DOI: https://doi.org/10.62985/j.huit_ojs.vol26.no4.665

KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH XỬ LÝ NGUYÊN LIỆU ĐẬU ĐỎ ĐẾN KHẢ NĂNG SINH ENZYME PROTEASE CỦA CHẾ PHẨM NẤM MỐC *Aspergillus oryzae*

Phan Thị Hồng Liên*, Nguyễn Trọng Hiếu, Hoàng Xuân Thế

Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

*Email: *lienpth@huit.edu.vn*

Ngày nhận bài: 27/7/2024; Ngày nhận bài sửa: 23/10/2024; Ngày chấp nhận đăng: 08/11/2024

TÓM TẮT

Nghiên cứu này khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố như thành phần hoá học của các mẫu đậu đỏ, nhiệt độ và thời gian ngâm ảnh hưởng đến độ hấp thụ nước, nhiệt độ và thời gian hấp đậu đỏ ảnh hưởng đến chất lượng cảm quan và khả năng sinh enzyme protease của một số chế phẩm mốc tương thương mại khi nuôi cấy trên môi trường đậu đỏ để ứng dụng trong sản xuất sốt đậu đỏ. Kết quả nghiên cứu đã xác định hàm lượng protein của các mẫu đậu đỏ khô dao động từ 17,21 ± 0,48% đến 22,64 ± 0,40%, độ hấp thụ nước đạt 83,23% khi ngâm ở nhiệt độ 30 ℃ trong 8 giờ. Khi hấp đậu đỏ ở 110 ℃, chế phẩm nấm mốc từ chủng *Aspergillus oryzae* MD2 tạo ra hoạt độ protease trung bình là 248,71 ± 2,72 UI/g. Để đạt hiệu quả cao nhất trong quá trình sinh enzyme, thời gian hấp thích hợp cho đậu đỏ được xác định là 15 phút, khi đó hoạt độ protease đạt 344,14 ± 10,56 UI/g.

Từ khóa: Đậu đỏ, xử lý nguyên liệu, enzyme protease.

1. MỞ ĐẦU

Đậu đỏ có tên khoa học là *Vigna angularis*, là một loại hạt thuộc họ Fabaceae, nổi bật với màu đỏ sẫm và hương vị ngọt bùi đặc trưng. Đậu đỏ đã trở thành một phần nguyên liệu phổ biến trong nền ẩm thực châu Á như dùng làm nhân bánh mochi, các loại mứt ngọt, cháo, sữa đậu đỏ và kem [1]. Đậu đỏ không chỉ có hương vị thơm ngon, thanh nhã, dễ chịu mà còn có giá trị dinh dưỡng cao, là nguồn cung cấp protein thực vật, chất xơ hòa tan, vitamin và các khoáng chất thiết yếu như sắt, kali và magie. Với giá trị dinh dưỡng cao, đậu đỏ được xem là một nguyên liệu thực phẩm rất tốt cho sức khỏe, cung cấp năng lượng cho cơ thể, tăng cường sức đề kháng, giúp cải thiện hệ tiêu hóa, đồng thời đậu đỏ được xem là "đậu giảm cân" vì hàm lượng calo, chất béo thấp và protein dễ tiêu hóa [2]. Mặc dù đậu đỏ có giá trị dinh dưỡng cao, nhưng ở Việt Nam đậu đỏ vẫn chưa được khai thác hết tiềm năng và ứng dụng trong công nghệ thực phẩm. Các nghiên cứu về đậu đỏ trong ngành công nghệ thực phẩm còn hạn chế.

Một số nghiên cứu trước đây đã cung cấp cơ sở khoa học cho việc khai thác, sử dụng enzyme trong quá trình xử lý nguyên liệu thực phẩm. Vi Thị Hằng và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu 6 giống đậu tương gồm ĐT22, CCB, ĐTĐ, KW, CHB và DT84 với mục tiêu xác định hàm lượng protein, lipid tổng số và các chỉ số acid, iod của các giống đậu. Kết quả cho thấy hàm lượng protein dao động từ 29,36% đến 37,32% và lipid từ 19,8% đến 21,2% [3]. Xingfei Li và cộng sự tập trung vào việc nghiên cứu khả năng hấp thụ nước của đậu nành và kết quả cho thấy đậu nành đạt độ hấp thụ nước cao nhất khi ngâm ở 50 ℃ trong 3 giờ, đạt mức 130% [4]. Bên cạnh đó, Nguyễn Thị Ngọc Giang và cộng sự đã nghiên cứu điều kiện xử lý nấm bào ngư (*Pleurotus* spp.) để đánh giá khả năng sinh enzyme amylase và protease, kết quả cho thấy nhiệt độ hấp 90 ℃ là điều kiện lý tưởng giúp nấm mốc sinh enzyme protease cao nhất, đạt 13,25 đơn vị/g chất khô [5]. Phạm Thị Bình và cộng sự đã nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp protease của nấm mốc *Aspergillus oryzae* khi nuôi cấy trên vật liệu khô đậu tương. Số liệu nghiên cứu cho thấy khi bổ sung 90% khô đậu tương và 10% bột mì vào môi trường, cùng tỷ lệ mốc giống 1,0% so với khối lượng nguyên liệu, hoạt độ enzyme protease sinh ra đạt 67,01 ± 0,04 đơn vị hoạt độ protease/g [6].

Với các cơ sở khoa học đã đề ra ở trên, việc sử dụng chế phẩm nấm mốc *Aspergillus oryzae* trong chế biến thực phẩm, đặc biệt là lợi dụng enzyme protease sinh ra từ môi trường đậu đỏ để sản xuất sốt

đậu đỏ rất có tiềm năng. Nghiên cứu này đã thực hiện các khảo sát về các điều kiện xử lý đậu đỏ và đánh giá hoạt độ enzyme protease thu được nhằm ứng dụng trong quy trình sản xuất sốt đậu đỏ. Kết quả thu được sẽ đóng góp vào việc nâng cao giá trị sử dụng của đậu đỏ, thúc đẩy phát triển các sản phẩm thực phẩm mới, giàu dưỡng chất và có ích cho đời sống con người.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Các mẫu đậu đỏ khô được mua ở các công ty phân phối khác nhau tại Thành phố Hồ Chí Minh gồm 2 loại đậu đỏ hạt nhỏ và 2 loại đậu đỏ hạt to. Cụ thể, đậu đỏ Phú Minh Tâm (PMT) mua tại Công ty TNHH TMDV Phú Minh Tâm; đậu đỏ Xuân Hồng được mua tại Công ty TNHH Thương mại Xuân Hồng; đậu đỏ Bảo Minh được mua tại siêu thị GO.

Các chế phẩm mốc tương thương mại được mua trên thị trường ký hiệu: MD1, MD2, MD3 và MD4 được mua ở: Cơ sở Ngọc Trâm, số 103, Ngách 2, Ngõ Thái Thịnh 1, Đống Đa, Hà Nội, Công Ty TNHH CNSH Đức Bình tại 57, ngõ 64 Kim Giang, Thanh Xuân, Hà Nội, Công ty Cổ phần Vi sinh ứng dụng tại P111, D6 Trung Tự, Đống Đa, Hà Nội và Bột Hwanggukgyun, Hàn Quốc.

Bột mì MEIZAN (Công ty TNHH Xay Lúa Mì Việt Nam)

2.2. Khảo sát thành phần hoá học của các mẫu đậu đỏ

Các mẫu đậu đỏ khô mua trên thị trường được lưu trữ trong bao bì kín ở nhiệt độ môi trường 26 ℃. Mẫu hạt thí nghiệm phải đồng nhất, không bị hư hỏng. Mẫu được lấy ngẫu nhiên, dùng máy nghiền khô nghiền mịn thành dạng bột và được dùng để xác định độ ẩm [7], protein [8], gluxit [9] và tro [10].

2.3. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ngâm đến độ hấp thụ nước của đậu đỏ

Đậu đỏ trước khi ngâm được loại bỏ các tạp chất và các hạt đậu bị hư hỏng. Mẫu đậu khô (20 g) được ngâm trong 100 mL nước ở nhiệt độ 30, 40 và 50 ℃ trong thời gian 2, 4, 6, 8 và 10 giờ. Mẫu đậu đỏ ngâm được để ráo nước và xác định độ hấp thụ nước [4].

$$\text{Độ hấp thụ nước} = \frac{W_1 - W_0}{W_0} \times 100\ (\%)$$

Trong đó W_1 là khối lượng mẫu sau ngâm và W_0 là khối lượng mẫu trước ngâm.

2.4. Khảo sát ảnh hưởng nhiệt độ hấp đến chất lượng cảm quan và khả năng sinh enzyme protease của các chế phẩm nấm mốc

Mẫu đậu đỏ (25 g) được ngâm ở nhiệt độ và thời gian đã được xác định ở thí nghiệm 2.3 được hấp ở nhiệt độ 100, 110 và 121 ℃ trong thời gian 15 phút. Bột mì được gia nhiệt (rang) đến khi có màu vàng và được trộn vào đậu đỏ đã hấp chín với tỷ lệ 90% đậu đỏ và 10% bột mì [6], điều chỉnh độ ẩm 50% [11]. Các chủng nấm mốc thương mại được bổ sung theo mật độ 10^6 CFU/g và ủ ở nhiệt độ môi trường trong 72 giờ [12]. Sử dụng phương pháp Anson cải tiến để tính hoạt độ enzyme protease [13].

2.5. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian hấp đậu đỏ đến khả năng sinh enzyme protease của chủng nấm mốc

Hạt đậu đỏ (25 g) được cho ngập trong nước ở nhiệt độ, thời gian thí nghiệm 2.3 và nhiệt độ hấp ở thí nghiệm 2.4. Đậu được hấp ở các khoảng thời gian thử nghiệm trong 5, 10, 15 và 20 phút. Bột mì được gia nhiệt (rang) đến khi có màu vàng và được trộn đều vào đậu đỏ đã hấp với tỷ lệ 90% đậu đỏ và 10% bột mì [6], điều chỉnh độ ẩm 50% [11]. Chủng mốc tương thương mại được bổ sung 1,0% so với khối lượng nguyên liệu [6] và ủ ở nhiệt độ môi trường trong 72 giờ [12]. Sử dụng phương pháp Anson cải tiến để tính hoạt độ enzyme protease [13].

2.6. Phương pháp phân tích

2.6.1. Xác định độ ẩm theo TCVN 9706:2013 [7]

Cân 20 g mẫu đã nghiền. Lấy chính xác 5 g mẫu và sấy ở nhiệt độ 105 ± 2 ℃ trong tủ sấy 2 giờ, sau đó cho chén sấy có mẫu vào bình hút ẩm làm nguội và cân lại. Sấy mẫu thêm 30 phút, làm nguội và cân lại để kiểm tra cho đến khi khối lượng không đổi. Sử dụng công thức sau để tính độ ẩm:

$$\text{Độ ẩm} = (W_1 - W_2 / W_1) \times 100\% \qquad (1)$$

2.6.2. Định lượng protein tổng số bằng phương pháp Kjeldahl theo TCVN 8215:2015[8]

Mẫu được vô cơ hóa, sau đó tiến hành chưng cất đạm vô cơ và chuẩn độ bằng HCl 0,1 N.

Hàm lượng nitơ (N%) được tính theo công thức:

$$N\ (\%) = (C \times V \times 0{,}014 \times 100)/\ m\ (\%) \qquad (2)$$

Trong đó: C là nồng độ đương lượng của HCl (N), V là thể tích HCl chuẩn mẫu (mL), 0,014 là hệ số chuyển đổi ra nitơ, m là khối lượng mẫu (g), 100 là hệ số chuyển đổi sang %.

Hàm lượng protein (P%) tổng số được tính theo công thức:

$$P\ (\%) = N\ (\%) \text{ x } 6{,}25 \qquad (3)$$

2.6.3. Định lượng đường khử bằng phương pháp Bertrand [9]

Cân 5 g nguyên liệu, thủy phân ở 70 đến 80 ℃ trong 35 - 45 phút, sau đó lọc để thu dịch lọc, hút 2,5 mL dịch lọc cho tác dụng với hỗn hợp thuốc thử Fehling trong môi trường kiềm mạnh và đun sôi trong 2 phút để sinh ra lượng Cu_2O (đỏ gạch) tương đương. Lọc, rửa và hòa tan lượng Cu_2O bằng một lượng Fe(III) dư để sinh ra một lượng Fe(II) tương đương, chuẩn độ lượng Fe(II) này bằng dung dịch chuẩn $KMnO_4$ 0,1N cho đến khi xuất hiện màu hồng nhạt bền trong 30 giây. Ghi nhận thể tích $KMnO_4$ 0,1N tiêu tốn. Hàm lượng đường khử tính theo công thức:

$$\text{Hàm lượng đường khử} = (G_1 \times 100)/(G \times 1000) \times n \qquad (4)$$

Trong đó: G: khối lượng nguyên liệu lúc đầu (g); n: độ pha loãng; 1000: hệ số chuyển đổi mg thành g; G_1: khối lượng đường glucose (mg) tương ứng với số $KMnO_4$ 0,1 N.

2.6.4. Định lượng tinh bột theo TCVN 4594:1988 [14]

Mẫu được thủy phân hoàn toàn thành đường khử, định lượng đường khử bằng phương pháp Bertrand. Sử dụng hệ số chuyển đổi glucose thành tinh bột theo phương trình $(C_6H_{10}O_5)n + nH_2O \rightarrow nC_6H_{12}O_6$ là 0,9. Hàm lượng tinh bột được tính theo công thức:

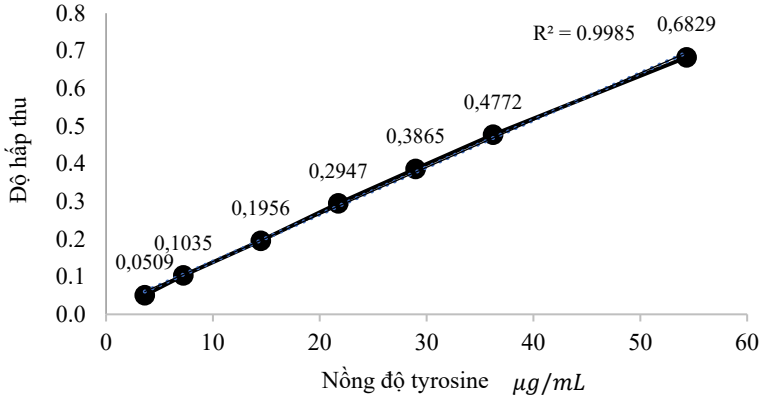
$$\text{Hàm lượng tinh bột} = \text{Hàm lượng đường khử x } 0{,}9\ (\%) \qquad (5)$$

2.6.5. Xác định hàm lượng tro bằng phương pháp nung theo TCVN 8214:2009 [10]

Mẫu nguyên liệu được nghiền mịn, cân chính xác 5 g mẫu và bắt đầu tro hoá ở nhiệt độ 600±10 ℃, tro hoá ít nhất trong 4 giờ đến khi xuất hiện tro xám trắng. Khi quá trình tro hóa kết thúc, lấy mẫu cho vào bình hút ẩm. Sau đó, cân bằng cân phân tích có độ chính xác đến 0,1 mg. Tiếp tục tro hóa đến khối lượng không đổi.

2.6.6. Xác định hoạt độ enzyme protease bằng phương pháp Anson cải tiến [13]

Cân chính xác 1 g mẫu đã lên mốc, nghiền mịn trong cối chày sứ và bổ sung 50 mL nước cất. Hỗn hợp được cho vào ống ly tâm để trích ly enzyme. Lọc hỗn hợp để thu dịch trích ly, bảo quản ở 4 ℃ để xác định hoạt độ enzyme. Để tạo điều kiện cho phản ứng thuỷ phân xảy ra hút 1 mL dung dịch enzyme đã trích ly cho vào ống nghiệm, thêm vào 2 mL dung dịch casein 2% và để ở nhiệt độ 30 ℃ trong 10 phút. Để bất hoạt enzyme, đình chỉ phản ứng bằng cách thêm 5 mL dung dịch tricloacetic acid 5%, lắc đều, giữ thời gian 10 phút. Kết tủa tạo ra sẽ được lọc bỏ. Hút chính xác 1 mL dịch lọc vào ống nghiệm, tiếp theo bổ sung 4 mL Na_2CO_3 6%, lắc đều. Sau đó, bổ sung 1 mL thuốc thử Folin. Hoạt độ protease được đo ở bước sóng 750 nm.



Hình 1. Phương trình đường chuẩn tyrosine

Đơn vị hoạt độ protease là lượng enzyme chuyển hoá được một lượng caseinat natri thành dạng không bị kết tủa bởi acid tricloacetic tương đương với 1 mmol tyrosine ở 30 ℃ trong thời gian 1 phút [5].

Hoạt độ protease được tính theo công thức sau:

$$\text{Hoạt độ protease (UI/ g)} = \frac{\mu g \text{ tyrosine} * 8 * 50}{t * m} \quad (6)$$

2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu được xử lý bằng phần mềm thống kê Minitab 19, phương pháp phân tích phương sai ANOVA. Biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2019.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hoá học của các mẫu đậu đỏ khô

Kết quả xác định thành phần dinh dưỡng chính của các mẫu đậu đỏ khô trên thị trường được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả thành phần hoá học của các loại đậu đỏ khô

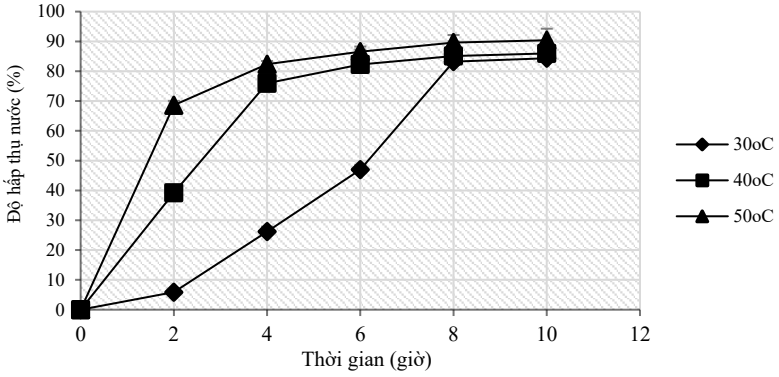
STT	Mẫu	Độ ẩm (%)	Hàm lượng protein tổng số (%)	Hàm lượng gluxit tổng số (%)	Hàm lượng tro (%)
1	KN2 – Đậu đỏ PMT	12,85±0,95^{a}	22,64±0,40^{a}	64,26±3,43^{a}	3,08±0,09^{ab}
2	KN3 – Đậu đỏ Xuân Hồng	12,84±0,74^{a}	21,90±0,23^{a}	60,83±2,52^{a}	2,92±0,03^{b}
3	KL1 – Đậu đỏ Bảo Minh	13,03±1,13^{a}	17,21±0,48^{c}	62,28±0,00^{a}	3,27±0,09^{a}
4	KL2 – Đậu đỏ PMT	10,48±1,61^{a}	20,18±0,22^{b}	63,27±1,71^{a}	3,06±0,07^{b}

Chú thích: Số liệu trong cùng 1 cột có số mũ khác nhau biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với $p < 0,05$

Hàm lượng protein tổng số của các mẫu đậu đỏ tương đối cao, dao động từ 17,21 ± 0,48% đến 22,64 ± 0,40%, trong đó KN2 và KN3 có hàm lượng protein cao nhất lần lượt là 22,64 ± 0,40% và 21,9 ± 0,23%. Tiếp đến là mẫu KL2 có hàm lượng protein tương đối cao 20,18 ± 0,22%. Mẫu KL1 có hàm lượng protein thấp nhất (17,21 ± 0,48%). Trong "Sổ tay về tầm quan trọng của cây họ đậu trên thế giới", đậu đỏ khô có chứa 19,9 g protein [15]. Trong một phân tích khác của Wang và cộng sự, với 17 giống đậu đỏ Trung Quốc, kết quả cho thấy hàm lượng protein trong đậu đỏ dao động từ 22,83% đến 25,41% [1]. Vì KN2 và KN3 không có sự khác biệt về hàm lượng protein nên xét về mặt kinh tế và độ phổ biến trên thị trường, mẫu đậu đỏ KN3 được lựa chọn để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo để định hướng ứng dụng vào sản xuất sốt đậu đỏ.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ngâm đến độ hấp thụ nước

Đậu đỏ khô được ngâm ở 30, 40 và 50 ℃ trong thời gian 2, 4, 6, 8 và 10 giờ và kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ngâm đến độ hấp thụ nước của đậu đỏ được trình bày ở Hình 2.



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ngâm đến độ hấp thụ nước

Đậu đỏ được ngâm ở ba nhiệt độ khác nhau là 30, 40 và 50 ℃ trong thời gian 2, 4, 6, 8 và 10 giờ. Ở nhiệt độ thấp nhất (30 ℃), quan sát thấy sự hấp thụ nước ban đầu tăng dần nhưng không đáng kể. Khi nâng lên nhiệt độ cao hơn (40 và 50 ℃), nước được hấp thụ ban đầu nhanh chóng do tốc độ khuếch tán tăng lên ở những nhiệt độ này. Độ hấp thụ nước đạt cao nhất khi ngâm ở 50 ℃ trong 10 giờ, đạt mức 90,39%. Kết quả này tương tự trong nghiên cứu của Kader, đã xác định được độ hấp thụ nước của đậu tằm đạt 90% [16]. Quá trình ngâm đóng vai trò quan trọng giúp làm mềm hạt và tăng độ ẩm môi trường, điều này tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình tiếp theo như hấp đậu và làm môi trường nuôi cấy vi sinh vật. Nước sẽ thấm vào lớp vỏ bên ngoài hạt, sau đó thấm dần vào phần bên trong, làm tăng kích thước hạt, giúp hòa tan tốt các chất dinh dưỡng và tạo điều kiện để nấm mốc dễ hấp thụ hơn [17]. Mặc dù nhiệt độ và thời gian ngâm đậu có thể rút ngắn thời gian ngâm hạt, tuy nhiên khi nhiệt độ càng cao thì sẽ càng làm cho hạt bị mất màu do tác dụng của nhiệt và độ cứng của hạt đậu đỏ trong quá trình ngâm sẽ giảm dần theo thời gian, hạt trở nên mềm hơn [18].

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian hấp đậu đỏ

Ảnh hưởng của nhiệt độ hấp đến màu sắc, trạng thái, cấu trúc, mùi vị của đậu đỏ và khả năng sinh enzyme protease của các chủng mốc tương thương mại khi hấp ở các nhiệt độ khác nhau (100, 110 và 121 ℃) được trình bày ở Bảng 2, Hình 3 và Hình 4.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ hấp đến cảm quan của đậu đỏ

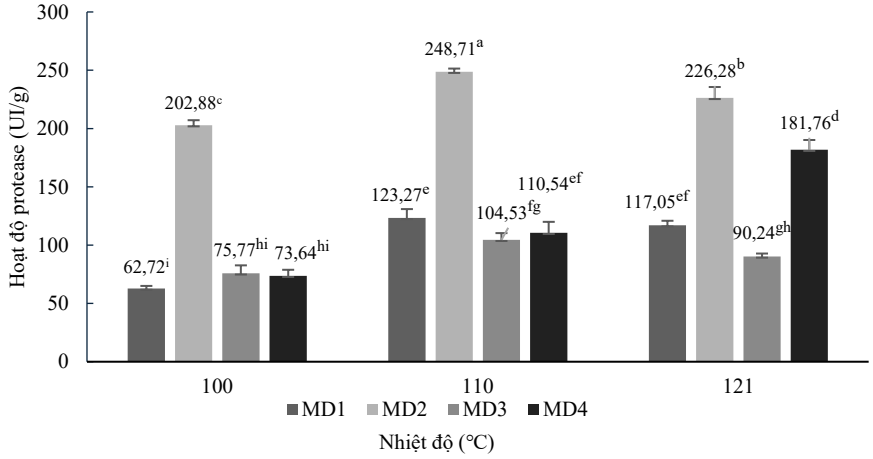
Nhiệt độ	Cấu trúc	Trạng thái	Màu, mùi vị
100 ℃	Hạt trương nở ít	Bề mặt láng, hạt cứng, không nứt	Màu đỏ tươi, mùi thơm nhẹ
110 ℃	Hạt trương nở to	Bề mặt láng, hạt mềm, hạt nứt	Màu đỏ, mùi thơm nồng, vị béo nhẹ
121 ℃	Hạt trương nở to	Bề mặt láng, hạt mềm, hạt nứt	Màu nâu đen, mùi thơm nồng, vị béo nhẹ



(a) (b) (c)

Hình 3. Đậu đỏ KN3 hấp ở các nhiệt độ khác nhau: (a) 100 °C, (b) 110 °C, (c) 121 °C

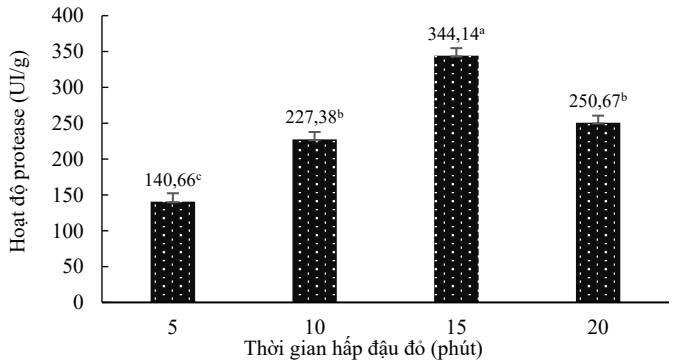
Mẫu đậu được hấp ở nhiệt độ 100, 110 và 121 ℃ có sự khác nhau về cấu trúc, trạng thái, màu sắc và mùi vị. Khi hạt được hấp ở nhiệt độ 100 ℃ hạt trương nở ít, hạt còn cứng không nứt, hấp ở 110 ℃ và 121 ℃ hạt trương nở tốt làm tăng kích thước của hạt, hạt đậu sau hấp đạt trạng thái mềm và vỏ hạt bị nứt có mùi đặc trưng của đậu đỏ sau hấp. Tuy nhiên, khi hấp ở 121 ℃ màu sắc vỏ hạt bị sẫm lại, hạt bị khô và tối màu.



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ hấp đậu đỏ đến khả năng sinh protease của các chủng mốc tương
Chú thích: Số liệu có số mũ khác nhau biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với $p < 0,05$
giữa nhiệt độ hấp và các chế phẩm nấm mốc

Khi hấp đậu đỏ ở cả 3 nhiệt độ khảo sát, chủng mốc tương MD2 sinh enzyme protease cao nhất. Hoạt độ enzyme protease do MD2 sinh ra cao nhất ở 110 ℃ sau 72 giờ là 248,71 ± 2,72 UI/g, trong khi đó khi hấp ở 100 và 121 ℃ đạt lần lượt 202,88 ± 4,27 UI/g và 226,28 ± 9,35 UI/g (với mức ý nghĩa 5% có sự khác biệt). Mặc dù lượng bào tử bổ sung bằng nhau, nhưng hoạt tính protease của MD2 cao hơn các chủng mốc tương còn lại. Điều này cho thấy mỗi chủng nấm mốc có một điều kiện sinh trưởng, môi trường gieo cấy khác biệt. Sự phụ thuộc của cơ chất, thành phần dinh dưỡng trong môi trường và điều kiện nuôi nấm mốc dẫn đến khả năng sinh protease khác nhau. Môi trường đậu đỏ phù hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của chủng nấm mốc MD2 nên hoạt độ enzyme protease sinh ra cao nhất. Ngoài ra, khi hấp với nhiệt độ cao thì protein bị biến tính mà enzyme không phân giải được và làm cho các acid amin bị phân hủy, ảnh hưởng đến màu sắc, mùi vị của sản phẩm [18], [19]. Điều này dẫn đến khả năng sinh enzyme giảm. Nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Giang và cộng sự đã khảo sát khả năng sinh enzyme protease trên môi trường nấm bào ngư cho thấy ở nhiệt độ hấp 90 ℃ , sản phẩm có hoạt độ protease đạt cao nhất là 8,90 đvg/chất khô [5].

3.4. Kết quả ảnh hưởng của thời gian hấp đậu đỏ



Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian hấp đậu đỏ đến hoạt độ protease
Chú thích: Số liệu trên các cột có số mũ khác nhau biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa
với $p < 0,05$ ở các thời gian hấp

Đậu đỏ sau khi được xử lý được hấp ở các khoảng thời gian 5, 10, 15 và 20 phút thì hoạt độ protease thu được lần lượt là 140,66 ± 11,65 UI/g, 227,38 ± 10,38 UI/g, 344,14 ± 10,56 UI/g và 250,67 ± 9,92 UI/g. Trong đó, hoạt độ protease đạt cao nhất khi hấp ở 15 phút, đạt 344,14 ± 10,56 UI/g và khi hấp ở thời gian 20 phút thì hoạt độ protease giảm 1,37 lần (250,67 ± 9,92 UI/g). Hoạt độ protease cao khi hấp đậu đỏ trong 15 phút cho thấy khi hấp ở thời gian phù hợp giúp thay đổi cấu trúc, cải thiện chất lượng protein, tạo điều kiện cho quá trình phân giải protein và tăng khả năng sinh enzyme protease [20]. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng thời gian hấp lên 20 phút thì hoạt độ protease ở mức 250,67 ± 9,92 UI/g do mẫu đậu đỏ tiếp xúc lâu với nhiệt làm ảnh hưởng đến hàm lượng protein trong mẫu bị biến tính, làm giảm khả năng hấp thụ protein của nấm mốc, ảnh hưởng đến khả năng sinh enzyme protease. Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Giang và cộng sự, nấm bào ngư được hấp ở nhiệt độ 90 ℃ tại thời điểm mẫu vừa đạt được nhiệt độ 90 °C – 0 phút, kết quả thu được hoạt độ protease là 8,90 đv/g chất khô [5].

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định thành phần dinh dưỡng có trong các mẫu đậu đỏ khô thích hợp cho khả năng sinh enzyme protease của các chủng mốc tương thương mại khi nuôi cấy trên môi trường hạt đậu đỏ. Hàm lượng protein trong các mẫu đậu đỏ nghiên cứu nằm trong khoảng từ 17,21 ± 0,48% đến 22,64 ± 0,40%, thời gian ngâm phù hợp giúp cho đậu đỏ có độ hấp thụ nước cao nhất sau 8 giờ ngâm ở 30 ℃, nhiệt độ hấp thích hợp giúp cho đậu đỏ đạt chất lượng cảm quan, đồng thời thu được hoạt độ enzyme protease cao là 110 ℃ đạt 248,71 ± 2,72 UI/g được sinh ra bởi chủng mốc tương MD2 và thời gian hấp đậu đỏ thích hợp là 15 phút tạo hoạt độ protease đạt 344,14 ± 10,56 UI/g.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được thực hiện với sự tài trợ kinh phí của Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh, theo hợp đồng nghiên cứu khoa học số 183/HĐ-DCT ngày 31 tháng 8 năm 2023.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Y. Wang *et al.*, "Nutritional Composition, Efficacy, and Processing of *Vigna angularis* (Adzuki Bean) for the Human Diet: An Overview," *Molecules*, vol. 27, no. 18, Art. no. 18, 2022, doi: https://doi.org/10.3390/molecules27186079

[2] S. Khan, "Baking and nutritional characteristics of adzuki beans and its health impacts," *Interdisciplinary Journal of Applied and Basic Subjects*, vol. 1, no. 9, pp. 50–57, 2021.

[3] V. T. Hằng, M. V. Duy, Đ. M. Lệ, L. V. Hiền, N. Đ. Huy, T. T. Tùng, T. V. Tiến, T. V. Định, và N. T. Dũng, "Xác định hàm lượng protein và lipit thô tổng số ở một số giống đậu tương," *VJST B*, vol. 64, no. 12B, pp. 65–68, 2022, doi: https://doi.org/10.31276/VJST.64(12).65-68

[4] X. Li, X. Liu, Y. Hua, Y. Chen, X. Kong, and C. Zhang, "Effects of water absorption of soybean seed on the quality of soymilk and the release of flavor compounds," *RSC Adv.*, vol. 9, no. 6, pp. 2906–2918, 2019, doi: https://doi.org/10.1039/C8RA08029A

[5] N. T. N. Giang and N. M. Thủy, "Ảnh hưởng của điều kiện xử lý đến khả năng sinh enzyme amylase và protease từ *Aspergillus oryzae* trên koji nấm bào ngư (*Pleurotus* spp.)," *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ,* số chuyên đề Nông nghiệp (tập 1), tr.147-155, 2016, doi: https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2016.033

[6] P. T. Bình, N. Đ. Giang, và N. V. Quang, "Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp protease từ nấm mốc *Aspergillus oryzae* khi nuôi cấy trên môi trường khô đậu tương," *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp và Phát triển*, số 8, tháng 6/2023.

[7] *Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 9706:2013 về Ngũ cốc và sản phẩm ngũ cốc - Xác định độ ẩm*.

[8] *Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8125:2015 (ISO 20483:2013) về Ngũ cốc và đậu đỗ - Xác định hàm lượng nitơ và tính hàm lượng protein thô – Phương pháp Kjeldahl*.

[9] N. Đ. Nghiệp, "Kỹ thuật sinh hoá và các ứng dụng," *Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam*, 2014.

[10] *Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8124:2009 Ngũ cốc, đậu đỗ và phụ phẩm - Xác định hàm lượng tro bằng phương pháp nung*.

[11] N. X. Thành, V. T. Hoà, N. B. Hiên, và H. Hải, *Giáo trình vi sinh vật học công nghiệp*. Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, 2010.

[12] T. Q. Thắng, N. M. Hưng, T. N. Đào, P. Thị, and H. Liên, "Ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng sinh tổng hợp enzyme α - amylase trong chế phẩm koji sản xuất từ *Aspergillus oryzae*," *Tạp chí Khoa học Đại học Công Thương*, vol. 25, no. 5, pp. 47–54, 2025, doi: https://doi.org/10.62985/j.huit_ojs.vol25.no5.311

[13] M. L. Anson, "The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin," *J Gen Physiol*, vol. 22, no. 1, pp. 79–89, 1938.

[14] *Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4594:1988 (ST SEV 3450-81) về đồ hộp - phương pháp xác định đường tổng số, đường khử và tinh bột*.

[15] J. A. Duke, *Handbook of LEGUMES of World Economic Importance*. New York, NY, USA: Springer, 1981, doi: https://doi.org/10.1007/978-1-4684-8151-8

[16] Z. M. A. Kader, "Study of some factors affecting water absorption by faba beans during soaking," *Food Chemistry*, vol. 53, no. 3, pp. 235–238, Jan. 1995, doi: https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)93926-I

[17] T. Koriyama, Y. Sato, K. Iijima, and M. Kasai, "Influences of Soaking Temperature and Storage Conditions on Hardening of Soybeans (*Glycine max*) and Red Kidney Beans (*Phaseolus vulgaris*)," *Journal of Food Science*, vol. 82, no. 7, pp. 1546–1556, Jul. 2017, doi: https://doi.org/10.1111/1750-3841.13749

[18] M. Bayram, M. D. Öner, and A. Kaya, "Influence of soaking on the dimensions and colour of soybean for bulgur production," *Journal of Food Engineering*, vol. 61, no. 3, pp. 331–339, 2004, doi: https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00137-7

[19] N. Đ. Lượng, *Công nghệ vi sinh vật, Tập 3: Thực phẩm lên men truyền thống*, Trường Đại học Kỹ thuật TP. Hồ Chí Minh, 2005.

[20] I. Wainaina, E. Wafula, D. Sila, C. Kyomugasho, T. Grauwet, A. Van Loey, and M. Hendrickx, "Thermal treatment of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.): Factors determining cooking time and its consequences for sensory and nutritional quality," *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 20, pp. 3690–3718, 2021, doi: https://doi.org/10.1111/1541-4337.12770

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF RED BEAN PROCESSING ON THE ABILITY TO PRODUCE PROTEASE ENZYME OF MOLD PRODUCTS *Aspergillus oryzae*

Phan Thi Hong Lien*, Nguyen Trong Hieu, Hoang Xuan The

Ho Chi Minh City University of Industry and Trade

*Email: *lienpth@huit.edu.vn*

This study investigates the effects of various factors, such as the chemical composition of red bean samples, soaking temperature and time on water absorption, and steaming temperature and time on sensory quality and protease enzyme production capability of certain commercial *Aspergillus oryzae* strains when cultured on a red bean medium for applications in red bean sauce production. The research results determined that the protein content of dry red bean samples ranged from 17,21 ± 0,48% to 22,64 ± 0,40%, with water absorption reaching 83,23% when soaked at 30 °C for 8 h. When steamed at 110 °C, *Aspergillus oryzae* strains from the MD2 mold strain produced an average protease activity of 248,71 ± 2,72 UI/g. For optimal enzyme production, the appropriate steaming time for red beans was 15 minutes, achieving a protease activity of 344,14 ± 10,56 UI/g.

Keywords: Red bean, raw material processing, protease enzyme.