

BIẾN ĐỔI HÀM LƯỢNG PEPTID VÀ ACID AMIN TRONG QUÁ TRÌNH THỦY PHÂN PHẾ PHẨM CHẾ BIẾN CÁ TRA BẰNG PROTEASE

● NGUYỄN LỆ HÀ

TÓM TẮT:

Nghiên cứu thực hiện thủy phân hỗn hợp máu và gan cá, là phế liệu của quá trình chế biến cá tra, bằng protease từ đầu tôm sú *Penaeus monodon* nhằm thu dịch thủy phân giàu protein hoà tan ở dạng peptides mạch ngắn và acid amin để có thể ứng dụng vào mục đích thực phẩm và nông nghiệp.

Kết quả cho thấy, quá trình chịu ảnh hưởng lớn của các yếu tố: Nồng độ chế phẩm protease sử dụng, nhiệt độ và thời gian thủy phân. Thông số đề nghị giúp thu hàm lượng protein hoà tan tốt nhất ở các điều kiện: Nhiệt độ 60°C và thời gian thủy phân là 120 phút.

Từ khoá: Thủy phân phế liệu cá, phế liệu thủy sản, thủy phân protein, protease.

1. Đặt vấn đề

Thế mạnh xuất khẩu của ngành Thủy sản Việt Nam là tôm và cá tra. Kim ngạch xuất khẩu hai mặt hàng này luôn dẫn đầu trong tổng kim ngạch xuất khẩu hàng thủy sản hiện nay do tỷ trọng ngày càng lớn. Theo Hiệp hội Chế biến và Xuất khẩu thủy sản Việt Nam (VASEP), cả năm 2019, kim ngạch xuất khẩu cá tra ước tính khoảng 2,23 tỷ USD; tính đến giữa tháng 3/2020, tổng giá trị xuất khẩu đạt 267,8 triệu USD [1]. Cũng trong 2019, tổng giá trị xuất khẩu tôm ước đạt 3,38 tỷ USD [2].

Cùng với sự phát triển của ngành chế biến, lượng phế liệu thải ra cũng ngày càng nhiều. Hàng năm, ước tính có trên 700.000 tấn phế liệu,

trong đó trên 30.000 tấn nội tạng cá và lượng lớn máu cá; 325 tấn đầu và vỏ tôm [3]. Một phần phế phụ phẩm này được chế biến thành thức ăn gia súc, phần lớn bị thải bỏ vào môi trường, vừa lãng phí, vừa gây ô nhiễm. Trong khi đó, protease thu nhận từ phế liệu đầu tôm có hoạt tính mạnh, nhiều nghiên cứu trên thế giới đã ứng dụng enzyme nhóm này vào các lĩnh vực khác nhau và đạt hiệu quả khả quan [6], [7], [8].

Nghiên cứu thủy phân máu và gan cá tra được thực hiện với mong muốn có thể đưa ra một giải pháp hữu hiệu nhằm tận dụng nguồn phế thải, góp phần nâng cao hiệu quả kinh tế cho quá trình chế biến, đồng thời giảm thiểu ô nhiễm môi trường.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Mẫu máu và gan cá tra *Pangasiadon hypophthalmus* được phân tách và đóng gói, bảo quản đông lạnh tại Công ty Cổ phần Thủy sản Hùng Vương, TP. Mỹ Tho, tỉnh Tiền Giang. Tiến trình lấy máu cá được thực hiện bằng cách cắt tiết cá và thả vào bồn chứa nước với tỉ lệ cá: nước là 1:10(w/v). Cả máu và gan cá được bảo quản đông -20°C trước khi sử dụng. Hỗn hợp gồm 80% máu cá và 20% gan cá được gia nhiệt đến sôi, sau đó để nguội và nghiền mịn để dùng làm nguyên liệu thủy phân.

Đầu tôm sú *Penaeus monodon* thu nhận tại bàn sơ chế của Công ty Cổ phần Thủy sản Số 1 - Quận Tân Phú, được cấp đông và bảo quản ở -20°C. Protease dùng để thủy phân thu nhận bằng cách nghiền đầu tôm sú đông lạnh với Tris-HCl 0,05M pH7,5 với tỉ lệ 1:7 (w/v), chiết trong 40 phút, sau đó ly tâm thu dịch chiết và kết tủa bằng etanol 77%, 50 phút, ly tâm 6000 vòng/ph, 15 phút và thu tủa. Quá trình thủy phân được thực hiện ở các nhiệt độ 40°C, 50°C, 60°C và 65°C với nồng độ enzym là 2%; 3,5% và 4,5%. Hàm lượng peptid và acid amin tạo thành trong quá trình được xác định bằng phương pháp so màu Amano, dùng tyrosin làm chất chuẩn [5].

Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đều thuộc loại hóa chất tinh khiết dùng cho phân tích.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới quá trình thủy phân

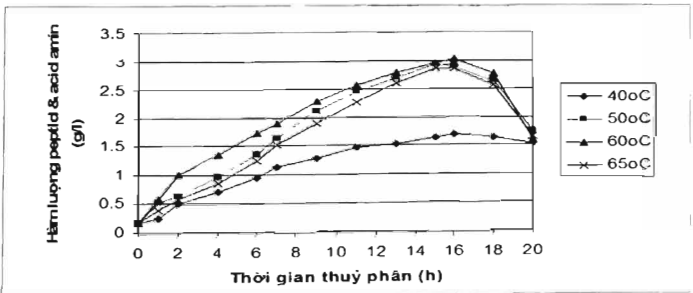
Quá trình thủy phân hỗn hợp máu và gan cá tra bằng protease từ đầu tôm được tiến hành ở các nhiệt độ 40°C, 50°C, 60°C, 65°C với nồng độ enzyme sử dụng là 2%, 3,5% và 4,5%.

Khi thủy phân với nồng độ protease 2% (Hình 1), nhiệt độ có ảnh hưởng đến quá trình thủy phân khá rõ, khi nhiệt độ tăng từ 40°C lên 50°C thì hàm lượng peptid mạch ngắn và acid amin tạo thành tăng mạnh. Tuy nhiên, việc tiếp tục tăng từ 50°C thành 60°C cho thấy, hàm lượng peptid và acid amin tăng không đáng kể và giảm hẳn khi thủy phân ở nhiệt độ 65°C.

Phân tích cảm quan mẫu thủy phân ở 40°C cho thấy, từ 8 giờ trở đi, dịch thủy phân có màu nâu sẫm, mùi hơi nặng hơn so với các mẫu ở 50°C, 60°C, 65°C vào cùng thời điểm lấy mẫu và bắt đầu xuất hiện mùi hôi khó chịu sau 16 giờ thủy phân. Đối với các mẫu thủy phân ở nhiệt độ 50°C, 60°C, 65°C, vào thời điểm 18 giờ, dịch có màu nâu vàng, loãng hơn, mùi tanh giảm nhiều.

Kết quả thực nghiệm cho thấy, không nên áp dụng nhiệt độ thủy phân dưới 40°C và việc tăng nhiệt độ lên trên 65°C cũng là điều không cần thiết, 60°C là thích hợp nhất cho quá trình thủy phân.

Hình 1: Biến đổi hàm lượng peptid và acid amin trong dịch thủy phân khi nồng độ protease bổ sung là 2%



3.2. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình thủy phân

Hình 2 và 3 thể hiện kết quả quá trình thủy phân dịch máu và gan cá ở các nhiệt độ 40°C, 50°C, 60°C và 65°C với nồng độ protease bổ sung 3,5% và 4,5%. Tương tự với quá trình thủy phân khi dùng nồng độ protease bổ sung 2% (Hình 1), ta cũng dễ dàng nhận ra yếu tố thời gian có ảnh hưởng mạnh tới sản phẩm thu được. Thời gian thủy phân càng dài, lượng peptid và acid amin tạo nên càng lớn, đạt cực đại, sau đó giảm dần. Nguyên nhân là do một lượng acid amin đã bị sử dụng để tạo thành các sản phẩm cấp thấp như NH₃ hay các hợp chất dễ bay hơi khác. Cũng vì thế, ở giai đoạn cuối (từ 18 giờ trở đi), sản phẩm thủy phân bắt đầu có mùi nặng, khó chịu hơn.

Hai đồ thị trong Hình 2 và 3 cũng thể hiện sự khác nhau về biến đổi hàm lượng peptid và acid amin trong dịch thủy phân khi nồng độ protease khác nhau. Với nồng độ enzyme bổ sung 3,5%, các đường biểu diễn quá trình ở nhiệt độ 50°C, 60°C, 65°C dù khá giống và gần nhau nhưng vẫn bị tách rời một cách rõ ràng. Tuy nhiên, khi tăng lên thành 4,5%, các đường này dường như lẫn vào nhau, đặc biệt hàm lượng peptid và acid amin của quá trình thủy phân ở 50°C và 60°C gần như trùng nhau ở giai đoạn cuối. Như vậy, nồng độ protease để đạt được hàm lượng peptid và acid

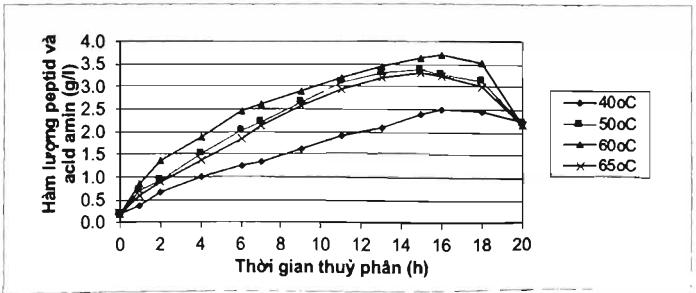
amin cao nhất nằm trong khoảng 3,5% đến 4,5%, còn nhiệt độ tối ưu để thực hiện quá trình là 60°C.

Quan sát từ các đồ thị cũng cho thấy, hàm lượng peptid và acid amin tăng mạnh trong các giờ đầu thủy phân (cho tới khoảng 16 giờ), sau đó chậm dần lại. Thời gian thủy phân cho kết quả tối nhất ở tất cả các nồng độ enzyme sử dụng trong thí nghiệm là 16 giờ.

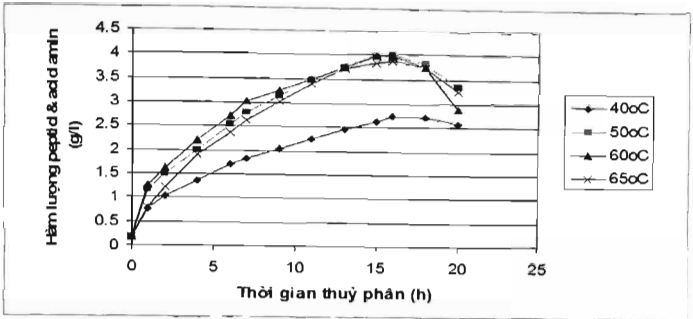
Đáng chú ý, có thể nhận ra khi theo dõi quá trình thủy phân hỗn hợp máu và gan cá tra là quá trình này có thể diễn ra ở nhiệt độ cao (thậm chí cả ở 65°C vẫn xảy ra khá tốt) trong thời gian dài (16 giờ và có thể hơn nữa). Như vậy, enzyme protease từ đầu tôm tỏ ra bền và ưa nhiệt. Điều này đã có thể dự đoán được phần nào từ những nghiên cứu về tính chất của protease tôm sú: Enzyme này giữ hoạt tính tốt sau nửa giờ ở 52°C, thậm chí 57°C và 62°C, đồng thời thể hiện hoạt tính rất tốt trong khoảng 47°C - 70°C, với nhiệt độ tối thích là 62°C [4].

Tuy nhiên, kết quả thủy phân thu được vẫn là điều bất ngờ vì protease đầu tôm đã giữ hoạt tính tốt hơn nửa ngày, đêm ở nhiệt độ cao 50°C - 60°C - 65°C. Có thể cơ chất thủy phân trong quá trình này là máu và gan cá tra (không phải casein như khi nghiên cứu tính chất) đã gia nhiệt chín, protein trong mẫu đã biến tính nên dễ thủy phân và protease thì duy trì hoạt độ tốt hơn nhiều.

Hình 2: Biến đổi hàm lượng peptid và acid amin trong dịch thủy phân theo thời gian ở nồng độ protease bổ sung 3,5%



Hình 3: Biến đổi hàm lượng peptid và acid amin trong dịch thủy phân theo thời gian ở nồng độ protease bổ sung 4,5%



4. Kết luận

Có thể sử dụng enzyme protease đầu tôm trong thủy phân hỗn hợp máu và gan cá tra nhằm thu nhận dịch đậm thủy phân. Quá trình nên thực hiện cho phế liệu đã gia nhiệt chín ở 60°C trong 16 giờ để đạt hàm lượng protein hoà tan cao nhất.

Dịch đậm thu được phù hợp cho sử dụng trong thực phẩm (bổ sung vào chượp trong quá trình chiết rút nước mắm sau khi thu mắm cốt) hoặc nông nghiệp (để làm phân bón cho cây) vừa tận thu protein vừa giảm thiểu phế liệu chế biến và góp phần bảo vệ môi trường ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

- Tổng cục Thủy sản (2020). Xuất khẩu cá tra dư báo tăng trong điều kiện dịch bệnh Covid 19. Trang Thông tin điện tử S/S/2020. <https://hongcucthuyisan.gov.vn/vi-vn/th%C6%B0%C6%A1ng-m%E1%BA%A1i-th%E1%BB%A7y-s%E1%BA%A3n/xu%E1%BA%A5t-nh%E1%BA%ADp-kh%E1%BA%A9w/doc-tm/014507/2020-05-06/xuat-khau-ca-tra-du-bao-tang-trong-dieu-kien-dich-benh-covid-19>
- Trung tâm WTO và hội nhập (2020). Xuất khẩu tôm Việt Nam dư báo trong năm 2020. Tin tức 10/1/2020. <http://trungtamwto.vn/chuyen-de/14719-xuat-khau-tom-viet-nam-du-bao-kha-quan-trong-nam-2020>
- Bộ Công Thương (2019). Tận dụng phụ phẩm ngành tôm Việt Nam thu được trăm tỷ mỗi năm. Cổng thông tin điện tử Bộ Công Thương 15/7/2019, <https://www.moit.gov.vn/tin-chi-tiet/-/chi-net/tan-dung-phu-pham-nganh-tom-viet-nam-thu-%C4%91uoc-tram-ty-moi-nam-16013-2701.html>.
- Nguyễn Lê Hà (2015). Protease tinh sạch từ tôm sú *Penaeus monodon* và một số tính chất cơ bản. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*, số 2-2015.
- Amano (2002). *Protease N "Amano" - Assay method for Protease activity (Amano method)*. Amano Enzyme Inc., Nagoya, Japan.

6. Haard, N. F. (1994). Protein hydrolysis in seafoods. In F. Shahidi, & J. R. Bona (Ed.), *Seafood chemistry: processing technology and quality* (pp. 11-33). Glasgow, UK: Blackie Academic and Professional.
7. Haard, N. F., & Simpson, B. K. (1994). Protease from aquatic organisms and their uses in the seafood industry. In A. M. Martin (Ed.), *Fisheries processing: biotechnological applications* (pp. 132-154). London, UK: Chapman and Hall.
8. Phạm Thị Trân Châu (1993). Công nghệ enzyme và ứng dụng proteinaza trong công nghệ chế biến. *Tạp chí Thủy sản*, số 5.

Ngày nhận bài: 29/5/2020

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 2/6/2020

Ngày chấp nhận đăng bài: 12/6/2020

Thông tin tác giả:

TS. NGUYỄN LỆ HÀ

Viện Khoa học Ứng dụng

Trường Đại học Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh (HUTECH)

CHANGES IN SOLUBLE PROTEINS DURING HYDROLYSIS OF FISH PROCESSING DISCARD BY USING PROTEASE

● NGUYEN LE HA Ph.D

Institute of Applied Sciences

Ho Chi Minh City University of Technology (HUTECH)

ABSTRACT:

This study examines the hydrolysis of fish's blood and liver, which are the fish waste from pangasius processing, by using protease from *Penaeus monodon's* head in order to obtain hydrates rich in peptides and amino acids for using in food and agricultural production. The results show that this process is significantly impacted by the concentration of used protease preparation, temperature and time of hydrolysis. In order to obtain the most soluble protein content, the process should be conducted with the temperature of 60°C and the hydrolysis time of 120 minutes.

Keywords: Hydrolysis of fish waste, fish discard, protein hydrolysis, protease.