

TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH THU HỒI PROTEIN TỪ DỊCH ÉP ĐẦU TÔM BẰNG PHƯƠNG PHÁP NHIỆT KẾT HỢP VỚI CHITOSAN VÀ CaCl_2

ThS. Nguyễn Trọng Trung
Phòng Đào tạo

TÓM TẮT

Tối ưu hóa quá trình thu hồi protein từ dịch ép đầu tôm được trình bày. Kết quả cho thấy với điều kiện nhiệt độ 80°C trong thời gian 20 phút, nồng độ chitosan 100 ppm và nồng độ CaCl_2 là 50 ppm thì hiệu suất thu hồi protein đạt 87%.

Từ khóa: Protein, dịch ép đầu tôm, chitosan, CaCl_2 .

SUMMARY

Optimizing protein recovery process from shrimp head juice is presented. The results showed that the temperature 80°C for 20 minutes, chitosan concentration is 100 ppm and concentrations of CaCl_2 is 50 ppm, the protein recovery yield reached 87%.

Keywords: Protein, shrimp head juice, chitosan, CaCl_2 .

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, quy trình sản xuất chitin tại các cơ sở sản xuất chitin thường chỉ mới tập trung thu nhận sản phẩm chitin mà chưa tận thu được các thành phần quan trọng trong phế liệu của tôm như protein và astaxanthin. Một trong những nguyên nhân là do chúng ta chưa có biện pháp hợp lý để tận thu các phụ phẩm hữu cơ, chủ yếu là protein mà thường thải các thành phần này ra môi trường hoặc chưa xử lý đúng yêu cầu nên gây ô nhiễm môi trường. Với sự phát triển mạnh của ngành chế biến tôm xuất khẩu đã tạo ra lượng phế liệu tôm ước tính trên 100.000 tấn/năm [Trung và cộng sự, 2010].

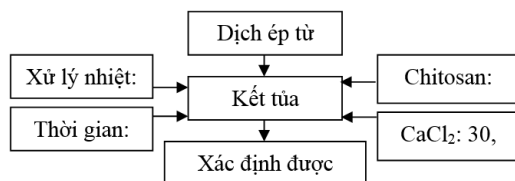
Trong dịch ép đầu tôm có chứa một lượng protein hòa tan có giá trị dinh dưỡng rất cao. Vì vậy, việc thu hồi protein trong dịch ép đầu tôm là yêu cầu thiết yếu, vừa để giải quyết vấn đề ô nhiễm môi trường, lại giúp tăng hiệu quả sử dụng nguồn lợi protein. Hiện nay, để thu hồi protein thì có một số phương pháp thông dụng như phương pháp đẳng điện (điều chỉnh pH bằng acid, kiềm) hoặc xử lý nhiệt để kết tủa protein. Ngoài ra, để tăng cường hiệu quả, rút ngắn thời gian xử lý trong quá trình thu hồi protein, một số chất keo tụ, tạo bông thường được sử dụng như các muối vô cơ (NaCl , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, FeCl_3), các polyme như alginate, chitosan, polyme tổng hợp [Marti và cộng sự, 1994; Trang Sĩ Trung và cộng sự, 2008]. Đặc biệt chitosan, một polyme sinh học được chiết rút chủ yếu từ phế liệu thủy sản, có tính keo tụ và tạo bông rất tốt, không độc và đã được ứng dụng nhiều trong thu hồi protein [Zeng và cộng sự, 2008; Mã Huy, 2009]. Trong nghiên cứu này, tối ưu hóa quá trình thu hồi protein từ dịch ép đầu tôm được trình bày.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Dịch ép đầu tôm thu được từ quá trình ép phế liệu đầu tôm bằng máy ép thủ công tại Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang trong quá trình sản xuất chitin. Các hoá chất sử dụng đều ở dạng phân tích.

2.2. Phương pháp nghiên cứu



Hình 1. Sơ đồ nghiên cứu quy trình thu hồi protein từ dịch ép đầu tôm

- Để xác định được chế độ tối ưu trong thu hồi protein từ dịch ép đầu tôm, đầu tiên tác giả sử dụng phương pháp thăm dò cổ điển tiến hành xác định các yếu tố nhiệt độ, thời gian, nồng độ chitosan và nồng độ CaCl₂ thích hợp. Sau đó tác giả tiến hành xác định tối ưu hóa các yếu tố trên bằng phần mềm Design – Expert 8.0.7 Trial.

- Hiệu suất thu hồi protein được xác định theo công thức:

$$HS = ((C_0 - C_a)/C_0) * 100\%$$

HS: Hiệu suất thu hồi protein

C₀: Hàm lượng protein có trong dịch ép đầu tôm lúc đầu.

C_a: Hàm lượng protein có trong dịch ép đầu tôm sau xử lý.

- Kết quả thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Excel, Design – Expert 8.0.7 Trial. Giá trị P < 0,05 được xem là có ý nghĩa về mặt thống kê. Kết quả trình bày là trung bình cộng của 3 lần thực hiện.

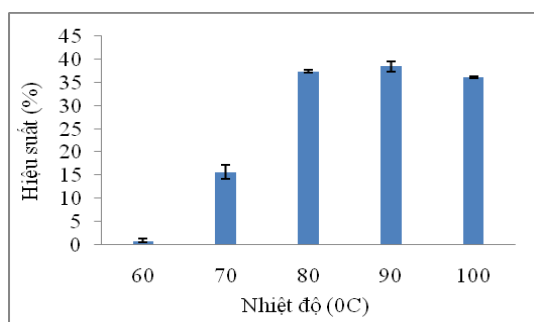
- Chitosan được sản xuất tại trường đại học Nha trang, độ deacetyl 87%, độ nhớt 520 cPs, độ tan 99,8 % trong dung dịch axit acetic 1%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất thu hồi protein

Dịch đầu tôm được xử lý nhiệt ở các mức khác nhau 60, 70, 80, 90, 100°C và được giữ trong thời gian 15 phút để xác định sơ bộ khoảng nhiệt độ thích hợp kết tủa protein. Kết quả được trình bày ở Hình 2.

Kết quả cho thấy ở nhiệt độ 80°C và 90°C hiệu suất thu hồi protein lần lượt là 37,4% và 38% với thời gian kết tủa protein 17 phút. Ở 100°C hiệu suất thu hồi protein đạt 36% với thời gian kết tủa protein 15 phút. Trong khi đó ở nhiệt độ 60°C hiệu suất thu hồi protein là thấp nhất chỉ đạt 0,9%. Hiệu suất thu hồi protein ở nhiệt độ 80°C và 90°C chênh lệch không nhiều chỉ 0,6% trong khi đó khi tăng nhiệt độ thì chi phí sẽ tăng. Khi nhiệt độ tăng, chuyển động nội tại của các phân tử protein tăng làm phá vỡ các liên kết hydrogen giữa các phân tử protein, do đó khả năng hấp thụ nước của các phân tử protein giảm. Ngoài ra khi đun nóng còn gây biến tính, kết tủa, keo tụ protein [Trung và cộng sự, 2009]. Ngoài ra xử lý nhiệt cần phải được tiến hành ở nhiệt độ phù hợp, tránh ảnh hưởng xấu đến protein. Như vậy, nhiệt độ ở 80°C là thích hợp nhất.

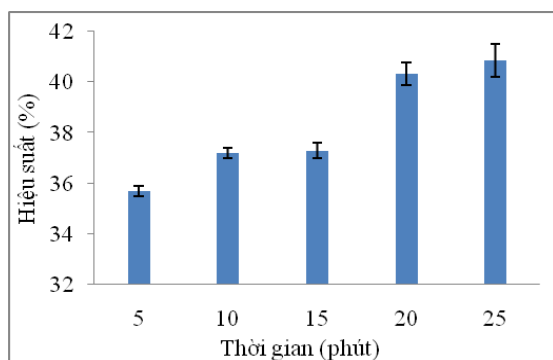


Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất thu hồi protein

3.2. Ảnh hưởng của thời gian gia nhiệt đến hiệu suất thu hồi protein

Dịch đầu tôm được nâng nhiệt lên 80°C và được gia nhiệt ở các khoảng thời gian 5, 10, 15, 20, 25 phút. Kết quả được trình bày trong Hình 3.

Kết quả cho thấy tại các thời gian gia nhiệt 5, 10 và 15 phút hiệu suất thu hồi protein thấp, đạt dưới 40 %. Ở thời gian gia nhiệt 20 và 25 phút hiệu suất thu hồi protein tăng và lần lượt là 40,3 % 40,8 %. Kết quả này cho thấy hiệu suất thu hồi protein ở thời gian gia nhiệt 20 và 25 phút chênh lệch không nhiều, chỉ 0,5 %, trong khi đó khi tăng thời gian giữ nhiệt thì chi phí năng lượng tăng lên rất cao.



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian đun đến hiệu suất thu hồi protein

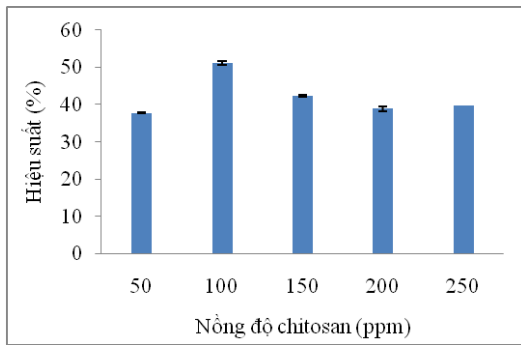
Vì vậy xét về tính kinh tế thời gian giữ nhiệt 20 phút là thích hợp. Việc kết tủa protein bằng xử lý nhiệt đạt hiệu quả cao vì khi đun nóng sẽ làm phá vỡ vỏ điện tích và làm giảm khả năng hydrat hóa của phân tử protein. Khi nhiệt độ tăng, chuyển động nội tại của các phân tử protein tăng làm phá vỡ các liên kết hydrogen giữa các phân tử protein, do đó khả năng hấp thụ nước của các phân tử protein bị giảm [Trung và cộng sự, 2009].

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ chitosan đến hiệu suất thu hồi của protein

Dịch đầu tôm được nâng nhiệt lên 80°C, trong thời gian 20 phút và được bổ sung chitosan với các nồng độ 50, 100, 150, 200, 250 ppm. Kết quả được trình bày ở Hình 4.

Kết quả cho thấy ở nồng độ chitosan 50 ppm hiệu suất thu hồi protein rất thấp chỉ dưới 40%. Ở nồng độ chitosan 100 ppm, hiệu suất thu hồi protein đạt 52%, khi nồng độ chitosan tăng từ 150 ppm đến 250 ppm hiệu suất thu hồi protein giảm dần. Như vậy với dịch ép đầu tôm được xử lý nhiệt ở 80°C, trong thời gian 20 phút thì nồng độ chitosan bổ sung thích hợp là 100 ppm. Chitosan đã được chứng minh có hiệu quả trong việc thu hồi protein từ nước rửa surimi [Trung và cộng sự, 2008]. Chitosan có khả năng kết tủa, tạo phức với protein vì chitosan trong dung dịch ở môi trường pH thấp sẽ có các nhóm amino tích điện dương nên sẽ tương tác với các nhóm chức tích điện âm của protein làm cho protein kết tủa. Ngoài ra, chitosan có khả năng đóng vai trò là các cầu nối giữa các phân tử protein do khả năng tạo ái lực tĩnh (static attraction) và hấp phụ (adsorption) [Trung và cộng sự, 2009]. Vì vậy, chitosan làm cho các phân tử protein kết lại, tạo thành hạt lớn và lắng xuống [Zeng và cộng sự, 2008]. Tuy nhiên, khả năng tạo bông phụ thuộc nhiều vào trọng lượng phân tử của protein. Vì vậy, hiệu quả thu hồi protein phụ thuộc nhiều

vào chất lượng protein trong dung dịch nên cần thu hồi protein trong dịch đầu tôm trong khoảng thời gian ngắn nhất.

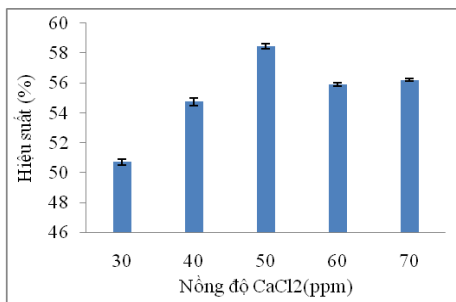


Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ chitosan đến hiệu suất thu hồi protein

3.4. Ảnh hưởng của nồng độ CaCl₂ đến hiệu suất thu hồi của protein

Dịch đầu tôm được nâng nhiệt lên 80⁰C, trong thời gian 20 phút và được bổ sung CaCl₂ với các nồng độ 30, 40, 50, 60, 70 ppm. Kết quả được trình bày ở Hình 5.

Ở nồng độ CaCl₂ 30, 40 ppm hiệu suất thu hồi nhỏ hơn 55 %. Ở nồng độ CaCl₂ 50 ppm hiệu suất thu hồi protein đạt 58,5%. Khi tăng nồng độ CaCl₂ lên 60 ppm và 70 ppm thì hiệu suất thu hồi protein giảm dần. CaCl₂ là muối của kim loại đa hóa trị, ion Ca²⁺ mang điện dương sẽ trung hòa điện tích âm, tương tác với các phân tử protein mang điện tích âm chưa bị kết tủa, do đó làm tăng hiệu suất thu hồi protein. Đối với các phân tử mang điện dương trong dung dịch thì ion Ca²⁺ sẽ tương tác với lớp hidrad hóa bao quanh các phân tử này và làm thành cầu nối gắn kết và tập hợp chúng lại với nhau. Do đó khi thêm CaCl₂ vào với một lượng thích hợp thì khối lượng của các phân tử kết tủa đó sẽ tăng lên và chúng lắng nhanh, vì vậy làm tăng hiệu suất thu hồi protein.



Hình 5. Ảnh hưởng của nồng độ CaCl₂ đến hiệu suất thu hồi protein

Ngược lại khi lượng CaCl₂ trong dung dịch dư, số ion còn dư sẽ phân tán tự do trong dung dịch và tương tác đây với các phân tử mang điện dương khác, do đó, làm giảm hiệu suất thu hồi protein. Như vậy, giá trị nồng độ CaCl₂ thích hợp cho thu hồi protein là 50 ppm.

3.5. Tối ưu hóa hiệu suất thu hồi protein của dịch đầu tôm theo quy hoạch Box – Behnken.

Sau khi xác định được chế độ thích hợp để kết tủa protein từ dịch ép đầu tôm theo phương pháp cổ điển, tiến hành tối ưu hóa nhằm tìm ra chế độ tối ưu với 3 nhân tố nhiệt độ, nồng độ chitosan và nồng độ CaCl₂ với các khoảng biến thiên được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1. Các nhân tố và khoảng biến thiên của quy hoạch thực nghiệm

Nhân tố	Nhân tố	Đơn vị	Mức		
			Mức thấp	Mức TB	Mức cao
X ₁	Nhiệt độ	⁰ C	75	80	85

X ₂	Nồng độ chitosan	ppm	75	100	125
X ₃	Nồng độ CaCl ₂	ppm	40	50	60

Kết quả tối ưu hóa được thể hiện như sau:

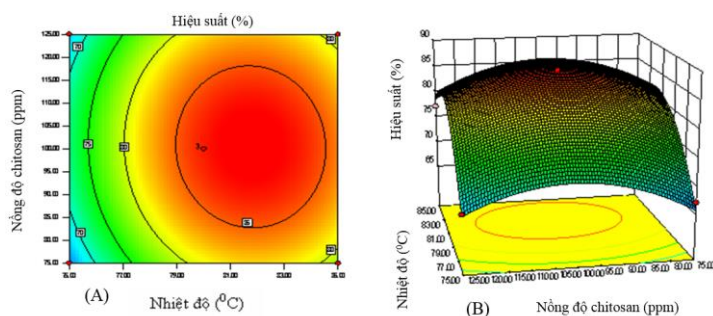
Các hệ số hồi qui và phương trình hồi qui bậc 2 có dạng:

$$Y_1 = -2622,85 + 58,6X_1 + 1,84X_2 + 8,91X_3 - 3 \times 10^{-3}X_1X_2 - 0,027X_1X_3 + 2,9 \times 10^{-3}X_2X_3 - 3,5X_1^2 - 8,647 \times 10^{-3}X_2^2 - 0,070X_3^2$$

Kết quả bảng 2 cho thấy giá trị p nhỏ hơn 0,01, như vậy có mối quan hệ mang ý nghĩa thống kê giữa các biến số ở mức độ tin cậy trên 99%. Kết quả bảng 2 cũng cho thấy giá trị p của nhân tố nhiệt độ, nồng độ chitosan, nồng độ CaCl₂ đều nhỏ hơn 0,05, như vậy 3 nhân tố đều có ý nghĩa thống kê đến hiệu suất thu hồi protein của dịch ép đầu tôm.

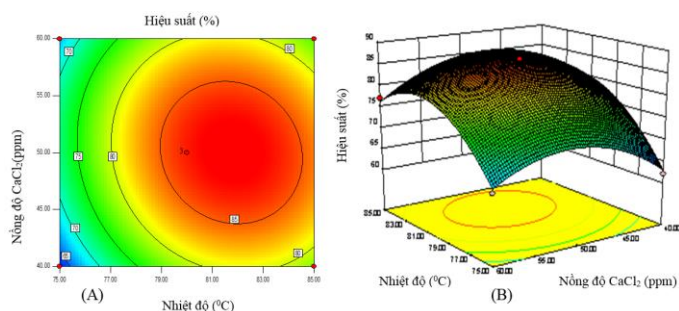
Bảng 2. Phân tích ANOVA cho hiệu suất thu hồi protein với các biến độc lập nhiệt độ, nồng độ chitosan và nồng độ CaCl₂ và các tương tác đôi, ba của chúng.

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F
Model	805.76333	9	89.529259	45.323621	0.0003
A- Nhiệt độ	298.40597	1	298.40597	151.06613	< 0.0001
B- Nồng độ CTS	24.055538	1	24.055538	12.177964	0.0175
C- Nồng độ CaCl ₂	83.461567	1	83.461567	42.25189	0.0013
AB	0.5625	1	0.5625	0.2847621	0.6165
AC	7.5625	1	7.5625	3.8284678	0.1077
BC	2.1025	1	2.1025	1.0643773	0.3495
A ²	279.73853	1	279.73853	141.61586	< 0.0001
B ²	107.83391	1	107.83391	54.590235	0.0007
C ²	178.5616	1	178.5616	90.395681	0.0002
Residual	9.8766667	5	1.9753333		
Lack of Fit	9.27	3	3.09	10.186813	0.0907



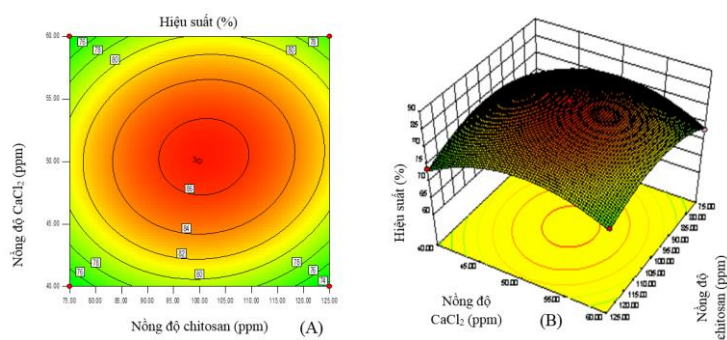
Hình 6. Đồ thị dạng phẳng (A) và dạng 3D (B) xác định hiệu suất thu hồi protein trong điều kiện nồng độ CaCl₂ là 50 ppm

Kết quả ở hình 6 cho thấy hiệu suất thu hồi protein đạt 87% với nồng độ chitosan 100 ppm và nhiệt độ 80°C.



Hình 7. Đồ thị dạng phẳng (A) và dạng 3D (B) xác định hiệu suất thu hồi protein trong điều kiện nồng độ chitosan là 100 ppm

Kết quả ở hình 7 cho thấy, trong điều kiện nồng độ chitosan là 100 ppm với nhiệt độ 80°C, nồng độ CaCl₂ là 50 ppm hiệu suất thu hồi protein đạt 87%.



Hình 8. Đồ thị dạng phẳng (A) và dạng 3D (B) xác định hiệu suất thu hồi protein trong điều kiện nhiệt độ là 80°C

Kết quả ở hình 8 cho thấy trong điều kiện nhiệt độ là 80°C, với nồng độ chitosan là 100 ppm, nồng độ CaCl₂ là 50 ppm hiệu suất thu hồi protein đạt 87%.

4. KẾT LUẬN

Trong điều kiện tối ưu hóa quá trình thu hồi protein từ dịch ép đầu tôm cho thấy nhiệt độ xử lý 80°C, nồng độ chitosan 100 ppm, nồng độ CaCl₂ 50 ppm và thời gian gia nhiệt 20 phút thì hiệu suất thu hồi protein đạt 87% với thời gian lắng 6 phút.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Mã Huy, 2009. *Nghiên cứu qui trình thu hồi protein từ dung dịch máu cá tra trong quá trình chế biến cá tra*. Luận văn thạc sĩ khoa học, Trường Đại học Nha Trang.
- [2]. Marti, C., Roeckel, M., Aspe, E., Kanda, H, 1994. *Recovery of protein from fishmeal factory wastewater*. Process Biochemistry, 29, 39-46.
- [3]. Trang Sĩ Trung, Nguyễn Thị Phương, Phạm Thị Minh Hải, Phạm Thị Đan Phượng, 2008. *Nghiên cứu ứng dụng chitosan trong việc thu hồi protein từ nước rửa Surimi*. Tạp chí khoa học-công nghệ thủy sản, 2, 25-30.
- [4]. Trang Sĩ Trung, Mã Huy, Nguyễn Công Minh, 2009. *Nghiên cứu thu hồi protein từ dịch thải máu cá tra*. Tạp chí khoa học – Công nghệ thủy sản, số đặc biệt - 2009, 121-126, Trường đại học Nha Trang.
- [5]. Trang Sĩ Trung, Trần Thị Luyến, Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Thị Hằng Phương. 2010. *Chitin-Chitosan từ phế liệu thủy sản và ứng dụng*. NXB Nông nghiệp, TP. HCM.
- [6]. Zeng, D., Wu, J., Kennyday, J, F., 2008. *Application of a chitosan flocculant to water treatment*. Carbohydrate polymers, 71, 135-139.

-Người Phản biện: ThS. Phan Văn Đây; KS.Ung Minh Anh Thư

-Ngày duyệt đăng: 27/10/2015.