



ẢNH HƯỞNG CỦA THỜI GIAN NGÂM VÀ NẤY MẦM ĐẾN SỰ THAY ĐỔI THÀNH PHẦN ACID AMIN HÒA TAN VÀ HOẠT TÍNH ENZYME PROTEASE CỦA MỘT SỐ GIỐNG LÚA Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Nguyễn Tấn Hùng, Nguyễn Thị Bích Ngọc, Lê Thị Yên Uyên và Nguyễn Công Hà*

Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Công Hà (email: ncha@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 21/05/2018

Ngày nhận bài sửa: 21/06/2018

Ngày duyệt đăng: 03/08/2018

Title:

The effect of germination time on change free amino acid content and protease activity of various rice varieties in the Mekong Delta

Từ khóa:

Acid amin hòa tan, OM 6976, OM 4900, IR 5451, IR50404, Jasmine85, protease

Keywords:

Free amino acid, OM6976, OM4900, IR5451, IR50404, Jasmine85, protease

ABSTRACT

The effect of germination time on changes in free amino acid and protease activity in five rice varieties: IR 5451, IR 50404, OM 4900, Jasmine 85, and OM 6976 were investigated. Seeds are soaked for 24 hours with distilled water (after 12 hours, seeds are drained in 30 minutes, and water is changed and germinated at 30°C, germination time varies from 1-8 days. The results showed that the activity of the protease increased during the germination period from 1-8 in all five rice varieties surveyed and reached the highest on day 6-7 germinated and started to decrease activity from day 8, with the exception of Jasmine 85, the protease activity was highest after day 3 and started to reduce from day 4. Changes in free amino acid content (mg/g) were expressed in the direction of increase in protease activity and in different rice varieties. Dry matter losses during seed germination also increased over time and were diffience from the varieties. Thus, the duration of soaking and germination effected on protease activity for each rice variety, and the change in seed characteristics after germination also showed differences in different rice varieties.

TÓM TẮT

Ảnh hưởng của điều kiện ủ nảy mầm lên đến sự thay đổi của thành phần acid amin hòa tan và hoạt tính enzyme protease trong 5 giống lúa: IR 5451, IR 50404, OM 4900, Jasmine 85, OM 6976 được khảo sát. Hạt được ngâm trong 24 giờ bằng nước cất (sau 12 giờ ngâm, để ráo 30 phút và thay nước mới) và nảy mầm ở nhiệt độ 30°C, thời gian nảy mầm thay đổi từ 1-8 ngày. Kết quả cho thấy, hoạt tính của enzyme protease gia tăng theo suốt thời gian nảy mầm từ ngày 1-8 ở tất cả 5 giống lúa khảo sát và đạt cao nhất ở ngày thứ 6-7 nảy mầm và bắt đầu giảm hoạt tính từ ngày 8, ngoại trừ giống lúa Jasmine 85, hoạt tính enzyme protease đạt cao nhất sau ngày 3 và bắt đầu giảm hoạt tính từ ngày 4 nảy mầm. Sự thay đổi hàm lượng acid amin hòa tan (mg/g) thể hiện theo hướng gia tăng tương ứng với gia gia tăng hoạt tính của enzyme protease và không giống nhau ở các giống. Tổn thất chất khô của hạt trong quá trình nảy mầm cũng gia tăng theo thời gian và thể hiện không giống nhau ở các giống. Như vậy, thời gian ngâm và nảy mầm có tác động khác nhau đối với hoạt tính enzyme protease đối với từng giống lúa, và sự thay đổi đặc tính hạt sau nảy mầm cũng thể hiện sự khác nhau ở mỗi giống lúa khác nhau.

Trích dẫn: Nguyễn Tấn Hùng, Nguyễn Thị Bích Ngọc, Lê Thị Yên Uyên và Nguyễn Công Hà, 2018. Ảnh hưởng của thời gian ngâm và nảy mầm đến sự thay đổi thành phần acid amin hòa tan và hoạt tính enzyme protease của một số giống lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(Số chuyên đề: Nông nghiệp): 164-172.

1 GIỚI THIỆU

Đồng bằng sông Cửu Long được xem là vựa lúa, nơi có sản lượng xuất khẩu các sản phẩm lúa gạo nhiều nhất của Việt Nam. Tuy nhiên, người trồng lúa ở đây vẫn chưa có được nguồn thu nhập cao và ổn định. Vì vậy, nhu cầu phát triển thực phẩm có giá trị gia tăng từ lúa gạo là quan trọng và cấp thiết trong giai đoạn hiện nay. Khảo sát sự thay đổi các thành phần sinh hóa trong các giống lúa trong quá trình nảy mầm đang được trồng phổ biến ở Đồng bằng sông Cửu Long trên cơ sở những biến đổi tương tự malt đại mạch nhằm cung cấp những cơ sở khoa học giúp gia tăng khả năng sử dụng nguồn nguyên liệu lúa gạo nảy mầm để sản xuất bia Gạo được chế biến thành malt. Tuy nhiên, nguồn nguyên liệu lúa gạo nảy mầm ít được sử dụng trong sản xuất bia so với gạo nguyên chất thông thường.

Sản xuất malt (malting) là một quá trình nảy mầm có kiểm soát nhằm mục đích thay đổi chất lượng hạt. Điều này liên quan đến việc giải phóng các hạt từ nội bào tế bào nội mô không hoạt động bằng các enzym hoạt động trong quá trình nảy mầm và cân bằng tỷ lệ của các vật liệu dự trữ khác nhau của hạt (Wolfgang, 2004). Mục tiêu chính của việc tạo mầm là thúc đẩy sự phát triển của các enzyme thủy phân không có trong các hạt không được nảy mầm (Dewar *et al.*, 1997; Ayernor and Ocloo, 2007). Đặc tính quan trọng nhất của malt tốt là mức độ enzyme cao để làm giảm tinh bột và thu được lượng chiết xuất cao (Subramanian *et al.*, 1995). Hạt lúa hay gạo lứt trong quá trình ngâm và nảy mầm có sự thay đổi nhiều về thành phần dinh dưỡng và các hợp chất chức năng (Ayernor and Ocloo, 2007; Saman *et al.*, 2008; Maisont and Narkrugsa, 2010; Megat Rusydi *et al.*, 2011; Moongngarm and Khomphiphatkul, 2011; Roohinejad *et al.*, 2011; Islamet *et al.*, 2012; Gujjaiiah and Kumari, 2013; Tortayeva *et al.*, 2014; Jirapa *et al.*, 2016; Pham Quang Trung and Nguyen Cong Ha, 2016;).

Việc sử dụng và phát triển các loại malt ngũ cốc khác nhau bên cạnh malt lúa mạch để sản xuất bia đã được quan tâm ở nhiều nước trên thế giới, điển hình như sản phẩm bia trắng từ lúa mì, bia “kaffir” châu Phi từ lúa mạch đen, “tesguino” ở Trung Mỹ từ malt ngô và “zutho” ở Ấn Độ làm từ malt lúa gạo,... Trong đó, các nghiên cứu về sản xuất và ứng dụng của malt lúa gạo (Capanzana and Buckle, 1997; Usansa *et al.*, 2008; Marconi *et al.*, 2014; Mayer *et al.*, 2016) trong sản xuất là những tiền đề quan trọng cho việc thử nghiệm sản xuất bia từ malt lúa.

Hiện tại, Việt Nam chưa có những nghiên cứu sâu về sự đóng góp và vai trò của lúa gạo nảy mầm trong công nghệ sản xuất bia cũng như không có báo

cáo nào cho thấy quá trình này đã được thực hiện thành công tại một nhà máy sản xuất của Việt Nam. Như vậy, việc gia tăng tỷ lệ nguyên liệu thay thế như gạo hay sử dụng malt gạo để sản xuất bia tại các nhà máy của Việt Nam là một thách thức mới. Vì vậy, nghiên cứu ảnh hưởng quá trình ngâm và điều kiện nảy mầm đến sự hình thành thay đổi thành phần protein và enzyme protease của một số giống lúa phổ biến ở Đồng bằng Sông Cửu Long đã được thực hiện nhằm cung cấp các thông tin ban đầu trong việc chế biến malt từ lúa gạo và có thể mở ra khả năng ứng dụng malt lúa vào công nghệ sản xuất bia trong tương lai.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương tiện nghiên cứu

Năm giống lúa nguyên chủng IR50404, IR5451, OM4900, Jasmine 85 và OM 6976 được mua từ Viện Nghiên cứu Phát triển Đồng bằng sông Cửu Long tại thành phố Cần Thơ. Đầu tiên, lúa sẽ được vận chuyển về Phòng thí nghiệm Trường Đại học Cần Thơ, để ổn định và trữ trong bao bì chuyên dùng trước khi được sử dụng trong quá trình ngâm và nảy mầm.

2.2 Quá trình ngâm và nảy mầm

Mỗi giống lúa khác nhau được ngâm riêng trong dung dịch sodium metabisulphite 0.1% trong 30 phút để loại bỏ các vi sinh vật có thể làm chậm sự nảy mầm. Sau đó, hạt được rửa sạch với nước nhiều lần để loại bỏ sodium metabisulphite dư. Lúa được ngâm trong nước cất (pH 7) với thể tích gấp 3 lần trọng lượng hạt (Ayernor and Ocloo, 2007) ở điều kiện nhiệt độ phòng trong 24 giờ, nước được thay đổi mỗi 12 giờ (để thoáng khí 30 phút). Mẫu lúa được tiến hành ủ nảy mầm trong tủ ủ SANYO MCO-5AC ở 30°C trong thời gian 1-8 ngày. Sau mỗi 24 giờ, các mẫu lần lượt được lấy ra, tiến hành tách rễ, chồi và cho vào bao bì kín bảo quản ở -20°C để đảm bảo tính đồng nhất cho toàn bộ mẫu.

2.3 Xác định hoạt tính enzyme protease (phương pháp Anson cải tiến)

Sản phẩm tạo thành khi cho protease tác dụng với cơ chất là casein, sản phẩm tạo thành là các peptide ngắn hay acid amin, trong các loại acid amin, tyrosine chiếm đa số và tuân theo một tỷ lệ nhất định. Phản ứng màu với thuốc thử Folin dung để xác định tyrosin, từ đó xác định hoạt độ protease theo định nghĩa. Một đơn vị hoạt độ của protease được biểu thị là số micromole tyrosine sinh ra do thủy phân casein bởi 1 mL dung dịch hay 1 mg chế phẩm protease trong thời gian 1 phút ở điều kiện chuẩn (30°C, pH 7,6). Hoạt tính enzyme được khảo sát ở nhiệt độ 30°C và pH = 7.6.

2.4 Phân tích hàm lượng acid amin theo phương pháp Formol

Acid amin trong môi trường nước mang tính trung tính vì hai nhóm -COOH và -NH₂ đều yếu và kém điện ly, khi gặp formol thì nhóm -NH₂ sẽ chuyển thành nhóm metylic -N=CH₂ làm cho amin mất tính kiềm. Do đó, tính axit của nhóm -COOH nổi bật lên và có thể định lượng được bằng một chất kiềm với chất chỉ thị phenolphthalein làm chất chỉ thị màu.

2.5 Phương pháp xác định khối lượng 1.000 hạt

Đếm ngẫu nhiên 1.000 hạt mỗi giống với 3 lần lặp lại rồi đem cân, thu được khối lượng (g). Sau đó tính giá trị trung bình của 3 lần lặp lại, giá trị trung bình thể hiện theo căn bản ướt.

2.6 Phương pháp đo chiều dài rễ và mầm

Sử dụng thước kẹp đo chiều dài mầm và rễ của 20 hạt được lấy ngẫu nhiên, sau đó tính trung bình rễ và mầm của 20 hạt. Giá trị trung bình của chiều dài được xác định bằng độ dài góc tính bằng cm (Ogbonna *et al.*, 2002).

2.7 Phương pháp xác định hao hụt chất khô

Việc giảm khối lượng của hạt nảy mầm là kết quả của quá trình nảy mầm được tính theo phần trăm

và khối lượng theo căn bản ướt. Đếm ngẫu nhiên 100 hạt chưa qua nảy mầm (M₁), đếm 100 hạt sau khi nảy mầm và loại bỏ mầm và rễ đem cân (M₂), sau đó tính toán kết quả.

$$\text{Hao hụt} = (M_1 - M_2) / M_1 \times 100 (\%)$$

Trong đó:

M₁ là khối lượng 100 hạt chưa nảy mầm (g)

M₂ là khối lượng 100 hạt đã nảy mầm và loại bỏ rễ, mầm (g).

2.8 Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại, khảo sát từng thí nghiệm riêng lẻ. Số liệu thu thập được xử lý, vẽ đồ thị, tính độ lệch chuẩn (STDEV) bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2016; phân tích ANOVA với kiểm định LSD và so sánh các mức độ của từng nhân tố bằng chương trình Stagraphics XV.I.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Thành phần hóa học của hạt lúa phụ thuộc vào giống, đất đai trồng trọt, khí hậu và độ lớn của hạt lúa. Cùng một giống lúa nhưng trồng tại các địa phương khác nhau thì thành phần hóa học cũng khác nhau (Mai Lê và *ctv.*, 2009).

Bảng 1: Thành phần protein của 5 giống lúa

Giống	Protein (% chất khô)	Acid amin hòa tan (% mg/g)	Nước Khối lượng 1000 (%)	hạt (g)	Protease (U/g CK)
IR 50404	10,33±2,08*	4,66±0,19	12,47±0,03	27,19±0,40	0,07±0,01
OM 5451	9,73±1,69	4,02±0,18	10,11±0,01	24,29±0,47	0,02±0,00
OM 4900	10,03±2,02	4,27±0,18	9,88±0,15	25,01±0,12	0,03±0,00
OM 6976	9,11±0,56	3,91±0,37	10,39±0,24	28,68±0,40	0,02±0,01
Jasmine 85	8,97±1,00	3,90±0,01	12,3±0,05	28,02±0,14	0,06±0,01

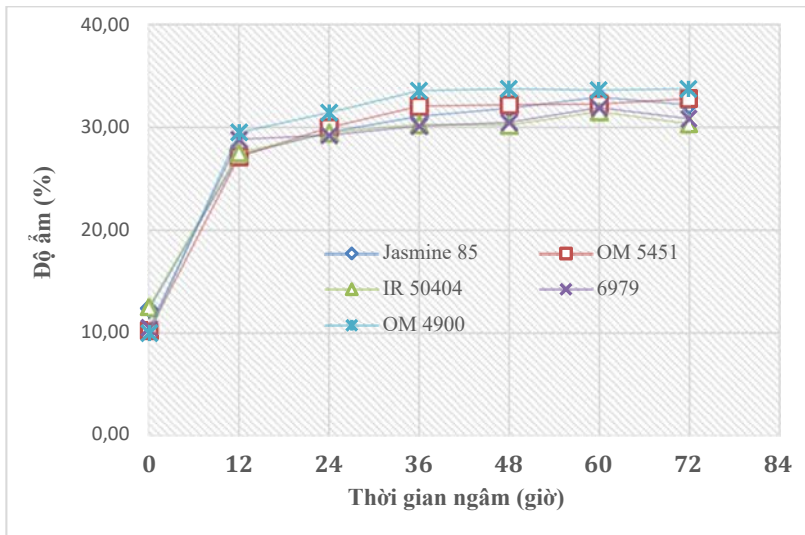
Ghi chú: * số liệu trung bình của 3 lần lặp lại và thể hiện giống nhau ở tất cả các giá trị; CK: chất khô.

Kết quả từ Bảng 1 cho thấy, hàm lượng protein trong các giống lúa là đạt khá (8,97-10,33%), tuy nhiên vẫn thấp hơn so với đại mạch (10-12%) (Palmer, 1980). Trong 5 giống lúa khảo sát, một số giống có hàm lượng protein cao vượt trội là 10,33% với IR 50404 và 10,03% với OM 4900. Mặt khác, khối lượng 1.000 hạt lúa dao động 24,29-28,02 g nhỏ hơn hạt đại mạch 32-44 g (Briggs *et al.*, 2004). Hàm lượng protein của các giống lúa góp phần quan trọng để xác định chất lượng của malt (Owuama, 1997). Theo nghiên cứu của Agu and Palmer (1998), lúa có chứa 8-11% protein là một mức độ chấp nhận được để làm malt hiệu quả. Thành phần axit amin hòa tan và hoạt tính của enzyme protease cũng thể hiện sự khác nhau ở các giống lúa. Hoạt tính enzyme protease trong các giống lúa (Bảng 1) thể hiện khác nhau, kết quả này phù hợp với công bố của Ngô Văn

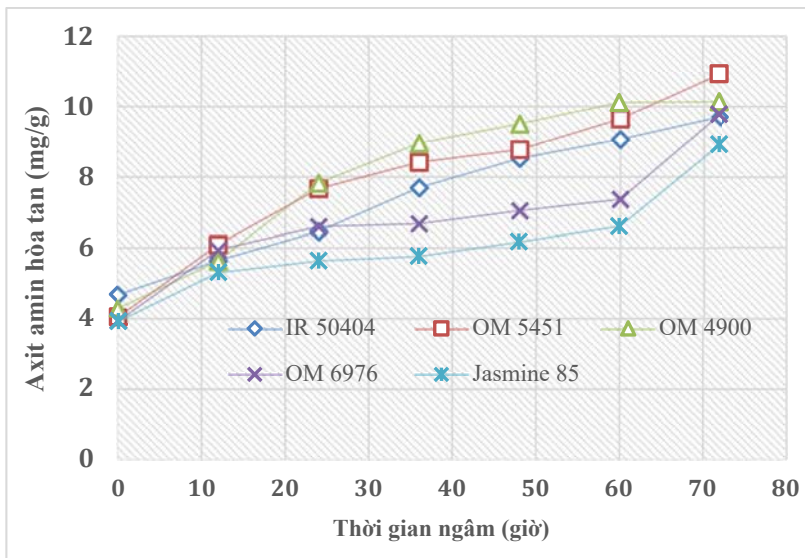
Dương (2009) khi đánh giá hoạt tính trên một số giống lúa cạn, hoạt độ enzyme protease của mỗi giống biểu hiện khác nhau. Đồng thời, kết quả phân tích thành phần protein tổng và hoạt tính enzyme protease từ 5 giống lúa cho thấy không có sự tương quan giữa hoạt tính enzyme protease và hàm lượng protein của các giống lúa khảo sát.

3.1 Ảnh hưởng của quá trình ngâm đến sự thay đổi thành phần protein tổng, acid amin hòa tan và hoạt tính enzyme protease

Tất cả các giống lúa được thử nghiệm cho thấy có sự gia tăng về hàm lượng nước theo thời gian. Độ ẩm của tất cả các giống lúa được tăng nhanh trong giai đoạn đầu tiên và tăng chậm sau 24 giờ (Hình 1). Thời gian ngâm ảnh hưởng đáng kể đến độ ẩm của hạt và hàm lượng ẩm trong các hạt ngâm thay đổi và phụ thuộc vào giống lúa.



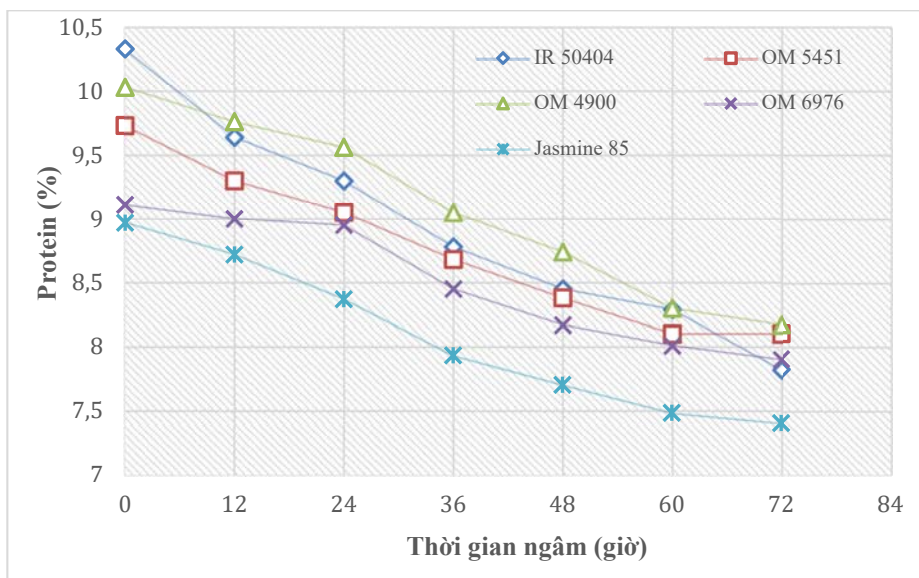
Hình 1: Sự thay đổi hàm lượng ẩm theo thời gian ngâm ở 5 giống lúa



Hình 2: Sự thay đổi hàm lượng acid amin hòa tan theo thời gian ngâm ở 5 giống lúa

Trong suốt quá trình ngâm, hàm lượng acid amin thay đổi đáng kể và theo hướng tăng lên từ 12 giờ đến 72 giờ ở các giống và tương ứng với sự gia tăng hoạt tính của enzyme protease và sự sụt giảm thành phần protein tổng số (Hình 3) theo thời gian ngâm. Khi ngâm, hạt khô hấp thu nước làm tăng hàm lượng nước trong hạt, làm mềm vỏ hạt, hạt tăng quá trình hô hấp. Hoạt động của các enzyme một phần từ sự tái hoạt hóa các enzyme dự trữ được hình thành từ sự phát triển của phôi và một phần từ sự tổng hợp

các enzyme mới khi hạt bắt đầu nảy mầm (Bewley and Black, 1994). Ngay sau khi có sự hấp thu nước của hạt, các enzyme sẽ tăng hoạt tính làm phân hủy các vật chất dự trữ thành các chất đơn giản (Gallardo *et al.*, 2001). Trong quá trình ngâm enzyme protease được kích hoạt và thủy phân protein thành nhiều đơn vị nhỏ trong đó có acid amin, do đó lượng acid amin tăng đồng thời các sản phẩm khác cũng mất đi trong quá trình ngâm. Hàm lượng acid amin giữa các giống trong quá trình ngâm có sự thay đổi qua kết quả phân tích thấy được sự khác biệt giữa các giống.



Hình 3: Ảnh hưởng của thời gian ngâm đến hàm lượng protein của 5 giống lúa

Thời gian ngâm hạt càng kéo dài thì hàm lượng protein càng giảm. Đối với giống lúa IR 50404 thời gian ngâm 12 giờ đến 72 giờ hàm lượng protein giảm từ 10,33% xuống còn 7,85%, giống OM 5451 giảm từ 9,73% còn 8,10%, giống OM 4900 hàm lượng đạm từ 10,03% còn lại 8,17%, giống OM 6976 giảm từ 9,11% còn 7,9%, giống Jasmine 85 giảm từ 8,97% còn 7,40%. Sau 24 giờ giống IR 50404, OM 4900, OM 5451, OM 6976 có hàm lượng protein cao nằm ở khoảng 9,0% đến 9,76% và hàm lượng thấp nhất là giống Jasmine 85 là 8,72%. Sau 72 giờ, giống IR 50404, OM 4900, OM 5451, OM 6976 có hàm lượng protein khoảng 7,82% đến 8,17% và thấp nhất là giống Jasmine 85 (7,40%).

Thời gian ngâm càng kéo dài thì lượng acid amin hòa tan sinh ra càng nhiều và đạt cao nhất ở 72 giờ đối với tất cả các giống lúa khảo sát. Tuy nhiên, theo kết quả nghiên cứu của Usansa (2008) trên 6 giống lúa của Thái Lan là KDML105, PT60, KCD, SPT, RD6 và KND, hoạt tính của enzyme α -amylase thấp khi áp dụng điều kiện ngâm trong thời gian dài, sau đó cho hạt nảy mầm và thời gian ngâm hạt tối ưu là 24 giờ ở nhiệt độ 30°C.

Khi tiến hành ngâm lúa ở nhiệt độ 30°C và thời gian ngâm 24 giờ, có sự sụt giảm của thành phần protein ở tất cả các giống tương thích với sự gia tăng hoạt tính protease (0,068-0,13 U/g). Đối với giống IR50404, độ ẩm đạt được 29,5% và hàm lượng protein là 9,30%; giống OM 5451 có độ ẩm là 30% và 9,05% protein; giống OM 4900 có độ ẩm đạt 31,40% và 9,56% protein; giống OM 6976 với độ

ẩm 29,20% và hàm lượng protein là 8,95%; giống Jasmine 85 có độ ẩm đạt được 29,50% và 8,37% protein. Sau 24 giờ, giống IR 50404, OM 4900, OM 5451, OM 6976 có hàm lượng acid amin cao nằm ở khoảng 6,45 đến 7,82 mg/g và hàm lượng thấp nhất là giống Jasmine 85 với 5,62 mg/g.

3.2 Ảnh hưởng thời gian nảy mầm đến hàm lượng protein của các giống lúa ở nhiệt độ 30°C

Hàm lượng protein tổng số thể hiện sự sụt giảm theo thời gian ở tất cả các giống lúa và mức độ suy giảm này tùy thuộc vào từng giống lúa. Theo Megat Rusydi *et al.* (2011), hàm lượng protein tổng số đều giảm đáng kể sau 7 ngày nảy mầm ở cả giống đậu và giống lúa nảy mầm. Tuy nhiên, theo kết quả của một số nghiên cứu khác, trong quá trình nảy mầm của một số loại lương thực, hàm lượng protein có sự gia tăng hoặc giảm tùy theo loại hạt lương thực: hàm lượng protein thô được tăng lên trong gạo lứt nảy mầm (King and Puwastien, 1987; Ohtsubo *et al.*, 2005; Khatoun and Prakash, 2005, Urbano *et al.*, 2005; Ghavidel and Prakash, 2007; Kaushik *et al.*, 2010). Sự gia tăng protein là do tổng hợp các protein enzyme hoặc sự thay đổi thành phần sau sự suy thoái của các thành phần khác (Bau *et al.*, 1997); sự tổng hợp protein xảy ra trong quá trình hấp thu và thay đổi nội tiết tố đóng một vai trò quan trọng trong việc đạt được sự nảy mầm (Nonogaki *et al.*, 2010). Hơn nữa, sự sụt giảm hàm lượng protein dường như chỉ ra rằng sự phân giải protein vượt trội hơn sự tổng hợp protein trong các hạt nảy mầm (Rodriguez *et al.*, 2008).

Bảng 2: Hàm lượng protein trong quá trình nảy mầm (%)

Thời gian (ngày)	Giống				
	IR50404	OM5451	OM 4900	OM6976	Jasmine 85
1	7,68±0,31 ^{bcA}	7,20±0,64 ^{aA}	8,20±0,33 ^{bcA}	8,62±0,33 ^{cA}	7,29±0,31 ^{abA}
2	7,55±0,002 ^{bcAB}	7,08±0,31 ^{aAB}	7,35±0,67 ^{bcAB}	8,32±0,002 ^{cAB}	7,10±0,01 ^{abAB}
3	7,53±0,003 ^{bcAB}	6,97±0,34 ^{aAB}	7,31±0,79 ^{bcAB}	8,24±0,62 ^{cAB}	7,08±0,34 ^{abAB}
4	7,54±0,33 ^{bcABC}	6,63±0,01 ^{aABC}	7,27±0,33 ^{bcABC}	7,95 ±0,35 ^{cABC}	5,57±0,33 ^{abABC}
5	7,21±0,35 ^{bcBCD}	6,17±0,33 ^{aBCD}	6,98±0,33 ^{bcBCD}	7,28±0,33 ^{bcBCD}	5,55±0,33 ^{abBCD}
6	7,24±0,35 ^{bcBCD}	5,86±0,35 ^{aBCD}	6,98±0,36 ^{bcBCD}	7,11±0,35 ^{bcBCD}	4,75±0,53 ^{abBCD}
7	6,71±0,36 ^{bcCD}	5,83±0,004 ^{aCD}	6,85±0,35 ^{bcCD}	6,80±0,002 ^{cCD}	4,62±0,36 ^{abCD}
8	6,72±0,35 ^{bcD}	5,84±0,34 ^{aD}	6,70±0,39 ^{bcD}	6,77±0,00 ^{cD}	4,54±0,17 ^{abD}

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột (hoặc một hàng) biểu thị sự khác biệt ý nghĩa có thống kê ở mức ý nghĩa 5%. a,b,c,d,... thể hiện sự khác biệt thống kê bởi giống lúa; A,B,C,D,... thể hiện sự khác biệt thống kê bởi thời gian.

3.3 Ảnh hưởng thời gian nảy mầm đến hàm lượng acid amin của các giống lúa ở nhiệt độ 30°C

Sự giảm hàm lượng protein tổng số là đồng thời với tăng hàm lượng acid amin (Bảng 3) gây ra bởi tăng mức độ hoạt động protease (Bảng 4).

Sự gia tăng hàm lượng axit amin hoà tan trong quá trình nảy mầm xuất phát từ sự thoái hóa protein, sự gia tăng hoạt động của protease và sự tổng hợp

protein hòa tan mới từ các acid amin tự do giải phóng. Hoạt tính phân giải protein tối đa đã được quan sát vào ngày thứ ba của quá trình nảy mầm (Vidyavathi *et al.*, 1983). Lớp aleurone của ngũ cốc là nơi sản xuất các enzyme thủy phân trong quá trình nảy mầm của hạt giống Gujjaiah and Kumari (2013). Protease được sản xuất trong lớp aleurone lúa sớm hơn alpha và beta-amylase (Evelyn and Bienvenido, 1973).

Bảng 3: Hàm lượng acid amin trong quá trình nảy mầm (mg/g)

Ngày nảy mầm	IR50404	OM5451	OM 4900	OM6976	Jasmine 85
1	7,55 ±0,33 ^{abA}	8,74 ±0,7 ^{dA}	8,06±0,35 ^{bA}	8,53 ±1,02 ^{cA}	7,13 ±0,34 ^{aA}
2	7,56±0,17 ^{abA}	9,86±1,31 ^{dA}	8,75±0,9 ^{bA}	8,55±0,34 ^{cA}	8,09±0,18 ^{aA}
3	7,86±0,18 ^{abB}	11,16±0,89 ^{dB}	8,68±0,35 ^{bB}	10,33±1,86 ^{cB}	8,81 ±0,18 ^{aB}
4	8,57±0,18 ^{abB}	11,16±0,18 ^{dB}	9,44 ±0,19 ^{bB}	11,46 ±2,58 ^{cB}	8,75±0,001 ^{aB}
5	9,34 ±0,19 ^{abB}	11,25 ±0,16 ^{dB}	9,61 ±0,35 ^{bB}	10,66±1,19 ^{cB}	9,24 ±0,53 ^{aB}
6	9,76±0,19 ^{abB}	11,95 ±0,56 ^{dB}	9,04 ±1,18 ^{bB}	10,12 ±3,25 ^{cB}	9,02 ±1,88 ^{aB}
7	9,05±0,006 ^{abB}	11,67±0,39 ^{dB}	8,86±0,39 ^{bB}	9,80 ±2,54 ^{cB}	8,73 ±2,28 ^{aB}
8	8,69±0,003 ^{abA}	10,64 ±0,37 ^{dA}	8,82 ±0,42 ^{bA}	8,30 ±0,36 ^{cA}	6,46±0,72 ^{aA}

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột (hoặc một hàng) biểu thị sự khác biệt ý nghĩa có thống kê ở mức ý nghĩa 5%. a,b,c,d,... thể hiện sự khác biệt thống kê bởi giống lúa; A,B,C,D,... thể hiện sự khác biệt thống kê bởi thời gian.

Bảng 4: Sự thay đổi hoạt tính enzyme protease của 5 giống lúa theo thời gian nảy mầm

Ngày nảy mầm	Jasmine 85	OM 5451	IR 50404	OM 6976	OM 4900
1	0,56±0,037 ^{cA}	0,55±0,065 ^{bA}	0,53±0,04 ^{dA}	0,40±0,014 ^{bA}	0,28±0,045 ^{aA}
2	0,96±0,03 ^{cB}	0,35±0,022 ^{bB}	0,89±0,07 ^{dB}	0,51±0,083 ^{bB}	0,43±0,015 ^{aB}
3	1,07±0,047 ^{cC}	0,42±0,038 ^{bC}	0,82±0,07 ^{dC}	0,56±0,105 ^{bC}	0,59±0,085 ^{aC}
4	0,91±0,038 ^{cD}	0,49±0,023 ^{bD}	1,44±0,17 ^{dD}	0,56±0,118 ^{bD}	0,69±0,078 ^{aD}
5	0,87±0,015 ^{cD}	0,57±0,062 ^{bD}	1,21±0,14 ^{dD}	0,68±0,008 ^{bD}	0,79±0,072 ^{aD}
6	0,83±0,025 ^{cE}	0,69±0,024 ^{bE}	1,11±0,04 ^{dE}	1,11±0,041 ^{bE}	0,89±0,054 ^{aE}
7	0,78±0,009 ^{cE}	1,41±0,199 ^{bE}	1,00±0,02 ^{dE}	0,85±0,088 ^{bE}	0,59±0,205 ^{aE}
8	0,64±0,051 ^{cB}	0,70±0,071 ^{bB}	0,41±0,06 ^{dB}	0,78±0,059 ^{bB}	0,47±0,081 ^{aB}

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột (hoặc một hàng) biểu thị sự khác biệt ý nghĩa có thống kê ở mức ý nghĩa 5%. a,b,c,... thể hiện sự khác biệt thống kê bởi giống; A,B,C,... thể hiện sự khác biệt thống kê bởi thời gian.

Mẫu ban đầu không được xử lý có hoạt tính dao động từ 0,02 đến 0,07 U/g chất khô và giá trị thấp nhất là ở giống OM 6976 và cao nhất trong giống

IR50504. Quá trình ngâm có sự gia tăng đáng kể hoạt tính protease của các giống lúa lên 1,3-3,33 lần so với các mẫu không được xử lý. Số liệu thống kê

(Bảng 4) cho thấy, hoạt tính enzyme protease trong các giống lúa tăng sau quá trình nảy mầm theo thời gian tăng đến điểm cực đại rồi giảm xuống theo thời gian nảy mầm và thể hiện không giống nhau ở các giống. Trong đó, Jasmine 85, trong quá trình nảy mầm, có hoạt tính protease đạt cao nhất ở ngày thứ 3 là 1,07 (U/gCK) tăng 17,26 lần so với nguyên liệu ban đầu (0,62 U/gCK). Với OM 5451, hoạt tính enzyme tăng liên tục đến ngày thứ 7 đạt cao nhất 1,41 (U/gCK) tăng 52,22 lần so với nguyên liệu ban đầu (0,027 U/gCK). Ở ngày thứ 6, hoạt tính cao nhất đối với giống OM 6976 là 1,11 (U/gCK) tăng 58,42 lần so với nguyên liệu (0,019 U/gCK) và OM 4900 là 0,89 (U/gCK) tăng 26,18 lần so với nguyên liệu ban đầu (0,034 U/gCK). IR 50404 có hoạt tính tăng đến ngày thứ 4 là 1,44 (U/gCK) tăng 21,18 lần so với nguyên liệu và sau đó giảm dần theo thời gian. Theo Li *et al.*, (2011), khi tiến hành khảo sát này

mầm giống gạo lứt *Oryza sativa* L, trong 7 ngày sau khi ngâm trong dung dịch đệm pH 3,5, hoạt tính enzyme protease tăng dần qua từng ngày và đạt cao nhất tại ngày thứ sáu, tăng 7,15 lần so với gạo lứt không nảy mầm.

Kết quả cho thấy khi nảy mầm, hoạt tính protease sẽ tăng, do sự phân giải các hợp chất bên trong hạt lúa để cung cấp năng lượng cho quá trình phát triển của hạt nhưng nó tăng đến một thời điểm nhất định của quá trình nảy mầm nó sẽ giảm tùy vào mỗi giống mà có hoạt tính cao thấp ở từng mức độ thời gian khác nhau. Nhìn chung, trong quá trình mầm theo thời gian, hoạt tính enzyme protease vượt trội so với các giống còn lại là IR 50404 với 1,44 (U/gCK), kế đến là OM 6976 (0,111 U/gCK) và OM 5451 (0,141 U/gCK).

Bảng 5: Hao hụt chất khô theo thời gian nảy mầm

Thời gian (Ngày)	Giống				
	Jasmine 85	OM 5451	IR 50404	OM 6976	OM 4900
1	0,23±0,04 ^{aA}	1,20±0,04 ^{bA}	0,42±0,01 ^{cA}	9,18±0,07 ^{dA}	6,41±0,14 ^{cA}
2	0,75±0,06 ^{aB}	1,69±0,01 ^{bB}	10,36±0,08 ^{cB}	10,03±0,04 ^{dB}	6,76±0,01 ^{cB}
3	2,92±0,04 ^{aC}	2,79±0,04 ^{bC}	11,94±0,02 ^{cC}	12,50±0,05 ^{dC}	7,78±0,13 ^{cC}
4	3,39±0,21 ^{aD}	4,22±0,04 ^{bD}	12,24±0,03 ^{cD}	14,50±0,01 ^{dD}	7,89±0,07 ^{cD}
5	6,63±0,06 ^{aE}	8,13±0,03 ^{bE}	19,40±0,01 ^{cE}	15,22±0,02 ^{dE}	9,85±0,03 ^{cE}
6	13,63±0,03 ^{aF}	10,04±0,01 ^{bF}	20,10±0,02 ^{cF}	15,86±0,014 ^{dF}	14,24±0,01 ^{cF}
7	18,06±0,07 ^{aG}	18,64±0,01 ^{bG}	24,08±0,01 ^{cG}	16,97±0,01 ^{dG}	17,92±0,04 ^{cG}
8	18,93±0,05 ^{aH}	25,37±0,09 ^{bH}	27,45±0,08 ^{cH}	19,59±0,07 ^{dH}	25,22±0,04 ^{cH}

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột (hoặc một hàng) biểu thị sự khác biệt ý nghĩa có thống kê ở mức ý nghĩa 5%. a,b,c,d,e thể hiện sự khác biệt thống kê bởi giống; A,B,C,D,E,F thể hiện sự khác biệt thống kê bởi thời gian.

Sự gia tăng mức độ tổn thất chất khô trong thời gian nảy mầm của 5 giống lúa thực thể hiện ở Bảng 5. Kết quả sự hao hụt chất khô giữa các giống theo thời gian (1 đến 8 ngày) cho thấy có ý nghĩa thống kê ($P < 0.05$). Thời gian nảy mầm càng kéo dài thì tỷ lệ tổn thất chất khô càng cao. Trong quá trình nảy mầm, hệ enzyme protease chuyên dần sang trạng thái hoạt động và phân giải các hợp chất cao phân tử có trong hạt thành các hợp chất hữu cơ đơn giản để nuôi mầm phát triển theo thời gian. Theo khảo sát, tỷ lệ hao hụt chất khô trong quá trình nảy mầm ở 5 giống lúa tăng liên tục theo thời gian nảy mầm. Tỷ lệ cao nhất đối với giống IR 50404 là 27,45%, OM 5451 là 25,37% và 4900 là 25,22%, Jasmine 85 và OM 6976 có tỉ lệ tổn thất chất khô thấp hơn lần lượt là 18,93% và 18,59%.

4 KẾT LUẬN

Ở tất cả 5 giống lúa khảo sát, quá trình ngâm và nảy mầm có ảnh hưởng đáng kể đến sự sản sinh thành phần acid amin hòa tan và hoạt tính enzyme protease. Thời gian ngâm và nảy mầm càng dài thì hàm lượng acid amin sinh ra càng nhiều tương ứng

với sự gia tăng về hoạt tính của enzyme protease. Hàm lượng acid amin hòa tan gia tăng từ 2 - 3 lần ở tất cả các giống sau khi ngâm so với nguyên liệu ban đầu. Sự gia tăng hoạt tính enzyme trong quá trình nảy mầm tương thích với sự thay đổi về hàm lượng protein tổng số và acid amin hòa tan. Hàm lượng protein trong quá trình nảy mầm giảm đến ngày thứ 6 đối với giống IR 50404 (7,2%), OM 4900 (7,0%), OM 6976 (7,1%), OM 5451 (5,9%), Jasmine 85 (4,7%). Hàm lượng acid amin của giống IR 50404 và OM 5451 cao nhất ở ngày thứ 6 sau đó giảm xuống đến ngày thứ 8, lần lượt là 9,8 mg/g sau đó giảm còn 8,7 mg/g, 11,9 mg/g giảm còn 10,6 mg/g. Giống OM 4900, OM6979, Jasmine 85 đạt cao nhất ở ngày 5 sau đó giảm đến ngày thứ 8, lần lượt là 9,6 mg/g giảm còn 8,8 mg/g, 10,7 mg/g giảm còn 8,3 mg/g, 9,2 mg/g giảm còn 6,5 mg/g. Hàm lượng acid amin đạt cao nhất ở ngày 5-6 khoảng từ 9,2-11,9 mg/g.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được tài trợ bởi Dự án Nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn

vay ODA từ chính phủ Nhật Bản. Chương trình A15.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ayernor, G. S., and Ocloo, F. C. K., 2007. Physico-chemical changes and diastatic activity associated with germinating paddy rice (PSB.Rc 34). *African Journal of Food Science*, 1(3), 037–041.
- Bewley, J. D., and Black, M., 1994. *Seeds: Physiology of Development and Germination* Plenum Press New York Google Scholar. 445p.
- Briggs, D. E., Boulton, C. a., Brookes, P. a., and Steven, R., 2004. *Brewing: science and practice*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (Vol. 86). Pp: 10-606.
- Capanzana, M. V., & Buckle, K. A., 1997. Optimisation of germination conditions by response surface methodology of a high amylose rice (*Oryza sativa*) cultivar. *LWT - Food Science and Technology*, 30(2), 155–163.
- Đỗ Văn Dương, 2009. *Khảo sát khả năng chịu hạn của một số giống lúa cạn Hà Giang*. Luận văn Cao học. Đại học Thái Nguyên. Thành phố Thái Nguyên.
- Evelyn P. Palmiano and Bienvenido O. Juliano, 1973. Changes in the activity of some hydrolases, peoxidase, and catalase in the rice seed during germination. *Plant Physiol*, vol. 52, pp.274-277.
- Dewar, J., Taylor, J. R. N., and Berjak, P., 1997. Determination of Improved Steeping Conditions for Sorghum Malting. *Journal of Cereal Science*, 26 (1), 129–136.
- Gallardo, K., Job, C., Groot, S. P. C., Puype, M., et al., 2001. Proteomic analysis of arabidopsis seed germination and priming. *Plant Physiology*, 126 (2), 835–848.
- Gujjaiah, S., and Kumari, C., 2013. Evaluation of changes in α -amylase, β -amylase and protease during germination of cereals, 3 (3), 55–62.
- Islam, R., Mukherjee, A., and Hossain, M., 2012. Effect of osmopriming on rice seed germination and seedling growth. *J. Bangladesh Agril. Univ*, 10 (1), 15–20.
- Jirapa, K., Jarae, Y., Phanee, R., and Jirasak, K., 2016. Changes of bioactive components in germinated paddy rice (*Oryza sativa* L.). *International Food Research Journal*, 23 (1), 229–236.
- Li, C., Cao, X., Gu, Z., and Wen, H., 2011. A preliminary study of the protease activities in germinating brown rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91 (5), 915–920.
- Maisont, S., and Narkrugsa, W., 2010. The effect of germination on GABA content, chemical composition, total phenolics content and antioxidant capacity of Thai waxy paddy rice. *Kasetsart Journal - Natural Science*, 44 (5), 912–923.
- Mayer, H., Marconi, O., Regnicoli, G. F., Perretti, G., & Fantozzi, P. (2014). Production of a saccharifying rice malt for brewing using different rice varieties and malting parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 5369-5377
- Mayer, H., Ceccaroni, D., Marconi, O., Sileoni, V., Perretti, G., and Fantozzi, P., 2016. Development of an all rice malt beer: A gluten free alternative. *LWT - Food Science and Technology*, 67, 67–73.
- Megat Rusydi, M. R., Noraliza, C. W., Azrina, A., & Zulkhairi, A., 2011. Nutritional changes in germinated legumes and rice varieties. *International Food Research Journal*, 18 (2), 705–713.
- Moongngarm, A., and Khomphiphatkul, E., 2011. Germination Time Dependence of Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Germinated Rough Rice (*Oryza sativa* L.). *American Journal of ...*, 8 (1), 15–25.
- Ogbonna, A. C., Obi, S. K. C., Okolo, B. N., and Odibo, F. J. C., 2003. Purification and some properties of a protease from sorghum malt variety KSV8-11. *Journal of the Institute of Brewing*, 109: 179-186.
- Ohtsubo K., Suzuki K., Yasui Y., Kasumi T., 2005. Bio-functional components in the processed pre-germinated brown rice by a twinscrew extruder. *J. Food Compos. Anal*, 18: 303-316.
- Quang Trung, P., and Cong Ha, N., 2016. Changes of Chemical Properties and Functional Compounds during The Germination of Various Brown Rice in Mekong Delta, Viet Nam. *J. Agric. Food. Tech*, 6(2), 1–6.
- Roohinejad, S., Omidzadeh, A., Mirhosseini, H., Saari, N., Mustafa, S., Meor Hussin, A. S., Abd Manap, M. Y., 2011. Effect of pre-germination time on amino acid profile and gamma amino butyric acid (GABA) contents in different varieties of Malaysian brown rice. *International Journal of Food Properties*, 14(6), 1386–1399.
- Rodriguez, C., Frias, J., Vidal-Valverde, C. and Hernandez, A., 2008. Correlations between some nitrogen fractions, lysine, histidine, tyrosine, and ornithine contents during the germination of peas, beans, and lentils. *Food Chemistry* 108 (1): 245-252.
- Saman, P., Vázquez, J. A., and Pandiella, S. S., 2008. Controlled germination to enhance the functional properties of rice. *Process Biochemistry*, 43(12), 1377–1382.
- Subramanian, V., Sambasiva Rao, N., Jambunathan, R., Murty, D. S., and Reddy, B. V. S., 1995. The Effect of Malting on the Extractability of Proteins and its Relationship to Diastatic Activity in Sorghum. *Journal of Cereal Science*, 21(3), 283–289.
- Tortayeva, D. D., Hettiarachchy, N., Horax, R., Eswaranandam, S., and Jha, A., 2014. Effects of

- germination on nutrient composition of long grain rice and its protein physico-chemical and functional properties. *Journal of Food and Nutrition*, 1(201), 1–9.
- Urbano, G., Lopez-Jurado, M., Frejnagel, et al., 2005. Nutritional assesment of raw and germinated pea (*Pisum Sativum L.*) protein and carbohydrate by in vitro and in vivo techniques. *Nutrition*. 21(2): 230-239.
- Usansa, U., 2008. Beer production from Thai rice. Unpublished Ph. D Thesis. Suranaree Univ. of Technol., Thailand.
- Vidyavathi U., B. Shivaraj and T.N.Pattabiraman, 1983. Proteases in germinating finger millet (*Eleusine coracana*) seeds. *J.Biosci.* Vol. 5, Number 3, September 1983, pp. 219-224.
- Wolfgang A., 2004. *Enzymes in industry: production and application.* WILEY-VCH, verlag GmbH and co. kGaA weinheim. Germany. pp 99-134.