

Các yếu tố ảnh hưởng đến sự oxy hoá lipid trong quá trình lên men đậu nành bởi vi khuẩn *Bacillus subtilis*

Nguyễn Thị Hồng Thắm^{1,2*}, Nguyễn Thị Lệ Ngọc¹, Nguyễn Công Hà¹

¹Khoa Nông nghiệp Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh, 126 Nguyễn Thiện Thành, phường 5, TP Trà Vinh, tỉnh Trà Vinh, Việt Nam

²Bộ môn Công nghệ Thực phẩm, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ, khu II, đường 3/2, phường Xuân Khánh, quận Ninh Kiều, TP Cần Thơ, Việt Nam

Ngày nhận bài 1/10/2021; ngày chuyển phản biện 5/10/2021; ngày nhận phản biện 27/10/2021; ngày chấp nhận đăng 2/11/2021

Tóm tắt:

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định ảnh hưởng của các yếu tố (pH, nhiệt độ và thời gian lên men) trong quá trình lên men đậu nành bởi vi khuẩn *Bacillus subtilis* tới sự oxy hoá lipid. Đậu nành được lên men ở các điều kiện khác nhau: pH (6,0, 6,3 - pH tự nhiên của nguyên liệu, 7,0 và 8,0), nhiệt độ (28, 33, 35 - nhiệt độ phòng và 38°C) và thời gian lên men (24, 36, 48 và 60 giờ). Để xác định mức độ oxy hoá lipid, các thông số liên quan đến sự oxy hoá như DPPH, IC50, hàm lượng lipid tổng, peroxyt, TBARs, hàm lượng acid béo tự do đã được xác định. Sự oxy hoá lipid xảy ra mạnh nhất ở pH 6,0, nhiệt độ 35°C và thời gian lên men 60 giờ; sự oxy hoá xảy ra thấp nhất ở pH 7,0, nhiệt độ 28°C và thời gian lên men 24 giờ.

Từ khóa: *Bacillus subtilis*, đậu nành, lên men, lipid, oxy hoá.

Chỉ số phân loại: 2.10

1. Mở đầu

Đậu nành (*Glycine max*) được trồng đầu tiên ở Đông Á cách đây hàng nghìn năm, từ lâu đã trở thành nguồn protein quan trọng, bổ sung cho protein ngũ cốc ở các nước châu Á [1]. Lipid đại diện cho một trong những lớp thành phần quan trọng nhất trong đậu nành. Về mặt kinh tế, dầu đậu nành chiếm khoảng 29% sản lượng dầu và mỡ trên thế giới. Lipid đậu nành chủ yếu nằm trong lá mầm đậu nành và chiếm khoảng 20% trọng lượng của nó. Về mặt sinh lý học, lipid đậu nành có nhiều chức năng, bao gồm vai trò là một phần của màng, hoạt động như một nguồn dự trữ năng lượng và làm môi trường dung môi cho nhiều chất hòa tan trong lipid [2]. Đậu nành không chỉ rất giàu protein mà còn chứa các axit béo không bão hòa, đặc biệt là axit linoleic - một axit béo không bão hòa đa ω6 được cho là có lợi cho sức khỏe con người [3]. Trong số các loại đậu, đậu nành là cây họ đậu duy nhất cung cấp một lượng đáng kể axit α-linolenic - một axit béo ω3 thiết yếu [4]. Việc thay thế thực phẩm giàu axit béo bão hòa bằng thực phẩm đậu nành cho thấy sự cải thiện nồng độ cholesterol và giảm nguy cơ bệnh tim mạch vành [5, 6]. Nguy cơ mắc bệnh tim mạch có thể được giảm bớt nhờ một chế độ ăn uống cung cấp nhiều nguồn protein thực vật hơn so với chế độ ăn uống điển hình của người Mỹ gồm các loại thực phẩm protein từ động vật chưa qua chế biến và ít chất béo bão hòa [7]. Thành phần đậu nành đã kích thích sự quan tâm nghiên cứu của các nhà khoa học, nhất là isoflavone - một polyphenol có đặc tính estrogen chứa nhiều trong đậu nành [8]. Ngoài isoflavone và protein, đậu nành là một nguồn cung cấp axit béo không bão hòa, vitamin B,

chất xơ, sắt, canxi, kẽm và các hợp chất hoạt tính sinh học khác giúp chúng trở thành một ứng cử viên sáng giá cho một loại thực phẩm chức năng. Hàm lượng chất xơ trong đậu nành chủ yếu là polysaccharides pectic, một loại chất xơ thực vật có thể lên men tốt nhờ hệ vi sinh vật đường ruột [9].

Đậu nành có thể được pha trộn và đun nóng để chiết xuất sữa đậu nành, cũng có thể được xử lý bằng magie clorua hoặc canxi sunphat sữa đông để lấy đậu phụ. Ngoài ra, các phương pháp xử lý lên men khác nhau rất hữu ích để có được natto, tempeh, nước tương và sufu [10]. Quá trình lên men của thực phẩm đậu nành không chỉ ảnh hưởng đến tính chất cảm quan và thời hạn sử dụng mà còn có thể xảy ra những thay đổi về giá trị dinh dưỡng và khả năng tiêu hóa [11]. Ngoài ra, vi sinh vật được sử dụng để lên men có thể cung cấp thêm các đặc tính có lợi cho sức khỏe con người như các chức năng của probiotic [12]. Mặc dù đậu nành được biết là có chứa các yếu tố chống dinh dưỡng, chẳng hạn như phytates, chất ức chế trypsin và lectin [13], hầu hết các sản phẩm đậu nành lên men đã được phân tích chứa một lượng rất nhỏ các yếu tố này, khi so sánh với đậu nành thô [14].

Quá trình oxy hóa lipid là nguyên nhân chính làm giảm chất lượng của thực phẩm và sản phẩm. Quá trình oxy hóa có thể xảy ra ở cả triglycerid và phospholipid của thực phẩm vì lipid được chia thành hai lớp chính: lipid phân cực (phospholipid) và lipid trung tính (triglycerid). Quá trình oxy hóa lipid từ lâu đã được công nhận là một vấn đề lớn trong việc lưu trữ các axit béo trong thực phẩm. Quá trình oxy hóa xảy ra bởi một số cơ chế phân tử như tạo ra các

*Tác giả liên hệ: Email: thamnguyentvu@gmail.com

Factors affecting lipid oxidation in the soybean fermentation by *Bacillus subtilis*

Thi Hong Tham Nguyen^{1,2*}, Thi Le Ngoc Nguyen¹,
Cong Ha Nguyen¹

¹Agriculture and Aquaculture Faculty, Tra Vinh University,

126 Nguyen Thien Thanh Street, Ward 5, Tra Vinh City, Tra Vinh Province, Vietnam

²Department of Food Technology, College of Agriculture, Can Tho University,
Area II, 3/2 Street, Xuan Khanh Ward, Ninh Kieu District, Can Tho City, Vietnam

Received 1 October 2021; revised 27 October 2021; accepted 2 November 2021

Abstract:

The study aimed to determine lipid oxidation affected by factors (pH, fermentation temperature, fermentation time) during soybean fermentation by *Bacillus subtilis*. Soybean is fermented at different fermentation conditions: pH (6.0, 6.3 - natural pH of raw materials, 7.0, 8.0), temperature (28, 33, 35 - room temperature, and 38°C), and fermentation time (24, 36, 48, and 60 hours). To determine the degree of lipid oxidation, the parameters related to oxidation such as DPPH, IC50, total lipid content, peroxide, TBARs, and free fatty acid content were determined. The most intense lipid oxidation occur at pH 6.0, 35°C, and 60 hours of fermentation time. The lowest lipid oxidation occurred at pH 7.0, temperature 28°C, and fermentation time of 24 hours.

Keywords: *Bacillus subtilis*, fermentation, lipid, oxidation, soybean.

Classification number: 2.10

tiền chất oxy phản ứng và các gốc tự do. Quá trình oxy hóa ảnh hưởng đến nhiều tương tác giữa các thành phần thực phẩm, dẫn đến tạo các sản phẩm mong muốn và không mong muốn. Lipid thực phẩm là thành phần dễ bị oxy hóa nhất, do đó phản ứng oxy hóa là một trong những nguồn gây hư hỏng chính xảy ra trong quá trình sản xuất, bảo quản, phân phối thực phẩm. Các sản phẩm oxy hóa lipid có mặt khắp nơi trong thực phẩm, mặc dù có nhiều sự khác biệt về chủng loại và mức độ hiện tại của chúng. Mặc dù mức độ của các hợp chất này nói chung là thấp, vấn đề oxy hóa lipid làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng của một số sản phẩm thực phẩm và hạn chế thời hạn sử dụng của một số sản phẩm khác. Sự thay đổi mức độ oxy hóa có thể gây ôi thiu như mất mùi vị, mất màu, thay đổi giá trị dinh dưỡng và có thể tạo ra các hợp chất độc hại, có thể gây hại cho sức khỏe của người tiêu dùng. Chất chống oxy hóa và chất chelat là những chất ức chế hữu ích nhất của quá trình oxy hóa lipid. Tốc độ oxy hóa phụ thuộc vào mức độ không bão hòa và tăng khi tăng liên kết đôi của axit béo. Khi oxy phản ứng với lipid không bão hòa, nhiều loại sản phẩm oxy hóa được tạo ra bởi quá trình peroxy hóa lipid [15].

Hiện nay, các peroxit lipid khác nhau được tạo ra bởi quá trình peroxy hóa lipid như vậy. Tuy nhiên, trong số các loại thực phẩm truyền thống lâu đời, có những loại thực phẩm có hương vị tốt được tạo ra bằng quá trình peroxy hóa lipid. Vì vậy, các peroxit lipid được tạo ra bởi quá trình peroxy hóa lipid cũng có thể có lợi. Các đặc tính của thực phẩm có thể được cải thiện bằng cách sử dụng tốt hơn các đặc tính của peroxit lipid. Nghiên cứu hiện tại đã cung cấp một phát hiện thú vị: khi lipoxigenase được thêm vào trong quá trình lên men bột bánh mì, quá trình lên men của bột nhào đã được thúc đẩy [16].

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Vì khuẩn *Bacillus subtilis* được phân lập từ Phòng thí nghiệm sinh học của Khoa Nông nghiệp Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh; đậu nành mua từ Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

Hóa chất: mua của Công ty TNHH thiết bị - hóa chất khoa học kỹ thuật An Khánh (Cần Thơ) và Công ty TNHH công nghệ đồng hành phát (TP Hồ Chí Minh).

Quá trình lên men đậu nành: Đậu nành được ngâm qua đêm cho lớp vỏ trương nở tạo điều kiện cho việc tách vỏ dễ dàng hơn đồng thời tạo điều kiện cho quá trình hấp chín đậu nhanh, đồng đều. Sau khi tách vỏ, đậu nành được rửa lại nhiều lần cho đến khi không còn mùi của nước ngâm và cho vào nồi hấp 45 phút đến khi hạt đậu nành chín mềm, làm nguội và cho vào bình tam giác (50 g đậu nành/bình). Các chủng *Bacillus* spp. được nuôi trên hạt đậu nành đã hấp chín với tỷ lệ giống 1% (mật số vi khuẩn là 10^4 CFU/g), chiều dày môi trường 2 cm, nuôi ở nhiệt độ 37°C, thời gian lên men 24 giờ để thu enzyme protease và nattokinase [17]. Sản phẩm enzyme thô thu được cho vào túi ép chân không và bảo quản lạnh.

Có 3 thí nghiệm gồm: xác định pH, nhiệt độ và thời gian lên men. Ở từng thí nghiệm sẽ thay đổi các thông số tương ứng, các thông số còn lại được cố định.

2.2. Phương pháp

TBARs (Thiobarbituric acid reactive substances) được phân tích theo phương pháp của P.J. Ke và A.D. Woyewoda (1979) [18]: chuẩn bị dung dịch mẫu bằng cách cân 2 g đậu nành lên men (được nghiền mịn) và trích ly 2 lần với 10 ml dung dịch TCA 5%, mỗi lần vortex 1 phút, thu dịch chiết. Phân tích mẫu được thực hiện bằng cách lấy 1 ml mẫu và 5 ml dung dịch TBA (180 ml TBA chuẩn, 120 ml chloroform, 15 ml Na_2SO_3 0,3 M) cho vào ống nghiệm, đem đi vortex khoảng 15 giây rồi đun cách thủy trong 45 phút; làm lạnh nhanh ống nghiệm bằng nước đá, cho vào mỗi ống nghiệm 2,5 ml dung dịch TCA 0,28 M và vortex 15 giây. Sau đó, dung dịch được ly tâm với tốc độ 2500 vòng/phút ở 25°C

trong 5 phút; sau khi ly tâm hút lớp dung dịch phía trên đem so màu trên máy so màu quang phổ ở bước sóng 538 nm. Mặt khác, chuẩn bị thêm các ống chứa mẫu đậu nành lên men tương ứng như trên rồi cho vào 1 ml TEP 200 μ M và tiến hành chiết tách tương tự để tính hiệu suất thu hồi. Hàm lượng TBARs được tính thông qua đường chuẩn TEP.

Khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết được xác định theo H.Y. Fu và D.E. Shieh (2001) [19] với một vài hiệu chỉnh nhỏ. 3 g mẫu được trích ly qua đêm ở -18°C với 27 ml methanol. Các hỗn hợp được ly tâm bằng máy Hermle Labortechnik Z323K ở 6.000 g trong 10 phút. Hút 3 ml chất nổi phía trên vào ống nghiệm. Sau đó thêm vào 1 ml dung dịch DPPH 0,1 mM (pha trong methanol 99,5%), lắc đều và để yên trong bóng tối 30 phút. Mẫu luôn được giữ tránh ánh sáng trực tiếp trong suốt quá trình phân tích. Độ hấp thụ quang học được đo ở bước sóng 517 nm. Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định theo công thức sau:

$$\text{DPPH (\%)} = 100 \times (\text{ACT} - \text{ASP}) / \text{ACT}$$

trong đó: ACT là độ hấp thụ quang học của mẫu trắng không chứa dịch chiết; ASP là độ hấp thụ quang học của mẫu có chứa dịch chiết.

Kết quả báo cáo bởi giá trị IC₅₀ là nồng độ dịch chiết cho khả năng khử gốc tự do DPPH là 50%. Từ tỷ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH, phương trình tương quan tuyến tính được xây dựng, từ đó xác định giá trị IC₅₀ để làm cơ sở so sánh khả năng kháng oxy hóa giữa các mẫu. Mẫu có giá trị IC₅₀ càng thấp thì hoạt tính kháng oxy hóa càng cao.

Phân tích peroxit theo TCVN 6121:2010. Phần mẫu thử được hòa tan trong isoocetan và axit axetic rồi bổ sung kali iodua. Iôt được giải phóng bởi các peroxit được xác định bằng chuẩn độ iôt (quan sát bằng mắt thường) với chất chỉ thị là hồ tinh bột và dung dịch chuẩn natri thiosulfat. Điểm kết thúc chuẩn độ được xác định bằng phương pháp chuẩn độ iôt (quan sát bằng mắt thường).

Phân tích lipid tổng: cân khoảng 3 g mẫu đậu nành lên men (đã được nghiền mịn) đã sấy ẩm đến khối lượng không đổi, gói lại bằng giấy lọc (đã sấy và cân khối lượng), cho gói mẫu vào ống chiết (Soxhlet). Sau đó cho dung môi (ether 60-90) vào khoảng 2/3 bình cầu và bật hệ thống Soxhlet, thời gian chiết béo khoảng 24 giờ. Kiểm tra xem đã trích ly hết chất béo chưa bằng cách dùng đũa thủy tinh lấy 1 giọt dầu từ hệ thống Soxhlet thử trên mặt kính đồng hồ, nếu không thấy vết loang xem như quá trình trích ly đã hoàn toàn. Sau khi quá trình cất béo kết thúc, các gói mẫu được sấy ở nhiệt độ 105°C đến khối lượng không đổi và đem cân khối lượng.

Hàm lượng lipid tổng được tính theo công thức:

$$\% \text{ lipid} = (m_1 - m_2) \times 100 / m_1$$

trong đó: m_1 : khối lượng mẫu cân phân tích (g); m_2 : khối lượng mẫu sau khi trích béo được sấy ở 105°C.

Phân tích acid béo tự do FFA theo TCVN 6127:2010: mẫu thử được hòa tan trong hỗn hợp dung môi thích hợp và các axit có mặt được chuẩn độ bằng dung dịch kali hoặc natri hydroxit trong etanol hoặc trong metanol.

2.3. Xử lý thống kê

Sử dụng phương pháp phân tích phương sai ANOVA nhằm kiểm định độ tin cậy với mức ý nghĩa 5% để đánh giá sự khác biệt của các kết quả trong các thí nghiệm, sử dụng phần mềm thống kê Statgraphics Centurion XVI.

3. Kết quả và bàn luận

Trong quá trình lên men, môi trường lên men có ảnh hưởng rất lớn đến chất lượng sản phẩm, đặc biệt là các sản phẩm chứa nhiều chất béo dễ bị oxy hoá nên cần kiểm soát quá trình lên men để hạn chế thấp nhất sự oxy hoá lipid. Trong phạm vi bài báo này, chúng tôi tập trung vào các yếu tố pH, nhiệt độ và thời gian lên men ảnh hưởng đến sự oxy hoá lipid. Để xác định mức độ oxy hoá lipid như thế nào thì các thông số liên quan đến sự oxy hoá như DPPH, IC₅₀, hàm lượng lipid tổng, peroxyt, TBARs, hàm lượng acid béo tự do đã được xác định.

Theo P. Kulkarni và cs (2020) [20], các thông số khác nhau như giá trị Peroxide (PV), Anisidine (AV), Thiobarbituric acid (TBARs) và Iodine (IV) là những chỉ số có thể đánh giá chất lượng của dầu.

3.1. Ảnh hưởng của pH đến sự oxy hoá lipid trong quá trình lên men đậu nành

pH có ý nghĩa quan trọng trong quá trình lên men, độ pH ảnh hưởng nhiều đến năng suất cũng như sự hình thành sản phẩm, quá trình lên men tốt khi các điều kiện lên men thích hợp, trong đó có pH, khi đó các sản phẩm chính là chủ yếu, các sản phẩm phụ và quá trình oxy hoá bị hạn chế.

Bảng 1. Ảnh hưởng của pH đến sự oxy hoá lipid trong quá trình lên men đậu nành.

pH	DPPH (%)	IC ₅₀ (mg/g CKNL)	Hàm lượng lipid tổng (%)	Peroxyt (mEq/kg lipid), CBK	TBARs (μ mol TBARs/g) hoặc MDA (mg/kg), CBK	Hàm lượng acid béo tự do (% acid oleic), CBK
6,0	44,0 ^a ±0,49	0,52 ^a ±0,52	24,52 ^b ±0,4	1,8 ^a ±0,14	30,59 ^c ±0,06	1,88 ^a ±0,33
6,3	52,0 ^a ±0,68	0,43 ^c ±0,43	26,2 ^{ab} ±2,33	1,21 ^b ±0,23	49,15 ^a ±0,22	3,01 ^b ±0,33
7,0	51,6 ^a ±0,41	0,38 ^d ±0,38	27,11 ^{ab} ±1,1	0,81 ^c ±0,09	35,29 ^b ±0,53	3,38 ^{ab} ±0,56
8,0	47,7 ^b ±3,32	0,49 ^b ±0,49	28,74 ^a ±1,8	1,78 ^a ±0,09	35,85 ^b ±0,2	3,76 ^a ±0,33

Ghi chú: CKNL: chất khô nguyên liệu; CBK: cân bản khô; các chữ cái khác nhau trong cùng một cột (hoặc một hàng) thể hiện sự khác biệt giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử LSD.

Kết quả bảng 1 cho thấy, ở pH 6,0 sự oxy hoá lipid xảy ra rất mạnh, ở điều kiện này DPPH thấp nhất (44%), hàm lượng lipid tổng, acid béo tự do, TBARs thấp nhưng IC₅₀ và hàm lượng peroxylt cao nhất (lần lượt là 0,52 mg/g CKNL và 1,8 mEq/kg lipid). Ở pH 6,3, DPPH cao nhất 52% nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với ở pH 7,0 (DPPH 51,6%), trong khi đó các thông số IC₅₀, peroxylt, TBARs thấp hơn ở pH 6,0 và hàm lượng lipid tổng, acid béo tự do cao hơn, điều đó cho thấy tại pH 6,3 sự oxy hoá lipid xảy ra mạnh hơn ở pH 7,0. Kết quả bảng 1 còn cho thấy sự oxy hoá lipid giảm từ pH 6,0 đến 7,0, nhưng đến pH 8,0 thì sự oxy hoá lipid tăng trở lại. Để hạn chế sự oxy hoá lipid nên điều chỉnh pH môi trường lên men về 7,0. Điều này tương tự khi khảo sát sự oxy hoá lipid trong thịt cá lóc nuôi, kết quả sự oxy hoá lipid và protein của cơ thịt cá lóc được hạn chế khi pH của dung dịch muối ở khoảng trung tính [21].

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến sự oxy hoá lipid

Nhiệt độ lên men tối thích sẽ cho sản phẩm có chất lượng tốt, *Bacillus subtilis* là vi khuẩn chịu nhiệt, theo các tài liệu nghiên cứu trên thế giới và tại Việt Nam, trong điều kiện nhiệt độ 30-37°C, loài vi khuẩn này sinh trưởng và phát triển tốt nhất [22]. Do đó, mỗi quá trình lên men có nhiệt độ lên men tối ưu, khi nhiệt độ vượt qua một giới hạn nhất định thì quá trình lên men sẽ giảm, các sản phẩm phụ sinh ra nhiều và đặc biệt là sự oxy hoá xảy ra mạnh mẽ.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến sự oxy hoá lipid trong quá trình lên men đậu nành.

Nhiệt độ lên men (°C)	DPPH (%)	IC ₅₀ (mg/g CKNL)	Hàm lượng lipid tổng (%)	Peroxyt (mEq/kg lipid), CBK	TBARs (μmol TBARs/g) hoặc MDA (mg/kg), CBK	Hàm lượng acid béo tự do (% acid oleic), CBK
28	46,1 ^a ±0,31	0,62 ^b ±0,62	24,56 ^d ±0,67	1,34 ^b ±0,05	13,83 ^d ±0,02	3,76 ^a ±0,86
33	47,2 ^a ±1,66	0,96 ^b ±0,96	29,2 ^d ±0,54	3,28 ^a ±0,47	19,18 ^a ±0,13	4,14 ^a ±0,33
35	43,4 ^a ±1,95	1,0 ^a ±1,0	30,86 ^a ±0,82	3,17 ^a ±0,31	31,55 ^a ±0,21	3,2 ^a ±0,33
38	44,5 ^a ±1,81	0,47 ^c ±0,47	33,17 ^a ±0,47	3,11 ^a ±0,34	22,19 ^b ±0,12	4,14 ^a ±0,86

Ghi chú: các chữ cái khác nhau trong cùng một cột (hoặc một hàng) thể hiện sự khác biệt giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử LSD.

Kết quả bảng 2 cho thấy, sự oxy hoá xảy ra mạnh nhất ở nhiệt độ 35°C và yếu nhất ở 28°C. Tuy nhiên, sự oxy hoá lipid lại xảy ra mạnh nhất ở cả 2 nhiệt độ này (chỉ số peroxyt ở 2 nhiệt độ 33 và 35°C lần lượt là 3,28 và 3,17 mEq/kg lipid, không có sự khác biệt ý nghĩa ở mức p=0,05), nhưng nếu xét thêm chỉ số TBARs thì rõ ràng sự oxy hoá lipid xảy ra mạnh nhất ở 35°C (TBARs cao nhất 31,55 μmol TBARs/g) và thấp nhất ở 28°C (peroxyt 1,34 mEq/kg lipid và TBARs 13,83 μmol TBARs/g, cả 2 chỉ số này có giá trị thấp nhất ở nhiệt độ này). Hàm lượng acid béo tự do không có sự khác biệt ý nghĩa giữa các nhiệt độ lên men khác nhau. Ở nhiệt độ 38°C, sự oxy hoá lipid giảm nhưng không đáng

kể. Qua đó cho thấy, sự oxy hoá lipid tăng khi nhiệt độ lên men tăng từ 28 đến 35°C và giảm khi nhiệt độ lên men vượt quá 35°C, điều này tương tự các nghiên cứu của K. Liu và cs (2019) [23] là nhiệt độ cao dẫn đến mức độ oxy hóa lipid cao và mất chất dinh dưỡng; M. Sajib và cs (2020) [24] là khi tăng nhiệt độ và thời gian ủ cá trích từ 17 đến 37°C sự oxy hoá lipid cũng tăng.

3.3. Ảnh hưởng của thời gian lên men đến sự oxy hoá lipid

Mỗi một quá trình lên men có thời gian lên men thích hợp, khi đó lượng sản phẩm hình thành cao nhất và nếu kéo dài thời gian lên men thì sản phẩm cũng không được tạo ra thêm, khi đó các cơ chất gần như cạn kiệt và quá trình lên men kết thúc.

Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian lên men đến sự oxy hoá lipid trong quá trình lên men đậu nành.

Thời gian lên men (giờ)	DPPH (%)	IC ₅₀ (mg/g CKNL)	Hàm lượng lipid tổng (%)	Peroxyt (mEq/kg lipid), CBK	TBARs (μmol TBARs/g) hoặc MDA (mg/kg), CBK	Hàm lượng acid béo tự do (% acid oleic), CBK
24	52,5 ^a ±1,46	0,78 ^a ±0,78	25,59 ^b ±1,09	2,15 ^d ±0,09	61,7 ^a ±0,12	3,95 ^a ±0,56
36	45,9 ^b ±0,81	0,39 ^b ±0,39	32,7 ^a ±2,5	2,36 ^c ±0,09	59,59 ^a ±0,33	2,26 ^b ±0,56
48	42,4 ^a ±1,3	0,77 ^a ±0,77	33,19 ^a ±0,96	2,51 ^b ±0,09	75,95 ^a ±0,36	1,5 ^b ±0,33
60	42,0 ^a ±1,38	0,34 ^c ±0,34	30,43 ^a ±0,55	3,41 ^a ±0,05	69,14 ^b ±0,32	1,32 ^c ±0,33

Ghi chú: các chữ cái khác nhau trong cùng một cột (hoặc một hàng) thể hiện sự khác biệt giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử LSD.

Kết quả bảng 3 cho thấy, quá trình oxy hoá tăng dần khi thời gian lên men kéo dài từ 24 đến 60 giờ, 48 giờ lên men sự oxy hoá đã bắt đầu xảy ra mạnh, IC₅₀ 0,77 mg/g CKNL và chỉ số TBARs 75,95 μmol TBARs/g đạt giá trị cao nhất so với các thời gian lên men khác. Tuy nhiên, sự oxy hoá lipid thì xảy ra mạnh nhất ở 60 giờ, chỉ số peroxyt cao nhất ở thời gian này (3,41 mEq/kg lipid), trong khi chỉ số TBARs bắt đầu giảm.

4. Kết luận

Qua khảo sát các điều kiện lên men đậu nành bởi vi khuẩn *Bacillus subtilis*, sự oxy hoá lipid xảy ra mạnh mẽ ở pH 6,0, nhiệt độ càng cao và thời gian lên men càng dài sự oxy hoá lipid càng tăng và sự oxy hoá lipid xảy ra mạnh nhất ở nhiệt độ 35°C và thời gian lên men 60 giờ. Sự oxy hoá lipid xảy ra thấp nhất ở pH 7,0, nhiệt độ 28°C và thời gian lên men 24 giờ. Cần có các nghiên cứu ức chế sự oxy hoá trong quá trình lên men để hạn chế sự thất thoát các chất dinh dưỡng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Dự án phát triển Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 từ nguồn vốn vay ODA của Nhật Bản. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H. El-Shemy (2011), *Soybean and Health*, Intechopen, 514pp.
- [2] J.A. Gerde, P.J. White (2008), "7 - lipids", *AOCS Press*, pp.193-227, DOI: 10.1016/B978-1-893997-64-6.50010-X.
- [3] M. Friedman, D.L. Brandon (2001), "Nutritional and health benefits of soy proteins", *J. Agric. Food Chem.*, **49**(3), pp.1069-1086, DOI: 10.1021/jf0009246.
- [4] J. Kang, T.M. Badger, M.J.J. Ronis, et al. (2010), "Non-isoflavone phytochemicals in soy and their health effects", *J. Agric. Food Chem.*, **58**(14), pp.8119-8133, DOI: 10.1021/jf100901b.
- [5] M.U. Jakobsen, E.J. O'Reilly, B.L. Heitmann, et al. (2009), "Major types of dietary fat and risk of coronary heart disease: A pooled analysis of 11 cohort studies", *Am. J. Clin. Nutr.*, **89**(5), pp.1425-1432, DOI: 10.3945/ajcn.2008.27124.
- [6] D. Mozaffarian, R. Micha, S. Wallace (2010), "Effects on coronary heart disease of increasing polyunsaturated fat in place of saturated fat: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials", *PLOS Med.*, **7**(3), DOI: 10.1371/journal.pmed.1000252.
- [7] C.K. Richter, A.C. Skulas-Ray, C.M. Champagne, et al. (2015), "Plant protein and animal proteins: Do they differentially affect cardiovascular disease risk?", *Adv. Nutr.*, **6**(6), pp.712-728, DOI: 10.3945/an.115.009654.
- [8] G. Rizzo, L. Baroni (2018), "Soy, soy foods and their role in vegetarian diets", *Nutrients*, **10**(1), DOI: 10.3390/nu10010043.
- [9] F. Yamaguchi, Y. Ota, C. Hatanaka (1996), "Extraction and purification of pectic polysaccharides from soybean okara and enzymatic analysis of their structures", *Carbohydr. Polym.*, **30**(4), pp.265-273, DOI: 10.1016/S0144-8617(96)00046-X.
- [10] K. Zaheer, M.H. Akhtar (2017), "An updated review of dietary isoflavones: Nutrition, processing, bioavailability and impacts on human health", *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **57**(6), pp.1280-1293, DOI: 10.1080/10408398.2014.989958.
- [11] W.P. Hammes (1991), "Fermentation of non-dairy foods", *Food Biotechnol.*, **5**(3), pp.293-303, DOI: 10.1080/08905439109549811.
- [12] K.J. Heller (2001), "Probiotic bacteria in fermented foods: Product characteristics and starter organisms", *Am. J. Clin. Nutr.*, **73**(2), pp.374s-379s, DOI: 10.1093/ajcn/73.2.374s.
- [13] H. Licandro, P.H. Ho, T.K.C. Nguyen, et al. (2019), "How fermentation by lactic acid bacteria can address safety issues in legumes food products?", *Food Control*, **110**, DOI: 10.1016/j.foodcont.2019.106957.
- [14] R.L. Anderson, W.J. Wolf (1995), "Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing", *J. Nutr.*, **125**(3), pp.581S-588S, DOI: 10.1093/jn/125.suppl_3.581S.
- [15] M. Ahmed, J. Pickova, T. Ahmad, et al. (2016), "Oxidation of lipids in foods", *Sarhad J. Agric.*, **32**(3), pp.230-238, DOI: 10.17582/journal.sja/2016.32.3.230.238.
- [16] P.V. Hung, T. Maeda, S. Yamamoto, et al. (2012), "Effects of germination on nutritional composition of waxy wheat", *J. Sci. Food Agric.*, **92**(3), pp.667-672, DOI: 10.1002/jsfa.4628.
- [17] L.T.B. Phuong, V.T. Hanh, T.T. Phong, et al. (2012), "Isolation and selection of some *Bacillus subtilis* strains that produce nattokinase", *Vietnam Journal of Biology*, **34**(3SE), pp.99-104 (in Vietnamese).
- [18] P.J. Ke, A.D. Woyewoda (1979), "Microdetermination of thiobarbituric acid values in marine lipids by a direct spectrophotometric method with a monophasic reaction system", *Anal. Chim. Acta*, **106**(2), pp.279-284, DOI: 10.1016/S0003-2670(01)85011-X.
- [19] H.Y. Fu, D.E. Shieh (2001), *Antioxidant and Free Radical Scavenging*, Rutgers University, 9, pp.35-46.
- [20] P. Kulkarni (2020), "Oxidation of oil and its associated losses in poultry nutrition - engormix", *Engormix*, <https://en.engormix.com/poultry-industry/articles/oxidation-oil-its-associated-t45429.htm>, accessed 25 August 2021.
- [21] T.B. Long, N.V. Muoi, T.T. Truc (2019), "Effect of salting on lipid oxidation and protein oxidation of snakehead fish (*Channa striata*) meat", *CTU Journal of Science*, **55**, pp.301-310, DOI: 10.22144/ctu.jsi.2019.074 (in Vietnamese).
- [22] H.T.T. Thy, N.N.T. Thuy, V.M. Son (2011), "Investigate some characteristics of *Bacillus subtilis* B20.1 for probiotic product to prevent disease caused by *Edwardsiella ictaluri* on stripe catfish (*Pangasius hypophthalmus*) cultured in intensive farms", *Proceedings of the National Aquatic Science Conference*, pp.225-233 (in Vietnamese).
- [23] K. Liu, Y. Liu, F. Chen (2019), "Effect of storage temperature on lipid oxidation and changes in nutrient contents in peanuts", *Food Sci. Nutr.*, **7**(7), pp.2280-2290, DOI: 10.1002/fsn3.1069.
- [24] M. Sajib, E. Albers, M. Langeland, et al. (2020), "Understanding the effect of temperature and time on protein degree of hydrolysis and lipid oxidation during ensilaging of herring (*Clupea harengus*) filleting coproducts", *Sci. Rep.*, **10**(1), DOI: 10.1038/s41598-020-66152-0.