

NGHIÊN CỨU THU NHẬN PROTEIN TỪ CÁM GẠO

Nguyễn Thị Mai Phương*, Võ Hoài Bắc, Trần Thị Nhung, Đỗ Hoàng Hiệp

Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, *phuong_nguyen_99@yahoo.com

TÓM TẮT: Protein cám gạo là loại protein thực vật có giá trị dinh dưỡng vượt trội do có khả năng chống ung thư và không gây dị ứng cho người sử dụng. Vì vậy, cám gạo được xem như một protein cao cấp, có thể ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như chăn nuôi, thực phẩm chức năng, thực phẩm dinh dưỡng, mỹ phẩm và y học. Protein này vẫn chưa được thương mại phổ biến trên thị trường, đặc biệt là ở Việt Nam vì các phương pháp tách chiết đang sử dụng hiện nay chưa cho phép thu được sản phẩm có chất lượng cao với giá thành phù hợp. Việt Nam, một trong số nước sản xuất lúa gạo lớn trên thế giới, có nguồn nguyên liệu phụ thải cám gạo dồi dào cho mục đích tách chiết protein. Bài báo này trình bày nghiên cứu về xây dựng quy trình tách chiết protein cám gạo tương đối đơn giản, cho phép thu nhận được protein có hàm lượng tương đối cao. Kết quả nghiên cứu cho thấy α -amylase (Termamyl) ở nồng độ 0,25%, pH 7,0, nhiệt độ 90°C, thời gian thủy phân 20 phút có khả năng loại bỏ hiệu quả tinh bột từ nguyên liệu. Quy trình công nghệ thu nhận protein từ cám gạo xây dựng được gồm 8 bước chính: i) Dịch cám gạo trong nước cất (1:7) được khuấy trong 30 phút; ii) Điều chỉnh dịch cám gạo tới pH 9,0 bằng NaOH 1N và tiếp tục khuấy trong 4 giờ ở nhiệt độ phòng; iii) Điều chỉnh dịch cám gạo về pH 7,0 bằng HCl 1N, bổ sung Termamyl 0,25% ở 90°C và tiến hành thủy phân trong 20 phút; iv) Ly tâm 4000 vòng trong 20 phút để thu dịch trong; v) Tủa protein ở dịch ly tâm bằng HCl 1N tại pH 4,0; vi) Ly tâm thu cặn tủa ở 4000 vòng trong 20 phút; vii) Rửa cặn tủa 2 lần bằng nước khử trùng; viii) Sấy khô mẫu ở 50°C thu protein. Protein thu được từ quy trình này có hàm lượng đạt 41,77% và hiệu suất là 13,41%. Các chỉ số công nghệ của chế phẩm bao gồm độ tạo bột đạt 20%, độ tạo nhũ tương đạt 73,45, đều cao hơn so với protein đối chứng của Trung Quốc.

Từ khóa: Protein cám gạo, thực phẩm bổ sung, xử lý kiềm, thủy phân enzyme.

MỞ ĐẦU

Cám gạo là một sản phẩm phụ của quá trình chế biến gạo, một sản phẩm phụ nông nghiệp rất dồi dào, giá thành rẻ và có giá trị kinh tế thấp. Tỷ lệ các thành phần protein cám gạo là 37% tan trong nước, 31% hòa tan trong muối, 2% hòa tan trong cồn và 27% hòa tan trong chất kiềm [16]. Các nghiên cứu đã chứng minh protein cám gạo là loại protein thực vật có giá trị dinh dưỡng cao và có các ứng dụng đặc biệt trong thực phẩm và dược phẩm [5]. Đặc tính quan trọng nhất của protein cám gạo là không gây dị ứng và có hoạt tính chống ung thư, chống oxy hóa [1, 3, 8, 10, 11]. Vì thế, nó được xem là một protein cao cấp có ứng dụng trong hàng loạt các lĩnh vực như chăn nuôi, thực phẩm chức năng, thực phẩm dinh dưỡng, mỹ phẩm làm đẹp và y học.

Mặc dù đã có rất nhiều nghiên cứu về thu nhận và sử dụng protein cám gạo nhưng đến nay protein này vẫn chưa được thương mại rộng

rãi trên thị trường. Lý do chính là vì phương pháp tách chiết protein chưa được tối ưu nên chất lượng chưa cao và giá thành chưa hợp lý. Việt Nam là nước sản xuất gạo đứng thứ hai trên thế giới (số liệu năm 2014), có nguồn phụ thải nông nghiệp cám gạo dồi dào cho mục đích tách chiết protein. Trong khi đó, vấn đề nghiên cứu thu nhận nguồn protein thực vật này chưa được quan tâm nhiều. Ở Việt Nam, sản phẩm protein cám gạo trên thực tế vẫn đang phải nhập ngoại. Vì vậy, việc xây dựng được một quy trình tách chiết protein cám gạo đạt hiệu quả để thu nhận được sản phẩm có độ tinh sạch cao, an toàn cho người sử dụng với giá thành hợp lý là rất cần thiết.

Nghiên cứu này được thực hiện trên cơ sở đặt hàng của Công ty trách nhiệm hữu hạn Đông Dương nhằm mục đích đưa ra được quy trình thu nhận protein từ cám gạo có hiệu quả, có độ sạch cao ở quy mô phòng thí nghiệm, đặt cơ sở cho việc sản xuất protein cám gạo ở quy mô lớn hơn để làm thực phẩm bổ sung.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Cám gạo được thu mua từ các nhà máy và cơ sở xay xát gạo có uy tín của các tỉnh Hà Tây (nay là Hà Nội), Thái Bình, Nam Định, Hòa Bình, Thanh Hóa.

Enzyme công nghiệp α -amylase (Termamyl) và xylanase (Ultraflo L) được mua từ hãng Novozyme.

Các hóa chất còn lại đều đạt độ tinh khiết dành cho phân tích.

Xác định các chỉ số dinh dưỡng của cám gạo: các chỉ tiêu độ ẩm, hàm lượng đường khử, hàm lượng glucid, lipid tổng số được thực hiện theo phương pháp đã mô tả trong tiêu chuẩn TCVN 4594:1998. Hàm lượng tạp chất thô của cám gạo được xác định bằng cách sàng nguyên liệu qua rây có kích thước lưới $0,1 \times 0,1$ mm. Phần tạp chất thô trên rây được thu lại và cân trọng lượng. Sau đó, tính tỉ lệ tạp chất thô trên tỉ lệ nguyên liệu ban đầu trước khi rây.

Loại dầu cám gạo: Cám gạo đã được loại chất béo bằng n-hexane. Cám gạo được hòa trong dung môi n-hexane theo tỷ lệ 1:3 và khuấy từ với tốc độ 250 vòng trong 30 phút. Bã cám sau đó được thu lại bằng cách lọc và để bay hơi n-hexane qua đêm [12].

Xác định hàm lượng protein tổng số: Hàm lượng protein được xác định bằng phương pháp Kjeldahl theo tiêu chuẩn AOAC, 1990.

Xác định độ tạo bột: Khả năng tạo bột và độ ổn định của bột được xác định bằng phương pháp cải tiến của Kato et al. [9]. Mẫu protein 1g được hòa trong 100 ml nước cất đạt nồng độ 1% và điều chỉnh pH đến các giá trị từ 5,0-8,0 sử dụng NaOH 1M hoặc HCl 1N. Hỗn hợp dịch sau đó được siêu âm trong 5 phút. Khả năng tạo bột được xác định ngay sau 1 phút siêu âm và được tính theo công thức sau: Khả năng tạo bột = (Tổng thể tích - Thể tích ban đầu)/100.

Xác định độ tạo nhũ tương: Mức độ nhũ hóa được đánh giá theo phương pháp của Pearce & Kinsella (1978) [13]. Dung dịch protein 1% trong nước được điều chỉnh pH đến các giá trị từ 5,0-8,0. Sau đó, dầu đậu tương được bổ sung vào và được làm đồng nhất trong 1 phút bằng siêu âm. Dịch siêu âm tại thời điểm 0 phút và 30 phút lần lượt được bổ sung thêm SDS 0,1%, sau

đó trộn đều bằng vortex. Độ hấp thụ của nhũ tương ở bước sóng 500 nm được xác định sử dụng máy quang phổ (DU730 UV/Vis Spectrophotometer, Beckman Coulter, Miami, FL, USA). Độ ổn định của nhũ tương (ESI) được tính như sau:

$$ESI = \frac{A_0 \times T}{\Delta A}$$

Trong đó, A_0 là độ hấp thụ tại 0 phút; ΔA là sự thay đổi hấp thụ tại 0 phút và 30 phút; T là thời gian siêu âm.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Xác định một số chỉ số dinh dưỡng của cám gạo

Để lựa chọn nguồn nguyên liệu thích hợp cho mục đích thu nhận protein, các chỉ tiêu dinh dưỡng chính của các mẫu cám gạo khác nhau đã được kiểm tra bao gồm: tỷ lệ tạp chất, độ ẩm, hàm lượng protein, lipid và glucid.

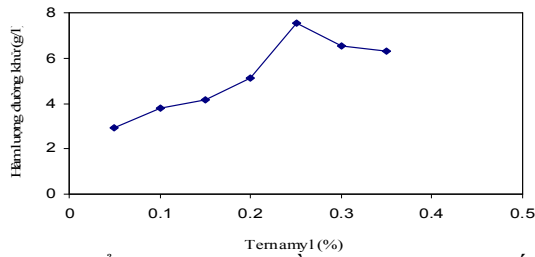
Kết quả thu được ở bảng 1 cho thấy cám từ Hà Tây (nay là Hà Nội) có hàm lượng protein đạt tới 12,7% trong khi tỷ lệ tạp chất và độ ẩm tương đối thấp (16,4% và 10,9%) so với các mẫu nguyên liệu khác. Vì thế, chúng tôi đã chọn cám này là nguồn nguyên liệu cho thu nhận protein từ cám gạo.

Nghiên cứu loại bỏ tinh bột trong cám gạo sử dụng enzyme α -amylase

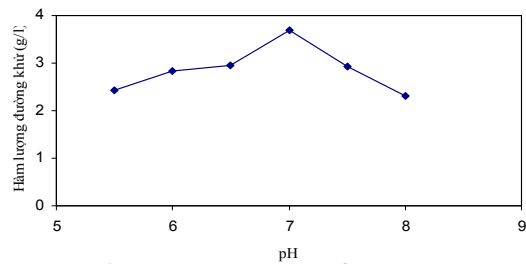
Để nâng cao hiệu quả thu nhận protein cũng như độ sạch chế phẩm thu được, việc loại bỏ một số tạp chất trong nguyên liệu là rất cần thiết. Có thể thấy cám gạo chứa hàm lượng glucid cao và chủ yếu là tinh bột. Với mục đích sử dụng công nghệ enzyme thân thiện với môi trường để sản xuất protein, chúng tôi đã tiến hành loại bỏ tinh bột trong nguyên liệu sử dụng nguồn enzyme α -amylase công nghiệp. Các nghiên cứu trước đây với cám gạo đã chỉ ra rằng Termamyl (α -amylase chịu nhiệt) là enzyme thích hợp nhất cho thủy phân tinh bột trong cám gạo [12], vì thế, Termamyl (Novozyme) đã được lựa chọn trong nghiên cứu này. Để tối ưu hóa điều kiện thủy phân của Termamyl nhằm loại bỏ hiệu quả lượng tinh bột có trong cám gạo, chúng tôi đã tiến hành đánh giá hoạt tính thủy phân của enzyme trong các điều kiện có các thông số pH, nồng độ enzyme, nhiệt độ và thời gian thay đổi.

Bảng 1. Các chỉ tiêu dinh dưỡng của các mẫu cám gạo

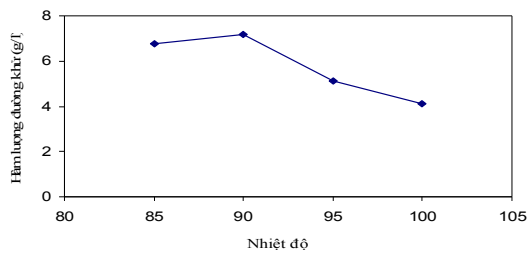
| Mẫu cám | Tỷ lệ tạp chất thô (%) | Độ ẩm (%) | Protein (%) | Lipid (%) | Glucid tổng số (%) |
|---------------|------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------------|
| Hà Tây | 16,40 | 10,9 | 12,7 | 18,4 | 56,1 |
| Nam Định | 20,31 | 11,3 | 12,7 | 14,7 | 50,7 |
| Hòa Bình | 22,15 | 12,0 | 7,2 | 6,4 | 45,9 |
| Thái Bình | 16,10 | 12,8 | 10,9 | 11,0 | 55,7 |
| Thanh Hóa | 20,75 | 12,8 | 10,9 | 11,0 | 55,7 |



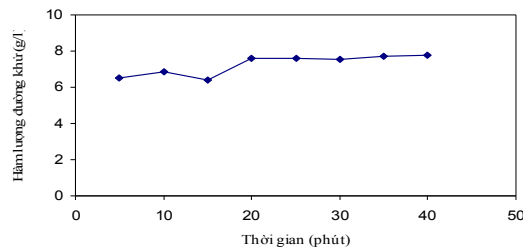
Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ Termamyl đến khả năng thủy phân cám gạo



Hình 2. Ảnh hưởng của pH đến khả năng thủy phân cám gạo của Termamyl



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng thủy phân cám gạo của Termamyl



Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian đến khả năng thủy phân cám gạo của Termamyl

Ảnh hưởng của nồng độ Termamyl đến khả năng thủy phân tinh bột trong cám gạo

Dịch cám gạo trong đệm phosphate natri 100 mM, pH 7,0 (tỷ lệ 1:7) được bổ sung Termamyl với các nồng độ 0,05%; 0,1%; 0,15%; 0,2%; 0,25%; 0,3%; và 0,35%. Sau khi ủ ở 90°C trong thời gian 30 phút, hàm lượng đường khử (sản phẩm thủy phân của α -amylase) được xác định để đánh giá hiệu quả thủy phân. Số liệu trình bày trong hình 1 cho thấy, Termamyl ở nồng độ 0,25% là thích hợp để thu được hàm lượng đường khử cao nhất (đạt 7,552 g/l). Khi tiếp tục tăng hàm lượng Termamyl lên 0,3 và 0,35% thì lượng đường khử bị giảm đi. Đó là do tác dụng ức chế ngược khi lượng enzyme quá cao so với cơ chất.

Ảnh hưởng của pH đến khả năng thủy phân cám gạo của Termamyl

Termamyl 0,1% được bổ sung vào dịch cám thô trong dung dịch đệm phosphate natri 100 mM, theo tỷ lệ 1:7 (w/v) ở các giá trị pH 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 và 8,0. Phản ứng thủy phân được tiến hành ở 90°C trong thời gian 30 phút. Sau khi dừng phản ứng, hàm lượng đường khử (sản phẩm thủy phân của Termamyl) được xác định. Kết quả nghiên cứu ở hình 2 cho thấy, hàm lượng đường khử được tạo ra nhiều nhất khi thủy phân ở giá trị pH 7,0 (đạt 3,69 g/l), chứng tỏ đây là pH thích hợp cho thủy phân cám gạo của Termamyl.

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hoạt tính thủy phân cám gạo của Termamyl

Nhiệt độ có ảnh hưởng rất rõ đến kết quả thủy phân vì nó liên quan đến nhiệt độ tối thích cho hoạt động của enzyme. Dịch cám gạo trong đệm phosphate natri 100 mM, pH 7,0 được bổ

sung Termamyl với nồng độ 0,1% và ủ trong thời gian 30 phút ở các nhiệt độ thay đổi lần lượt là 85; 90 và 100°C. Số liệu về hàm lượng đường khử sau phản ứng được trình bày ở hình 3. Kết quả thu được cho thấy nhiệt độ thủy phân 90°C thích hợp cho hoạt động của enzym này vì hàm lượng đường khử thu được đạt cao nhất (đạt 7,17 g/l). Ở những nhiệt độ cao hơn 90°C, hàm lượng đường khử nhanh chóng bị giảm đi do enzym đã bị mất dần hoạt tính.

Ảnh hưởng của thời gian đến khả năng thủy phân cám gạo của Ternamyl

Dịch cám gạo trong đệm phosphate natri 100 mM, pH 7,0 được bổ sung Ternamyl ở nồng độ 0,1% và tiến hành thủy phân ở nhiệt độ 90°C. Thời gian thủy phân được thay đổi lần lượt là 5; 10; 15; 20; 25 và 30 phút. Hàm lượng đường khử trong dịch thủy phân được xác định ở các thời điểm trên. Kết quả thu được ở hình 4 cho thấy thời gian thủy phân cám gạo thích hợp nhất cho Termamyl là 20 phút. Với thời gian này, hàm lượng đường tổng số thu được đạt 7,5 g/l, cao hơn đáng kể so với thời điểm 15 phút nhưng hầu như không thay đổi ở những thời điểm sau 20 phút.

Như vậy, điều kiện thích hợp nhất cho Ternamyl thủy phân tinh bột trong cám gạo là pH 7,0, nồng độ enzymes 0,25%, nhiệt độ thủy phân 90°C và thời gian thủy phân 20 phút.

Xây dựng quy trình thu nhận protein từ cám gạo

Dựa trên các nghiên cứu về thu nhận protein cám gạo đã công bố trước đây của một số tác giả [4, 6, 7, 14, 15], chúng tôi đã tiến hành thu nhận protein sử dụng các quy trình được cải tiến theo tiêu chí đơn giản và hiệu quả trong điều kiện sản xuất tại Việt Nam. Mục đích cuối cùng là tìm ra được một quy trình phù hợp nhất để thu nhận chế phẩm protein cám gạo có khả năng thương mại. Các quy trình đã thử nghiệm bao gồm:

Quy trình 1 gồm 7 bước: i) Dịch cám gạo trong nước cất (1:7) được thủy phân với Ternamyl 0,25% ở 90°C trong 20 phút; ii) Hạ nhiệt độ dịch thủy phân về 50°C, điều chỉnh pH 9,0 với NaOH 1N kết hợp khuấy trong 4 giờ nhiệt độ phòng; iii) Tiến hành ly tâm thu dịch trong ở 4000 vòng trong 20 phút; iv) Tủa

protein ở dịch ly tâm bằng HCl 1N tại pH 4,0 v) Ly tâm thu tủa protein; vi) rửa tủa protein 2 lần bằng nước; vii) Sấy khô ở 50°C thu protein.

Quy trình 2 gồm 8 bước sau: i) Dịch cám gạo trong nước cất (1:7) được điều chỉnh đến pH 9,0 bằng NaOH 1N và khuấy trong 4 giờ ở nhiệt độ phòng; ii) Ly tâm 4000 vòng trong 20 phút để thu dịch trong; iii) Điều chỉnh dịch ly tâm về pH 7,0 bằng HCl 1N; iv) Bổ sung Ternamyl 0,25% ở điều kiện 90°C và tiến hành thủy phân trong 20 phút; v) Tủa protein bằng HCl 1N tại pH 4,0; vi) Ly tâm 4000 vòng trong 20 phút để thu tủa protein; vii) Rửa tủa protein 2 lần với ethanol 30%; viii) Sấy khô ở 50°C thu protein.

Quy trình 3A và 3B: Nhằm mục đích tăng độ tinh sạch của protein, chúng tôi tiến hành loại bỏ dầu cám gạo trước khi thu nhận protein. Ở quy trình này, chúng tôi đã sử dụng cả 2 mẫu cám chưa tách dầu (cám thô, quy trình 3A) và cám tách dầu (quy trình 3B) để thu nhận protein và so sánh hiệu suất của 2 quy trình này. Quy trình thu nhận protein từ cám tách dầu gồm 9 bước: i) Loại dầu cám gạo; ii) Dịch cám gạo trong nước cất (1:7) được khuấy trong 30 phút; iii) Điều chỉnh dịch cám gạo tới pH 9,0 bằng NaOH 1N và tiếp tục khuấy trong 4 giờ ở nhiệt độ phòng; iv) Điều chỉnh dịch cám gạo về pH 7,0 bằng HCl 1N, bổ sung Termamyl 0,25% ở 90°C và tiến hành thủy phân trong 2 phút; v) Ly tâm 4000 vòng trong 20 phút để thu dịch trong; vi) Tủa protein ở dịch ly tâm bằng HCl 1N tại pH 4,0; vii) Ly tâm thu cặn tủa ở 4000 vòng trong 20 phút; viii) Rửa cặn tủa 2 lần bằng nước; ix) Sấy khô mẫu ở 50°C thu protein.

Quy trình 4 gồm 9 bước sau: i) Dịch cám gạo trong nước cất (1:7) được khuấy trong 30 phút; ii) Điều chỉnh dịch cám gạo về pH 7,0 sau đó bổ sung 0,25% Ternamyl ở 90°C và tiến hành thủy phân trong 2 giờ; iii) Hạ nhiệt độ dịch thủy phân xuống 50°C và bổ sung thêm 0,6% xylanase (Ultraflow L), Novozymes (theo hướng dẫn của nhà sản xuất) để thủy phân trong 20 phút; iv) Điều chỉnh dịch thủy phân tới pH 9,0 bằng NaOH 1N và khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng; v) Ly tâm thu dịch trong ở 4000 vòng trong 20 phút; vi) Tủa protein ở dịch ly tâm bằng HCl 1N tại pH 4,0; vii) Ly tâm 4000 vòng

trong 20 phút thu tua.viii) Rửa cặn tua 2 lần bằng nước; ix) Sấy khô mẫu ở 50°C thu protein.

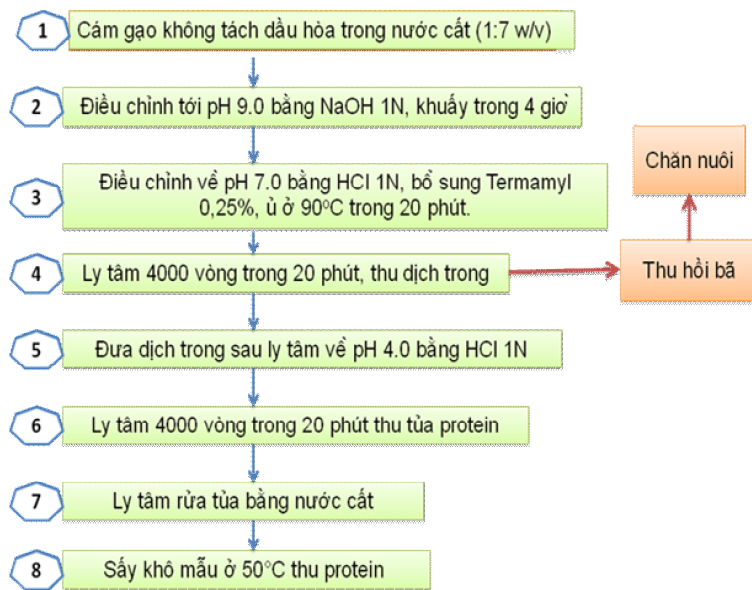
Quy trình 5 gồm 9 bước: i) Dịch cám gạo trong nước cất (1:7) được khuấy trong 30 phút; ii) Điều chỉnh dịch cám gạo tới pH 9,0 bằng NaOH 1N và khuấy trong 2 giờ; iii) Ly tâm dịch cám gạo ở 4000 vòng trong 20 phút để thu dịch trong; iv) Dịch ly tâm được khử trùng ở 121°C trong 30 phút; v) Điều chỉnh dịch khử trùng về pH 7,0 với HCl 1N, bổ sung Ternamyl 0,25% ở 90°C và tiến hành thủy phân trong 20 phút; vi) Tủa protein ở dịch ly tâm bằng HCl 1N tại pH 4,0; vii) Ly tâm ở 4000 vòng trong 20 phút để thu tua protein; viii) Rửa tua protein 2 lần bằng ethanol 30%; ix) Sấy

khô mẫu ở 50°C thu protein.

Quy trình 6 gồm 8 bước: i) Dịch cám gạo trong nước cất (1:7) được khuấy trong 30 phút; ii) Điều chỉnh dịch cám gạo tới pH 9,0 bằng NaOH 1N và khuấy trong 4 giờ ở nhiệt độ phòng; iii) Điều chỉnh dịch cám gạo về pH 7,0, bổ sung Ternamyl 0,25% ở 90°C và tiến hành thủy phân trong 20 phút; iv) Ly tâm dịch thủy phân 4000 vòng trong 20 phút để thu dịch trong; v) Tủa protein ở dịch ly tâm bằng HCl 1N tại pH 4,0; vi) Ly tâm thu tua protein ở 4000 vòng trong 20 phút; vii) Rửa tua protein bằng 2 lần bằng ethanol 30%; viii) Sấy khô mẫu ở 50°C thu protein.

Bảng 2. Hàm lượng và hiệu suất protein từ các quy trình thu nhận protein

| Quy trình | Mẫu cám | Số bước quy trình | Hàm lượng (%) | Hiệu suất (%) |
|-----------|---------------------|-------------------|---------------|---------------|
| 1 | Cám thô | 07 | 26,46 | 12,9 |
| 2 | Cám thô | 08 | 30,60 | 14 |
| 3A | Cám thô | 08 | 41,77 | 13,41 |
| 3B | Cám tách dầu | 09 | 46,77 | 9,20 |
| 4 | Cám thô | 09 | 32,87 | 14,62 |
| 5 | Cám thô | 09 | 40,57 | 10,97 |
| 6 | Cám thô | 08 | 14,60 | 8.20 |



Hình 5. Quy trình thu 3A nhận protein từ cám gạo



Hình 6. Sản phẩm protein thu nhận từ quy trình 3A

Hàm lượng protein của các chế phẩm thu được từ các quy trình là một thông số quan trọng để đánh giá sự thành công của quy trình.

Ngoài ra, để áp dụng quy trình vào sản xuất còn phải chú ý tới thông số hiệu suất thu hồi sản phẩm. Số liệu thu được ở bảng 2 cho thấy, hàm

lượng protein thu nhận được từ quy trình 3B với mẫu cám tách dầu đạt giá trị cao nhất là 46%, gồm 9 bước thực hiện, nhưng chỉ đạt hiệu suất 9,2%. Trong khi đó, quy trình 3A với mẫu cám thô, hàm lượng protein đạt 41,77%, nhưng lại cho hiệu suất cao hơn (13,41%), chỉ sau 8 bước thực hiện. Các quy trình còn lại đều có độ sạch và hiệu suất kém hơn quy trình 3A. Như vậy, quy trình 3A có nhiều ưu thế hơn so với các quy trình đã thử nghiệm. Vì thế, quy trình này có thể sử dụng để thu nhận protein ở quy mô lớn từ cám gạo. Sơ đồ quy trình 3A và mẫu protein đã thu nhận được từ quy trình này được trình bày ở hình 5 và 6.

Đánh giá các chỉ số công nghệ của protein thu nhận được

Sản phẩm protein thu được từ quy trình 3A đã được sử dụng để kiểm tra các chỉ tiêu công nghệ cần thiết bao gồm độ tạo nhũ tương và độ tạo bọt.

Độ tạo bọt

Bảng 3. Khả năng tạo bọt của protein thu nhận từ quy trình 3A

| Mẫu protein | Độ tạo bọt (%) |
|----------------------|----------------|
| Protein quy trình 3A | 20 ± 1,2 |
| Protein Trung quốc | 0 |

Một trong những tính chất đặc trưng của protein là khả năng tạo bọt. Sự hình thành bọt liên quan đến sự khuếch tán của các protein hòa tan đến bề mặt không khí/nước. Các phân tử protein nghèo cấu trúc bậc 2, 3 sẽ tác dụng một cách có hiệu quả như một chất hoạt động bề mặt. Sự hấp thụ của protein lên bọt thực hiện qua các vùng kỵ nước [2, 9, 13].

Để hệ bọt bền, màng tạo thành xung quanh mỗi bọt khí phải dày, có độ dính và đàn hồi. Protein có hoạt tính tạo bọt tốt là protein lòng trắng trứng, globin và hemoglobin, albumin huyết thanh, casein, protein đậu nành và một số chế phẩm của protein thủy phân. Khả năng tạo bọt còn phụ thuộc hàm lượng của protein.

Độ tạo bọt của chế phẩm protein thu được đã được so sánh với mẫu protein cám gạo thương mại của Trung Quốc (Wilmar International Ltd.). Số liệu thu được ở bảng 3 cho thấy mẫu protein cám gạo của Trung Quốc không có khả năng tạo bọt. Trong khi đó, mẫu protein của quy trình 3A có khả năng tạo bọt là 20%.

Độ tạo nhũ tương

Hệ nhũ tương là hệ phân tán giữa hai chất lỏng không hòa tan vào nhau, một chất lỏng ở dạng những giọt nhỏ phân tán, còn chất lỏng kia ở dạng pha phân tán liên tục [2]. Trong phần lớn trường hợp, đường kính của các giọt lỏng phân tán khoảng 0,1-50 μm. Sự tạo thành các giọt nhũ tương xảy ra đồng thời với việc hình thành bề mặt phân chia hai chất lỏng không tan vào nhau (còn gọi là bề mặt liên pha). Diện tích của bề mặt phân chia này tăng theo hàm số mũ khi đường kính các giọt giảm trong cùng một khối lượng pha phân tán và có thể đạt đến 1m²/ml nhũ tương. Khả năng tạo độ nhũ tương của protein quy trình 3A và protein cám gạo của Trung Quốc được trình bày ở bảng 4. Số liệu ở bảng 4 cho thấy protein cám gạo thu nhận từ quy trình 3A có khả năng tạo nhũ tương tốt và ổn định hơn so với protein cám gạo của Trung Quốc. Độ ổn định nhũ tương ESI đạt 73,50 so với 66,60 của Trung Quốc.

Bảng 4. Khả năng tạo nhũ tương của protein thu nhận từ quy trình 3A

| Mẫu | A ₅₀₀ (0 phút) | A ₅₀₀ (30 phút) | ESI |
|----------------------|---------------------------|----------------------------|--------------|
| Protein quy trình 3A | 0,71 ± 0,07 | 0,42 ± 0,27 | 73,50 ± 6,09 |
| Protein Trung Quốc | 0,65 ± 0,03 | 0,355 ± 0,03 | 66,60 ± 4,78 |

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã đưa ra được quy trình thu nhận protein cám gạo mới, phù hợp với điều kiện sản xuất tại Việt Nam, có hàm lượng đạt 41,77% và hiệu suất đạt 13,41%. Protein thu

nhận được có độ tạo bọt đạt 20%, độ ổn định nhũ tương đạt 73,50. Quy trình này cần tiếp tục được cải tiến để có thể thu nhận protein cám gạo có chất lượng và hiệu suất cao hơn ở quy mô sản xuất. Ngoài ra, chất lượng của chế phẩm protein thu được phải được đánh giá đầy đủ về

các chỉ số an toàn thực phẩm để có thể ứng dụng trong sản xuất thực phẩm và thực phẩm chức năng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abediyi A. P., Adebisi A. O., Yamashita J., Ogawa T., Muramoto K., 2009. Purification and characterization of antioxidative peptides derived from rice bran protein hydrolysates. *Eur Food Res Technol.*, 228: 553-563.
2. Bera M. B., Mukherjee R. K., 1989. Solubility, emulsifying, and foaming properties of rice bran protein concentrates. *J Food Sci.*, 54: 142-145.
3. Chandi G. K., Sogi D. S., 2007. Functional properties of rice bran protein concentrates. *J Food Eng.*, 79: 592-597.
4. Fabian C., Ju Y. H., 2011. A review on rice bran protein: its properties and extraction methods. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 51(9): 816-27.
5. Giese J. 1994. Proteins as ingredients: Types, functions, applications. *Food Technol.*, 48: 50-60.
6. Gupta S., Chandi G. K., Sogi D. S., 2008. Effect of extraction temperature on functional properties of rice bran protein concentrates. *Int. J. Food Eng.*, 4: 2-19.
7. Hamada J. S., 1997. Characterization of protein fractions of rice bran to devise effective methods of protein solubilization. *Cereal Chem.*, 74: 662-668.
8. Helm R. M., Burks A. W., 1996. Hypoallergenicity of rice bran protein. *Cereal Foods World.* 41: 839-843.
9. Kato A., Takahashi A., Matsudomi N., Kobayashi K., 1983. Determination of foaming properties of proteins by conductivity measurement. *J Food Sci.*, 48: 62-65.
10. Kawamura Y., Muramoto M., 1993. Antitumorogenic and immunoactive protein and peptide factors in food stuff. 2. Antitumorogenic factors in rice bran. In: *Food and Cancer Prevention Chemical and Biological Aspects*, pp 331-401. Waldron K.W., Johnson I.T., and Fenwick L.R., Eds., The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
11. Matsuda T., Sugiyama M., Nakamura R., Torii S. 1988. Purification and properties of an allergenic protein in rice grain. *Agric Biol Chem.*, 52: 1465-1470.
12. Trần Thị Nhung, Phạm Thị Thu Phương, Nguyễn Thúy Hoàng, Nguyễn Thị Mai Phương, 2013. Nghiên cứu thu nhận xylooligosaccharide (XOS) từ cám gạo bằng công nghệ enzyme. *Tạp chí Sinh học*, 35(1): 67-73.
13. Pearce K. N., Kinsella J. E., 1978. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. *J. Agric. Food Chem.*, 26: 716-723.
14. Tang S., Hettiarachy N. S., Shellhammer T. H., 2002. Protein extraction from heat-stabilized defatted rice bran. I. Physical processing and enzyme treatments. *J Agric Food Chem.*, 50: 7444-7448.
15. Tang S., Hettiarachy N. S., Eswaranandam S., Crandall P., 2003. Protein extraction from heat stabilized defatted rice bran II. The role of amylase, cellulase, and viscozyme. *J. Food Sci.*, 68: 471-475.
16. Wang M., Hettiarachy N. S., Qi M., Burks W., Siebenmorgen T., 1999. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 411-416.

PREPARATION OF PROTEIN ISOLATED FROM RICE BRAN

Nguyen Thi Mai Phuong, Vo Hoai Bac, Tran Thi Nhung, Do Hoang Hiep

Institute of Biotechnology, VAST

SUMMARY

Rice bran protein, a plant protein, has been recognized as nutritionally superior to other proteins due to its reported hypoallergenicity and anti-cancer activity. Therefore, it is considered as a promising protein resource applicable in variety of fields such as functional food, cosmetics, livestock and medicine. However, up to now, commercial rice bran protein is not widely available on the market, especially in Vietnam, because of a lack of extraction methods currently in use. In particular, the available methods can not be used to obtain protein isolates of high quality at affordable commercial price. Vietnam is one of the biggest rice export countries in the world, that makes rice bran an abundant agricultural by-product and thus, a readily sufficient source for protein extraction. This study aimed to establish a simple processing method for extraction of high content of protein isolates from rice bran. The obtained results indicated that rice bran was effectively hydrolysed in 20 minutes with α -amylase (Ternamyl) at concentration of 0.25%, pH 7.0 and 90°C. A procedure of 8 steps for protein extraction was given: i) Suspend rice bran in water and stir for 30 minutes at room temperature; ii) Adjust the suspension to pH 9.0 with NaOH 1N and stir for 4 hours; iii) Adjust the suspension to pH 7.0 with HCl 1N, add 0.25% Ternamyl at 90°C and hydrolyse for 20 minutes; iv) Centrifuge at 4000 rpm for 20 minutes to collect the supernatant; v) Precipitate protein isolates at pH 4.0 by adding HCl 1N; vi) Centrifuge at 4000 rpm for 20 minutes to collect protein isolates; vii) Wash protein isolates twice with water; viii) Dry the isolates at 50°C. The content of protein isolates from this procedure was 41.77% and the yield of processing was 13.41%. The technological indexes including foaming capacity and emulsion activity were 20% and 73.50, respectively, which were higher compared to the same product from China.

Keywords: Alkaline treatment, enzyme hydrolysis, protein extraction, rice bran protein.

Ngày nhận bài: 21-9-2015