

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA VI SÓNG VÀ SÓNG SIÊU ÂM ĐẾN HÀM LƯỢNG PROTEIN TRÍCH LY TỪ ĐẬU ĐEN XANH LÒNG VÀ ĐẬU ĐEN THƯỜNG (*Vigna cylindrica* (L.) Skeels)

Nguyễn Hoàng Khoa Nguyễn^{1,2*}, Lê Ngọc Liễu^{1,2}

TÓM TẮT

Nghiên cứu này tiến hành khảo sát sự hỗ trợ của sóng siêu âm và vi sóng đến khả năng trích ly protein từ đậu đen xanh lòng và đậu đen thường. Khi có sự hỗ trợ của vi sóng, tỷ lệ trích ly protein đạt kết quả cao hơn với thời gian áp dụng ngắn hơn. Để thu được hàm lượng protein tối đa trong đậu đen xanh lòng, điều kiện trích ly cần phải đạt được là tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 25 (w/v), pH 12,5, công suất 800 W và thời gian vi sóng là 50 giây (365,6 mg/g chất khô). Các thông số trích ly này gần như tương tự với đậu đen thường, ngoại trừ tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 20 (w/v) và pH 13. Trong khi đó, khảo sát ảnh hưởng của sóng siêu âm, với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 15 (w/v), pH 13, nhiệt độ siêu âm là 50°C, thời gian siêu âm là 60 phút, hàm lượng protein thu được từ đậu đen xanh lòng đạt kết quả cao nhất (298,6 mg/g chất khô). So với đậu đen xanh lòng, protein thu được từ đậu đen thường đạt kết quả cao nhất với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 25 (w/v), pH 13, nhiệt độ 70°C và thời gian áp dụng là 120 phút. Kết quả của nghiên cứu cho thấy, việc sử dụng sóng siêu âm và vi sóng có thể mang lại nhiều tiềm năng trong việc cải thiện hàm lượng protein được trích ly từ đậu đen.

Từ khóa: *Xanh lòng, đậu đen, protein trích ly, vi sóng, siêu âm.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đậu đen có tên khoa học là *Vigna cylindrica* (L.) Skeels thuộc họ Leguminosa [1, 2], thường được trồng ở các nước có khí hậu nhiệt đới với nhiệt độ tối ưu từ 25 - 35°C như: Ấn Độ, Pakistan, Iran và Đông Nam Á. Chúng được coi là nguồn cung cấp protein, chất xơ, một số vitamin B phức hợp và các khoáng chất thiết yếu cho con người [2]. Hơn nữa, các hợp chất phenolic trong đậu đen hoạt động như chất chống oxy hóa để ngăn ngừa sự phát triển của nhiều bệnh, giảm nguy cơ ung thư, các bệnh về tim mạch và đái tháo đường, tăng cường hệ miễn dịch và sức đề kháng của con người. Ở Việt Nam, đậu đen có hai loại chính là đậu đen thường và xanh lòng. Ngoại trừ sự khác biệt về màu sắc của nhân, đậu đen xanh lòng có

kích thước nhỏ hơn, bằng một nửa so với đậu đen thường. Hạt đậu đen xanh lòng được cho là có hàm lượng chất dinh dưỡng cao và có thể ngăn ngừa nhiều bệnh...

Protein hay còn gọi là chất đạm, là một đại phân tử, có cấu trúc phức tạp, được tạo thành từ hàng trăm hoặc hàng nghìn đơn axit amin, được gắn với nhau thành chuỗi dài. Protein là thành phần thiết yếu của cơ thể sinh vật và tham gia vào mọi quá trình bên trong tế bào, như trở thành enzyme xúc tác cho các phản ứng sinh hóa và trao đổi chất, hỗ trợ chức năng vận động của con người. Nhiều nghiên cứu khoa học đã chứng minh rằng, đậu đen chứa một lượng lớn protein, cao hơn đậu nành, thịt, trứng hoặc sữa. Vì vậy, đậu đen thường được sử dụng như nguồn thực phẩm để thay thế cho protein từ thịt, tăng cường sức khỏe con người. Mặc dù protein có nhiều lợi ích, nhưng protein không phải là hợp chất sinh học chính được chiết xuất từ đậu đen, mà chỉ được coi là một

¹ Bộ môn Công nghệ Thực phẩm, Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Quốc tế

² Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

*Email: khoanguyen2597@gmail.com

phụ phẩm, không được sử dụng, dẫn đến lãng phí nguồn protein dồi dào từ thực vật.

Có nhiều phương pháp để chiết xuất protein trong đậu như sử dụng enzyme, phương pháp màng lọc, phương pháp trao đổi ion để tách chiết. Tuy nhiên, những công nghệ tiên tiến này vẫn chưa phát triển và có giá thành khá cao. Hiện nay, việc chiết xuất protein trong đậu đen vẫn dựa trên phương pháp sử dụng kiềm và kết tủa bằng axit. Trong phương pháp này, natri hydroxit được sử dụng để hòa tan các protein và sau đó phá vỡ liên kết hydro, amide và disulfide hỗ trợ trong việc trích ly protein [3]. So với các phương pháp khác, việc chiết xuất kiềm được cho là dễ thực hiện, có chi phí thấp và thân thiện với môi trường. Tuy nhiên, ở phương pháp này, nếu sử dụng ở nồng độ cao, dung dịch kiềm có thể gây ảnh hưởng tới cấu trúc protein và gây ra các vấn đề về an toàn cho thực phẩm [4].

Ngày nay, nhiều phương pháp hiện đại đã được nghiên cứu nhằm tăng cường hiệu suất trích ly và làm giảm những hạn chế tác hại của các phương pháp truyền thống như sử dụng vi sóng, sóng siêu âm, phương pháp xung điện trường, chiếu xạ gamma và chiếu xạ cao hay sử dụng áp suất cao [5]. Trong những năm gần đây, trích ly có sự hỗ trợ của sóng siêu âm đã được sử dụng rộng rãi để trích ly các chất hoạt tính sinh học từ các sản phẩm nông nghiệp do hiệu suất cao, quy trình nhanh, tỷ lệ tiêu thụ dung môi thấp và hạn chế sự ô nhiễm môi trường. Ngoài sóng siêu âm, vi sóng cũng được coi là một phương pháp hỗ trợ hiệu quả, giúp giảm thời gian trích ly và tiết kiệm năng lượng. Mặc dù đem lại nhiều hiệu quả trong việc trích ly, việc sử dụng sóng siêu âm và vi sóng trong trích ly protein đậu đen chưa được nghiên cứu và đem lại nhiều tiềm năng cho ngành công nghệ thực phẩm. Vì vậy, mục đích chính của nghiên cứu này là tìm hiểu sự ảnh hưởng của vi sóng và sóng siêu âm lên quá trình trích ly protein từ hai loại đậu đen.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Hai loại nguyên liệu gồm đậu đen xanh lòng và đậu đen có nguồn gốc rõ ràng. Nguyên liệu

phải đảm bảo chất lượng, không bị hư hỏng và nhiễm bẩn. Sau khi được đóng gói cẩn thận, sẽ được vận chuyển đến phòng thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chế biến bột đậu đen

Đậu đen sẽ được rửa sạch để loại bụi bẩn và tạp chất, sau đó, được sấy khô ở nhiệt độ 50°C đến khi đạt được độ ẩm dưới 13%. Tiếp đó, chúng được nghiền nhỏ (250 µm) và được lưu trữ trong tủ lạnh ở 4°C.

2.2.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của vi sóng lên quá trình trích ly protein từ đậu đen xanh lòng và đậu đen thường.

Dưới sự hỗ trợ của lò vi sóng R-21A1(S)V (800 W), protein trong hai loại đậu đen được trích ly theo phương pháp của Choi và cs (2006) [6]. Đầu tiên, 1 gram bột đậu đen được hòa tan với dung môi (nước cất) được điều chỉnh với các điều kiện khác nhau như tỷ lệ mẫu và dung môi (1:15 - 1:45 g/ml); công suất vi sóng (80 - 800 W), thời gian vi sóng (10 - 90 giây) và pH (11 - 13,5). Sau khi kết thúc quá trình trích ly, hỗn hợp được đem đi ly tâm với tốc độ 9.000 vòng/phút ở nhiệt độ 4°C trong 15 phút. Phần dịch thu được sau quá trình trích ly sẽ được sử dụng để xác định hàm lượng protein.

Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của sóng siêu âm lên quá trình trích ly protein từ đậu đen xanh lòng và đậu đen thường.

Dưới sự hỗ trợ của bể chiết siêu âm Daihan WUC-A10H (40 kHz), protein từ hai loại đậu đen được trích ly theo phương pháp của Song và cs (2013) [7]. Đầu tiên, 1 g bột đậu đen được hòa tan với dung môi (nước cất) được điều chỉnh với các điều kiện khác nhau như tỷ lệ mẫu và dung môi (1: 15 đến 1: 45 g/ml); nhiệt độ siêu âm (30 - 80°C), thời gian siêu âm (30 - 180 phút) và pH (11 - 13,5). Sau khi kết thúc quá trình trích ly, hỗn hợp được đem đi ly tâm với tốc độ 9.000 vòng/phút ở nhiệt độ 4°C trong 15 phút. Phần dịch thu được sau quá trình trích ly sẽ được sử dụng để xác định hàm lượng protein.

2.2.3. Phương pháp phân tích

Hàm lượng protein hòa tan được xác định bằng phương pháp Lowry với chất chuẩn là albumin huyết thanh bò (BSA) tại bước sóng 650 nm [8].

2.2.4. Phân tích số liệu

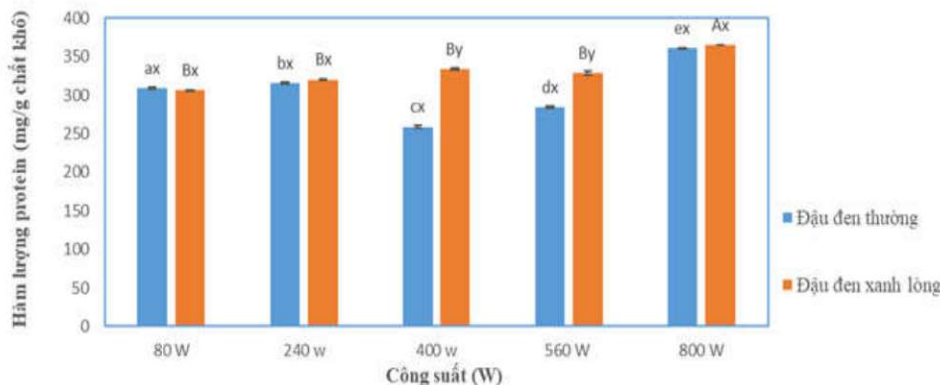
Tất cả các thí nghiệm đều được thực hiện 3 lần lặp lại. Kết quả được phân tích bằng phân tích

phương sai một chiều (ANOVA) hoặc t-test, sử dụng phần mềm Minitab với mức độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly protein với sự hỗ trợ của vi sóng

3.1.1. Ảnh hưởng của công suất vi sóng lên quá trình trích ly của protein



Hình 1. Ảnh hưởng của công suất vi sóng lên quá trình trích ly protein

Ghi chú: Các giá trị AB chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; a-e là đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

Kết quả khảo sát cho thấy, hiệu quả trích ly cao nhất ở mức công suất 800 W ở cả hai loại đậu đen. Theo đó, với đậu đen xanh lòng, khi công suất tăng từ 80 W lên 800 W, hàm lượng protein được trích ly trong dịch chiết tăng dần từ 306,1 lên 365,2 mg/g chất khô. Trong khi đó, ở đậu đen thường, hàm lượng protein trong dung dịch chiết tăng dần từ 309,2 lên 315,5 mg/g chất khô khi tăng công suất từ 80 W lên 240 W, sau đó hàm lượng protein giảm dần xuống 258,9 mg/g chất khô ở công suất 400 W. Ở mức công suất cao hơn, hàm lượng protein có xu hướng tăng dần lên 284,3 mg/g chất khô và đạt giá trị cao nhất ở công suất 800 W (361,2 mg/g chất khô).

Công suất của vi sóng là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến khả năng trích ly của protein. Ở mức công suất thấp (80 và 240 W), nhiệt độ thấp sẽ làm giảm tốc độ khuếch tán phân tử khiến cho hiệu quả trích ly thấp. Còn ở các mức công suất cao hơn (> 400 W), tốc độ khuếch tán tăng, khiến hiệu quả trích ly cũng tăng theo. Kết quả này

tương đồng với kết quả nghiên cứu trích ly protein từ đậu phộng tách béo với sự hỗ trợ của vi sóng [9]. Ở công suất 725 W trong 8 phút, hàm lượng protein trích ly từ đậu phộng tách béo tăng 77%. Như vậy, mức công suất 800 W được coi là công suất thích hợp trong việc trích ly protein.

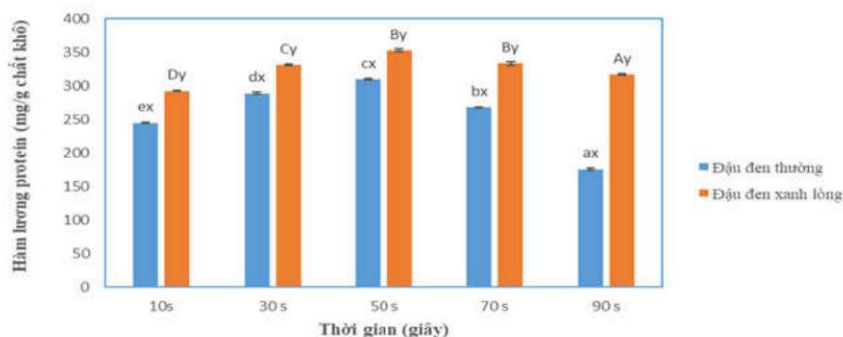
3.1.2. Ảnh hưởng của thời gian xử lý vi sóng lên quá trình trích ly của protein

Thời gian xử lý vi sóng tạo nên sự khác biệt có ý nghĩa ($P < 0,05$) lên quá trình trích ly protein từ hai loại đậu đen. Với công suất cố định 800 W, thời gian xử lý vi sóng được khảo sát khảo sát ở 5 mức khác nhau (10, 30, 50, 70 và 90 giây).

Kết quả ở hình 2 cho thấy, hàm lượng protein trích ly ở cả 2 mẫu đậu đen thường và xanh lòng tăng nhanh khi thời gian thay đổi từ 10 - 50 giây và đạt hàm lượng trích ly cao nhất ở 50 giây (309,1 mg/g chất khô cho đậu đen thường và 352,5 mg/g chất khô cho đậu đen xanh lòng). Sau 50 giây hàm lượng protein trích ly ở cả 2 loại đậu đều có xu hướng giảm, khác biệt có nghĩa ($P < 0,05$). Trong

khoảng thời gian từ 50 - 90 giây, hàm lượng protein trích ly ở đậu đen thường giảm mạnh xuống 175,6 mg/g chất khô, trong khi ở đậu đen xanh lòng,

hàm lượng protein trích ly có xu hướng giảm nhẹ (316,3 mg/g chất khô).



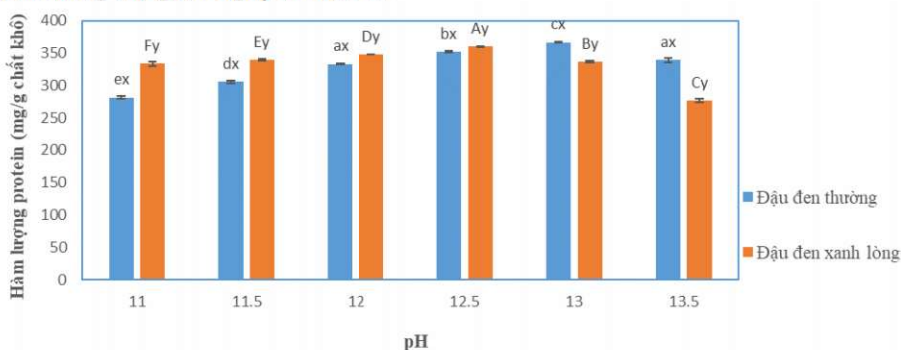
Hình 2. Ảnh hưởng của thời gian xử lý vi sóng lên quá trình trích ly protein

Ghi chú: Các giá trị A-D chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; a-e là đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

Thời gian là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến khả năng trích ly của protein. Nếu thời gian xử lý vi sóng quá ngắn, nhiệt độ của vi sóng tác động lên dung môi và nguyên liệu chưa đủ, chỉ một số màng tế bào bị tác động, khiến cho quá trình trích ly bị hạn chế. Ngược lại, khi tăng thời gian trích ly, nhiệt độ tăng làm cho màng tế bào bị tác động nhiều hơn, dẫn đến hàm lượng các chất cần trích ly có trong dịch trích cao hơn. Tuy nhiên, khi quá trình trích ly diễn ra một thời gian nhất định, sự chênh lệch nồng độ giữa nguyên liệu và

dung môi bị giảm, khiến cho protein chiết ra chậm, làm giảm hiệu quả quá trình trích ly. Không những vậy, khi tăng thời gian hỗ trợ vi sóng lên quá nhiều, thời gian tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi tăng lên dẫn đến nhiệt độ của dịch trích cũng tăng làm cho cấu trúc của protein bị phá hủy, khiến protein trở nên khó trích ly ra dung môi hơn.

3.1.3. Ảnh hưởng của pH lên quá trình trích ly của protein



Hình 3. Ảnh hưởng của pH lên quá trình trích ly protein

Ghi chú: Các giá trị A-F chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; a-e là đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

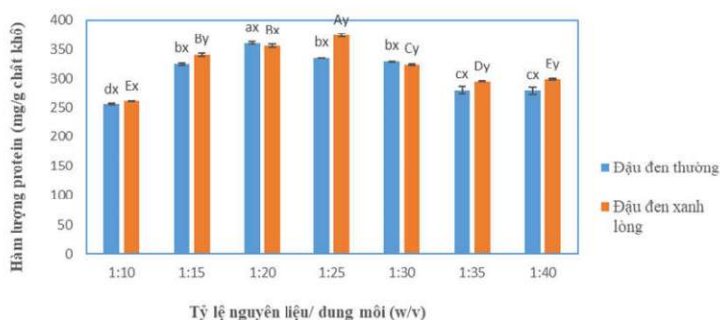
Khi tiến hành điều chỉnh giá trị pH từ 11 - 12,5, hàm lượng protein trích ly từ đậu đen xanh lòng tăng dần từ 308,1 lên 360,2 mg/g chất khô, đạt hàm lượng protein trích ly tối đa ở 12,5. Trong khi đó, ở đậu đen thường, khi tăng pH từ 11 lên 13,

hàm lượng protein trích ly được tăng mạnh (gấp 1,3 lần) và đạt cực đại ở pH 13 (336,7 mg/g chất khô). Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng pH lên 13,5 thì hàm lượng protein trích ly từ 2 mẫu đậu đều giảm mạnh (339,5 mg/g chất khô với đậu đen thường và

276,7 mg/g chất khô với đậu đen xanh lòng). pH được coi là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng trích ly của protein. Trong phương pháp chiết xuất bằng dung dịch kiềm, dung dịch kiềm có độ pH cao sẽ phá vỡ các liên kết hydro, amin và disulfide trong các phân tử protein, dẫn đến giảm kích thước phân tử của protein, hỗ trợ trong việc trích ly protein.

3.1.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lên quá trình trích ly của protein

Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là yếu tố ảnh hưởng đến khả năng trích ly. Lượng dung môi tối thiểu phải vừa ngập qua bề mặt của lớp nguyên liệu khoảng lớn hơn 1 cm, khi đó các lớp nguyên liệu trên mới có thể tiếp xúc được với dung môi [10]. Do đó, ở nghiên cứu này, quá trình trích ly protein được khảo sát với các tỷ lệ khác nhau lần lượt là 1: 10, 1: 15, 1: 20, 1: 25, 1: 30, 1: 35 và 1: 40 (w/v) nhằm đánh giá ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lên quá trình trích ly.



Hình 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lên quá trình trích ly protein

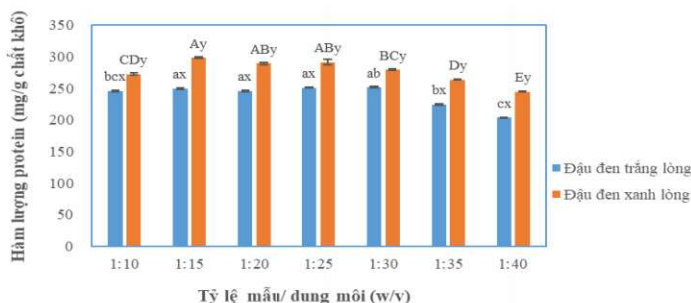
Ghi chú: Các giá trị A-E chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; a-d là đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

Kết quả hình 4 cho thấy, hàm lượng protein tăng dần khi tăng tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và lượng protein trích ly thu được nhiều nhất ở tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:20 (w/v) với đậu đen thường (360,7 mg/g chất khô) và 1:25 (w/v) với đậu đen xanh lòng (365,6 mg/g chất khô), khi tiếp tục tăng lượng dung môi thì lượng protein thu được không tăng lên mà có xu hướng giảm dần. Nguyên nhân của sự thay đổi trên là do khi lượng dung môi quá ít (ở tỷ lệ 1: 10) không đủ để hòa tan, trích ly hết lượng protein ra khỏi tế bào. Do

đó, khi tiếp tục tăng lượng dung môi thì hàm lượng protein thu được có sự tăng mạnh. Tuy nhiên, khi ngâm chiết với lượng dung môi quá nhiều, nồng độ kiềm quá cao làm protein trong tế bào bị phá hủy, khiến cho hàm lượng protein trích ly giảm dần.

3.2. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly protein với sự hỗ trợ sóng siêu âm

3.2.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lên quá trình trích ly với protein



Hình 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lên quá trình trích ly protein

Ghi chú: Các giá trị A-E chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; a-b là đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

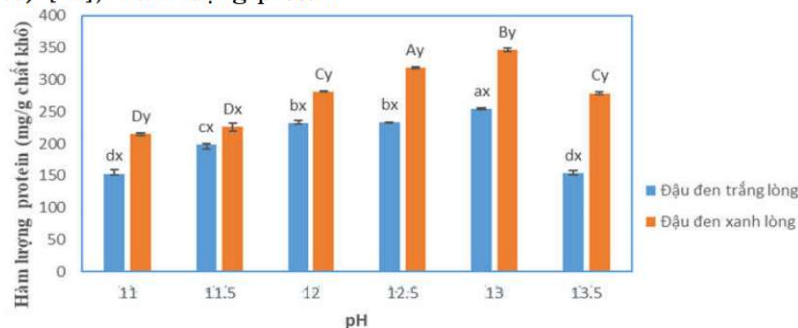
Ở hình 5, hàm lượng protein trong đậu đen xanh lòng đạt giá trị cao nhất là 298,6 mg/g chất khô khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 15 (w/v). Sau khi đạt hàm lượng trích ly cao nhất, hàm lượng protein trích ly giảm nhẹ từ 289,4 mg/g chất khô xuống 244,9 mg/g chất khô khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi tăng từ 1: 20 lên 1: 40 (w/v).

Trong khi đó, ở đậu đen thường, hàm lượng protein đạt giá trị cực đại với tỷ lệ dung môi là 1: 25 (w/v) (262,7 mg/g chất khô), sau đó giảm dần đều xuống 203,6 mg/g chất khô ở tỷ lệ 1: 40 (w/v). So với các nghiên cứu khác, có sự khác biệt đôi chút về tỷ lệ nguyên liệu/dung môi để đạt hàm lượng protein trích ly tối ưu. Trong nghiên cứu của Jianmei Yu và cs (2007) [11], hàm lượng protein

trích ly cao nhất ở bột đậu phộng đã tách béo ở tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 20 (w/v). Trong khi đó, trong nghiên cứu của Qiaoyun và cs (2017) [12], tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1: 40 (w/v) là điều kiện tối ưu để thu protein trích ly từ bã trà.

3.2.2. Ảnh hưởng của pH lên quá trình trích ly với protein

Khi tăng giá trị pH từ 11 lên 13, hàm lượng protein trích ly tăng dần từ 153,2 lên 254,5 mg/g chất khô với đậu đen thường và từ 214,9 lên 346,3 mg/g chất khô với đậu đen xanh lòng. Với sự hỗ trợ của sóng siêu âm, protein trích ly từ đậu đen thường và xanh lòng đều đạt giá trị tối ưu tại pH 13.



Hình 6. Ảnh hưởng của pH lên quá trình trích ly protein

Ghi chú: Các giá trị A-D chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; a-d là đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

pH là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến khả năng trích ly của protein. Nhờ sự tăng dần giá trị của pH, hàm lượng protein trích ly cũng được cải thiện. Tuy nhiên, khi giá trị của pH tăng lên quá cao, nồng độ NaOH cũng tăng lên có thể làm thay đổi hàm lượng dinh dưỡng của protein, đồng thời có thể sinh ra các chất độc hại. Cystein và serine từ protein có thể được chuyển đổi thành dehydroalanine và sau đó chuyển thành lysinoalanine, khiến cho hàm lượng protein tổng giảm mạnh, đặc biệt là hàm lượng của cystein và serine [3, 13]. Ngoài ra, lượng kiềm cao có thể gây biến tính và phá hủy cấu trúc của protein, làm tăng phản ứng Maillard tạo ra các sản phẩm có màu sẫm. Vì vậy, khi tăng giá trị pH lên 13,5, hàm lượng protein trích ly của đậu đen giảm đáng kể, xuống 278,4 mg/g chất khô với đậu đen xanh lòng và 153,8 mg/g chất khô với đậu đen thường.

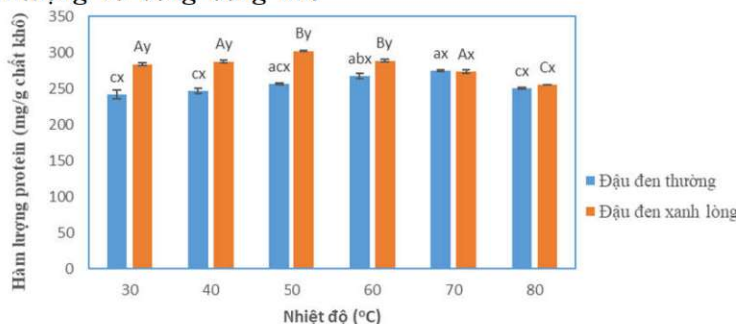
3.2.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ sóng siêu âm lên quá trình trích ly với protein

Ảnh hưởng của nhiệt độ lên quá trình trích ly protein với sự hỗ trợ của sóng siêu âm được thể hiện ở hình 7. Không có sự khác biệt đáng kể về hàm lượng protein trích ly ở hai loại đậu đen khi xử lý với sóng siêu âm ở nhiệt độ 30 và 40°C (lần lượt là 242,0 và 246,8 mg/g chất khô với đậu đen thường, 283,9 và 287,5 mg/g chất khô với đậu đen xanh lòng).

Khi nhiệt độ sóng siêu âm tăng từ 40 lên 70°C, hàm lượng protein trích ly ở hai loại đậu lần lượt đạt giá trị tối ưu ở 50°C với đậu đen xanh lòng (302,2 mg/g chất khô) và 70°C với đậu đen thường (274,9 mg/g chất khô). Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ sóng siêu âm lên 80°C, hàm lượng protein trích ly từ hai loại đậu giảm đáng kể (250,2 mg/g chất

khô với đậu đen thường và 255,0 mg/g chất khô với đậu đen xanh lòng). Nhiệt độ cao làm giảm độ nhớt nên hiện tượng hình thành bong bóng dễ xảy ra, điều này khiến cho các khả năng trích ly của protein trong đậu đen được tăng lên. Tuy nhiên, ở nhiệt độ quá cao, hiện tượng vỡ bong bóng khó

xảy ra do áp suất hơi tăng lên, khiến cho hiệu suất trích ly bị giảm dần. Ngoài ra, nhiệt độ cao có thể gây ra sự biến tính hoàn toàn ở các phân tử protein dẫn đến hàm lượng protein giảm rõ rệt khi ở nhiệt độ cao.



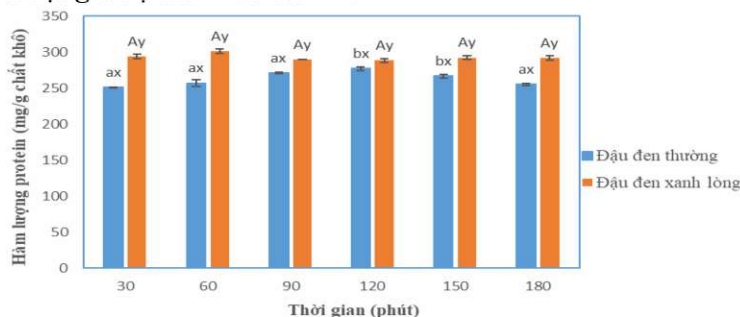
Hình 7. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên quá trình trích ly với protein với sự hỗ trợ của sóng siêu âm

Ghi chú: Các giá trị A-C chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; a-c là đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

3.2.4. Ảnh hưởng của thời gian lên quá trình trích ly protein

Ảnh hưởng của thời gian sử dụng sóng siêu âm lên quá trình trích ly protein được thể hiện ở hình 8. Đối với đậu đen xanh lòng, không có sự thay đổi có ý nghĩa về hàm lượng protein trích ly giữa các mẫu tại các mốc thời gian từ 30 - 180 phút. Hàm lượng protein trích ly từ đậu đen xanh lòng đạt giá trị cao nhất sau 60 phút xử lý sóng siêu âm (301,1 mg/g chất khô). Tương tự đậu đen xanh lòng, ở đậu đen thường, khi tăng thời gian áp dụng sóng siêu âm từ 30 - 90 phút, hàm lượng protein trích ly chỉ tăng nhẹ khoảng 20,4 mg/g chất khô. Khi tiếp tục tăng thời gian, hàm lượng protein trích ly cũng tăng theo và đạt giá trị cao nhất sau 120

phút xử lý siêu âm (276,7 mg/g chất khô). Sau khi đạt hàm lượng cao nhất, lượng protein giữ nguyên giá trị trong thời gian còn lại. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Tu và cs (2015) [14] về việc chiết xuất protein từ hạt bí ngô với sự hỗ trợ của sóng siêu âm. Có thể giải thích rằng thời gian sử dụng sóng siêu âm quá ngắn không đủ thời gian để phá vỡ thành tế bào, nên lượng chất chiết thu được cũng ít hơn. Tuy nhiên, nếu thời gian siêu âm kéo dài quá lâu, các gốc tự do hydroxyl trong dịch chiết sẽ bị tích tụ lại, gốc tự do này có thể phản ứng với các nhóm chức năng khác nhau trong phân tử protein và khiến protein đông lại [15] và giảm hiệu quả trích ly.



Hình 8. Ảnh hưởng của thời gian lên quá trình trích ly protein với sự hỗ trợ của sóng siêu âm

Ghi chú: Các giá trị A chỉ sự giống nhau giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; ab chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen thường, còn xy là giữa hai loại đậu đen ở cùng điều kiện xử lý.

3.3. So sánh hiệu quả trích ly protein giữa các phương pháp

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, hàm lượng protein trích ly với sự hỗ trợ của vi sóng cao hơn đáng kể so với sự hỗ trợ của sóng siêu âm (cao hơn khoảng 32 - 33%) và phương pháp trích ly truyền thống (cao hơn khoảng 35 - 37%). Kết quả này cũng tương tự như kết quả nghiên cứu trích ly protein từ đậu phộng [16] với sự hỗ trợ vi sóng và sóng siêu âm. Kết quả này có thể được giải thích là do trích

ly hỗ trợ vi sóng tác động lên các phân tử phân cực (như nước), làm cho chúng quay cực nên gây ra các điểm tăng nhiệt độ cục bộ bên trong vật liệu, dẫn đến phá hủy cấu trúc tế bào, tạo ra sự dịch protein ra bên ngoài và hòa tan vào dung môi nước. Ngoài ra, khi so sánh giữa các phương pháp, hàm lượng protein thu trích ly từ đậu đen xanh lòng cao hơn khi so với đậu đen thường và cần nhiều nghiên cứu hơn để đánh giá và ứng dụng trong thực tế.

Bảng 1. Ảnh hưởng của phương pháp trích ly đến khả năng trích ly protein

Phương pháp chiết	Hàm lượng protein trích ly từ đậu đen xanh lòng (mg/g chất khô)	Hàm lượng protein trích ly từ đậu đen thường (mg/g chất khô)
Trích ly truyền thống	267,4 ^{Cx} ± 1,6	248,7 ^{Cy} ± 1,1
Trích ly vi sóng	365,6 ^{Ax} ± 1,1	336,7 ^{Ay} ± 1,4
Trích ly sóng siêu âm	298,6 ^{Bx} ± 0,9	276,7 ^{By} ± 2,6

Ghi chú: Các giá trị ABC chỉ sự giống nhau giữa các mẫu đậu đen xanh lòng; abc chỉ sự sai khác có nghĩa giữa các mẫu đậu đen thường, còn xy chỉ sự sai khác giữa hai loại đậu đen.

4. KẾT LUẬN

Phương pháp dùng sóng siêu âm và vi sóng để hỗ trợ quá trình trích ly protein từ đậu đen là một phương pháp hiệu quả, nhanh gọn và tiêu tốn ít chi phí, nguyên liệu, nhưng vẫn cho được hiệu suất trích ly protein cao. Kết quả nghiên cứu cho thấy, các yếu tố của sóng siêu âm (tỉ lệ nguyên liệu: dung môi, thời gian siêu âm, nhiệt độ siêu âm, pH) và vi sóng (pH, tỉ lệ nguyên liệu: dung môi, thời gian và công suất vi sóng) đều có ảnh hưởng tích cực đến quá trình trích ly protein, giúp nâng cao hiệu suất trích ly, giảm thiểu thời gian và dung môi hao phí. So sánh giữa hai phương pháp cho thấy xử lý vi sóng cho hiệu quả trích ly protein tốt hơn với thời gian xử lý ngắn hơn. Ngoài ra so sánh giữa hai loại đậu đen cho thấy, đậu đen xanh lòng cho hàm lượng protein thu được cao hơn. Cần có thể những nghiên cứu tiếp theo để đánh giá các tính chất của protein từ hai loại đậu đen, cũng như ứng dụng của chúng trong các sản phẩm cụ thể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Reddy, N. R., Salunkhe, D. K., Sathe, S. K., and Kon, S. (1982). Biochemistry of black gram (*Phaseolus mungo* L.): A review. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 16(1), 49-114.2.
2. Salunkhe, D. K., Kadam, S. S., and Chavan, J. K. (1985). *Postharvest biotechnology of food legumes* (No. BOOK). CRC Press, Inc.

3. Fabian, C., and Ju, Y. H. (2011). A review on rice bran protein: its properties and extraction methods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(9), 816-827.

4. Hamano, Y. (2011). Occurrence, biosynthesis, biodegradation, and industrial and medical applications of a naturally occurring ε-poly-L-lysine. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 75(7), 1226-1233.

5. Karki, B., Lamsal, B. P., Grewell, D., Pometto, A. L., Van Leeuwen, J., Khanal, S. K., and Jung, S. (2009). Functional properties of soy protein isolates produced from ultrasonicated defatted soy flakes. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86, 1021-1028.

6. Choi, I. L., Choi, S. J., Chun, J. K., and Moon, T. W. (2006). Extraction yield of soluble protein and microstructure of soybean affected by microwave heating. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30(4), 407-419.

7. Song, N. B., Song, H. Y., Jo, W. S., and Song, K. B. (2013). Physical properties of a composite film containing sunflower seed meal protein and its application in packaging smoked duck meat. *Journal of Food Engineering*, 116(4), 789-795.

8. Hartree, E. F. (1972). Determination of protein: a modification of the Lowry method that

gives a linear photometric response. *Analytical biochemistry*, 48(2), 422-427.

9. Ochoa-Rivas, A., Nava-Valdez, Y., Serna-Saldivar, S. O., and Chuck-Hernández, C. (2017). Microwave and ultrasound to enhance protein extraction from peanut flour under alkaline conditions: Effects in yield and functional properties of protein isolates. *Food and Bioprocess Technology*, 10, 543-555.

10. Nguyễn Thị Ngọc Thúy, Nguyễn Thị Thu Huyền, Trương Quang Duy, Phan Huỳnh Thúy Nga, Cao Thị Cẩm Tú (2018). Ảnh hưởng của dung môi và pH đến quá trình trích ly các hợp chất có khả năng kháng oxy hóa từ tía tô (*Perilla frutescens*). *Tạp chí Khoa học công nghệ và Thực phẩm*, 14 (1), 66 - 74.

11. Yu, J., Ahmedna, M., and Goktepe, I. (2007). Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing. *Food chemistry*, 103(1), 121-129.

12. Qiaoyun, C. U. I., Xinghong, N. I., Liang, Z. E. N. G., Zheng, T. U., Jin, L. I., Kang, S. U. N.,

... and Xinghui, L. I. (2017). Optimization of protein extraction and decoloration conditions for tea residues. *Horticultural Plant Journal*, 3(4), 172-176.

13. Shewry, P. R., and Miflin, B. J. (1985). Seed storage proteins of economically important cereals. *Advances in cereal science and technology (USA)*.

14. Tu, G. L., Bui, T. H. N., Tran, T. T. T., Ton, N. M. N., and Le, V. V. M. (2015). Comparison of enzymatic and ultrasonic extraction of albumin from defatted pumpkin (*Cucurbita pepo*) seed powder. *Food Technology and Biotechnology*, 53(4), 479-487.

15. Jambrak, A. R., Lelas, V., Mason, T. J., Kresić, G., and Badanjak, M. (2009). Physical properties of ultrasound treated soy proteins. *Journal of Food Engineering*, 93(4), 386-393.

16. Amponsah, A., and Nayak, B. (2016). Effects of microwave and ultrasound-assisted extraction on the recovery of soy proteins for soy allergen detection. *Journal of food science*, 81(11), T2876-T2885.

EFFECTS OF MICROWAVE- AND ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION CONDITIONS ON THE PROTEIN CONTENT FROM GREEN AND WHITE KERNEL BLACK BEANS

(*Vigna cylindrica* (L). Skeels)

Nguyen Hoang Khoa Nguyen, Le Ngoc Lieu

Summary

In this project, microwave- and ultrasound-assisted extraction have been studied to extract protein from two types of black beans, namely green- and white-kernel black beans. In comparison to ultrasound-assisted extraction, microwave- assisted extraction leads to higher protein contents with shorter durations. For green-kernel black bean, the optimum extraction condition included the ratio material /solvent ratio of 1: 25 (w/v), pH of 12.5, power of 800 W, and microwave duration of 50 seconds (365.6 mg/g dry basis). These levels for white-kernel one were almost similar, except for the ratio material/solvent ratio of 1: 20 (w/v) and pH of 13. Furthermore, at the material/solvent ratio of 1: 15 (w/v), pH of 13, ultrasound temperature of 50°C, and ultrasound duration of 60 min, the protein extracted from green-kernel black bean reached the highest content (298.6 mg/ g dry basis), while the protein extraction yield of white-kernel one obtained the highest result at the ratio of 1: 25 (w/v), pH of 13, the temperature of 70°C and ultrasound duration of 120 min. The findings of this study demonstrate that ultrasound and microwave-assisted extraction can be considered as the potential technique for improvement in protein yield.

Keywords: *Green - kernel, black bean, white-kernel, protein extract, microwave-assisted extraction, ultrasound-assisted extraction.*

Người phản biện: PGS.TS. Chu Văn Thiện

Ngày nhận bài: 22/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 21/3/2023

Ngày duyệt đăng: 28/3/2023