

Ảnh hưởng của hệ số cô đặc và giải pháp bổ sung nước đến hiệu suất thu hồi và độ tinh sạch của chế phẩm protein đậu phộng trong quá trình siêu lọc

- Nguyễn Thị Hiền
- Trần Chí Hải
- Lê Văn Việt Mẫn

Trường Đại học Bách Khoa, ĐHQG-HCM

(Bản nhận ngày 19 tháng 3 năm 2015, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 04 tháng 9 năm 2015)

TÓM TẮT

Nghiên cứu này khảo sát quá trình siêu lọc mẫu dịch trích protein đậu phộng để tinh sạch protein. Quá trình siêu lọc được thực hiện theo mô hình dead – end với màng 50 kDa, áp suất vận hành là 6 bar và pH dòng nhập liệu là 5,0. Khi tăng hệ số cô đặc thì khả năng loại bỏ các tạp chất trong dịch trích protein như carbohydrate và phytate cũng tăng theo. Khi hệ số cô đặc là 2,5, tỉ lệ loại bỏ phytate và carbohydrate lần lượt là 30% và 56% so với hàm lượng của chúng

trong mẫu dịch trích ban đầu. Để nâng cao hiệu quả tinh sạch, giải pháp bổ sung nước vào dòng không qua màng cũng đã được tiến hành. Kết quả cho thấy, sau 3 chu kỳ bổ sung nước thì tỉ lệ loại bỏ carbohydrate và phytate đạt xấp xỉ 90%. Khi đó, hiệu suất thu hồi protein đạt 89% và độ tinh sạch của chế phẩm protein thu được xấp xỉ 92%. Sử dụng quá trình siêu lọc để tinh sạch dịch trích protein đậu phộng là giải pháp kỹ thuật có tiềm năng ứng dụng vào thực tiễn.

Từ khóa: bổ sung nước, protein đậu phộng, siêu lọc, tỉ lệ loại bỏ.

1. GIỚI THIỆU

Bột đậu phộng tách béo là một phụ phẩm của ngành công nghiệp sản xuất dầu béo; phụ phẩm này giàu protein (47 – 55%) với nhiều acid amin thiết yếu. Đây là một nguồn nguyên liệu tiềm năng để sản xuất chế phẩm protein concentrate và protein isolate [1,2]. Hiện nay,

quá trình siêu lọc đã được ứng dụng để tinh sạch các loại dịch trích protein họ đậu [3,4]. Tuy nhiên, có rất ít công bố về quá trình siêu lọc dịch trích protein đậu phộng. Đối với protein đậu nành, kết quả nghiên cứu cho thấy hệ số cô đặc tăng lên theo thời gian siêu lọc; nồng độ protein ở dòng không qua màng cũng tăng lên, đồng thời, khả năng loại bỏ các cấu tử không mong

muốn như carbohydrate và khoáng cũng tăng theo thời gian [5]. Tuy nhiên, nếu thời gian siêu lọc càng dài thì trở lực của quá trình càng tăng, lưu lượng dòng qua màng bị giảm xuống. Ngoài ra, để tăng hiệu quả loại bỏ các cấu tử không mong muốn, việc bổ sung nước vào dòng không qua màng để tái siêu lọc đến một hệ số cô đặc nhất định đã được nghiên cứu và thu được nhiều kết quả khả quan, cụ thể là làm tăng độ tinh sạch của protein trong chế phẩm protein isolate từ đậu nành [3].

Nghiên cứu này sẽ khảo sát quá trình siêu lọc dịch trích protein từ bột đậu phộng đã tách béo. Mục đích nghiên cứu là đánh giá ảnh hưởng của hệ số cô đặc và số chu kỳ bổ sung nước đến hiệu suất thu hồi và độ tinh sạch của chế phẩm protein thu được.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu sử dụng là giống đậu phộng *Arachis hypogaea* VD1 do Viện nghiên cứu phát triển dầu và cây có dầu (Tp Hồ Chí Minh) cung cấp. Quá trình trích protein từ bột đậu phộng tách béo được thực hiện như sau: dung môi sử dụng là nước, pH dung môi 9,0 (sử dụng dung dịch NaOH 2M để hiệu chỉnh pH), tỉ lệ bột:nước là 1:20 (w/v), nhiệt độ trích ly $28 \pm 2^\circ\text{C}$, thời gian trích ly 1 giờ. Sau quá trình trích ly, hỗn hợp được ly tâm với tốc độ 3500 vòng/phút ở 10°C trong 20 phút để thu nhận phần dịch lỏng. Dung dịch protein thu được có hàm lượng chất khô $28,0 \pm 1,0$ mg/mL, protein hòa tan $20,97 \pm 0,17$ mg/mL, carbohydrate $2,90 \pm 0,02$ mg/mL, phytate $0,59 \pm 0,01$ mg/mL. Dịch trích này sẽ được đem siêu lọc để thu nhận chế phẩm protein.

2.2. Quá trình siêu lọc

Quá trình siêu lọc được thực hiện trên thiết bị Sterlitech HP4750 Stirred Cell do hãng Sterlitech (Hoa Kỳ) cung cấp. Màng siêu lọc (GR51PP) được làm bằng polysulfone (Alfa Laval, Thụy Điển) với kích thước mao quản là 50 kDa. Dòng nhập liệu được đưa vào thiết bị siêu lọc nhờ áp suất khí nén có phương vuông góc với bề mặt màng. Các thí nghiệm được tiến hành ở điều kiện nhiệt độ phòng ($28 \pm 2^\circ\text{C}$). Thể tích dịch nguyên liệu ban đầu là 200 mL, diện tích bề mặt của màng là $14,6 \text{ cm}^2$. Trong suốt quá trình thí nghiệm, dòng đi qua màng sẽ được ghi nhận thể tích bằng ống đong theo thời gian tương ứng. Đối với thí nghiệm bổ sung nước, khi hệ số cô đặc đạt một giá trị xác định, dòng không qua màng sẽ được bổ sung một thể tích nước (pH 5,0) đúng bằng thể tích dòng đi qua màng để tiếp tục siêu lọc. Chu trình này được lặp lại 4 lần.

2.3. Công thức tính toán

Hệ số cô đặc CF được định nghĩa là tỉ lệ thể tích của dòng nhập liệu V_F (mL) và thể tích dòng còn lại trên màng V_R (mL) và được xác định theo công thức (1).

$$CF = \frac{V_F}{V_R} = \frac{V_F}{V_F - V_P} \quad (1)$$

Thông lượng dòng qua màng J_P ($\text{L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$) sẽ được xác định theo công thức (2), với V_P là thể tích dòng qua màng (L), t là thời gian siêu lọc (s), S là diện tích bề mặt hoạt động của màng (m^2).

$$J_P = \frac{3600 \times V_P}{t \times S} \quad (2)$$

Trong khi đó, hiệu suất thu hồi protein Y (%) được tính toán theo công thức (3). Ở đây, C_P và C_F lần lượt là nồng độ của protein trong dòng qua màng và dòng nhập liệu.

$$Y = \left(1 - \frac{V_P \times C_P}{V_F \times C_F}\right) \times 100 \quad (3)$$

Ngoài ra, độ tinh sạch protein P (%) là tỉ lệ giữa hàm lượng protein C_{pro} và tổng hàm lượng chất khô C_{total} trong dòng sản phẩm (dòng không qua màng).

$$P = \left(\frac{C_{pro}}{C_{total}}\right) \times 100 \quad (4)$$

Tỉ lệ loại bỏ carbohydrate hay phytate R_i (%) được xác định theo công thức (5). Với, C_{Pi} và C_{Fi} lần lượt là nồng độ carbohydrate hoặc phytate trong dòng qua màng và dòng không qua màng.

$$R_i = \frac{C_{Pi} \times V_P}{C_{Fi} \times V_F} \times 100 \quad (5)$$

2.4. Phương pháp phân tích

Hàm lượng chất khô trong dịch trích được xác định bằng phương pháp sấy ở 105°C đến khối lượng không đổi. Nồng độ protein hòa tan, carbohydrate hòa tan và phytate trong dịch trích được xác định bằng phương pháp quang phổ so màu với chất chuẩn và bước sóng lần lượt là albumin huyết thanh bò – 750 nm, glucose – 490 nm, sodium phytate – 500 nm [6,7,8].

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần và kết quả là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Số liệu thực nghiệm được xử lý bằng phần mềm Statgraphics Centurion XV để xem sự khác biệt có ý nghĩa thống kê hay không ($p < 0,05$).

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

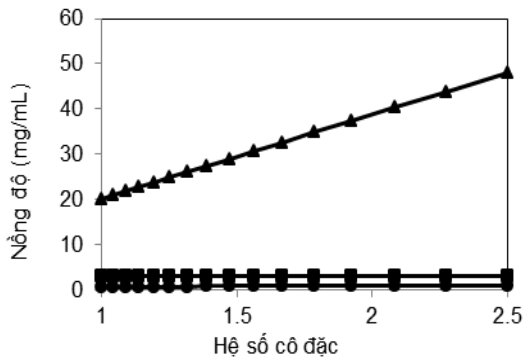
3.1. Ảnh hưởng của hệ số cô đặc đến hiệu suất thu hồi protein, tỉ lệ loại bỏ carbohydrate, tỉ lệ loại bỏ phytate và thông lượng dòng qua màng

Khi tăng hệ số cô đặc từ 1,0 đến 2,5 thì nồng độ protein ở dòng không qua màng tăng 2,4 lần; trong khi đó, nồng độ của phytate và carbohydrate trong dòng không qua màng hầu như không thay đổi (*Hình 1*). Điều này chứng tỏ, quá trình siêu lọc có khả năng loại bỏ được phytate và carbohydrate. Nghiên cứu của Skorepova và Moresolia (2007) trên dịch trích protein từ đậu nành cũng thu được kết quả tương tự [5]. Khi kéo dài thời gian siêu lọc thì hệ số cô đặc sẽ tăng lên; các cấu tử có phân tử lượng nhỏ hơn đường kính mao quản của màng như phytate và carbohydrate sẽ đi qua màng nhiều hơn. Do đó, tỉ lệ loại bỏ phytate và carbohydrate sẽ tăng lên (*Hình 2*). Bên cạnh đó, hiệu suất thu hồi protein có xu hướng giảm nhẹ khi tăng hệ số cô đặc do độ phân riêng protein không đạt 100% trong suốt quá trình siêu lọc.

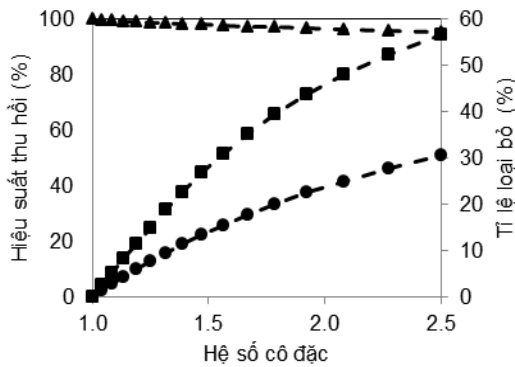
Khi hệ số cô đặc là 2,5, hiệu suất thu hồi protein, tỉ lệ loại bỏ phytate và tỉ lệ loại bỏ carbohydrate lần lượt là 95%, 30% và 56%. Các kết quả siêu lọc dịch trích protein đậu nành với màng 50 kDa, pH dòng nguyên liệu 6,7 cũng cho thấy tại hệ số cô đặc 2,5 thì hiệu suất thu hồi protein đạt 88,5%, tỉ lệ phytate và carbohydrate bị loại bỏ lần lượt là 30% và 60% [9,10,11].

Hình 3 cho thấy khi tăng hệ số cô đặc thì 1 lên 1,5 thì thông lượng dòng qua màng giảm nhiều và chỉ bằng 60% so với thông lượng ban đầu. Nếu tiếp tục tăng hệ số cô đặc lên cao hơn thì thông lượng dòng qua màng giảm ít và tương đối ổn định. Điều này chứng tỏ sự tắc nghẽn màng đã diễn ra trong giai đoạn đầu của quá trình siêu lọc [5]. Theo Hermia (1982), cơ chế hình thành bánh lọc và cơ chế che kín cơ bản (standard blocking) tác động chủ đạo gây nên sự tắc nghẽn màng trong quá trình siêu lọc các dịch trích protein [12]. Khi hệ số cô đặc là 2,5, thông

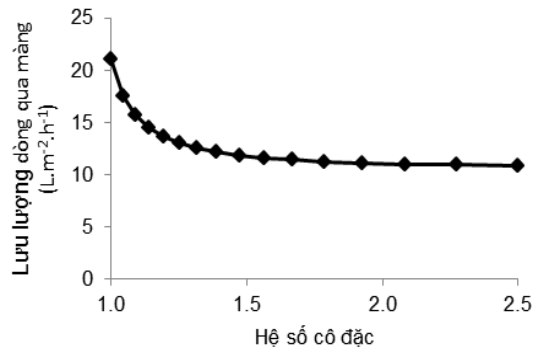
lượng dòng qua màng chỉ còn lại xấp xỉ 50% so với thông lượng tại thời điểm ban đầu.



Hình 1. Sự thay đổi nồng độ các cấu tử ở dòng không qua màng theo hệ số cô đặc (—▲— protein, —●— phytate, —■— carbohydrate)



Hình 2. Sự thay đổi hiệu suất thu hồi protein và tỉ lệ loại bỏ phytate và carbohydrate theo hệ số cô đặc thể tích (---▲--- protein, ---●--- phytate, ---■--- carbohydrate)



Hình 3. Sự thay đổi lưu lượng dòng qua màng theo hệ số cô đặc.

3.2. Ảnh hưởng của giải pháp bổ sung nước vào dòng không qua màng đến hiệu suất thu hồi và độ tinh sạch protein, tỉ lệ loại bỏ carbohydrate, phytate và thông lượng dòng qua màng

Dung dịch protein đậm đặc sau khi được siêu lọc đến hệ số cô đặc 2,5 sẽ được bổ sung một thể tích nước (pH 5) bằng với thể tích dòng qua màng và được tiếp tục siêu lọc. Quá trình bổ sung nước này được lặp lại 4 lần. Việc bổ sung nước sẽ làm giảm nồng độ cấu tử ở dòng không qua màng và hạn chế hiện tượng nghẽn màng [13]. Vì vậy, khi số lần bổ sung nước tăng lên thì các cấu tử có kích thước nhỏ hơn đường kính mao quản của màng dễ đi qua màng hơn, từ đó làm cho tỉ lệ loại bỏ carbohydrate, phytate cũng như là độ tinh sạch sẽ tăng lên (Bảng 1).

Đối với phytate, sau 3 lần bổ sung nước thì tỉ lệ loại bỏ đạt hơn 90% so với lượng phytate có trong mẫu nhập liệu, trong khi đó, chỉ cần 2 lần bổ sung nước thì lượng carbohydrate bị loại bỏ đạt hơn 90% so với ban đầu. Sự khác biệt này có thể là do có sự tương tác giữa phytate và protein [14]. Kết quả trên Bảng 1 cũng cho thấy hiệu suất thu hồi protein bị giảm dần khi tăng số lần bổ sung nước. Tuy nhiên, sau 4 lần bổ sung

nước, hiệu suất thu hồi protein vẫn còn khá cao và xấp xỉ 88%. Trong khi đó, không có sự khác biệt có ý nghĩa về độ tinh sạch protein giữa lần bổ sung nước thứ 3 và thứ 4.

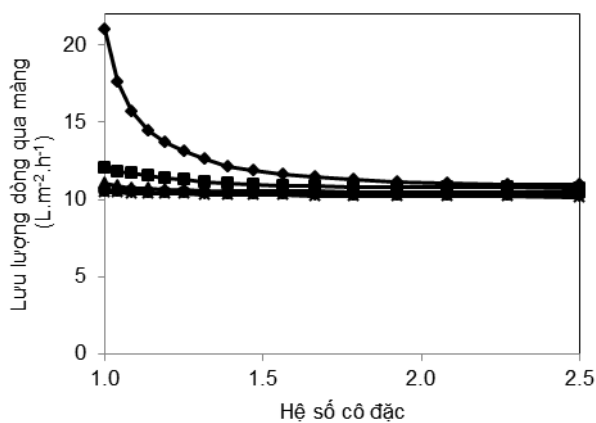
Bên cạnh đó, thông lượng của dòng qua màng sau các lần bổ sung nước thay đổi không đáng kể và xấp xỉ với thông lượng ở cuối giai

đoạn siêu lọc dịch trích protein đậu phộng ban đầu (*Hình 4*). Điều này có thể là do trở lực chính ở cuối quá trình siêu lọc đầu tiên là trở lực bất thuận nghịch (trở lực chỉ có thể được loại bỏ bằng hóa chất), và trở lực này hầu như không đổi khi dòng qua màng được bổ sung nước để tái siêu lọc [5].

Bảng 1. Tỷ lệ loại bỏ phytate, tỉ lệ loại bỏ carbohydrate, hiệu suất thu hồi và độ tinh sạch protein ứng với số chu kỳ bổ sung nước

Số chu kỳ bổ sung nước	Tỷ lệ loại bỏ phytate (%)	Tỷ lệ loại bỏ carbohydrate (%)	Hiệu suất thu hồi protein (%)	Độ tinh sạch protein (%)
0	30,58±0,10 ^a	56,76±0,19 ^a	95,64±0,01 ^a	85,78±0,01 ^a
1	59,02±0,10 ^b	82,69±0,07 ^b	93,05±0,02 ^b	89,30±0,01 ^b
2	81,89±0,02 ^c	93,08±0,03 ^c	90,94±0,01 ^c	91,35±0,01 ^c
3	92,76±0,01 ^d	97,23±0,01 ^d	89,29±0,02 ^d	92,15±0,01 ^d
4	97,10±0,02 ^e	98,89±0,01 ^e	88,07±0,01 ^e	92,15±0,01 ^d

^{a b c d e}: Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$).



Hình 4. Sự thay đổi lưu lượng dòng qua màng theo hệ số cô đặc ở các điều kiện siêu lọc khác nhau (—◆— không có bổ sung nước, —■— bổ sung nước 1 lần, —▲— bổ sung nước 2 lần, —●— bổ sung nước 3 lần, —*— bổ sung nước 4 lần).

4. KẾT LUẬN

Quá trình siêu lọc dịch trích protein đậu phộng có pH 5,0 bằng màng polysulfone 50 kDa trên mô hình dead – end tại áp suất vận hành 6 bar đã được tiến hành. Kết quả cho thấy, khi siêu lọc đến hệ số cô đặc 2,5 thì hiệu suất thu hồi protein cao xấp xỉ 95%, tỉ lệ loại bỏ carbohydrate và phytate lần lượt là 56% và 30%, độ tinh sạch protein trên 85%. Nếu tiến hành bổ sung nước vào dòng không qua màng để tiếp tục siêu lọc đến hệ số cô đặc 2,5 lần và lặp lại 3 lần thì khả năng loại bỏ carbohydrate và phytate sẽ

cao hơn 90% so với hàm lượng của chúng có trong mẫu nguyên liệu ban đầu, trong khi đó hiệu suất thu hồi protein là 89% và độ tinh sạch của chế phẩm protein thu được đạt 92%. Kết quả thu được chứng tỏ giải pháp sử dụng quá trình siêu lọc để tinh sạch dịch trích protein đậu phộng là có tính khả thi cao.

Đây là công trình theo đề tài : “Ứng dụng kỹ thuật siêu lọc kết hợp diafiltration trong quá trình cô đặc và tinh sạch protein đậu phộng”. Mã số đề tài: TNCS-2013-KTHH-01. Hợp đồng: 01/HD-ĐHBK-KHCN&DA

Effects of concentration factor and diafiltration on the protein recovery yield and the purity of peanut protein preparation by ultrafiltration

- Nguyen Thi Hien
- Tran Chi Hai
- Le Van Viet Man

Ho Chi Minh city University of Technology, VNU-HCM

ABSTRACT

This study focused on purification of peanut protein extract by using ultrafiltration technology. The peanut protein extract, adjusted to the pH 5, was ultrafiltered by 50 kDa membrane in dead –

end model at the operating pressure of 6 bar. The higher the concentration factor was, the higher the removal of phytate and carbohydrate was. At the concentration factor of 2,5, the ratio of phytate and

carbohydrate removal was 30% and 56%, respectively. In addition, discontinuous diafiltration was applied for improving purity degree of the protein preparation. With three dilution cycles, more than 90% of phytate and carbohydrate was rejected,

Keywords: Diafiltration, peanut protein, ultrafiltration, removal.

and the recovery yield and the purity degree of the protein preparation was 89% and 92%, respectively. Ultrafiltration has been a potential solution to purification of peanut protein extract in practice.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Basha, S.M., Pancholy, S.K. – Composition and characteristics of basic proteins from peanut (*Arachis hypogea* L.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **30** (1982) 1176 – 1179.
- [2]. Lawhon, J.T., Manak, L.J., Rhee, K.C., Lusas, E.W. - Production of Oil and Protein Food Products from Raw Peanuts by Aqueous Extraction and Ultrafiltration, *Journal of Food Science* **49** (1981) 391 – 398.
- [3]. Mondor, M., Ali, F., Ippersiel, D., Lamarche, F. – Impact of ultrafiltration/diafiltration sequence on the production of soy protein isolate by membrane technologies, *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **11** (2010) 491 – 497.
- [4]. Boye, J.I., Aksay, S., Roufik, S. Ribereau, S., Mondor, M., Farnworth, E., Rajamohamed, S.H. – Comparasion of functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques, *Food Research International* **43** (2) (2010) 537 – 546.
- [5]. Skorepova, J., Moresoli, C. – Carbohydrate and mineral removal during the production of low – phytate soy protein isolate by combined electroacidification and high shear tangential flow ultrafiltration, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (14) (2007) 5645 – 5652.
- [6]. Lowry, O.H., Nira, J., Rosenbrough, A., Farr, L., Randall, R.J. – Protein measurement with the Folin phenol reagent, *The Journal of Biological Chemistry* **193** (1951) 265 – 275.
- [7]. Nielsen, S.S. – Phenol – Sulfuric Acid Method for Total Carbohydrate, *Food Analysis Laboratory Manual*. West Lafayette: Springer US (2010) 47 – 53.
- [8]. Gao, Y., Shang, C., Saghai Maroof, M.A., Biyashev, R.M., Grabau, E.A, Kwanyuen, P., Burton, J.W., Buss, G.R. – A modified colorimetric method for phytic acid analysis in soybean, *Crop Science* **47** (2007) 1797 – 1803.
- [9]. Omosaiye, O., Cheryan, M. – Ultrafiltration of Soybean Water Extracts: Processing Characteristics and Yields, *Journal of Food Science* **44**(1979) 1027 – 1031.
- [10]. Omosaiye, O., Cheryan, M., Matthew, M.E., – Removal of Oligosaccharides from Soybean Water Extracts by Ultrafiltration, *Journal of Food Science* **43** (1978) 354 – 360.
- [11]. Omosaiye, O., Cheryan, M. – Low – phytate, full – fat soy protein product by

- ultrafiltration of aqueous extracts of whole soybeans, *Cereal Chemistry* **56**(1979) 58 – 62.
- [12]. Hermia, J. – Constant pressure blocking filtration laws application to power law non – Newtonian fluid, *Transaction of Institute of Chemical Engineers* **60** (1982) 183 – 190.
- [13]. Nichols, D.J., Cheryan, M. – Production of soy isolates by ultrafiltration: Factors affecting yield and composition, *Journal of Food Science* **46** (1981) 367 – 372.
- [14]. Ali, F., Ippersiel, D., Lamrche, F., Mondor, M. – Characterization of low – phytate soy protein isolates produced by membrane technologies, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **11** (2010) 162 – 168.