

ỨNG DỤNG ENZYME PROTEASE TRONG TRÍCH LΥ TINH BỘT TỪ HẠT BƠ (*Persea americana* Mill.)

Dương Thị Phϋợng Liên¹, Võ Lê An Phϋợng¹, Võ Thị Diệu¹, Dương Kim Thanh^{1,*}

¹ Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ

*Email: dkthanh@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Hạt bơ (*Persea americana* M.), là phụ phẩm từ quá trình chế biến trái bơ, chứa nhiều polysaccharide, đặc biệt là tinh bột, protein và lipid. Nghiên cứu thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme protease (1 - 3 U/mL cùng với mẫu đối chứng không bổ sung enzyme) và thời gian xử lý enzyme (2 - 4 giờ) đến hiệu suất thu hồi và chất lượng tinh bột hạt bơ theo phương pháp nghiền ướt. Kết quả cho thấy, quá trình ngâm trích đạt hiệu quả tốt khi xử lý enzyme protease với tỷ lệ 2 U/mL dịch trích, trong thời gian 3 giờ cho hiệu suất thu hồi tinh bột đạt 49,50%. Tinh bột thu được có độ ẩm 8,38%, hàm lượng tinh bột 83,63% và protein 2,63%. Các đặc tính vật lý bao gồm: Độ sáng (L*) 68,33, khối lượng riêng biểu kiến và khối lượng riêng thực lần lượt là 0,71 và 0,74 g/cm³, chỉ số hấp thụ nước 2,64 g/g, chỉ số hòa tan trong nước 6,94% và khả năng trương nở 8,14%. Kết quả cho thấy, hạt bơ là nguồn nguyên liệu tiềm năng cho sản xuất tinh bột với các đặc tính phù hợp ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm.

Từ khóa: Hạt bơ, nghiền ướt, protease, protein, tinh bột.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bơ có tên khoa học *Persea americana* thuộc họ Lauraceae, là một trong những loại trái cây có giá trị dinh dưỡng cao, tốt cho sức khỏe vì rất giàu các thành phần như polysaccharide, đặc biệt là tinh bột, protein, lipid và khoáng chất [1]. Theo FAO (2024) [2], sản lượng bơ của Việt Nam đã tăng 20,63% trong vòng 5 năm, từ 158.889 tấn vào năm 2020 lên 191.662 tấn vào năm 2024. Hạt bơ chiếm 13 - 18% khối lượng quả, là một trong những phần không ăn được và thường bị loại bỏ trong quá trình chế biến quả bơ, do đó đã tạo ra một lượng chất thải đáng kể [3].

Tinh bột là một trong những polysaccharide tự nhiên quan trọng nhất trong thực phẩm. Tinh bột có trong các loại thực vật, là nguồn năng lượng tiêu thụ và dự trữ chính, đồng thời cũng được tiêu thụ nhiều nhất trong chế độ ăn của con người. Trong các hệ thống thực phẩm, nhờ vào các đặc tính lý hóa, cấu trúc... tinh bột hạt bơ có thể được ứng dụng để sản xuất chất làm đặc, chất ổn định, chất nhũ hóa, chất tạo gel, thực phẩm đông lạnh và tinh bột kháng tiêu hóa. Trong lĩnh vực phi thực phẩm, tinh bột hạt bơ được ứng dụng trong quá trình hóa dẻo các vật liệu phân hủy sinh học, phát triển màng cho các sản phẩm

dùng một lần [4]. Bên cạnh các nguồn tinh bột truyền thống như ngô, khoai tây, lúa mì và gạo, việc khai thác hiệu quả nguồn tinh bột từ các loại hạt được coi là phụ phẩm trong công nghiệp chế biến đang ngày càng được quan tâm nhằm gia tăng giá trị kinh tế và giảm thiểu chất thải nông nghiệp [5].

Protein tạo lớp màng bao quanh hạt tinh bột nếu không được loại bỏ hoàn toàn sẽ làm giảm độ trắng và độ tinh khiết của tinh bột. Các phương pháp xử lý hóa học truyền thống nhằm loại bỏ protein thường tiêu tốn nhiều hóa chất và có nguy cơ gây ô nhiễm môi trường. Protease là enzyme có khả năng thủy phân hơn 90% các liên kết peptide thành các amino axit [6]. Ứng dụng enzyme protease phân giải protein được xem là giải pháp hiệu quả trong vấn đề môi trường bằng cách giảm lượng chất thải, giúp tăng hiệu suất thu hồi tinh bột, cải thiện các tính chất như: Độ tinh khiết, chỉ số hấp thụ nước, khả năng hòa tan, khả năng trương nở... [7]. Tuy nhiên, hiệu quả của enzyme còn phụ thuộc vào điều kiện xử lý như tỷ lệ enzyme và thời gian tiếp xúc với cơ chất. Sử dụng enzyme ở nồng độ quá thấp hoặc quá cao và thời gian quá ngắn hay quá dài đều ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi [8]. Do đó, nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme và thời gian xử lý

enzyme protease trong quá trình trích tinh bột từ hạt bơ đến hiệu suất thu hồi, độ tinh khiết và đặc tính vật lý của tinh bột hạt bơ được thực hiện.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguồn nguyên liệu hạt bơ sử dụng từ giống “Bơ không tên”, được thu gom tại cơ sở tách thịt quả bơ gia công ở thành phố Cần Thơ, được vận chuyển về phòng thí nghiệm để thực hiện nghiên cứu. Enzyme protease có hoạt độ 412.611 U/g, nhiệt độ tối ưu: 50 - 60°C, pH: 6 - 7 (Angle Yease Co., Ltd, Trung Quốc) được sử dụng cho nghiên cứu.

Thí nghiệm được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Bộ môn Công nghệ thực phẩm, Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ.

2.2. Bố trí thí nghiệm

Hạt bơ được thu gom từ cơ sở gia công tách thịt quả bơ ở thành phố Cần Thơ. Lựa chọn những hạt không dập nát hoặc hư hỏng, rửa sạch để loại bỏ tạp chất và bóc bỏ lớp vỏ lụa bao quanh hạt.

Hạt bơ sau khi bóc vỏ và rửa sạch được chia thành hai phần. Phần thứ nhất được cắt nhỏ và nghiền mịn để phân tích các chỉ tiêu hóa học cơ bản. Phần thứ hai được cắt thành các lát mỏng (3 - 5 mm), sau đó tiếp tục cắt thành miếng nhỏ và ngâm trong nước theo tỷ lệ nguyên liệu : nước là 1:2 để xử lý enzyme. Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 2 nhân tố là tỷ lệ enzyme protease (thay đổi từ 1 - 3 U/mL, cách nhau 1 U/mL cùng với mẫu đối chứng không bổ sung enzyme) và thời gian trích ly (từ 2 - 4 giờ, cách nhau mỗi giờ) với nhiệt độ ngâm trích 50°C. Nguyên liệu được nghiền và lọc qua rây với đường kính lỗ rây 0,25 mm. Phần dịch lọc được rửa 3 lần và để lắng hỗn hợp dịch lọc 12 giờ ở 4°C [9]. Loại bỏ phần nước phía trên và thu được tinh bột lắng ở đáy. Rửa với nước sạch 3 lần để loại bỏ tạp chất còn sót sau quá trình lọc. Sấy tinh bột ở 50°C đến khi độ ẩm khoảng $\leq 10\%$. Sản phẩm được giữ trong túi zip trắng nhôm, ổn định trong 1 ngày để phân tích các chỉ tiêu như: Hiệu suất thu hồi tinh bột (%), hàm lượng tinh bột (%), hàm lượng protein (%), khối lượng riêng biểu kiến (g/cm^3), khối lượng riêng thực (g/cm^3), chỉ số hấp thụ nước (g/g), chỉ số hòa tan (%), khả năng trương nở (g/g), màu sắc (L^*).

2.3. Phương pháp phân tích

- Hiệu suất thu hồi tinh bột H (%) =
$$\frac{\text{Khối lượng tinh bột trong sản phẩm} \times 100}{\text{Khối lượng tinh bột trong nguyên liệu ban đầu}} (\%)$$

- Hàm lượng tinh bột: Xác định bằng phương pháp Lane - Eynon theo TCVN 10376:2014 [10].

- Độ ẩm (%): Xác định theo TCVN 10788:2015 [11].

- Hàm lượng protein: Xác định bằng phương pháp Kjeldahl, theo TCVN 8125:2015 [12].

- Khối lượng riêng biểu kiến và khối lượng riêng thực (g/cm^3): Xác định theo phương pháp được mô tả bởi Jan và cs (2019) [13]. Cân mẫu tinh bột hạt bơ rót vào ống đong 100 mL có độ chia 1 mL (1 cm^3), sau khi rót hết 20 g mẫu vào ống đong đọc thể tích (V_0). Sau đó đập ống đong từ độ cao khoảng 20 mm xuống 20 lần và ghi nhận thể tích (V_1).

Khối lượng riêng biểu kiến (g/cm^3) = $20/V_0$ và khối lượng riêng thực (g/cm^3) = $20/V_1$.

- Chỉ số hấp thụ nước (WAI): Theo phương pháp của Hatamian và cs (2020) [14].

Mẫu bột (W_1) được hòa với nước đã khử ion trong ống nghiệm ly tâm, khuấy trộn để tạo huyền phù và giữ trong 2 giờ, ly tâm 5.000 vòng/phút trong 15 phút. Nước được loại ra thu được trầm tích ướt là W_2 . WAI được tính theo công thức:
$$\text{WAI (g/g)} = \frac{W_2}{W_1}$$

- Chỉ số hòa tan (WSI) và khả năng trương nở (SP): Theo phương pháp của Wei và cs (2023) [15] có sửa đổi. Cân mẫu bột (W_1) phân tán với nước cất trong ống nghiệm ly tâm. Đun nóng ở 85°C trong 30 phút. Làm nguội và ly tâm. Phần nổi phía trên được cho vào cốc đã cân trước và sấy đến khối lượng không đổi, cân khối lượng (W_2). Khối lượng trầm tích ướt sau ly tâm tách phần nổi được cân xác định (W_3). Phần trầm chất rắn hòa tan trong nước (WSI) và khả năng trương nở (SP) được tính theo công thức sau:
$$\text{WSI (\%)} = \frac{W_2}{W_1} \times 100\%; \text{SP (g/g)} = \frac{W_3}{W_1 \times (1 - \frac{W_2}{100})}$$

- Độ sáng (thể hiện qua giá trị L^* của hệ màu L^*, a^*, b^*): Xác định bằng máy đo màu cầm tay Konica Minolta (model CR-20, Nhật Bản).

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Sử dụng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) và phép kiểm định LSD để xác định sự

khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các giá trị trung bình của các nghiệm thức bằng phần mềm Microsoft Excel 2024. Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, biểu diễn đồ thị bằng phần mềm Microsoft Excel 2024. Các nghiệm thức được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc tính hóa lý cơ bản trong hạt bơ

Xác định đặc tính hóa lý của nguyên liệu giúp hiểu rõ hơn cấu tạo hóa học, giá trị dinh dưỡng để có cơ sở thực hiện phương pháp xử lý và chế biến thích hợp. Kết quả về đặc tính hóa lý cơ bản của hạt bơ theo căn bản ướt được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Đặc tính hóa lý cơ bản của hạt bơ

Thành phần hóa học	Đơn vị	Giá trị *
Độ ẩm	%	63,32 $\pm$ 0,99
Hàm lượng tinh bột	%	14,35 $\pm$ 1,14
Hàm lượng protein	%	3,79 $\pm$ 0,25
L*		79,58 $\pm$ 0,46

*Ghi chú: *: Số liệu là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại và độ lệch chuẩn, được tính trên căn bản ướt.*

Bảng 1 cho thấy, độ ẩm của nguyên liệu hạt bơ (63,32%), tương tự kết quả nghiên cứu của Martins và cs (2022) [16] là 63,37%. Hàm lượng tinh bột trong hạt bơ có giá trị tương đối cao (14,35%), là nguồn nguyên liệu tiềm năng cho quá trình trích tinh bột. Kết quả này trong khoảng công bố của Wang và cs (2010) [3] là 13 - 18%. Hàm lượng protein (3,79%) trong nguyên liệu ở mức tương đối cao, do đó dễ thu nhận tinh bột hạt bơ có chất lượng tốt, cần áp dụng các biện pháp thích hợp nhằm loại bỏ thành phần này. Hạt bơ có giá trị độ sáng L* đạt mức cao (79,58), phản ánh độ sáng cao đáng kể của nguyên liệu ban đầu.

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ và thời gian xử lý enzyme protease trong quá trình ngâm trích đến hiệu suất thu hồi tinh bột và chất lượng tinh bột hạt bơ

3.2.1 Ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi tinh bột và độ sáng của tinh bột hạt bơ

Tinh bột hạt bơ có độ ẩm trong khoảng 7,86 - 9,38% (Bảng 2), vì quá trình sấy kết thúc khi độ

ẩm tinh bột $\leq 10\%$ nên các mẫu đều trong giới hạn yêu cầu về độ ẩm của tinh bột ($\leq 13\%$). Giá trị này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Maryam và cs (2016) [17] là 9,2%. Độ ẩm là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng, độ ổn định, khả năng bảo quản của tinh bột. Độ ẩm thấp giúp cho sản phẩm dễ bảo quản tránh được các tác nhân ảnh hưởng đến chất lượng tinh bột thành phẩm (vi sinh vật, phản ứng hóa học...).

Hiệu suất thu hồi tinh bột là một chỉ tiêu quan trọng trong đánh giá hiệu quả của quá trình trích tinh bột. Kết quả ở bảng 2 cho thấy, hiệu suất thu hồi tinh bột dao động khá rộng, từ 27,24 - 49,50%. Nghiên cứu của Martins và cs (2017) [18] công bố hiệu suất thu hồi tinh bột hạt bơ là 42,2%; nghiên cứu khác cho kết quả thấp hơn là 23,15% [17] và 24,2% [19], trong khi hiệu suất thu hồi tinh bột hạt mít khi sử dụng enzyme protease trong quá trình ngâm trích đạt 57,02% [20]. Thời gian xử lý enzyme và tỷ lệ enzyme đều ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi tinh bột. Khi tăng tỷ lệ enzyme protease hiệu suất thu hồi tinh bột có xu hướng tăng và mức độ ảnh hưởng này phụ thuộc nhiều vào thời gian xử lý bằng enzyme. Khi xử lý enzyme trong thời gian ngắn (2 giờ) với tỷ lệ enzyme tăng từ 1 - 2 U/mL cùng với mẫu đối chứng, hiệu suất thu hồi tinh bột thấp (27,24 - 29,58%) và khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Chỉ khi tỷ lệ enzyme sử dụng 3 U/mL hiệu suất thu hồi tinh bột mới tăng khác biệt so với không sử dụng enzyme. Do thời gian để enzyme thủy phân hoàn toàn protein bao quanh và liên kết với các hạt tinh bột không đủ nên sẽ hạn chế sự giải phóng tinh bột trong quá trình trích, dẫn đến năng suất thu hồi thấp [21]. Thời gian ngâm dài hơn (3 - 4 giờ), cùng với tỷ lệ enzyme tăng làm gia tăng đáng kể hiệu suất thu hồi tinh bột. Sử dụng tỷ lệ enzyme 2 - 3 U/mL và ngâm trong 3 - 4 giờ, hiệu suất thu hồi tinh bột đạt cao nhất, các nghiệm thức này khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Khi thời gian ngâm trích kéo dài, quá trình tiếp xúc giữa enzyme và cơ chất được lâu hơn, enzyme protease có đủ thời gian thủy phân mạng lưới protein, tạo điều kiện thuận lợi cho việc giải phóng các hạt tinh bột, giúp quá trình trích protein trong nguyên liệu được triệt để, sản phẩm tinh bột thu được càng nhiều. Tuy nhiên, nếu thời gian ngâm trích quá

dài (4 giờ) có thể sẽ dẫn đến sự phân tán tinh bột tốt hơn vào nước dẫn đến thất thoát trong quá trình tách nước nên hiệu suất thu hồi tinh bột giảm [22].

Bảng 2. Hiệu suất thu hồi và độ sáng của tinh bột hạt bơ

Thời gian xử lý enzyme (giờ)	Tỷ lệ protease (U/mL)	Độ ẩm (%)	Hiệu suất thu hồi tinh bột (%)	Độ sáng (L*)
2	0	9,04 ± 0,16	27,24 ± 0,70 ^g	57,93 ± 1,56 ^c
	1	8,53 ± 0,25	28,03 ± 1,90 ^g	57,67 ± 0,76 ^{bc}
	2	8,54 ± 0,48	29,58 ± 1,90 ^{fg}	59,23 ± 0,71 ^{bc}
	3	8,35 ± 0,41	31,66 ± 1,30 ^{ef}	60,00 ± 1,32 ^b
3	0	7,88 ± 0,14	42,76 ± 1,90 ^c	58,43 ± 1,33 ^{bc}
	1	9,03 ± 0,50	44,99 ± 0,90 ^{bc}	60,10 ± 0,44 ^b
	2	8,38 ± 0,19	49,11 ± 1,40 ^a	60,40 ± 1,23 ^b
	3	7,86 ± 0,09	49,50 ± 1,00 ^a	66,47 ± 0,78 ^a
4	0	8,39 ± 0,22	33,77 ± 1,60 ^e	58,43 ± 1,33 ^{bc}
	1	8,36 ± 0,28	38,38 ± 1,70 ^d	58,70 ± 2,19 ^{bc}
	2	8,46 ± 0,11	46,85 ± 1,50 ^{ab}	60,43 ± 0,84 ^b
	3	9,38 ± 0,12	48,82 ± 2,30 ^a	68,33 ± 1,12 ^a

Ghi chú: Các giá trị trung bình có chữ cái đi kèm a, b, c khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Sự gia tăng tỷ lệ enzyme có xu hướng làm gia tăng hiệu suất thu hồi tinh bột. Sự gia tăng này có thể là do khả năng tương tác lớn giữa cơ chất với tỷ lệ enzyme cao. Tăng tỷ lệ enzyme sẽ tăng hiệu quả trong quá trình phân hủy mô và cải thiện việc giải phóng tinh bột [23]. Tuy nhiên, kết quả ở bảng 2 cho thấy, khi tăng tỷ lệ enzyme protease từ 2 lên 3 U/mL với tất cả các mức thời gian xử lý, hiệu suất thu hồi tinh bột khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Điều này có thể do ở giai đoạn đầu của quá trình thủy phân, khi nồng độ cơ chất còn nhiều, vận tốc phản ứng tỷ lệ thuận với tỷ lệ enzyme. Về sau, lượng cơ chất trong môi trường giảm nên khi tiếp tục tăng tỷ lệ enzyme thì vận tốc phản ứng tăng không đáng kể. Theo Nguyễn Trọng Cần và cs (1998) [24], trong điều kiện nồng độ cơ chất thích hợp vận tốc phản ứng tuyến tính với tỷ lệ enzyme.

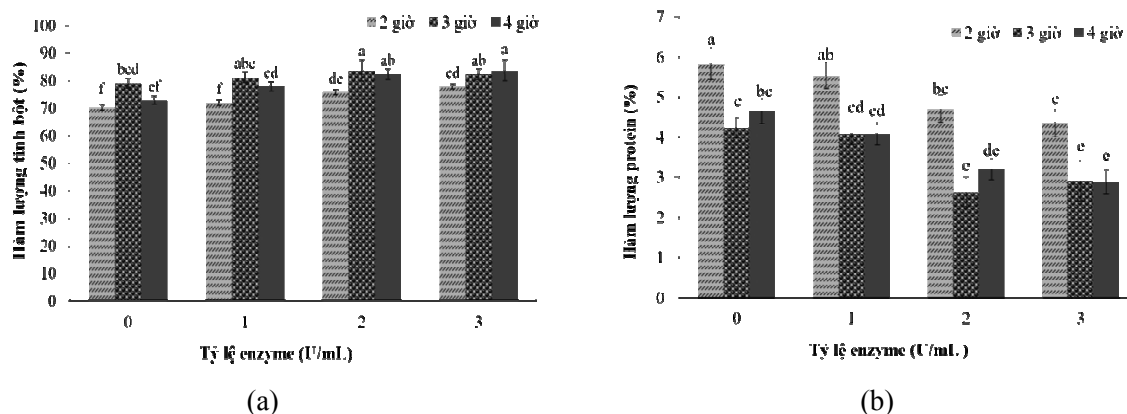
Chỉ tiêu độ sáng là một trong những tiêu chí quan trọng trong đánh giá chất lượng tinh bột sau quá trình trích. Giá trị độ sáng (L*) của tinh bột hạt bơ tăng theo thời gian xử lý enzyme ở tất cả các nghiệm thức. Kết quả ở bảng 2 cho thấy, độ sáng L* dao động trong khoảng 57,93 - 68,33. Trong cùng một thời gian ngâm trích, khi tăng tỷ

lệ enzyme từ 0 - 2 U/mL, giá trị L* khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Xử lý bằng enzyme với tỷ lệ 3 U/mL, giá trị L* đạt mức cao nhất khi ngâm trích trong thời gian 3 và 4 giờ, cao khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Enzyme protease thủy phân protein bám trên bề mặt hạt tinh bột, giảm phức hợp protein - phenolic hạn chế được phản ứng hóa nâu do polyphenol oxidase gây tối màu, dẫn đến độ sáng (L*) cao hơn. Sản phẩm tinh bột được coi là có chất lượng cao khi độ trắng sáng của sản phẩm càng cao [25]. Với kết quả giá trị L* của tinh bột hạt bơ 66,47 - 68,33, có thể thấy độ sáng của tinh bột hạt bơ đạt trung bình. Kết quả này thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Rivera-González và cs (2019) [26], cho thấy giá trị độ sáng L* là 70,21. Sự khác biệt này có thể là do phương pháp xử lý nguyên liệu, phương pháp trích, giống, độ chín của bơ. Ngoài ra, theo Dabas và cs (2011) [27], hạt bơ khi được nghiền trong không khí hoặc trong nước sẽ hình thành màu cam, hiện tượng này là do hợp chất phenolic trong hạt bơ bị oxy hóa nhanh chóng với tác dụng xúc tác của enzyme polyphenol oxidase và chuyển sang màu cam hoặc đỏ, chính vì vậy mà tinh bột hạt bơ sau

khi trích có màu sậm hơn so với nguyên liệu hạt bơ ban đầu ($L^* = 79,58 \pm 0,46$).

3.2.2 Ảnh hưởng đến hàm lượng tinh bột và hàm lượng protein

Kết quả thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme protease và thời gian xử lý enzyme trong quá trình trích ly đến hàm lượng tinh bột và protein được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme protease và thời gian xử lý enzyme trong quá trình trích ly đến hàm lượng tinh bột (a) và hàm lượng protein (b)

Ghi chú: Các chữ cái đi kèm a, b, c khác nhau trên các cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Hàm lượng tinh bột là một chỉ tiêu quan trọng ảnh hưởng đến hiệu quả và chất lượng của quá trình ngâm trích tinh bột. Nghiên cứu của Mezo-Villanueva và Serna-Saldivar (2004) [21] nhận định, việc bổ sung protease làm tăng đáng kể hàm lượng tinh bột. Hình 1a cho thấy, hàm lượng tinh bột có xu hướng tăng theo tỷ lệ enzyme cùng với thời gian ngâm trích và dao động trong khoảng từ 70,22 - 83,63%, thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Maryam và cs (2016) [17] là 85,3%. Thời gian ngâm 2 và 3 giờ, với tỷ lệ enzyme 1 U/mL, hàm lượng tinh bột khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với mẫu không sử dụng enzyme (0 U/mL). Tuy nhiên, khi tăng thời gian lên 4 giờ (với tỷ lệ enzyme 1 U/mL) có sự gia tăng khác biệt về hàm lượng tinh bột so với mẫu không sử dụng enzyme. Hàm lượng tinh bột tăng có ý nghĩa thống kê khi sử dụng enzyme ở mức 2 U/mL, nhưng khi tăng lên 3 U/mL, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ở các khoảng thời gian ngâm trích so với mức 2 U/mL.

Thời gian trích tăng từ 2 lên 3 giờ, hàm lượng tinh bột tăng có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, khi kéo dài thời gian trích ly đến 4 giờ, hàm lượng tinh bột tăng không có ý nghĩa ứng các tỷ lệ enzyme sử dụng so với thời điểm 3 giờ. Nguyên nhân có thể do thời gian ngâm trích dài, phần lớn

tinh bột liên kết với protein trong nguyên liệu đã được giải phóng, enzyme không còn đủ cơ chất để tiếp tục phản ứng, dẫn đến tốc độ phản ứng giảm dần và không còn cải thiện được lượng tinh bột trích ly ngay cả khi tăng tỷ lệ enzyme. Hàm lượng tinh bột cao nhất khi ngâm trích trong 3 giờ với tỷ lệ protease 2 U/mL. Kết quả này cho thấy, việc tiếp tục kéo dài thời gian xử lý hoặc tăng tỷ lệ enzyme trên mức này không cải thiện đáng kể hàm lượng tinh bột. Việc kéo dài thời gian ngâm trích rất cần thiết để tạo ra sản phẩm có độ tinh khiết cao, tuy nhiên thời gian quá dài cũng không tạo ra lượng tinh bột nhiều hơn nhưng lại tiêu tốn nhiều thời gian [28].

Loại bỏ protein khỏi các hạt tinh bột là một bước quan trọng trong việc nghiên cứu các đặc tính của tinh bột vì nó ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu suất thu hồi, độ tinh khiết, màu sắc và chức năng của tinh bột. Sử dụng enzyme protease là một phương pháp hiệu quả trong việc nâng cao hiệu suất thu hồi tinh bột và làm giảm hàm lượng protein liên kết với tinh bột [29]. Theo kết quả thu được (Hình 1b), hàm lượng protein của tinh bột dao động từ 2,63 - 5,83%. Nghiên cứu sử dụng protease trong trích tinh bột hạt mít làm giảm hàm lượng protein xuống còn 2,38% [20]. Có thể thấy, khi tăng dần thời gian ngâm trích kết hợp với tăng dần tỷ lệ enzyme thì lượng protein

được giải phóng nhiều hơn. Trong cùng thời gian ngâm trích, hàm lượng protein trong thành phẩm giảm khác biệt có ý nghĩa thống kê khi tăng tỷ lệ enzyme từ 1 - 2 U/mL, nhưng lại giảm không có ý nghĩa thống kê khi tăng tỷ lệ enzyme lên đến 3 U/mL. Với thời gian xử lý 2 - 3 giờ, khi tăng tỷ lệ enzyme hàm lượng protein trong tinh bột thành phẩm giảm khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, tăng thời gian xử lý từ 3 lên 4 giờ, với tỷ lệ enzyme 2 và 3 U/mL, hàm lượng protein không giảm nữa. Enzyme protease xúc tác phản ứng thủy phân các liên kết peptid trong phân tử protein, từ đó phá vỡ cấu trúc protein bao quanh hạt tinh bột. Khi bị phân giải, protein không còn khả năng bám giữ trên bề mặt tinh bột nên dễ dàng bị rửa trôi trong các bước rửa tiếp theo. Thời gian xử lý enzyme ngắn, quá trình phân giải protein chưa diễn ra triệt để nên hiệu quả trích ly tinh bột còn thấp. Enzyme hoạt động hiệu quả hơn khi tiếp xúc tốt với bề mặt protein; nếu protein nằm trong cấu trúc mô phức tạp, enzyme cần thời gian để khuếch tán và tiếp cận vị trí gắn kết. Kết quả cho thấy, với tỷ lệ enzyme protease 2

U/mL và thời gian xử lý 3 giờ, hàm lượng protein đạt mức thấp nhất. Nếu kéo dài thời gian xử lý lên 4 giờ, khả năng xảy ra hiện tượng thiếu cơ chất hoặc giảm hoạt tính enzyme do biến tính hoặc ức chế ngược có thể làm giảm hiệu quả xử lý. Khi còn thừa cơ chất, tỷ lệ enzyme tăng thì vận tốc phản ứng tăng, nhưng khi nồng độ cơ chất giảm xuống mức thấp, vận tốc phản ứng không tăng thêm khi tăng nồng độ [28].

3.2.2. Ảnh hưởng đến khối lượng riêng biểu kiến (KLR biểu kiến), khối lượng riêng thực (KLR thực)

Khối lượng riêng phản ánh thể tích tương đối của vật liệu đóng gói, đánh giá được độ xốp sản phẩm, do đó ảnh hưởng đến thiết kế của bao bì và loại vật liệu đóng gói cần thiết [28]. Chỉ tiêu khối lượng là thông số quan trọng liên quan đến cấu trúc và thành phần của tinh bột thành phẩm. Ảnh hưởng của tỷ lệ và thời gian xử lý enzyme protease trong quá trình trích ly đến KLR biểu kiến và KLR thực được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng đến khối lượng riêng biểu kiến và khối lượng riêng thực của tinh bột hạt bơ

Thời gian xử lý enzyme (giờ)	Tỷ lệ protease (U/mL)	KLR biểu kiến (g/cm ³)	KLR thực (g/cm ³)
2	0	0,53 ± 0,01 ^{fg}	0,54 ± 0,02 ^g
	1	0,51 ± 0,01 ^g	0,53 ± 0,01 ^g
	2	0,69 ± 0,01 ^a	0,72 ± 0,01 ^{ab}
	3	0,71 ± 0,03 ^a	0,74 ± 0,03 ^a
3	0	0,58 ± 0,01 ^{de}	0,59 ± 0,03 ^{def}
	1	0,59 ± 0,01 ^d	0,62 ± 0,02 ^{de}
	2	0,61 ± 0,02 ^{cd}	0,63 ± 0,04 ^{cd}
	3	0,63 ± 0,03 ^{bc}	0,68 ± 0,03 ^b
4	0	0,53 ± 0,02 ^{fg}	0,55 ± 0,03 ^{fg}
	1	0,55 ± 0,03 ^{ef}	0,58 ± 0,04 ^{efg}
	2	0,59 ± 0,03 ^d	0,60 ± 0,02 ^{de}
	3	0,65 ± 0,02 ^b	0,68 ± 0,04 ^{bc}

Ghi chú: Các giá trị trung bình có chữ cái đi kèm a, b, c khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

KLR biểu kiến của tinh bột hạt bơ có xu hướng tăng khi tăng tỷ lệ enzyme, dao động trong khoảng từ 0,51 - 0,71 g/cm³, cao hơn so với KLR biểu kiến của tinh bột hạt mít (0,50 g/cm³) trong nghiên cứu trích tinh bột sử dụng protease [20]. Mẫu không sử dụng enzyme (0 U/mL), KLR biểu kiến tăng rõ rệt sau 3 giờ ngâm, trong khi tại các thời điểm 2 và 4 giờ kết quả không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Khi sử dụng

enzyme ở mức 1 U/mL, KLR biểu kiến tăng có ý nghĩa trong khoảng thời gian ngâm từ 2 - 3 giờ; tuy nhiên, khi kéo dài thời gian đến 4 giờ, giá trị này giảm đáng kể. Đối với các tỷ lệ enzyme 2 và 3 U/mL, KLR biểu kiến đã có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ngay tại thời điểm 2 giờ. Khi tiếp tục tăng thời gian ngâm lên 3 và 4 giờ, KLR biểu kiến có xu hướng giảm và không còn sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai khoảng thời gian

này. Trong cùng thời gian trích ly, với tỷ lệ enzyme thấp (0 - 1 U/mL) KLR biểu kiến khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Khi tăng tỷ lệ enzyme lên từ 2 - 3 U/mL, KLR biểu kiến tăng khác biệt có ý nghĩa. Với thời gian ngâm 4 giờ, sử dụng tỷ lệ enzyme 2 - 3 U/mL ảnh hưởng đáng kể đến KLR biểu kiến.

KLR thực của tinh bột hạt bơ có xu hướng tăng khác biệt có ý nghĩa thống kê theo tỷ lệ enzyme sử dụng, dao động từ 0,53 - 0,74 g/cm³, tương tự như KLR thực của tinh bột hạt mít là 0,60 g/cm³ [20]. Với tỷ lệ enzyme 0 - 1 U/mL, trong cùng thời gian trích ly, giá trị KLR thực của tinh bột thay đổi không có ý nghĩa. KLR thực của tinh bột tăng khác biệt có ý nghĩa thống kê khi sử dụng tỷ lệ enzyme 2 và 3 U/mL trong thời gian trích ly 3 và 4 giờ.

Xu hướng tăng giảm của KLR biểu kiến và KLR thực ảnh hưởng bởi kích thước, hình dạng, sự phân bố độ ẩm, hàm lượng tạp chất và độ tinh khiết của hạt tinh bột [30]. Enzyme protease thủy phân protein bao xung quanh hoặc liên kết với tinh bột, làm thay đổi kích thước, hình dạng hạt

tinh bột, ảnh hưởng đến độ rỗng, cấu trúc bên trong và mật độ hạt, do đó làm thay đổi khối lượng riêng biểu kiến và khối lượng riêng thật của hạt. Ngoài ra, độ ẩm ảnh hưởng đến sự sắp xếp và khả năng hút nước, từ đó tác động đến khối lượng riêng thực và biểu kiến.

3.2.3. Ảnh hưởng đến WAI, WSI và SP của tinh bột hạt bơ

Chỉ số hấp thụ nước (WAI), khả năng hòa tan (WSI) và khả năng trương nở (SP) là những thông số quan trọng phản ánh tính chất chức năng của tinh bột. WAI thể hiện mức độ hydrat hóa và giữ nước của hạt tinh bột trong điều kiện nhất định. WSI biểu thị tỷ lệ phần trăm chất rắn trong tinh bột có thể hòa tan vào nước sau khi xử lý nhiệt, phản ánh mức độ biến đổi cấu trúc, khả năng ứng dụng tinh bột trong chế biến. SP phản ánh khả năng hạt tinh bột hấp thụ nước và nở ra khi được gia nhiệt trong môi trường nước. Kết quả thống kê ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme protease và thời gian xử lý enzyme đến WAI, WSI và SP của tinh bột hạt bơ được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Chỉ số hấp thụ nước, khả năng hòa tan và khả năng trương nở của tinh bột hạt bơ

Thời gian xử lý enzyme (giờ)	Tỷ lệ protease (U/mL)	WAI (g/g)	WSI (%)	SP (g/g)
2	0	2,44 ± 0,13 ^{ab}	5,84 ± 0,25 ^c	8,14 ± 0,25 ^a
	1	2,55 ± 0,10 ^{ab}	5,88 ± 0,06 ^c	8,09 ± 0,06 ^a
	2	2,52 ± 0,04 ^{ab}	5,90 ± 0,30 ^c	8,08 ± 0,29 ^a
	3	2,39 ± 0,07 ^{ab}	6,41 ± 0,16 ^b	7,58 ± 0,16 ^b
3	0	2,49 ± 0,12 ^{ab}	6,45 ± 0,05 ^b	7,54 ± 0,05 ^b
	1	2,57 ± 0,26 ^a	6,60 ± 0,27 ^{ab}	7,38 ± 0,27 ^{bc}
	2	2,64 ± 0,19 ^a	6,70 ± 0,19 ^{ab}	7,29 ± 0,19 ^{bc}
	3	2,54 ± 0,23 ^{ab}	6,73 ± 0,23 ^{ab}	7,26 ± 0,23 ^{bc}
4	0	2,28 ± 0,14 ^b	6,87 ± 0,34 ^a	7,12 ± 0,34 ^c
	1	2,50 ± 0,21 ^{ab}	6,82 ± 0,06 ^a	7,17 ± 0,06 ^c
	2	2,52 ± 0,23 ^{ab}	6,90 ± 0,28 ^a	7,09 ± 0,28 ^c
	3	2,45 ± 0,12 ^{ab}	6,94 ± 0,08 ^a	7,05 ± 0,08 ^c

Ghi chú: Các giá trị trung bình có chữ cái đi kèm a, b, c khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, WAI của tinh bột hạt bơ dao động từ 2,28 - 2,64 g/g, gần như khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, chỉ trừ nghiệm thức ngâm trong 4 giờ không sử dụng enzyme thấp khác biệt so với xử lý enzyme 1 - 2 U/mL trong 3 giờ. Điều này có thể do không sử dụng enzyme tinh bột thu hồi không nhiều lại kéo dài quá trình ngâm nên các thành

phần tinh bột dễ hấp thụ nước bị tách ra theo nước trong quá trình rửa. WAI trong nghiên cứu này gần với kết quả nghiên cứu của De Dios-Avila và cs (2022) [31], theo đó WAI của tinh bột hạt bơ giống Hass trong khoảng 3,66 - 5,54 g/g. Tỷ lệ và cấu trúc của amylose và amylopectin ảnh hưởng đáng kể đến WAI của tinh bột, hai polymer này quyết định mức độ trương nở, liên

kết nước và cấu trúc nội tại của tinh bột. Enzyme protease chủ yếu thủy phân protein liên kết bao quanh hạt tinh bột, nên hạn chế tác động trực tiếp lên amylose-amylopectin; tuy vậy, việc loại bỏ protein có thể làm thay đổi cấu trúc bề mặt hạt và ảnh hưởng gián tiếp đến WAI.

WAI của tinh bột hạt bơ có xu hướng tăng theo thời gian ngâm, dao động trong khoảng 5,84 - 6,94% (Bảng 4). WSI của tinh bột hạt bơ trong nghiên cứu này cao hơn không quá nhiều so với kết quả nghiên cứu của Carreño Flórez và cs (2025) [4], theo đó WSI của tinh bột hạt bơ giống Hass là 3,69%. Trong cùng thời gian ngâm, tỷ lệ enzyme không ảnh hưởng đáng kể đến WSI của tinh bột thành phẩm. Thời gian ngâm từ 2 - 3 giờ và sử dụng cùng tỷ lệ enzyme, WSI của tinh bột tăng có ý nghĩa thống kê, tiếp tục kéo dài thời gian ngâm đến 4 giờ, WSI không khác biệt so với ngâm trong 3 giờ. Dưới tác động thủy phân của enzyme protease, các thành phần hòa tan trong tinh bột tăng lên do sự phá vỡ cấu trúc hạt, dẫn đến WSI tăng.

Giá trị SP của tinh bột hạt bơ có xu hướng giảm theo thời gian trích kéo dài và dao động trong khoảng từ 7,05 - 8,14%. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của De Dios-Avila và cs (2022) [31], theo đó SP của tinh bột hạt bơ giống Hass được xác định khi xử lý nhiệt ở 70 - 80°C dao động trong khoảng 8,18 - 8,48 g/g. Trong cùng thời gian ngâm trích, tỷ lệ enzyme hầu như không tạo sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về SP giữa các nghiệm thức. Khi sử dụng cùng tỷ lệ enzyme, kéo dài thời gian trích ly từ 2 - 3 giờ làm SP của sản phẩm giảm có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, khi tiếp tục kéo dài thời gian đến 4 giờ, giá trị SP không thay đổi có ý nghĩa thống kê.

Enzyme protease thủy phân protein bao quanh hoặc liên kết với hạt tinh bột, tạo peptide và axit amin nhỏ hơn, làm WSI tăng. Trong giai đoạn đầu, khi thời gian và tỷ lệ enzyme tăng, quá trình thủy phân diễn ra mạnh mẽ, sự cản trở tinh bột với nước giảm, tinh bột tăng khả năng tiếp xúc với nước nên có khả năng hòa tan cao hơn. Thời gian ngâm dài hoặc tỷ lệ enzyme cao giải phóng quá nhiều chất hòa tan làm thay đổi môi trường keo, tinh bột hút nước kém hơn. Ngoài ra, khi kéo dài thời gian thủy phân quá mức enzyme phân rã một phần tinh bột, làm giảm kích thước hạt và khả năng trương nở. Theo Zhang và cs

(2021) [32], các yếu tố như: Giống, nhiệt độ, kích thước hạt tinh bột, phương pháp chiết xuất có ảnh hưởng đến khả năng trương nở của tinh bột.

4. KẾT LUẬN

Sử dụng enzyme protease trong quá trình ngâm trích ly mang lại hiệu quả đáng kể trong việc làm tăng hiệu suất thu hồi tinh bột cũng như độ tinh sạch của tinh bột hạt bơ. Khi sử dụng enzyme protease với tỷ lệ 2 U/mL để ngâm trích tinh bột trong thời gian 3 giờ ở nhiệt độ thích hợp của enzyme là 50°C cho hiệu suất thu hồi tinh bột cao, với hàm lượng tinh bột đạt 83,63%, hàm lượng protein giảm thấp đáng kể chỉ còn 2,63% (so với hàm lượng protein trong nguyên liệu ban đầu 3,79% theo căn bản ướt, tương ứng với 10,33% tính theo căn bản khô, quá trình xử lý đã làm giảm khoảng 75% lượng protein trong hạt bơ).

Với độ ẩm tinh bột 8,38%, thành phẩm thu được có thể còn một số tạp chất chưa tách hết như cellulose, lipid... nên có thể cần thêm nghiên cứu kết hợp xử lý với enzyme cellulase để tăng độ tinh sạch của tinh bột.

Tinh bột hạt bơ có tiềm năng sử dụng trong các sản phẩm thực phẩm phù hợp với đặc tính chức năng về khả năng hấp thụ nước, khả năng hòa tan và độ trương nở.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Wang, J., Li, Y., Jin, Z. & Cheng, Y. (2022). Physicochemical, Morphological, and functional properties of starches isolated from avocado seeds, a potential source for resistant starch. *Biomolecules*, 12(8), 1-13.
- [2]. FAO (2024). FAOSTAT: Production: Crops and livestock products. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Ngày truy cập 14/3/2026.
- [3]. Wang, W., Bostic, T. R. & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*, 122(4), 1193-1198.
- [4]. Carreño Flórez, E. F., Meza Barbosa, C. A. & Peña Rodríguez, G. (2025). Obtaining and characterizing hass avocado seed starch (persea americana 'hass') by wet alkali treatment as a source of biodegradable material. *Ciencia en Desarrollo*, 16, 189-200.
- [5]. Zhu, F. (2015). Composition, structure, physicochemical properties, and modifications of cassava starch. *Carbohydrate polymers*, 122, 456-480.

- [6]. Phạm Thị Tuyết Ngân, Vũ Hùng Hải, Huỳnh Trường Giang & Vũ Ngọc Út (2021). Tối ưu các điều kiện sinh enzyme protease ngoại bào của vi khuẩn *Streptomyces* DH3. 4. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 57(4), 186-193.
- [7]. Su, Q., Sun, L., Wang, X., Guo, Y., Gong, K., Liu, K. & Chen, L. (2025). Study on the differences in the effects of sulfite and protease on the structure and processing quality of high purity corn starch. *Food Chemistry*, X, 31, 1-9.
- [8]. Trương Thị Mộng Thu, Lê Thị Minh Thủy, Nguyễn Văn Mười & Trần Thanh Trúc (2022). Ảnh hưởng của nồng độ và thời gian thủy phân protein từ đầu cá lóc (*Channa striata*) sử dụng các protease khác nhau. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 58(4), 78-86.
- [9]. Noor, F., Rahman, M. J., Mahomud, M. S., Akter, M. S., Talukder, M. A. I. & Ahmed, M. (2014). Physicochemical properties of flour and extraction of starch from jackfruit seed. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(4), 347-354.
- [10]. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 10376:2014 (ISO 5377:1981). Sản phẩm thủy phân từ tinh bột - Xác định khả năng khử và đương lượng dextrose - Phương pháp chuẩn độ hằng số Lane và Eynon.
- [11]. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 10788:2015. Malt - Xác định độ ẩm - Phương pháp khối lượng.
- [12]. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8125:2015 (ISO 20483:2013). Ngũ cốc và đậu đỗ - Xác định hàm lượng nitơ và tính hàm lượng protein thô - Phương pháp Kjeldahl.
- [13]. Jan, K., Ahmad, M., Rehman, S., Gani, A. & Khaqan, K. (2019). Effect of roasting on physicochemical and antioxidant properties of kalonji (*Nigella sativa*) seed flour. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 1364-1372.
- [14]. Hatamian, M., Noshad, M., Abdanan-Mehdizadeh, S. & Barzegar, H. (2020). Effect of roasting treatment on functional and antioxidant properties of chia seed flours. *NFS Journal*, 21, 1-8.
- [15]. Wei, Y., Li, G. & Zhu, F. (2023). Impact of long-term ultrasound treatment on structural and physicochemical properties of starches differing in granule size. *Carbohydrate polymers*, 320, 1-14.
- [16]. Martins, S. H. F., Pontes, K. V., Fialho, R. L. & Fakhouri, F. M. (2022). Extraction and characterization of the starch present in the avocado seed (*Persea americana* Mill) for future applications. *Journal of Agriculture and Food Research*, 8, 1-10.
- [17]. Maryam, M., Kasim, A. & Santosa (2016). Utilization starch of avocado seed (*Persea Americana* Mill.) as a raw material for dextrin. *Journal of Food Science and Engineering*, 6, 32-37.
- [18]. Martins, D., Ramirez Ascheri, D. P., Bukzem, A., Morais, C., Piler Carvalho, C. & Ascheri, J. L. (2017). Physicochemical properties of starch from avocado seed (*Persea Americana* Mill). *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 34, 25-36.
- [19]. Ginting, M. H. S., Hasibuan, R., Lubis, M., Alanjani, F., Winoto, F. & Siregar, R. (2018). Supply of avocado starch (*Persea americana* Mill) as bioplastic material. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 309, 1-6.
- [20]. Dương Thị Phượng Liên, Hồ Thị Khả Tú, Võ Thị Diệu & Dương Kim Thanh (2024). Ảnh hưởng của enzyme protease đến khả năng trích tinh bột từ hạt mít (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 486, 71-80.
- [21]. Mezo-Villanueva, M. & Serna-Saldívar, S. O. (2004). Effect of protease addition on starch recovery from steeped sorghum and maize. *Starch - Stärke*, 56(8), 371-378.
- [22]. Vũ Hồng Sơn & Hà Duyên Tư (2009). Nghiên cứu trích ly polyphenol từ chè xanh vụn - Phần 1: Các yếu tố ảnh hưởng quá trình trích ly polyphenol. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 47(1), 81-86.
- [23]. Hameed, M., Ahmad, S. W., Ahmad, S., Qutab, H. G., Dasih, M. & Imran, M. (2020). Enzymatic extraction of potato starch: A parametric optimization study using response surface methodology. *Green Sciences*, 22(3), 48-54.
- [24]. Nguyễn Trọng Cẩn, Nguyễn Thị Hiền, Đỗ Thị Giang & Trần Thị Luyến (1998). *Công nghệ enzyme*. Nxb Nông nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh, 378 trang.

- [25]. Villarreal, M. E., Ribotta, P. D. & Iturriaga, L. B. (2013). Comparing methods for extracting amaranthus starch and the properties of the isolated starches. *LWT - Food Science and Technology*, 51, 441-447.
- [26]. Rivera-González, G., Amaya-Guerra, C. & De la Rosa-Millán, J. (2019). Physicochemical characterisation and *in vitro* starch digestion of avocado seed flour (*Persea americana* V. Hass) and its starch and fibrous fractions. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(7), 2447-2457.
- [27]. Dabas, D., Lambert, J. & Ziegler, G. (2011). A colored avocado seed extract as a potential natural colorant. *Journal of Food Science*, 76, C1335-1341.
- [28]. Nguyễn Nhật Minh Phương, Chế Văn Hoàng, Lý Nguyễn Bình & Châu Trần Diễm Ái (2011). Tác động enzyme pectinase đến khả năng trích ly dịch quả và các điều kiện lên men đến chất lượng rượu vang xoài sau thời gian lên men chính. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 20a, 127-136.
- [29]. Roushdi, M., Ghali, Y. & Hassanean, A. (1981). Factors improving the steeping process of corn grains. Part III. Conditions favouring lactic acid formation during corn steeping and its effect. *Starch - Stärke*, 33(2), 49-52.
- [30]. Hu, X., Xu, T., Bu, J., Cheng, L. & Wang, T. (2025). Impact of particle size distribution and morphology of starch on microstructural-functional changes of dough. *LWT*, 215, 1-10.
- [31]. De Dios-Avila, N., Tirado-Gallegos, J. M., Rios-Velasco, C., Luna-Esquivel, G., Isiordia-Aquino, N., Zamudio-Flores, P. B., Estrada-Virgen, M. O. & Cambero-Campos, O. J. (2022). Physicochemical, structural, thermal and rheological properties of flour and starch isolated from avocado seeds of Landrace and Hass cultivars. *Molecules*, 27(3), 1-20.
- [32]. Zhang, Y., Li, B., Xu, F., He, S., Zhang, Y., Sun, L., Zhu, K., Li, S., Wu, G. & Tan, L. (2021). Jackfruit starch: Composition, structure, functional properties, modifications and applications. *Trends in Food Science & Technology*, 107, 268-283.

APPLICATION OF PROTEASE ENZYME IN STARCH EXTRACTION FROM AVOCADO SEEDS (*Persea americana* Mill.)

Duong Thi Phuong Lien¹, Vo Le An Phung¹, Vo Thi Dieu¹, Duong Kim Thanh¹

¹*Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University*

Abstract

Avocado seeds (*Persea americana* M.), a byproduct of avocado fruit processing, contain abundant polysaccharides, including starch, proteins and lipids. This study investigated the effect of protease enzyme concentration (1-3 U/mL and an enzyme-free control sample) and enzyme treatment time (2-4 hours) on the recovery efficiency and quality of avocado seed starch using the wet milling method. The results showed that the extraction process was effective when the extract was treated with protease at a concentration of 2 U/mL for 3 hours, achieving a starch recovery efficiency of 49.50%. The obtained starch had a moisture content of 8.38%, a starch content of 83.63% and a protein content of 2.63%. Physical properties include brightness (L*) is 68.33, bulk density and tapped density are 0.71 and 0.74 g/cm³ respectively, water absorption index is 2.64 g/g, water solubility index is 6.94% and swelling capacity is 8.14%. The results showed that avocado seeds are a potential raw material for starch production with properties suitable for application in the food industry.

Keywords: *Avocado seed, protease, protein, starch, wet milling.*

Ngày nhận bài: 28/4/2026

Ngày chuyển phản biện: 12/5/2026

Ngày thông qua phản biện: 19/6/2026

Ngày duyệt đăng: 7/7/2026