

DOI:10.22144/ctu.jvn.2022.166

## ẢNH HƯỞNG CỦA NỒNG ĐỘ VÀ THỜI GIAN THỦY PHÂN PROTEIN TỪ ĐẦU CÁ LÓC (*Channa striata*) SỬ DỤNG CÁC PROTEASE KHÁC NHAU

Trương Thị Mộng Thu<sup>1,2\*</sup>, Lê Thị Minh Thủy<sup>2</sup>, Nguyễn Văn Mười<sup>3</sup> và Trần Thanh Trúc<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Nghiên cứu sinh ngành Công nghệ Thực phẩm Khóa 2020, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>3</sup>Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Trương Thị Mộng Thu (email: tmthu@ctu.edu.vn)

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 18/02/2022

Ngày nhận bài sửa: 15/03/2022

Ngày duyệt đăng: 22/03/2022

### Title:

Effects of enzyme concentration and hydrolysis time on the recovery of fish protein hydrolysate from snakehead (*Channa striata*) head by using different proteases

### Từ khóa:

Alcalase, alkaline, dịch đậm thủy phân, đầu cá lóc, protamex

### Keywords:

Alcalase, alkaline, fish protein hydrolysate, protamex, snakehead head

### ABSTRACT

Production of fish protein hydrolysate (FPH) from seafood by-products by using different proteases was studying to produce add-value products. This research evaluated the effects of enzyme concentration and hydrolysis time of (i) alcalase (ii) protamex; and (iii) alkaline on amino acid content (Naa), protein recovery (PR) and degree of hydrolysis (DH) of FPH from snakehead head. The results showed that FPH had high Naa, PR and DH of 12.7 g/L, 49.1% and 40.5%, respectively when fish head was hydrolysed with 0.8% alcalase for 30 hours. FHP had high Naa, PR and DH of 12.5 g/L, 48.5% and 33.8%, respectively using 1.2% protamex for 24 hours. FHP had high Naa, PR and DH of 13.4 g/L, 47.2% and 36.9%, respectively applying 1.2% alkaline for 30 hours. For above results demonstrated that snakehead head was hydrolysed by using 0.8% alcalase for 30 hours to obtain high quality FPH and reduce cost.

### TÓM TẮT

Sử dụng các loại protease khác nhau để sản xuất dịch đậm thủy phân (FPH) từ phụ phẩm thủy sản đang được nghiên cứu để tạo sản phẩm giá trị gia tăng. Nghiên cứu này đánh giá ảnh hưởng của nồng độ và thời gian thủy phân của alcalase (i), protamex (ii) và alkaline (iii) lên hàm lượng đạm amin (Naa), hiệu suất thu hồi protein (PR) và hiệu suất thủy phân (DH) từ đầu cá lóc. Kết quả cho thấy FPH có Naa, PR, DH cao tương ứng lần lượt là 12,7 g/L, 49,1% và 40,5% khi thủy phân với 0,8% alcalase trong 30 giờ. FHP có Naa, PR, DH cao lần lượt là 12,5 g/L, 48,5% và 33,8% sử dụng 1,2% protamex trong 24 giờ. FHP có Naa, PR, DH cao lần lượt là 13,4 g/L, 47,2% và 36,9% ứng dụng 1,2% alkaline trong 30 giờ. Kết quả nghiên cứu chứng minh thủy phân đầu cá lóc với 0,8% alcalase trong 30 giờ thu FPH có chất lượng cao và giảm chi phí.

## 1. GIỚI THIỆU

Cá lóc (*Channa striata*) là một trong những loài cá được nuôi phổ biến ở đồng bằng sông Cửu Long. Cá có chất lượng thịt thơm ngon, giàu dinh dưỡng và có giá trị kinh tế cao (Phú và ctv., 2018). Trong 10 năm (2006-2016), diện tích nuôi cá lóc tăng

nhANH từ 132 ha lên 553 ha và sản lượng từ 22.000 tấn tăng lên 120.000 tấn (Thủy sản Việt Nam, 2022). Sự phát triển nhanh của nghề nuôi cá lóc thúc đẩy yêu cầu cấp thiết của việc phát triển các sản phẩm chế biến từ cá lóc như mắm, khô, chà bông, chả,... để góp phần tăng giá trị của ngành hàng. Tuy nhiên,

trong quá trình chế biến sản phẩm khô cá lóc, hiệu suất thu hồi thịt cá chỉ xấp xỉ 60% (Mười & Trúc, 2016) nên lượng phụ phẩm thải ra chiếm khoảng 40% tổng khối lượng nguyên liệu và cần được tận dụng để tạo ra những sản phẩm có giá trị kinh tế. Chính vì vậy, việc chế biến và xử lý phụ phẩm cá lóc nhằm thu hồi protein và sản xuất các chế phẩm có giá trị kinh tế cao hơn, đồng thời tránh các vấn đề môi trường đang được quan tâm nghiên cứu. Trong đó, ứng dụng enzyme thủy phân thu hồi protein từ phụ phẩm cá là cách tiếp cận hiệu quả và được ứng dụng rộng rãi (Kristinsson & Rasco, 2000). Trong số protease thủy phân protein thì alcalase có hoạt tính endopeptidase có nguồn gốc từ vi khuẩn *Bacillus licheniformis* (Gupta et al., 2002), nhờ vào hoạt tính endopeptidase của alcalase cắt liên kết peptide bên trong phân tử protein đem lại hiệu quả thủy phân và hiệu suất thu hồi protein cao (See et al., 2011). Protamex cũng là một endopeptidase có nguồn gốc từ vi khuẩn *Bacillus* của hãng novozyme (Đan Mạch). Protamex được biết đến là loại enzyme cho sản phẩm thủy phân ít đắng (Thùy & Thùy, 2016). Alkaline là một protease acid được sản xuất từ một chủng chọn lọc của *Aspergillus sp* được sản xuất ở Ấn Độ (Thùy & Thu, 2021). Nghiên cứu ứng dụng protease thủy phân protein để thu dịch đậm hòa tan giàu amino acid từ protein cá là cơ sở quan trọng để tiếp tục phát triển sản xuất ra nhiều dòng sản phẩm giá trị gia tăng như: các loại nước chấm cao cấp, bổ sung dinh dưỡng cho nhiều loại thực phẩm, ứng dụng trong nông học, y dược (Thùy & Thùy, 2016). Do đó, đã có nhiều nghiên cứu sử dụng protease để thủy phân phụ phẩm thủy sản thu hồi protein như thủy phân protein từ phụ phẩm cá lóc bằng enzyme alcalase (Thur, 2018). Nguyen et al. (2011) đã nghiên cứu thủy phân phụ phẩm cá ngừ bằng protamex và xác định đặc tính sinh hóa của sản phẩm thủy phân. Thùy và Thu (2021) đã nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ cao kết hợp thủy phân bằng alkaline đến hiệu quả thu nhận bột khoáng giàu calcium từ xương cá lóc (*Channa striata*). Tuy nhiên, hiện nay chưa có nghiên cứu ứng dụng protease khác nhau để thủy phân đầu cá lóc. Vì vậy, nghiên cứu ảnh hưởng nồng độ và thời gian thủy phân protein từ đầu cá lóc (*Channa striata*) sử dụng protease khác nhau được thực hiện nhằm thu hồi protein từ đầu cá lóc và giúp giảm ô nhiễm môi trường do phụ phẩm cá thải ra.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Đầu cá lóc (110-150 g/đầu) được mua tại cơ sở sản xuất khô cá lóc 7 Chóp (Thoại Sơn, An Giang).

Đầu cá được thu gom tại cơ sở, làm đông ở nhiệt độ  $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$  và đóng thùng chuyên về phòng thí nghiệm Bộ môn Chế biến Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ không quá 6 giờ. Đầu cá lóc được loại bỏ mắt, mang, bóng nhớt, rửa sạch nhớt và máu bằng nước muối loãng 0,5%. Đầu cá lóc được bảo quản đông ở nhiệt độ  $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$  (thời gian tồn trữ không quá 2 tháng). Khi tiến hành thí nghiệm, đầu cá lóc được rã đông, cắt đôi và xay 1 phút bằng máy xay công nghiệp với tốc độ quay của trục vít là 1.400 vòng/phút và tiến hành xử lý loại lipid trước khi tiến hành thí nghiệm thủy phân.

Alcalase là protease được sản xuất bởi Công ty Novozyme của Đan Mạch, là enzyme từ vi khuẩn *Bacillus lichenniformis*. Alcalase có hoạt tính 825 U/mL, hoạt động tối ưu trong khoảng nhiệt độ  $50-60^{\circ}\text{C}$  và pH 6,5-8,5 (Liaset et al., 2002).

Protamex thuộc nhóm endopeptidase, có nguồn gốc từ vi khuẩn *Bacillus*, được sản xuất bởi Công ty Novozyme (Đan Mạch). Protamex hoạt động thích hợp trong khoảng pH 5,5-7,5 và nhiệt độ  $45-65^{\circ}\text{C}$  (Thùy & Thùy, 2016).

Alkaline dạng bột được sản xuất tại Ấn Độ, nhập khẩu và phân phối bởi công ty TNHH Thương mại Hóa chất và Nông sản Phương Trâm (Phutraco, Hồ Chí Minh), enzyme hoạt động tốt ở pH từ 7,0 đến 9,0, nhiệt độ  $45-60^{\circ}\text{C}$ .

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của nồng độ enzyme và thời gian thủy phân protein đầu cá lóc bằng alcalase

**Bố trí thí nghiệm:** Thí nghiệm được bố trí với 2 nhân tố nồng độ alcalase (0,6, 0,8, 1,0 và 1,2%) và thời gian thủy phân (18, 24, 30 và 36 giờ), tổng số 16 nghiệm thức và 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức. Khối lượng mỗi mẫu là 40 g. Đầu cá lóc được xử lý, xay nhuyễn trước khi thủy phân. Các thông số cố định trong quá trình thủy phân được chọn dựa vào kết quả nghiên cứu của Kechaou et al. (2009) như tỷ lệ nguyên liệu : dung dịch ethanol  $20^{\circ}\text{C}$  là 1:1, nhiệt độ thủy phân ở  $50^{\circ}\text{C}$ , pH 8.

Sau khi kết thúc quá trình thủy phân, bất hoạt enzyme ở nhiệt độ  $95^{\circ}\text{C}$  trong 10 phút, lọc qua rây để loại bã đầu và thu phần dịch lọc. Phần dịch lọc được ly tâm với tốc độ 7.500 vòng/phút trong 30 phút ở  $4^{\circ}\text{C}$ . Sau ly tâm, sản phẩm được tách thành 3 lớp: lớp lipid phía trên cùng, lớp dịch đậm thủy phân ở giữa và lớp rắn dưới đáy. Ống ly tâm được làm lạnh bằng nước đá trước và sau khi ly tâm 30 phút cho lớp lipid đông lại, dùng muỗng vớt lớp lipid; lọc qua vải lọc để thu phần dịch đậm thủy phân và phân

tích các chỉ tiêu. Phần rắn được giữ lại trong ống ly tâm.

Các chỉ tiêu như hàm lượng đạm (g/L), hiệu suất thủy phân (%) và hiệu suất thu hồi protein (%) trong phần dịch đạm thủy phân được phân tích nhằm tìm nồng độ alcalase và thời gian thủy phân thích hợp nhất.

2.2.2. *Thí nghiệm 2: Khảo sát nồng độ protamex và thời gian thủy phân thích hợp cho quá trình thủy phân protein từ đầu cá lóc*

**Bố trí thí nghiệm:** Thí nghiệm được bố trí với 2 nhân tố nồng độ protamex (0,6; 0,8; 1,0 và 1,2%) và thời gian thủy phân (18, 24, 30 và 36 giờ), tổng số 16 nghiệm thức và 3 lần lặp lại mỗi nghiệm thức. Khối lượng mỗi mẫu thí nghiệm là 40 g. Đầu cá lóc được xử lý, xay nhuyễn trước khi thủy phân. Các thông số cố định trong quá trình thủy phân như tỷ lệ nguyên liệu : dung dịch ethanol 20°C là 1:1 và nhiệt độ thủy phân ở 50°C; pH tự nhiên của nguyên liệu (Thủy & Thủy, 2016). Kết thúc quá trình thủy phân, bất hoạt enzyme, lọc và ly tâm như thí nghiệm 1 thu dịch đạm thủy phân. Các chỉ tiêu phân tích tương tự như thí nghiệm 1.

2.2.3. *Thí nghiệm 3: Xác định nồng độ alkaline và thời gian thủy phân thích hợp cho quá trình thủy phân protein từ đầu cá lóc*

**Bố trí thí nghiệm:** Thí nghiệm được bố trí với 2 nhân tố nồng độ alkaline (0,6, 0,8, 1,0 và 1,2%) và thời gian thủy phân (18, 24, 30 và 36 giờ), tổng số 16 nghiệm thức và 3 lần lặp lại mỗi nghiệm thức. Khối lượng mỗi mẫu là 40 g. Đầu cá lóc được xử lý, xay nhuyễn trước khi thủy phân. Phương pháp và các chỉ tiêu khảo sát tương tự như thí nghiệm 1.

**2.3. Phương pháp phân tích**

Hàm lượng đạm amin (Naa) được xác định theo TCVN 3708 – 90 (1990).

Hiệu suất thủy phân - DH (%) xác định bằng phương pháp OPA (Ortho-phthalaldehyde), dựa trên nguyên tắc các nhóm amin của amino acid hoặc peptide phản ứng với ortho-phthalaldehyde với sự có mặt của nhóm thiol của dithiothreitol hoặc mercaptoethanol sẽ tạo ra hợp chất có khả năng hấp thụ ở bước sóng 340 nm (Nielsen et al., 2001).

$$DH (\%) = (h/h_{tot}) * 100$$

Trong đó:  $h = [(Serine-NH_2) - \beta] / \alpha$ ;  $Serine-NH_2 = [(C_s \times d \times V) / (M \times P)]$ ;  $C_s = [(OD_s - OD_o) \times 0,9515] / (OD_{SD} - OD_o)$ ; với  $H_{tot}$ ,  $\alpha$  và  $\beta$  là 8,6, 1,0 và 0,4 cho nguyên liệu cá; d: độ pha loãng mẫu; V: khối lượng dịch thủy phân (g); M: khối lượng nguyên liệu và nước trước khi thủy phân (g); P: hàm

lượng protein trong nguyên liệu đầu cá (%);  $OD_s$ ,  $OD_o$  và  $OD_{SD}$ : độ hấp thụ ở 340 nm của mẫu dịch đạm, mẫu không và mẫu chuẩn serine.

Hiệu suất thu hồi protein (PR, %) được xác định theo phương pháp của Wang et al. (2018). Hiệu suất thu hồi protein được tính theo công thức:  $PR (\%) = (Hàm\ lượng\ protein\ tổng\ số\ trong\ dịch\ thủy\ phân \times khối\ lượng\ dịch\ đạm\ thủy\ phân) \times 100 / (hàm\ lượng\ protein\ tổng\ số\ trong\ nguyên\ liệu\ đầu\ cá \times khối\ lượng\ nguyên\ liệu)$ .

**2.4. Phương pháp xử lý số liệu**

Số liệu thu thập được tính trung bình, độ lệch chuẩn sử dụng chương trình Microsoft Excel 2016. Sự khác biệt của các nhân tố giữa các nghiệm thức được phân tích bằng ANOVA hai nhân tố với mức ý nghĩa 95% và phép thử Duncan ( $p < 0,05$ ) bằng chương trình Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 16.0.

**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

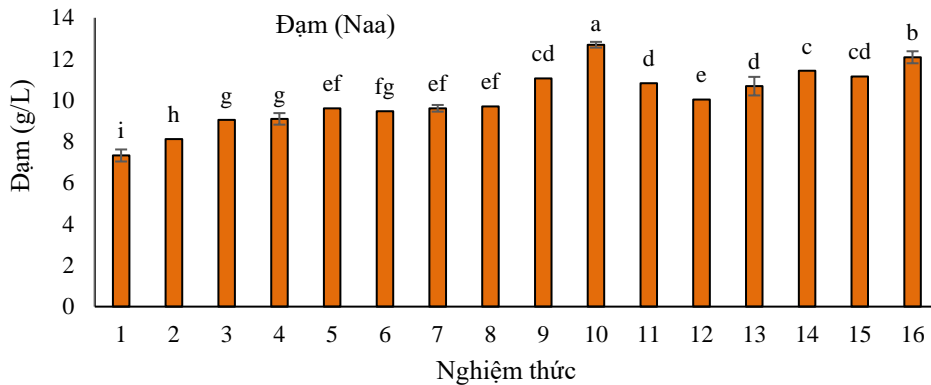
**3.1. Ảnh hưởng của nồng độ alcalase và thời gian thủy phân protein từ đầu cá lóc**

Hàm lượng đạm amin (Naa), hiệu suất thủy phân (DH) và hiệu suất thu hồi protein (PR) của dịch đạm thủy phân từ đầu cá lóc theo nồng độ enzyme và thời gian thủy phân bằng enzyme alcalase được thể hiện ở Hình 1 và Hình 2.

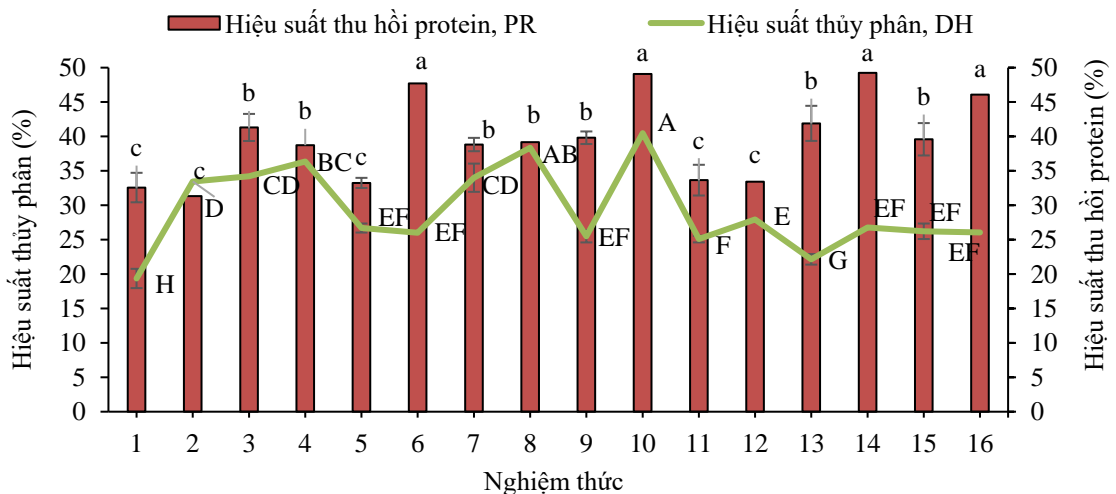
Giá trị của các chỉ tiêu Naa, DH và PR có khuynh hướng tăng khi nồng độ enzyme và thời gian thủy phân tăng. Tuy nhiên, khi nồng độ enzyme quá cao và thời gian thủy phân quá dài thì các chỉ tiêu có khuynh hướng giảm xuống. Cụ thể, khi tăng nồng độ alcalase từ 0,6% lên 0,8% và thời gian thủy phân tăng từ 18 lên 30 giờ thì Naa, DH và PR tăng và đạt cực đại ở nghiệm thức nồng độ 0,8% alcalase và thời gian 30 giờ với Naa, DH và PR cao nhất tương ứng là 12,7 g/L, 40,5% và 49,1%. Nguyên nhân là do nồng độ enzyme alcalase tăng làm cho quá trình cắt mạch polypeptide trong phân tử protein diễn ra mạnh, dẫn đến hiệu suất thủy phân tăng, đồng thời quá trình thủy phân sinh ra một lượng lớn sản phẩm dẫn đến hàm lượng đạm amin và hiệu suất thu hồi protein tăng (Thủy & Thủy, 2016). Tuy nhiên, nếu tỷ lệ enzyme alcalase tăng lên đến 1,2% và thời gian thủy phân kéo dài đến 36 giờ thì hiệu suất thủy phân và hiệu suất thu hồi protein và hàm lượng đạm giảm vì trong thời gian đầu, quá trình thủy phân xảy ra mạnh sẽ có một lượng lớn liên kết peptide trong phân tử protein bị phân cắt sinh ra các peptide mạch ngắn có thể đóng vai trò như chất kim hãm không cạnh tranh khi enzyme có ái lực với cả các sản phẩm tạo thành của quá trình thủy phân và cơ chất, dẫn

đến hiệu suất thủy phân giảm và hiệu suất thu hồi protein giảm (Copeland, 2000). Thời gian thủy phân ngắn (18 và 24 giờ) chưa đủ để enzyme tiếp xúc và phân cắt protein nên hiệu suất thủy phân và hiệu suất thu hồi protein, hàm lượng đạm thấp. Do đó, thời gian thủy phân phải đảm bảo để enzyme có thể phân cắt các liên kết trong cơ chất, tạo được sản phẩm cuối cùng mong muốn (Thu & Thủy, 2020). Nếu thời gian thủy phân tác động kéo dài thì enzyme có điều kiện thủy phân protein triệt để (Thủy & Tuấn,

2017). Tuy nhiên, khi cơ chất cần thủy phân đã thủy phân hết, quá trình thủy phân kết thúc, việc kéo dài thời gian thủy phân quá mức (36 giờ) khi cơ chất đã hết thì các sản phẩm của quá trình thủy phân tiếp tục phân cắt làm giảm hiệu suất thủy phân và hiệu suất thu hồi protein (See et al., 2011). Đồng thời, việc kéo dài thời gian thủy phân tạo điều kiện cho vi sinh vật gây thối sử dụng một lượng amino acid tạo thành các sản phẩm cấp thấp như NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S... nên hàm lượng đạm amin giảm (Thủy & Thủy, 2016).



Hình 1. Naa theo thời gian thủy phân đầu cá lọc ở các nồng độ alcalase khác nhau



Hình 2. PR và DH theo thời gian thủy phân đầu cá ở nồng độ alcalase khác nhau

Chú thích: Nghiệm thức 1 (NT1): 0,6% alcalase, 18 giờ; NT2: 0,8% alcalase, 18 giờ; NT3: 1,0% alcalase, 18 giờ; NT4: 1,2% alcalase, 18 giờ; NT5: 0,6% alcalase, 24 giờ; NT6: 0,8% alcalase, 24 giờ; NT7: 1,0% alcalase, 24 giờ; NT8: 1,2% alcalase, 24 giờ; NT9: 0,6% alcalase, 30 giờ; NT10: 0,8% alcalase, 30 giờ; NT11: 1,0% alcalase, 30 giờ; NT12: 1,2% alcalase, 30 giờ; NT13: 0,6% alcalase, 36 giờ; NT14: 0,8% alcalase, 36 giờ; NT15: 1,0% alcalase, 36 giờ; NT16: 1,2% alcalase, 36 giờ

Kết quả này khác với nghiên cứu của Thiên và ctv. (2017) khi nghiên cứu thủy phân thịt vụn cá tra bằng enzyme alcalase với điều kiện thủy phân thích hợp là pH 8,0 và nhiệt độ thủy phân là 55°C, nồng độ là 1,0% alcalase (w/w); tại điều kiện này, hiệu

suất thu hồi protein đạt 70% và hiệu suất thủy phân 18%. Thanh và ctv. (2019) cho thấy điều kiện tối ưu cho quá trình thủy phân phụ phẩm cá lười trâu bằng alcalase là ở nhiệt độ 60°C, pH 8,0, nồng độ alcalase 0,2% cho hiệu suất thủy phân cao nhất là 33,4%.

Hiệu suất thủy phân, hiệu suất thu hồi protein giữa các nghiên cứu có sự khác biệt có thể là do khác nhau về nguồn nguyên liệu, thành phần hóa học, nồng độ enzyme, thời gian thủy phân và điều kiện thủy phân.

Như vậy, nghiệm thức nồng độ alcalase 0,8% và thời gian thủy phân 30 giờ cho hàm lượng đạm amin, hiệu suất thủy phân và hiệu suất thu hồi protein cao nhất lần lượt là 12,7 g/L, 40,5% và 49,1% nên được chọn làm thông số thích hợp cho quá trình thủy phân đầu cá lóc bằng alcalase.

**3.2. Ảnh hưởng của nồng độ protamex và thời gian thủy phân protein đầu cá lóc**

Hàm lượng đạm (Naa), hiệu suất thu hồi protein (PR) và hiệu suất thủy phân (DH) thu được từ quá trình thủy phân đầu cá lóc bằng protamex ở nồng độ enzyme và thời gian thủy phân khác nhau được thể hiện qua Hình 3 và Hình 4.

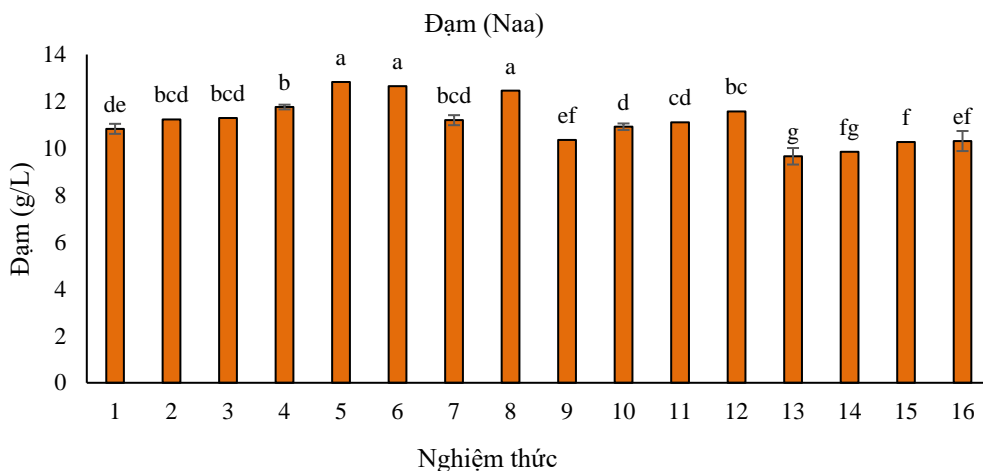
Hình 3 và Hình 4 cho thấy khi nồng độ protamex tăng từ 0,6 lên 1,2% và thời gian thủy phân tăng từ 18 lên 24 giờ thì Naa, DH và PR tăng và đạt cực đại ở nghiệm thức 8 (nồng độ 1,2% protamex và thời gian 24 giờ) với Naa, DH và PR cao nhất tương ứng lần lượt là 12,5 g/L, 33,8% và 48,5%. Điều này có thể được giải thích là do khi tăng nồng độ enzyme và thời gian thủy phân thì tác dụng cắt mạch peptide trong phân tử protein tăng dẫn đến DH tăng. Khi DH tăng dẫn đến PR và Naa tăng (Liaset et al., 2002).

Các nghiên cứu trước đây cho thấy sự hòa tan nitơ (hay protein) dưới tác dụng của enzyme trong

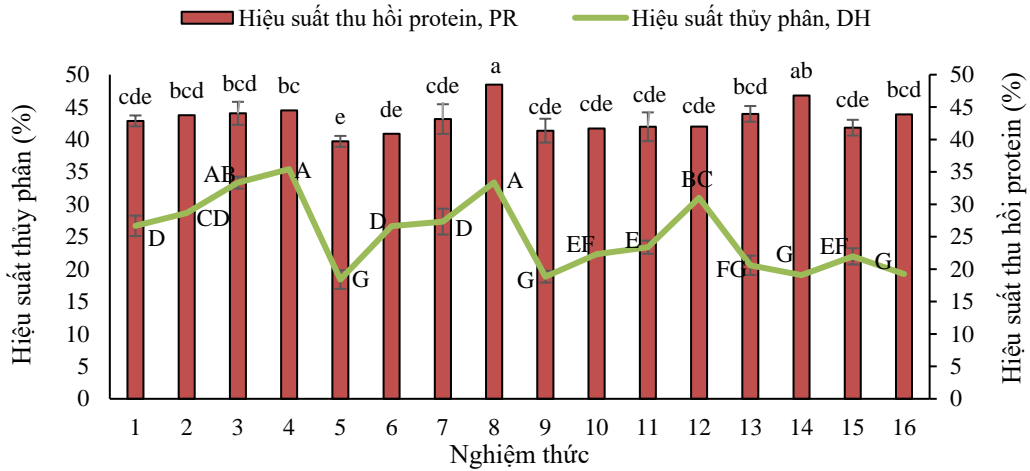
quá trình thủy phân tăng theo nồng độ enzyme và thời gian thủy phân tăng, dẫn đến DH, PR và Naa tăng (Chun et al., 2006; Wachirattanapongmetee et al., 2009; Ovissipour et al., 2010; Amiza et al., 2012). Tuy nhiên, khi tăng thời gian thủy phân đến 30 và 36 giờ thì DH, PR và Naa giảm. Nguyên nhân có thể do thời gian thủy phân càng kéo dài khi cơ chất đã hết thì các sản phẩm của quá trình thủy phân tiếp tục phân cắt làm giảm hiệu suất thủy phân (See et al., 2011). Một lượng amino acid bị vi sinh vật gây thối sử dụng tạo thành các sản phẩm cấp thấp như NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S... nên PR và Naa giảm (Thùy & Thùy, 2016).

So sánh kết quả nghiên cứu của Thùy và Thùy (2016) điều kiện thủy phân cá trích (*Sardinella gibbose*) bởi enzyme protamex ở nhiệt độ 50°C, pH tự nhiên, nồng độ protamex 0,5% (w/v) trong 6 giờ đạt hiệu suất thủy phân là 70,7%. Hương (2012) nghiên cứu sản xuất sản phẩm thủy phân protein từ đầu cá ngừ vây vàng bằng 0,5% protamex ở nhiệt độ 45°C, pH tự nhiên và thời gian 6 giờ thì hiệu suất thủy phân đạt được 30,1%. Nguyen et al. (2011) đã nghiên cứu thủy phân đầu, nội tạng và đuôi cá ngừ bằng enzyme protamex cho thấy điều kiện thích hợp thủy phân là nhiệt độ 45°C, tỉ lệ nước/nguyên liệu là 1/1, nồng độ protamex 0,1%, pH tự nhiên, thời gian 12 giờ cho hiệu suất thủy phân của đầu, nội tạng và đuôi lần lượt là 32,3%; 16,8% và 22,2%.

Nghiệm thức 8 (nồng độ protamex 1,2% và thời gian thủy phân 24 giờ) có DH, PR và Naa cao nhất tương ứng là 33,8%, 48,5% và 12,5 g/L được chọn là thích hợp.



**Hình 3. Naa theo thời gian thủy phân đầu cá lóc ở các nồng độ protamex khác nhau**



**Hình 4. PR và DH theo thời gian thủy phân đầu cá ở nồng độ protamex khác nhau**

Chú thích: *Nghiệm thức (NT) 1: 0,6% protamex, 18 giờ; NT2: 0,8% protamex, 18 giờ; NT3: 1,0% protamex, 18 giờ; NT4: 1,2% protamex, 18 giờ; NT5: 0,6% protamex, 24 giờ; NT6: 0,8% protamex, 24 giờ; NT7: 1,0% protamex, 24 giờ; NT8: 1,2% protamex, 24 giờ; NT9: 0,6% protamex, 30 giờ; NT10: 0,8% protamex, 30 giờ; NT11: 1,0% protamex, 30 giờ; NT12: 1,2% protamex, 30 giờ; NT13: 0,6% protamex, 36 giờ; NT14: 0,8% protamex, 36 giờ; NT15: 1,0% protamex, 36 giờ; NT16: 1,2% protamex, 36 giờ*

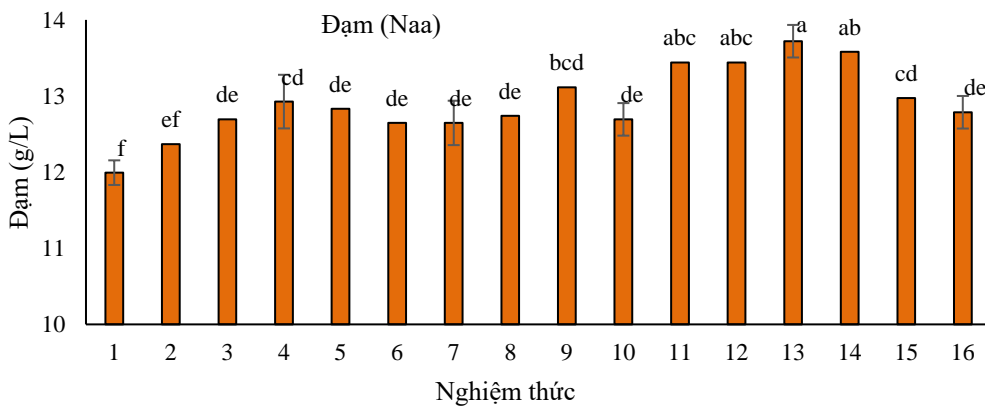
**3.3. Ảnh hưởng của nồng độ alkaline và thời gian thủy phân protein đầu cá lóc**

Hàm lượng đạm (Naa), hiệu suất thu hồi protein (PR) và hiệu suất thủy phân (DH) theo nồng độ enzyme và thời gian thủy phân khác nhau bằng alkaline được thể hiện qua Hình 5 và Hình 6.

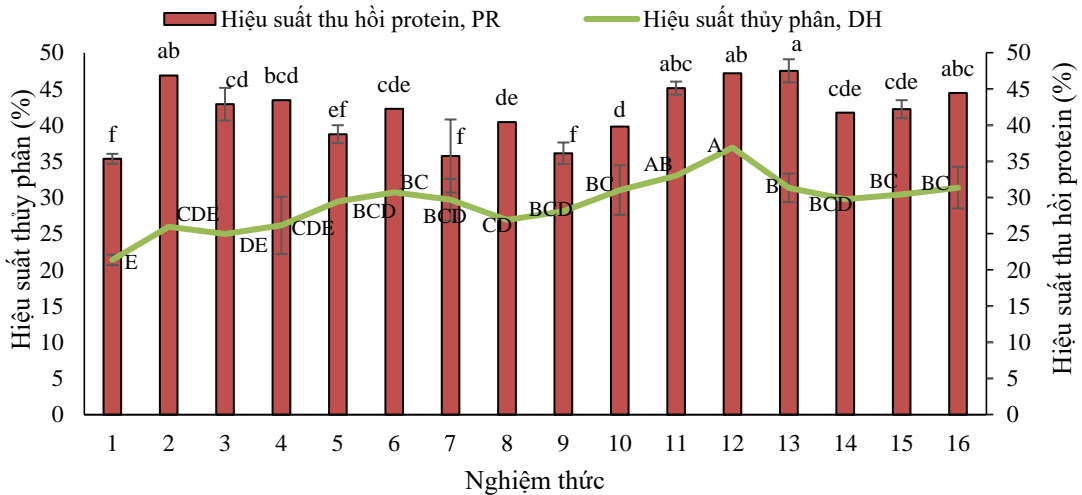
Kết quả ở Hình 5 và Hình 6 cho thấy khi nồng độ alkaline tăng từ 0,6 lên 1,2% và thời gian thủy phân tăng từ 18 lên 30 giờ thì Naa, DH và PR tăng và đạt cực đại ở nghiệm thức nồng độ 1,2% alkaline và thời gian 30 giờ với DH, PR và Naa cao nhất tương ứng là 36,9%, 47,2% và 13,4 g/L.

Motamedzadegan et al. (2010) cũng chỉ ra rằng mức độ thủy phân tăng theo nồng độ enzyme và thời gian thủy phân. Tuy nhiên, kéo dài thời gian thủy phân quá mức (36 giờ) thì Naa, DH và PR giảm do hết cơ chất và các sản phẩm của quá trình thủy phân tiếp tục phân cắt làm giảm DH (See et al., 2011). Đồng thời, amino acid bị phân hủy bởi vi sinh vật nên PR và Naa giảm (Thùy & Thùy, 2016).

Nghiệm thức nồng độ enzyme alkaline 1,2% và thời gian thủy phân 30 giờ cho hàm lượng đạm, hiệu suất thu hồi protein và hiệu suất thủy phân cao nhất lần lượt là 13,4 g/L, 47,2% và 36,9% nên được chọn là phù hợp cho quá trình thủy phân đầu cá lóc bằng enzyme alkaline.



**Hình 5. Naa theo thời gian thủy phân đầu cá lóc ở các nồng độ alkaline khác nhau**



**Hình 6. PR và DH theo thời gian thủy phân đầu cá ở nồng độ alkaline khác nhau**

Chú thích: Nghiệm thức (NT) 1: 0,6% alkaline, 18 giờ; NT2: 0,8% alkaline, 18 giờ; NT3: 1,0% alkaline, 18 giờ; NT4: 1,2% alkaline, 18 giờ; NT5: 0,6% alkaline, 24 giờ; NT6: 0,8% alkaline, 24 giờ; NT7: 1,0% alkaline, 24 giờ; NT8: 1,2% alkaline, 24 giờ; NT9: 0,6% alkaline, 30 giờ; NT10: 0,8% alkaline, 30 giờ; NT11: 1,0% alkaline, 30 giờ; NT12: 1,2% alkaline, 30 giờ; NT13: 0,6% alkaline, 36 giờ; NT14: 0,8% alkaline, 36 giờ; NT15: 1,0% alkaline, 36 giờ; NT16: 1,2% alkaline, 36 giờ

**Bảng 1. So sánh Naa, PR và DH được thủy phân từ đầu cá lóc theo protease khác nhau**

| Protease | Naa (g/L)              | PR (%)                 | DH (%)                 |
|----------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Alcalase | 12,7±0,16 <sup>b</sup> | 49,1±2,30 <sup>a</sup> | 40,5±1,00 <sup>a</sup> |
| Protamex | 12,5±0,28 <sup>b</sup> | 48,5±1,22 <sup>a</sup> | 33,8±0,64 <sup>c</sup> |
| Alkaline | 13,4±0,28 <sup>a</sup> | 47,2±1,16 <sup>a</sup> | 36,9±0,24 <sup>b</sup> |
| p-value  | 0,033                  | 0,624                  | 0,030                  |

(Trong cùng một cột, các chữ cái theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) với độ tin cậy 95%. Số liệu được thể hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn,  $n = 3$ )

Hàm lượng đạm (Naa), hiệu suất thu hồi protein (PR) và hiệu suất thủy phân (DH) của dịch đạm thủy phân đầu cá lóc từ các nghiệm thức thích hợp bằng alcalase, protamex và alkaline được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1 cho thấy hàm lượng đạm amin của dịch đạm thủy phân từ đầu cá lóc bằng alkaline đạt cao nhất 13,4 g/L; alcalase và protamex khác biệt không ý nghĩa lần lượt là 12,7 và 12,5 g/L. Ngược lại, hiệu suất thủy phân của alcalase cao nhất 40,5%; tiếp theo là alkaline 36,9% và protamex có hiệu suất thủy phân thấp nhất là 33,8%. Khác biệt không ý nghĩa về hiệu suất thu hồi protein khi thủy phân bằng protease khác nhau. Tuy nhiên, alcalase được sử

dụng với nồng độ enzyme là 0,8% thấp hơn protamex (1,2%) và alkaline (1,2%).

#### 4. KẾT LUẬN

Chế độ thủy phân đầu cá lóc thích hợp bằng enzyme alcalase là nồng độ enzyme 0,8% và thời gian 30 giờ. Tuy nhiên, protamex thì nồng độ enzyme 1,2% trong 24 giờ hoặc 1,2% alkaline trong 30 giờ. Vì vậy, để giảm chi phí sử dụng enzyme alcalase với nồng độ 0,8% và thời gian 30 giờ để thủy phân đầu cá lóc thu được dịch đạm có hiệu suất thủy phân cao nhất.

#### LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được tài trợ bởi Trường Đại học Cần Thơ, Mã số: T2022-123.



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Amiza, M. A., Kong, Y. L., & Faazaz, A. L. (2012). Effects of degree of hydrolysis on physicochemical properties of Cobia (*Rachycentron canadum*) frame hydrolysate. *International Food Research Journal*, 19(1), 199-206.
- Bhaskar, N., Benila, T., Radha, C., & Lalitha, R. G. (2008). Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresource Technology*, 99(2), 335-343, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.015>
- Chun, C., Zhao, M., Zhang, X., & Yang, J. (2006). Protein degradation of extensive enzymatic hydrolysis of decapterus maruadsi. *Transactions of the CSAE*, 22(1), 147 – 152 .
- Copeland, R. A. (2000). *A practical introduction to structure, mechanism, and data analysis* (2<sup>nd</sup> ed.) Wiley-VCH, Inc New York.
- Gupta, R., Beg, Q., & Lorenz, P. (2002). Bacterial alkaline proteases: Molecular approaches and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(1), 15-32, <https://doi.org/10.1007/s00253-002-0975-y>
- Huong, N. T. M. (2012). Sản xuất sản phẩm thủy phân protein từ đầu cá nưi vây vàng bằng protease thương mại. *Tạp chí khoa học và công nghệ thủy sản- Trường Đại học Nha Trang*, 2, 25-30.
- Kechaou, E. S., Dumay, J., Donnay-Moreno, C., Jaouen, P., Gouygou, J. P., Bergé, J. P., & Amar, R. B. (2009). Enzymatic hydrolysis of cuttlefish (*Sepia officinalis*) and sardine (*Sardina pilchardus*) viscera using commercial proteases: Effects on lipid distribution and amino acid composition. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 107(2), 158-164, <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2008.10.018>
- Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000). Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(3), 657-666, <https://doi.org/10.1021/jf990447v>
- Liaset, B., Nortvedt, R., Lied, E. & Espe, M. (2002). Studies on the nitrogen recovery in enzymic hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) frames by Protamex protease. *Process Biochemistry*, 37(11), 1263-1269. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00003-1](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00003-1)
- Motamedzadegan, A., Davarniam, B., Asadi, G., & Abedian, A. (2010). Optimization of enzymatic hydrolysis of yellowfin tuna *Thunnus albacares* viscera using Neutrase. *International Aquatic Research*, 2(3), 173-181.
- Mười, N. V., & Trúc, T. T. (2016). Ảnh hưởng của việc điều khiển độ hoạt động của nước đến chất lượng khô từ cá lóc nuôi tại tỉnh Đồng Tháp. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 1(Số chuyên đề: Nông nghiệp), 92-97, DOI: 10.22144/ctu.jsi.2016.026
- Nguyen, H. T. M., Sylla, K. S. B., Randriamahatody, Z., Donnay-Moreno, C., Moreau, J., Tran, L. T., & Bergé, J. P. (2011). Enzyme hydrolysis of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) by-products using protamex protease. *Food Technology Biotechnology*, 49(1), 48-55.
- Nielsen, P., Petersen, D., & Dambmann, C. (2001). Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*, 66(5), 642-646. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x>
- Ovissipour, M., Benjakul, S., Safari, R., & Motamedzadegan, A. (2010). Fish protein hydrolysates production from yellowfin tuna. *Thunnus albacares* head using Alcalase and Protamex. *International Aquatic Research*, 2(2), 87-95.
- Phú, T. M. Trinh, Đ. T. M, Thủy, L. T. M., & Thịnh, N. Q (2018). Bảo quản lạnh cá lóc phi lê (*Channa striata*) kết hợp xử lí acid acetic. *Tạp chí Khoa Học Trường Đại học Cần Thơ*, 54 (3B), 147-155. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2018.051>
- See, S. F., Hoo, L. L., & Babji, A. S. (2011). Optimization of enzymatic hydrolysis of Salmon (*Salmo salar*) skin by Alcalase. *International Food Research Journal*, 18(4), 1359-1365.
- Thanh, N. C., Hà, N. N., & Tú, N. P. C (2019). Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình thủy phân protein từ phụ phẩm cá lười trâu bằng enzyme alcalase. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản. Trường Đại học Nha Trang*, 4, 106-114.
- TCVN 3708-90. (1990). *Thủy sản - Phương pháp xác định hàm lượng axit amin*. <https://vanbanphapluat.co/tecvn-3708-1990-thuy-sanphuong-phap-xac-dinh-ham-luong-nito-axit-amin>.
- Thiên, L. T, Thủy, B. T., & Ngân, T. N. T (2017). Nghiên cứu thủy phân thịt vụn cá tra. *Khoa Công Nghệ Thực Phẩm- Trường Đại Học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh*, 17(4), 112-117.
- Thu, T. T. M., & Thủy, L. T. M. (2020). Sản xuất bột nêm từ thịt cá lóc (*Channa striata*) bằng phương pháp ứng dụng hỗn hợp enzyme alcalase và flavourzyme. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Trường Đại học Nông lâm thành phố Hồ Chí Minh*, 19(2), 43-49.



- Thur, U. M. A. (2018). Nghiên cứu thủy phân protein từ phụ phẩm cá lóc bằng enzyme alcalase. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 2, 78-84.
- Thùy, T. T. B., & Thùy, Đ. T. T. (2016). Nghiên cứu ứng dụng enzyme protamex để thủy phân cá trích (*Sardinella gibbosa*) thu dịch đậm. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản- Trường Đại học Nha Trang*, 2, 93-100.
- Thùy, Đ. T. T., & Tuấn, N. A. (2017). Nghiên cứu ứng dụng hỗn hợp Alcalase và Flavourzyme để thủy phân cá nục gai (*Decapterus ruselli*) thu hồi dịch đậm thủy phân. *Tạp chí Khoa học Ngành Công nghệ thủy sản-Trường Đại học Nha Trang*, 3, 73-79.
- Thùy, L. T. M., & Thu, T. T. M. (2021). Ảnh hưởng của nhiệt độ cao kết hợp thủy phân bằng enzyme alkaline đến hiệu quả thu nhận bột khoáng giàu calcium từ xương cá lóc (*Channa striata*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 57(Số chuyên đề Công nghệ thực phẩm), 101-107. <https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2021.011>
- Thủy sản Việt Nam. (2022). *Tiềm năng từ nuôi cá lóc*. <https://thuysanvietnam.com.vn/tiem-nang-tu-nuoi-ca-loc/>
- Wachirattanapongmetee, K., Wachirattanapongmetee, K., Thawornchinsombut, S., Pitirit, T., & Yongsawatdigul, J. W. (2009). Functional properties of protein hydrolysates prepared from alkali – aided protein extraction of hybrid catfish frame. *Trends Research in Science and Technology*, 1, 71-81.
- Wang, X., Yu, H., Xing, R., Chen, X., Liu, S., & Li, P. (2018). Optimization of antioxidative peptides from mackerel (*Pneumatophorus japonicus*) viscera. *Peer Journal*, 6, 1-21. <https://doi.org/10.7717/peerj.4373>.