

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC MỞ HÀ NỘI**



ĐỒ ÁN THẠC SĨ

CHUYÊN NGÀNH: CÔNG NGHỆ SINH HỌC

**NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG ENZYME VÀ SÓNG
SIÊU ÂM TRONG CHIẾT XUẤT PROTEIN TỪ ĐẬU
TƯƠNG**

HỌC VIÊN THỰC HIỆN: DƯƠNG ANH TÚ

Hà Nội, 2026.

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC MỞ HÀ NỘI**



ĐỒ ÁN THẠC SĨ

**NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG ENZYME VÀ SÓNG
SIÊU ÂM TRONG CHIẾT XUẤT PROTEIN TỪ ĐẬU
TƯƠNG**

CHUYÊN NGÀNH: CÔNG NGHỆ SINH HỌC

MÃ NGÀNH: 8420201

GIÁO VIÊN HƯỚNG DẪN 1: TS. ĐẶNG HỒNG ÁNH

GIÁO VIÊN HƯỚNG DẪN 2: TS. BÙI THỊ HẢI HÒA

Hà Nội, 06/2026.

LỜI CAM ĐOAN

Tôi cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi và một số kết quả cùng cộng tác với các cộng sự khác.

Các số liệu kết quả nêu trong luận văn là trung thực, một phần đã được công bố trên các hội nghị, phần còn lại chưa được ai công bố trong bất cứ công trình nào khác.

Nếu có gì sai sót, tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm.

Ký và ghi rõ họ tên

LỜI CẢM ƠN

Để có thể hoàn thành được đồ án này, em xin chân thành cảm ơn cô TS. Đặng Hồng Ánh, cùng các cô chú tại phòng Bộ môn Công nghệ Chế biến Nông Sản và Đồ Uống, Viện Công nghiệp Thực phẩm đã tận tình hướng dẫn, định hướng cách tư duy và cách làm việc khoa học tạo điều kiện tốt nhất để em hoàn thành khóa luận tốt nghiệp.

Em xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến cô TS. Bùi Thị Hải Hòa, khoa công nghệ sinh học, trường Đại học Mở Hà Nội đã đưa ra những lời khuyên, chỉ bảo tận tình trong quá trình học tập cũng như khóa luận tốt nghiệp này.

Em xin chân thành cảm ơn các thầy, cô tại trường Đại học Mở Hà Nội. Đặc biệt là các thầy cô trong khoa công nghệ sinh học đã truyền đạt những kiến thức bổ ích, tạo mọi điều kiện trong quá trình học tập nghiên cứu giúp chúng em có hành trang vững chắc trước khi tốt nghiệp.

Cuối cùng, em xin gửi lời cảm ơn chân thành nhất đến gia đình, bạn bè đã luôn động viên, chia sẻ cũng như đồng hành cùng em trong suốt chặng đường vừa qua.

Người thực hiện

Dương Anh Tú

MỤC LỤC

PHẦN1: ĐẶT VẤN ĐỀ	1
1.1. Tính cấp thiết của đề tài.....	1
1.2. Mục tiêu của đề tài.....	2
1.2.1. Ý nghĩa khoa học	2
1.2.2. Ý nghĩa thực tiễn.....	2
1.3. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu	2
1.3.1. Đối tượng nghiên cứu	2
1.3.2. Phạm vi nghiên cứu.....	3
1.4. Nội dung nghiên cứu	3
PHẦN2: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
2.1. Tổng quan chung	4
2.1.1. Tổng quan về đậu tương	4
2.1.2. Thành phần hóa học của đậu tương	5
2.2. Tính chất và tiềm năng của nguồn protein có trong đậu tương	5
2.3. Tổng quan về công nghệ sản xuất protein đậu tương.....	9
2.3.1. Chiết xuất protein.....	9
2.3.2. Quy trình công nghệ chiết.....	9
2.3.3. Phương pháp chiết	11
2.4. Ứng dụng sóng siêu âm và enzyme trong quá trình trích ly protein	14
2.4.1. Ứng dụng sóng siêu âm trong quá trình trích ly protein	14
2.4.2. Ứng dụng enzyme trong quá trình trích ly protein	16
2.5. Enzyme sử dụng trong quá trình chiết tách protein đậu tương.....	17
PHẦN3: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	18
3.1. Vật liệu nghiên cứu.....	18
3.1.1. Đối tượng nghiên cứu	18
3.1.2. Hóa chất, dụng cụ và thiết bị nghiên cứu.....	19

3.2.	Thời gian nghiên cứu	20
3.3.	Địa điểm nghiên cứu.....	20
3.4.	Phương pháp nghiên cứu	20
3.4.1.	Phương pháp thu thập tài liệu	20
3.4.2.	Phương pháp xử lý nguyên liệu	20
3.4.3.	Phương pháp chiết xuất protein	20
3.4.4.	Phương pháp hỗ trợ sóng siêu âm.....	21
3.4.5.	Bố trí thí nghiệm	21
3.5.	Các phương pháp phân tích	26
3.5.1.	Xác định độ pH	26
3.5.2.	Phương pháp xác định đường khử	26
3.5.3.	Xác định hàm lượng Cacbonhydrate tổng số	27
3.5.4.	Xác định nồng độ chất khô hòa tan tổng số (TSS)	28
3.5.5.	Xác định độ ẩm	29
3.5.6.	Sử dụng phương pháp Kjeldahl xác định hàm lượng protein	29
PHẦN4:	KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	31
4.1.	Quá trình trích ly protein đậu tương..	31
4.1.1.	Lựa chọn phương pháp chiết xuất protein	31
4.1.2.	Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu / nước.....	32
4.1.3.	Ảnh hưởng của thời gian xử lý enzyme đến quá trình chiết tách protein	34
4.1.4.	Ảnh hưởng của độ pH đến thu hồi hàm lượng protein của đậu tương. 37	
4.1.5.	Ứng dụng để thu nhận protein quy mô phòng thí nghiệm	38
4.2.	Xây dựng quy trình chiết xuất protein từ đậu tương quy mô phòng thí nghiệm.40	
PHẦN5:	KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	43
5.1.	Kết luận.....	43
5.2.	Kiến nghị	43

PHẦN 6: TÀI LIỆU THAM KHẢO	44
6.1. Tài liệu tiếng việt.....	44
6.2. Tài liệu nước ngoài.....	44

DANH MỤC CÁC HÌNH ẢNH

Hình 1: Hiện tượng xâm thực khí tại bề mặt rắn trong quá trình trích ly rắn – lỏng.....	15
Hình 2: Ảnh hưởng của hai phương pháp đến thu hồi hàm lượng protein .	31
Hình 3: Ảnh hưởng tỉ lệ nguyên liệu/ nước đến thu hồi hàm lượng protein.	33
Hình 4: Hàm lượng đường khử và carbohydrate hòa tan thu được từ quá trình thủy phân đậu tương bằng enzyme	35
Hình 5: Ảnh hưởng độ pH đến thu hồi hàm lượng protein của đậu tương.	37
Hình 6: Sơ đồ quy trình chiết xuất protein từ đậu tương	40

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1: Thành phần hóa học có trong đậu tương	5
Bảng 2: Thành phần các protein có trong hạt đậu tương	9
Bảng 3: Thiết kế thí nghiệm tỷ lệ nguyên liệu và nước	24
Bảng 4: Thiết kế thí nghiệm ảnh hưởng của enzyme.....	25
Bảng 5: Thiết kế thí nghiệm pH dịch sau xử lý enzyme	26
Bảng 6: Kết quả Protein tổng số thu được bằng phương pháp Kjeldahl.....	39

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

EAE	Enzyme-Assisted Extraction
CAE	Khai thác có hỗ trợ hóa học
CT	Công thức
DNS	Phương pháp dựa trên cơ sở phản ứng tạo màu giữa đường khử với thuốc thử acid dinitrosalicylic

PHẦN1: ĐẶT VẤN ĐỀ

1.1. Tính cấp thiết của đề tài

Đậu tương (*Glycine max L. Merrill*) là một trong những nguồn protein thực vật quan trọng nhất, chiếm khoảng 40% hàm lượng protein và cung cấp các axit amin thiết yếu cho chế độ ăn uống của con người [1]. Protein đậu tương không chỉ được sử dụng trong thực phẩm mà còn ứng dụng trong công nghiệp dược phẩm, mỹ phẩm và thức ăn chăn nuôi. Đặc biệt trong chế độ ăn thuần chay, các sản phẩm từ protein đậu tương đã trở thành lựa chọn thay thế chính cho thịt động vật nhờ vào hàm lượng protein cao và những lợi ích sức khỏe tiềm năng mà chúng mang lại.

Bên cạnh đó, trong bối cảnh dân số toàn cầu tăng nhanh và nhu cầu protein ngày càng cao, việc khai thác hiệu quả nguồn protein thực vật như đậu tương trở thành giải pháp bền vững để giảm áp lực lên nguồn protein động vật (Aiking, 2011). Theo thống kê của Food and Agriculture Organization (FAO) 2020, sản lượng đậu tương toàn cầu đạt hơn 350 triệu tấn/năm, nhưng chỉ khoảng 30% được tận dụng để sản xuất protein tập trung. Phần lớn nguyên nhân là do quá trình tách chiết protein từ đậu tương đã và đang chịu nhiều ảnh hưởng, bởi các yếu tố như phương pháp chiết, điều kiện nhiệt độ, pH, dung môi và thời gian, dẫn đến hiệu suất thu hồi và chất lượng protein không ổn định [2]. Vì thế, việc nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tách chiết sẽ góp phần không nhỏ vào việc nâng cao hiệu suất thu hồi protein, giảm lãng phí nguyên liệu và giảm chi phí sản xuất bằng cách tối ưu hóa điều kiện công nghệ.

Ngoài ra tại Việt Nam, mặc dù đã có khá nhiều nghiên cứu về đậu tương, tuy nhiên các nghiên cứu thường chỉ tập trung riêng lẻ từng yếu tố ảnh hưởng trong quá trình tách chiết. Chính vì vậy, việc tiếp cận một cách toàn diện, phân tích mối tương quan và ảnh hưởng tổng hợp của các yếu tố đến quá trình tách chiết protein là hết sức cần thiết.

Xuất phát từ thực tiễn và tính cần thiết trên, đề tài: “**Nghiên cứu ứng dụng enzyme và sóng siêu âm trong chiết xuất protein từ đậu tương**” được tiến hành.

1.2. Mục tiêu của đề tài

Nghiên cứu xác định điều kiện thí nghiệm thích hợp và bước đầu xây dựng quy trình thu nhận protein đậu tương cho quá trình chiết xuất protein từ đậu tương bằng phương pháp kết hợp enzyme và siêu âm.

1.2.1. Ý nghĩa khoa học

- Góp phần bổ sung cơ sở khoa học về quá trình chiết xuất protein từ đậu tương bằng phương pháp kết hợp enzyme và sóng siêu âm.
- Đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ như tỷ lệ nguyên liệu/nước, thời gian xử lý siêu âm và pH đến hiệu suất thu hồi protein.
- Làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về tối ưu hóa quá trình thu nhận protein thực vật.

1.2.2. Ý nghĩa thực tiễn

- Nâng cao hiệu suất thu hồi protein từ đậu tương bằng phương pháp thân thiện với môi trường.
- Góp phần tận dụng hiệu quả nguồn nguyên liệu đậu tương trong nước.
- Tạo tiền đề ứng dụng trong sản xuất protein thực vật phục vụ ngành thực phẩm, thực phẩm chay và thực phẩm chức năng.

1.3. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

1.3.1. Đối tượng nghiên cứu

- Đậu tương giống DT84.



Hình 1: Hình ảnh cây đậu tương DT84

- Protein đậu tương thu nhận bằng phương pháp chiết xuất kết hợp enzyme và sóng siêu âm.
- Các enzyme sử dụng gồm: Viscozyme L, Cassava C, Pectinex SPL, Cellulase A, Cellulase T, Hemicellulase và Pectinase G.

1.3.2. Phạm vi nghiên cứu

- Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tách chiết protein từ đậu tương, nhằm mục đích thu được protein cao nhất từ đó đề xuất xây dựng quy trình tách chiết protein đậu tương quy mô phòng thí nghiệm.
- Không nghiên cứu bảo quản sản phẩm và đánh giá cảm quan thương mại.

1.4. Nội dung nghiên cứu

Nội dung 1: Xác định được ảnh hưởng của sóng siêu âm đến thu nhận protein cao từ đậu tương.

Nội dung 2: Nghiên cứu tỷ lệ nguyên liệu và nước thích hợp cho quá trình tách chiết protein.

Nội dung 3: Nghiên cứu ảnh hưởng thời gian xử lý enzyme đến quá trình thủy phân

Nội dung 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của pH sau xử lý enzyme đến quá trình thu nhận protein.

Nội dung 5: Xây dựng quy trình tách chiết protein qui mô phòng thí nghiệm.

PHẦN2: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

2.1. Tổng quan chung

2.1.1. Tổng quan về đậu tương

Đậu tương (tên khoa học là *Glycine max*) là một loại cây thuộc họ đậu (*Fabaceae*), hạt đậu tương có hình tròn, bầu dục,.. và có màu vàng, màu vàng xanh hoặc các màu trung gian [3]. Cây đậu tương có nguồn gốc từ vùng Mãn Châu (Trung Quốc) và được lan truyền dần ra khắp thế giới. Đậu tương là cây thân thảo, thân cây mảnh, đa số mọc đứng, cao từ 0,8 m đến 0,9 m, có lông cành hướng lên phía trên. Quả thõng, hình lưỡi liềm, gân bị ép, trên quả có nhiều lông mềm màu vàng, thắt lại giữa các hạt [4].



Ở nước ta, theo số liệu thống kê của Cục Trồng trọt, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2021), đậu tương đang được trồng tại 25 tỉnh thành cả nước, với diện tích khoảng 65% tại các khu vực phía Bắc và 35% tại các khu vực phía Nam. Các tỉnh thành có diện tích trồng đậu tương lớn nhất của Việt Nam có thể kể đến như Hà Giang, Hà Nội, Thanh Hóa,... [5].

Đậu tương là cây có giá trị dinh dưỡng cao, hơn hẳn các loại đậu đỗ khác và tương đương hoặc vượt hơn các loại thực phẩm có nguồn gốc từ động vật. Protein từ đậu tương là loại protein thực vật duy nhất chứa tất cả các acid amin thiết yếu với số lượng có thể đáp ứng đầy đủ các yêu cầu sinh lý của con người và do đó là nguồn protein thực vật quan trọng cho cả động vật và con người. Đậu tương chứa 35-40% protein, 20% lipid, 9% chất xơ và 8,5% độ ẩm dựa trên trọng lượng khô của hạt thô trưởng thành [6]. Protein đậu tương chứa đầy đủ 8 loại acid amin thiết yếu: tryptophan, lysine, leucine, isoleucine, methionine, threonine, valine. Ngoài ra, hạt đậu tương còn chứa hàm lượng dầu béo cao hơn các loại đỗ khác nên được coi là cây cung cấp dầu thực vật quan trọng [6].

2.1.2. Thành phần hóa học của đậu tương

Cây đậu tương là loại cây trồng đã có từ lâu đời. Sở dĩ đậu tương được người ta đánh giá cao như vậy chủ yếu là do giá trị kinh tế của nó [7]. Hạt đậu tương có thành phần dinh dưỡng rất cao, giàu protein, lipid, vitamin và muối khoáng. Đậu tương là loại hạt mà giá trị của nó được đánh giá đồng thời cả protein và lipid. Protein đậu tương có phẩm chất tốt nhất trong số các protein thực vật bởi vì nó có đầy đủ các acid amine không thay thế [8].

Bảng 1: Thành phần hóa học có trong đậu tương [9]

Thành phần	Tỷ lệ	Protein(%)	Lipit(%)	Carbohydrate(%)	Tro(%)
Nguyên hạt	100,0	40,0	20,0	35,0	5
Nhân	90,3	43,0	23,3	29,0	5,0
Vỏ hạt	7,3	8,8	1,0	86,0	4,3
Phôi	2,4	41,0	11,0	43,0	4,4

2.2. Tính chất và tiềm năng của nguồn protein có trong đậu tương

Protein từ đậu tương là loại protein thực vật duy nhất chứa đầy đủ tất cả các axit amin thiết yếu với số lượng có thể đáp ứng đầy đủ các yêu cầu sinh lý của con

người, do đó trở thành nguồn protein thực vật quan trọng cho cả động vật và con người. Đây cũng là nguồn nguyên liệu cung cấp đạm thực vật quen thuộc, có lịch sử sử dụng lâu dài, đặc biệt là ở châu Á nhờ vào truyền thống ăn chay của các tôn giáo Phương Đông. Trong suốt hơn 2.000 năm qua, người dân châu Á đã tiêu thụ đậu tương để đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng và cung cấp protein thông qua các sản phẩm như đậu phụ, sữa đậu tương, tempeh. Protein đậu tương cũng thường được bổ sung vào chế độ ăn của người ăn chay nhằm cải thiện giá trị dinh dưỡng cho các thực phẩm chủ yếu là thực vật nhưng thiếu một số axit amin thiết yếu, như gạo và lúa mì [11].

Protein có nguồn gốc từ thực vật thường là các protein hình cầu và phân thành bốn nhóm chính: albumin, globulin, prolamin và glutelin [12]. Đậu tương có thành phần protein khoảng 40% protein thô ở dạng khô, với loại protein chính là globulin. Trên cơ sở về độ hòa tan, protein từ đậu tương được phân thành hai loại: albumin tan trong nước và muối globulin hòa tan trong dung dịch [13]. Mặc dù phân loại dựa trên khả năng hòa tan khá thuận tiện, nhưng một phương pháp khác chính xác hơn đã được phát triển, dựa trên các giá trị hệ số lắng (S20, W), trong đó S là viết tắt của các đơn vị Svedberg và số S hơn cho thấy protein có khối lượng lớn hơn [14] [15]. Trong điều kiện đệm thích hợp, protein đậu tương có thể được tách thành bốn nhóm chính bằng siêu ly tâm thành các phân đoạn 2S, 7S, 11S và 15S. Phần 2S chiếm khoảng 20% của protein đậu tương chứa các protein có trọng lượng phân tử thấp globulin và cytochrome C, các chất ức chế trypsin liên quan đến tình trạng chậm tăng trưởng ở trẻ em trypsin Kunitz (KTI; ~20.100 Da) và trypsin Bowman-Birk (BBI; ~8.000 Da) (Lopez & Snyder, 2003). Phần 7S chiếm 40% protein đậu bao gồm β -conglycinin, α -amylase, lipoxxygenase và hemagglutinin [16]. Phần 11S (30% protein đậu tương) chỉ hầu hết là glycinin, được coi là protein chính trong đậu tương [13]. Globulin 7S (β -conglycinin) và 11S globulin (globulin) là hai thành phần chính có trong phần lớn protein dự trữ của đậu tương [17]. Phần 15S, được cho là polyme (có thể là dime của glycinin), là thành phần thứ yếu và thường chiếm 10% lượng protein đậu tương [18]. Các tính chất hóa lý của protein đậu tương phần lớn được quyết định bởi cấu trúc hóa học và phân tử (Liu & cs., 2015). Do

vậy bên cạnh các tính chất dinh dưỡng và chức năng sinh học, protein đậu tương cũng được chứng minh có nhiều tính chất công nghệ ứng dụng trong sản xuất thực phẩm như nhũ hóa, tạo bột, tạo gel, hấp thụ nước và chất béo [19]). Protein đậu tương có khả năng tạo ra nhiều loại kết cấu để tạo ra các sản phẩm thực phẩm phức tạp [20].

Không chỉ là nguồn cung cấp protein thực vật duy nhất chứa tất cả 9 axit amin thiết yếu, đậu tương còn chứa nhiều chất dinh dưỡng, vi chất và hoạt chất sinh học có lợi cho sức khỏe. Đậu tương hầu như không có tinh bột và có chứa hàm lượng chất xơ hòa tan cao, hàm lượng các ion magie, sắt và đồng cao. Thành phần hoạt tính sinh học (isoflavone như glycitein, genistein và daidzein) cùng với sự hiện diện của các chất phytochemical như axit phytic, saponin và sterol có nhiều lợi ích cho sức khỏe. Đậu tương còn chứa một lượng đáng kể các axit béo không bão hòa đa (đặc biệt là axit linoleic (18:2) và axit linolenic (18:3). Hàm lượng leucine (axit amin mạnh nhất chịu trách nhiệm kích thích tổng hợp protein cơ sau bữa ăn, điều này rất quan trọng cho sự tăng trưởng và hoạt động ở người trẻ và vận động viên, cũng như duy trì khối lượng cơ ở người già) trong đậu tương tương đương với hàm lượng có trong cá và trứng. Đậu tương có hàm lượng chất xơ chủ yếu ở dạng oligosacarit (chủ yếu là stachyose), nhưng cũng chứa các polysacarit không chứa tinh bột bao gồm polysacarit pectic, xyloglucan và cellulose [21] [22] đã được chứng minh là có tác dụng thúc đẩy quá trình lên men trong ruột. Đậu tương cũng chứa lượng axit béo không bão hòa đa cao hơn, bao gồm cả axit béo thiết yếu omega-6 và omega-6, axit linoleic và axit alpha-linolenic, so với các loại đậu thông thường khác [13]. Cuối cùng, đậu tương là nguồn cung cấp nhiều vi chất dinh dưỡng thường bị hạn chế trong chế độ ăn thực vật, bao gồm canxi sắt và kẽm. Hàm lượng canxi cao trong đậu tương và có khả năng được hấp thụ hiệu quả (mặc dù có sự hiện diện của các chất phản dinh dưỡng như phytate), khiến chúng đặc biệt dễ được sử dụng làm thực phẩm thay thế sữa và sữa đậu tương, pho mát và các loại thực phẩm khác. sữa chua hiện có sẵn ở hầu hết các thị trường toàn cầu. Nhiều nghiên cứu trong những năm 1990 đã phát hiện ra protein dự trữ trong đậu tương và các thành phần vi lượng mà theo quan điểm truyền thống được coi là các yếu tố

phản dinh dưỡng, lại có vai trò hữu ích trong việc ngăn ngừa các bệnh mãn tính [23]. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng tiêu thụ protein đậu tương có một số tác động tích cực khác đối với sức khỏe, bao gồm hạ huyết áp, giảm mức cholesterol và mỡ cơ thể, phòng chống loãng xương và giảm tỷ lệ mắc ung thư dạ dày, ung thư đại trực tràng và ung thư vú [24]. Protein đậu tương đã được chứng minh là có khả năng đáng kể trong việc làm giảm trọng lượng của chuột béo phì [25]. Báo cáo rằng protein đậu tương có thể làm giảm nguy cơ của bệnh đái tháo đường tuýp 2 [26]. Một nghiên cứu khác gần đây cho thấy protein đậu tương có thể gián tiếp nâng cao sức mạnh của xương khi được thay thế bằng protein động vật, có khả năng mang lại lợi ích cho người bị loãng xương [27]. Vào ngày 26 tháng 10 năm 1999, Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) chính thức cấp phép cho Tuyên bố về Sức khỏe Protein đậu tương, trong đó nêu rõ rằng 25 g protein đậu tương trong chế độ ăn mỗi ngày có thể làm giảm nguy cơ mắc bệnh tim [28].

Tuy nhiên, bên cạnh việc cung cấp nguồn protein thực vật với nhiều ưu điểm, nguyên liệu đậu tương cũng có một số vấn đề cần lưu ý [29]. Đầu tiên, đậu tương chứa hàm lượng khá cao các chất kháng dinh dưỡng, đặc biệt là antitrypsin, và có một số loại protein có thể gây dị ứng. Dị ứng đậu tương có thể xảy ra ở một số người do phản ứng với protein trong đậu tương, khiến hệ miễn dịch phản ứng bất thường, hiện tượng này khá phổ biến ở trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ. Thứ hai, hầu hết các giống đậu tương đang được trồng trên thế giới hiện nay đều là giống biến đổi gen, và một bộ phận lớn người tiêu dùng vẫn còn e ngại đối với các sản phẩm biến đổi gen này. Cuối cùng, nguyên liệu đậu tương có các chất tạo cảm giác se miệng, cùng với các axit amin methionine và cysteine, gây ra hương vị đặc trưng của đậu tương mà không phải ai cũng yêu thích.

Bảng 2: Thành phần các protein có trong hạt đậu tương [9]

Phân đoạn (S)	Hàm lượng (%)	Thành phần	Phân tử lượng (Da)
2	15	Chất ức chế trypsin	7 860 - 21 500

7	35	Cytochrome C	12 000
		B - amylase	62 000
		Lipoxygenase	102 000
		Hemagglutinines	110 000
		Globulin 7S	140 000
		B - conglutinin	175 000
11	40	Globulins 11S	320 000 - 350 000
15	10	15-lipoxygenase-1	600 000

2.3. Tổng quan về công nghệ sản xuất protein đậu tương

2.3.1. Chiết xuất protein

Chiết xuất protein từ hạt đậu có thể thực hiện theo hai quy trình công nghệ: quy trình công nghệ chiết khô và quy trình công nghệ chiết ướt. Quy trình công nghệ chiết khô có thể được mô tả sơ bộ gồm các công đoạn: sấy khô, tách vỏ, nghiền hạt chiết dầu tách béo bằng dung môi, sấy khô lại, sau đó phân loại bằng không khí trong thiết bị phân loại, khi đó các hạt tinh bột được tách khỏi các hạt protein. Quy trình công nghệ chiết ướt là quy trình công nghệ truyền thống thường được sử dụng phổ biến hơn, đặc biệt khi cần sản xuất chế phẩm protein có độ tinh khiết cao (>90%). Quy trình công nghệ sản xuất gồm các bước: tiền xử lý, chiết trong dung dịch kiềm hoặc acid, sau đó là ly tâm, kết tủa đẳng điện, rửa, trung hòa và đông lạnh/sấy phun [30] [31].

2.3.2. Quy trình công nghệ chiết

- **Quy trình công nghệ chiết khô** có thể được khái quát qua một số bước chính như sau: nguyên liệu được sấy khô, sau đó tiến hành tách vỏ và nghiền nhỏ. Tiếp theo, dầu được loại bỏ bằng phương pháp chiết dung môi, rồi tiếp tục sấy lại. Sau đó, nguyên liệu được phân loại bằng luồng không khí trong thiết bị chuyên dụng, giúp tách các hạt tinh bột ra khỏi

phần protein. Phần tinh bột còn sót lại có thể được loại bỏ thêm nhờ quá trình phân tách tĩnh điện.

Phương pháp này dựa trên sự khác biệt về tính chất điện tích giữa các thành phần, thay vì dựa vào kích thước hay khối lượng riêng. Nguyên lý cơ bản là protein trong hỗn hợp protein/tinh bột có khả năng tích điện ở mức cao hơn, do sự hiện diện của các nhóm hóa học trong axit amin như $-NH$ và $-CO$.

Về mặt hiệu quả, công nghệ này thường tạo ra sản phẩm có độ tinh khiết protein không cao (khoảng 45–55%), nhưng lại có ưu điểm là chi phí thấp, tiêu hao năng lượng ít và giảm thiểu chi phí xử lý môi trường. Tuy nhiên, sản phẩm thu được thường chứa hàm lượng protein thấp hơn và có thể còn tồn tại một số tạp chất đặc trưng, có nguy cơ gây dị ứng hoặc khó tiêu.

- ***Quy trình công nghệ chiết ướt*** là quy trình công nghệ truyền thống thường được sử dụng phổ biến hơn, đặc biệt khi cần sản xuất chế phẩm protein có độ tinh khiết cao (>90%). Quy trình công nghệ sản xuất protein gồm các bước: tiền xử lý, chiết trong dung dịch kiềm hoặc axit, sau đó là: ly tâm, kết tủa đẳng điện, rửa, trung hòa và đông lạnh/sấy phun. Phân đoạn ướt có thể tạo ra protein phân lập có độ tinh khiết trên 90%, nhưng điều kiện xử lý khắc nghiệt (pH và nhiệt độ) có thể gây biến tính protein và mất các tính chất chức năng của protein. Hơn nữa, từ quan điểm môi trường, chiết xuất ướt tiêu thụ một lượng lớn nước và năng lượng và tạo ra nước thải có tính axit chứa vật liệu có chứa protein. Chiết xuất protein ướt thường liên quan đến sự phá vỡ mô và hòa tan protein, sau đó các thành phần protein thu được qua quá trình kết tủa và cô đặc. Đối với các nguồn nguyên liệu hạt, việc tách vỏ và nghiền cơ học được sử dụng để phá vỡ hạt là bước xử lý đầu tiên. Sau đó, tùy thuộc vào nền thực vật, các dung môi khác nhau như axit, bazơ, muối, dung môi hữu cơ và gần đây hơn là nước cận tới hạn, được sử dụng để khử chất béo và hòa tan protein. Các điều kiện xử lý khác nhau cũng được sử dụng để tối ưu hóa quá trình chiết xuất. Tuy nhiên, việc sử dụng các phương pháp hóa học, hóa lý có thể gây

tổn hại đến protein hoặc sử dụng các dung môi kém thân thiện với môi trường. Do vậy, việc tìm ra một giải pháp chiết xuất protein hiệu quả là một thách thức. Cộng đồng học thuật, phối hợp với các nhà sản xuất công nghiệp, đã thừa nhận thách thức này và bắt đầu tìm kiếm các chiến lược khác nhau để chiết xuất protein hiệu quả và bảo tồn được chất lượng dựa trên sự đa dạng của các nguồn protein thực vật [32].

2.3.3. Phương pháp chiết

- **Phương pháp chiết xuất hóa học (CAE):** Trong lĩnh vực tách chiết protein từ nguyên liệu thực vật, phương pháp hóa học (Chemical Assisted Extraction – CAE) được xem là một trong những hướng tiếp cận được sử dụng rộng rãi, nhờ khả năng khai thác hiệu quả các loại dung môi khác nhau, bao gồm cả hệ dung môi hữu cơ và dung môi có nền nước. Tuy nhiên, việc sử dụng các tác nhân hóa học như axit hoặc bazơ thường kéo theo nguy cơ làm thay đổi cấu trúc tự nhiên của protein, đặc biệt khi các điều kiện xử lý không được kiểm soát chặt chẽ. Tương tự, quá trình chiết bằng nước ở nhiệt độ cao cũng có thể dẫn đến sự suy giảm tính toàn vẹn của protein do hiện tượng biến tính nhiệt.

Trong những năm gần đây, sự xuất hiện của dung môi eutectic sâu (Deep Eutectic Solvents – DES) đã mở ra một hướng đi mới trong công nghệ chiết xuất. Loại dung môi này được đánh giá cao nhờ khả năng hòa tan đa dạng các hợp chất sinh học như đường và polyphenol, đồng thời cho thấy tiềm năng đáng kể trong việc thu nhận protein. Một số nghiên cứu bước đầu đã ghi nhận hiệu quả tích cực của DES trong quá trình này, tuy nhiên phần lớn các kết quả vẫn mang tính khảo sát và chưa đạt đến mức tối ưu hóa quy trình.

Thực tế cho thấy, hiệu suất thu hồi protein khi áp dụng các phương pháp hiện tại thường chỉ đạt khoảng 50%, cho thấy vẫn còn nhiều hạn chế cần được khắc phục. Bên cạnh đó, các phương pháp chiết xuất hóa học truyền thống còn có thể làm suy giảm chất lượng protein do tác động của các yếu tố như pH, lực ion và nhiệt độ, từ đó ảnh hưởng đến cấu trúc không gian cũng như chức năng sinh học của phân tử protein.

Chính vì vậy, xu hướng nghiên cứu hiện nay tập trung vào việc phát triển các công nghệ chiết xuất theo hướng “nhẹ nhàng” hơn, nhằm hạn chế tối đa sự biến tính và phân hủy protein trong quá trình xử lý. Việc tối ưu hóa điều kiện chiết cũng như lựa chọn hệ dung môi phù hợp được kỳ vọng sẽ góp phần nâng cao hiệu suất thu hồi, đồng thời cải thiện chất lượng sản phẩm protein thu được.

- Phương pháp chiết xuất có hỗ trợ vật lý: Các phương pháp chiết xuất có sự hỗ trợ của yếu tố vật lý hiện đang được ứng dụng khá phổ biến nhằm nâng cao hiệu quả thu nhận protein, trong đó xử lý nhiệt là một trong những kỹ thuật thường được sử dụng. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng các tác động vật lý này có thể làm thay đổi cấu trúc cũng như ảnh hưởng đến chức năng sinh học của protein thu được. Do đó, việc nghiên cứu và triển khai các kỹ thuật vật lý mới đang ngày càng được quan tâm.

Một số công nghệ đã được thử nghiệm và đưa vào quy trình chiết xuất bao gồm gia nhiệt Ohmic, xử lý bằng vi sóng, ứng dụng sóng tần số vô tuyến, bức xạ hồng ngoại và bức xạ gamma. Ngoài ra, các phương pháp khác như chiếu xạ bằng chùm electron năng lượng cao (E-beam), sử dụng áp suất cao, siêu âm, vi sóng, tia UV, plasma hoặc đông lạnh cũng đã được áp dụng nhằm cải thiện hiệu quả chiết tách.

So với các phương pháp hóa học truyền thống như CAE, các kỹ thuật vật lý hiện đại có ưu điểm là giúp giảm chi phí xử lý môi trường và thân thiện hơn trong quá trình vận hành. Tuy nhiên, việc triển khai các công nghệ này lại đòi hỏi chi phí đầu tư ban đầu lớn cho hệ thống thiết bị, đồng thời kéo theo chi phí năng lượng và vận hành ở mức cao hơn.

- Phương pháp chiết xuất có hỗ trợ của enzyme (EAE): Việc ứng dụng enzyme trong quá trình khai thác các hợp chất sinh học ngày càng được quan tâm như một giải pháp tối ưu nhằm nâng cao hiệu suất thu hồi. Bản chất của phương pháp này dựa trên khả năng xúc tác sinh học của enzyme trong việc làm suy yếu và phá vỡ cấu trúc tế bào, từ đó giải phóng các thành phần mục tiêu ra khỏi nền nguyên liệu.

Trong các hệ nguyên liệu có cấu trúc phức tạp, đặc biệt là nguyên liệu thực vật, các enzyme như protease, cellulase và carbohydrase đóng vai trò quan trọng khi tham gia vào quá trình phân giải các đại phân tử như protein, cellulose và hemicellulose. Sự thủy phân này góp phần làm mất tính toàn vẹn của thành tế bào, tạo điều kiện thuận lợi cho việc khuếch tán và thu nhận các chất nội bào.

Đối với protein, sự tham gia của protease giúp chuyển hóa các phân tử protein kích thước lớn thành các peptide và acid amin nhỏ hơn, qua đó không chỉ cải thiện khả năng thu hồi mà còn có thể nâng cao giá trị sinh học của sản phẩm. Nhờ những đặc điểm như điều kiện vận hành tương đối ôn hòa, giảm thiểu tác động đến môi trường và hiệu quả chiết xuất cao, EAE đã trở thành một trong những phương pháp được ứng dụng phổ biến trong lĩnh vực chế biến và sản xuất protein thực phẩm.

Tuy nhiên, bên cạnh các ưu điểm nổi bật, phương pháp này vẫn tồn tại một số điểm hạn chế cần được xem xét. Quá trình thủy phân do enzyme xúc tác có thể làm biến đổi các đặc tính chức năng cũng như cảm quan của sản phẩm cuối. Đồng thời, thời gian xử lý thường kéo dài hơn so với các phương pháp cơ học hoặc hóa học truyền thống. Ngoài ra, chi phí sử dụng enzyme và sự phụ thuộc vào đặc tính riêng của từng loại nguyên liệu cũng là những yếu tố ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả kinh tế và tính khả thi của phương pháp.

- Các phương pháp phối hợp để chiết xuất protein thực vật: Việc sử dụng enzyme, hóa học hay vật lý riêng lẻ cũng đều cho thấy các nhược điểm nhất định. Để nâng cao hơn nữa hiệu quả chiết xuất, cải thiện hiệu suất thu hồi protein, giảm chi phí sản xuất có thể sử dụng các phương pháp hóa học, các kỹ thuật vật lý kết hợp với enzyme. Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng việc sử dụng đồng thời cả phương pháp chiết xuất protein thông thường và không thông thường sẽ mang lại năng suất cao hơn. Các phương pháp xử lý không dùng hoặc dùng tối thiểu dung môi và hóa chất thường là các phương pháp vật lý, enzyme hoặc phương pháp phối hợp. Một số kỹ thuật hiện đại như vi sóng, siêu âm và enzyme có thể hỗ trợ

thêm trong nâng cao hiệu suất chiết protein. Vì vậy, sự cân bằng tối ưu các yếu tố này có thể thúc đẩy việc khai thác hiệu quả, bền vững và giảm chi phí sản xuất các protein thực vật chất lượng [32].

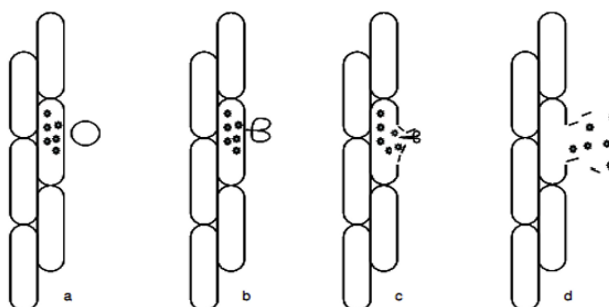
2.4. Ứng dụng sóng siêu âm và enzyme trong quá trình trích ly protein

2.4.1. Ứng dụng sóng siêu âm trong quá trình trích ly protein

Sóng siêu âm tần số thấp làm tăng hiệu quả quá trình trích ly rắn-lỏng là do cơ chế xâm thực khí. Đây là hiện tượng hình thành, lớn lên và nổ vỡ các bong bóng khí trong pha lỏng [33]. Khi sóng âm gặp chất lỏng sẽ tạo ra những chu kỳ gồm hai pha giãn và nén liên tục, làm xuất hiện bong bóng khí trong pha lỏng. Trong pha giãn, khí bên ngoài bong bóng được khuếch tán vào bên trong; còn trong pha nén, bong bóng co lại và khí bị hấp thụ ngược trở lại chất lỏng. Tuy nhiên, không phải tất cả phân tử khí có thể hấp thụ vào chất lỏng nên kích thước bong bóng sẽ lớn dần qua các chu kỳ giãn và nén, cuối cùng bong bóng có thể bị nổ vỡ [34]. Khi bong bóng vỡ, nhiệt độ và áp suất bên trong bong bóng có thể lên đến 5500K và 50 MPa.

Hiện tượng sủi bong bóng làm tăng sự truyền nhiệt và truyền khối trong pha lỏng, từ đó tăng cường sự tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi đồng thời cải thiện sự khuếch tán của các chất hòa tan từ nguyên liệu vào dung môi. Cần lưu ý là sự sủi bong bóng trong hệ dị thể cho hiệu quả cao gấp vài trăm lần so với trong hệ đồng thể [34]. Hiện tượng sủi bọt khí ở bề mặt pha lỏng-rắn sẽ tạo ra các vi tia chất lỏng; khi các vi tia chất lỏng này hướng đến bề mặt nguyên liệu rắn có thể tạo ra những vết nứt trên bề mặt nguyên liệu hoặc làm giảm kích thước hạt nguyên liệu, góp phần giúp cho dung môi tiếp xúc với nguyên liệu tốt hơn và làm gia tăng hiệu quả của quá trình trích ly [35]. Bên cạnh đó, hiện tượng sủi bọt khí còn gây ra sự khuấy trộn lớn, làm các hạt pha rắn va chạm mạnh với nhau và gây bào mòn bề mặt hạt nguyên liệu. Nếu nguyên liệu đã được qua sấy khô thì quá

trình xử lý siêu âm làm căng phòng và hydrate hóa nguyên liệu dễ dàng hơn, chuẩn bị cho quá trình trích ly diễn ra tốt hơn.



Hình 2: Hiện tượng xâm thực khí tại bề mặt rắn trong quá trình trích ly rắn – lỏng

- a: Bong bóng khí tại bề mặt rắn
- b: Hình thành vi tia
- c: Vi tia xâm nhập vào bề mặt rắn
- d: Các chất chiết được giải phóng ra môi trường bên ngoài

Ngoài ra, quá trình xử lý siêu âm còn góp phần phá vỡ liên kết giữa protein và các thành phần phi protein có trong nguyên liệu, nhờ đó sự giải phóng protein ra khỏi nguyên liệu sẽ dễ dàng hơn. Tóm lại, quá trình xử lý siêu âm sẽ làm cho nguyên liệu bị rạn nứt, hoặc giảm kích thước nên gia tăng sự tiếp xúc của tế bào thực vật với dung môi, làm tăng sự khuếch tán của các chất hòa tan, nhờ đó làm tăng động lực của quá trình trích ly.

Sử dụng sóng siêu âm có thể làm tăng hiệu suất và làm giảm thời gian trích ly. Một số nghiên cứu trước đây cho thấy sóng siêu âm cải thiện đáng kể hiệu quả trích ly protein thực vật. Karki và cộng sự (2010) tiến hành trích ly protein từ đậu tương bằng sóng siêu âm tần số 20 kHz với các công suất siêu âm và thời gian khác nhau [36]. Tương tự, khi thời gian siêu âm càng dài thì hàm lượng protein trích ly được sẽ càng cao, khi kéo dài thời gian siêu âm thì tế bào nguyên liệu bị phá vỡ càng nhiều, dung môi dễ dàng khuếch tán vào bên trong cấu trúc hạt nguyên liệu và làm tăng hiệu quả trích ly protein [36].

Tu và cộng sự (2015) tiến hành trích ly albumin từ hạt bí đỏ bằng sóng siêu âm tần số 20 kHz với các công suất siêu âm khác nhau. Kết quả cho thấy khi tăng công suất từ 0 đến 25 W/g thì hiệu suất trích ly albumin tăng đáng kể. Sóng siêu âm gây ra hiện tượng xâm thực khí và phá vỡ thành tế bào nguyên liệu, nhờ đó sự thâm nhập của dung môi vào bên trong tế bào dễ dàng hơn và làm tăng sự giải phóng các thành phần nội bào. Công suất siêu âm càng cao thì hiện tượng xâm thực khí càng mãnh liệt và hiệu suất trích ly albumin sẽ càng cao [37].

Bên cạnh đó, xử lý siêu âm làm tăng khả năng hòa tan của protein còn có thể là do sóng siêu âm làm thay đổi cấu trúc của protein, từ đó làm lộ các liên kết peptide và acid amin háo nước [38]. Jambrak và cộng sự (2009) nhận thấy quá trình xử lý siêu âm 18 các chế phẩm protein đậu tương bằng sóng siêu âm ở tần số 20 kHz trong 15 phút làm tăng độ hòa tan của chế phẩm lên khoảng 64% - 74% so với mẫu đối chứng [39]

2.4.2. Ứng dụng enzyme trong quá trình trích ly protein

Thành tế bào thực vật được cấu tạo từ các polysaccharides, protein và lignin có phân tử lượng cao. Các polysaccharides chiếm tới 90% khối lượng thành tế bào và gồm có ba nhóm: cellulose, hemicellulose và pectin, trong đó cellulose đại diện cho thành phần polysaccharide chính của thành tế bào [40]. Thành phần hemicellulose trong thành tế bào đậu phộng gồm có arabinan, galactoaraban, glucan, glucomannan và xylan [41]. Đối với họ đậu như đậu phộng, đậu tương, protein chủ yếu nằm trong mạng lưới tế bào chất. Để tăng hiệu quả trích ly protein, các nhà nghiên cứu sử dụng enzyme thủy phân thành tế bào. Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng hiệu suất thu hồi protein từ thực vật sẽ được cải thiện khi sử dụng chế phẩm enzyme thủy phân polysaccharide của thành tế bào [42]. Bên cạnh đó, protein thường tồn tại dưới dạng liên kết với các thành phần khác như cellulose, hemicellulose... Việc phân cắt các liên kết giữa phân tử protein và các thành phần khác sẽ làm tăng khả năng hòa tan của protein vào dung môi trong quá trình trích ly.

Theo Rustom và cộng sự (1993), các chế phẩm enzyme thủy phân polysaccharide có thể sử dụng để hỗ trợ quá trình trích ly protein đậu phộng bao gồm cellulase, arabinanase, mannanase, xylanase, polygalacturonase, α -amylase [43]. Ngoài ra, một số nghiên cứu trước đây đã sử dụng chế phẩm protease để làm giảm kích thước phân tử protein, giúp cho quá trình trích ly protein xảy ra dễ dàng hơn. Tuy nhiên, phương pháp này làm thay đổi các tính chất chức năng của chế phẩm thu được so với protein ban đầu, từ đó làm thay đổi khả năng ứng dụng của chúng trong các quá trình chế biến thực phẩm.

Rosset và cộng sự (2012) sử dụng chế phẩm Viscozyme L chứa hỗn hợp arabanase, xylanase, β -glucanase, cellulase hỗ trợ trích ly protein từ bột đậu tương tách béo, khi đó hiệu suất trích ly đạt được là 56,27% trong khi hiệu suất ở mẫu đối chứng là 33,04% [44].

2.5. Enzyme sử dụng trong quá trình chiết tách protein đậu tương

Viscozyme L: Chế phẩm Viscozyme L là enzyme đóng vai trò quan trọng trong quá trình chiết tách protein. Viscozyme L là một hỗn hợp các enzyme cellulase, hemicellulase, xylanase, và các enzyme khác có vai trò phân giải polysaccharide, phá vỡ cấu trúc thành tế bào nguyên liệu làm giảm độ bền của tế bào từ đó tăng hiệu quả chiết và thu hồi protein [44].

Cassava C: là một phức hợp enzyme, thường được sản xuất từ các loại vi sinh vật (thường là vi khuẩn hoặc nấm men) thông qua quá trình lên men, phổ biến nhất là từ loài *Aspergillus* (theo công nghệ của hãng Novozymes). Thành phần chính: Nó chứa hỗn hợp nhiều loại enzyme thủy phân khác nhau, trong đó thành phần chính là các cellulase và pectinase (bao gồm arabanase, cellulase, hemicellulase, xylanase). Công dụng: Enzyme này chuyên dùng để phá vỡ cấu trúc tế bào thực vật, phân giải các thành phần phức tạp như cellulose, hemicellulose và pectin, đặc biệt hiệu quả trong việc trích ly hoặc thủy phân các nguyên liệu có nguồn gốc từ củ, quả, như sắn (khoai mì), cà phê, đinh lăng....

Pectinex SPL: là một chế phẩm enzyme thương mại, chứa pectinase và một số enzyme phụ trợ khác chuyên dùng để phân giải pectin và polysaccharide trong thành tế bào thực vật. Trong chiết tách protein pectinex SPL có vai trò phân giải pectin và các polysaccharide, phá vỡ tế bào thành thực vật giải phóng protein nội bào [46]. Pectinex SPL đặc biệt hiệu quả với nguyên liệu giàu pectin như trái cây và rau củ. Tuy nhiên, hoạt tính của nó dễ bị ảnh hưởng bởi pH và nhiệt độ nên cần tối ưu điều kiện sử dụng

Cellulase T và A: phân giải cellulose, một thành phần chính trong thành tế bào thực vật. Cellulase T và A thủy phân cellulose thành glucose và oligosaccharide, từ đó giúp phá vỡ thành tế bào giải phóng protein nội bào [47]. Cellulase T và A ngoài phá vỡ thành tế bào còn làm giảm độ nhớt dịch chiết, cải thiện tính lỏng và hiệu quả xử lý sau đó. Việc lựa chọn loại cellulase phù hợp sẽ phụ thuộc vào cấu trúc cellulose của nguyên liệu.

Hemicellulase: là enzyme có khả năng thủy phân hemicellulose thành các đường đơn như xylose, arabinose, giúp phá vỡ thành tế bào, giảm độ nhớt của dịch chiết, cải thiện hiệu quả ly tâm và thu hồi protein [44]. Hemicellulase còn giúp giảm hiện tượng kết tụ protein, nhờ đó nâng cao độ tinh khiết của dịch chiết. Đây là enzyme thường được dùng đồng thời với cellulase và pectinase để tăng hiệu quả phân giải toàn diện thành tế bào.

Pectinase G: là enzyme thủy phân pectin, giúp phá vỡ thành tế bào từ đó giải phóng protein nội bào, giảm độ nhớt và hỗ trợ quá trình chiết tách [46]. Pectinase G hiệu quả cao trong việc xử lý nguyên liệu thực vật giàu pectin, giúp nâng cao tốc độ lọc và hiệu suất thu hồi protein. Tuy nhiên, để chiết tách triệt để protein, cần phối hợp với protease.

PHẦN 3: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Vật liệu nghiên cứu

3.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Sử dụng loại bột đậu tương DT84 đã tách vỏ và loại bỏ dầu được cung cấp từ TT Dầu, Hương liệu & PGTP Viện Công nghiệp thực phẩm.

Đậu tương giống DT84 là một giống đậu tương được trồng khá phổ biến ở Việt Nam. Giống đậu tương DT84 do Viện Di truyền Nông nghiệp chọn tạo từ tổ hợp lai ĐT80/ĐH4 bằng phương pháp lai hữu tính kết hợp gây đột biến thực nghiệm. Giống có thời gian sinh trưởng trung bình khoảng 85–95 ngày, cây cao 50–60 cm, hạt màu vàng, tròn, khả năng thích nghi tốt với điều kiện và khí hậu của vùng đặc biệt cây sinh trưởng khỏe, có khả năng chống chịu được sâu bệnh cao và chịu được nóng, thời gian sinh trưởng ngắn và cho năng suất cao [48].

3.1.2. Hóa chất, dụng cụ và thiết bị nghiên cứu

Hóa chất: *Quá trình tách chiết protein từ đậu tương thường sử dụng một số hóa chất và dung môi để phân tách protein khỏi các thành phần khác của đậu tương. Một số hóa chất và dung môi được sử dụng trong quá trình:*

- | | |
|----------------------|------------------------|
| - Nước | - enzyme Pectinex SPL |
| - NaOH | - enzyme Cellulase A |
| - HCl | - enzyme Cellulase T |
| - enzyme Viscozyme L | - enzyme hemicellulase |
| - enzyme Cassava C | - enzyme Pectinase G |

Thiết bị: *Quá trình thu nhận protein từ đậu tương sử dụng các thiết bị sau:*

- | | |
|--|-----------------------------------|
| - Cân tiểu li KERN PCB Max 2500g d= 0,01 | - Máy đo độ brix Atago |
| - Máy xay | - Máy siêu âm ULTRASONICCLEANER |
| - Máy sàng | - Máy cân phân tích Satorius MA35 |
| - Máy khuấy từ SIBATAMAGNESTIR MG5 | - Cân đo độ ẩm MA 35 Sartorius |
| - Máy đo pH STAR A211 | - Nhiệt kế,.... |

Dụng cụ: Các dụng cụ tiến hành trong quá trình thu nhận protein từ đậu tương: ống lấy mẫu, bình đo dung dịch, ống nghiệm, đĩa thủy tinh, túi lọc, ống lọc, cốc đong, ống li tâm, pipet, bình định mức,...

3.2. Thời gian nghiên cứu

Tháng 01/2026 đến tháng 05/2026

3.3. Địa điểm nghiên cứu

Đề tài được thực hiện tại phòng thí nghiệm bộ môn Công nghệ chế biến Nông sản và Đồ uống – Viện Công nghiệp Thực phẩm, địa chỉ số 301 – Nguyễn Trãi – Thanh Xuân – Hà Nội.

3.4. Phương pháp nghiên cứu

3.4.1. Phương pháp thu thập tài liệu

Thu thập tài liệu từ các bài báo khoa học, sách chuyên ngành, luận văn và cơ sở dữ liệu khoa học liên quan đến chiết xuất protein bằng enzyme và sóng siêu âm.

3.4.2. Phương pháp xử lý nguyên liệu

Bột đậu tương sau khi nhận được được bảo quản ở nhiệt độ phòng trong bao kín trước khi tiến hành thí nghiệm.

3.4.3. Phương pháp chiết xuất protein

Protein từ đậu tương được chiết xuất bằng phương pháp chiết kiềm kết hợp hỗ trợ enzyme và sóng siêu âm nhằm nâng cao hiệu suất thu hồi protein. Bột đậu tương đã tách béo được phối trộn với nước theo tỷ lệ, sau đó được điều chỉnh pH kiềm bằng dung dịch NaOH 2N để tạo môi trường kiềm thích hợp cho quá trình hòa tan protein. Trong môi trường kiềm, protein đậu tương mang điện tích âm làm tăng lực đẩy tĩnh điện giữa các phân tử, từ đó tăng khả năng hòa tan protein vào dung dịch chiết.

Enzyme Viscozyme được bổ sung vào hỗn hợp nhằm hỗ trợ phá vỡ cấu trúc thành tế bào thực vật thông qua quá trình thủy phân cellulose, hemicellulose và các polysaccharide khác trong nguyên liệu. Quá trình xử lý

enzyme được thực hiện nhằm tăng khả năng giải phóng protein khỏi cấu trúc tế bào đậu tương.

Sau quá trình xử lý enzyme, hỗn hợp được xử lý bằng sóng siêu âm ở tần số 40 kHz và công suất 200 W. Sóng siêu âm tạo ra hiện tượng xâm thực khí (cavitation), hình thành và phá vỡ các bong bóng vi mô trong môi trường lỏng. Quá trình này tạo ra lực cắt cơ học mạnh giúp phá vỡ cấu trúc mô tế bào, tăng khả năng truyền khối và thúc đẩy quá trình giải phóng protein vào dung dịch chiết, từ đó nâng cao hiệu suất chiết xuất protein.

3.4.4. Phương pháp hỗ trợ sóng siêu âm

Sử dụng máy siêu âm ULTRASONIC CLEANER với cường độ sóng siêu âm là 40kHz, công suất 200W, thời gian tùy thuộc và protein đậu tương, nhiệt độ tùy thuộc vào từng giai đoạn.

Tác dụng :

- Tăng cường hiệu quả chiết xuất: Sóng siêu âm tạo ra hiện tượng cavitation (sự hình thành và vỡ vụn các bong bóng khí) trong dung dịch chiết. Hiện tượng này làm tăng diện tích tiếp xúc giữa dung môi và protein đậu tương, giúp protein dễ dàng hòa tan và chiết xuất hiệu quả hơn.
 - Giảm thời gian chiết: Sóng siêu âm giúp phá vỡ cấu trúc của protein đậu tương, làm giảm thời gian cần thiết để chiết xuất.
 - Cải thiện độ tinh khiết của protein: Sóng siêu âm có thể loại bỏ các tạp chất bám trên bề mặt protein, giúp tăng độ tinh khiết của sản phẩm cuối cùng.
 - Giảm sử dụng hóa chất: Sóng siêu âm có thể làm giảm nhu cầu sử dụng hóa chất trong quá trình chiết xuất, giúp cho sản phẩm protein an toàn hơn
- Sử dụng máy li tâm để tách protein thô khỏi dung dịch

3.4.5. Bố trí thí nghiệm

Nội dung 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của sóng siêu âm đến thu nhận protein từ đậu tương.

- Lựa chọn phương pháp chiết xuất: Chọn phương pháp chiết xuất phù hợp với mục tiêu nghiên cứu, chiết xuất bằng dung dịch kiềm NaOH 2N, chiết xuất bằng enzyme.

- Điều chỉnh điều kiện chiết xuất: Điều chỉnh nhiệt độ, thời gian, pH, và các yếu tố khác để tối ưu hóa hiệu quả chiết xuất.

- Kiểm tra hiệu quả chiết xuất: Xác định hàm lượng protein trong dung dịch chiết xuất bằng các phương pháp phân tích hóa học.

- Chiết xuất protein bằng Viscozyme L, Cassava C, Pectinex® Ultra SP-L và một số loại enzyme khác:

- Viscozyme L.
- Cassava C.
- Pectinex® Ultra SP-L.
- Cellulase A.
- Cellulase T.
- Hemicellulase.
- Pectinase G.

- Nồng độ enzyme có trong các thí nghiệm được tôi kế thừa kết quả từ các nhóm nghiên cứu khác trong quá trình làm.

Sử dụng máy siêu âm ULTRASONIC CLEANER với cường độ sóng siêu âm là 40kHz, công suất 200W, thời gian tùy thuộc và protein đậu tương, nhiệt độ tùy thuộc vào từng giai đoạn.

Tiến hành thí nghiệm ta lựa chọn phương pháp chiết tách protein thông qua hai phương pháp không xử lý siêu âm và xử lý siêu âm như sau:

- Các yếu tố cố định : Nhiệt độ 45°C, thời gian 40 phút, nồng độ enzyme Viscozyme L 0,03% , Cassava C 0,3%, Pectinex® Ultra SP-L 0,5% , Cellulase T 0,02%, Cellulase A 0,02%, Hemicellulase 0,02% và Pectinase G 0,02%.

- Yếu tố thay đổi :

+ CT1: chiết xuất 100g bột đậu tương bằng phương pháp không xử lý siêu âm

+ CT2: chiết xuất 100g bột đậu tương bằng phương pháp có xử lý siêu âm

Bố trí thí nghiệm:

- Cân 100g mẫu khô đậu tương đã tách vỏ và loại bỏ đầu.
- Phối trộn: Mẫu đậu tương đem phối trộn với nước theo tỉ lệ, sử dụng NaOH 2N để hiệu chỉnh pH hỗn hợp đến giá trị khảo sát ở pH 4,5 -6.5 và nhiệt độ đối với chế phẩm Viscozyme L 0,03% , Cassava C 0,3%, Pectinex® Ultra SP-L 0,5% , Cellulase T 0,02%, Cellulase A 0,02%, Hemicellulase 0,02% và Pectinase G 0,02%.
- Siêu âm: Nhiệt độ siêu âm tiến hành ở 40°C trong thời gian 50 phút , đo pH tự nhiên và ghi vào trong nhật ký. Sau đó tiến hành lọc bã.
- Cho NaOH vào dung dịch sau lọc, nâng pH từ pH dung dịch lên pH = 9. Tiếp theo đó ta tiến hành siêu âm ở nhiệt độ 50°C trong vòng 10 phút.
- Ly tâm: Hỗn hợp được chỉnh về pH 4,5 bằng dung dịch HCl 2N, quá trình ly tâm được thực hiện ở tốc độ 4000 vòng/phút trong thời gian 20 phút. Pha lỏng thu được là dịch trích thô có chứa protein. Mẫu dịch thô được đem đi xác định protein tổng.

Nội dung 2: Nghiên cứu tỷ lệ nguyên liệu và nước thích hợp cho quá trình tách chiết protein.

Bố trí thí nghiệm: Cân 100g mẫu đậu tương, ngâm với nước 12 – 16 giờ. Phương pháp thu nhận là kết quả của TN2

Tỷ lệ nguyên liệu/ nước được thực hiện theo bảng dưới đây.

Công thức	Tỷ lệ
CT3	1/5 (w/v)
CT4	1/10 (w/v)
CT5	1/15 (w/v)
CT6	1/20 (w/v)
CT7	1/25 (w/v)

Bảng 3: Thiết kế thí nghiệm tỷ lệ nguyên liệu và nước

Các yếu tố cố định: Nồng độ enzyme Viscozyme L 0,03%, Cassava C 0,3%, Pectinex® Ultra SP-L 0,5%, Cellulase T 0,02%, Cellulase A 0,02%, Hemicellulase 0,02% và Pectinase G 0,02%, thời gian thủy phân 40 phút. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Yếu tố thay đổi: Tỷ lệ nguyên liệu/ nước.

Chỉ tiêu đánh giá: Tiến hành đánh giá dựa trên khối lượng protein thu được và hiệu suất thu hồi protein.

Nội dung 3: Nghiên cứu ảnh hưởng thời gian xử lý enzyme đến quá trình chiết tách

Trong quá trình thủy phân sinh học, enzyme giúp phá vỡ cấu trúc thành tế bào, giải phóng protein và các hợp chất hòa tan. Tuy nhiên, hiệu quả trích ly không chỉ phụ thuộc vào nồng độ enzyme mà còn chịu ảnh hưởng lớn bởi thời gian xử lý. Do đó, thí nghiệm này giữ cố định nồng độ enzyme theo khuyến cáo, nhằm đánh giá riêng lẻ tác động của thời gian xử lý đến quá trình chiết tách. Việc khảo sát giúp xác định khoảng thời gian tốt nhất để nâng cao hiệu suất thu hồi protein, đường khử và carbohydrate hòa tan từ đậu tương.

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí tương tự với các thí nghiệm trên với phương pháp thu nhận, tỷ lệ nguyên liệu/ nước, pH dịch sau xử lý là kết quả của các thí nghiệm 1, 2.

- Các yếu tố cố định : Nồng độ enzyme Viscozyme L **0,03%** , Cassava C 0,3%, Pectinex® Ultra SP-L 0,5% , Cellulase T 0,02%, Cellulase A 0,02%, Hemicellulase 0,02% và Pectinase G 0,02%.
- Thí nghiệm được lặp lại 3 lần
- Yếu tố thay đổi: Thời gian xử lý enzyme

Thuyết minh cách làm:

- Cân 100g mẫu khô đậu tương đã tách vỏ và loại bỏ đầu.
- Phối trộn: Mẫu đậu tương đem phối trộn với nước theo tỉ lệ 1:10, sử dụng NaOH 2N để hiệu chỉnh pH hỗn hợp đến giá trị khảo sát ở pH 4,5 -6.5 và nhiệt độ đối với chế phẩm Viscozyme L 3% , Cassava C 0,3%, Pectinex® Ultra SP-L 0,5% , Cellulase T 0,02%, Cellulase A

0,02%, Hemicellulase 0,02% và Pectinase G 0,02%. Sau đó thực hiện tương tự như thí nghiệm 1 và 2.

Khi đó, ta tiến hành khảo sát thời gian xử lý siêu âm (phút) ở các khoảng sau để tìm ra thời gian xử lý tối ưu nhất cho quá trình thu nhận:

+CT8: 10

+CT9: 20

+CT10: 30

+CT11: 40

+CT12: 50

+CT13: 60

*Chỉ tiêu theo dõi: Hàm lượng đường khử (g), hàm lượng carbohydrate hòa tan(g).

Công thức	Thời gian (phút)
CT8	10
CT9	20
CT10	30
CT11	40
CT12	50
CT13	60

Bảng 4: Thiết kế thí nghiệm ảnh hưởng của enzyme

Nội dung 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của pH sau xử lý enzyme đến quá trình thu nhận protein.

Thí nghiệm được tiến hành theo các công thức được bố trí trong Bảng 5.

Bố trí thí nghiệm:

Cân 100g mẫu đậu tương, ngâm với nước 12 – 16 giờ.

Phương pháp thu nhận là kết quả của TN1

Tỷ lệ nguyên liệu/ nước là kết quả của TN2

Các yếu tố cố định: Các enzyme sử dụng là Viscozyme L, Cassava C, Pectinex SPL, Pectinase, Hemicellulase, Cellulase A, T. Nhiệt độ 50°C, lượng chế phẩm enzyme sử dụng là 0,3% cho mỗi loại, thời gian thủy phân 1 giờ.

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

pH dịch sau xử lý được thực hiện theo bảng sau đây:

Công thức	Độ pH
CT14 (CT đối chứng)	6,5
CT15	7
CT16	7,5
CT17	8
CT18	8,5
CT19	9

Bảng 5: Thiết kế thí nghiệm pH dịch sau xử lý enzyme

Chỉ tiêu đánh giá: Khối lượng protein, hiệu suất thu hồi protein. Các chỉ tiêu phân tích: độ pH, nồng độ chất khô hoà tan tổng số (TSS).

3.5. Các phương pháp phân tích

3.5.1. Xác định độ pH

Xác định pH của dịch đậu tương bằng máy đo pH để bàn STAR A211.

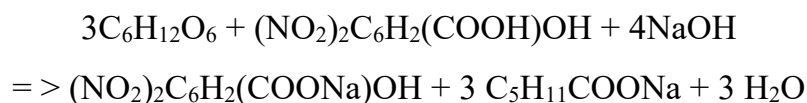
Cách tiến hành: Khuấy đều hỗn hợp dung dịch đậu tương, rửa sạch điện cực pH bằng nước cất, thấm khô bằng khăn giấy không xơ rồi nhúng vào mẫu.

Chú ý đảm bảo điện cực ngập hoàn toàn, nếu máy đo ở chế độ auto read (cài đặt mặc định), nhấn để bắt đầu đo. Khi biểu tượng AR ngừng nhấp nháy, ghi lại độ pH của mẫu.

3.5.2. Phương pháp xác định đường khử

Nguyên tắc:

Dựa trên phản ứng tạo màu giữa đường khử với thuốc thử axit dinitrosalicylic DNS. [48]



Cường độ màu của hỗn hợp phản ứng tỷ lệ thuận với nồng độ đường khử trong phạm vi nhất định. Dựa trên đồ thị đường chuẩn đối với glucoza tinh khiết tính được hàm lượng đường khử trong mẫu phân tích.

Tiến hành

- Dụng đồ thị chuẩn glucoza:

+ Cân glucoza tinh khiết 99%, bằng cân phân tích (lấy 3 chữ số thập phân sau dấu phẩy từ 0,12 - 0,42g. Hoà tan đường glucoza bằng nước cất và định mức tới 1 lít.

+ Tiến hành đo OD ở bước sóng 540 nm với các mẫu phân tích, trong đó mẫu phân tích là: 2 ml dịch đường + 1 ml DNS, cho vào ống nghiệm nút chặt, bỏ vào đun sôi cách thuỷ 5 phút, lấy ra làm nguội rồi đem đo OD. Mẫu đối chứng là nước cất.

+ Vẽ đồ thị chuẩn với trục tung là OD, trục hoành là nồng độ đường (mg/L).

- Xác định hàm lượng đường khử trong mẫu.

+ Pha loãng mẫu sao cho hàm lượng đường khử trong khoảng 0,12-0,42 mg/ml rồi tiến hành đo xác định như trong phần dùng đồ thị chuẩn.

+ Dựa vào đồ thị chuẩn tra được hàm lượng đường khử trong mẫu phân tích. Chú ý. Màu của hỗn hợp chỉ tạo ra trong môi trường kiềm, do vậy những mẫu axit phải được trung hoà trước khi đem phân tích. Các mẫu đun có thể để được một thời gian (30 phút trước khi đo).

3.5.3. Xác định hàm lượng Cacbonhydrate tổng số

Hàm lượng carbohydrate tổng trong mẫu được xác định theo phương pháp phenol–sulfuric acid.

Nguyên tắc của phương pháp dựa trên phản ứng giữa carbohydrate với phenol và acid sulfuric đậm đặc tạo thành hợp chất có màu vàng cam. Cường độ màu tạo thành tỉ lệ thuận với hàm lượng carbohydrate có trong mẫu.

Mẫu sau khi phản ứng được đo độ hấp thụ quang bằng máy quang phổ UV-Vis tại bước sóng 490 nm. Hàm lượng carbohydrate được xác định thông qua đường chuẩn glucose và được biểu thị dưới dạng phần trăm (%) hoặc mg glucose tương đương trên gam mẫu.

Tiến hành:

- Xây dựng đường chuẩn glucose:

- + Chuẩn bị các dung dịch glucose chuẩn có nồng độ khác nhau. Sau đó hút 1 mL mỗi dung dịch chuẩn cho vào các ống nghiệm riêng biệt. Thêm 1 mL dung dịch phenol 5% vào mỗi ống nghiệm. Tiếp tục thêm nhanh 5 mL acid sulfuric đậm đặc. Lắc đều hỗn hợp và để yên ở nhiệt độ phòng trong khoảng 20–30 phút để phản ứng tạo màu hoàn toàn.

- + Đo độ hấp thụ quang của các dung dịch chuẩn tại bước sóng 490 nm bằng máy quang phổ UV-Vis. Xây dựng đường chuẩn biểu diễn mối quan hệ giữa nồng độ glucose và độ hấp thụ quang

- Xác định hàm lượng carbohydrate trong mẫu:

- + Tiến hành phản ứng với dung dịch phenol 5% và acid sulfuric đậm đặc tương tự như mẫu chuẩn. Sau khi phản ứng kết thúc, tiến hành đo độ hấp thụ quang của mẫu tại bước sóng 490 nm bằng máy quang phổ UV-Vis. Hàm lượng carbohydrate được xác định thông qua đường chuẩn glucose.

3.5.4. Xác định nồng độ chất khô hòa tan tổng số (TSS)

Nồng độ chất khô hòa tan tổng số được xác định bằng máy đo độ brix Atago.

Cách tiến hành: Làm sạch lăng kính máy đo bằng nước cất, lau khô, nhỏ 12 giọt nước cất lên lăng kính và hiệu chỉnh về 0. Khuấy đều hỗn hợp đậu tương, nhỏ 1 – 2 giọt mẫu lên lăng kính, đọc chỉ số trên màn hình. Thực hiện 3 lần đo, lấy giá trị trung bình. Làm sạch lăng kính sau mỗi lần đo để đảm bảo độ chính xác.

3.5.5. Xác định độ ẩm

Xác định độ ẩm bằng cân đo độ ẩm MA 35 Sartorius

Nguyên tắc: Mẫu được sấy bằng đèn halogen đến khi khối lượng không đổi. Độ ẩm được tính dựa trên sự giảm khối lượng.

Cách tiến hành: Bật máy, để máy khởi động và tự hiệu chuẩn. Chuẩn bị mẫu, cân khoảng 1 g vào đĩa nhôm, dàn đều. Đặt đĩa mẫu vào buồng sấy, đóng nắp máy. Chọn chế độ đo: nhiệt độ sấy, thời gian hoặc kết thúc tự động. Khi đo kết thúc, màn hình thiết bị hiển thị end, ghi chép kết quả hiển thị và vệ sinh đĩa sau khi sử dụng.

3.5.6. Sử dụng phương pháp Kjeldahl xác định hàm lượng protein

Nguyên tắc của phương pháp Kjeldahl:

- Phân hủy: Mẫu được xử lý với axit sulfuric đậm đặc và xúc tác (thường là muoosu đồng hoặc thủy ngân) để phân hủy các hợp chất hữu cơ và chuyển đổi nito hữu cơ thành amoniac (NH_3).
- Khử khoáng: Sau khi phân hủy, dung dịch được làm nguội và thêm dung dịch kiềm mạnh (NaOH) để giải phóng amoniac từ dung dịch.
- Chung cất: Amoniacc được chung cất và thu nhập trong dung dịch axit boric (H_3BO_3).
- Chuẩn độ: Dung dịch axit boric chứa amoniacc được chuẩn độ bằng dung dịch axit chuẩn (thường là axit hydrochloric, HCl) để xác định lượng amoniacc đã thu được.
- Hàm lượng protein được tính toán dựa trên hàm lượng nito đã xác định được. Hệ số chuyển đổi từ nito sang protein phụ thuộc vào loại protein trong mẫu. Hệ số chung được sử dụng là 6.25, nghĩa là 1 gram nito tương đương với 6.25 gram protein [49].

3.5.7. Xác định hiệu suất tách chiết

Hiệu suất tách chiết (%) = (Khối lượng protein thu được/ Khối lượng protein trong nguyên liệu) x 100%

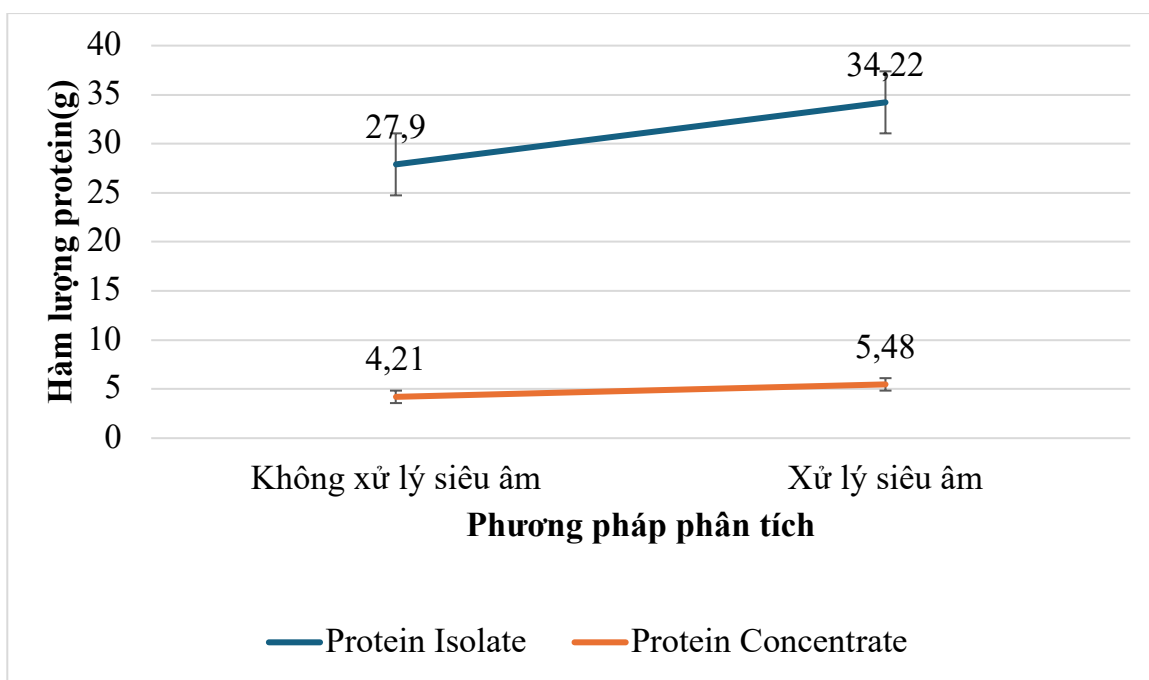
Hiệu suất tách chiết cho biết tỷ lệ phần trăm protein được chiết ra khỏi nguyên liệu ban đầu so với tổng lượng protein có trong nguyên liệu [44]

PHẦN 4: KẾT QUẢ

4.1. Kết quả khảo sát chọn lọc phương pháp trích ly protein đậu tương.

4.1.1. Lựa chọn phương pháp chiết xuất protein

Chiết xuất protein đậu tương là một quá trình quan trọng trong sản xuất thực phẩm, và các ứng dụng công nghiệp khác. Có nhiều phương pháp chiết xuất protein đậu tương, mỗi phương pháp có ưu nhược điểm riêng. Việc lựa chọn phương pháp phù hợp phụ thuộc vào nhiều yếu tố. Giữa 2 phương pháp không sử dụng máy siêu âm và sử dụng máy siêu âm ta thấy sự chênh lệch về thu hồi hàm lượng protein như sau :



Hình 3: Ảnh hưởng của hai phương pháp đến thu hồi hàm lượng protein trong 100g nguyên liệu

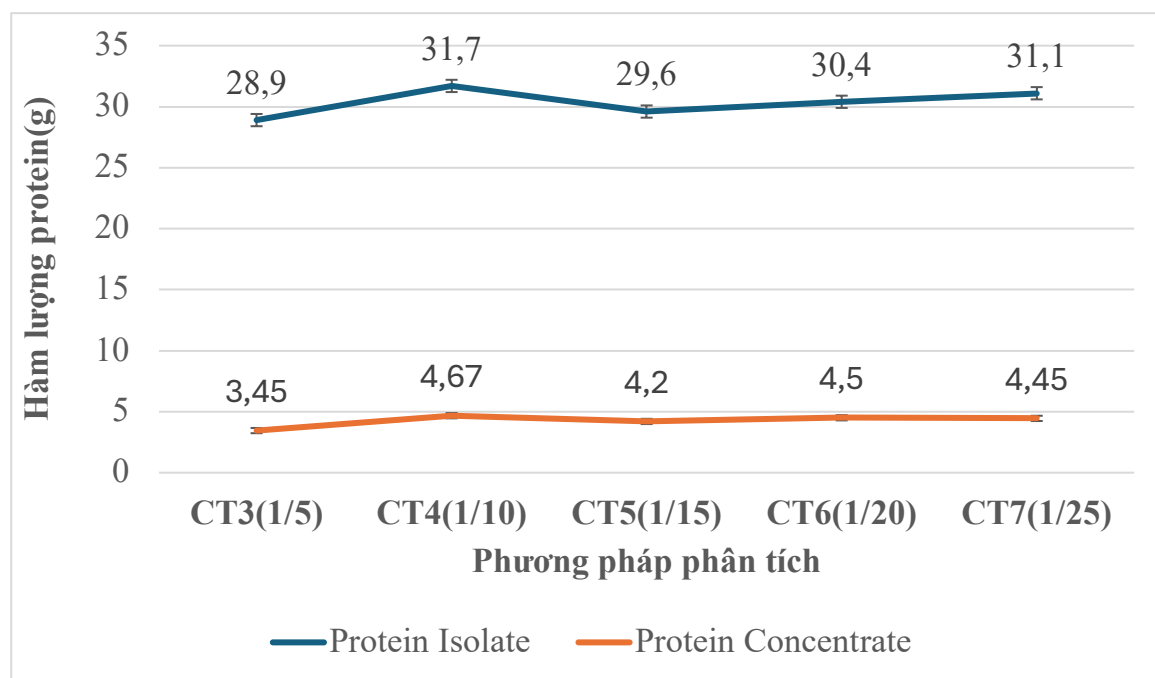
Ở hình 3 ta có thể thấy sự chênh lệch lớn giữa hàm lượng protein thu được ở phương pháp không xử lý siêu âm và máy siêu âm trong 100g đậu tương. Hàm lượng protein thu được của phương pháp không xử lý siêu âm lần lượt là 27,9g (protein Isolate) và 4,21g (protein Concentrate) còn ở máy siêu âm thu được hàm lượng protein là 34,22g (protein Isolate) và 5,48g

(protein Concentrate) nhiều hơn 23,64% so với phương pháp không xử lý siêu âm. Theo nghiên cứu của Das et al. (2023), việc sử dụng máy siêu âm trong quá trình chiết xuất protein từ đậu tương không chỉ giúp tối ưu hóa hiệu suất thu hồi mà còn nâng cao chất lượng protein tách chiết. Phương pháp này được đánh giá là hiệu quả hơn so với các phương pháp khác như xử lý bằng vi sóng hoặc enzyme, nhờ khả năng tiết kiệm thời gian, nguyên liệu, và diện tích sản xuất, đồng thời tối ưu hàm lượng protein thu được. [50]

Vì vậy sự dụng phương pháp xử lý siêu âm được lựa chọn ở các thí nghiệm tiếp theo.

4.1.2. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu / nước

Hệ dung môi là một trong những yếu tố quan trọng nhất trong quá trình chiết suất. Việc lựa chọn tỉ lệ nguyên liệu và dung môi đúng sẽ quyết định đến hiệu suất thu hồi protein. Trong quá trình trích ly chất chiết sẽ khuếch tán từ nguyên liệu vào dung môi. Tỉ lệ nguyên liệu/dung môi càng thấp thì protein trong nguyên liệu sẽ được trích ly vào dung môi dễ dàng hơn. Tuy nhiên, lượng dung môi sử dụng quá lớn sẽ làm loãng dịch trích. Do đó, ta cần lựa chọn tỉ lệ nguyên liệu/dung môi thích hợp cho quá trình trích ly để đem lại hiệu suất thu hồi protein tối ưu nhất hay nói cách khác thu được hàm lượng protein thô thấp nhất trong khi đó, hàm lượng protein hòa tan cao nhất. Tỉ lệ nguyên liệu/dung môi được sử dụng trong thí nghiệm dao động trong khoảng 1/5(w/v) – 1/25(w/v). Kết quả tỉ lệ 1/10(w/v) được chọn và thể hiện trong hình dưới đây:



Hình 4: Ảnh hưởng tỉ lệ nguyên liệu/ nước đến thu hồi hàm lượng protein

Ở hình 4 là hàm lượng protein isolate và concentrate thu được ở 100g đậu tương với các tỉ lệ 1/5, 1/10, 1/15, 1/20, 1/25. Sự thay đổi hàm lượng protein isolate và concentrate chiết từ đậu tương theo tỉ lệ nguyên liệu/nước được trình bày ở Hình 4:

Khi giảm tỉ lệ nguyên liệu/nước từ 1/5(w/v) xuống 1/10(w/v) thì hàm lượng protein isolate tăng thêm 2,8g tương đương với hiệu suất thu hồi là 9,7%. Nếu tiếp tục giảm tỉ lệ nguyên liệu/nước từ 1/10(w/v) xuống 1/15 (w/v) thì hàm lượng protein thu được giảm 2,1g tương đương hiệu suất thu hồi giảm 6,62% sau đó có giảm tỉ lệ xuống 1/20, 1/25 thì hàm lượng protein có tăng nhưng không đáng kể.

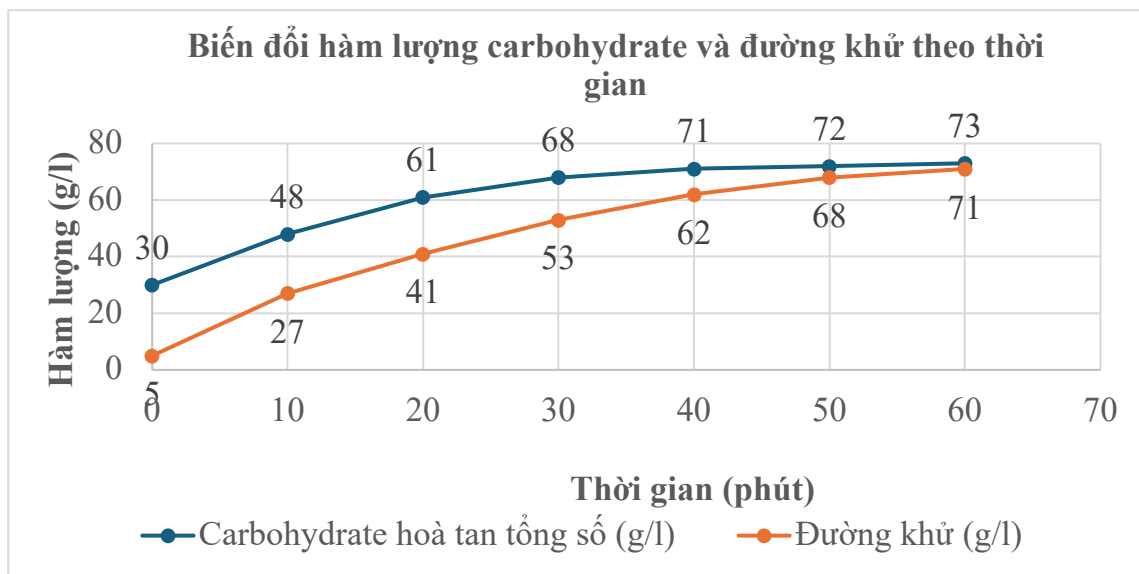
Khi giảm tỉ lệ nguyên liệu/nước từ 1/5(w/v) xuống 1/10(w/v) thì hàm lượng protein concentrate tăng thêm 1,22g tương đương với hiệu suất thu hồi là 35,36%. Nếu tiếp tục giảm tỉ lệ nguyên liệu/nước từ 1/10(w/v) xuống 1/15 (w/v) thì hàm lượng protein thu được giảm 0,45g tương đương hiệu suất thu hồi giảm 10,06% sau đó có giảm tỉ lệ xuống 1/20, 1/25 thì hàm lượng protein concentrate có tăng nhưng không đáng kể.

Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây về ảnh hưởng của tỷ lệ đậu tương/nước trong chiết xuất protein bằng siêu âm. Cụ thể, khi sử dụng tỷ lệ rắn–dung môi ở mức 1:10 (w/v), hiệu suất chiết protein đạt giá trị cao nhất so với các tỷ lệ khác như 1:5 hay 1:15, nhờ khả năng phân tán tốt hơn và hiệu quả truyền sóng siêu âm cao hơn. Một nghiên cứu sử dụng tỷ lệ này đã ghi nhận hiệu suất protein chiết xuất tăng rõ rệt lên 35,28%, cao hơn đáng kể so với phương pháp truyền thống (26,39%) (Chen et al., 2024). Ngoài ra, một bằng sáng chế công bố rằng tỷ lệ 1:10 (w/v) giúp hiệu suất thu hồi protein bằng siêu âm có thể đạt từ 25% đến gần 48% tùy theo mức công suất siêu âm sử dụng [51].

Vì vậy, tỷ lệ 1/10 (w/v) được chọn để trích ly protein đậu tương cho các thí nghiệm tiếp theo.

4.1.3. Ảnh hưởng của thời gian xử lý enzyme đến quá trình chiết tách protein

Trong quá trình chiết xuất protein từ đậu tương, carbohydrate – đặc biệt là polysaccharide không tinh bột (NSP) và oligosaccharide – làm giảm hiệu suất và độ tinh khiết protein. Để giải quyết, các enzyme như Viscozyme L (phân giải cellulose, hemicellulose và polysaccharide phức tạp), Pectinex® Ultra SP-L (phân giải pectin), Cellulase A và Cellulase T (thủy phân cellulose thành đường đơn), Hemicellulase (thủy phân hemicellulose thành xylose và arabinose) và Pectinase G (phân giải pectin giúp giảm độ nhớt) được sử dụng để phá vỡ cấu trúc carbohydrate phức tạp thành các đường khử hòa tan. Quá trình này giúp loại bỏ carbohydrate không mong muốn, giải phóng protein nội bào và nâng cao hàm lượng, độ tinh khiết protein trong sản phẩm cuối cùng [52]. Hàm lượng đường khử và carbohydrate thu được thể hiện trong hình dưới đây:



Hình 5: Hàm lượng đường khử và carbohydrate hòa tan thu được từ quá trình thủy phân đậu tương bằng enzyme

Đồ thị cho thấy diễn biến theo thời gian của quá trình thủy phân enzyme chuyển hóa carbohydrate trong bột đậu tương thành carbohydrate hòa tan, được đo dưới dạng đường khử và tổng carbohydrate trong dịch thủy phân.

Quan sát từ biểu đồ, quá trình thủy phân enzym diễn ra rõ rệt trong suốt 60 phút. Hàm lượng carbohydrate hòa tan tổng số tăng từ 30,0 g/L ở thời điểm ban đầu lên 73,0 g/L sau 60 phút, trong khi đường khử cũng tăng mạnh từ 5,0 g/L lên 71,0 g/L.

Từ số liệu thực nghiệm ta có thể thấy rằng:

Trong 20 phút đầu tiên, tốc độ thủy phân diễn ra nhanh, carbohydrate tổng tăng 31,0 g/L (từ 30,0 g/L lên 61,0 g/L) và đường khử tăng 36,0 g/L (từ 5,0 g/L lên 41,0 g/L). Điều này phản ánh hoạt động mạnh mẽ ban đầu của enzym lên các polysaccharide dễ bị cắt nhỏ. Đây là giai đoạn enzym có hiệu suất cao nhất nhờ tiếp cận cơ chất dễ phân giải. Việc tăng nhanh đường khử cho thấy sự hình thành mạnh mẽ của các sản phẩm đường đơn ngay từ đầu.

Từ 30 đến 60 phút, tốc độ tăng chậm hơn nhưng đường khử vẫn tiếp tục tăng từ 53,0 g/L lên 71,0 g/L, cho thấy enzym tiếp tục phân giải những cấu

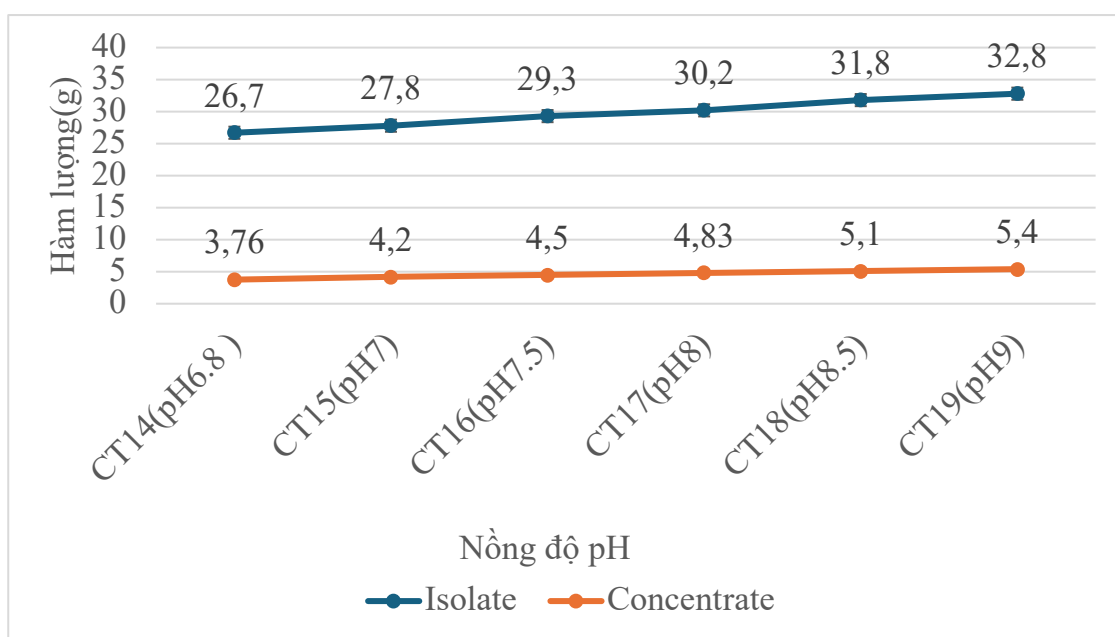
trúc carbohydrate bền hơn hoặc phức tạp hơn. Giai đoạn này phản ánh xu hướng giảm dần hoạt lực do cơ chất dễ phân giải đã cạn kiệt. Tuy nhiên, enzym vẫn hoạt động trên phần còn lại, chứng tỏ khả năng phân cắt sâu các liên kết khó bền.

Tại phút 60, đường khử chiếm tới 97,3% tổng carbohydrate hòa tan, cho thấy quá trình thủy phân gần như hoàn tất, phần lớn carbohydrate đã được chuyển hóa thành các đường đơn dễ tiêu hóa, dễ lên men và dễ loại bỏ khỏi protein concentrate. Tỷ lệ này cho thấy enzym đã đạt hiệu quả thủy phân rất cao. Đây cũng là thời điểm thích hợp để dừng phản ứng nhằm tránh tiêu hao enzyme không cần thiết và tối ưu hiệu suất công nghiệp.

Kết quả thu được từ quá trình xử lý bằng tổ hợp enzyme gồm Viscozyme L, Cassava C, Pectinex® Ultra SP-L cùng với các enzyme hỗ trợ như cellulase, hemicellulase và pectinase cho thấy hiệu suất thủy phân carbohydrate rất cao. Việc sử dụng phối hợp nhiều enzyme có phổ hoạt tính khác nhau đã giúp phá vỡ hiệu quả cấu trúc polysaccharide phức tạp, giải phóng phần lớn carbohydrate về dạng đường khử dễ hòa tan. Điều này không chỉ hỗ trợ tách protein hiệu quả hơn mà còn góp phần làm giảm độ nhớt dịch chiết và loại bỏ các tác nhân kháng dinh dưỡng, cho thấy tính khả thi và ưu điểm rõ rệt của phương pháp enzyme hóa đa thành phần trong chiết xuất protein từ đậu tương.

4.1.4. Ảnh hưởng của độ pH đến thu hồi hàm lượng protein của đậu tương.

Tính chất và chất lượng của protein đậu tương chịu ảnh hưởng đáng kể bởi độ pH của môi trường. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng sự thay đổi độ pH có thể gây ra những thay đổi đáng kể trong cấu trúc, độ tan, khả năng đông tụ, tạo bọt và tạo gel của đậu tương. Sự thay đổi hiệu suất thu hồi protein đậu tương theo pH dịch xử lý siêu âm được thể hiện ở Hình 4.4, giá trị pH có ảnh hưởng lớn đến nồng độ protein trong dịch trích. Trong nghiên cứu này chỉ khảo sát giá trị pH dịch xử lý siêu âm trong khoảng từ 7 đến 9. Đây là khoảng pH thích hợp để trích ly protein đối với đậu tương mà không làm thay đổi nhiều các tính chất chức năng và giá trị dinh dưỡng của protein thành phẩm. Kết quả pH9 được chọn và thể hiện trong hình dưới đây:



Hình 6: Ảnh hưởng độ pH đến thu hồi hàm lượng protein của đậu tương.

Các nghiên cứu cũng chỉ ra rằng sự thay đổi độ pH không chỉ ảnh hưởng đến các chất của protein riêng mà còn có thể tác động đến các thành phần khác trong đậu tương, ví dụ như các enzyme, các hợp chất sinh học và dinh dưỡng. Do đó, việc kiểm soát và điều chỉnh độ pH là yếu tố then chốt để đảm bảo chất lượng và tối ưu hóa các ứng dụng của protein đậu

tương trong các sản phẩm thực phẩm. Theo kết quả thu được, khi tăng pH dịch xử lý siêu âm từ 7 đến 9 thì hàm lượng protein(Isolate và Concentrate) thu được biến đổi liên tục. Công thức thí nghiệm có hàm lượng protein thô thu được cao nhất là CT19 với pH = 9,0 với 32,8g (protein Isolate) và 5,4g (protein Concentrate) , thấp nhất là CT14 với pH= 6,8 thu được hàm lượng protein Isolate là 26,7g thấp hơn so với CT15 là 3,5g. Giữa CT14 và CT15 chênh lệch 1,1g (protein Isolate) , giữa CT15 và CT17, thì khối lượng protein Isolate và Concentrate có sự thay đổi không đáng kể. Có thể giải thích rằng dung dịch có độ nhớt và sức căng bề mặt tăng khi pH trong khoảng từ 7 đến 8,5 khi đó bong bóng khí trong pha lỏng khó hình thành và khó nổ tung hơn nên thành tế bào nguyên liệu ít bị phá vỡ hơn khi đó, ngoài ra độ nhớt tăng sẽ làm giảm tốc độ truyền khối vì vậy làm cho hàm lượng protein tăng khi tăng pH từ 8 đến 8,5. Tuy nhiên, tiếp tục tăng pH đến 9,0 thì hàm lượng protein thu được là tối ưu nhất hay nói cách khác, thu hồi protein là cao nhất. Kết luận ta thấy khi ở nồng độ pH (7-9), cấu trúc protein đậu tương được duy trì tốt, giúp tăng cường độ tan và khả năng hòa tan của protein , ở pH Kiềm, một số chức năng hoạt động khác của protein tương thích với khả năng tạo bọt, giữ nước và tạo ra cấu hình được cải thiện. Theo nghiên cứu của Jiang et al. (2018): nghiên cứu được công bố trên tạp chí Nghiên cứu Hóa học Thực phẩm. Nhóm nghiên cứu đã khảo sát ảnh hưởng của độ pH (3-9) đến cấu trúc và tính chất của protein đậu tương. Kết quả được tìm thấy ở pH acid (3-5), cấu trúc protein bị phá vỡ dẫn đến giảm tốc độ và khả năng đông tụ. Ở pH kiềm (7-9), đậu protein tương có độ tan và khả năng đông tụ tốt nhất. Vì vậy độ pH(9) ta lựa chọn làm ở các thí nghiệm tiếp theo.

4.1.5. Ứng dụng để thu nhận protein quy mô phòng thí nghiệm

Sau khi thu được các kết quả tối ưu của các thí nghiệm tôi làm được mẫu chuẩn thu nhận protein bằng phương pháp siêu âm từ 100g đậu tương chúng tôi thực hiện như sau: Chuẩn bị mẫu 100g đậu tương tách vỏ và loại bỏ dầu với tỉ lệ nguyên liệu/dung môi: 1/10, enzyme Viscozyme L 0,03% , Cassava C 0,3%, Pectinex® Ultra SP-L 0,5% , Cellulase T 0,02%,

Cellulase A 0,02%, Hemicellulase 0,02% và Pectinase G 0,02% , thời gian siêu âm trước là 40 phút và thời gian siêu âm sau là 10 phút, đạt độ pH 9 thì thu được 222,98g lượng protein.

Sau đó chúng tôi gửi mẫu đi phân tích tại “ Trung tâm Phân tích và Giám định Thực phẩm Quốc gia Viện Công nghiệp Thực Phẩm” bằng phương pháp Kjeldahl.

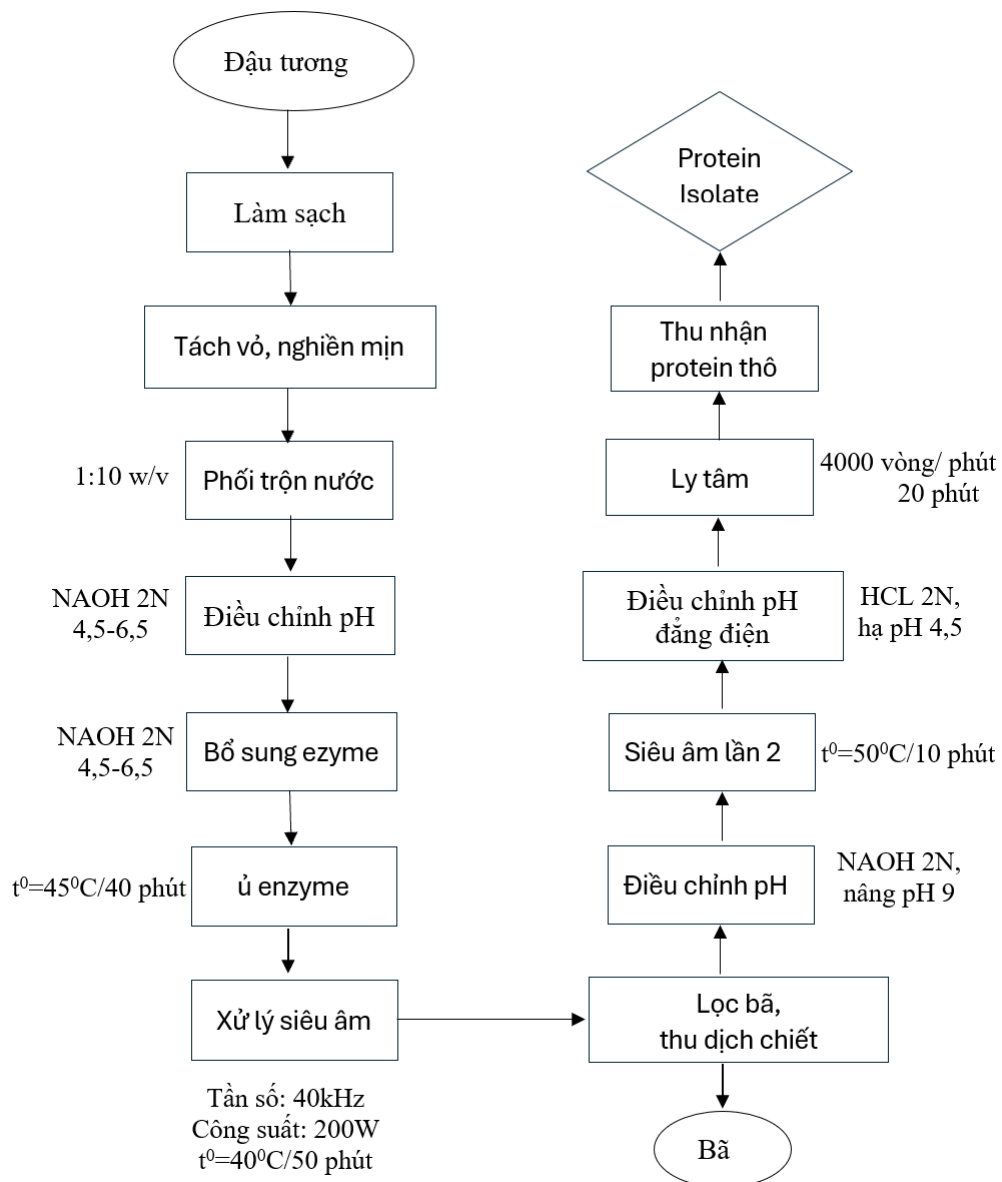
Nếu theo KQ này mà qui ra độ khô tuyệt đối thì KQ protein tổng số như sau:

Mẫu	Protein tổng số	Khối lượng(g)
Protein Isolate	80,64%	34,23
Protein Concentrate	24,5%	5,36
Đậu tương tách vỏ và loại bỏ dầu	51,77%	51,77

Bảng 6: Kết quả Protein tổng số thu được bằng phương pháp Kjeldahl

4.2. Xây dựng quy trình chiết xuất protein từ đậu tương quy mô phòng thí nghiệm.

Dựa trên các kết quả thu được từ thí nghiệm trên chúng tôi xây dựng được quy trình thu nhận protein từ đậu tương quy mô phòng thí nghiệm như sau:



Hình 7: Sơ đồ quy trình chiết xuất protein từ đậu tương

Thuyết minh quy trình:

Bước 1: Lựa chọn nguyên liệu, Đậu tương đã tách vỏ và loại bỏ đầu do nhóm nghiên cứu của Viện Công nghiệp Thực phẩm nghiên cứu.

Bước 2: Cho nguyên liệu cùng nước với tỉ lệ 1/10. Nước được thêm vào hỗn hợp giúp tạo môi trường thuận lợi cho quá trình hòa tan protein, tăng hiệu quả chiết xuất giúp cho đậu tương phá vỡ cấu trúc tế bào của hạt đậu, giải phóng protein ra khỏi tế bào, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình chiết xuất.

-Sau đó, bổ sung lượng enzyme Viscozyme L 3% , Cassava C 0,3%, Pectinex® Ultra SP-L 0,5% , Cellulase T 0,02%, Cellulase A 0,02%, Hemicellulase 0,02% và Pectinase G 0,02% vào dung dịch tác dụng để phá vỡ thành tế bào do trong Viscozyme L chứa các enzyme cellulase và hemicellulase có khả năng phân hủy cellulose và hemicellulose, là thành phần chính của thành tế bào thực vật. Việc phá vỡ thành tế bào giúp giải phóng protein ra khỏi tế bào, tăng hiệu suất chiết xuất và tăng diện tích tiếp xúc giữa protein và dung môi chiết, giúp protein dễ dàng hòa tan và tách ra khỏi hỗn hợp.

Bước 3: Xử lý enzyme bằng phương pháp siêu âm trong 40 phút với nhiệt độ 50 độ C tác dụng:

- Tăng cường hoạt động enzyme: Siêu âm tạo ra các bọt khí nhỏ li ti trong dung dịch enzyme, khi các bọt khí này vỡ ra, chúng tạo ra các sóng

áp suất mạnh, làm tăng cường hoạt động của enzyme Viscozyme L cùng 1 số loại enzyme khác.

- Tăng diện tích tiếp xúc: Siêu âm làm giảm kích thước của các hạt đậu tương, tăng diện tích tiếp xúc giữa enzyme và protein, giúp enzyme tiếp cận protein dễ dàng hơn. Hỗ trợ quá trình khuếch tán.

- Siêu âm giúp tăng cường quá trình khuếch tán của enzyme và protein, giúp enzyme dễ dàng tiếp cận protein và thực hiện quá trình phân hủy.

Bước 4: Nâng pH dung dịch lên pH9 bằng dung dịch NaOH khi pH tăng lên 9, protein sẽ mang điện tích âm, tăng cường lực đẩy tĩnh điện giữa các phân tử protein, giúp chúng hòa tan tốt hơn trong dung dịch, làm giảm độ nhớt của dung dịch protein, làm cho quá trình tách chiết và tinh chế protein dễ dàng hơn.

Bước 5: Dùng siêu âm thêm 10 phút tác dụng làm tăng tốc độ kết tủa protein ở pH9

Bước 6: Lọc bã thu được mẫu protein concentrate. Hiệu chỉnh pH dịch xuống pH 4,5 bằng HCl 1N tác dụng tạo độ kết tủa khi pH của dung dịch giảm xuống gần pI của protein, protein sẽ mất đi điện tích và trở nên trung hòa về điện. Khi protein trở nên trung hòa về điện, lực đẩy tĩnh điện giữa các phân tử protein giảm đi, dẫn đến sự kết tụ và kết tủa của protein.

Bước 7: Ly tâm: Máy ly tâm được sử dụng để thu hồi protein kết tủa, tách chúng khỏi dung dịch. Lực ly tâm đẩy protein kết tủa xuống đáy ống ly tâm, giúp thu hồi protein hiệu quả

Bước 8: Ta thu được lượng protein Isolate ở đáy ống ly tâm và lượng dung dịch có chứa tạp chất.

PHẦN 5: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

5.1. Kết luận

Sau quá trình thực hiện nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tách chiết protein từ đậu tương tôi thu được kết quả sau:

- Đã khảo sát và lựa chọn được phương pháp sử dụng máy siêu âm trong quá trình tách chiết protein: siêu âm lần 1 thời gian 40 phút 50°C, lần 2 10 phút 50°C
- Đã khảo sát và lựa chọn được tỉ lệ nguyên liệu/nước thích hợp cho tách chiết protein: 1/10
- Đã khảo sát và lựa chọn được độ pH thích hợp cho quá trình tách chiết protein: pH 9
- Đã xây dựng được qui trình tách chiết protein từ đậu tương qui mô phòng thí nghiệm, nếu qui về độ ẩm tuyệt đối thu được :80,64% protein Isolate và 24,5% protein Concentrate

5.2. Kiến nghị

Do thời gian và điều kiện nghiên cứu còn hạn chế , chúng tôi xin đưa ra một số kiến nghị sau:

- Nghiên cứu tối ưu hóa các điều kiện thủy phân enzyme để nâng cao hiệu suất tách chiết protein
- Tiến hành tiếp tục nghiên cứu thêm các yếu tố ảnh hưởng trong quá trình tách chiết protein như: ảnh hưởng của lực ly tâm đến quá trình tách bã ướt SPC ra khỏi dịch thủy phân enzyme, lọc màng để thu hồi protein...

PHẦN 6: TÀI LIỆU THAM KHẢO

6.1. Tài liệu tiếng Việt

- [3] Đ. T. H. v. cs, "Nghiên cứu đặc điểm và thành phần hóa học của đậu tương," *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 2022.
- [4] T. V. Điền, *Giáo trình Cây công nghiệp*, Hà Nội: Nhà xuất bản Nông nghiệp, 2007.
- [5] B. N. n. v. P. t. n. t. Cục Trồng trọt, "Báo cáo sản xuất cây đậu tương năm 2021," Hà Nội, 2021.
- [7] T. B. N. v. N. V. Luật, *Cây đậu tương – Kỹ thuật trồng và chế biến*, Hà Nội: Nhà xuất bản Nông nghiệp, 2004.
- [9] L. Q. Đạt, *Giá trị dinh dưỡng và thành phần hóa học của đậu tương*, 2013.
- [32] Đ. H. Ánh, *Thuyết Minh đề tài KC07*, Viện Công nghiệp Hà Nội, 2023.
- [48] T. Seed, "Giống đậu tương DT84," 14 May 2026. [Online]. Available: https://ecthaibinh.com/vi/mua-sam/giong-dau-tuong-dt84_681/?utm_source=chatgpt.com.
- [49] N. V. Mùi, *Hóa học thực phẩm*, Hà Nội: NXB Khoa học và Kỹ thuật, 2001.

6.2. Tài liệu nước ngoài

- [1] M. & B. D. L. Friedman, "Nutritional and health benefits of soy proteins," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 49, p. 1069–1086, 2001.
- [2] H. D. J. C. P. A. Moure, "Advances in the manufacture, purification and applications of protein concentrates and isolates

- from oilseeds," *Food Research International*, vol. 39, pp. 945-963, 2006.
- [6] A. J. Michelfelder, "Soy: A complete source of protein," *American Family Physician*, vol. 79, no. 1, p. 43–47, 2009.
- [8] C. Safak, "Soybeans: The Miracle Crop," YaleGlobal Online, 1 Mar 2017. [Online]. Available: <https://archive-yaleglobal.yale.edu/soybeans-miracle-crop>. [Accessed 14 Mar 2026].
- [10] L. L. e. al., "Soybean proteins and peptides: Characterization, biological activities, and applications," *Food Reviews International*, 2016.
- [11] X. M. e. al., "Soy protein and its nutritional applications in plant-based foods," *Food Chemistry*, 2019.
- [12] T. B. Osborne, *The Vegetable Proteins*, London: Longmans, Green and Co., 1908.
- [13] K. Liu, *Soybeans: Chemistry, Technology, and Utilization*, New York, NY, USA: Springer, 2008.
- [14] R. Naismith, "Sedimentation studies on soybean proteins," *Biochemical Journal*, vol. 61, no. 2, p. 250–256, 1955.
- [15] H. J. W. a. D. R. Briggs, "Ultracentrifugal studies of soybean proteins," *Cereal Chemistry*, vol. 33, p. 397–409, 1956.
- [16] A. R. e. al., "A Review of Bioactive Compound Effects from Primary Legume Protein Sources in Human and Animal Health," *Biomolecules*, vol. 46, no. 5, 2023.
- [17] e. a. M. Natarajan, "Structural and functional properties of soy protein fractions," *Food Chemistry*, 2006.
- [18] A.-M. Hermansson, "The structure of soy protein gels," *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1986.

- [19] J. I. B. a. F. Zare, "Pulses and their properties," *Food Research International*, 2011.
- [20] J. Z. e. al., "Structure–function relationships of soy proteins in food systems," *Trends in Food Science & Technology*, 2022.
- [21] J. A. C.-K. a. B. M. Bohrer, "Carbohydrate composition and functional properties of soybeans," *Journal of Food Science*, 2019.
- [22] K. M. e. al., "Non-starch polysaccharides in legumes and their physiological effects," *Food Chemistry*, 2017.
- [23] A. L. A. a. S. J. Bush, "Soy protein and cardiovascular health," *American Journal of Clinical Nutrition*, 2002.
- [24] J. L. Messina, "Soy foods and soybean isoflavones and cancer risk: A review of the evidence," *Journal of Nutrition*, 2001.
- [25] Y. G. e. al., "Soy protein intake reduces body weight and adiposity in diet-induced obese rodents," *Journal of Nutrition*, 2009.
- [26] S. J. A. a. S. Bush, "Soy protein and metabolic health: effects on diabetes risk," *American Journal of Clinical Nutrition*, 2011.
- [27] K. F. Tucker, "Soy protein intake and bone health in aging populations," *Osteoporosis International*, 2014.
- [28] U. F. a. D. A. (FDA), "Soy Protein and Coronary Heart Disease Health Claim," 1999. [Online]. Available: <https://www.fda.gov/>.
- [29] M. Messina, "Soy and health: Benefits and concerns.," *Journal of Nutrition*, 2016.
- [30] J. I. B. a. F. Zare, "Processing of pulses and protein extraction technologies," *Food Research International*, 2011.
- [31] S. Damodaran, "Protein functionality in food systems," *ournal of Food Science*, 2017.

- [33] J. Kuldiloke, "Effect of ultrasound, temperature and pressure treatments on enzyme activity and quality indicators of fruit and vegetable juices," 2002.
- [34] Y. Picó, "Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 43, pp. 84-99, 2013.
- [35] R. M. L. S. a. D. B. K. Vilkuh, "Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — a review," *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 9, pp. 161-169, 2008.
- [36] B. P. L. S. J. J. v. L. A. L. P. I. D. G. B. Karki, "Enhancing protein and sugar release from defatted soy flakes using ultrasound technology," *Journal of Food Engineering*, vol. 96, pp. 270-278, 2010.
- [37] T. H. N. B. T. T. T. T. N. M. N. T. a. V. V. M. L. G. L. Tu, "Comparison of enzymatic and ultrasonic extraction of albumin from defatted pumpkin (cucurbita pepo) seed powder," *Food Technology and Biotechnology*, vol. 53, p. 479, 2015.
- [38] P. D. J. A. J. L. a. C. B.-L. M.-H. Morel, "Effects of temperature, sonication time, and power settings on size distribution and extractability of total wheat flour proteins as determined by size-exclusion high-performance liquid chromatography," *Cereal Chemistry*, vol. 77, p. 685–691, 2000.
- [39] V. L. T. J. M. G. K. a. M. B. A. R. Jambrak, "Physical properties of ultrasound treated soy proteins," *Journal of Food Engineering*, vol. 93, pp. 386-393, 2009.
- [40] R. P. d. V. a. J. Visser, "Aspergillus enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides," *Microbiology and molecular biology reviews*, vol. 65, pp. 497-522, 2001.

- [41] D. B. W. a. M. R. R. R. R. N. Tharanathan, "Groundnut carbohydrates—a review," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 30, pp. 1077-1084, 1979.
- [42] D. L. P. a. K. N. A. Rosenthal, "Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 19, pp. 402-420, 1996.
- [43] M. H. L.-L. a. B. M. N. I. Y. S. Rustom, "Extraction of peanut solids with water-effect of the process and enzymatic hydrolysis," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 26, pp. 72-75, 1993.
- [44] V. R. A. a. A. D. P. B. M. Rosset, "Protein extraction from defatted soybean flour with viscozyme l pretreatment," *Journal of Food Processing and Preservation*, vol. 38, pp. 784-790, 2014.
- [45] Y. Z. F. Z. M. N. Z. S.-W. D. & S. B. Zhang, "Soy peptide aggregates formed during hydrolysis reduced protein extraction without decreasing their nutritional value.," *Food & Function*, vol. 8, no. 12, p. 4384–4395, 2017.
- [46] N. A/S, "Pectinex® Ultra SP-L Product Information," Denmark, 2020.
- [47] B. H. a. A. Bairoch, "New families in the classification of glycosyl hydrolases," *Biochemical Journal*, 1993.
- [50] P. S. P. a. C. S. S. D. Das, "Ultrasonic extraction of soy protein isolate: Characterization and comparison with microwave and enzymatic extraction methods,," *Journal of Food Science*.
- [51] H. C. & M. A. J. Owen, Extraction of proteins from vegetable seed compositions using ultrasonic energy, U.S: Patent and Trademark Office., 1977.
- [52] A. A. & J. L.-K. Loman, "Optimization of enzymatic process condition for protein enrichment, sugar recovery and digestibility

improvement of soy flour.," *Journal of the American Oil Chemists' Society*, vol. 93, no. 9, p. 1293–1307, 2016.

- [53] M. A. a. I. G. J. Yu, ""Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing,"" *Food Chemistry*, pp. 121-129, 2007.
- [54] K. Scott, *Handbook of industrial membranes*, Elsevier, 1995.
- [55] D. P. a. S. Manickam, "Cavitation technology—The future of greener extraction method: A review," *Applied Sciences*, vol. 9, no. 4, 2019.
- [56] T. J. M. a. J. P. Lorimer, *Applied Sonochemistry: The Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing*, Chichester, UK: Wiley, 2002.

Hà Nội, ngày. Tháng. năm 202

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

HỌC VIÊN

Hướng dẫn 1:

TS. Đặng Hồng Ánh

Dương Anh Tú

Hướng dẫn 2:

TS. Bùi Thị Hải Hòa

