

Nghiên cứu ảnh hưởng của tiền xử lý lạnh đông và lên men nội sinh đến chất lượng và thời gian chế biến hành đen bằng phương pháp nhiệt ẩm

Trần Phương Chi^{1*}, Hoàng Thị Lệ Hằng², Trần Đình Thắng³

¹Viện Công nghệ Hóa sinh Môi trường, Trường Đại học Vinh, 182 Lê Duẩn, phường Trảng Thi, TP Vinh, tỉnh Nghệ An, Việt Nam

²Viện Nghiên cứu Rau quả, thị trấn Trâu Quỳ, huyện Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Công nghiệp TP Hồ Chí Minh, 12 Nguyễn Văn Bào, phường 4, quận Gò Vấp, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 20/5/2024; ngày chuyển phản biện 23/5/2024; ngày nhận phản biện 14/6/2024; ngày chấp nhận đăng 18/6/2024

Tóm tắt:

Hành đen là dạng sản phẩm mới được chế biến bằng cách xử lý củ hành tím tươi (*Allium ascalonicum* L.) trong điều kiện nhiệt độ và độ ẩm được kiểm soát mà không sử dụng chất phụ gia. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định các điều kiện tiền xử lý lạnh đông và lên men nội sinh phù hợp (nhiệt độ, thời gian) nhằm phá vỡ cấu trúc tế bào, thúc đẩy các phản ứng do enzym (phản ứng thủy phân các polysaccarit, protein, phản ứng chuyển hóa hợp chất polyphenol ở dạng liên kết sang dạng tự do...), nâng cao hàm lượng các thành phần dinh dưỡng và các hoạt chất trong sản phẩm hành đen và rút ngắn thời gian lên men. Kết quả nghiên cứu đã xác định được điều kiện tiền xử lý lạnh đông ở nhiệt độ -20°C trong 30 giờ, điều kiện lên men nội sinh ở nhiệt độ 45°C trong 2 ngày là phù hợp. Ở các điều kiện này, sản phẩm hành đen đạt chất lượng tốt, tương ứng tổng thời gian lên men rút ngắn xuống 17 ngày so với đối chứng là 24 ngày. Nghiên cứu này bước đầu mang lại tính khả thi cho việc sản xuất hành đen ở quy mô công nghiệp.

Từ khóa: *Allium ascalonicum* L., hành đen, lạnh đông, lên men nội sinh, phương pháp nhiệt ẩm, tiền xử lý.

Chỉ số phân loại: 2.10, 4.6

Study on the effect of freezing pretreatment and endogenous fermentation on the quality and processing time of black shallots using the moist heat treatment method

Phuong Chi Tran^{1*}, Thi Le Hang Hoang², Dinh Thang Tran³

¹Institute of Biotechnology and Environmental Technology, Vinh University, 182 Le Duan Street, Trang Thi Ward, Vinh City, Nghe An Province, Vietnam

²Fruit and Vegetable Research Institute, Trau Quy Town, Gia Lam District, Hanoi, Vietnam

³Industrial University of Ho Chi Minh City, 12 Nguyen Van Bao Street, Ward 4, Go Vap District, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 20 May 2024; revised 14 June 2024; accepted 18 June 2024

Abstract:

Black shallots are new products made by processing fresh shallots (*Allium ascalonicum* L.) under controlled temperature and humidity conditions without the use of additives. The purpose of this study was to determine suitable freezing pretreatment and endogenous fermentation conditions (treatment temperature, treatment time) to break down the cell structure in raw materials, to promote reactions caused by enzymes (hydrolysis reaction of polysaccharides, proteins, reaction of converting polyphenol compounds in bound form to free form...), improving the content of nutritional ingredients and active ingredients in black shallot products and shorten fermentation time. The results have determined the suitable freezing pretreatment condition at a temperature of -20°C for 30 hours and the suitable endogenous fermentation condition at a temperature of 45°C for 2 days. Under these conditions, the black shallot products achieved good quality, corresponding to the total fermentation time shortened to 17 days compared to the control which was 24 days. This research initially gave feasibility for black shallot production on an industrial scale.

Keywords: *Allium ascalonicum* L., black shallots, endogenous fermentation, freezing, moist heat treatment method, pretreatment.

Classification numbers: 2.10, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: phuongchi53@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Hành tím (*Allium ascalonicum* L.) có giá trị dinh dưỡng cao (carbohydrate, protein, chất khoáng, vitamin B và C) và chứa các chất có hoạt tính sinh học quan trọng như: các hợp chất chứa lưu huỳnh, phenolic, flavonoid..., không chỉ được sử dụng như gia vị mà còn là một loại kháng sinh thực vật có nhiều ứng dụng trong y học. Các nghiên cứu đã phát hiện ra rằng, hành có nhiều tác dụng có lợi như chống oxy hóa, hạ đường huyết, chống ung thư... Hành có nhiều lợi ích sức khỏe tiềm năng, nhưng việc tiêu thụ hành tươi bị hạn chế vì nó có mùi hăng và vị cay do các hợp chất organosulphur. Tuy vậy, các phương pháp xử lý nhiệt như luộc, xào, hấp, chiên, sấy... có thể giảm mùi vị hăng cay đó. Trong đó, hành đen là một dạng sản phẩm mới được chế biến bằng cách xử lý củ hành tươi trong điều kiện nhiệt độ và độ ẩm được kiểm soát mà không sử dụng chất phụ gia [1], ở điều kiện này hành có sự thay đổi về màu sắc (chuyển sang màu đen), trạng thái kết cấu (mềm dẻo hơn), đồng thời các hợp chất kém bền và có mùi khó chịu trong hành tươi sẽ chuyển thành hợp chất bền và mùi vị ngọt dịu hơn.

Một số enzym trong hành, tỏi tươi ảnh hưởng lớn đến chất lượng của sản phẩm hành, tỏi đen. Alliinase là một enzym đặc trưng trong chi *Allium*, xúc tác phản ứng chuyển đổi Alliin thành allicin và các alkyl alkane-thiosulfinat khác, góp phần loại bỏ mùi hăng cay [2] trong hành tươi. GGTs (γ -glutamyltranspeptidases) xúc tác cho quá trình chuyển các nhóm γ -glutamyl từ γ -glutamylpeptide sang các peptide, axit amin hoặc nước [3]. Trong quá trình hình thành hành đen, GGTs xúc tác quá trình thủy phân glutathione và hình thành hợp chất dễ bay hơi thông qua việc phân cắt gốc γ -glutamyl của γ -glutamyl alk(en)yl-Cys sulfoxides [4]. Do đó, GGTs đóng một vai trò quan trọng đối với chất lượng và hương vị của các sản phẩm hành, tỏi đen. Ngoài ra, trong hành chứa các enzym liên quan đến quá trình chuyển hóa đường ở giai đoạn đầu quá trình xử lý nhiệt như amylase, sucrose hydrolase, hexokinase và invertase [5, 6].

Phương pháp chế biến truyền thống đối với sản phẩm tương tự là tỏi đen đơn giản nhưng tốn nhiều thời gian (kéo dài đến 30 ngày) và chất lượng không ổn định. Do quá trình xử lý nhiệt tỏi tươi ở nhiệt độ và độ ẩm có kiểm soát trong 30-60 ngày mà không cần xử lý trước, trong thời gian này các đặc tính cảm quan và thành phần hóa học bị biến đổi liên quan đến quá trình lên men nội sinh và một số phản ứng hóa học [7, 8]. Tuy nhiên, quá trình biến đổi này sẽ xảy ra rất chậm do các hợp chất và các hệ enzym đều nằm trong tế bào. Do đó, cần phải áp dụng kết hợp các công nghệ khác để tăng cường các hoạt chất và rút ngắn thời gian chế biến, hạn chế tiêu tốn năng lượng, đáp ứng được nhu cầu sản xuất công nghiệp. Kết quả nghiên cứu T.P. Chi và cs (2023) [9] cho thấy, khi áp dụng các phương pháp tiền xử lý nguyên liệu hành tím (tiền xử lý lạnh đông, tiền xử lý sóng siêu âm) kết hợp lên men nội sinh (giai đoạn đầu) trước khi xử lý nhiệt ẩm cao trong quá trình chế biến hành đã góp phần nâng cao chất lượng sản phẩm hành đen và giảm thời gian chế biến. Trong đó, mẫu hành đen ở phương pháp tiền xử lý lạnh đông có hàm lượng các chất chống oxy hóa (các hợp chất phenolic, flavonoid) cao nhất, đồng thời có thời gian chế biến ngắn nhất (chỉ còn 18 ngày so với công thức đối chứng là 24 ngày).

Việc áp dụng chế độ tiền xử lý lạnh đông và chế độ lên men nội sinh giai đoạn đầu phù hợp sẽ ảnh hưởng tích cực đến sự phá vỡ cấu trúc tế bào, tạo điều kiện cho quá trình tiếp xúc giữa các enzym và cơ chất trong tế bào với nhau, dẫn đến các phản ứng do enzym (phản ứng thủy phân, phản ứng oxy hóa) diễn ra nhanh và hiệu quả hơn. Do vậy, trong phạm vi nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của chế độ tiền xử lý lạnh đông và điều kiện lên men nội sinh đến chất lượng và thời gian lên men hành đen.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Củ hành tím (*Allium ascalonicum* L.) trồng tại huyện Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng được thu hoạch ở độ già 70-75 ngày (kể từ thời gian bắt đầu trồng), đóng thùng carton và vận chuyển đến Trung tâm Thực hành Thí nghiệm của Trường Đại học Vinh trong thời gian tối đa 3 ngày. Tại đây, tiến hành lựa chọn các củ hành đồng đều về màu sắc và kích thước (đường kính 20-30 mm), rửa sạch, cắt bỏ rễ rồi làm khô đến độ ẩm 75-80%.

2.2. Hóa chất và thiết bị sử dụng

2.2.1. Thiết bị và dụng cụ

+ Tủ lên men tự động CYF-32P (Hãng Chin Ying Fa, Đài Loan, Trung Quốc) gồm 32 khay, kích thước (46x72 cm)/khay. Thiết bị có chức năng điều khiển tự động 2 thông số gồm nhiệt độ trong khoảng (30-100°C) và độ ẩm không khí (30-100%).

+ Tủ lạnh âm sâu ULT340 (Anh).

+ Cân kỹ thuật và cân phân tích điện tử, máy xay Philips HR2221 (Trung Quốc)...

2.2.2. Hóa chất

Axit gallic, quercetin, AlCl₃, NaOH, Na₂CO₃, axit 3,5-dinitrosalicylic (DNS), ninhydrin, ethanol...

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1 - Xác định chế độ tiền xử lý lạnh đông phù hợp: Các mẫu nguyên liệu hành tím (m=1 kg) được tiền xử lý lạnh đông ở 3 mức nhiệt độ A (A₁ -10°C, A₂ -20°C, A₃ -30°C) và 3 mức thời gian B khác nhau (B₁ 15 giờ, B₂ 30 giờ, B₃ 45 giờ), tổng cộng có 9 công thức. Các công thức lặp lại 3 lần. Bố trí thí nghiệm như ở bảng 1.

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm 1.

A ₁ B ₁	A ₁ B ₂	A ₁ B ₃
A ₂ B ₁	A ₂ B ₂	A ₂ B ₃
A ₃ B ₁	A ₃ B ₂	A ₃ B ₃

Sau công đoạn tiền xử lý, các mẫu hành tím được tiến hành lên men nội sinh ở 45°C trong 3 ngày. Kết thúc thời gian lên men nội sinh, các mẫu tiếp tục được xử lý nhiệt ẩm ở điều kiện nhiệt độ 70°C, độ ẩm tương đối 80% trong 15 ngày. Sản phẩm hành đen thu được đem sấy bơm nhiệt ở 53-55°C đến độ ẩm yêu cầu 45±2%.

Trên cơ sở theo dõi sự thay đổi cấu trúc tế bào của hành ngay sau tiền xử lý (vi ảnh SEM) và chất lượng của sản phẩm hành đen (pH, sự biến đổi màu sắc, axit amin, đường khử, hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số cùng các chỉ tiêu cảm quan), từ đó xác định được các thông số công nghệ tiền xử lý thích hợp nhất.

Thí nghiệm 2 - Xác định nhiệt độ và thời gian lên men nội sinh phù hợp: Các mẫu nguyên liệu hành tím ($m=1$ kg) sau khi tiền xử lý lạnh đông (chế độ lạnh đông được lựa chọn từ thí nghiệm 1) được bọc trong giấy bạc có đục lỗ và thực hiện quá trình lên men nội sinh. Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố trong quá trình lên men nội sinh, bao gồm:

+ Thí nghiệm 2.1: Nhiệt độ 35, 40, 45, 50 và 55°C (cố định thời gian lên men nội sinh là 3 ngày).

+ Thí nghiệm 2.2: Thời gian 0, 1, 2, 3 và 4 ngày (cố định nhiệt độ lựa chọn từ thí nghiệm 2.1).

Các công thức trong mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết thúc thời gian lên men nội sinh, các mẫu tiếp tục được giữ ở cùng điều kiện: nhiệt độ 70°C, độ ẩm tương đối 80% trong 15 ngày. Sau thời gian xử lý nhiệt ẩm, các mẫu được sấy bơm nhiệt ở nhiệt độ 53-55°C cho đến khi sản phẩm đạt độ ẩm $45\pm 2\%$. Trên cơ sở theo dõi chất lượng của hành đen tạo ra (pH, sự biến đổi màu sắc, axit amin, đường khử, hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số và các chỉ tiêu cảm quan), từ đó xác định được nhiệt độ, thời gian lên men nội sinh phù hợp.

2.3.2. Phương pháp phân tích

- Cấu trúc bên trong của hành được xác định bằng kính hiển vi điện tử quét SEM (JCM-6000Plus, Jeol, Nhật Bản) [10].

- Xác định pH theo TCVN 7806:2007 (ISO 1842:1991).

- Xác định sự biến đổi màu sắc hành (ΔE) qua từng giai đoạn bằng máy đo màu (Konica Minolta, Nhật Bản).

- Xác định hàm lượng đường khử theo phương pháp DNS, dựa vào phản ứng tạo màu giữa đường khử với thuốc thử 3,5-Dinitrosalicylic axit (DNS) [11].

- Hàm lượng axit amin được xác định theo phương pháp của R. McGrath (1972) [12].

- Hàm lượng phenolic tổng số (TPC) được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu [13].

- Hàm lượng flavonoid tổng số (TFC) được xác định theo phương pháp tạo màu với $AlCl_3$ trong môi trường kiềm [14].

- Đánh giá chất lượng cảm quan bằng phương pháp cho điểm dựa theo TCVN 3215-79. Với 4 chỉ tiêu đánh giá gồm màu sắc, trạng thái, mùi, vị của hành đen. Các chỉ tiêu được đánh giá riêng rẽ bằng phương pháp mô tả đối với màu sắc, trạng thái và thử nếm với mùi và vị theo thang 5 điểm, điểm cao nhất là 5, điểm thấp nhất là 1. Mức độ quan trọng của từng chỉ tiêu thông qua hệ số quan trọng tương ứng: màu sắc (0,8), trạng thái (0,8), mùi (1,2) và vị (1,2). Mức xếp loại theo tổng điểm: tốt (18,2-20), khá (15,2-18,1), trung bình (11,2-15,1), kém (7,2-11,1), hỏng $\leq 7,1$.

2.3.3. Phương pháp xử lý thống kê

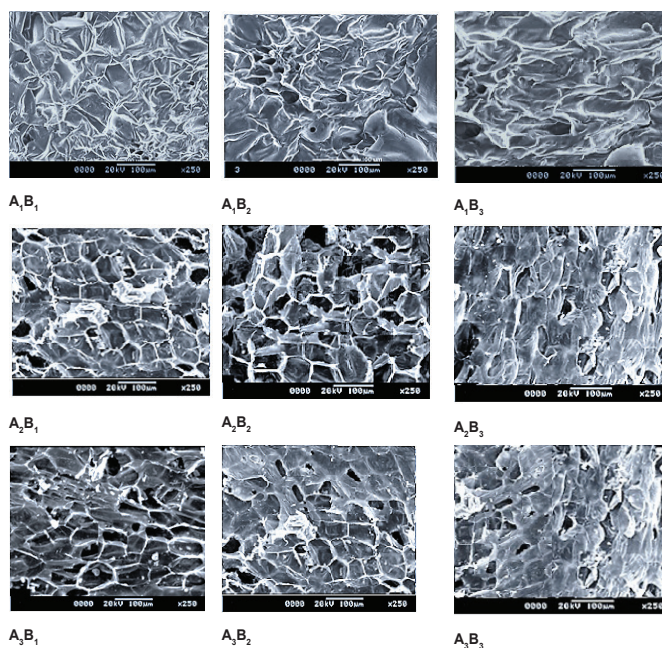
Dữ liệu được trình bày dưới dạng số trung bình của các thí nghiệm \pm độ lệch chuẩn, $p < 0,05$ được xem là khác nhau có ý nghĩa thống kê. Dùng phép kiểm định LSD (kiểm định khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa) từ phân tích ANOVA để so sánh sự khác nhau giữa các nghiệm thức, số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm SPSS.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Xác định nhiệt độ và thời gian tiền xử lý lạnh đông nguyên liệu phù hợp

3.1.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian tiền xử lý lạnh đông đến cấu trúc bên trong của hành tím

Ảnh hưởng của các điều kiện tiền xử lý đông lạnh khác nhau lên vi cấu trúc của hành đông lạnh được kiểm tra bằng SEM, kết quả thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Ảnh SEM của hành ở các điều kiện tiền xử lý đông lạnh khác nhau.

Ảnh chụp vi mô của hành xử lý đông lạnh ở nhiệt độ $-10^\circ C$ ở các mức thời gian khác nhau (A_1B_1, A_1B_2, A_1B_3) cho thấy, hình dạng tế bào và cấu trúc tế bào không còn rõ ràng, do ở nhiệt độ này hình thành tinh thể đá lớn và phân bố không đồng đều, làm rách màng tế bào, phá vỡ cấu trúc tế bào, tạo ra các lỗ ở màng tế bào lớn dễ thoát ẩm. Ảnh chụp vi mô của hành xử lý đông lạnh ở nhiệt độ -20 và $-30^\circ C$ ở các mức thời gian khác nhau ($A_2B_1, A_2B_2, A_3B_1, A_3B_2$) cho thấy, hình dạng, cấu trúc tế bào bị co lại, thành tế bào đa diện không đều với các cạnh bị biến dạng nhưng các tế bào riêng lẻ vẫn được tổ chức tốt, cho thấy ở nhiệt độ này hình thành nhiều tinh thể đá nhỏ phân bố đồng đều nhưng vẫn chưa làm phá vỡ thành tế bào hoàn toàn. Hành xử lý đông lạnh trong khoảng thời

Bảng 2. Ảnh hưởng chế độ tiền xử lý lạnh đông khác nhau đến chất lượng của hành đen.

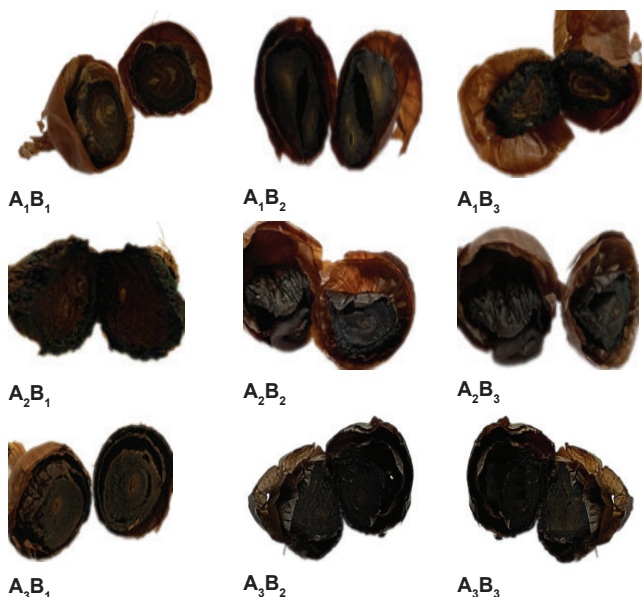
Chi tiêu	Công thức								
	A ₁ B ₁	A ₁ B ₂	A ₁ B ₃	A ₂ B ₁	A ₂ B ₂	A ₂ B ₃	A ₃ B ₁	A ₃ B ₂	A ₃ B ₃
Sự biến đổi màu sắc (ΔE)	51,21±0,65 ^a	56,19±0,73 ^c	54,26±0,71 ^b	58,03±0,77 ^d	62,92±0,95 ^{eh}	63,31±0,98 ^b	60,53±0,67 ^e	61,55±0,83 ^f	62,14±0,89 ^e
pH	4,92±0,06 ^f	4,75±0,05 ^e	4,69±0,04 ^e	4,28±0,03 ^d	4,02±0,03 ^c	3,81±0,02 ^b	3,98±0,03 ^{bc}	3,86±0,03 ^b	3,61±0,02 ^a
Đường khử mg/gck	642,97±1,71 ^a	674,08±1,95 ^c	665,32±1,83 ^b	722,87±2,03 ^f	758,26±2,14 ^b	732,16±2,06 ^e	716,44±1,96 ^e	718,16±1,78 ^c	699,24±1,96 ^d
Axit amin (mg/gck)	5,11±0,03 ^a	6,49±0,04 ^c	6,08±0,03 ^b	7,03±0,06 ^e	8,02±0,07 ^{se}	7,56±0,06 ^f	7,06±0,05 ^e	6,82±0,04 ^d	6,51±0,04 ^e
TPC (mg GAE/gck)	15,82±0,10 ^a	18,74±0,13 ^c	17,26±0,11 ^b	20,33±0,13 ^{de}	22,77±0,15 ^{se}	21,82±0,14 ^f	20,01±0,12 ^d	21,93±0,14 ^a	20,69±0,17 ^e
TFC (mg QE/gck)	4,87±0,02 ^a	5,38±0,03 ^c	5,07±0,03 ^b	5,81±0,04 ^e	6,22±0,05 ^{se}	5,93±0,04 ^f	5,6±0,03 ^d	5,86±0,04 ^e	5,72±0,03 ^{de}
Đánh giá cảm quan	14,62±0,07 ^a	15,61±0,11 ^c	15,02±0,08 ^b	17,35±0,12 ^e	18,56±0,10 ^{se}	17,84±0,12 ^f	16,94±0,09 ^d	17,51±0,08 ^{ef}	17,01±0,07 ^d

Kết quả phân tích được trình bày dưới dạng trung bình ±SD, các chữ cái khác nhau trong một cột thể hiện ý nghĩa của dữ liệu ở mức p<0,05.

gian dài (45 giờ) cho thấy, nhiều khu vực, hồ bị sập với hình dạng, kích thước khác nhau (A₁B₃, A₂B₃, A₃B₃) có sự vỡ cấu trúc tăng lên đáng kể theo thời gian lạnh đông. Những thay đổi này có thể do sự hình thành các tinh thể đá riêng lẻ trong tế bào tăng lên cùng với thời gian lạnh đông. Những thay đổi về cấu trúc đối với cà rốt và củ sen đông lạnh cũng thể hiện tương tự [15, 16].

3.1.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian tiền xử lý lạnh đông đến chất lượng của hành đen

Kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian tiền xử lý lạnh đông đến chất lượng hành đen được thể hiện ở bảng 2 và hình 2.



Hình 2. Sản phẩm hành đen ở các chế độ tiền xử lý lạnh đông khác nhau.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, sự biến đổi màu sắc ở các công thức khác nhau tùy theo mức độ tổn thương cấu trúc tế bào. Cụ thể, sự biến đổi màu sắc ΔE của mẫu hành ở các công thức A₁B₁, A₁B₂, A₁B₃ (tiền xử lý lạnh đông ở -10°C với các mức thời gian khác nhau) thấp hơn so với các mẫu còn lại do màu đen không đồng đều từ ngoài vào trong (hình 2). Nguyên nhân là khi tiền xử lý

lạnh đông củ hành tím ở -10°C hình thành tinh thể đá lớn làm rách thành tế bào, trong quá trình xử lý nhiệt, nước tự do trong hành dễ dàng bốc hơi, làm giảm tốc độ các phản ứng thủy phân tạo các cơ chất (đường khử, axit amin) cho phản ứng tạo màu (phản ứng Maillard). Trong khi tiền xử lý lạnh đông củ hành ở -20 và -30°C, hình thành tinh thể đá kích thước nhỏ nhiều hơn, nằm rải rác trong tế bào, dẫn đến khi xử lý nhiệt ẩm hành ở các giai đoạn sau, sự tiếp xúc các cơ chất với enzym đồng đều hơn. Có thể nhận thấy, sự biến đổi màu sắc ΔE của mẫu hành ở các công thức A₂B₁, A₂B₂, A₂B₃, A₃B₁, A₃B₂, A₃B₃ (tiền xử lý lạnh đông ở -20 và -30°C với các mức thời gian khác nhau) diễn ra đều từ ngoài vào trong củ hành, tuy nhiên không có sự khác biệt đáng kể về sự biến đổi màu sắc giữa hai chế độ tiền xử lý lạnh đông ở -20 và -30°C (hình 2).

Giá trị pH ở các mẫu hành đen giảm so với nguyên liệu hành tím tươi (pH 6,33) và mức độ giảm ở các công thức là khác nhau. Cụ thể, giá trị pH của các mẫu hành ở nhóm công thức A₁B₁, A₁B₂, A₁B₃ (tiền xử lý lạnh đông ở -10°C với các mức thời gian khác nhau) giảm chậm nhất, tiếp theo nhóm A₂B₁, A₂B₂, A₂B₃ (tiền xử lý lạnh đông ở -20°C với các mức thời gian khác nhau) và nhóm A₃B₁, A₃B₂, A₃B₃ (tiền xử lý lạnh đông ở -30°C với các mức thời gian khác nhau), trong đó sự khác biệt về giá trị pH của hành đen ở chế độ tiền xử lý lạnh đông ở -20 và -30°C là không đáng kể. Ngoài ra, có thể nhận thấy, khi tăng thời gian tiền xử lý lạnh đông (từ 15 đến 45 giờ), giá trị pH của các mẫu hành giảm nhanh hơn trong quá trình chế biến (cụ thể mức độ giảm độ pH của mẫu hành khi tiền xử lý ở -20°C với các mức thời gian khác nhau như sau: A₂B₁ giảm 32,3%, A₂B₂ giảm 35,54% và A₂B₃ giảm 39,82%). Điều này chứng tỏ tùy mức độ phá vỡ cấu trúc của tế bào dẫn đến mức độ giải phóng các axit hữu cơ và giảm giá trị pH, làm cho hành có vị thanh ngọt.

Hàm lượng đường khử trong mẫu hành đen ở nhóm công thức A₂B₁, A₂B₂, A₂B₃ cao nhất, tiếp theo là A₃B₁, A₃B₂, A₃B₃ (tiền xử lý lạnh đông ở -30°C với các mức thời gian khác nhau), thấp nhất là A₁B₁, A₁B₂, A₁B₃ (tiền xử lý lạnh đông ở -10°C với các mức thời gian khác nhau). Có thể thấy rằng, tiền xử lý lạnh đông ở nhiệt độ -20°C làm thay đổi cấu trúc bên trong tế bào củ hành mà không gây ra sự bốc hơi nước nhanh trong quá trình chế biến như khi tiền xử lý ở -10°C, tạo điều kiện cho các phản ứng thủy phân polysaccharide thành monosaccharide và disaccharide diễn

ra mạnh mẽ hơn, dẫn đến hàm lượng đường khử cao hơn. Tiền xử lý lạnh đông ở nhiệt độ quá thấp (-30°C) có thể dẫn đến giảm khả năng hòa tan của enzym thủy phân trong hành, khiến chúng kém hoạt động trở lại trong quá trình xử lý nhiệt, giảm hiệu suất của các phản ứng thủy phân polysaccharide [17]. Ngoài ra có thể nhận thấy, mẫu hành ở công thức A₂B₂ (tiền xử lý lạnh đông ở -20°C trong 30 giờ) có hàm lượng đường khử cao nhất và khác biệt với các công thức còn lại. Sau 18 ngày chế biến, mẫu hành ở A₂B₂ có hàm lượng đường khử (758,26±2,14 mg/gck) tăng hơn 10 lần so với hành tím tươi ban đầu (74,32±1,01 mg/gck).

Tương tự hàm lượng đường khử, hàm lượng axit amin ở nhóm công thức A₂B₁, A₂B₂, A₂B₃ cao nhất, tiếp theo là A₃B₁, A₃B₂, A₃B₃ và thấp nhất là A₁B₁, A₁B₂, A₁B₃. Trong đó, mẫu hành ở công thức A₂B₂ (tiền xử lý lạnh đông ở -20°C trong 30 giờ) có hàm lượng axit amin cao nhất và khác biệt với các công thức còn lại (p<0,05). Mẫu hành đen ở công thức A₂B₂ có hàm lượng axit amin tăng gấp 1,94 lần so với ban đầu.

Có thể nhận thấy, hàm lượng phenolic, flavonoid tổng số trong mẫu hành ở tất cả công thức có xu hướng tăng sau quá trình xử lý nhiệt ẩm. Trong đó, hàm lượng hàm lượng phenolic, flavonoid tổng số trong mẫu hành ở nhóm công thức A₂B₁, A₂B₂, A₂B₃ (tiền xử lý lạnh đông ở -20°C với các mức thời gian khác nhau) tăng nhanh nhất, tiếp theo là A₃B₁, A₃B₂, A₃B₃ (tiền xử lý lạnh đông ở -30°C với các mức thời gian khác nhau), tăng chậm nhất là A₃B₁, A₃B₂, A₃B₃ (tiền xử lý lạnh đông ở -10°C với các mức thời gian khác nhau). Sau 18 ngày ủ, mẫu hành ở A₂B₂ (tiền xử lý lạnh đông ở -20°C trong 30 giờ) có hàm lượng phenolic, flavonoid tổng số cao nhất (TPC, TFC lần lượt là 22,77±0,15 mg GAE/gck, 6,22±0,05 mg QE/gck; tăng 3,16 và 3,04 lần so với ban đầu) và khác biệt đáng kể so với các công thức còn lại (p<0,05).

Điểm đánh giá cảm quan của hành đen ở nhóm công thức A₂B₁, A₂B₂, A₂B₃ (tiền xử lý lạnh đông ở -20°C với các mức thời gian khác nhau) là cao nhất, tiếp theo A₃B₁, A₃B₂, A₃B₃ (tiền xử lý lạnh đông ở -30°C với các mức thời gian khác nhau), thấp nhất là A₃B₁, A₃B₂, A₃B₃ (tiền xử lý lạnh đông ở -10°C với các mức thời gian khác nhau). Trong đó, điểm đánh giá cảm quan của hành đen ở A₂B₂ (tiền xử lý lạnh đông ở -20°C trong 30 giờ) cao nhất (18,56±0,10 điểm), khác biệt có ý nghĩa với các công thức còn lại (p<0,05). Sản phẩm có màu đen đều từ ngoài vào trong, trạng thái dẻo, vị thanh ngọt hài hòa, mất hoàn toàn mùi hăng cay và có mùi thơm nhẹ đặc trưng của hành đen.

Như vậy có thể nhận thấy rằng, chế độ tiền xử lý lạnh đông nguyên liệu ở nhiệt độ -20°C trong 30 giờ cho sản phẩm hành đen có hàm lượng phenolic tổng số, flavonoid tổng số, đường khử, axit amin cao nhất, pH phù hợp cho quá trình bảo quản (pH <4,5) và tạo vị thanh ngọt hài hòa, đồng thời được đánh giá cảm quan tốt nhất. Do đó, chúng tôi quyết định lựa chọn chế độ tiền xử lý lạnh đông nguyên liệu hành tím ở nhiệt độ -20°C trong 30 giờ cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Xác định nhiệt độ và thời gian lên men nội sinh phù hợp

3.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men nội sinh đến chất lượng hành đen

Một số enzym trong hành, tòi tươi ảnh hưởng lớn đến chất lượng của sản phẩm hành, tòi đen. Alliinase xúc tác phản ứng chuyển đổi Alliin thành allicin và các alkyl alkane-thiosulfinat khác, góp phần loại bỏ mùi hăng cay. Sự biến tính của alliinase diễn ra ở nhiệt độ 42°C và enzym có thể bị vô hiệu hóa sau khi xử lý nhiệt trên 60°C [2]. GGTs (γ-glutamyltranspeptidases) xúc tác cho quá trình chuyển các nhóm γ-glutamyl từ γ-glutamylpeptide sang các peptide, axit amin hoặc nước [4]. Nhiệt độ tối ưu của GGT trong hành là khoảng 45-50°C [3]. Ngoài ra, trong hành, tòi chứa các enzym liên quan đến quá trình chuyển hóa đường ở giai đoạn đầu quá trình xử lý nhiệt như amylase, sucrose hydrolase, hexokinase và invertase [5, 6].

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ lên men nội sinh đến chất lượng sản phẩm hành đen (pH, sự biến đổi màu sắc, axit amin, đường khử, hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số và các chỉ tiêu cảm quan) thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men nội sinh đến chất lượng hành đen.

Chỉ tiêu	Nhiệt độ (°C)				
	35	40	45	50	55
Sự biến đổi màu sắc (ΔE)	47,51±0,85 ^a	53,72±0,98 ^b	62,98±1,08 ^c	63,75±0,83 ^{cd}	64,80±0,71 ^d
pH	5,05±0,05 ^a	4,73±0,04 ^a	4,01±0,03 ^b	3,91±0,03 ^{bc}	3,82±0,04 ^a
Đường khử (mg/gck)	675,97±2,55 ^a	707,87±2,24 ^b	757,08±2,05 ^c	736,32±2,58 ^d	728,17±2,23 ^c
Axit amin (mg/gck)	5,9±0,05 ^a	6,92±0,06 ^b	8,29±0,07 ^c	7,94±0,06 ^d	7,54±0,05 ^c
TPC (mg GAE/gck)	15,53±0,05 ^a	18,46±0,08 ^b	22,74±0,11 ^c	21,02±0,09 ^d	19,11±0,07 ^c
TFC (mg QE/gck)	4,61±0,03 ^a	5,57±0,05 ^b	6,21±0,09 ^c	6,06±0,04 ^d	5,80±0,02 ^c
Đánh giá cảm quan	14,72±0,08 ^a	15,59±0,11 ^b	18,58±0,12 ^c	17,78±0,15 ^d	16,8±0,13 ^c

Kết quả phân tích được trình bày dưới dạng trung bình ± SD, các chữ cái khác nhau trong một cột thể hiện ý nghĩa của dữ liệu ở mức p<0,05.

Nhiệt độ lên men nội sinh ảnh hưởng lớn đến hoạt tính của enzym, các thành phần hoá học và chất lượng cảm quan của sản phẩm. Trong khoảng nhiệt độ 35-45°C, sự biến đổi màu sắc (ΔE), đường khử, axit amin, TPC, TFC, chất lượng cảm quan trong sản phẩm hành đen có xu hướng tăng, trong khi độ pH giảm dần. Sản phẩm hành đen tạo thành khi được lên men giai đoạn 1 ở 45°C có hàm lượng đường khử, axit amin, TPC, TFC, chất lượng cảm quan cao nhất, cho thấy đây là nhiệt độ phù hợp cho hệ enzym thủy phân trong hành hoạt động [18]. Đồng thời tại nhiệt độ này, hành đen có độ pH (4,01±0,03) phù hợp, vừa tạo vị thanh ngọt đặc trưng cho hành đen, vừa thuận lợi cho quá trình bảo quản sau này của sản phẩm. Khi tăng nhiệt độ lên 50-55°C, hàm lượng đường khử, axit amin, TPC, TFC, độ pH, chất lượng cảm quan trong sản phẩm hành đen có xu hướng giảm nhẹ. Từ các nhận xét trên, có thể thấy 45°C là nhiệt độ lên men nội sinh phù hợp trước quá trình lên men nhiệt ẩm.

3.2.2. Ảnh hưởng của thời gian lên men nội sinh đến chất lượng hành đen

Thực hiện quá trình lên men nội sinh với điều kiện thời gian khác nhau (0, 1, 2, 3 và 4 ngày) tại nhiệt độ 45°C (được lựa chọn từ thí nghiệm 2.1). Tiến hành theo dõi ảnh hưởng của thời gian lên men nội sinh đến chất lượng của sản phẩm hành đen. Kết quả thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian lên men nội sinh đến chất lượng hành đen.

Chỉ tiêu	Thời gian	0 ngày	1 ngày	2 ngày	3 ngày	4 ngày
Sự biến đổi màu sắc (ΔE)		39,79 ± 1,14 ^a	52,51 ± 1,08 ^b	61,11 ± 1,02 ^c	63,01 ± 0,83 ^{cd}	64,80 ± 1,01 ^d
pH		4,98 ± 0,05 ^d	4,53 ± 0,03 ^c	4,12 ± 0,06 ^b	4,01 ± 0,04 ^{ab}	3,95 ± 0,03 ^a
Đường khử (mg/gck)		425,97 ± 3,55 ^a	618,32 ± 2,58 ^b	754,2 ± 2,25 ^c	756,82 ± 2,03 ^c	759,37 ± 3,23 ^c
Axit amin (mg/gck)		3,45 ± 0,03 ^a	6,38 ± 0,04 ^b	8,21 ± 0,08 ^c	8,29 ± 0,06 ^c	8,33 ± 0,05 ^c
TPC (mg GAE/gck)		14,67 ± 0,17 ^a	18,35 ± 0,23 ^b	23,73 ± 0,26 ^d	22,77 ± 0,12 ^{cd}	21,63 ± 0,21 ^c
TFC (mgQE/gck)		4,19 ± 0,04 ^a	5,29 ± 0,06 ^b	6,55 ± 0,09 ^c	6,21 ± 0,05 ^d	5,72 ± 0,03 ^c
Đánh giá cảm quan		13,45 ± 0,05 ^a	15,17 ± 0,06 ^b	18,86 ± 0,08 ^d	18,57 ± 0,07 ^d	16,84 ± 0,08 ^c

Kết quả phân tích được trình bày dưới dạng trung bình ±SD, các chữ cái khác nhau trong một cột thể hiện ý nghĩa của dữ liệu ở mức $p < 0,05$.

Có thể nhận thấy, mẫu hành đen có tiến hành giai đoạn lên men nội sinh (giai đoạn 1) trong 1, 2, 3 và 4 ngày đều có sự biến đổi màu sắc (ΔE), đường khử, axit amin, TPC, TFC, chất lượng cảm quan cao hơn so với mẫu hành đen không qua giai đoạn lên men nội sinh (công thức 0 ngày). Khi tăng thời gian lên men 0-2 ngày, sự biến đổi màu sắc (ΔE), đường khử, axit amin, TPC, TFC, chất lượng cảm quan trong sản phẩm hành đen có xu hướng tăng nhanh, trong khi độ pH giảm dần. Tuy nhiên khi kéo dài thời gian lên men nội sinh lên 4 ngày, sự biến đổi màu sắc (ΔE), hàm lượng đường khử và axit amin có sự tăng nhẹ nhưng không đáng kể, trong khi hàm lượng TPC, TFC, chất lượng cảm quan có xu hướng giảm nhẹ. Nguyên nhân do khi kéo dài thời gian lên men nội sinh, kết hợp thời gian xử lý nhiệt ẩm về sau làm suy thoái các thành phần TPC, TFC. Do vậy, lựa chọn thời gian lên men nội sinh là 2 ngày, cho sản phẩm hành đen có hàm lượng TPC, TFC, chất lượng cảm quan cao nhất và hàm lượng đường khử, axit amin, độ pH phù hợp.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định được chế độ tiền xử lý lạnh đông và điều kiện lên men nội sinh phù hợp trước khi xử lý nhiệt ẩm. Cụ thể: Chế độ tiền xử lý lạnh đông nhiệt độ -20°C trong 30 giờ và chế độ lên men nội sinh ở nhiệt độ 45°C trong 2 ngày đã làm thay đổi cấu trúc bên trong của nguyên liệu hành tím ở mức phù hợp, tạo điều kiện cho các phản ứng nội sinh giữa các hợp chất dưới sự xúc tác của hệ enzym nằm trong tế bào, rút ngắn thời gian chế biến, cho sản phẩm hành đen đạt chất lượng tốt tương ứng tổng thời gian lên men 17 ngày so với đối chứng là 24 ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J.M.M. Rojas, A.M. Ortega, J.L. Ordóñez, et al. (2018), "Development and validation of UHPLC-HRMS methodology for the determination of flavonoids, amino acids and organosulfur compounds in black onion, a novel derived product from fresh shallot onions (*Allium cepa* var. *aggregatum*)", *LWT - Food Science and Technology*, **97**, pp.376-383, DOI: 10.1016/j.lwt.2018.07.032.
- [2] S. Kim, S. Lee, D. Shin, et al. (2016), "Change in organosulfur compounds in onion (*Allium cepa* L.) during heat treatment", *Food Sci. Biotechnol.*, **25(1)**, pp.115-119, DOI: 10.1007/s10068-016-0017-7.
- [3] Y. Sun, J. Hu, W. Wang, et al. (2019), "Characterisation of gamma-glutamyltranspeptidases from dormant garlic and onion bulbs", *Food Sci. Nutr.*, **7(2)**, pp.499-505, DOI: 10.1002/fsn3.820.
- [4] N. Yoshimoto, A. Yabe, Y. Sugino, et al. (2014), "Garlic gamma-glutamyl transpeptidases that catalyze deglutamylation of biosynthetic intermediate of alliin", *Front. Plant Sci.*, **5**, DOI: 10.3389/fpls.2014.00758.
- [5] A. Sadegh (2011), "Garlic physiological characteristics from harvest to sprouting in response to low temperature", *Journal of Stored Products and Postharvest Research*, **2(15)**, pp.285-291, DOI: 10.5897/JSPPR11.023.
- [6] P.G. Bhat, T.N. Pattabiraman (1979), "Solubilisation & purification of a particular hexokinase from garlic (*Allium sativum*) bulbs", *Indian J. Biochem. Biophys.*, **16(5)**, pp.284-287, DOI: 10.1007/978-1-4899-1810-9_11.
- [7] L.M. Casas, M.L. Yusty, J.L. Hernandez (2017), "Changes in the aromatic profile, sugars, and bioactive compounds when purple garlic is transformed into black garlic", *J. Agric. Food Chem.*, **65(49)**, pp.10804-10811, DOI: 10.1021/acs.jafc.7b04423.
- [8] E. Sato, M. Kohno, H. Hamano, et al. (2006), "Increased anti-oxidative potency of garlic by spontaneous short-term fermentation", *Plant Foods Hum. Nutr.*, **61(4)**, pp.157-160, DOI: 10.1007/s11130-006-0017-5.
- [9] T.P. Chi, L.T. Tam, N.T. Thanh, et al. (2023), "Effect of different pretreatments on black shallot quality", *Vietnam Journal of Agriculture and Rural Development*, **1(6)**, pp.224-232.
- [10] Y.T. Chen, C.H. Lee, Y.A. Chen, et al. (2020), "Preparation of S-allyl cysteine-enriched garlic by two-step processing", *LWT - Food Science and Technology*, **124**, DOI: 10.1016/j.lwt.2020.109130.
- [11] G.L. Miller (1959), "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar", *Analytical Chemistry*, **31(3)**, pp.426-428, DOI: 10.1021/ac60147a030.
- [12] R. McGrath (1972), "Protein measurement by ninhydrin determination of amino acids released by alkaline hydrolysis", *Anal. Biochem.*, **49(1)**, pp.95-102.
- [13] V.L. Singleton, R. Orthofer, R.M.L. Raventos (1999), "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent", *Meth. Enzymol.*, **299**, pp.152-178.
- [14] C.C. Chang, M.H. Yang, H.M. Wen, et al. (2020), "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods", *Journal of Food and Drug Analysis*, **10(3)**, DOI: 10.38212/2224-6614.2748.
- [15] L. Neri, I.H. Hernando, I.P. Munuera, et al. (2011), "Effect of blanching in water and sugar solutions on texture and microstructure of sliced carrots", *J. Food Sci.*, **76(1)**, pp.E23-E30, DOI: 10.1111/j.1750-3841.2010.01906.x.
- [16] J. Tu, M. Zhang, B. Xu, et al. (2015), "Effect of physicochemical properties on freezing suitability of lotus (*Nelumbo nucifera*) root", *International Journal of Refrigeration*, **50**, pp.1-9, DOI: 10.1016/j.ijrefrig.2014.10.006.
- [17] S.Y. Kim, H.S. Kim, J.S. Kim, et al. (2016), "Changes in quality of welsh onion (*Allium fistulosum* L.) during the freezing storage period under different freezing conditions", *Korean Journal of Food & Cookery Science*, **32(6)**, pp.665-676.
- [18] Y. Kodera, M. Kurita, M. Nakamoto, et al. (2020), "Chemistry of aged garlic: Diversity of constituents in aged garlic extract and their production mechanisms via the combination of chemical and enzymatic reactions", *Exp. Ther. Med.*, **19(2)**, pp.1574-1584.