

Thu nhận protein concentrate từ cá tra và ảnh hưởng của sodium chloride, sodium tripolyphosphate, sucrose, sorbitol lên độ giữ nước, độ hòa tan của protein concentrate cá

• **Trịnh Khánh Sơn**

Trường Đại học Sư Phạm Kỹ thuật TP.HCM

• **Nguyễn Thùy Linh**

• **Lê Trung Thiên**

• **Lê Thị Ngọc Hân**

Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM

(Nhận ngày 21 tháng 10 năm 2016, đăng bài ngày 10 tháng 04 năm 2017)

TÓM TẮT

Fish Protein Concentrate (FPC) được thu nhận từ nguyên liệu phi lê cá tra bằng phương pháp sử dụng isopropanol và ethanol với pH đẳng điện 5,5. FPC gồm các phân đoạn có khối lượng phân tử <11 và 35 kDa. Bột FPC đạt loại A theo tiêu chuẩn của FAO với hàm lượng protein, lipid, tro và độ ẩm lần lượt là 91,8; 0,12; 0,69 và 3,12 %. Hàm lượng amino acid thiết yếu và bán thiết yếu lần lượt là 38,28 và 36,51 %, cao hơn nhiều lần so với tiêu chuẩn của FAO/WHO, chứng tỏ FPC từ cá tra có giá trị dinh dưỡng rất cao. Các kết quả cho thấy độ hòa tan

protein của FPC trong dung dịch tùy thuộc vào nồng độ và loại gia vị/phụ gia bổ sung vào theo thứ tự sodium chloride (NaCl) < sucrose < sorbitol < sodium tripolyphosphate (STTP). Bên cạnh đó, NaCl, sucrose và sorbitol hầu như không làm thay đổi độ giữ nước của FPC trong khi STTP lại làm tăng đáng kể giá trị này. Chế độ bảo quản dung dịch FPC ở điều kiện lạnh và lạnh đông có gây ra một số thay đổi về độ hòa tan protein và độ giữ nước, tuy nhiên sự thay đổi này là không quá lớn.

Từ khóa: cá tra, độ giữ nước, fish protein concentrate, độ hòa tan protein, SDS-PAGE

MỞ ĐẦU

Protein concentrate cá (FPC) là một sản phẩm chứa chủ yếu là các mạch peptide có phân tử lượng nhỏ, có giá trị dinh dưỡng cao, có lợi cho sức khỏe được thu nhận từ các loại cá, có thành phần các chất dinh dưỡng đặc biệt là protein cao hơn so với nguyên liệu cá tươi [1]. Theo Tổ chức Lương Nông (FAO) của Liên Hiệp Quốc [2], FPC bao gồm ba loại: (a) Loại A là bột hầu như không mùi, không vị, có hàm lượng chất béo tối đa khoảng 0,75 % và có hàm lượng protein trong khoảng 65–80 %; (b) Loại B, là bột có mùi cá và có hàm lượng chất béo tối đa là 35

%; (c) Loại C; là thịt cá được sản xuất trong điều kiện vệ sinh. Protein từ cá được thu nhận bằng nhiều phương pháp khác nhau, Power H.E. [3] đã đề xuất phương pháp thu nhận protein concentrate từ phi lê cá tuyết. Mặc dù có nhiều phương pháp thu nhận protein cá khác nhau nhưng điểm chung là đều có giai đoạn loại bỏ các phần phi protein (nước, da, xương và đặc biệt là chất béo) bằng các loại dung môi (alcohol, propanol, ethylene dichloride) sau đó kết tủa thu nhận protein bằng điểm đẳng điện $pH_i = 5,2 - 5,5$. Theo FAO, thông thường alcohol và propanol được ưu tiên sử dụng, hiện nay do chính sách miễn thuế tiêu thụ

đặc biệt nên propanol được sử dụng phổ biến hơn [2]. Hiện nay, người ta sử dụng hai phương pháp chính để thu nhận FPC đó là: (a) sử dụng enzyme và (b) sử dụng dung môi hữu cơ để trích ly protein từ cá.

Cá là nguồn thức ăn giàu protein, tuy nhiên không phải lúc nào cũng có sẵn. Đó là do sự hư hỏng rất nhanh chóng xảy ra trên cá khi các thiết bị làm lạnh không sẵn có cũng như là sự thiếu thốn các phương tiện sử dụng để đánh bắt. Thông thường, lượng protein có trong khẩu phần ăn giàu thực vật không đủ cung cấp tất cả các amino acid cần thiết cho nhu cầu của cơ thể. Kết quả là có một tỷ lệ người dân ở một số quốc gia bị suy dinh dưỡng, teo cơ, phù nề và một số triệu chứng khác như bệnh “Kwashiorkor” và “Marasmus” [3]. Việc bổ sung một tỷ lệ 10 % protein concentrate (PC) vào bánh mì trắng đã được báo cáo là làm tăng tỷ lệ protein hiệu quả (protein efficiency) lên đến 198 % [4]. Với sự gia tăng dân số toàn cầu như hiện nay, sự thiếu hụt dinh dưỡng protein trở thành một vấn đề rất nghiêm trọng trừ khi có một giải pháp thích hợp được tiến hành. Một trong những giải pháp đó là “bột cá”. Chỉ cần một lượng nhỏ FPC được bổ sung vào khẩu phần ăn của khoảng 500 triệu người hiện đang thiếu protein đã có thể giúp cải thiện đáng kể tình trạng sức khỏe của họ.

Trong quá trình thu nhận FPC, tiến hành gia nhiệt ở nhiệt độ từ 81–82 °C nhằm tăng khả năng trích ly chất béo của dung môi. Tuy nhiên, hệ quả của quá trình gia nhiệt làm cho tính năng công nghệ của protein concentrate cá (FPC) bị giảm hoặc mất đi, ảnh hưởng đến chất lượng của FPC. Bột FPC thành phẩm được đánh giá chất lượng bằng các phép phân tích để kiểm tra hàm lượng các chất dinh dưỡng quan trọng như protein, lipid, tro, ẩm, đánh giá cảm quan về mùi, màu của sản phẩm có đạt yêu cầu hay không. Do đó, cần thiết phải tiến hành kiểm tra tính chất, tính năng công nghệ của protein chứa trong bột cá thành phẩm như khả năng giữ nước (WHC, water holding capacity), mức độ hòa tan protein (PS, solubility protein) [5–7]. Bên cạnh đó, khi FPC được bổ sung

vào sản phẩm thực phẩm cụ thể (surimi, cá viên, xúc xích...) nhằm mục đích tăng cao giá trị dinh dưỡng hay để điều chỉnh các tính chất của sản phẩm, ảnh hưởng của một số gia vị và phụ gia lên giá trị WHC và PS của FPC cần được khảo sát để đưa ra những thông tin cần thiết cho quá trình chế biến. Từ những lý do trên, trong nghiên cứu này, chúng tôi đề xuất tiến hành thu nhận FPC bằng phương pháp cải tiến và khảo sát ảnh hưởng của sodium chloride, sodium triphosphate, sucrose và sorbitol lên độ giữ nước và mức độ hòa tan protein của FPC.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Thu nhận fish protein concentrate (FPC)

Qui trình thu nhận FPC được tiến hành chủ yếu dựa vào phương pháp của Guttman và Vandenheuve [8]. Cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) được phi lê để loại bỏ da, xương và mạch máu. Phi lê sẽ được xay thô (Ø=2 mm) để thu thịt cá. Thịt cá (100 gam) được trộn đều với 70 % isopropanol (200 mL) ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. Sau đó chỉnh pH về 5,5 bằng 0,1 N H₂SO₄. Khuấy trộn hỗn hợp này ở 82 °C (đậy kín) trong 30 phút trong bể điều nhiệt. Sau đó, lấy mẫu ra và để yên để nhiệt độ mẫu hạ xuống nhiệt độ phòng. Mẫu được ly tâm (5000×g, 15 phút). Cặn ly tâm được tiếp tục rửa với isopropanol và ly tâm như trên thêm hai lần. Sau đó, cặn được rửa lần thứ tư với 99,9 % isopropanol và ly tâm như trên. Cặn ly tâm được sấy đối lưu 45°C trong 24 giờ để thu được mẫu FPC-G.

Cặn ly tâm của mẫu rửa lần thứ tư nói trên tiếp tục được rửa ba lần với 99,97 % ethanol (200 mL) và ly tâm (5000×g, 15 phút). Cuối cùng, cặn ly tâm được sấy đối lưu 45 °C trong 24 giờ để thu được mẫu FPC.

Hiệu suất thu hồi (H, %) của FPC được tính theo công thức: $H = 100 - (M_1 - M_2) / M_1 \times 100$. Trong đó, M₁ khối lượng thịt cá ban đầu và M₂ khối lượng bột Fish Protein Concentrate thu được.

Xác định khả năng giữ nước (WHC)

Độ giữ nước được xác định theo phương pháp của Beuchat [9]. Độ giữ nước được tính theo công thức: $WHC = (W_2 - W_1) / W_0$. Trong đó, W_0 là khối lượng (g) FPC, W_1 là khối lượng (g) FPC và ống ly tâm, W_2 là khối lượng (g) ống ly tâm và cặn còn lại sau ly tâm.

Xác định mức độ hòa tan protein (PS)

Mức độ hòa tan protein được xác định theo phương pháp của Vojdani F. [10]. Dịch nổi thu được trong quá trình xác định WHC được thu nhận để xác định hàm lượng nitrogen bằng phương pháp Micro-Kjeldahl. Độ hòa tan protein (PS, %) được tính theo công thức: $PS = P_{ht} / P_t \times 100$. Trong đó, P_{ht} lượng protein hòa tan trong dịch nổi sau ly tâm và P_t lượng protein tổng trong mẫu trước ly tâm.

Xác định các thông số màu sắc

Các thông số màu sắc của mẫu được đo bởi thiết bị Miolta CR-400 Chroma meter (Minolta Camera Co., Ltd., Osaka, Japan) theo hệ màu CIE Lab. Khoảng sai biệt màu sắc (ΔE^*) được xác định theo công thức: $\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$ [11]. Độ trắng (E^*) của mẫu được xác định bởi công thức: $E^* = 100 - \sqrt{((100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2)}$ [12].

Xác định hàm lượng protein, lipid, tro và độ ẩm

Hàm lượng protein thô của mẫu được xác định theo phương pháp Micro-Kjeldahl (TCVN 4328-1:2007). Hàm lượng lipid thô của mẫu được xác định theo phương pháp FAO, 14/7, 1986. Độ ẩm của mẫu được xác định theo phương pháp TCVN 3700-1990. Hàm lượng tro trong mẫu được xác định theo phương pháp FAO, 14/7, 1986.

Xác định thành phần amino acid

Thành phần amino acid trong các mẫu fish protein concentrate được xác định theo phương pháp AOAC Official Method 994.12 (1997). Tỉ số hóa học (chemical score) của protein là tỉ lệ (%) của acid amin thiết yếu trong một mẫu protein so với một mẫu protein chuẩn (hay đối chứng) [13].

Điện di protein SDS-PAGE

Mẫu protein được tiến hành điện di SDS-PAGE theo phương pháp của Trudel J. và cộng sự [14]. SDS-PAGE được chuẩn bị với 15 % (w/v) gel polyacrylamide chứa 0,1 % (w/v) sodium dodecyl sulfate (SDS) và 0,3 % (w/v) ammonium persulfate. Stacking gel được chuẩn bị với 5 % (w/v) polyacrylamide chứa 0,1 % (w/v) SDS. Mẫu được đun sôi 5 phút với 2,5 % (w/v) SDS trong 125mM Tris-HCl (pH 6,8). Bromophenol blue (0,01 %, w/v) được sử dụng làm tracking dye. Mẫu (20 μ L) được cho vào từng giếng. Điện di ở 100 V và 30 mA trong khoảng 2 giờ ở nhiệt độ phòng. XL-OptiProtein Marker (ABM, Richmond, BC, Canada) được sử dụng làm thang đo chuẩn để xác định khối lượng phân tử protein.

Ảnh hưởng của NaCl, sucrose, sorbitol và STTP lên độ hòa tan và khả năng giữ nước của FPC trong dung dịch FPS

Chuẩn bị dung dịch protein cá (Fish Protein Solution, FPS) bằng cách cho nước cất (10 mL) và bột FPC (0,5 g) vào ống ly tâm loại 15 mL. Tiếp theo, bổ sung NaCl, sucrose, sorbitol và STTP (sodium tripolyphosphate) với hàm lượng so với FPS lần lượt là 0–15 %, 0–5 %, 0–5 % và 0–15 %. Mẫu FPS được tồn trữ ở nhiệt độ lạnh (4°C) và nhiệt độ lạnh đông (-20 °C) trong 2 ngày. Mẫu sau đó được đánh giá một số chỉ tiêu WHC, PS sau 2 ngày tồn trữ. Mẫu đối chứng là mẫu được đánh giá các chỉ tiêu ở nhiệt độ phòng (30 °C) ngay sau khi chuẩn bị. Hàm lượng NaCl, sucrose, sorbitol và STTP cao hơn không được khảo sát do không có ý nghĩa thực tế trong các qui trình thu nhận thực phẩm.

Tính toán và thống kê

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại ba lần, các kết quả được thể hiện dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các phân tích phương sai (Anova) được thực hiện, sự khác biệt có nghĩa về mặt thống kê của các kết được tính toán dựa vào kiểm định Duncan's multiple-range test ($p < 0,05$). Tất cả các tính toán thống kê được thực hiện bằng phần mềm SPSS (SPSS

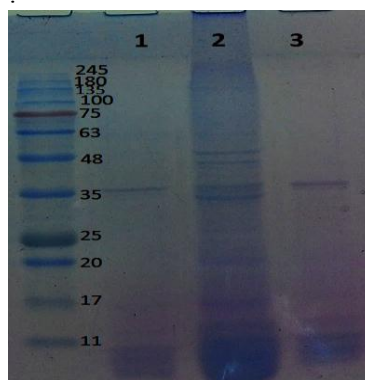
for Windows, Base System User's Guide, Release 17.0, Chicago, IL.).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Khối lượng phân tử của FPC

Kết quả điện di protein SDS-PAGE được trình bày ở Hình 1. Mẫu phi lê cá xuất hiện các phân đoạn protein tương ứng với khối lượng vào khoảng <11, 13, 17, 20, 33, 35, 45, và 48 kDa. Trong đó, các phân đoạn <11, 33, 35, 45, và 48 kDa xuất hiện thành các

vạch khá rõ trên gel polyacrylamide. Mẫu FPC-G và FPC có các phân đoạn protein <11 và 35 kDa giống nhau hiện rõ trên gel. Như vậy, quá trình thu nhận protein concentrate đã làm mất đi một số phân đoạn protein. Ngoài ra, mẫu FPC thu được từ việc hiệu chỉnh phương pháp của Guttman and Vandenheuvel [8] (mẫu FPC-G) không làm thay đổi thành phần protein.



Hình 1. Khối lượng phân tử protein dựa trên kết quả điện di SDS-PAGE của các mẫu (1) FPC-G; (2) phi lê cá tra; (3) FPC

Thành phần hóa học và màu sắc của FPC

Hai phương pháp thu nhận FPC đã được sử dụng trong nghiên cứu. Theo đó, phương pháp A và B lần lượt có hiệu suất thu hồi (H, %) là $17,12 \pm 0,94$ và $16,37 \pm 0,24$ (Bảng 1). Như vậy, phương pháp B do có tăng số lần rửa bằng ethanol so với phương pháp A nên có làm giảm một phần hiệu suất thu nhận ($\sim 0,75$ %).

Thành phần hóa học và màu sắc của các mẫu thí nghiệm được trình bày trong Bảng 1. Có thể thấy rằng, hàm lượng lipid trong mẫu phi lê cá tra khá cao (gấp 10 lần) so với phi lê cá Tuyết (0,34 %). Do vậy, mẫu FPC-G được chuẩn bị theo phương pháp của Guttman và Vandenheuvel [8] có hàm lượng lipid cao (5,11 %). Trong khi đó, do được bổ sung các lần rửa bằng ethanol, mẫu FPC có hàm lượng lipid thô

(0,12 %) thấp hơn so với tiêu chuẩn loại A ($\leq 0,75$ %) của FAO. Thành phần lipid thô có ý nghĩa quan trọng trong phân loại protein concentrate từ cá do bởi lipid khi bị oxy hóa sẽ tạo mùi ôi và vị khó chịu cho sản phẩm. Bên cạnh đó, hàm lượng (%) protein thô trong cả hai mẫu protein concentrate của chúng tôi đều >80 %, đặc biệt mẫu FPC đạt mức 91,8 %. Như vậy, có thể thấy rằng, mẫu FPC đã đạt và vượt tiêu chuẩn loại A về protein concentrate từ cá theo qui định của FAO [2].

Về màu sắc, so với mẫu FPC-G, mẫu FPC có màu sáng hơn, có nhiều ánh vàng hơn và có độ trắng cao hơn. Ngoài ra, giá trị $2 < \Delta E^* = 2,54 < 3,5$ cho thấy giữa hai mẫu này có sự khác biệt về màu sắc ở mức độ tương đối và có thể cảm nhận được bởi người không có kinh nghiệm [11].

Thành phần amino acid của mẫu FPC

Bảng 1. Thành phần¹ hóa học (A) và màu sắc (B) của phi lê cá tra và các mẫu FPC

A	Protein thô (%)	Lipid thô (%)	Tro (%)	Độ ẩm (%)	H (%)
Phi lê	18,6±1,4 ^a	3,4±0,6 ^b	1,1±0,3 ^c	74,5±1,0 ^b	-
FPC-G	86,8±0,5 ^b	5,11±0,2 ^c	0,76±0,1 ^b	3,0±0,0 ^a	17,12±0,94 ^b
FPC	91,8±1,2 ^c	0,12±0,1 ^a	0,69±0,0 ^a	3,1±0,0 ^a	16,37±0,24 ^a
B	<i>L</i> [*]	<i>a</i> [*]	<i>b</i> [*]	<i>E</i> [*]	ΔE [*]
Phi lê	-	-	-	-	-
FPC-G	77,87±0,02 ^a	-4,11±0,03 ^b	9,41±0,02 ^a	75,61±0,01 ^a	0,00 ^a
FPC	80,02±0,03 ^b	-3,37±0,02 ^a	10,55±0,03 ^b	77,16±0,01 ^b	2,54 ^b

¹Các chữ cái khác nhau ở cùng một cột (phần A hoặc B của Bảng) cho biết sự khác biệt có nghĩa về mặt thống kê của các kết quả ($p < 0,05$). Các số liệu được thể hiện dưới dạng trung bình của các lần lặp lại ($n=3$) ± độ lệch chuẩn

Bảng 2. Hàm lượng (%) amino acid¹ trong các mẫu FPC và nhu cầu amino acid thiết yếu theo tiêu chuẩn FAO/WHO và NRC [15]

Amino acids	FPC-G	FPC	FAO/WHO	NRC	Tỉ số hóa học FAO/WHO	Tỉ số hóa học NRC
Glycine ^{**}	3,37	2,89				
Alanine	5,13	5,46				
Valine [*]	4,39	4,69	1,3	0,7	3,60	6,70
Leucine [*]	7,42	8,20	1,9	0,82	4,32	10,00
Isoleucine [*]	3,83	4,11	1,3	0,65	3,16	6,32
Methionine [*]	2,58	2,75	1,7	0,3	1,62	9,17
Phenylalanine [*]	3,56	3,87	3,8	0,83	1,02	4,66
Proline ^{**}	3,81	3,82				
Serine	3,77	4,18				
Threonine [*]	3,97	4,11	0,9	0,47	4,57	2,12
Cysteine ^{**}	0,81	0,82				
Tyrosine ^{**}	3,18	3,52	-	-		
Histidine [*]	2,0	2,17	1,6	0,17	1,36	12,76
Arginine ^{**}	5,58	6,30	-	0,7	-	9,00
Glutamic acid ^{**}	16,97	19,16				
Aspartic acid	8,93	10,00				
Lysine [*]	8,32	8,38	1,6	0,69	5,24	12,14

^{*} amino acid thiết yếu; ^{**} amino acid bán thiết yếu (thiết yếu trong một số trường hợp đặc biệt)

¹Các số liệu được thể hiện dưới dạng trung bình của các lần lặp lại ($n=3$), độ lệch chuẩn của tất cả các số liệu đều ở mức $<0,5$ % so với kết quả trung bình của mẫu.

Thành phần amino acid của các mẫu protein concentrate được trình bày ở Bảng 2. Các kết quả cho thấy qui trình thu nhận protein concentrate mà chúng tôi đề xuất không làm thay đổi đáng kể thành phần amino acid so với qui trình của Guttman và Vandenheuve [8]. Căn cứ trên tiêu chuẩn của FAO/WHO và NCR [15], hàm lượng từng amino acid thiết yếu của các mẫu FPC-G và FPC đều bằng hoặc cao hơn. Về mặt tổng số, các amino acid thiết yếu và bán thiết yếu của mẫu FPC lần lượt là 38,28 và 36,51 %, cao hơn nhiều so với hai tiêu chuẩn nói trên. Tỷ số hóa học của FPC-G và FPC cao hơn rất nhiều so với tiêu chuẩn của FAO/WHO và NRC, đặc biệt với các amino acid như valine, leucine, isoleucine, threonine và lysine. Như vậy có thể thấy rằng, FPC từ cá tra có giá trị dinh dưỡng cao cho người và động vật.

Ảnh hưởng của sodium chloride, sucrose, STTP và sorbitol đến độ hòa tan protein (PS) và khả năng giữ nước (WHC) của FPC trong dung dịch

Trong quá trình lưu trữ và chế biến một số sản phẩm có bản chất là gel protein (thí dụ: surimi, xúc xích, cá viên...) một số loại gia vị/phụ gia như sodium chloride, sucrose, sorbitol và STTP được bổ sung để điều chỉnh các tính chất khác nhau của sản phẩm. Bên cạnh đó, một số loại protein (thí dụ: protein đậu nành, whey protein, protein từ cá...) cũng được bổ sung vào sản phẩm thực phẩm để tăng giá trị dinh dưỡng và điều chỉnh một số tính chất của sản phẩm. Để đánh giá chính xác ảnh hưởng của các loại gia vị/phụ gia nói trên đến sản phẩm, cần thiết phải làm rõ ảnh hưởng của chúng đến các tính chất khác nhau của loại protein bổ sung, nhất là giá trị WHC và PS.

Ảnh hưởng của sodium chloride, sucrose, STTP và sorbitol đến độ hòa tan protein (PS) của FPC trong dung dịch (FPS) được trình bày ở Hình 2. Nhìn chung, các mẫu FPS có giá trị PS và WHC tăng nhẹ khi bảo quản ở 4°C và giảm khi bảo quản ở -20°C sau hai ngày bảo quản; tuy nhiên, sự thay đổi này khá thấp ($\leq \pm 0,5\%$). Bảo quản lạnh đông trong hai ngày, ở

nồng độ NaCl thấp ($\leq 7,5\%$) làm PS tăng. Nếu tiếp tục tăng lượng muối, giá trị PS giảm nhanh. Nhìn chung, việc bổ sung NaCl vào dung dịch FPS ít làm thay đổi độ hòa tan protein ($\pm 1\%$). Ở hàm lượng $\leq 5\%$, việc bổ sung sucrose, sorbitol hoặc STTP vào FPS làm giá trị PS tăng rõ rệt theo thứ tự sucrose < sorbitol < STTP. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng hàm lượng STTP độ hòa tan protein giảm dần.

Ảnh hưởng của sodium chloride, sucrose, STTP và sorbitol đến khả năng giữ nước (WHC) của dung dịch FPS được trình bày ở Hình 3. Ở các điều kiện nhiệt độ bảo quản khác nhau, việc bổ sung NaCl, sucrose, sorbitol vào dung dịch FPS hầu như không làm thay đổi nhiều đến giá trị WHC ($\leq \pm 1\%$). Trong khi đó, STTP làm tăng $\sim 2\%$ WHC ở mức bổ sung 5 %, tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng hàm lượng, giá trị WHC giảm dần.

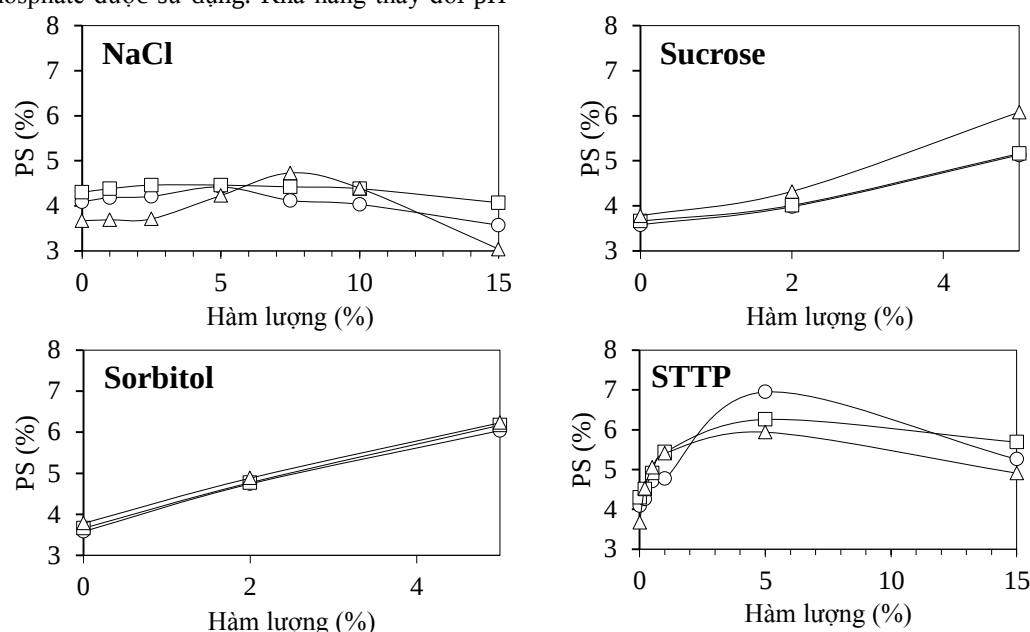
Các nghiên cứu trước đây cho thấy rằng, sự thay đổi độ hòa tan protein (PS) gây ra bởi nhiều tác nhân như sự thay đổi của lực ion, loại ion, pH, nhiệt độ cũng như bản chất của các nhóm kỵ nước/ưa nước trên phân tử protein [16]. Trong nghiên cứu này, với hàm lượng NaCl vẫn còn thấp ($\leq 5\%$) tạo lực ion thấp từ đó dẫn đến sự trung hòa điện tích trên bề mặt phân tử protein từ đó làm tăng nhẹ độ hòa tan protein [16]. Tuy nhiên, nồng độ muối cao làm protein kết tụ và mất nước [17] từ đó dẫn đến giá trị PS giảm. Điều này được thấy rõ ở mẫu được bảo quản -20 °C. Trong quá trình lạnh đông, nước bị kết tinh từng phần dẫn đến làm tăng nồng độ NaCl trong FPS so với lúc bắt đầu lạnh đông. Vì vậy, sự thay đổi giá trị PS cao hơn so với các mẫu còn lại. Ở nồng độ NaCl thấp, các ion âm của muối liên kết với protein, làm cho protein mang điện tích âm nhiều hơn, tạo lực đẩy lẫn nhau nhiều hơn, giảm lực hút tĩnh điện giữa các nhóm điện tích ngược dấu đứng cạnh nhau, từ đó làm tăng khả năng giữ nước (WHC) của protein. Ở nồng độ muối cao, phân tử protein bị biến tính, tháo xoắn và phơi bày các vùng kỵ nước dẫn tới sự kết tụ và mất nước của protein [17]. Trong nghiên cứu của chúng tôi,

hàm lượng NaCl bổ sung thấp dẫn đến giá trị PS và WHC ít bị thay đổi.

Các nghiên cứu trước cũng cho thấy rằng việc bổ sung sucrose và sorbitol vào surimi làm giảm pH của mẫu dẫn đến giảm giá trị WHC sau sáu tháng bảo quản [18]. Kết quả của chúng tôi khác với kết quả của Nopianti (2012) [18], có thể do việc bổ sung sucrose và sorbitol vào FPS không làm thay đổi đáng kể pH cũng như thời gian bảo quản (2 ngày) của chúng tôi ngắn hơn rất nhiều. Ngoài ra STTP thường được bổ sung vào thực phẩm như một chất chống đông (cryoprotectant). Việc bổ sung STTP vào FPS sẽ làm tăng giá trị pH và lực ion [5]. Ngoài ra các ion âm của STTP tương tác với các ion dương hóa trị hai và với các sợi protein trong FPC. Hiệu quả của phosphate đến giá trị WHC và PS của protein cá tùy thuộc vào loại phosphate được sử dụng. Khả năng thay đổi pH

của phosphate được sắp xếp theo thứ tự giảm dần như sau: pyrophosphate, tripolyphosphate, hexametaphosphates. Mức pH rất cao sẽ làm các phân tử protein bị tháo xoắn và tăng giá trị WHC [6]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, việc bổ sung STTP với lượng nhỏ chỉ làm tăng nhẹ giá trị pH dẫn đến tăng nhẹ giá trị WHC.

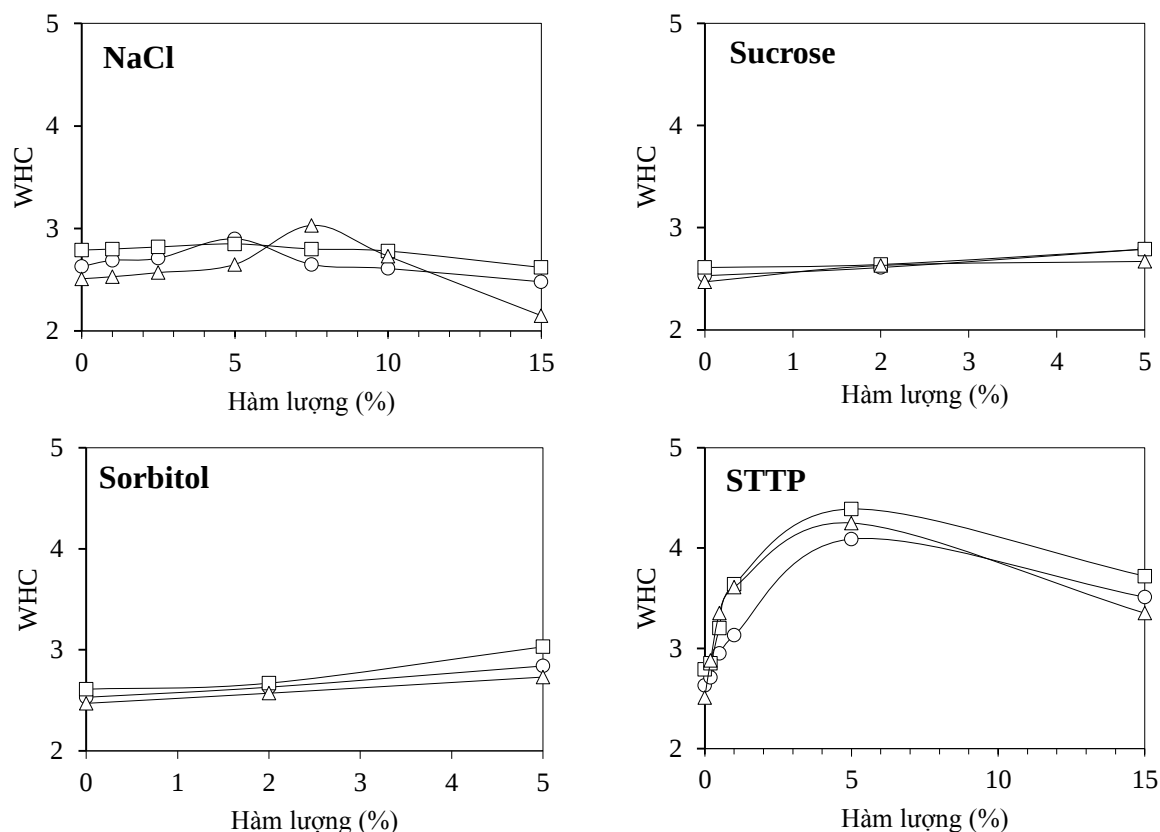
Ngoài ra, quá trình bảo quản lạnh và lạnh đông gây ra một số thay đổi trong cấu trúc sợi protein (myofibrillar proteins) từ đó làm ảnh hưởng đến một số tính chất chức năng như WHC, khả năng nhũ hóa, khả năng tạo gel... [7]. Tuy nhiên, có lẽ do thời gian bảo quản ngắn trong nghiên cứu của chúng tôi, ảnh hưởng của các điều kiện nhiệt độ bảo quản đến giá trị PS và WHC không có qui luật rõ ràng và cũng không gây sự khác biệt lớn giữa các mẫu thí nghiệm.



Hình 2. Ảnh hưởng của hàm lượng¹ (% w/v) NaCl, sodium tripolyphosphate (STTP), sucrose và sorbitol đến độ hòa tan protein (PS) của FPC trong dung dịch FPS

—○— 30°C —□— 4°C —△— -20°C

Các số liệu được thể hiện dưới dạng trung bình của các lần lặp lại (n=3), độ lệch chuẩn của tất cả các số liệu đều ở mức <0,5% so với kết quả trung bình của mẫu.



Hình 3. Ảnh hưởng của hàm lượng (% w/v) NaCl, sodium tripolyphosphate (STTP), sucrose và sorbitol đến độ giữ nước (WHC) của FPC trong dung dịch FPS

—○— 30°C —□— 4°C —△— -20°C

Các số liệu được thể hiện dưới dạng trung bình của các lần lặp lại (n=3), độ lệch chuẩn của tất cả các số liệu đều ở mức < 0,5 % so với kết quả trung bình của mẫu.

KẾT LUẬN

Protein concentrate từ cá tra có các phân đoạn protein <11 và 35 kDa với chất lượng đạt và vượt tiêu chuẩn loại A do FAO đưa ra. Protein concentrate từ cá tra có chất lượng dinh dưỡng rất cao so với tiêu chuẩn của FAO/WHO về protein cho người. Độ hòa tan protein của FPC tùy thuộc vào nồng độ và loại gia vị/phụ gia bổ sung vào theo thứ tự NaCl <

sucrose < sorbitol < STTP. Bên cạnh đó, NaCl, sucrose, và sorbitol hầu như không làm thay đổi độ giữ nước của FPC trong dung dịch, trong khi STTP lại làm tăng đáng kể giá trị này. Chế độ bảo quản (lạnh và lạnh đông) FPS có gây ra một số thay đổi về độ hòa tan protein và độ giữ nước, tuy nhiên sự thay đổi này là không quá lớn.

Production of Fish Protein Concentrate (FPC) from Pangasius Catfish and study on the effect of sodium chloride, sodium tripolyphosphate, sucrose and sorbitol to the protein solubility and water holding capacity of FPC

• **Trinh Khanh Son**

HCMC University of Technology and Education

• **Nguyen Thuy Linh**

• **Le Trung Thien**

• **Le Thi Ngoc Han**

HCMC Nong Lam University

ABSTRACT

Fish Protein Concentrate (FPC) was produced from Pangasius Catfish fillet using isopropanol and ethanol at $pH_7=5.5$. FPC had molecular weights of <11 and 35 kDa. Based on FAO standard, FPC powder was type A. FPC had protein, lipid, ash and moisture contents of 91.8, 0.12, 0.69 and 3.12 % respectively. Contents of essential and conditionally essential amino acids were 38.28 and 36.51 %, respectively, were higher than those of the FAO/WHO standard. This indicated that FPC from Pangasius Catfish had highly nutritional value. The

results showed that the protein solubility of KPC was depend on the concentration and seasonings/additive type following the ascending order: sodium chloride (NaCl) < sucrose < sorbitol < sodium tripolyphosphate (STTP). Besides, NaCl, sucrose and sorbitol mostly did not affect to water holding capacity of FPC whilst STTP increased this property. Chilling and freezing storage caused changes of water holding capacity and protein solubility. However, these changes were not so much.

Keywords: *Pangasius Catfish, water holding capacity, fish protein concentrate, protein solubility, SDS-PAGE*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Z. Khoshkhoo, A. Motalebi, A.A. Khanipour, H. K. Firozjaee, M. Nazemi, M. Mahdabi, Study on changes of protein and lipid of fish protein concentrate (fpc) produced from Kilkas in VP and MAP Packages at Light and Darkness condition During Six Months, *International Journal of Environmental Science and Development*, 1, 101–106 (2010).
- [2]. M.L. Windsore, Torry Research Station, Torry Advisory Note No.39 <http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5917e/x5917e01.htm#Introduction> (2001).
- [3]. H.E. Power, An improved method for the preparation of fish protein concentrate from cod. *Fisheries Research Board of Canada*. 19 (6), 1039–1065 (1962).

-
- [4]. A.B. Morrison, J.A. Campbell, Studies on the nutritional value of defatted fish flour. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 38, 467–473 (1960).
- [5]. A.R. Shaviklo, G.Thorkelsson, S. Arason, Quality Changes of fresh and frozen protein solutions extracted from atlantic cod (*gadus morhua*) trim as affected by salt, cryoprotectants and storage time. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 12: 41–51 (2012).
- [6]. Y. Feng, H.O. Hultin, Effect of pH on the rheological and structural properties of gels of water-washed chicken-breast muscle at physiological ionic strength. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 3927–3935 (2001).
- [7]. L.A. Mignino, M.E. Paredi, Surface hydrophobicity and functional properties of myofibrillar proteins of mantle from frozen-stored squid caught either jigging machine or trawling *Food Science and Technology*. 41, 678–685 (2008).
- [8]. A. Guttmann, F.A. Vandenheuvel, Production of edible fish protein (fish flour) from cod and haddock. *Fisheries Research Board Can. Progr. Repts., Atlantic Coasts Stas.*, 67, 29-31 (1957).
- [9]. L.R. Beuchat, Function and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour proteins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25, 258–261 (1997).
- [10]. V.F. Solubility. In: *Methods of Testing Protein Functionality*. Hall, G.M. (Ed.) London, UK., Blackie Academic & Professional (1996).
- [11]. W.S. Mokrzycki, M. Tatol, Color difference Delta E - A survey. *Machine Graphics and Vision*. 20, 4, 383–411 (2012).
- [12]. H.G. Kristinsson, A.E. Theodore, N. Demir, B.A. Ingadottir, comparative study between acid- and alkali-aided processing and surimi processing for the recovery of proteins from channel catfish muscle. *Journal of Food Science*. 70, C298–C306 (2005).
- [13]. R.J. Block, H.H. Mitchell, The Correlation of the *Amino Acid Composition of Proteins with their Nutritive Value*. *Nutrition Abstract and Reviews*. 16, 249–278 (1946).
- [14]. J. Trudel, A. Asselin, Detection of chitinase activity after polyacrylamide gel electrophoresis. *Analytical Biochemistry*. 178, 362–366 (1989).
- [15]. J. Prabha, A. Narikimelli., M.I. Sajini, S. Vincent, Optimization for autolysis assisted production of fish protein hydrolysate from underutilized fish *Pellona ditchela*. *International Journal of Scientific & Engineering Research*. 4 (12) 1863–1869 (2013).
- [16]. S. Damoradan, Amino acids, peptides and proteins. In: Fenema O.R. *Food Chemistry*, Marcel Dekker. New York (1996).
- [17]. O.R. Fennema, Comparative water holding properties of various muscle foods. A critical review relating to definitions, methods of measurement, governing factors, comparative data and mechanistic matters. *Journal of Muscle Foods*. 1, 363–381 (1990).
- [18]. R. Nopianti, N. Huda, A. Fazilah, N. Ismail, A.M. Easa, Effect of different types of low sweetness sugar on physicochemical properties of threadfin bream surimi (*Nemipterus spp.*) during frozen storage. *International Food Research Journal*, 19, 3, 1011–1021 (2012).
-