



Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ

Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học

website: [sj.ctu.edu.vn](http://sj.ctu.edu.vn)

DOI:10.22144/ctu.jsi.2019.071

## NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN CÔ ĐẶC DỊCH PROTEIN THỦY PHÂN TỪ THỊT ĐẦU TÔM THẺ (*Litopenaeus vannamei*)

Hà Thị Thụy Vy<sup>1\*</sup>, Trần Thanh Trúc<sup>2</sup> và Nguyễn Văn Mười<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Nghiên cứu sinh ngành Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Hà Thị Thụy Vy (email: [vyp1114009@gstudent.ctu.edu.vn](mailto:vyp1114009@gstudent.ctu.edu.vn))

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 13/11/2018

Ngày nhận bài sửa: 02/04/2019

Ngày duyệt đăng: 12/04/2019

### Title:

Study on conditions for production of concentrated protein hydrolysate from whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) waste

### Từ khóa:

Chống oxy hóa, cô đặc, dịch thủy phân protein, nhiệt độ

### Keywords:

Antioxidant, concentration, protein hydrolysate, temperature

### ABSTRACT

Head meat of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) is a by-product obtained from frozen shrimp processes. This by-product has high nutrition values and biological properties. Especially, peptides have antioxidant and antimicrobial capability. The aim of this study is to evaluate the effect of temperature and time on production of concentrated protein hydrolylysate by enzymatic hydrolysis from shrimp-waste in order to maintain the antioxidant properties of the product. The concentration process was optimized by a surface method with two factors of temperature (40 ÷ 50°C) and time (30 ÷ 50 minutes), which includes 12 experimental units. Besides, physicochemical changes of the concentrated protein hydrolylysate during frozen storage from 1 to 8 months was also investigated. The results showed that the suitable temperature and time for the concentration process were 45.58°C and 41.85 minutes, respectively. At this condition, the total protein content increased from 6.85% to 20.58% due to dehydration and the obtained antioxidant capacity was 65.38% (IC<sub>50</sub>=2.5 mg/100mL). The appropriate storage time for this protein-enriched product at -18 ± 2°C was 3 months.

### TÓM TẮT

Thịt đầu tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) là phụ phẩm thu được từ quy trình chế biến tôm đông lạnh. Đây là nguyên liệu có giá trị dinh dưỡng và hoạt tính sinh học cao, đặc biệt là các peptide có khả năng chống oxy hoá, kháng khuẩn... Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá tác động của nhiệt độ và thời gian trong quá trình cô đặc dịch đạm thủy phân bằng enzyme đến việc duy trì tính chất chống oxy hóa của chế phẩm thu nhận. Quá trình cô đặc được tối ưu hóa theo phương pháp bề mặt đáp ứng với 2 thừa số nhiệt độ (40÷50°C) và thời gian (30÷50 phút), bao gồm 12 đơn vị thí nghiệm. Đồng thời, sự biến đổi tính chất hóa lý của dịch đạm cô đặc theo thời gian trữ đông từ 1 đến 8 tháng cũng được khảo sát. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nhiệt độ và thời gian thích hợp cho cô đặc tương ứng là 45,58°C và 41,85 phút, khi đó chế phẩm có hàm lượng protein tổng tăng từ 6,85% đến 20,58% do mất nước và khả năng chống oxy hóa đạt 65,38% (IC<sub>50</sub>=2,5 mg/100mL). Thời gian thích hợp cho quá trình bảo quản chế phẩm cô đặc giàu protein -18°C±2 là 3 tháng.

Trích dẫn: Hà Thị Thụy Vy, Trần Thanh Trúc và Nguyễn Văn Mười, 2019. Nghiên cứu điều kiện cô đặc dịch protein thủy phân từ thịt đầu tôm thẻ (*Litopenaeus vannamei*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học)(2): 276-284.

## 1 TỔNG QUAN

Trong thập kỷ qua, phụ phẩm từ ngành công nghiệp hải sản đã được sử dụng để phát triển các sản phẩm phụ chất lượng cao, có thể được sử dụng làm thức ăn cho con người, thậm chí để tạo ra lợi ích dinh dưỡng và y tế (Aleman *et al.*, 2011). Gần đây, protein thủy sản cũng được quan tâm như một nguồn thay thế của BAPs (bioactive peptides) (Bernardini *et al.*, 2011; Ryan *et al.*, 2011), do tác động tích cực về dinh dưỡng và sức khỏe (Korhonen and Pihlanto, 2006; Hartmann and Meisel, 2007). Đặc biệt, với nguồn phụ phẩm, thịt đầu tôm trong quá trình chế biến tôm đông lạnh có hàm lượng protein cao 35÷40% (Sachindra *et al.*, 2006; Nguyễn Văn Thiết và Đỗ Ngọc Tú, 2007) đã chứng minh là nguồn nguyên liệu tốt cho việc sản xuất chế phẩm giàu protein, cung cấp nguồn BAPs mới bởi hoạt tính sinh học của các peptit thu được. Các chế phẩm thủy phân protein của phụ phẩm tôm (Shrimp-waste protein hydrolysates-SWPH) được chứng minh có nhiều chức năng sinh học như: hạ huyết áp, chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng đông máu... đặc biệt chức năng chống oxy hóa của dịch thủy phân từ tôm được nghiên cứu sâu rộng (Huang *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2011). Bên cạnh đó, các chất chống oxy hóa tổng hợp sử dụng trong thực phẩm như: butylatedhydroxytoluene, butylatedhydroxyanisole, tert-butylhydroquinone và propyl gallate cũng bị hạn chế sử dụng, vì một số chất chống oxy hóa tổng hợp đã được tìm thấy là chất độc và là chất gây ung thư trong các mô hình động vật (Li *et al.*, 2008; Kim and Wijesekera, 2010). Đây chính là cơ sở cho việc thay thế các chất chống oxy hóa tổng hợp bằng các chất chống oxy hóa có nguồn gốc tự nhiên, cô đặc dịch thủy phân protein để nâng cao giá trị dinh dưỡng và hoạt tính chống oxy hóa để ứng dụng trong sản xuất thực phẩm. Mục tiêu của nghiên cứu này là nghiên cứu chế độ cô đặc chế phẩm giàu protein sao cho đảm bảo hiệu suất thu hồi protein và duy trì hoạt tính chống oxy hóa, đồng thời khảo sát sự biến đổi trong quá trình bảo quản tạo thuận lợi trong nghiên cứu ứng dụng khả năng chất chống oxy hóa từ dịch cô đặc có nguồn gốc từ tôm.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Nguyên liệu

Nguyên liệu thịt đầu tôm được phân tách (loại bỏ vỏ, chân hàm, râu) tại nhà máy chế biến thủy sản xuất nhập khẩu Hòa Trung (huyện Cái Nước, tỉnh Cà Mau), được xử lý sơ bộ và để ráo nước trước khi phân chia thành các mẫu có khối lượng xác định, đóng gói trong bao bì PA và cấp đông ở nhiệt độ -35°C đến -40°C. Sau khi đạt nhiệt độ tâm -18°C, tiến hành trữ đông ở -20±2°C.

Dụng cụ và thiết bị sử dụng trong nghiên cứu: máy quang phổ so màu (Model 722, Trung Quốc); thiết bị ly tâm nhiệt độ thấp (Rotana 46 R, Đức; Herlme Z323K); Máy đo pH 2 số lẻ, độ chính xác 0,01 (HANA pH 212, Trung Quốc); máy khuấy từ Toshiba (Magnestir MG-10, Nhật); bộ điều nhiệt (Memmert, Đức, điều chỉnh đến cận 100°C, độ chính xác 0,1°C); cân điện tử (Ohaus, USA, độ chính xác 0,0001 g và 0,01 g).

### 2.2 Phương pháp phân tích và đo đạc các chỉ tiêu

Các chỉ tiêu cơ bản được phân tích và đo đạc theo các phương pháp tiêu chuẩn:

+ Protein tổng số (%): phương pháp Kjeldahl (TCVN: 3705-90)

- Hàm lượng NH<sub>3</sub>: Xác định hàm lượng nitơ base bay hơi sử dụng hệ thống chung cất với chất kiểm hóa là MgO (Antonacopoulos and Vyncke, 1989).

- Hoạt tính chống oxy hóa (% DPPH) đo theo phương pháp của Wu *et al.* (2003) và được cải tiến một số bởi Zhao *et al.* (2011). Các thử nghiệm được tiến hành dựa trên nồng độ dung dịch thủy phân. Cho 0,375 mL dung dịch thủy phân vào các ống thử nghiệm bổ sung thêm 2 mL 1, 1- diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) nồng độ 0,1 mmol/L DPPH được pha trong dung dịch methanol. Hỗn hợp được lắc đều và đặt trong một phòng tối 30 phút và xác định bằng phương pháp quang phổ ở bước sóng 517 nm. Dung dịch methanol của DPPH được sử dụng làm dung dịch trắng. Hoạt tính chống oxy hóa (% DPPH) được tính theo công thức sau

$$\%DDPH(DSA)=1-\frac{(A_S-A_0)}{A_{DPPH}}*100$$

Trong đó: DSA: DPPH Radical Scavenging Activity; A<sub>0</sub>: là độ hấp thụ của mẫu trắng

A<sub>S</sub>: là độ hấp thụ của mẫu phản ứng; A<sub>DPPH</sub>: là độ hấp thụ của mẫu đối chứng.

### 2.3 Phương pháp cô quay dịch thủy phân protein

Nguyên liệu thịt đầu tôm thể sau khi xử lý sơ bộ được nghiền nhỏ. Tiến hành bổ sung dung môi với tỉ lệ khối lượng nguyên liệu/dung môi là 1:1 và được gia nhiệt để kích hoạt enzyme protease nội bào có trong mẫu thịt đầu tôm sau khi xử lý, sau đó bổ sung hàm lượng enzyme alcalase và nồng độ enzyme flavouryme lần lượt là 19,43 UI/g và 32,09 UI/g. Quá trình thủy phân sẽ được thực hiện bằng máy khuấy từ liên tục, tốc độ 200 rpm nhằm tăng khả năng thủy phân. Sau quá trình thủy phân, mẫu được ly tâm ở tốc độ 6.000 rpm trong thời gian 20 phút, loại bỏ phần cặn, thu nhận phần dịch trong, gọi là

dịch thủy phân protein. Sau đó, dịch thủy phân sẽ được đem đi cô đặc và bảo quản. Tiến hành xác định hàm lượng protein (%) và hoạt tính chống oxy hóa (DPPH%) nhằm chọn được điều kiện cô đặc và thời gian bảo quản thích hợp. Hoạt tính chống oxy hóa của dịch cô đặc được xác định sau khi pha loãng 50 lần.

Các thông số thủy phân cố định:

- pH 7,01
- Nhiệt độ 54,94°C
- Thời gian 2,96 giờ

**2.4 Phương pháp bố trí thí nghiệm**

**2.4.1 Xác định thành phần nguyên liệu dịch thủy phân từ đầu tôm thẻ**

Dịch thủy phân protein từ thịt đầu tôm ở mỗi đợt thủy phân được tiến hành lấy để phân tích các thành phần cơ bản như: độ ẩm, protein tổng số, hoạt tính chống oxy hóa.

**2.4.2 Thí nghiệm 1: Xác định nhiệt độ và thời gian cô đặc chế phẩm protein thủy phân**

Mục đích thí nghiệm để xác định được điều kiện cô đặc thích hợp nhất giúp nâng cao hàm lượng protein và duy trì tính chất chống oxy hóa của chế phẩm thu nhận.

Các thông số cố định:

Tốc độ quay: 4 vòng/s

Thể tích: 100 mL dịch đem cô quay

Áp suất cô quay: 28 mbar(-98kPa=28 inHg)

Thí nghiệm tiến hành với 2 nhân tố: X<sub>1</sub>- nhiệt độ cô đặc và X<sub>2</sub> -thời gian cô đặc. Sử dụng phương án trực giao cấp 2 với 12 số nghiệm thức (Bảng 1), trong đó có một thí nghiệm ở tâm phương án. Bổ sung thêm ba thí nghiệm ở tâm để kiểm tra ý nghĩa các hệ số của phương trình hồi quy. Các nhân tố X<sub>1</sub> và X<sub>2</sub> được khảo sát ở 3 mức độ (-1, 0, +1) với giá trị trung tâm (0) là thông số tốt nhất được lựa chọn từ thí nghiệm sơ bộ, sử dụng 3 điểm trung tâm. Tương ứng với từng điều kiện khảo sát, lọc và ly tâm, thu dịch thủy phân và xác định: hàm mục tiêu Y<sub>1</sub>: protein tổng số (%) và Y<sub>2</sub>: hiệu suất thu hồi protein (HSDH (%)); Y<sub>3</sub>: DPPH (%) hoạt tính chống oxy hóa của dịch thủy phân và Y<sub>4</sub>: hiệu suất thu hồi hoạt tính chống oxy hóa của dịch thủy phân HSDPPH (%).

**Bảng 1: Ma trận quy hoạch thực nghiệm quá trình tối ưu hóa kết hợp nhiệt độ và thời gian cô đặc**

STT	Giá trị mã hóa		Giá trị thực nghiệm	
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Nhiệt độ cô đặc (°C)	Thời gian cô đặc (phút)
1	0	+1	45	50
2	-1	0	40	40
3	0	0	45	40
4	-1	+1	40	50
5	+1	0	50	40
6	+1	+1	50	50
7	0	0	45	40
8	0	0	45	40
9	-1	-1	40	30
10	1	-1	50	30
11	0	0	45	40
12	0	-1	45	30

(Ghi chú: Giá trị mã hóa -1, 0, +1 thể hiện 3 mức độ khảo sát tương ứng với nhiệt độ (40; 45; 50) và thời gian (30; 40; 50)

**2.4.3 Thí nghiệm 2: Xác định sự biến đổi dịch cô đặc theo thời gian bảo quản**

Dịch thủy phân giàu thu nhận được từ thí nghiệm 1 được bảo quản ở nhiệt độ - 18±2°C. Sau đó tiến hành phân tích để theo dõi hàm lượng protein hòa tan, khả năng chống oxy hóa, NH<sub>3</sub> sinh ra và sự biến đổi màu sắc của dịch thủy phân theo thời gian bảo quản.

**2.5 Phương pháp thống kê và xử lý số liệu**

Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên, lặp lại ít nhất 3 lần. Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm thống kê Statgraphics Centurion 16.1, phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định LSD để kết luận về sự sai khác giữa trung bình các nghiệm thức.

**3 KẾT QUẢ - THẢO LUẬN**

**3.1 Thành phần dịch cô đặc**

Kết quả thành phần hóa lý cơ bản và hoạt tính chống oxy hóa của dịch thủy phân từ thịt tôm được trình bày Bảng 2.

**Bảng 2: Thành phần nguyên liệu thịt đầu tôm thẻ**

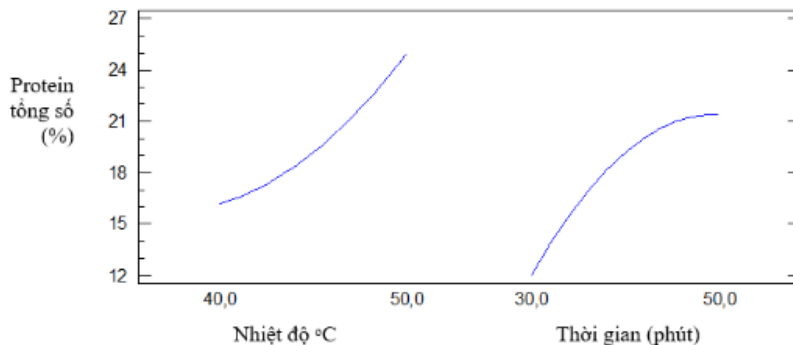
Chỉ tiêu	Giá trị
Độ ẩm (%)	90,24±1,68
pH	7,02±0,02
Protein tổng (%)	6,85 ±0,02
Hoạt tính chống oxy hóa (%)*	86,16±0,12

\*Dịch thủy phân đã được pha loãng 20 lần trước khi xác định hoạt tính chống oxy hóa

Kết quả từ Bảng 2 cho thấy, hàm lượng protein tổng số trong dịch thủy phân từ thịt đầu tôm thẻ khá cao (trung bình 6,85%) và pH kiềm nhẹ, đây là điều kiện thích hợp cho vi sinh vật gây hư hỏng phát triển.

### 3.2 Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian cô đặc đến hàm lượng protein và hoạt tính chống oxy hóa của dịch thủy phân

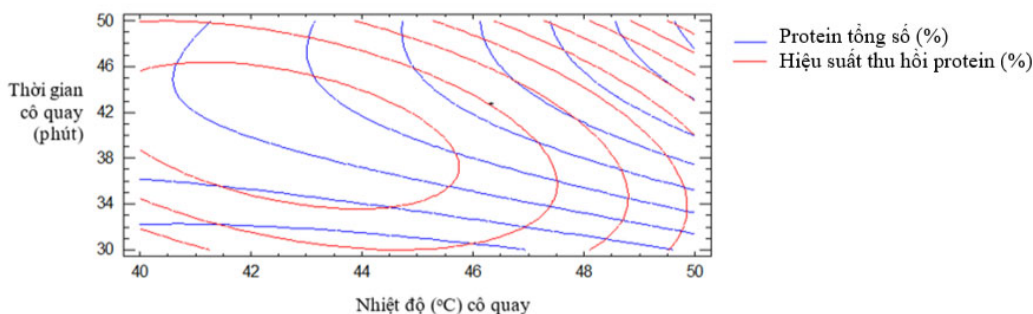
Kết quả phân tích ảnh hưởng của các nhân tố mã hóa đối với phương trình hồi quy được trình bày ở Hình 1.



Hình 1: Đồ thị biểu diễn sự tương tác của nhiệt độ và thời gian cô quay đến protein tổng số (%)

Hàm lượng protein tổng số trong dịch đậm tăng khi tăng nhiệt độ và kéo dài thời gian cô quay và đạt cực đại ở nhiệt độ 50°C; 50 phút, khi đó protein tổng số cao nhất (29,71%). Tuy nhiên, để hiệu suất thu hồi đạt 96,26 % thì nhiệt độ và thời gian tương ứng 42,57°C; 39,99 phút. Điều này cho thấy, nhiệt độ và

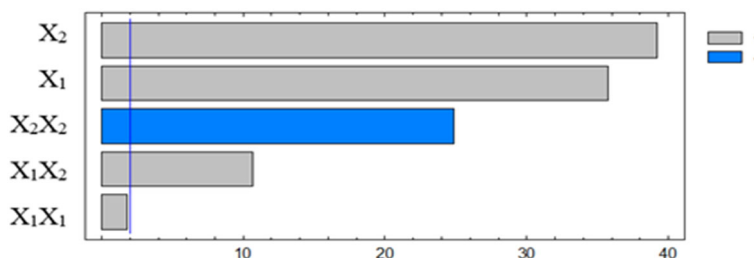
thời gian có ảnh hưởng đến quá trình cô quay, khi nhiệt độ tăng từ 45°C lên thành 50°C thì hàm lượng protein tổng số tăng mạnh do nước bốc hơi làm thể tích dịch đậm thu hồi thấp và nhiệt độ cao làm thay đổi cấu trúc, thủy phân liên kết peptit, làm biến đổi các gốc ngoại R của các axit amin.



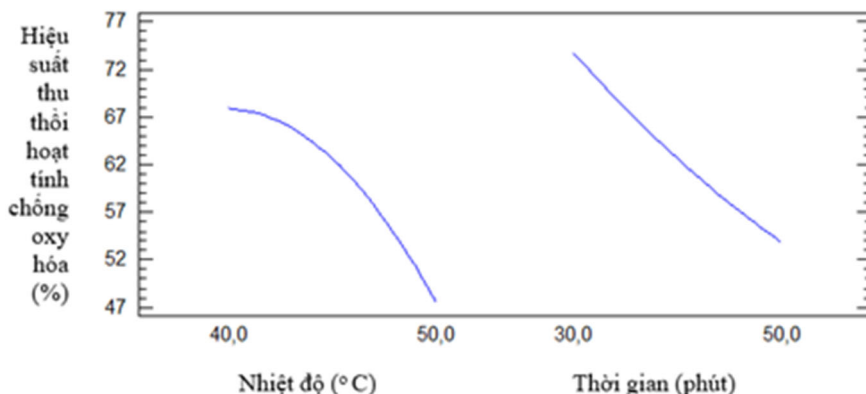
Hình 2: Đồ thị biểu diễn sự tương tác của nhiệt độ và thời gian cô quay đến protein tổng số (%) và hiệu suất thu hồi protein (%)

Tuy nhiên khi nhiệt độ tiếp tục tăng từ 45 °C÷50°C và thời gian tăng từ 45÷50 phút mặc dù thu được hàm lượng protein tổng số cao nhưng hoạt tính chống oxy hóa giảm đáng kể và giảm hẳn khi cô quay ở nhiệt độ 50°C ở 50 phút, nguyên nhân là

do hàm lượng protein tổng số tăng làm quá trình bốc hơi nước khó khăn. Đồng thời, nhiệt độ cao và thời gian cô quay kéo dài làm ảnh hưởng đến hoạt tính chống oxy hóa. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian cô quay đến hoạt tính chống oxy hóa và hiệu suất thu hồi hoạt tính chống oxy hóa thể hiện ở Hình 3.



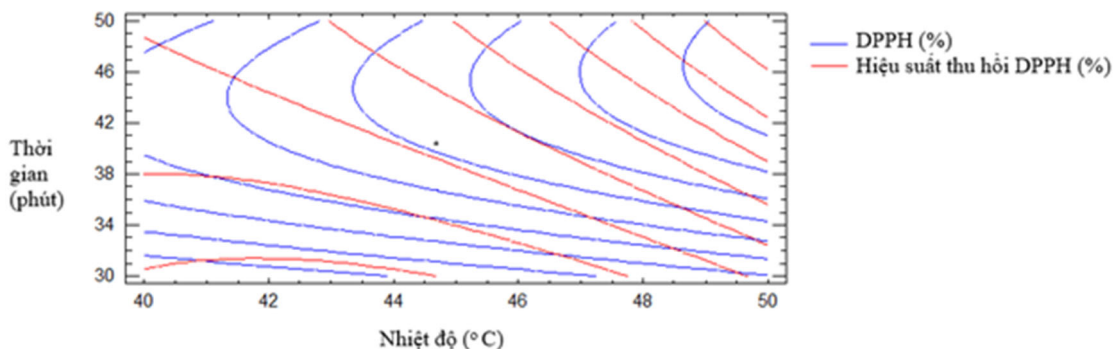
Hình 3: Đồ thị biểu diễn sự tương tác của nhiệt độ và thời gian cô quay đến hoạt tính chống oxy hóa (%)



**Hình 4: Đồ thị biểu diễn sự tương tác của nhiệt độ và thời gian cô quay đến hiệu suất thu hồi hoạt tính chống oxy hóa (%)**

Kết quả thống kê cho thấy, giá trị P của các lần lặp lại của thí nghiệm (block) có giá trị P = 99,44% và P = 93,03% gần bằng 1, chứng tỏ độ tin cậy của kết quả đo đặc giá trị tương ứng với các mẫu cô đặc ở các lần khảo sát khác nhau. Đồng thời, tất cả giá trị P của các thừa số khảo sát đều nhỏ hơn 0,05 và

giá trị F lớn hơn 10 đã chứng tỏ các nhân tố khảo sát đều ảnh hưởng đến quá trình cô đặc dịch thủy phân từ thịt đầu tôm thẻ. Hệ số hồi quy bậc một của X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>; hệ số tương tác của X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>; cũng như hệ số hồi quy bậc hai của X<sub>1</sub><sup>2</sup> và X<sub>2</sub><sup>2</sup> đều khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê.



**Hình 5: Đồ thị biểu diễn sự tương tác của nhiệt độ và thời gian cô quay đến hoạt tính chống oxy hóa (%)**

Tương tự, đồ thị Hình 3 và Hình 4 cho ta thấy nhiệt độ và thời gian là yếu tố ảnh hưởng đến khả năng chống oxy hóa của dịch protein sau cô đặc và hiệu suất thu hồi của hoạt tính chống oxy hóa thể hiện Bảng 3 hoạt tính chống oxy hóa đạt tối ưu ở nhiệt độ là 50°C và thời gian 47,01 phút là 72,65%, để hiệu suất thu hồi DPPH đạt tối ưu 75,30% thì điều kiện cô đặc tương ứng 42,11°C và thời gian 30 phút. Tương tự, hệ số hồi quy bậc một của X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>; hệ số tương tác của X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>; cũng như hệ số hồi quy bậc hai của X<sub>1</sub><sup>2</sup> và X<sub>2</sub><sup>2</sup> khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở độ tin cậy 95%. Phương trình hồi qui (1); (2); (3) và (4) của các hàm mục tiêu Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub> và Y<sub>4</sub>:

$$Y_1 = 126,166 - 6,22319X_1 + 0,193778X_2 + 0,565883X_1^2 + 0,249046X_1X_2 - 0,249046X_2^2 \quad (1)$$

$$Y_2 = -526,658 + 21,7366X_1 + 8,01603X_2 - 0,213X_1^2 - 0,0900833X_1X_2 - 0,522833X_2^2 \quad (2)$$

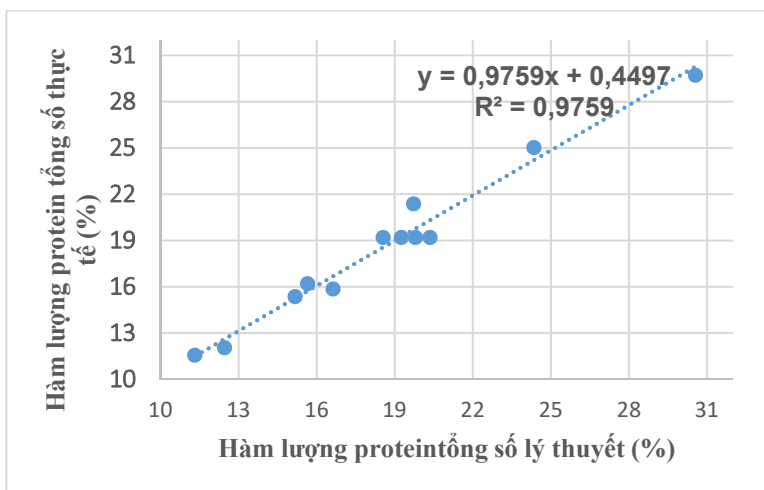
$$Y_3 = 2,12444 - 2,10644X_1 + 352133X_2 + 0,175333X_1^2 - 0,0419X_1X_2 - 0,0597333X_2^2 \quad (3)$$

$$Y_4 = -349,507 + 19,3401X_1 + 2,13103X_2 - 0,19775X_1^2 - 0,0895167X_1X_2 + 0,0113458X_2^2 \quad (4)$$

Giải phương trình hồi qui (1), (2), (3) và (4) ta có kết quả chế độ tối ưu và giá trị tối ưu cho các hàm mục tiêu Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub> và Y<sub>4</sub> (Bảng 3).

**Bảng 3: Kết quả tối ưu hóa điều kiện cô đặc đáp ứng, mục tiêu Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub> và Y<sub>4</sub>**

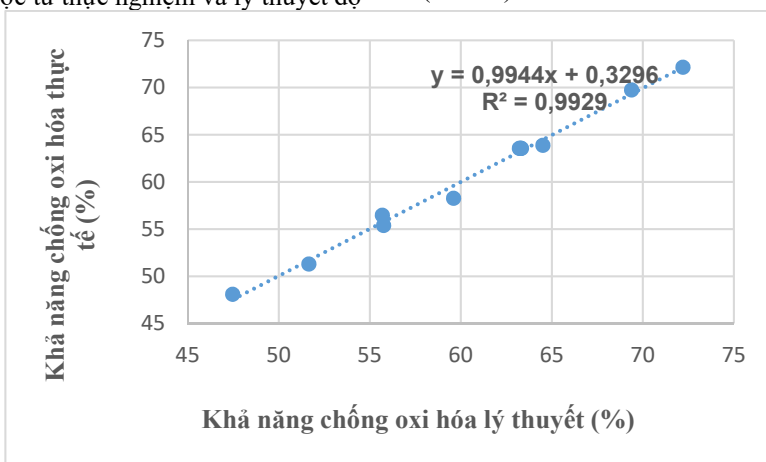
Nhân tố	Chế độ		Chế độ cô đặc				Giá trị tối ưu			
	Thấp	Cao	Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>4</sub>	Y <sub>1</sub> (%)	Y <sub>2</sub> (%)	Y <sub>3</sub> (%)	Y <sub>4</sub> (%)
X <sub>1</sub>	40,0	50,0	50,0	42,57	50,0	42,11	29,71	96,26	72,65	75,30
X <sub>2</sub>	30,0	50,0	50	39,99	47,01	30,00				



**Hình 5: Đồ thị tương quan giữa hàm lượng protein tổng số thu được từ thực nghiệm và tính toán theo phương trình hồi quy**

Tương tự hàm lượng protein, hoạt tính chống oxy hóa số thu được từ thực nghiệm và lý thuyết đ

ương thích cao ở giá trị tương ứng  $R^2 = 0,9929$  (Hình 6).



**Hình 6: Đồ thị tương quan giữa hoạt tính chống oxy hóa dịch thu được theo thực nghiệm và tính toán theo phương trình hồi quy**

Hàm lượng protein tổng số và hoạt tính chống oxy hóa thu được từ thực nghiệm và tính toán theo phương trình có độ tương thích cao ở giá trị tương ứng  $R^2 = 97,59\%$  (Hình 5) và  $R^2 = 99,29\%$  (Hình 6). Như vậy có thể kết luận rằng, phương trình hồi quy đã mô tả đúng các kết quả thực nghiệm, thể hiện sự biến đổi hàm lượng protein tăng tỷ lệ thuận với nhiệt độ và thời gian. Ngược lại, hoạt tính chống oxy hóa giảm mạnh khi tăng nhiệt độ và kéo dài thời gian cô đặc. Các biến độc lập lần lượt  $X_1$  và  $X_2$  ảnh hưởng lên protein tổng số và hoạt tính chống oxy hóa lần lượt là 97,59% và 99,31% lên DPPH, chỉ có 2,41% và 0,69% sự thay đổi là do các yếu tố không xác định được gây ra. Kết quả thống kê từ Bảng 4 cho thấy, nhiệt độ và thời gian có ảnh hưởng đến quá trình cô

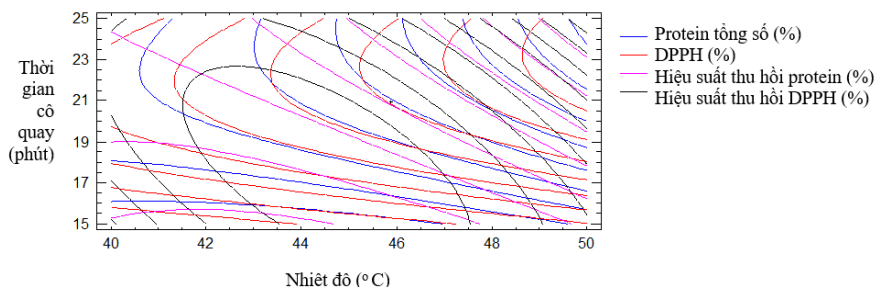
đặc, hàm lượng protein tổng số tăng mạnh khi tăng nhiệt độ 50°C và thời gian 25 phút, do nước bốc hơi làm tăng hàm lượng protein tổng số (thể tích dịch đậm cô đặc thu hồi thấp) đến 29,71% và DPPH đến 2,1 lần. Tuy nhiên, xét trên hiệu suất thu hồi nhiệt độ cao và thời gian kéo dài làm thay đổi cấu trúc, thủy phân liên kết peptit, làm biến đổi các gốc ngoại R của các acid amine làm ảnh hưởng lớn đến hoạt tính chống oxy hóa của dịch cô đặc, dẫn đến hiệu suất thu hồi hoạt tính chống oxy hóa thấp nhất (35,59%) tại điều kiện nhiệt độ 50°C và thời gian 50 phút. Đề quá trình cô đặc đáp ứng nhiều mục tiêu thu được dịch cô đặc vừa có hàm lượng protein tổng số và hoạt tính chống oxy đạt tối ưu vừa đảm bảo hiệu suất thu hồi tốt nhất, kết quả thống kê thu được thể hiện ở Hình 7 và Bảng 4.

**Bảng 4: Kết quả tối ưu hóa điều kiện cô đặc nhiều đáp ứng, mục tiêu Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub> và Y<sub>4</sub>**

Nhân tố	Chế độ		Chế độ tối ưu	Giá trị tối ưu			
	Thấp	Cao		Y <sub>1</sub> - P%	Y <sub>2</sub> HSTH P (%)	Y <sub>3</sub> - DPPH%	Y <sub>4</sub> - HSTH DPPH%
X <sub>1</sub>	40,0	50,0	45,58	20,56	93,64	65,21	59,47
X <sub>2</sub>	30,0	50,0	41,85				

Dựa vào kết quả phân tích sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng chống oxy hóa của sản phẩm sau khi nhiệt độ càng tăng thì khả năng chống oxy hóa càng giảm, vì nhiệt độ tăng làm đứt gãy các liên kết của các phân tử dipeptide, tripeptide mạch ngắn. Các peptide này là một nguồn protein có hoạt tính

sinh học (Gildberg and Stenberg, 2001). Do đó, nhiệt độ cao sẽ làm giảm khả năng chống oxy hóa của sản phẩm. Đồ thị bề mặt đáp ứng và đồ thị đường đồng điểm được thể hiện đồng thời ở Hình 5 một lần nữa khẳng định cả hai yếu tố nhiệt độ và thời gian đều ảnh hưởng đến quá trình cô đặc dịch thủy phân.



**Hình 7: Đồ thị biểu diễn sự tương tác của nhiệt độ và thời gian cô đặc dựa trên cả 4 hàm mục tiêu Y<sub>1</sub>; Y<sub>2</sub>; Y<sub>3</sub> và Y<sub>4</sub>**

Để đảm bảo đạt tối ưu các hàm mục tiêu, kết quả xác định thu được giá trị nhiệt độ và thời gian cô đặc 45,58°C và thời gian tương ứng là 41,85 phút. Trong khảo sát thực tế, chọn lựa mức nhiệt độ 46°C và thời gian 42 phút, hàm lượng protein tổng số là 20,58% và hoạt tính chống oxy hóa đạt 65,38%.

**3.3 Sự biến đổi dịch cô đặc theo thời gian bảo quản**

Dịch thủy phân thịt đầu tôm thể sau quá trình cô quay là nguyên liệu rất dễ bị hư hỏng do chứa hàm lượng đạm cao, pH trung tính là môi trường thuận lợi vì sinh vật gây hại sẽ phát triển mạnh gây hư hỏng thực phẩm, song song đó hoạt tính chống oxy hóa của dịch cô đặc rất dễ biến đổi do các yếu tố bên

ngoài như nhiệt độ, ánh sáng... Vì thế, việc bảo quản lạnh đông dịch thủy phân trước khi tiến hành sử dụng là vấn đề cấp bách hàng đầu nhằm duy trì chất lượng của dịch protein cô đặc. Mặc dù bảo quản lạnh đông có thể ngăn được sự phát triển của vi sinh vật gây hại nhưng cũng sẽ ảnh hưởng đến hàm lượng đạm tổng số, sự tự phân hủy các axit amin cũng như hàm lượng NH<sub>3</sub> sinh ra trong quá trình bảo quản, ảnh hưởng đến khả năng chống oxy hóa của dịch cô đặc. Vì vậy, việc khảo sát sự thay đổi hàm lượng protein tổng số, hoạt tính chống oxy hóa và hàm lượng NH<sub>3</sub> sinh ra của dịch cô đặc theo thời gian bảo quản lạnh đông là rất cần thiết. Kết quả hàm lượng protein tổng số, hoạt tính chống oxy hóa và hàm lượng NH<sub>3</sub> được thể hiện ở Bảng 5.

**Bảng 5: Sự biến đổi thành phần của dịch cô đặc theo thời gian bảo quản**

Thời gian bảo quản (tháng)	Hàm lượng protein tổng số (%)	Hàm lượng NH <sub>3</sub> (mg N/100 g)	Hoạt tính chống oxy hóa (*), %DPPH
0	20,58 <sup>a</sup> ±0,95	62,53 <sup>a</sup> ±0,61	65,38 <sup>a</sup> ±0,46
1	20,50 <sup>a</sup> ±0,80	63,50 <sup>ab</sup> ±0,47	65,20 <sup>a</sup> ±0,59
2	20,45 <sup>a</sup> ±0,85	63,67 <sup>ab</sup> ±0,54	65,00 <sup>a</sup> ±0,86
3	20,42 <sup>a</sup> ±0,84	63,81 <sup>b</sup> ±0,27	64,30 <sup>a</sup> ±0,62
4	20,34 <sup>a</sup> ±0,70	66,60 <sup>c</sup> ±0,97	64,24 <sup>a</sup> ±0,56
5	20,26 <sup>a</sup> ±0,91	74,07 <sup>d</sup> ±0,71	55,76 <sup>b</sup> ±0,96
6	20,20 <sup>a</sup> ±0,77	82,17 <sup>c</sup> ±0,93	53,72 <sup>c</sup> ±1,09
7	20,13 <sup>a</sup> ±0,94	89,43 <sup>f</sup> ±0,89	53,01 <sup>cd</sup> ±0,89
8	20,04 <sup>a</sup> ±0,67	103,10 <sup>g</sup> ±0,88	52,24 <sup>d</sup> ±0,32

Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa của các nghiệm thức khảo sát ở mức độ tin cậy 95%). (\*) Hoạt tính chống oxy hóa thể hiện của dịch đã được pha loãng 50 lần

Từ kết quả Bảng 5 cho thấy, chế phẩm cô đặc giàu protein có hàm lượng đạm prrotein tổng số ở điều kiện lạnh đông từ tháng 1 đến tháng thứ 8, thể hiện qua hàm lượng prrotein tổng số không có sự khác biệt (từ 20,58% đến 20,04%). Bảo quản lạnh đông ức chế hoạt động của các hệ vi sinh vật gây hư hỏng thực phẩm cũng như vi sinh vật sinh độc tố và nhiệt độ thấp làm giảm đáng kể các phản ứng hóa học và phản ứng do enzyme vốn thường xảy ra trong các thực phẩm chưa đông lạnh (Nguyễn Văn Mười và Trần Thanh Trúc, 2016). Đồng thời, hàm lượng NH<sub>3</sub> tăng do chế phẩm giàu protein chứa chủ yếu là đạm amin hòa tan và đạm bay hơi và có mối quan hệ mật thiết đến quá trình oxy hóa của dịch đậm thủy phân. Theo nghiên cứu của Sila *et al.* (2014) về đầu tôm thủy phân, đạm tổng chiếm 72,3% và acid amin 529,93 mg/g. Sau quá trình thủy phân tạo ra các đoạn peptit chứa 3-20 acid amin có hoạt tính sinh học, đặc biệt chứa các axit amin như: arginine, lysine, histidine và leucine. Dịch thủy phân được bảo quản một thời gian sau thì hàm lượng đạm, axit amin bị phân hủy thành các sản phẩm thứ cấp ảnh hưởng đến màu sắc và mùi của sản phẩm làm giảm chất lượng. Vấn đề trên càng được chứng minh thông qua sự gia tăng hàm lượng NH<sub>3</sub> từ 62,53 đến 103,10 mgN/100 g, khi có sự gia tăng hàm lượng NH<sub>3</sub> sinh ra trong quá trình phân hủy tỷ lệ thuận với hàm lượng đạm amin mất đi. Hàm lượng NH<sub>3</sub> trong mẫu bảo quản có sự khác biệt từ tháng thứ 3 đến tháng thứ 8 và giá trị TVBN tháng thứ 8 là 103,10 mgN/100 g đã vượt mức cho phép đối với 5 mg/100 g đến 100 mg/100g theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 9215: 2012 về thủy hải sản tươi sống.

Hoạt tính chống oxy hóa tỷ lệ thuận với hàm lượng amin hòa tan, ổn định trong 4 tháng đầu bảo quản (65,38% đến 64,24%) và bắt đầu giảm mạnh từ tháng thứ 4 đến tháng thứ 8 (64,24% giảm xuống 52,24%). Điều này có thể lý giải là do hoạt tính chống oxy hóa của dịch cô đặc được hình thành do các peptit và các axit amin có khối lượng phân tử thấp tạo nên và phản ứng oxy hóa béo và đạm thường xảy ra một cách tự phát. Các gốc peroxyde của quá trình oxy hóa béo, tấn công nguyên tử hydro của phân tử protein, dẫn đến đạm có một gốc tự do (Lund *et al.*, 2011). Kết quả nghiên cứu tương đồng với nghiên cứu của Jai ganesh *et al.* (2011) cho thấy hàm lượng % DPPH là 54% của dịch đậm thủy phân từ cá *Parastromateus niger* và hoạt tính chống oxy hóa thu được tương đương với khả năng chống oxy hóa của vitamin E. Quá trình trữ đông, mặc dù giúp duy trì ổn định đặc tính nguyên liệu, nhưng quá trình phân giải, phân hủy protein và axit amin vẫn tiếp tục diễn ra, sự hình thành tinh thể đá trong quá trình lạnh đông có thể là nguyên nhân phá vỡ đặc tính cấu trúc của mô tế bào. Do đó, để dịch cô đặc giữ được giá

trị dinh dưỡng và hoạt tính sinh học tốt, khuyến khích sử dụng dịch cô đặc trong thời gian 3 tháng đầu của quá trình.

#### 4 KẾT LUẬN

Quá trình cô đặc dịch thủy phân tăng hàm lượng protein và hoạt tính chống oxy hóa. Nhiệt độ và thời gian cô đặc tối ưu lần lượt là 45,58°C; và 41,85 phút đối với các hàm mục tiêu. Thời gian bảo quản chế phẩm giàu protein cô đặc thích hợp là 3 tháng, giúp ổn định hàm lượng protein đạt 20,42 mgN/100g, duy trì khả năng hoạt tính chống oxy hóa ổn định trong khoảng 65,38÷64,30% và hàm lượng NH<sub>3</sub> 62,53÷53,81 mgN/100g.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Antonacopoulos, N. and Vyncke, W., 1989. Determination of volatile basic nitrogen: a third collaborative study by The West European Fish Technologists Association (WEFTA). *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 189(4): 309-316.
- Aleman, A., Gimenez, B., Montero, P. and Gomez-Guillen, M.C., 2011. Antioxydant activity of several marine skin gelatins. *LWT—Food Science and Technology*. 44(2): 407–413.
- Bernardini, R. D., Harnedy, P., Bolton, D., Kerry, et al., 2011. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. *Food Chem.*, 124(4): 1296-1307.
- Gildberg, A. and Stenberg, E., 2001. A new process for advanced utilisation of shrimp waste. *Process Biochemistry*, 36(8): 809-812
- Hartmann, R. and Meisel, H., 2007. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(2): 163-169.
- Huang, G.R., Zhao, J. and Jiang, J.X., 2011. Effect of defatting and enzyme type on antioxydative activity of shrimp processing by products hydrolysate. *Food Science and Biotechnology*, 20(3): 651-657
- Jai ganesh, R., Nazeer, R.A. and Sampath Kumar, N.S., 2011. Purification and identification of antioxidant peptide from black pomfret, *Parastromateus niger* (Bloch, 1975) viscera protein hydrolysate. *Food Science and Biotechnology*, 20(4): 1087-1094.
- Kim, S. K. and Wijesekara, I., 2010. Development and biological activities of marine-derived bioactive peptides: a review. *Journal of Functional Foods*, 2(1): 1-9.
- Korhonen, H. and Pihlanto, A., 2006. Bioactive peptides: Production and functionality. *International Dairy Journal*, 16((9): 945-960.
- Li, Y., Jiang, B., Zhang, T., Mu, W.M. and Liu, J., 2008. Antioxydant and free radical-scavenging



- activities of Chickpea Protein hydrolysate (CPH). *Food Process Chem.*, 106(2): 444-450.
- Lund, M.N., Heinonen, M., Baron, C.P. and Estévez, M., 2011. Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition and Food Research*, 55(1): 83-95.
- Ngô Thị Hoài Dương, 2015. Tối ưu hóa quá trình thu nhận chitin-chitosan từ phế liệu tôm thẻ chân trắng nâng cao hiệu quả chất lượng sản phẩm. Luận án Tiến sĩ. Đại học Thủy Sản Nha Trang. Thành phố Nha Trang.
- Nguyễn Văn Mười và Trần Thanh Trúc, 2016. Giáo trình Các quá trình nhiệt độ thấp trong chế biến thực phẩm. Nhà xuất bản Trường Đại học Cần Thơ, Cần Thơ.
- Nguyễn Văn Thiết và Đỗ Ngọc Tú, 2007. Nghiên cứu tách chiết chitin từ đầu-vỏ tôm bằng các phương pháp sinh học I-sử dụng bromelain trong dịch ép vỏ dứa. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 45(4): 43-50.
- Randriamahatody, Z., Syllaa, K.S.B., Nguyen, H.T.M. et al., 2011. Proteolysis of shrimp by-products (*Penaeus monodon*) from Madagascar. *CyTA - Journal of Food Science*, 9(3): 220-228.
- Sachindra, N.M., N. Bhaskar and N.S. Mahendrakar, 2006. Recovery of carotenoids from shrimp waste in organic solvents. *Waste Manage*, 26(10): 1092-1098.
- Sila, A., Sayari, N., Balti, R. et al., 2014. Biochemical and antioxidant properties of peptidic fraction of carotenoproteins generated from shrimp by-products by enzymatic hydrolysis. *Food Chemistry*, 148: 445-452.
- Ryan, A. S., J.D. Astwood, S. Gautier, C.N. Kuratko, E.B. Nelson, N. Salem, 2010. Effects of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation on neurodevelopment in childhood: a review of human studies. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 82(4-6): 305-314.
- Wu, C. H., H.M. Chen. and C.Y. Shiau., 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*, 36(9-10): 949-957.
- Zhao, J., Huang, G.R., Zhang, M.N., Chen, W.W. and Jiang, J.X., 2011. Amino Acid Composition, Molecular Weight Distribution and Antioxidant Stability of Shrimp Processing Byproduct Hydrolysate. *American Journal of Food technology*, 6(10): 904-913.