

# ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ PHẨM PROTEASE ĐẾN QUÁ TRÌNH THỦY PHÂN CÁM GẠO

● LÊ HOÀNG PHƯỢNG - NGÔ THỊ CẨM TÚ - LÝ NGUYỄN BÌNH

## TÓM TẮT:

Nghiên cứu ảnh hưởng của enzyme protamex và flavourzym đến quá trình thủy phân cám gạo đã cho kết quả ban đầu đáng tin cậy trong việc xử lý lipase, tác nhân gây hư hỏng cám gạo. Những thông số đạt được là tỉ lệ enzyme protamex 0,4% và thời gian 5 giờ là điều kiện thích hợp để ức chế enzyme lipase, trong đó enzyme flavourzyme cũng cùng tỷ lệ 0,4%, nhưng thời gian rút ngắn hơn là 4 giờ. Khả năng ức chế hoạt tính lipase cao trong thủy phân cho thấy tiềm năng phát triển các sản phẩm có giá trị dinh dưỡng cao từ nguồn phụ phẩm cám gạo, bảo vệ môi trường và thúc đẩy ngành Công - Nông nghiệp trong tương lai.

**Từ khóa:** protamex, flavourzym, lipase, cám gạo, thủy phân.

## 1. Đặt vấn đề

Lúa gạo là loại lương thực quan trọng đối với con người, một nửa dân số thế giới sử dụng lúa làm nguồn cung cấp năng lượng chính trong bữa ăn hàng ngày, đặc biệt là ở Đông và Nam Á, Trung Đông, Mỹ Latinh, và Tây Ấn. Đây là loại ngũ cốc được trồng nhiều thứ hai và được trồng ít nhất ở 114 quốc gia (Sharif et al., 2014). Theo thống kê của Tổ chức lương thực thế giới FAO năm 2017 sản lượng lúa gạo đạt 756,7 triệu tấn (FAOSTAT, 2017). Quá trình xay xát có thể cung cấp được tối đa 70% gạo phục vụ lương thực cho con người và 8% cám.

Trên thế giới, mỗi năm, 90% lượng cám gạo được sử dụng để cung cấp thức ăn cho gia súc và gia cầm; phần còn lại được sử dụng để chiết xuất dầu cám gạo (Wang et al., 2014). Đã có nghiên cứu cho thấy cám gạo có đặc tính làm giảm cholesterol ((Kahlon, 2009; Wilson et al., 2007). Đặc biệt, trong cám gạo có lượng dầu khá cao, chiếm từ 12-20% tùy loại gạo. Hiện nay nhiều tập đoàn dinh dưỡng và thực phẩm trên thế giới đã đầu tư nghiên

cứu loại dầu tiềm năng này. Dầu cám gạo được sử dụng làm dầu ăn ở Nhật Bản, Trung Quốc, Ấn Độ (Sarkar and Bhattacharyya, 1991) và được xem là một loại dầu ăn tốt. Ngoài ra cám gạo còn được nghiên cứu để tạo ra thức uống dinh dưỡng hoặc sản phẩm mỹ phẩm. Mặc dù cám gạo có tiềm năng lớn, nhưng sử dụng làm thực phẩm rất hạn chế do mùi ôi gây ra chủ yếu bởi lipase (Kahlon, 2009; Tuncel et al., 2014) và ảnh hưởng nghiêm trọng đến giá trị dinh dưỡng và mùi vị của cám gạo (Rajeshwara and Prakash 1995). Đã có nhiều biện pháp để khắc phục tình trạng này, các phương pháp ổn định được sử dụng là ép đùn, sấy khô (Sharma et al., 2004), sấy 100°C trong 15 phút (Tabaraki and Nateghi, 2011), xử lý vi sóng (Malekian et al., 2000; Ramezanzadeh et al., 1999), ổn định cám gạo và dầu cám gạo bằng khai thác sử dụng hệ thống sửi ohmic (Lakkakula et al., 2004),... mỗi phương pháp đều có ưu điểm và nhược điểm riêng tùy mục đích sử dụng. Nghiên cứu vô hoạt lipase cám gạo bằng enzyme flavourzyme và enzyme protamex thương mại sẽ là một phương pháp giúp ngăn chặn

sự hình thành acid béo-nguyên nhân ban đầu gây nên các phản ứng sinh ra ôi hóa chất béo trong cám gạo nhằm ổn định được các thành phần dinh dưỡng trong cám, đảm bảo được chất lượng của cám gạo.

**2. Phương pháp nghiên cứu**

**2.1 Nguyên vật liệu và hóa chất**

- Nguyên liệu cám được thu mua tại cơ sở xay xát, sau đó bảo quản lạnh trong suốt thời gian vận chuyển về phòng thí nghiệm và bảo quản đông trong quá trình thí nghiệm.

- Chế phẩm protease của hãng Novozymes (Đan mạch) sản xuất: enzyme Protamex có hoạt tính 1,5 Au/g; enzyme flavourzyme có hoạt tính 500LAPU/g.

- Hóa chất: Ethanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH), xuất xứ của Merck - Đức, độ tinh khiết 99,9%; Sodium hydroxide (Natriumhydroxide (NaOH)), xuất xứ của Merck - Đức, độ tinh khiết ≥ 97%; Sodium chloride (NaCl), xuất xứ Merck - Đức, độ tinh khiết 99,5%; Gum Arabic (Instantgum BA), xuất xứ Pháp; Tris - HCl (C<sub>4</sub>H<sub>12</sub>ClNO<sub>3</sub>), xuất xứ của Merck, độ tinh khiết 99%; Glycerol 99,5% (C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>(OH)<sub>3</sub>, Đức).

- Tính hoạt tính lipase thông qua hàm lượng glycerol sinh ra trên cơ sở tạo màu giữa glycerol sinh ra với thuốc thử CuCl<sub>2</sub> và NaOH. Cường độ màu của hỗn hợp phản ứng tỉ lệ thuận với nồng độ glycerol trong một phạm vi nhất định. Tiến hành so màu ở bước sóng 635nm. Dựa trên đồ thị chuẩn của glycerol tinh khiết với thuốc thử CuCl<sub>2</sub> và NaOH ta sẽ tính được hàm lượng glycerol của mẫu nghiên cứu theo công thức:

$$\% \text{glycerol} = \frac{X}{1000} \times AF \times 100$$

$$W$$

Trong đó:

X: Hàm lượng glycerol trong dung dịch pha loãng (mg/mL)

AF: Hệ số pha loãng

W: Khối lượng nguyên liệu ban đầu.

**2.2. Bố trí thí nghiệm: Nghiên cứu được bố trí theo sơ đồ tổng quát ở Hình 1**

- Chỉ tiêu theo dõi: hàm lượng glycerol, hàm lượng acid amin tổng số.

- Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm thống kê Statgraphics Centurion 15.2, Copyright (C) PP, USA và phần mềm Excel. 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 và thảo luận**

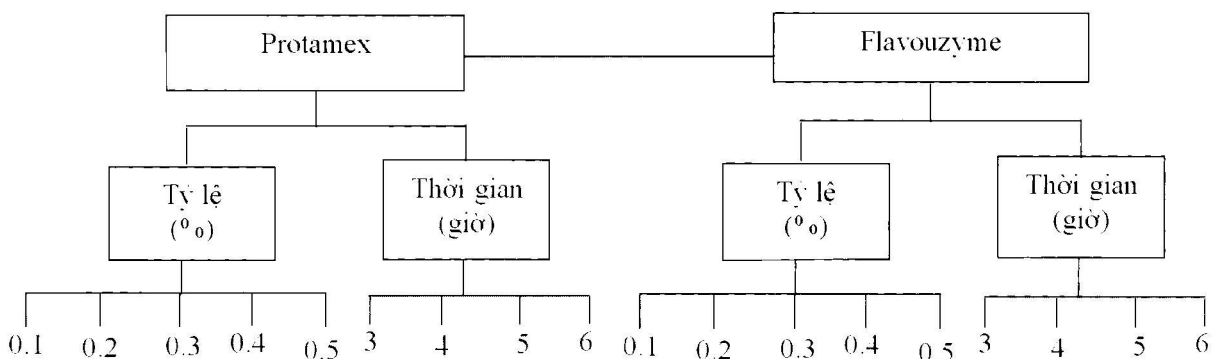
Lipase là yếu tố gây hư hỏng đặc biệt lipase là tác nhân hàng đầu cho quá trình thủy phân chất béo, khơi mào cho hàng loạt những biến đổi sau này đối với các sản phẩm chứa nhiều lipid. Do đó, để bảo quản thực phẩm tốt cần vô hoạt lipase.

**3.1. Ảnh hưởng của tỉ lệ và thời gian sử dụng enzyme protamex trong vô hoạt lipase trong cám gạo**

Thí nghiệm được tiến hành trên cơ chất là dịch cám gạo đã trích ly lipase (mỗi mẫu tương đương 5g cám). Các mẫu được thực hiện vô hoạt với tỉ lệ enzyme protamex sử dụng là 0,1 ÷ 0,5% trong thời gian từ 1 giờ đến 6 giờ.

Tỉ lệ enzyme protamex bổ sung là nhân tố quyết định đến khả năng ức chế hoạt tính của lipase. Kết quả thống kê cho thấy, ở tỉ lệ enzyme khác nhau, hàm lượng glycerol (lipase còn lại tác dụng với nhũ tương sinh ra) có sự thay đổi. Tất cả các mẫu có bổ sung enzyme đều giảm mạnh so với mẫu đối chứng

**Hình 1: Sơ đồ bố trí thí nghiệm tổng quát**



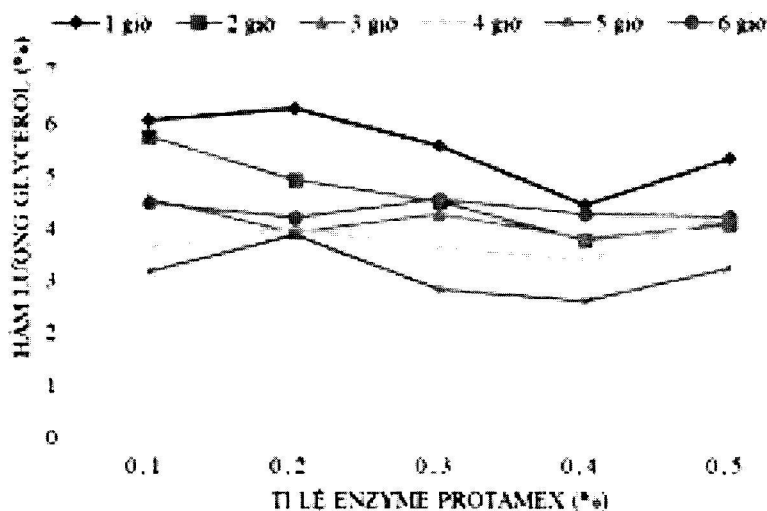
không có bổ sung enzyme (hàm lượng glycerol trong mẫu đối chứng là 11,2%). Kết quả thí nghiệm ở Hình 2 cho thấy trong cùng điều kiện thí nghiệm hàm lượng glycerol giảm nhanh từ  $4,64 \pm 1,14\%$  còn  $3,73\% \pm 0,68$  khi tăng tỉ lệ enzyme sử dụng từ 0,1% đến 0,4% và đạt giá trị thấp nhất với tỉ lệ enzyme bổ sung là 0,4% ( $3,16 \pm 0,5\%$ ) trong thời gian vô hoạt là 5 giờ. Tuy nhiên, tiếp tục tăng tỉ lệ enzyme lên 0,5% thì hàm lượng glycerol lại tăng lên ( $4,23 \pm 0,69\%$ ). Tại tỉ lệ 0,4% thì hàm lượng glycerol sinh ra là thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

Kết quả này phù hợp với lý thuyết, khi tăng tỉ lệ enzyme thì tốc độ phản ứng nhanh. Tốc độ phản ứng cao nhất với một tỉ lệ enzyme thích hợp, vì thế nếu tiếp tục tăng tỉ lệ enzyme quá cao tốc độ phản ứng tăng chậm và có thể làm giảm hiệu suất vô hoạt. Leonon Michaelis và Maud Menten đã đưa ra mô hình giải thích cho mối quan hệ giữa vận tốc phản ứng và nồng độ enzyme. Theo Lê Ngọc Tú, khi tăng tỉ lệ enzyme, tốc độ phản ứng được tăng cường, làm tăng hiệu suất vô hoạt. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng lượng enzyme đến tỉ lệ quá cao, tốc độ phản ứng sẽ giảm làm hiệu suất thủy phân cũng giảm. Chính vì thế, việc xác định tỉ lệ chế phẩm bổ sung vào quá trình vô hoạt đã được khảo sát.

### 3.2. Ảnh hưởng của tỉ lệ và thời gian sử dụng enzyme flavourzyme trong vô hoạt lipase trong cám gạo

Thời gian thủy phân là yếu tố ảnh hưởng lớn đến hiệu suất thủy phân. Thời gian thủy phân quá ngắn không đủ để enzyme thủy phân hết cơ chất, ngược lại thời gian quá dài dịch thủy phân sẽ tạo ra các sản phẩm không mong muốn hay mạch polypeptide bị phá hủy tạo khối lượng phân tử thấp. Vì vậy, cần tìm một thời gian thích hợp tạo sản phẩm có khả năng vô hoạt enzyme lipase tối ưu là cần thiết. Tỉ lệ enzyme flavourzyme bổ sung cũng là nhân tố quyết định đến phản ứng thủy phân cũng như khả năng ức chế hoạt tính còn lại enzyme lipase. Chính

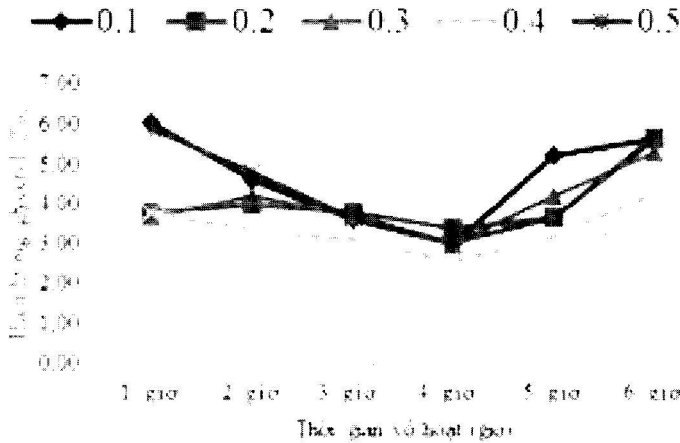
**Hình 2: Ảnh hưởng của tỷ lệ và thời gian vô hoạt enzyme lipase trong cám gạo bằng chế phẩm protamex đến hàm lượng glycerol**



vì thế, việc xác định tỉ lệ chế phẩm flavourzyme trong quá trình vô hoạt enzyme lipase đã được khảo sát. Kết quả thống kê cho thấy ở tỉ lệ enzyme khác nhau và thời gian khác nhau hàm lượng glycerol thay đổi có sự khác biệt ý nghĩa ( $p < 0,05$ ). Ở thí nghiệm này, dịch thủy phân cám gạo được thủy phân bằng chế phẩm flavourzyme thương mại với tỉ lệ 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5% (so với cơ chất) ở pH tự nhiên của cám 6,34 và thời gian thủy phân được khảo sát trong khoảng rộng từ 1 đến 6 giờ.

Theo kết quả trình bày ở Hình 3 cho thấy khi cố định cơ chất cám gạo, tăng dần tỉ lệ enzyme từ 0,1% đến 0,4% thì hàm lượng glycerol giảm dần từ 4,69% xuống 3,37%. Sự giảm này có thể được giải thích theo (Nguyễn Đức Lượng, 2004) càng tăng nồng độ enzyme thì phản ứng càng xảy ra mạnh mẽ. Sau đó ở tỉ lệ enzyme là 0,5% thì phần trăm glycerol tăng lên 4,45%. Nguyên nhân là do tỉ lệ cơ chất cám không thay đổi mà tỉ lệ enzyme tăng lên cao thì nồng độ enzyme lớn hơn nồng độ cơ chất, nên sản phẩm sinh ra tác động vào trung tâm hoạt động của enzyme làm cho enzyme mất đi hoạt tính xúc tác và tốc độ của phản ứng giảm (Michaelis and Menten, 1913). Khi kéo dài thời gian thủy phân từ 1 giờ đến 4 giờ, hàm lượng glycerol thu được giảm từ 4,65% đến giá trị thấp nhất là 2,99%. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng thời gian thủy phân đến 5 giờ và 6 giờ, hàm lượng

**Hình 3: Ảnh hưởng của tỷ lệ và thời gian vô hoạt enzyme lipase trong cám gạo bằng chế phẩm flavourzyme đến hàm lượng glycerol**



glycerol tăng lên 3,99% và 5,30%. Trong quá trình thủy phân bằng enzyme ở điều kiện nhất định, khi kéo dài thời gian sẽ tăng hiệu suất thủy phân, tuy nhiên nếu thời gian quá dài có thể làm cho hoạt tính enzyme giảm dần do enzyme bị biến tính và mất dần hoạt tính hay sản phẩm tạo ra có khả năng ức chế hoạt động của enzyme.

Theo nghiên cứu (Lê Hoàng Phượng, 2017) đã nghiên cứu ảnh hưởng tỷ lệ broilamin và thời gian xử lý đến khả năng vô hoạt lipoxygenase (LOX) và cho thấy thời gian xử lý là yếu tố quan trọng, đánh giá khả năng vô hoạt và xác định hiệu suất vô hoạt. Kết quả thống kê cho thấy tỷ lệ enzyme khác nhau và thời gian vô hoạt khác nhau thì hoạt tính LOX có sự thay đổi, ở mức sử dụng broilamin 0,003% hoạt tính LOX còn lại thấp, với mức 0,015% hoạt tính LOX là thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa. Ở thời gian xử lý 15 và 20 phút hoạt tính LOX giảm đáng kể.

Nghiên cứu thủy phân sò lông (Anadara antiquata) bằng sự kết hợp enzyme protamex và flavourzyme (Nguyễn Thị Mỹ Hương và Đặng Thị Thu Hương, 2013). Kết quả đã chỉ ra rằng điều kiện thích hợp cho protamex ở giai đoạn đầu của quá trình thủy phân là tỷ lệ protamex/nguyên liệu 0,3% và thời gian thủy phân 4 giờ. Giai đoạn sau tiếp tục thủy phân bằng flavourzyme với điều kiện thích hợp là tỉ lệ enzyme là 0,2% với thời gian là 3 giờ.

Kết quả từ nghiên cứu ứng dụng hỗn hợp alcalase và flavourzyme thủy phân cá nục gai

(decapterus russelli) thu hồi dịch đậm thủy phân (Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn, 2017). Dịch đậm thủy phân thu được bằng việc sử dụng enzyme alcalase và flavourzyme trong 3, 4, 5, 6, 7 giờ với tỷ lệ enzyme 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5% so với khối lượng nguyên liệu. Kết quả cho thấy thời gian thủy phân 6 giờ cho kết quả thỏa mãn nhiều nhất các điều kiện đã đặt ra nên được chọn là thời gian thích hợp để thủy phân protein cá nục gai bằng hỗn hợp. Giá trị của các chỉ tiêu tăng từ 0÷0,2% và tiếp tục tăng lên tới 0,5%.

Theo nghiên cứu (Herpandi et al., 2012) đã nghiên cứu độ thủy phân và lượng acid amin tryptophan tự do của

sản phẩm thủy phân cá nục bằng các loại protease (alcalase, protamex, neutrase và flavourzyme) trong thời gian 60, 120, 180 và 240 phút với tỷ lệ protease là 0,5%, 1%, 1,5%, 2% so với khối lượng của nguyên liệu. Tất cả các enzyme đều tăng hàm lượng tryptophan tự do một cách tuyến tính với sự gia tăng nồng độ enzyme protease. Thời gian thủy phân càng dài, hàm lượng tryptophan tự do sản xuất càng cao.

Nghiên cứu của (Mustafa et al., 2012) cũng đề nghị thời gian 4 giờ cho quá trình thủy phân dịch protein từ phụ phẩm các loại cá tạp trong dây chuyền chế biến thủy sản ở Indonesia.

Từ kết quả Hình 3 cho thấy giữa các nghiệm thức thí nghiệm có sự khác biệt ý nghĩa ( $p < 0,05$ ), hàm lượng glycerol ở mẫu sử dụng enzyme flavourzyme tỷ lệ 0,4% trong 4 giờ đạt thấp nhất (2,54%) thấp hơn 4,4 lần cám khi chưa vô hoạt (11,21%).

**4. Kết luận**

Phương pháp sử dụng enzyme protease thương phẩm ức chế lipase trong cám gạo hạn chế được một số nhược điểm của các phương pháp sử dụng nhiệt độ cao như ép đùn. Theo nghiên cứu này đã đưa ra một số kết quả như sau: chế phẩm protamex và flavourzyme là 2 enzyme ức chế được lipase trong cám gạo nếu sử dụng cùng tỷ lệ 0,4%, thời gian thủy phân thích hợp lần lượt là 4 giờ và 5 giờ. Đây là kết quả quan trọng cho việc xử lý và sử dụng cám gạo, góp phần tăng giá trị của ngành nông nghiệp ■

**Lời cảm ơn:**

Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí từ đề tài “Nghiên cứu sự biến đổi thành phần dinh dưỡng và đa dạng sản phẩm thức uống uống cho người từ nguồn phụ phẩm cám gạo” số B2019-TKG-05 của Bộ Giáo dục và Đào tạo và Dự án Nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA từ chính phủ Nhật Bản.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO:**

1. Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn, (2013). Nghiên cứu chế độ thủy phân thu dịch đậm hòa tan giàu acid amine từ protein cá tạp. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ thủy sản, Đại học Nha Trang* Số 1, pp. 138-143.
2. Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn. (2017). Nghiên cứu ứng dụng hỗn hợp Alcalase và Flavourzyme để thủy phân cá nục gai (*Decapterus Russelli*) thu hồi dịch đậm thủy phân. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản - Trường Đại học Nha Trang*, 3, pp. 73-79.
3. Herpandi, N. Huda, A. Rosma, and W. A. Wan Nadiah. (2012). Degree of Hydrolysis and Free Tryptophan Content of Skipjack Tuna (*Katsuwonus Pelamis*) Protein Hydrolysates Produced with Different Type of Industrial Proteases. *International Food Research Journal*, 92, pp. 485-489.
4. Kahlon, Ts. (2009). Rice Bran: Production, Composition, Functionality and Food Applications, Physiological Benefits. Boca Raton, Florida. In: Cho, S.S., Samuel, P. (Eds), *Fiber ingredients Food Applications and Health benefits*, pp. 305-321.
5. Lakkakula, N. Rao, Marybeth Lima, and Terry Walker. 2004. Rice Bran Stabilization and Rice Bran Oil Extraction Using Ohmic Heating. *Bioresource Technology* (92), pp.157-69.
6. Lê Hoàng Phượng. (2017). Vô hoạt Enzyme Lipoxxygenase trong cám gạo bằng Enzyme Bromelain. *Tạp chí Khoa học Lạc Hồng, issue* (11/2017), pp.142-145.
7. Lê Ngọc Tú, Lê Văn Chữ, Đặng Thị Thu, Nguyễn Thị Thịnh, Bùi Đức Hợi, và Lê Doãn Diên, (2004). *Hóa sinh công nghiệp*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
8. Malekian, Fatemeh et al. (2000). *Lipase and Lipoxxygenase Activity, Functionality, and Nutrient Losses in Rice Bran During Storage*. Louisiana State University Agricultural Center.
9. Mustafa, Annasari, M. A. Widodo, and Yohanes Kristianto. (2012). *Albumin And Zinc Content Of Snakehead Fish ( Channa Striata ) Extract And Its Role In Health*. IEESE International Journal Of Science and Technology.
10. Nguyễn Đức Lượng, và cộng sự. (2004). *Công nghệ Enzyme*. Nhà Xuất bản Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.
11. Nguyễn Thị Mỹ Hương và Đặng Thị Thu Hương. (2013). Bằng sự kết hợp enzyme protamex và flavouzym thủy phân sò (*Anadara Antiquata*). *Tạp chí Khoa học Công nghệ thủy sản, Đại học Nha Trang*.
12. Sarkar, S. and D. K. Bhattacharyya. (1991). Nutrition of Rice Bran Oil in Relation to Its Purification. *Journal of the American Oil Chemists Society*.
13. Sharif, Mian Kamran, Masood Sadiq Butt, Faqir Muhammad Anjum, and Saima Hafiz Khan. (2014). *Rice Bran: A Novel Functional Ingredient*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition.
14. Sharma, H. R., G. S. Chauhan, and Kuldeep Agrawal. (2004). Physico-Chemical Characteristics of Rice Bran Processed by Dry Heating and Extrusion Cooking. *International Journal of Food Properties*, 19, 627-662.
15. Tabaraki, Reza and Ashraf Nateghi. (2011). Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Natural Antioxidants from Rice Bran Using Response Surface Methodology. *Ultrasonics Sonochemistry. Int. J. Environ. Sci.* 1072-1078.
16. Wang, Changyuan, Dan Li, Feng Xu, Tianshu Hao, and Min Zhang. (2014). Comparison of Two Methods for the Extraction of Fractionated Rice Bran Protein. *Journal of Chemistry*, 22, 271-288.

Ngày nhận bài: 8/2/2021

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 8/3/2021

Ngày chấp nhận đăng bài: 28/3/2021

*Thông tin tác giả:*

**1. LÊ HOÀNG PHƯƠNG**

**2. NGÔ THỊ CẨM TÚ**

Trưởng Đại học Kiên Giang

**3. LÝ NGUYỄN BÌNH**

Trưởng Đại học Cần Thơ

## **THE EFFECTS OF PROTAMEX AND FLAVOURZYME ON THE HYDROLYSIS PROCESS OF RICE BRAN**

● **LE HOANG PHUONG**

● **NGO THI CAM TU**

Kien Giang University

● **LY NGUYEN BINH**

Can Tho University

### **ABSTRACT:**

This study analyzes the effects of protamex and flavourzyme on the hydrolysis process of rice bran. Based on reliable initial results, the study finds out how to solve the lipase which cause the spoilage of rice bran. The results indicate that the suitable conditions to inhibit the lipase are the ratio of protamex at 0.4% with the hydrolysis time of 5 hours or the ratio of flavourzyme at 0.4% with the hydrolysis time of 4 hours. This study's results provide opportunities to develop high nutrient dense products from rice bran by-products, contributing to protecting the environment and promoting Vietnam's agricultural development in the future.

**Keywords:** protamex, flavourzym, lipase, rice bran, hydrolysis.