

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN THỦY PHÂN PHỤ PHẨM PROTEIN CỦA QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT MALTODEXTRIN TỪ GẠO BẰNG ENZYME PROTEASE THƯƠNG MẠI

*Đỗ Trọng Hưng¹, Chu Hương Giang², Nguyễn Hoàng Phi³
Lương Thị Như Hoa³, Nguyễn Thùy Linh⁴*

Protein gạo là một sản phẩm phụ thu được trong quá trình sản xuất maltodextrin từ gạo bằng phương pháp enzyme thủy phân tinh bột. Sản phẩm protein gạo thủy phân có giá trị dinh dưỡng cao từ thực vật và không gây dị ứng cho người sử dụng. Đã xác định được các điều kiện thủy phân protein gạo bằng enzyme protease thương mại với các thông số kỹ thuật sau: nồng độ cơ chất 15%, kết hợp Alcalase 2.4L và Flavourzyme 500MG với nồng độ enzyme mỗi loại là 0,15%, nhiệt độ thủy phân 55⁰C, thời gian thủy phân 20 giờ, pH 7,0. Hiệu suất thủy phân protein đạt khoảng 75%. Dịch thủy phân sẽ được thu hồi sản phẩm dạng bột chế phẩm protein và có thể ứng dụng làm nguyên liệu sản xuất thực phẩm chức năng bổ sung nguồn đạm thực vật có giá trị dinh dưỡng cao.

Từ khóa: Protein gạo, enzyme thủy phân, Alcalase, Flavourzyme.

I. MỞ ĐẦU

Gạo là một loại lương thực cho trên một nửa dân số thế giới và là một nguồn cung cấp protein quan trọng cho con người. Đây là nguồn protein thực vật không gây dị ứng, có giá trị dinh dưỡng cao và khả năng dễ hấp thụ. Trong những năm gần đây nguồn protein gạo đã trở thành thương mại hóa vì tính chất ứng dụng cao trong thực phẩm và dược phẩm [1]. Các axit amin trong protein gạo có hương vị đặc trưng, không gây dị ứng so với các axit amin có nguồn gốc từ đậu tương, ngũ cốc khác [2; 4; 6]. Đã có nghiên cứu về tỷ lệ hiệu suất tăng trọng của protein được thử nghiệm trên chuột cho thấy đối với protein từ

gạo là 2,18 so với protein thịt bò là 2,3, do vậy protein từ gạo được cho là nguồn axit amin có giá trị [3].

Protein gạo là một sản phẩm phụ thu được trong quá trình sản xuất maltodextrin từ gạo bằng phương pháp enzyme thủy phân tinh bột. Tuy nhiên sản phẩm protein này chưa quan tâm nghiên cứu nâng cao giá trị kinh tế mà vẫn chỉ dùng làm thức ăn gia súc. Các nghiên cứu gần đây cho thấy protein thủy phân có nguồn gốc từ gạo dễ dàng tiêu hóa hơn các dạng protein thực vật khác, số lượng axit amin cao như trong sữa mẹ, chứa đầy đủ các thành phần axit amin, bao gồm cả các axit amin không thay thế [6]. Chỉ số giá trị sinh học của pro-

¹TS-Viện Công nghiệp Thực phẩm

Email: hungdt@fri.vn

²KS-Công ty CP Thực phẩm Minh Dương

³ThS.-Viện Công nghiệp Thực phẩm

⁴KS.-Viện Công nghiệp Thực phẩm

Ngày gửi bài: 1/9/2020

Ngày phản biện đánh giá: 1/10/2020

Ngày đăng bài: 20/11/2020

tein gạo cao nhất, tương đương với protein của sữa [5; 7].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi xác định các yếu tố thích hợp trong quá trình thủy phân protein gạo bằng enzyme protease thương mại với mục đích tạo chế phẩm bột protein thủy phân từ gạo có giá trị dinh dưỡng cao và dễ hấp thụ khi ứng dụng trong chế biến thực phẩm.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

- Chế phẩm protein thô là sản phẩm phụ thu được từ quá trình sản xuất maltodextrin từ gạo trên dây chuyền thiết bị sản xuất của Công ty CP Thực phẩm Minh Dương. Chế phẩm protein thô được sấy khô có hàm lượng protein tổng số 77,5%.

- Enzyme protease: Alcalase 2.4L (Novozyme) có nguồn gốc từ *Bacillus licheniformis*, nhiệt độ thích hợp 50-60°C, pH 6,5-8,5. Flavourzyme 500MG (Novozyme) có nguồn gốc từ *Aspergillus oryzae*, nhiệt độ thích hợp 50-55°C, pH 5,0-7,0. Neutrase 0.8L (Novozyme) có nguồn gốc từ *Bacillus amyloliquefaciens*, nhiệt độ thích hợp 45-55°C, pH 5,5-7,5.

- Hóa chất: H₂SO₄, CuSO₄, K₂SO₄, NaOH, HCl, xanh metylen, phenolphthalein,... được mua từ hãng hóa chất Merck (Đức).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Nồng độ chất khô hòa tan được xác định bằng chiết quang kế Atago (Nhật Bản), đơn vị biểu thị là °Bx (Brix) tương ứng tỷ lệ % khối lượng các chất hoà tan so với khối lượng dung dịch.

- Xác định hàm lượng protein tổng số theo bằng phương pháp Kjeldahl.

- Xác định hàm lượng protein hòa tan: Dịch protein thủy phân được lọc trong loại bỏ phần không tan. Định lượng protein hòa tan trong mẫu theo phương pháp Kjeldahl.

- Hiệu suất thủy phân protein được tính theo công thức biểu thị bằng tỷ số giữa hàm lượng protein hòa tan và hàm lượng protein tổng số ban đầu đưa vào. Cụ thể:

$$H(\%) = \frac{P_{ht}}{P_{ts}} \times 100$$

Trong đó: H: Hiệu suất thủy phân (%)

P_{ht}: Protein hòa tan (%)

P_{ts}: Protein tổng (%)

- Kết quả thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp lại và lấy kết quả trung bình.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu lựa chọn enzyme thích hợp cho quá trình thủy phân protein gạo

Lựa chọn enzyme protease thương mại thích hợp cho quá trình thủy phân protein thô là rất quan trọng, nó quyết định đến hiệu suất và chất lượng sản phẩm. Trong phần nghiên cứu này chúng tôi tiến hành thử nghiệm thủy phân protein thô với ba loại enzyme là Alcalase 2.4L, Flavourzyme 500MG, Neutrase 0.8L của hãng Novozyme. Điều kiện thí nghiệm: nồng độ mỗi loại enzyme là 0,2%, mẫu đối chứng không có enzyme, nồng độ cơ chất 10%, pH 7,0, nhiệt độ thủy phân 50°C, thời gian thủy phân 24 giờ. Kết thúc thí nghiệm được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của mỗi loại enzyme trong quá trình thủy phân protein gạo

Mẫu	Nồng độ chất khô hòa tan (°Bx)	Protein hoà tan trong mẫu (%)	Hiệu suất thủy phân (%)
Đ/C	0,3	0,15	1,94
N	4,1	3,8	48,9
A	5,2	4,69	60,5
F	5,3	4,71	60,8

(Chú thích: N = Neutralse 0.8L; A = Alcalase 2.4L; F = Flavourzyme 500MG)

Qua bảng 1 cho thấy, hai loại enzyme Alcalase 2.4L và Flavourzyme 500MG có hiệu suất thủy phân cao gần tương đương nhau. Còn Neutralse 0.8L có khả năng thủy phân protein kém hơn so với hai enzyme này.

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của sự kết hợp các loại enzyme trong quá trình thủy phân protein gạo.

Kết hợp các loại enzyme với nhau trong quá trình thủy phân protein gạo thô nhằm nâng cao hiệu suất thủy

phân. Điều kiện thí nghiệm: các enzyme kết hợp có cùng nồng độ 0,1%, nồng độ cơ chất 10%, pH 7,0, nhiệt độ thủy phân 50°C, thời gian thủy phân 24 giờ. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của sự kết hợp các loại enzyme trong quá trình thủy phân protein gạo

Mẫu	Nồng độ chất khô (°Bx)	Protein hoà tan trong mẫu (%)	Hiệu suất thủy phân (%)
A + N	5,5	4,85	62,6
A + F	6,5	5,28	68,1
N + F	5,7	4,95	63,9
N + A + F	6,6	5,31	68,5

(Chú thích: N = Neutralse 0.8L; A = Alcalase 2.4L; F = Flavourzyme 500MG)

Qua bảng 2 cho thấy, khi kết hợp hai loại enzyme (A) + (F) trong thủy phân protein gạo cho hiệu suất thủy phân cao gần tương đương với khi kết hợp 3 loại enzyme và cao hơn nhiều khi

dùng từng loại enzyme riêng lẻ. Do vậy kết hợp hai loại enzyme Alcalase và Flavourzyme được chọn trong thủy phân protein gạo thô trong sản xuất bột protein

3.3. Nghiên cứu xác định nồng độ enzyme thích hợp cho quá trình thủy phân protein

Thí nghiệm xác định nồng độ enzyme thích hợp trong quá trình thủy phân protein gạo thô được tiến hành như sau: nồng độ cơ chất 10%, pH thủy phân 7,0;

Nhiệt độ thủy phân 50°C, thời gian thủy phân 24 giờ. Kết thúc thí nghiệm, lọc thu dịch thủy phân rồi tiến hành phân tích nồng độ chất tan, hàm lượng protein tổng số và hòa tan, hiệu suất thủy phân. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme trong quá trình thủy phân protein

TT	Nồng độ enzyme (%)		Nồng độ chất khô (°Bx)	Protein hoà tan trong mẫu (%)	Hiệu suất thủy phân protein (%)
	F	A			
1	0,1	0,1	6,5	5,17	66,7
2	0,1	0,15	6,6	5,32	68,6
3	0,1	0,2	6,6	5,34	68,9
4	0,1	0,25	6,7	5,38	69,4
5	0,1	0,3	6,7	5,38	69,4
6	0,15	0,15	6,9	5,48	70,7
7	0,2	0,15	6,9	5,48	70,7
8	0,25	0,15	6,9	5,50	71,0
9	0,3	0,15	7,0	5,51	71,1

(Chú thích: N = Neutrase 0.8L; A = Alcalase 2.4L; F = Flavourzyme 500MG)

Qua bảng 3 cho thấy với nồng độ enzyme (F) và (A) là 0,15% so với cơ chất cho hiệu suất thủy phân cao nhất (70,7%), nếu tăng nồng độ enzyme thì hiệu suất thủy phân tăng không đáng kể. Do vậy ta chọn nồng độ enzyme (F) và (A) là 0,15 % là thích hợp nhất và phù hợp về mặt kinh tế.

3.4. Ảnh hưởng của nồng độ cơ chất trong quá trình thủy phân protein gạo

Nồng độ cơ chất là yếu tố có ảnh hưởng rất lớn đến hoạt động của enzyme, nếu nồng độ cơ chất thấp, enzyme dễ dàng tiếp xúc và xúc tác thủy phân liên kết peptit (-CO-NH-) trong

phân tử protein và các cơ chất tương tự, nhưng nếu hàm lượng cơ chất quá cao, sẽ ngăn cản enzyme tiếp xúc với cơ chất, do đó làm giảm tốc độ phản ứng thủy phân của enzyme. Thí nghiệm thủy phân protein được thực hiện ở các nồng độ cơ chất khác nhau trong điều kiện sau: Nồng độ enzyme Alcalase 2.4L, Flavourzyme 500MG là 0,15%, pH thủy phân 7,0, nhiệt độ thủy phân 50°C, thời gian thủy phân 24 giờ. Sau thí nghiệm, lọc lấy dịch thủy phân, tiến hành phân tích nồng độ chất tan, hàm lượng protein tổng và hòa tan, hiệu suất thủy phân. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ cơ chất trong quá trình thủy phân protein gạo

TT	Nồng độ cơ chất (%)	Nồng độ chất khô (°Bx)	Protein hoà tan trong mẫu (%)	Hiệu suất thủy phân protein (%)
1	5	3,2	2,64	68,1
2	10	6,8	5,46	70,4
3	15	10,5	8,24	70,9
4	20	12,9	10,2	65,8

Qua bảng 4 cho thấy nồng độ cơ chất có ảnh hưởng lớn đến quá trình thủy phân protein của enzyme, với nồng độ cơ chất thấp quá hoặc cao quá đều ảnh hưởng đến hiệu suất thủy phân. Do vậy nồng độ cơ chất protein thô thích hợp được chọn cho quá trình thủy phân là 15%.

3.5. Ảnh hưởng của pH trong quá trình thủy phân protein từ gạo

pH có ảnh hưởng lớn tới khả năng thủy phân của enzyme. Mỗi loại enzyme đều có pH hoạt động thích hợp.

Hai loại enzyme Alcalase, Flavourzyme đều hoạt động trong dải pH gần nhau nên chúng tôi tiến hành thí nghiệm trong cùng điều kiện. Điều kiện thí nghiệm như sau: Nồng độ cơ chất 15%, nồng độ mỗi loại enzyme Alcalase, Flavourzyme là 0,15%, nhiệt độ thủy phân 50°C, thời gian thủy phân 24 giờ. Kết thúc thí nghiệm, lọc thu dịch thủy phân, tiến hành phân tích nồng độ chất tan, hàm lượng protein hòa tan và tính toán hiệu suất thủy phân. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của pH đến quá trình thủy phân protein.

TT	Nồng độ enzyme (%)		Nồng độ chất khô (°Bx)	Protein hoà tan trong mẫu (%)	Hiệu suất thủy phân protein (%)
	F	A			
1	0,1	0,1	6,5	5,17	66,7
2	0,1	0,15	6,6	5,32	68,6
3	0,1	0,2	6,6	5,34	68,9
4	0,1	0,25	6,7	5,38	69,4
5	0,1	0,3	6,7	5,38	69,4
6	0,15	0,15	6,9	5,48	70,7
7	0,2	0,15	6,9	5,48	70,7
8	0,25	0,15	6,9	5,50	71,0
9	0,3	0,15	7,0	5,51	71,1

Qua bảng 5 cho thấy, pH 6- 6,5 có hiệu suất thủy phân kém hơn, ở pH 7 cho hiệu suất thủy phân cao nhất, còn ở pH 7,5- 8 thì hiệu suất thủy phân đã bắt đầu giảm. Vì vậy để sản xuất bột protein thì pH thích hợp nhất cho quá trình thủy phân protein thô từ gạo là pH 7.

3.6. Nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình thủy phân protein

Nhiệt độ cũng là một yếu tố ảnh hưởng đến hoạt tính enzyme trong quá trình thủy phân protein. Mỗi enzyme có một nhiệt

độ hoạt động tối ưu khác nhau. Vì vậy để tăng hiệu quả trong thủy phân cần xác định nhiệt độ thích hợp cho enzyme thủy phân. Điều kiện thí nghiệm: Nồng độ cơ chất 15%, nồng độ mỗi loại enzyme Alcalase, Flavourzyme là 0,15%; pH thủy phân: 7,0; thời gian thủy phân 24 giờ. Nhiệt độ thủy phân protein thay đổi để đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng thủy phân của enzyme. Kết thúc thí nghiệm, lọc thu dịch thủy phân, tiến hành phân tích nồng độ chất tan, hàm lượng protein hòa tan và tính toán hiệu suất thủy phân. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới quá trình thủy phân protein từ gạo

TT	Nhiệt độ thủy phân (°C)	Nồng độ chất khô (°Bx)	Protein hòa tan trong mẫu (%)	Hiệu suất thủy phân protein (%)
1	45	7,4	6,54	56,3
2	50	10,6	8,26	71,1
3	55	11,4	8,74	75,2
4	60	9,8	8,13	69,9

Qua bảng 6 cho thấy nhiệt độ có ảnh hưởng lớn đến quá trình thủy phân protein gạo bằng enzyme, với nhiệt độ thủy phân thấp hoặc cao đều ảnh hưởng đến hiệu suất thủy phân. Do vậy nhiệt độ thích hợp nhất để enzyme thủy phân protein thô từ gạo được chọn cho quá trình sản xuất bột protein là 55°C.

3.7. Nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của thời gian trong quá trình thủy phân protein

Trong quá trình thủy phân, nếu thời gian thủy phân protein quá dài hoặc quá ngắn đều ảnh hưởng đến chất

lượng và giá thành sản phẩm. Điều kiện thí nghiệm: Nồng độ cơ chất 5%, nồng độ mỗi loại enzyme Alcalase, Flavourzyme là 0,15%; pH thủy phân: 7,0; nhiệt độ thủy phân: 55°C. Kết quả ghi trong bảng 7

Bảng 7. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân protein từ gạo

TT	Thời gian thủy phân (giờ)	Nồng độ chất khô hòa tan (°Bx)	Protein hòa tan trong mẫu (%)	Hiệu suất thủy phân protein (%)
1	10	9,1	6,54	67,8
2	15	10,5	8,32	71,6
3	20	11,4	8,73	75,1
4	25	11,5	8,74	75,2

Qua bảng 7 cho thấy, với thời gian 10-15 giờ quá trình thủy phân chưa triệt để, hiệu suất thủy phân chưa đạt cao nhất. Còn với thời gian thủy phân 20-25 giờ, hiệu suất thủy phân gần tương đương và cao nhất. Do vậy ta chọn thời gian thủy phân protein gạo 20 giờ là thích hợp nhất.

Dịch protein gạo thủy phân sẽ được nghiên cứu tiếp quá trình làm sạch và thu hồi sản phẩm dạng bột chế phẩm giàu protein nhằm ứng dụng làm nguyên liệu trong sản xuất thực phẩm chức năng bổ sung nguồn đạm thực vật có giá trị dinh dưỡng cao và dễ hấp thụ.

IV. KẾT LUẬN

Qua quá trình nghiên cứu đã xác định được các điều kiện thủy phân protein gạo thô trong quá trình sản xuất chế phẩm protein từ gạo với các thông số kỹ thuật như sau: nồng độ cơ chất 15%, kết hợp Alcalase 2.4L và Flavourzyme với nồng độ enzyme mỗi loại là 0,15%, nhiệt độ thủy phân 55⁰C, thời gian thủy phân 20 giờ, pH 7,0. Hiệu suất thủy phân protein đạt khoảng 75%. Dịch thủy phân sẽ được thu hồi sản phẩm dạng bột chế phẩm protein và có thể ứng dụng làm nguyên liệu sản xuất thực phẩm chức năng bổ sung nguồn đạm thực vật có giá trị dinh dưỡng cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Amagliani L., O'Regan J., Kelly A.L., O'Mahony J.A., (2017). *Composition and protein profile analysis of rice protein ingredients*. Journal of Food Com-

position and Analysis, 59, pp.18-26.

2. Day L. (2013). *Proteins from land plants-potential resources for human nutrition and food security*. Trends Food Sci. Technol., 32, pp.25-42.

3. Euber et. al. (1991). *Method for making soluble rice protein concentrate and the product produced there from*. United State Patent 4,990,334

4. Hamada J.S. (2000). *Characterization and functional properties of rice bran proteins modified by commercial exo-proteases and endoproteases*. J. Food Sci., 65, pp.305-310.

5. Helm R.M., Burks A.W. (1996). *Hypoallergenicity of rice protein*. Cereal Foods World, 41, pp.839-843

6. Kalman D. (2014). *Amino Acid Composition of an Organic Brown Rice Protein Concentrate and Isolate Compared to Soy and Whey Concentrates and Isolates*. Foods, 3, pp.394-402.

7. Liu Q., Kong B., Xiong Y., Xia X. (2010). *Antioxidant activity and functional properties of porcine plasma protein hydrolysate as influenced by the degree of hydrolysis*. Food Chem., 118, pp.403-410.

Summary**RESEARCH ON CONDITIONS FOR THE HYDROLYSIS OF PROTEIN BYPRODUCT FROM MALTODEXTRIN PRODUCTION FROM RICE BY COMMERCIAL PROTEASE ENZYME**

Rice protein is a byproduct obtained from maltodextrin production from rice starch by enzyme hydrolysis method. Hydrolyzed rice protein products have high nutritional value from plants and are hypoallergenic for users. The optimal conditions for rice protein hydrolysis by commercial protease enzyme were determined with the following conditions: substrate concentration of 15%, in combination of Alcalase 2.4L and Flavourzyme 500MG with an enzyme concentration of 0.15% each, hydrolysis temperature of 55⁰C, hydrolysis time of 20 hours, pH at 7.0. Protein hydrolysis efficiency is about 75%. The hydrolyzate rice protein will be recovered as a powder protein product and can be used as a material for functional food production to supplement plant protein resources of high nutritional value.

Keywords: *Rice protein, enzyme hydrolysis, Alcalase, Flavourzyme.*