ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ VÀ THỜI GIAN GIA NHIỆT ĐẾN CHẤT LƯỢNG SURIMI ẾCH (*Hoplobatrachus rugulosus*)

Trịnh Ngọc Hân[1], Nguyễn Phụng Tiên[1], Trần Hồng Quân[2], Lê Ngọc Vỉnh[1], Huỳnh Thị Hồng Nhung[1,*], Giáp Phạm Ngọc Trâm[1], Trần Tiểu Yến[1], Lê Trân Vi[3]

[1]Khoa Công nghệ Nông nghiệp, Trường Đại học Công nghệ Kỹ thuật Vĩnh Long

[2]Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ

[3]Phòng Đào tạo và Đảm bảo chất lượng, Trường Đại học Công nghệ Kỹ thuật Vĩnh Long

[*]Email: nhunghth@vlute.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian gia nhiệt đến chất lượng surimi ếch (*Hoplobatrachus rugulosus*) thông qua hai chế độ xử lý nhiệt một giai đoạn (90°C/30 phút) và hai giai đoạn (ủ sơ bộ 30, 40, 50, 60°C trong 30-120 phút, sau đó gia nhiệt 90°C/30 phút). Các chỉ tiêu phân tích bao gồm: Độ cứng gel, lực liên kết phân tử, khả năng giữ nước (WHC), điện di protein (SDS-PAGE), protein, độ trắng (L*) và giá trị cảm quan. Kết quả cho thấy, xử lý nhiệt hai giai đoạn cải thiện đáng kể chất lượng surimi so với một giai đoạn. Đặc biệt, mẫu được ủ 40°C/60 phút trước khi gia nhiệt 90°C/30 phút cho kết quả tốt, với WHC đạt 90,77%, hàm lượng protein 11,53% và độ trắng đạt 75 (WI). Đồng thời, cấu trúc gel thể hiện độ cứng và lực liên kết phân tử tương đối cao. Đánh giá cảm quan cho thấy, mẫu có điểm cao nhất về cấu trúc, màu sắc và cảm quan tổng thể, lần lượt là 7,53; 7,56 và 7,67. Những kết quả này khẳng định vai trò của quá trình xử lý nhiệt trong việc hình thành gel protein của surimi ếch. Nhiệt độ ủ trung bình, đặc biệt 40°C, thúc đẩy hoạt hóa transglutaminase nội sinh, tăng liên kết chéo protein và hình thành mạng gel bền hơn, qua đó cải thiện tính chất chức năng của sản phẩm.

Từ khóa: *Surimi ếch, nhiệt độ, thời gian, gel protein, khả năng giữ nước, SDS-PAGE.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Surimi là bán thành phẩm giàu protein sợi cơ, được ứng dụng rộng rãi trong các sản phẩm thủy sản chế biến như thanh giả cua, chả cá và các sản phẩm dạng gel nhờ khả năng tạo gel đặc trưng. Các công đoạn như rửa, phối trộn, gia nhiệt không chỉ giúp loại bỏ sắc tố và mùi không mong muốn mà còn thúc đẩy tương tác giữa các phân tử protein, từ đó hình thành cấu trúc gel bền vững [1]. Xu hướng gần đây tập trung đa dạng hóa nguồn nguyên liệu ngoài cá biển truyền thống, bao gồm cá nước ngọt, phụ phẩm cá da trơn và thịt gia cầm nhằm nâng cao giá trị và tính bền vững [2, 3]. Trong đó, thịt ếch là nguồn nguyên liệu tiềm năng nhờ hàm lượng protein cao, lipid thấp và nguồn cung ổn định tại Việt Nam. Theo Nguyễn Hạnh, 2024 [4], trong 4 tháng đầu năm 2024, lượng thịt ếch đông lạnh xuất khẩu của Việt Nam đạt 2,13 nghìn tấn, tăng 220,4% so với cùng kỳ năm 2023.

Tuy nhiên, so với cơ thịt cá chủ yếu gồm actin và myosin, thịt ếch chứa tỷ lệ cao hơn các protein liên kết và enzyme nội sinh [5], có thể ảnh hưởng đến quá trình hình thành gel. Đến nay, các nghiên cứu về surimi ếch còn hạn chế, đặc biệt là mối quan hệ giữa chế độ gia nhiệt và các đặc tính hóa lý như độ bền gel, WHC, độ đàn hồi, độ cứng, màu sắc và pH, đây là những yếu tố quyết định chất lượng sản phẩm. Trong khi đó, ở surimi cá, khoảng nhiệt 35-45°C được xem là vùng "thiết lập gel ban đầu", còn 60-70°C có thể gây suy giảm cấu trúc gel do hoạt động của protease nội sinh [6]. Vì vậy, việc tối ưu hóa chế độ gia nhiệt đóng vai trò then chốt trong kiểm soát chất lượng surimi [1, 2].

Do đó, nghiên cứu các chỉ tiêu như: Độ cứng gel, lực liên kết phân tử, WHC, SDS-PAGE, hàm lượng protein và đặc tính cảm quan của surimi ếch dưới các chế độ gia nhiệt khác nhau là cần thiết. Kết quả sẽ góp phần làm rõ cơ chế tạo gel,

đồng thời cung cấp cơ sở khoa học cho việc xây dựng quy trình gia nhiệt phù hợp với đặc tính protein cơ ếch.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Ếch nuôi (*Hoplobatrachus rugulosus)* thương phẩm sống được thu nhận tại trang trại nuôi ếch tại tỉnh Đồng Tháp. Khối lượng dao động 200-250 g. Yêu cầu ếch nuôi thương phẩm phải còn sống, khỏe mạnh, không có khuyết tật, nhiễm bệnh hoặc ký sinh trùng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân tích

Độ cứng gel: Độ cứng gel của surimi được xác định theo phương pháp của Zhang và cs (2018) [7] có điều chỉnh. Mẫu gel surimi được cắt thành hình trụ có chiều cao 2,5 cm và đường kính 36 mm. Phép đo xuyên thấu được thực hiện bằng máy phân tích cấu trúc (TMS PRO, Hoa Kỳ), sử dụng đầu dò hình trụ đường kính 2 mm và load cell 500 N. Đầu dò xuyên vào mẫu với tốc độ 20 mm/phút. Độ cứng gel được biểu thị bằng lực cực đại (N) ghi nhận trong quá trình xuyên thấu mẫu.

Lực liên kết phân tử: Lực liên kết phân tử được thực hiện theo phương pháp của Niu và cs (2022) [8]. Bốn loại thuốc thử hóa học 0,6 mol/L NaCl (SA); 0,6 mol/L NaCl + 1,5 mol/L urê (SB); 0,6 mol/L NaCl + 8 mol/ L urê (SC) và 0,6 mol/L NaCl + 8 mol/L urê + 0,5 mol/L β mercantoetanol (SD) được sử dụng để phân tách các liên kết, hòa tan protein surimi và kiểm tra liên kết ion (SA), liên kết hydro (SB-SA), tương tác kỵ nước (SC-SB) và liên kết disulfide (SD-SC) trong gel. Với mục đích này, 10 ml mỗi thuốc thử đã chuẩn bị được trộn với 1,0 g mẫu surimi, nghiền hỗn hợp và giữ ở 4ºC trong 60 phút, sau đó hỗn hợp được ly tâm ở tốc độ 8.000 × g trong 15 phút bằng máy ly tâm. Các lực phân tử được đánh giá dựa trên hàm lượng protein của dịch sau ly tâm bằng phương pháp phản ứng với Coomassie blue. Kết quả thu được được biểu thị bằng mg protein/mL.

Khả năng giữ nước (WHC): Khả năng giữ nước được thực hiện theo phương pháp nén của Wang và cs. (2019) [9]. Surimi được cắt độ dày 2 mm và cân ghi nhận khối lượng (M1). Sau đó, mẫu được đặt vào giữa 2 tờ giấy lọc. Tiếp theo mẫu được nén bằng quả cân chuẩn (5 kg) trong thời gian 1 phút. Tiếp theo mẫu sau khi nén được cân và ghi nhận khối lượng (M2). Khối lượng nước mất đi trong quá trình nén phản ánh khả năng giữ nước của sản phẩm. Tính kết quả:

$$\text{WHC (\%)} = \frac{W_2}{W_1} x\ 100$$

Điện di protein (SDS-PAGE): SDS-PAGE được thực hiện theo phương pháp của Laemmli (1970) [10] bằng cách sử dụng gel tách 10% và gel cô đặc 4%. Các protein sợi cơ được pha loãng trong dung dịch đệm mẫu SDS (urê 8M, 20mM Tris, 2% SDS, 2% β-mercaptoetanol, pH 8) để thu được nồng độ protein là 1 mg/ml. Hỗn hợp được ủ trong 6 giờ ở 4ºC để protein phân ly và ly tâm ở tốc độ 5.000 vòng/phút trong 3 phút để loại bỏ các thành phần không hòa tan. Sau đó, hỗn hợp được gia nhiệt ở 95ºC trong 5 phút và ly tâm ở tốc độ 5000 vòng/phút trong 3 phút để loại bỏ các thành phần không hòa tan. Protein chuẩn có kích thước (20-220 kDa) được sử dụng làm chuẩn để ước tính trọng lượng phân tử của các mẫu. Sau khi tách, gel được nhuộm bằng dung dịch Coomassie Brilliant Blue R-250 0,4% trong 45 phút và khử nhuộm bằng dung dịch gồm acid acetic 7,5% và metanol 5% cho đến khi các dải protein xuất hiện rõ ràng. Mẫu điện di được phân tích bằng máy phân tích Gel-Pro (Bio-Rad, Hoa Kỳ).

Hàm lượng protein: Hàm lượng protein được xác định theo phương pháp Kjeldahl [11].

Đánh giá cảm quan: Đánh giá cảm quan được thực hiện theo phương pháp của Lawless H và Heymann (2010) [12] sử dụng thang thị hiếu (9-point hedonic scale). Tất cả các mẫu được đặt trong cốc nhựa và mã hóa với 3 chữ số ngẫu nhiên. 30 cảm quan viên được mời để đánh giá sản phẩm thông qua các chỉ tiêu màu sắc, cấu trúc, mùi, vị và sự ưa thích chung.

Độ trắng: Độ trắng của mẫu thử, *W,* tính bằng % theo TCVN 8682:2011 [13].

$$W=100-[(100-L)^2+a^2+b^2]^{1/2}$$

2.2.2. Phương pháp thu nhận và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí độc lập hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm thống kê Statgraphics Centurion 16,1 và Microsoft Excel 16. Phân tích phương sai ANOVA và kiểm định LSD để kết

luận về sự sai khác giữa trung bình các nghiệm thức ở mức ý nghĩa thống kê P<0,05.

2.2.3. Bố trí thí nghiệm

Ếch nuôi thương phẩm sống được thu nhận tại trang trại nuôi ếch tại tỉnh Đồng Tháp. Ếch được vận chuyển về Phòng thí nghiệm Khoa Công nghệ Nông nghiệp, Trường Đại học Công nghệ Kỹ thuật Vĩnh long. Sau đó ếch được bỏ đói 24 giờ trước khi tiến hành làm xiu, cắt tiết, xả máu, loại bỏ đầu, nội tạng, da và được rửa sạch. Nguyên liệu được tiến hành tách lấy thịt và xay nhuyễn. Khối thịt xay tiếp tục được rửa bằng dung dịch 0,5% NaCl trong 15 phút sau đó rửa lại với nước cất 15 phút. Quá trình này được tiến hành lặp lại 3 lần [14]. Khối thịt sau khi rửa được tiến hành ly tâm để tách nước và độ ẩm cuối của khối thịt được điều chỉnh đến 85%. Lúc này khối thịt được xem như surimi dạng paste. Để tiến hành sản xuất surimi, surimi dạng paste được phối trộn với 2,5% NaCl và tiếp tục xay nhuyễn trong thời gian 3 phút. Tất cả các công đoạn luôn được giữ ở nhiệt độ thấp (~4ºC). Hỗn hợp được tiếp tục nhồi vào vỏ nhựa plastic và sau đó gia nhiệt với các điều kiện nhiệt độ và thời gian khác nhau. Thứ nhất, mẫu được xử lý nhiệt một giai đoạn (tại nhiệt độ 90ºC/30 phút). Thứ hai, mẫu được xử lý hai giai đoạn (bước 1 tiền xử lý nhiệt lần lượt ở các nhiệt độ 30°C, 40°C, 50°C, 60°C với thời gian 30, 60 và 120 phút sau đó gia nhiệt bước 2 ở 90ºC trong 30 phút). Sản phẩm sau gia nhiệt được làm nguội bằng nước đá, sau đó ổn định ở 4°C sau 24 giờ tiến hành phân tích các chỉ tiêu.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của chế độ xử lý nhiệt đến cấu trúc và khả năng giữ nước của surimi ếch

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, chế độ xử lý nhiệt ảnh hưởng có ý nghĩa đến độ cứng gel và khả năng giữ nước (WHC) của surimi ếch (P<0,05). Mẫu xử lý một giai đoạn ở 90°C/30 phút có độ cứng gel đạt 1,237 N, cao hơn mẫu tiền xử lý ở 30°C/120 phút nhưng thấp hơn các mẫu tiền xử lý ở 40°C và 50°C. Điều này cho thấy, xử lý nhiệt hai giai đoạn, đặc biệt với bước tiền xử lý ở 40°C, có thể cải thiện độ cứng gel surimi. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trên surimi cá minh thái Alaska [2, 15]. Nhiệt độ gia nhiệt chi phối sự hình thành mạng lưới gel 3 chiều thông qua quá trình biến tính, tập hợp và tương tác của các protein sợi cơ, đặc biệt là myosin (MHC) [16]. Trong khoảng 25-45°C, các đầu myosin bắt đầu duỗi mạch và tập hợp, chủ yếu nhờ tương tác kỵ nước; đồng thời, enzyme transglutaminase (TGase) xúc tác hình thành các liên kết ngang ε-(γ-glutamyl)-lysine giữa các chuỗi nặng myosin, góp phần tạo cấu trúc gel bền vững [6, 17]. Tương tự, Hossain và cs (2011) [15] cho rằng tiền xử lý ở 30-40°C tạo mạng lưới protein mịn, đồng nhất và liên kết chặt chẽ, giúp tăng độ cứng và độ đàn hồi của gel. Ngược lại, ở nhiệt độ trên 50°C, myosin có thể bị thủy phân bởi enzyme nội sinh, làm suy yếu mạng lưới gel và giảm WHC. Giai đoạn gia nhiệt tiếp theo ở 90°C giúp hoàn thiện, cố định mạng lưới gel và làm protein biến tính hoàn toàn, tạo cấu trúc gel cứng chắc.

Bảng 1. Ảnh hưởng của chế độ xử lý nhiệt đến độ cứng gel và khả năng giữ nước của surimi ếch

Chế độ xử lý nhiệt	Độ cứng gel (N)	Khả năng giữ nước (%)
90°C/30 phút	1,24^{c}±0,07	61,50^{a}±0,23
30°C/30 phút; 90°C/30 phút	1,02^{b}±0,03	79,32^{c}±0,52
30°C/60 phút; 90°C/30 phút	0,92^{b}±0,03	76,16^{b}±0,53
30°C/120 phút; 90°C/30 phút	0,80^{a}±0,01	76,17^{b}±0,13
40°C/30 phút; 90°C/30 phút	1,77^{ef}±0,03	79,58^{c}±1,64
40°C/60 phút; 90°C/30 phút	1,83^{f}±0,03	90,77^{e}±0,50
40°C/120 phút; 90°C/30 phút	1,30^{c}±0,04	76,85^{b}±1,40
50°C/60 phút; 90°C/30 phút	1,60^{d}±0,01	86,96^{d}±1,46
60°C/60 phút; 90°C/30 phút	1,67^{de}±0,02	85,96^{d}±1,87

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở giá trị P<0,05.

Khả năng giữ nước (WHC) là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng surimi, vì nước tham gia trực tiếp vào quá trình hình thành gel; sản phẩm surimi thường có chất lượng tốt khi hàm lượng nước khoảng 70-80% (w/w) [3]. Mẫu xử lý một giai đoạn ở 90°C/30 phút có WHC thấp nhất (61,5%), trong khi các mẫu xử lý hai giai đoạn, đặc biệt ở nhiệt độ tiền xử lý 40-50°C, cho WHC cao hơn. Giá trị WHC cao nhất được ghi nhận ở mẫu tiền xử lý tại 40°C trong 60 phút

(90,77%), cho thấy đây là điều kiện thích hợp để tăng khả năng giữ nước và ổn định cấu trúc gel surimi ếch. Ngược lại, tiền xử lý ở 30°C, đặc biệt trong 120 phút, không cải thiện WHC và làm giảm độ cứng gel. Hiện tượng này có thể liên quan đến việc hình thành liên kết chéo protein chưa chiếm ưu thế, trong khi protease nội sinh vẫn có thể phân giải một phần protein cơ sợi, gây suy giảm gel (modori) ở mức độ nhẹ. Ở 40°C, điều kiện nhiệt thuận lợi cho enzyme transglutaminase (TGase) xúc tác hình thành các liên kết chéo ε-(γ-glutamyl)-lysine giữa các protein cơ sợi, đặc biệt là chuỗi nặng myosin (MHC), qua đó thúc đẩy sự polymer hóa MHC và hình thành mạng gel bền vững [18]. Mạng protein được hình thành trong giai đoạn tiền xử lý giúp tăng khả năng giữ nước và hạn chế sự thoát nước khi gel tiếp tục được gia nhiệt. Do đó, điều kiện 40°C/60 phút được xác định là phù hợp nhất để thúc đẩy quá trình tạo gel của surimi ếch trong các nghiệm thức khảo sát.

3.2. Ảnh hưởng của chế độ xử lý nhiệt đến độ trắng và hàm lượng protein trong mẫu surimi ếch

Kết quả ở bảng 2 cho thấy chế độ xử lý nhiệt ảnh hưởng có ý nghĩa đến độ trắng của surimi ếch ($P<0,05$), trong khi không ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng protein ($P>0,05$). Độ trắng dao động trong khoảng 61,90-75,00; trong đó, giá trị cao nhất được ghi nhận ở mẫu gia nhiệt một giai đoạn tại 90°C/30 phút và mẫu xử lý hai giai đoạn với tiền xử lý (setting) ở 40°C/60 phút, sau đó gia nhiệt ở 90°C/30 phút. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Hosseini và cs. (2015) [19] trên surimi cá croaker miệng đen. Ngược lại, mẫu tiền xử lý ở 30°C trong 120 phút có độ trắng thấp nhất (61,90±1,67), phù hợp với xu hướng suy giảm đặc tính gel ở điều kiện này, cho thấy việc kéo dài thời gian setting tại 30°C không thuận lợi cho sự hình thành gel surimi ếch. Ở điều kiện setting thích hợp, mạng protein chặt chẽ và đồng nhất hơn, cùng với khả năng giữ nước được cải thiện, có thể làm tăng sự tán xạ ánh sáng và góp phần nâng cao độ trắng của gel [20, 21]. Mặc dù gia nhiệt một giai đoạn ở 90°C/30 phút có thể tạo độ trắng cao, việc gia nhiệt trực tiếp khi không có giai đoạn setting vẫn có thể làm tăng nguy cơ xảy ra hiện tượng suy giảm gel (modori), từ đó ảnh hưởng đến độ bền và chất lượng của surimi [22].

Bảng 2. Ảnh hưởng của chế độ xử lý nhiệt đến độ trắng và hàm lượng protein trong surimi ếch

Chế độ xử lý nhiệt	Độ trắng	Hàm lượng protein (%)
90°C/30 phút	$74,23^{d}$±0,06	$11,47^{a}$ ±0,42
30°C/30 phút; 90°C/30 phút	$65,64^{b}$±0,97	$10,88^{a}$±0,05
30°C/60 phút; 90°C/30 phút	$64,88^{b}$±0,64	$11,13^{a}$±0,20
30°C/120 phút; 90°C/30 phút	$61,90^{a}$±1,67	$10,93^{a}$±0,09
40°C/30 phút; 90°C/30 phút	$70,07^{c}$±0,89	$11,11^{a}$±0,72
40°C/60 phút; 90°C/30 phút	$75,00^{d}$±1,14	$11,53^{a}$±0,23
40°C/120 phút; 90°C/30 phút	$71,80^{c}$±2,83	$11,05^{a}$±0,47
50°C/60 phút; 90°C/30 phút	$69,67^{c}$±0,17	$11,27^{a}$±0,58
60°C/60 phút; 90°C/30 phút	$70,34^{c}$±0,41	$11,10^{a}$±0,31

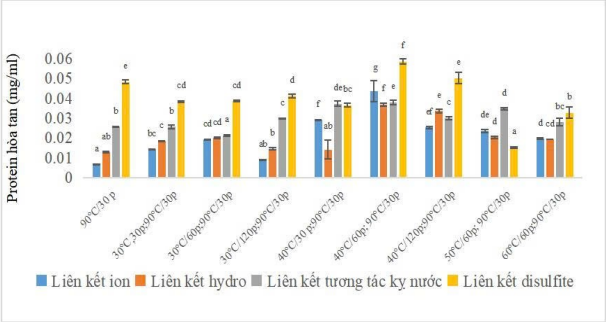
Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở giá trị $P<0,05$.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy hàm lượng protein của surimi ếch dao động trong khoảng 10,88-11,53% và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($P>0,05$). Điều này cho thấy sự thay đổi nhiệt độ và thời gian tiền xử lý trong phạm vi khảo sát không làm thay đổi đáng kể hàm lượng protein tổng số đo được trong sản phẩm. Xử lý nhiệt chủ yếu làm biến đổi cấu trúc protein, đặc biệt là myosin, thông qua quá trình biến tính, duỗi mạch và hình thành các tương tác giữa các chuỗi polypeptide [6, 23, 24]. Trong giai đoạn tiền xử lý, protein cơ sợi bắt đầu biến đổi cấu trúc và tham gia hình thành mạng gel; sau đó, gia nhiệt ở nhiệt độ cao tiếp tục hoàn thiện quá trình biến tính và ổn định mạng gel [15, 17]. Mặc dù mức độ biến tính, liên kết protein và đặc tính gel có thể khác nhau giữa các chế độ nhiệt, hàm lượng protein tổng số vẫn tương đối ổn định. Do đó, các chế độ xử lý nhiệt chủ yếu ảnh hưởng đến cấu trúc và khả năng tạo gel của protein hơn là làm thay đổi hàm lượng protein tổng số của surimi ếch.

3.3. Ảnh hưởng của chế độ xử lý nhiệt đến lực liên kết phân tử

Quá trình gia nhiệt làm protein duỗi và mở cấu trúc, tạo điều kiện hình thành liên kết disulfide và

tương tác kỵ nước, qua đó góp phần hình thành mạng gel surimi [18, 24]. Hình 1 cho thấy , các liên kết disulfide và tương tác kỵ nước có xu hướng chiếm ưu thế ở phần lớn các nghiệm thức, trong khi liên kết hydro có mức đóng góp thấp hơn.



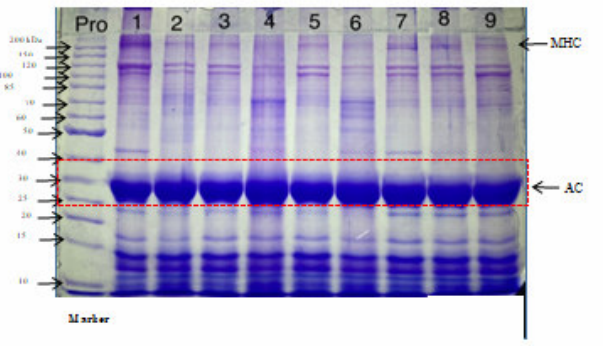
Hình 1. Ảnh hưởng của chế độ xử lý nhiệt đến lực liên kết phân tử trong gel surimi ếch

Ghi chú: Liên kết ion (SA), liên kết hydro (SB-SA), tương tác kỵ nước (SC-SB) và liên kết disulfide (SD-SC); các chữ cái khác nhau trên cùng một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở giá trị P<0,05.

Ở mẫu gia nhiệt trực tiếp tại 90°C/30 phút, hàm lượng liên kết disulfide đạt khoảng 0,048 mg/mL, cao hơn tương tác kỵ nước (0,026 mg/mL) và liên kết hydro (0,013 mg/mL). Hiện tượng này có thể liên quan đến sự biến tính protein, làm lộ các nhóm sulfhydryl (-SH) và thúc đẩy quá trình hình thành liên kết disulfide [25]. Đối với chế độ gia nhiệt hai giai đoạn, mẫu tiền xử lý (setting) ở 40°C/60 phút, sau đó gia nhiệt ở 90°C/30 phút, có các tương tác và liên kết đạt giá trị tương đối cao; trong đó, liên kết disulfide đạt 0,058 mg/mL và tương tác kỵ nước đạt 0,038 mg/mL. Kết quả này cho thấy, điều kiện 40°C/60 phút thuận lợi cho sự duỗi mạch, sắp xếp lại và liên kết chéo của myosin trước khi mạng gel được cố định ở nhiệt độ cao [18, 25]. Khi thời gian ủ tăng từ 30 lên 60 phút, tương tác kỵ nước và liên kết disulfide tăng; tuy nhiên, việc kéo dài thời gian đến 120 phút không làm tăng đồng đều các tương tác, có thể do sự tái sắp xếp hoặc phân giải protein bởi protease nội sinh. Khi nhiệt độ tiền xử lý tăng lên 50-60°C, một số tương tác giảm so với điều kiện 40°C/60 phút, có thể liên quan đến sự biến đổi cấu trúc protein quá mức hoặc sự phân giải MHC, dẫn đến hiện tượng gel mềm hóa [17, 26]. Như vậy, chất lượng gel không phụ thuộc vào một loại liên kết riêng lẻ mà là kết quả tổng hợp của liên kết hydro, tương tác ion, tương tác kỵ nước và các liên kết cộng hóa trị [24].

3.4. Ảnh hưởng của chế độ xử lý nhiệt đến SDS-PAGE của surimi ếch

Kết quả từ hình 2, SDS-PAGE cho thấy thành phần protein của surimi ếch tập trung chủ yếu ở vùng myosin heavy chain (MHC, khoảng 200 kDa) và actin (AC, khoảng 42 kDa), trong đó cường độ băng MHC thay đổi rõ theo chế độ xử lý nhiệt. So với mẫu đối chứng (lane 9), các mẫu sau gia nhiệt thể hiện mức độ biến đổi MHC khác nhau, cho thấy nhiệt độ và thời gian setting có ảnh hưởng đến trạng thái của protein sợi cơ. Sự thay đổi MHC có ý nghĩa đối với quá trình tạo gel, do myosin là protein chủ yếu tham gia hình thành mạng gel surimi thông qua quá trình mở cuộn, tập hợp và polymer hóa (liên kết chéo) giữa các phân tử [23].



Hình 2. SDS-PAGE của mẫu surimi ếch được xử lý nhiệt

Ghi chú: MHC: myosin, AC: actin, 1-90°C/30 phút, 2-40°C/120 phút, 3-40°C/30 phút, 4-60°C/60 phút, 5-40°C/60 phút, 6-50°C/60 phút, 7-30°C/30 phút, 8-30°C/60 phút, 9- đối chứng

Ở các nghiệm thức ủ tại 40°C, băng MHC thay đổi theo thời gian xử lý. Đặc biệt, mẫu ủ 40°C/60 phút sau đó tiếp tục xử lý nhiệt ở 90°C/30 phút (lane 5) cường độ băng MHC giảm so với mẫu đối chứng, đồng thời kết quả phân tích lực liên kết cho thấy, mẫu này có sự đóng góp tương đối cao của tương tác kỵ nước và đặc biệt là liên kết disulfide. Điều này cho thấy, giai đoạn ủ ở 40°C trong 60 phút có thể tạo điều kiện thích hợp cho myosin biến đổi cấu trúc và bộc lộ các vị trí phản ứng, đồng thời thúc đẩy hoạt động của transglutaminase (TGase). Enzyme này xúc tác hình thành các liên kết cộng hóa trị ε-(γ-glutamyl)-lysine giữa các phân tử protein cơ sợi,

đặc biệt là myosin, qua đó thúc đẩy sự polymer hóa MHC và hình thành mạng protein liên kết chéo [27]. Bên cạnh đó, sự mở cuộn một phần của myosin còn làm tăng mức độ bộc lộ các vùng kỵ nước và nhóm sulfhydryl, tạo điều kiện cho tương tác kỵ nước và sự hình thành liên kết disulfide trong giai đoạn gia nhiệt tiếp theo, góp phần củng cố cấu trúc mạng gel và tính đàn hồi của gel [17]. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Liu và cs. (2014) [23] xác định 40°C/60 phút là thời gian setting thích hợp đối với surimi cá mè bạc, đồng thời cho thấy tương tác kỵ nước và liên kết disulfide là những lực quan trọng góp phần duy trì cấu trúc gel ổn định.

Ở các nghiệm thức setting tại 50-60°C và tiếp tục gia nhiệt ở 90°C (lane 6 và lane 4), cường độ băng MHC giảm so với mẫu đối chứng. Sự suy giảm này có thể liên quan đồng thời đến quá trình tập hợp/liên kết chéo protein và sự phân giải một phần MHC. Khoảng nhiệt độ 50-60°C được ghi nhận là vùng mà một số protease nội sinh, bao gồm cysteine protease như cathepsin L, có thể hoạt động và gây phân giải protein cơ sợi, góp phần vào hiện tượng suy yếu gel (modori) [17]. Kết quả có sự tương đồng với kết quả nghiên cứu trên cá mè bạc khi nhiệt độ ủ tăng đến ≥40°C, đặc biệt ở 50-60°C, băng MHC trên SDS-PAGE trở nên nhạt và rộng hơn [23]. Từ kết quả hình 2 cho thấy, băng actin (AC, khoảng 42 kDa) vẫn duy trì cường độ tương đối cao và ít biến đổi hơn so với MHC. Các nghiên cứu điện di (SDS-PAGE) cho thấy actin không tham gia trực tiếp vào quá trình tạo liên kết chéo do TGase xúc tác [15, 17]. Hàm lượng actin thường không đổi trong suốt quá trình "setting", chứng tỏ AC không đóng vai trò quyết định trong việc hình thành mạng lưới liên kết cộng hóa trị như myosin [21].

3.5. Ảnh hưởng của chế độ xử lý nhiệt đến giá trị cảm quan của surimi ếch

Bảng 3. Ảnh hưởng của chế độ xử lý nhiệt đến giá trị cảm quan của surimi ếch

Chế độ xử lý nhiệt	Giá trị cảm quan			
	Màu sắc	Mùi	Kết cấu	Tổng thể
90°C/30 phút	6,80^{b}±0,08	6,78^{a}±0,08	6,40^{a}±0,10	6,75^{a}±0,05
30°C/30 phút; 90°C/30 phút	7,10^{c}±0,10	7,13^{cd}±0,06	7,30^{e}±0,15	7,23^{bc}±0,06
30°C/60 phút; 90°C/30 phút	7,20^{cd}±0,15	7,07^{bcd}±0,15	7,00^{c}±0,17	7,05^{b}±0,09
30°C/120 phút; 90°C/30 phút	7,37^{de}±0,06	6,80^{ab}±0,10	6,87^{cd}±0,06	7,07^{b}±0,06
40°C/30 phút; 90°C/30 phút	7,50^{e}±0,08	6,87^{abc}±0,08	7,39^{e}±0,03	7,32^{cd}±0,08
40°C/60 phút; 90°C/30 phút	7,93^{e}±0,23	7,22^{d}±0,13	7,53^{ef}±0,29	7,67^{e}±0,29
40°C/120 phút; 90°C/30 phút	7,56^{f}±0,08	7,25^{d}±0,39	7,70^{f}±0,10	7,50^{de}±0,10
50°C/60 phút; 90°C/30 phút	6,33^{a}±0,12	6,86^{abc}±0,08	6,75^{bc}±0,05	6,58^{a}±0,08
60°C/60 phút; 90°C/30 phút	6,37^{a}±0,08	6,65^{a}±0,06	6,57^{ab}±0,06	6,58^{a}±0,14

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở giá trị P<0,05.

Giá trị cảm quan của các mẫu surimi ếch được thể hiện trong bảng 3. Màu sắc dao động từ 6,33-7,93 điểm, cho thấy sự khác biệt giữa các chế độ xử lý nhiệt. Mẫu xử lý hai giai đoạn ở 40°C trong 60 phút trước khi gia nhiệt ở 90°C trong 30 phút đạt giá trị cao nhất (7,93±0,229), trong khi mẫu xử lý ở 50°C và 60°C trong 60 phút cho điểm màu thấp nhất (6,33 - 6,37). Điều này cho thấy, xử lý nhiệt sơ bộ ở nhiệt độ thấp - trung bình (40°C) giúp cải thiện màu sắc sản phẩm, có thể do hoạt hóa nhẹ hệ enzyme Tgase giúp hình thành mạng lưới gel vững chắc nhốt các phân tử nước bên trong [21], đồng thời giảm thiểu biến đổi sắc tố do nhiệt độ cao [27]. Ngược lại, xử lý ở 50-60°C có thể dẫn đến tái sắp xếp của các phân tử nước trong sản phẩm surimi, làm thay đổi khả năng giữ nước (WHC 85%) và từ đó ảnh hưởng đến độ bóng và độ trong của gel. Ngoài ra, độ trắng của gel protein sợi cơ có liên quan đến mức độ biến tính protein; xử lý nhiệt có

thể làm thay đổi mức độ biến tính và phá vỡ các lực liên kết giữa các phân tử protein, dẫn đến thay đổi độ trắng của gel [28]. Bên cạnh đó, sự giảm độ trắng có thể do quá trình thay đổi hàm lượng carbonyl cũng như sự oxy hóa protein cũng như thay đổi sự phân bố của protein trong mạng lưới gel [29].

Giá trị mùi dao động từ 6,65 đến 7,25 điểm, cho thấy sự biến thiên không lớn nhưng có xu hướng tăng nhẹ ở các mẫu xử lý hai giai đoạn ở 30-40°C. Mẫu 40°C-120 phút đạt điểm mùi cao nhất (7,25±0,391), trong khi 60°C-60 phút đạt giá trị thấp nhất (6,65±0,057). Theo nhiều nghiên cứu, xử lý nhiệt ở mức trung bình giúp giữ lại các hợp chất hương tự nhiên của thực phẩm, làm cho sản phẩm có mùi thơm đặc trưng và ít bị biến đổi xấu [14]. Tuy nhiên, khi nhiệt độ sơ bộ cao hơn 50°C, các hợp chất hương dễ bay hơi có thể bị bay mất hoặc bị phân hủy, làm giảm mùi đặc trưng của sản phẩm [27].

Điểm cảm quan về kết cấu của surimi ếch (bảng 3) dao động từ 6,4-7,53. Mẫu surimi được tiền xử lý nhiệt ở 40°C cho điểm kết cấu cao nhất trong các mẫu. Kết quả này có thể lý giải là do ở chế độ tiền xử lý này các enzyme nội sinh hoạt động tốt, giúp tạo nhiều liên kết, cấu trúc gel surimi vững chắc, kèm theo nước được giữ ổn định trong hệ thống gel surimi [21]. Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu về surimi với chế độ xử lý nhiệt hai giai đoạn như các nghiên cứu trước đây [15, 17, 21].

Giá trị cảm quan tổng thể dao động từ 6,58-7,67 điểm, trong đó các mẫu xử lý hai giai đoạn ở 40°C trong 60-120 phút cho điểm tổng thể cao nhất (7,50-7,67), chứng tỏ hiệu quả cải thiện chất lượng cảm quan rõ rệt. Trong khi đó, các mẫu xử lý ở 50-60°C có điểm tổng thể thấp tương đương mẫu 90°C một giai đoạn, cho thấy xử lý sơ bộ ở nhiệt độ quá cao không mang lại lợi ích cảm quan.

4. KẾT LUẬN

Xử lý nhiệt hai giai đoạn cải thiện chất lượng surimi ếch, trong đó điều kiện 40°C/60 phút trước khi gia nhiệt 90°C/30 phút cho chất lượng surimi ếch tốt. Ở điều kiện này, protein được biến tính phù hợp, enzyme transglutaminase nội sinh được hoạt hóa, thúc đẩy hình thành mạng gel bền, làm tăng độ cứng, khả năng giữ nước, độ trắng và hàm lượng protein, đồng thời nâng cao giá trị cảm quan của sản phẩm.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin được cảm ơn Bộ Giáo dục và Đào tạo đã hỗ trợ kinh phí thực hiện đề tài mã số CB2025-09 và Trường Đại học Công nghệ Kỹ thuật Vĩnh Long đã tạo điều kiện trong quá trình thực hiện nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Park J. W. (Ed.) (2013). *Surimi and Surimi Seafood*. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

[2]. Benjakul S., Yarnpakdee S., Visessanguan W., Phatcharat S. (2010). Combination effects of whey protein concentrate and calcium chloride on the properties of goatfish surimi gel. *Journal of Texture Studies*, *41*(3), 341-357. https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2010.00228.x.

[3]. Rawdkuen S., Benjakul S., Visessanguan W., Lanier T. C. (2004). Chicken plasma protein affects gelation of surimi from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Hydrocolloids*, *18*(2), 259-270. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00082-1.

[4]. Nguyễn Hạnh (2024). 4 tháng: Xuất khẩu thịt ếch đông lạnh tăng 220,4% về lượng. https://congthuong.vn/4-thang-xuat-khau-thit-ech-dong-lanh-tang-2204-ve-luong-324989.html. Truy cập ngày 2/10/2026.

[5]. Hamm H. E., Bownds M. D. (1986). Protein complement of rod outer segments of the frog retina. *Biochemistry*, *25*(16), 4512-4523. https://doi.org/10.1021/bi00364a010.

[6]. Wu M. C., Akahane T., Lanier T. C., Hamann O. D. (1985). Thermal transitions of actomyosin and surimi prepared from Atlantic croaker as studied by differential scanning calorimetry. *Journal of Food Science*, *50*(1), 10-13. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb13266.x.

[7]. Zhang L., Li Q., Shi J., Zhu B., Luo Y. (2018). Changes in chemical interactions and gel properties of heat-induced surimi gels from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets during setting and heating: Effects of different washing solutions. *Food Hydrocolloids*, *75*, 116-124. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.09.007.

[8]. Niu F., Yu J., Fan J., Zhang B., Ritzoulis C., Pan W. (2022). The role of glycerol on the thermal gelation of myofibrillar protein from giant squid (*Dosidicus gigas*) mince. *Food Chemistry*, *371*, 131149. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131149.

[9]. Wang Y., Zhao J., Liu C., Li W. (2019). Influence of γ-aminobutyric acid on gelling properties of heat-induced whey protein gels. *Food Hydrocolloids*, *94*, 287-293. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.031.

[10]. Laemmli U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, *227*(5259), 680-685. https://doi.org/10.1038/227680a0.

[11]. AOAC International (1999). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 16th ed., 5th revision. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.

[12]. Lawless H. T., Heymann H. (2010). *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. 2nd ed. Springer, New York, NY, USA. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5

[13]. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8682:2011. *Surimi đông lạnh*. https:// tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+8682%3A2011 [Truy cập ngày 2/10/2026]

[14]. Cao Y., Liang G., Li Z., Du D., Ma W., Dong X., Feng L., Zhang H., Liu Z. (2024). Effect of different concentrations of lysine on the transglutaminase-induced mixed surimi gel properties. *Food Science of Animal Products*, *2*(2), 9240058. https://doi.org/10.26599/FSAP.2024.9240058.

[15]. Hossain M. I., Morioka K., Shikha F. H., Itoh Y. (2011). Effect of preheating temperature on the microstructure of walleye pollack surimi gels under the inhibition of the polymerisation and degradation of myosin heavy chain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *91*(2), 247-252. https://doi.org/10.1002/jsfa.4177.

[16]. Xiong Z., Shi T., Jin W., Bao Y., Monto A. R., Yuan L., Gao R. (2024). Gel performance of surimi induced by various thermal technologies: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *64*(10), 3075–3090. https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2130154

[17]. Hossain M. I., Itoh Y., Morioka K., Obatake A. (2001). Inhibiting effect of polymerization and degradation of myosin heavy chain during preheating at 30°C and 50°C on the gel-forming ability of walleye pollack surimi. *Fisheries Science*, *67*(4), 718-725. https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2001.00311.x.

[18]. Benjakul S., Visessanguan W. (2003). Transglutaminase-mediated setting in bigeye snapper surimi. *Food Research International*, *36*(3), 253-266. https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00167-9.

[19]. Hosseini-Shekarabi S. P., Hosseini S. E., Soltani M., Kamali A., Valinassab T. (2015). Effect of heat treatment on the properties of surimi gel from black mouth croaker (*Atrobucca nibe*). *International Food Research Journal*, *22*(1), 363-371.

[20]. Totosaus A., Montejano J. G., Salazar J. A., Guerrero I. (2002). A review of physical and chemical protein-gel induction. *International Journal of Food Science and Technology*, *37*(6), 589-601. https:// doi. org/ 10. 1046/ j. 1365-2621. 2002.00623.x.

[21]. Xiong Z., Shi T., Zhang W., Kong Y., Yuan L., Gao R. (2021). Improvement of gel properties of low salt surimi using low-dose L-arginine combined with oxidized caffeic acid. *LWT*, *145*, 111303. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111303.

[22]. Liu X., Feng D., Ji L., Zhang T., Xue Y., Xue C. (2018). Effects of microwave heating on the gelation properties of heat-induced Alaska Pollock (*Theragra chalcogramma*) surimi. *Food Science and Technology International*, *24*(6), 497-506. https://doi.org/10.1177/1082013218768411.

[23]. Liu H., Gao L., Ren Y., Zhao Q. (2014). Chemical interactions and protein conformation changes during silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) surimi gel formation. *International Journal of Food Properties*, *17*(8), 1702-1713. https://doi.org/10.1080/10942912.2012.700538.

[24]. Yu N., Xu Y., Jiang Q., Xia W. (2017). Molecular forces involved in heat-induced freshwater surimi gel: Effects of various bond disrupting agents on the gel properties and protein conformation changes. *Food Hydrocolloids*, *69*, 193-201. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.02.003.

[25]. Li J., Zhang M., Chang C., Gu L., Peng N., Su Y., Yang Y. (2018). Molecular forces and gelling properties of heat-set whole chicken egg protein gel as affected by NaCl or pH. *Food Chemistry*, *261*, 36-41. https://doi.org/ 10.1016/ j.foodchem.2018.03.079.

[26]. Li M., Yang J., Bao H., Chen Y., Gao Y., Deng S. (2022). The effect of heating method on the gel structures and properties of surimi prepared from Bombay duck (*Harpadon nehereus*). *Frontiers in Nutrition*, *9*, 1060188. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1060188.

[27]. Fellows P. J. (2022). *Food Processing Technology: Principles and Practice*. 5th ed. Woodhead Publishing, Oxford, UK.

[28]. Chen H., Kong B., Guo Y., Xia X., Diao X., Li P. (2013). The effectiveness of cryoprotectants in inhibiting multiple freeze-thaw-induced functional and rheological changes in the myofibrillar proteins of common carp (*Cyprinus carpio*) surimi. *Food Biophysics*, *8*(4), 302-310. https:// doi.org/ 10. 1007/ s11483-013-9305-4.

[29]. Kong B., Guo Y., Xia X., Liu Q., Li Y., Chen H. (2013). Cryoprotectants reduce protein oxidation and structure deterioration induced by freeze-thaw cycles in common carp (*Cyprinus carpio*) surimi. *Food Biophysics*, *8*(2), 104-111. https://doi.org/10.1007/s11483-012-9281-0.

EFFECT OF HEATING TEMPERATURE AND TIME ON THE QUALITY OF SURIMI FROM FROG (*Hoplobatrachus rugulosus*) MEAT

Trinh Ngoc Han[1], Nguyen Phung Tien[1], Tran Hong Quan[2], Le Ngoc Vinh[1], Huỳnh Thi Hong Nhung[1], Giap Pham Ngoc Tram[1], Tran Tieu Yen[1], Le Tran Vi[3]

[1]Faculty of Agricultural Technology, Vinh Long University of Technology Education

[2]Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University

[3]Department of Training and Quality Assurance, Vinh Long University of Technology Education

Abstract

This study aimed to evaluate the effects of heating temperature and time on the quality of frog surimi (*Hoplobatrachus rugulosus*) under two thermal processing regimes: a one-step treatment (90°C/30 min) and a two-step treatment (pre-incubation at 30, 40, 50, and 60°C for 30–120 min followed by heating at 90°C/30 min). The analyzed parameters included gel hardness, intermolecular bonding forces, water-holding capacity (WHC), protein patterns (SDS-PAGE), protein content, whiteness (L*) and sensory attributes. The results indicated that the two-step heating process significantly improved surimi quality compared to the one-step treatment. Notably, the sample pre-incubated at 40°C for 60 min prior to heating at 90°C/30 min exhibited optimal properties, with a WHC of 90.77%, protein content of 11.53%, and whiteness value of 75 (WI). In addition, the gel structure demonstrated high hardness and chemical force. Sensory evaluation showed that this sample achieved the highest scores in texture, color, and overall acceptability, at 7.53; 7.56 and 7.67, respectively. These findings confirm the critical role of thermal processing in the formation of protein gel in frog surimi. Moderate pre-incubation temperature, particularly at 40°C, promotes the activation of endogenous transglutaminase, enhances protein cross-linking, and facilitates the formation of a more stable three-dimensional gel network, thereby significantly improving the functional properties of the product.

Keywords: *Frog surimi, heating temperature, heating time, protein gel, water-holding capacity, SDS-PAGE.*

Ngày nhận bài: 10/3/2026

Ngày chuyển phản biện: 6/4/2026

Ngày thông qua phản biện: 23/7/2026

Ngày duyệt đăng: 28/9/2026