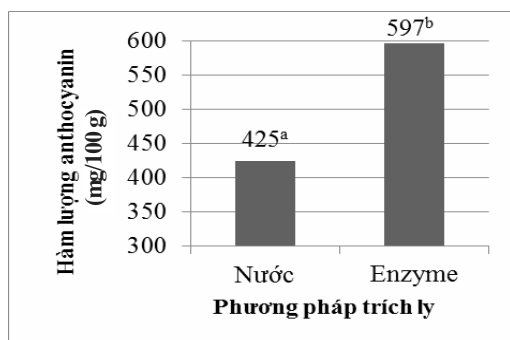
3.6. So sánh giữa các phương pháp trích ly

Phương pháp không hỗ trợ enzyme, tỷ lệ búp giấm/nước là 1/30, nhiệt độ 50°C trong thời gian là 60 phút.

Phương pháp có hỗ trợ enzyme Pectinex Ultra SP-L nồng độ 0,18% v/w, tỷ lệ búp giấm/nước là 1/30 ở pH 3,4, nhiệt độ 54°C trong thời gian là 75 phút.



Hình 10. Ảnh hưởng của phương pháp trích ly đến hiệu suất thu hồi chất chiết



Hình 11. Ảnh hưởng của phương pháp trích ly đến hàm lượng anthocyanin

Kết quả thu được từ Hình 10 và Hình 11 cho thấy khi sử dụng enzyme Pectinex SP-L ở

các điều kiện tối ưu đã chọn sẽ giúp thủy phân các protopectin, phá vỡ thành tế bào nâng cao hiệu suất thu hồi chất khô. Cụ thể hiệu suất khi dùng enzyme là 58,464% so với đối chứng (không sử dụng enzyme) 40,27% tăng lên 18,19%; hàm lượng anthocyanin khi dùng enzyme là 597 mg/100 g so với đối chứng (không sử dụng enzyme) 425 mg/100 g tăng lên 40,47%. Qua đó, có thể kết luận rằng phương pháp trích ly có sử dụng enzyme Pectinex Ultra SP-L cho hiệu quả thu hồi anthocyanin cao hơn phương pháp chỉ trích ly bằng nước. So sánh với các tác giả khác, hiệu suất trích ly khi sử dụng enzyme Pectinex Ultra SP-L cao hơn kết quả của tác giả Huỳnh Thị Kim Cúc (2007) (335 mg/100 g) khi trích ly bằng dung môi etanol/nước = 1/1 có 1% HCl [4], nhưng thấp hơn kết quả của tác giả Phạm Thị Thanh Nhân (2011) (1490 mg/100 g) khi trích bằng dung môi acetone [9].

3.7. Khảo sát công thức phối chế kẹo

Công thức phối chế ban đầu để tạo mẫu kẹo được trình bày trong Bảng 3. Với công thức này, kẹo dẻo có độ dai, dẻo, đàn hồi, vị chua ngọt hài hòa, do ảnh hưởng của acid citric nên pH của kẹo là 3,45. Để tạo màu cho kẹo, một phần nước trong công thức này được thay bằng lượng dịch chiết búp giấm tương ứng.

Bảng 3. Công thức phối chế ban đầu

Thành phần	Đường saccharose (g)	Đường nha (g)	Nước (ml)	Gelatin (g)	Gum Arabic (g)	Acid citric (g)
Hàm lượng	45	45	45	10	8	1,5

3.7.1. Khảo sát tỷ lệ dịch chiết bổ sung

Lượng đường, đường nha, gelatin, acid citric sử dụng theo Bảng 3. Thí nghiệm thực hiện với các lượng dịch chiết 20 - 35 ml, hàm mục tiêu là kết quả đánh giá cảm quan màu sắc.

Bảng 4. Kết quả đánh giá cảm quan kẹo theo màu sắc bằng phương pháp cho điểm thị hiếu

Dịch chiết (ml)	20	25	30	35
Điểm trung bình	5 ^{ab}	6 ^b	7,67 ^c	7,33 ^c

Theo kết quả cho điểm các chỉ tiêu cảm quan, chúng tôi nhận thấy: ứng với những thông số nấu kẹo là như nhau, màu của kẹo thành phẩm đậm dần theo sự tăng dần tỷ lệ sử dụng dịch chiết. Khi

lượng dịch chiết búp giấm ít, màu sắc kẹo nhạt, ngược lại, lượng dịch chiết quá nhiều dẫn đến tối màu, sản phẩm giảm giá trị cảm quan.

Theo Bảng 4 chứng tỏ sự khác biệt là có ý nghĩa ở độ chính xác 95% ($P < 0.05$) về mức độ ưa thích màu sắc ứng với từng lượng dịch chiết bổ sung. Từ đó, ta thấy mẫu được bổ sung 30 ml dịch chiết là phù hợp cho kẹo để có màu sắc đẹp. Vậy, chọn tỷ lệ phối trộn của dịch chiết là 30 ml.

3.7.2. Công thức phối chế kẹo thành phẩm và quy trình sản xuất

Bảng 5. Công thức phối chế kẹo thành phẩm

Thành phần	Đường saccharose (g)	Đường nha (g)	Nước (ml)	Dịch búp giấm (ml)	Gelatin (g)	Gum Arabic (g)	Acid citric (g)
Hàm lượng	45	45	15	30	10	8	1,5

Đường saccharose được hòa tan với nước rồi bổ sung đường nha nhằm chống tái kết tinh đường trong kẹo dẻo thành phẩm. Sau đó cô đặc dung dịch đường saccharose và đường nha đến hàm lượng chất khô khoảng 80 - 85%, nhiệt độ kết thúc quá trình nấu syrup là 120°C. Hỗn hợp gelatin và gum Arabic sẽ phối trộn với dịch chiết ở nhiệt độ 60°C trong 15 phút. Khi syrup kẹo được làm nguội về 80°C cho hỗn hợp gelatin/gum đã được hòa tan cùng các phụ gia khác vào phối trộn. Dịch kẹo được rót vào khuôn để tạo hình dạng và kích thước mong muốn cho kẹo dẻo thành phẩm (khuôn kẹo được khử trùng và giữ ở nhiệt độ 5°C trước khi được rót khuôn). Tiếp đó, kẹo được làm lạnh trong phòng lạnh ở nhiệt độ 20°C trong tối thiểu 20 phút (dùng màng bao thực phẩm bọc lại). Kẹo sau làm lạnh được chờ đông ở nhiệt độ 5°C trong 48 h. Sau đó, kẹo được tách ra khỏi khuôn rồi áo đường lên từng viên kẹo để làm khô hoàn toàn bề mặt kẹo, nhằm chống dính giữa các viên kẹo với nhau và nâng cao chất lượng cảm quan cho kẹo thành phẩm. Sản phẩm tạo thành có cấu trúc mềm, dai, dẻo, đàn hồi và vẫn giữ được màu đỏ của dịch chiết.

Bảng 6. Kết quả đánh giá cảm quan kẹo thành phẩm*

Chỉ tiêu	Cấu trúc	Màu	Mùi	Vị
Kẹo thành phẩm	6,73 ± 1,14 ^a	7,63 ± 0,93 ^b	6,7 ± 0,91 ^a	7,16 ± 1,2 ^{ab}

Ghi chú: *: kẹo thành phẩm sau khi làm lạnh 48 h được lấy ra khỏi khuôn cho vào các bao plastic có khóa kéo bảo quản ở nhiệt độ phòng để tiến hành đánh giá cảm quan.

3.8. Kết quả kiểm tra các chỉ tiêu chất lượng sản phẩm

Các chỉ tiêu chất lượng sản phẩm của kẹo dẻo thành phẩm được xác định theo TCVN 5908-1995.

Bảng 7. Chỉ tiêu hóa lý của kẹo thành phẩm*

Chỉ tiêu	Độ ẩm	Hàm lượng đường khử	Hàm lượng đường tổng	Hàm lượng tro không tan trong acid HCl 10%
Đơn vị	%	%	%	%
Theo TCVN 5908-1995	10-12	35-45	≥40	≤0,1
Kết quả	11,63 ± 0,075	35,308 ± 0,056	45,372 ± 0,007	0,0726 ± 0,00025

Bảng 8. Chỉ tiêu vi sinh của kẹo thành phẩm*

Tên vi sinh vật	Tổng số vi khuẩn hiếu khí	Tổng số nấm men	Nấm mốc sinh độc tố	E.Coli
Đơn vị	cfu/g	cfu/g	cfu/g	cfu/g
Giới hạn VSV theo TCVN 5908-1995	không lớn hơn 5.10 ³ cfu/g	không lớn hơn 10 ² cfu/g	không được có	không được có
Kết quả	7 x 10 ¹	3 x 10 ¹	không có	không có

Kẹo thành phẩm sau khi làm lạnh 48 h được lấy ra khỏi khuôn cho vào các bao plastic có khóa kéo, bảo quản ở nhiệt độ phòng 7 ngày, sau đó tiến hành kiểm tra các chỉ tiêu. So sánh với yêu cầu kỹ thuật của Tiêu chuẩn Việt Nam cho sản phẩm kẹo dẻo, kẹo thành phẩm đáp ứng tất cả các chỉ tiêu hóa lý và vi sinh. Ngoài ra, hàm lượng anthocyanin của kẹo thành phẩm là 4 mg/100 g.

4. Kết luận

Qua quá trình nghiên cứu, chúng tôi đưa ra phương pháp trích ly như sau: chọn phương pháp trích ly có hỗ trợ enzyme Pectinex Ultra SP-L với hàm lượng 0,18% v/w, tỷ lệ búp giấm/nước là 1/30 (w/w), pH 3,4 trong 75 phút ở 54°C. Với điều kiện này, hiệu suất thu hồi chất khô đạt

58,464% và dịch chiết có hàm lượng anthocyanin 597 mg/100 g.

Sản phẩm kẹo dẻo có bổ sung dịch chiết búp giấm có độ ẩm, hàm lượng đường khử, đường tổng, tro không tan trong acid HCl 10%, chỉ tiêu

vi sinh đều phù hợp với TCVN 5908-1995. Hàm lượng anthocyanin là 4 mg trong 100 g kẹo thành phẩm. Vậy, việc bổ sung dịch chiết đài hoa búp giấm vừa tăng giá trị cảm quan, vừa tăng giá trị dinh dưỡng cho kẹo.

Tài liệu tham khảo

- [1]. Azza A. Abou-Arab, Ferial M. Abu-Salem and Esmat A. Abou-Arab (2011), “Physico-chemical properties of natural pigments (anthocyanin) extracted from Roselle calyces (*Hibiscus subdariffa*)”, *Journal of American Science*, (7), p. 445-456.
- [2]. Arueya G. L., Akomolafe B. O (2014), “Stability Studies of Microencapsulated Anthocyanins of Roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L) In Native Starch and Its Potential Application in Jam Production”, *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, (8), p. 112-122.
- [3]. Bradley R. L., S. Suzanne Nielsen (2009), *Food Analysis*, Springer, New York.
- [4]. Huỳnh Thị Kim Cúc, Phạm Châu Huỳnh, Nguyễn Thị Lan, Trần Khôi Uyên (2004), “Xác định hàm lượng anthocyanin trong một số nguyên liệu rau quả bằng phương pháp pH vi sai”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, Đại học Đà Nẵng, 3 (7), tr. 47-54.
- [5]. Eriksson L. (2008), *Design of Experiments: Principles and Applications*, Umetrics Academy, Sweden.
- [6]. Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Thị Thanh Thủy, Nguyễn Thị Loan (2012), “Chiết tách anthocyanin từ đài hoa hibiscus sabdariffa - ứng dụng để sản xuất giấy chỉ thị phát hiện nhanh hàn the trong thực phẩm”, *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 10 (5), tr. 738-746.
- [7]. Mgaya B. K. , Remberg S, Chove B and W. T (2014), “Physio-chemical, mineral composition and antioxidant properties of roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) extract blended with tropical fruit juices”, *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, (14), p. 8963-8978.
- [8]. Tôn Nữ Minh Nguyệt và cộng sự (2009), *Công nghệ chế biến rau trái*, Tập 1, NXB Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- [9]. Phạm Thị Thanh Nhân, Nguyễn Hữu Cường, Lê Trần Bình (2011), “Tách chiết và phân tích hàm lượng anthocyanin từ các mẫu thực vật khác nhau”, *Tạp chí Sinh học*, 33 (4), tr. 79-85.
- [10]. Lê Ngọc Tú và các cộng sự (2000), *Giáo trình hóa sinh công nghiệp*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

EXTRACTION OF ANTHOCYANIN FROM ROSELLE (*HIBISCUS SABDARIFFA* L.) BY ENZYME PECTINASE AND UTILIZATION AS COLOURANTS FOR GUMMY CANDY

Summary

This article aims to study the extraction of Roselle calyces for making a natural colorant in gummy candy. The water extraction (with and without enzyme Pectinex Ultra SP-L) was conducted by five factors: roselle/water ratio; pH; temperature; time and enzyme dose. The obtained extraction is used for colorants in gummy candy. The extraction ratio placed in gummy candy was examined by physicochemical, biological and sensory properties. The extraction results obtained by enzyme *Pectinex Ultra SP-L* were 0,18%v/w; 1/30 (w/w) of Roselle/water ratio; pH 3.4 in 75 minutes at 54°C. With the extraction/sugar ratio of 30/45 ml/g, it made a good coloring product as expected.

Keywords: roselle, roselle calyx, enzyme Pectinase Ultra SP-L, gummy candy, anthocyanin.

Ngày nhận bài: 07/10/2015; Ngày nhận lại: 10/11/2015; Ngày duyệt đăng: 22/12/2015.