

TĂNG GIÁ TRỊ SINH HỌC CỦA PROTEIN TRONG SẢN PHẨM CHẾ BIẾN TỪ CÁ NỤC BẰNG ENZYME PROTEASE

● NGUYỄN THỊ PHƯƠNG LAN - HOÀNG THẾ HÙNG

TÓM TẮT:

Enzyme protease có tác dụng thủy phân đạm động vật (protein có kết cấu phức tạp) thành các amino axit tự do - dạng nitơ hữu cơ dễ hấp thụ. Nghiên cứu này cho thấy sử dụng enzyme protease trong quá trình chế biến cá nục đã làm tăng giá trị dinh dưỡng, chất lượng cảm quan màu sắc, mùi vị của sản phẩm, đảm bảo sức khỏe cho người sử dụng, nhất là khi cường độ lao động tăng cao. Nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng tỷ lệ, thời gian ướp enzyme protease trong quá trình chế biến. Kết quả thu được tỷ lệ enzyme protease 0,40%, thời gian ướp là 20 phút cho chất lượng cảm quan phù hợp nhất và hàm lượng 8 axit amin cần thiết tăng 1,32 lần so với sản phẩm chế biến từ cá không được ướp enzyme.

Từ khóa: Ứng dụng, enzyme protease, chế biến, cá nục.

1. Đặt vấn đề

Hiện nay, enzyme protease được sử dụng nhiều trong công nghiệp thực phẩm, đặc biệt trong công nghệ chế biến thịt cá, protease xúc tác quá trình thủy phân liên kết peptide (-CO-NH)_n trong phân tử protein, polypeptide đến sản phẩm thủy phân cuối cùng là các acid amin làm cơ thịt mềm, hương vị thơm ngon, dễ bị tác dụng của men tiêu hoá hơn. Cá được sử dụng trong thí nghiệm là phần thịt phi lê từ cá nục hoa đông lạnh, khi tiến hành thí nghiệm cá được rã đông ở nhiệt độ phòng, làm sạch, phi lê thành miếng theo kích thước thí nghiệm. Dưới tác dụng của tỷ lệ enzyme, thời gian ướp ở nhiệt độ thường (25°C ± 2) đã làm tăng giá trị dinh dưỡng, giá trị cảm quan của sản phẩm chế biến từ cá nục so với các sản phẩm chế biến theo cách thông thường, đặc biệt là giá trị sinh học thể hiện qua hàm lượng

axit amin không thay thế tăng khoảng 1,32 lần. Từ đó đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng, tăng sức đề kháng, độ dẻo dai của con người khi lao động ở cường độ cao.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu

- Cá nục: Theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 5289:2006 về thủy sản đông lạnh.

- Enzyme: Protease; Hoạt lực 5000 IU/g; pH: trung tính 5 - 7.

Đơn vị cung ứng: Công ty CP Hóa dược và Công nghệ sinh học Biogreen.

2.2. Trang thiết bị dụng cụ

Trang thiết bị phòng thí nghiệm sinh học: Máy đập mẫu, pipet, bình tam giác, giấy lọc, bình định mức.

Trang bị dụng cụ cấp dưỡng: Xoong, nồi, bát đĩa, muôi thủng, thớt, dao.

2.3. Hóa chất

Dung dịch fomandehyt trung hòa 30%;

Dung dịch NaOH 0,1N;

Dung dịch phenolphtalein 1%.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Phương pháp thực nghiệm

a. Khảo sát tỷ lệ enzyme protease trong sản xuất, chế biến cá nục

Khi tiến hành thí nghiệm, nguyên liệu cá được rửa đông ở nhiệt độ phòng, tiến hành làm sạch, phi lê và định hình theo khối lượng kích thước tương đương nhau. Chế phẩm enzyme protease hoạt động ở vùng pH 5 - 7 nên phản ứng được tiến hành pH tự nhiên của thịt cá. Tỷ lệ enzyme trên cơ chất tính theo % từ 0,30% đến 0,070% với bước nhảy $\delta = 0,05\%$. Tắm ướp từng mẫu thịt cá ở từng nồng độ enzyme khác nhau trong thời gian 5 phút. Lấy mẫu ướp đem chế biến trong 5 phút, thử cảm quan và xác định hàm lượng nitơ focmon ở những tỷ lệ enzyme cho giá trị cảm quan tốt nhất, sau đó chọn nồng độ enzyme thích hợp để chế biến.

b. Khảo sát thời gian ướp enzyme protease trong chế biến cá nục

Từ thí nghiệm 1 chọn được tỷ lệ enzyme protease thích hợp. Lấy tỷ lệ đó đem đi ướp các mẫu cá có cùng khối lượng, kích thước ở thời gian khác nhau từ 10 phút đến 35 phút, với bước nhảy $\delta = 5$ phút. Sau khi đạt thời gian khảo sát đem chế biến trong vòng 5 phút, thử cảm quan và xác định sự thay đổi hàm lượng các axit amin tự do (8 axit amin cần thiết cho cơ thể người). Từ đó lựa chọn thời gian dừng quá trình ướp enzyme nhằm tạo ra sản phẩm có lượng axit amin không thay thế nhiều nhất, cho giá trị cảm quan, giá trị dinh dưỡng tốt nhất.

2.4.2. Phương pháp phân tích

a. Phương pháp xác định hàm lượng nitơ focmon

Phương pháp chuẩn độ Focmol (phương pháp Sorensen)

b. Phương pháp xác định hàm lượng axit amin tự do

Sử dụng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC

c. Phương pháp đánh giá cảm quan

Đánh giá chất lượng cảm quan theo TCVN 3215:1979.

d. Phương pháp xử lý số liệu: Sử dụng Excel.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Khảo sát tỷ lệ enzyme protease trong sản xuất, chế biến cá nục

Kết quả đánh giá cảm quan cho thấy ở tỷ lệ enzyme bổ sung 0,35% đến 0,45% trước khi xử lý nhiệt thịt cá có màu sáng hơn, không có hiện tượng rỉ nước. Sau khi xử lý nhiệt thịt cá mềm và có độ đàn hồi tốt ở tỷ lệ 0,40%, thịt cá và nước có mùi thơm đặc trưng. Ở tỷ lệ nhỏ hơn 0,35% thịt cá vẫn còn cứng nhất là sau khi xử lý nhiệt, ở mẫu 0% trong nước còn có vẩn protein kết tủa, lớp màng nhẹ bám trên bề mặt cá. Ở tỷ lệ lớn hơn 0,45% thịt cá có hiện tượng rã (bã thịt), sau khi xử lý nhiệt có vị đắng ở hậu vị. (Hình 1)

Hình 1: Mẫu cá không ướp enzyme và mẫu thịt ướp Enzyme



Trên cơ sở phân tích cảm quan, tiến hành phân tích hàm lượng nitơ focmon ở các tỷ lệ 0%; 0,35%; 0,40%; 0,45% và 0,50% để xác định mức độ thủy phân của enzyme proteaza trên mẫu thịt cá phi lê, từ đó góp phần đánh giá độ mềm, săn chắc của thịt cá và tính chất cảm quan của thịt cá khi xử lý bằng chế phẩm enzyme.

Mỗi mẫu thí nghiệm làm lặp lại 5 lần (TN1, TN2, TN3, TN4, TN5), xác định hàm lượng nitơ focmon lặp lại 3 lần/1 mẫu thí nghiệm rồi lấy giá trị trung bình. Hàm lượng nitơ focmon được trình bày trong Bảng 1:

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến sự thay đổi hàm lượng nitơ focmon khi thủy phân protein thịt cá phi lê

Mẫu/tỷ lệ enzyme (%)	Lượng nitơ focmon/100g thịt						
	TN1	TN2	TN3	TN4	TN5	TN6*	TB
1/0 (%)	0,16	0,18	0,15	0,20	0,18	0,18	0,17
4/0,35(%)	0,19	0,20	0,19	0,23	0,21	-	0,20
5/0,40(%)	0,24	0,25	0,22	0,27	0,25	0,24	0,25
6/0,45(%)	0,28	0,30	0,26	0,32	0,29	-	0,29
7/0,50(%)	0,32	0,32	0,29	0,35	0,33	-	0,32

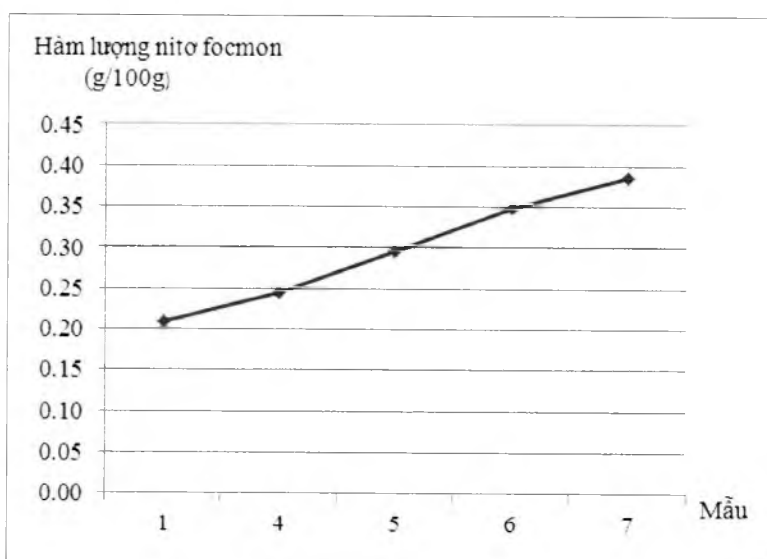
(Ghi chú: TN thí nghiệm, * mẫu kiểm tra tại Viện Dinh dưỡng Quốc gia)

Mẫu cá không có enzyme thì hàm lượng nitơ focmon thấp nhất chứng tỏ sự thủy phân diễn ra chậm thịt cá sẫm màu và lâu mềm. Ở các mẫu 4, 5, 6, 7 hàm lượng nitơ focmon tăng cao đặc biệt là mẫu 7, sự thủy phân protein thịt cá diễn ra nhanh, vì vậy sợi cơ thịt cá săn chắc, có độ đàn hồi, thịt cá mềm. Các công trình nghiên cứu trước đây cũng đã cho thấy có sự hòa tan nitơ dưới tác dụng của enzyme trong quá trình thủy phân và tỷ lệ thu hồi nitơ trong sản phẩm thủy phân, cũng như sự cắt đứt các liên kết peptide tăng theo nồng độ enzyme [2, 3]. Từ kết quả phân tích trên cho thấy nồng độ enzyme tăng thì hàm lượng nitơ focmon sinh ra nhiều hơn, cơ thịt cá săn chắc, có độ đàn hồi, mềm hơn. (Hình 2)

3.2. Kết quả khảo sát thời gian ướp enzyme protease trong sản xuất, chế biến cá nục

- Kết quả đánh giá cảm quan cho thấy thời gian thủy phân tốt nhất là 15 đến 25 phút. 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. Thời gian tác động kéo dài thì enzyme có điều kiện thủy phân protein triệt để. Nhưng nếu kéo dài thời gian thủy phân quá mức sẽ tạo điều kiện cho vi sinh vật gây thối hoạt động làm sản sinh ra nhiều sản phẩm cấp thấp như: NH₃,

Hình 2: Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến sự thay đổi hàm lượng nitơ focmon khi thủy phân protein thịt cá



H₂S, indol, scaptol,... ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm [2]. Do đó, nếu thời gian ngắn hơn thì không đủ tăng độ chắc, liên kết giữa các cơ cá và tăng độ đàn hồi của thịt cá, nếu thời gian lâu quá thì thịt cá có vị từ nhạt đến đắng.

- Kết quả hàm lượng nitơ focmol ở thời điểm 0 phút, 20 phút và 30 phút (Bảng 2)

Hàm lượng nitơ focmon tạo thành sau 20 phút tăng khoảng 1,5 lần so với mẫu chưa tẩm ướp enzyme, sau 30 phút hàm lượng này giảm mạnh khoảng 2,5 lần so với mẫu ở thời điểm 20 phút. Do cá có hệ vi sinh vật, enzyme đa dạng nên thời điểm

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian ướp enzyme đến hàm lượng nitơ focmon khi thủy phân protein thịt cá

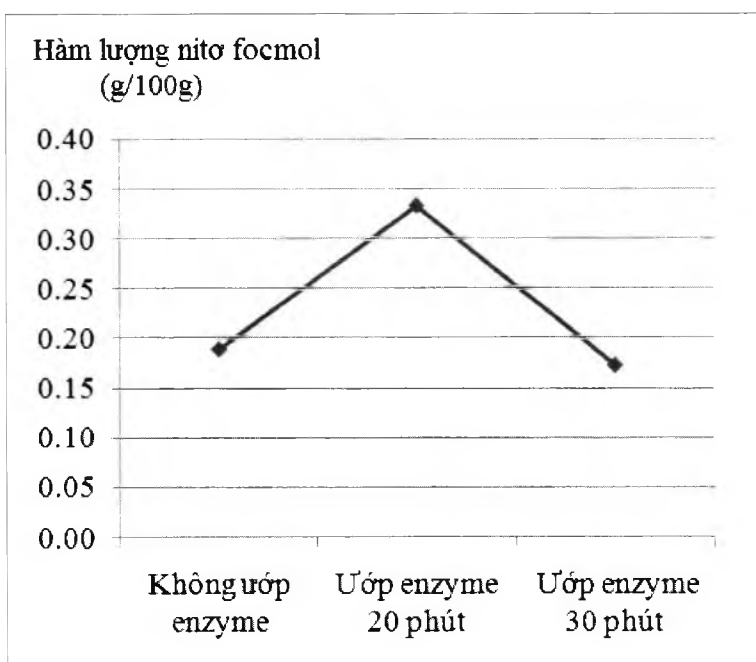
Mẫu/thời gian ướp	Lượng nitơ focmon g/100g thịt cá					
	TN1	TN2	TN3	TN4	TN5	TB
1/0 phút	0,2	0,18	0,21	0,17	0,19	0,19
4/20 phút	0,31	0,29	0,38	0,29	0,40	0,33
6/30 phút	0,15	0,13	0,18	0,17	0,24	0,17

này sự hoạt động của chúng diễn ra mạnh sinh ra các sản phẩm không mong muốn. (Hình 3)

- Sau khi kiểm tra hàm lượng nitơ focmon bằng phương pháp Sorensen kết hợp kiểm tra tại Viện Dinh dưỡng Quốc gia. Để khẳng định giá trị sinh học, giá trị dinh dưỡng của sản phẩm sau khi ướp enzyme, tác giả đã tiến hành thí nghiệm và phân tích hàm lượng axit amin tự do (8 loại axit amin cần thiết cho cơ thể người) phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC tại Viện Dinh dưỡng Quốc gia kết quả được thể hiện ở Bảng 3.

Các kết quả thí nghiệm cho thấy, sản phẩm cá khi ướp enzyme theo tỷ lệ và thời gian xác định thì hàm lượng các axit amin không thay thế

Hình 3: Ảnh hưởng của thời gian ướp enzyme đến hàm lượng nitơ focmon khi thủy phân protein thịt cá

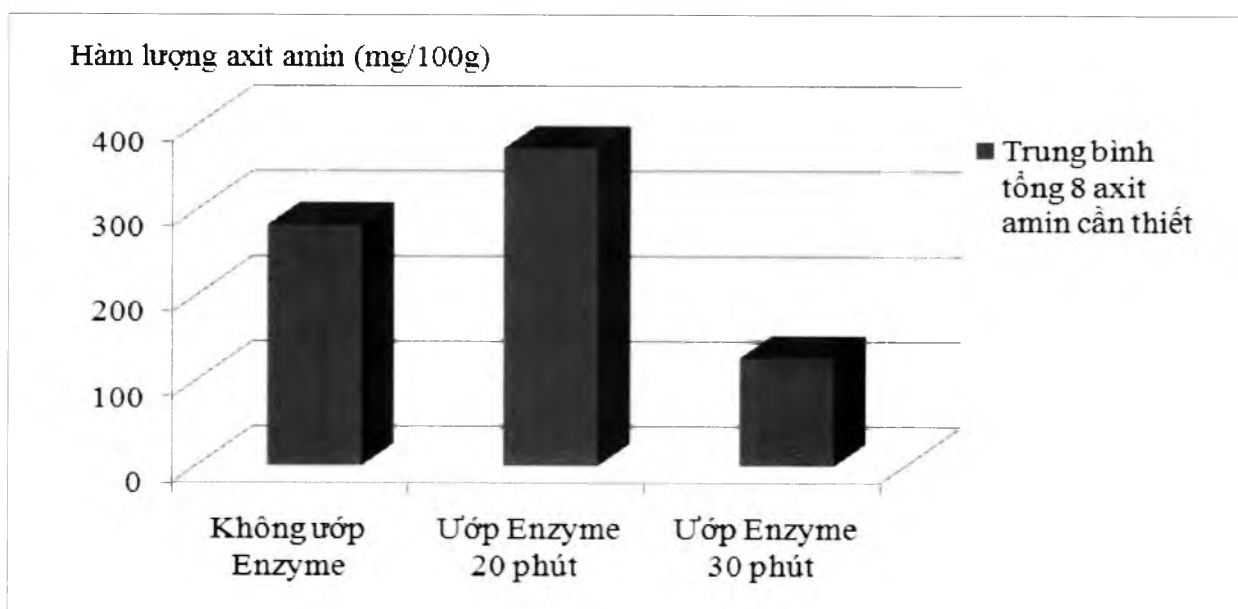


Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian ướp Enzyme đến sự thay đổi hàm lượng các axit amin không thay thế khi thủy phân thịt cá phi lê

TT	Axit amin	Đơn vị	Thời gian					
			TN1			TN2		
			0 phút	20 phút	30 phút	0 phút	20 phút	30 phút
1	Threonine	mg/100g	38,6	56,4	0	104,02	104,79	55,53
2	Valine	mg/100g	9,81	11,7	5,62	36,17	52,08	11,47
3	Methionine	mg/100g	46,27	61,11	25,07	26,31	33,21	10,73
4	Lysine	mg/100g	28,23	70,46	25,04	56,5	65,93	19,23

TT	Axit amin	Đơn vị	Thời gian					
			TN1			TN2		
			0 phút	20 phút	30 phút	0 phút	20 phút	30 phút
5	Leucine	mg/100g	39,91	52,19	20,21	127,67	134,77	43,54
6	Isoleucine	mg/100g	21,01	26,2	11,2	3,76	41,74	13
7	Phenylalanine	mg/100g	12,39	14,25	6,59	3,17	3,47	1,49
8	Tryptophan	mg/100g	8,4	12,65	4,26	3,73	5,47	0,86

Hình 4: Ảnh hưởng của thời gian ướp Enzyme đến sự thay đổi hàm lượng tổng 8 axit amin không thay thế khi thủy phân thịt cá nục phi lê



tăng từ 1,1 lần đến 2,7 lần/1 loại axit amin và tăng 1,32 lần/tổng 8 axit amin không thay thế. (Hình 4)

Từ các kết quả phân tích trên tỷ lệ enzyme thích hợp để làm mềm thịt cá và tăng tính chất cảm quan của thịt cá là 0,40% và thời gian thích hợp là 20 phút.

Chất dinh dưỡng trong thức ăn sẽ trải qua một

quá trình biến đổi về mặt hóa học để chuyển hóa thành dạng đơn giản mà các tế bào trong cơ thể có thể hấp thu như: protein được phân giải thành các axit amin. Do đó, quá trình bổ sung enzyme trong chế biến cá nục sẽ rút ngắn được gian chuyển hóa của thức ăn trong cơ thể, giúp cơ thể dễ dàng hấp thu và tiêu hóa tốt hơn ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Đặng Thị Thu, Lê Ngọc Tú, Tô Kim Anh (2003), *Công nghệ enzyme*, NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
2. Trần Thị Bích Thủy. (2016). *Nghiên cứu ứng dụng enzyme protamex để thủy phân cá trích (Sardinella Gibbosa) thu dịch đậm*.

3. Wachirattanapongmetee, K., Wachirattanapongmetee, K., Thawornchinsombut, S., Pitirit, T., Yongsawatdigul, J., Park, 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.

Ngày nhận bài: 9/11/2020

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 15/11/2020

Ngày chấp nhận đăng bài: 23/11/2020

Thông tin tác giả:

1. ThS. NGUYỄN THỊ PHƯƠNG LAN

2. NCS. HOÀNG THẾ HÙNG

Viện Nghiên cứu Khoa học Hậu cần Quân sự

Học viện Hậu cần - Bộ Quốc phòng

INCREASING THE BIOLOGICAL VALUE OF PROTEIN IN THE ROUND SCAD PROCESSING WITH THE USE OF PROTEASE ENZYME

● Master. **NGUYEN THI PHUONG LAN**

● Postgraduate Student **HOANG THE HUNG**

Institute of Military Logistics Science

Military Logistics Academy,

Ministry of National Defense (Vietnam)

ABSTRACT:

Protease enzymes have an important role in hydrating complex proteins into free amino acids which are easily absorbed organic nitrogen forms. This research finds out that the use of protease enzymes in the round scad processing could increase increasing the nutritional value and the quality of products. Examining on the ratio and time of protease enzymes used in the fish processing indicates that the most effective protease enzyme ratio is 0.40% and the marinating time is 20 minutes for the most suitable sensor quality. At the indicated ratio and time, the content of 8 essential amino acids is increased by 1.32 times comparing to none-using protease products.

Keywords: Application, protease enzyme, processing, scad.