

TỐI ƯU HÓA NỒNG ĐỘ ENZYME VÀ THỜI ĐIỂM BỔ SUNG FLAVOURZYME TRONG SẢN XUẤT DỊCH ĐẠM TỪ ĐÀU CÁ LÓC (*Channa striata*) BẰNG ENZYME ALCALASE VÀ FLAVOURZYME

Trương Thị Mộng Thu^{1,2,*}, Lê Thị Minh Thủy²,
Nguyễn Văn Mười³, Trần Thanh Trúc³

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tối ưu hóa nồng độ enzyme và thời điểm bổ sung flavourzyme trong sản xuất dịch đậm từ đầu cá lóc (*Channa striata*) theo phương pháp bổ sung alcalase trước và flavourzyme sau. Quá trình thủy phân được tối ưu hóa theo phương pháp bề mặt đáp ứng với 4 nhân tố gồm nồng độ alcalase (23,18 - 56,81 U/g protein), nồng độ flavourzyme (69,54 - 170,45 U/g protein), thời điểm bổ sung flavourzyme (6,95 - 17,04 giờ) và thời gian thủy phân (19,91 - 40,09 giờ) với 19 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Kết quả cho thấy, điều kiện thủy phân tối ưu với nồng độ alcalase (53,1 U/g protein), nồng độ flavourzyme (104,1 U/g protein), thời điểm bổ sung flavourzyme (7,93 giờ) và thời gian thủy phân (31,1 giờ). Với điều kiện thủy phân tối ưu, dịch đậm thủy phân đạt hiệu suất thủy phân 53,3%, hiệu suất thu hồi protein 66,0% và hàm lượng đạm axit amin 14,3 g/L.

Từ khoá: *Alcalase, đầu cá lóc, flavourzyme, tối ưu hóa, thời điểm bổ sung flavourzyme.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá lóc (*Channa striata*) là loài cá nước ngọt có chất lượng thịt ngon, giá trị dinh dưỡng cao và giá thành tương đối ổn định. Vì vậy, sản lượng cá lóc ngày càng tăng ở nhiều tỉnh đồng bằng sông Cửu Long; việc phát triển mạnh mẽ nghề nuôi cá lóc đã thúc đẩy yêu cầu cấp thiết của việc phát triển các sản phẩm chế biến như: mắm, khô, chà bông, chả cá lóc gia tăng. Tuy nhiên, trong quá trình chế biến sản phẩm khô cá lóc, hiệu suất thu hồi thịt cá chỉ xấp xỉ 60% [1]. Như vậy lượng phụ phẩm thải ra chiếm khoảng 40% tổng khối lượng nguyên liệu.

Nhằm giải quyết vấn đề môi trường và tận dụng nguồn phụ phẩm này thì các phương pháp xử lý khác nhau được áp dụng như ủ, lên men, sản xuất dầu cá và thủy phân [2]. Trong đó, thủy phân thu hồi protein từ phụ phẩm cá bằng enzyme là một cách tiếp cận hiệu quả và được ứng dụng rộng rãi. Các protease đã được sử dụng để thủy phân protein như: alcalase, bromelain, trypsin, flavourzyme, neutrase, protamex và kojizyme [3]. Trong đó, alcalase có hoạt

tính endopeptidase có nguồn gốc từ vi khuẩn *Bacillus licheniformis*, nhờ vào hoạt tính endopeptidase của alcalase thủy phân liên kết peptide bên trong phân tử protein đem lại hiệu quả thủy phân cao [4]. Flavourzyme có cả hoạt tính endopeptidase và exopeptidase nhưng chủ yếu là exopeptidase, có nguồn gốc từ *Aspergillus oryzae*. Nhờ vào hoạt tính exopeptidase của flavourzyme, thủy phân đầu amin cuối cùng của chuỗi polypeptide thu được sản phẩm thủy phân có vị đắng giảm đáng kể [4]. Đã có một số nghiên cứu kết hợp cả endopeptidase và exopeptidase nhằm tăng hiệu quả của quá trình thủy phân. Bên cạnh đó, tối ưu hóa (optimizing) là quá trình đạt tới một hay nhiều giá trị tốt nhất hay tối ưu. Vì vậy, Ovissipour và cs (2012) [5] đã nghiên cứu tối ưu hóa quá trình thủy phân protein từ nội tạng cá ngừ vây vàng (*Thunnus albacares*) bằng enzyme alcalase. Từ thực tế này, nghiên cứu tìm điều kiện thủy phân tối ưu như nồng độ enzyme alcalase, enzyme flavourzyme, thời điểm bổ sung flavourzyme và thời gian thủy phân đầu cá lóc nhằm đạt hiệu suất thủy phân và hiệu suất thu hồi protein cao để thu hồi protein sản xuất dịch đậm và giúp giảm ô nhiễm môi trường do phụ phẩm cá thải ra là rất cần thiết.

¹ Nghiên cứu sinh ngành Công nghệ thực phẩm khóa 2020, Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

³ Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Email: ttmthu@ctu.edu.vn

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị mẫu

Đầu cá lóc được mua tại cơ sở khô cá lóc 7 Chóp (Thoại Sơn, An Giang). Đầu cá khi thu tại cơ sở được làm đông ở $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$, đóng thùng và vận chuyển về phòng thí nghiệm, thời gian vận chuyển không quá 6 giờ. Đầu cá được rửa sạch nhớt, máu bằng nước muối loãng 0,5%, sau đó loại bỏ mắt, mang và bông nhớt, trong quá trình xử lý và rửa đầu cá luôn được giữ lạnh bằng nước đá. Rửa sạch, để ráo, cho vào túi PE (1 kg/túi) bảo quản đông ở nhiệt độ $-20\pm 2^{\circ}\text{C}$ không quá 2 tháng. Khi tiến hành thí nghiệm đầu cá được rã đông, cắt làm đôi và xay 1 phút bằng máy xay công

nh nghiệp. Đầu cá xay được tiến xử lý loại lipid khi tiến hành thủy phân.

Flavourzyme được sản xuất bởi Công ty Novozyme (Đan Mạch) có hoạt độ 2450 LAPU (Leucine Aminopeptidase Units)/g, điều kiện hoạt động thích hợp là $50-55^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=5,0-7,0$. Enzyme alcalase 2,4L (Novozyme, Đan Mạch) có hoạt độ là 825 U/g, điều kiện hoạt động tốt nhất là $\text{pH} 6,5 - 8,5$, nhiệt độ $45 - 65^{\circ}\text{C}$ [4].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tối ưu hóa nồng độ và thời điểm bổ sung flavourzyme để thủy phân protein từ đầu cá lóc bằng alcalase và flavourzyme.

Bảng 1. Ma trận quy hoạch thực nghiệm quá trình tối ưu hóa nồng độ enzyme và thời điểm bổ sung flavourzyme thủy phân đầu cá lóc bằng alcalase và flavourzyme

| NT | Giá trị mã hóa | | | | Giá trị thực nghiệm | | | |
|----|----------------|-------|-------|-------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------|
| | X1 | X2 | X3 | X4 | Nồng độ A (U/g protein) | Nồng độ F (U/g protein) | Thời điểm bổ sung F (giờ) | Thời gian (giờ) |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 1,68 | 40 | 120 | 12 | 40,09 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 40 | 120 | 12 | 30 |
| 3 | -1 | -1 | -1 | -1 | 30 | 90 | 9 | 24 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 40 | 120 | 12 | 30 |
| 5 | 1 | -1 | -1 | 1 | 50 | 90 | 9 | 36 |
| 6 | -1 | -1 | 1 | -1 | 30 | 90 | 15 | 24 |
| 7 | 1 | 1 | 1 | -1 | 50 | 150 | 15 | 24 |
| 8 | 0 | 0 | -1,68 | 0 | 40 | 120 | 6,95 | 30 |
| 9 | 1,68 | 0 | 0 | 0 | 56,81 | 120 | 12 | 30 |
| 10 | 1 | -1 | 1 | 1 | 50 | 90 | 15 | 36 |
| 11 | -1 | 1 | 1 | 1 | 30 | 150 | 15 | 36 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 40 | 120 | 12 | 30 |
| 13 | 1 | 1 | -1 | -1 | 50 | 150 | 9 | 24 |
| 14 | 0 | 0 | 1,68 | 0 | 40 | 120 | 17,04 | 30 |
| 15 | 0 | -1,68 | 0 | 0 | 40 | 69,54 | 12 | 30 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | -1,68 | 40 | 120 | 12 | 19,91 |
| 17 | -1 | 1 | -1 | 1 | 30 | 150 | 9 | 36 |
| 18 | 0 | 1,68 | 0 | 0 | 40 | 170,45 | 12 | 30 |
| 19 | -1,68 | 0 | 0 | 0 | 23,18 | 120 | 12 | 30 |

Ghi chú: Giá trị mã hóa -1,68, -1, 0, +1, +1,68 thể hiện 5 mức độ khảo sát ứng với nồng độ enzyme alcalase (U/g protein) là 23,18; 30; 40; 50 và 56,81; nồng độ flavourzyme (U/g protein) là 69,54; 90; 120; 150 và 170,45; thời điểm bổ sung flavourzyme (giờ) 6,95; 9; 12; 15 và 17,04; thời gian thủy phân (giờ) là 19,91; 24; 30; 36 và 40,09 tương ứng với các giá trị mã hóa -1,68, -1, 0, +1, +1,68). NT: nghiệm thức; A: alcalase; F: flavourzyme).

Tiến hành thí nghiệm: Sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) -thiết kế Draper-Lin small composite design tối ưu hóa điều kiện thủy phân đầu

cá lóc với 4 nhân tố (nồng độ alcalase, nồng độ flavourzyme, thời điểm bổ sung flavourzyme và thời gian thủy phân). Các nhân tố chính được nghiên cứu với 5 mức ($-\alpha; -1; 0; 1; +\alpha$), 19 nghiệm thức, 3 lần lặp

lại và 57 đơn vị thí nghiệm. Trong đó có 3 nghiệm thức ở tâm phương án để kiểm tra ý nghĩa và các hệ số của phương trình hồi quy. Đầu cá lóc xử lý như mục 2.1 và tiến hành thủy phân theo phương pháp bổ sung alcalase trước (nồng độ alcalase thay đổi như bảng 1), sau đó bổ sung flavourzyme (nồng độ và thời điểm bổ sung flavourzyme thay đổi như bảng 1) và thời gian thủy phân thay đổi như bảng 1. Giá trị trung tâm của các nhân tố chính và các thông số cố định trong quá trình thủy phân đã được chọn dựa trên kết quả thí nghiệm khảo sát sơ bộ như pH nguyên liệu, nhiệt độ 50°C. Tỷ lệ nguyên liệu: dung dịch ethanol 20°C là 1 : 1 [6].

Sau khi kết thúc quá trình thủy phân, bất hoạt enzyme ở 95°C trong 10 phút [10], lọc loại bã đầu và thu phần dịch lọc. Phần dịch lọc được ly tâm 7.500 vòng/phút ở 4°C trong 30 phút. Sau ly tâm, thu được 3 phần: lớp trên cùng là lipid, lớp giữa là dịch đậm thủy phân, lớp đáy là phần rắn. Tiến hành phân tích hiệu suất thủy phân, hiệu suất thu hồi protein và hàm lượng đạm acid amin trong phần dịch đậm thủy phân. Từ đó xác định được nồng độ alcalase, nồng độ flavourzyme, thời điểm bổ sung flavourzyme và thời gian thủy phân tối ưu.

2.3. Phương pháp phân tích

Hoạt tính alcalase và flavourzyme theo phương pháp của Cupp-enyard (2008) [8]. Xác định hàm lượng đạm axit amin theo TCVN 5165 – 90.

Hiệu suất thủy phân (%) được xác định theo phương pháp OPA (o-phthalaldehyde), dựa trên nguyên tắc các nhóm amin của axit amin hoặc peptide phản ứng với Ortho-phthaldialdehyde với sự có mặt của -SH của dithiothreitol hoặc mercaptoethanol sẽ tạo ra hợp chất có khả năng hấp thụ ở bước sóng 340 nm [9].

Hiệu suất thu hồi protein (PR, %) được xác định theo phương pháp của Wang và cs (2018) [10]. PR (%) = (Hàm lượng protein tổng số trong dịch thủy phân*khối lượng dịch đậm)*100/(Hàm lượng protein tổng số trong nguyên liệu đầu cá *khối lượng nguyên liệu).

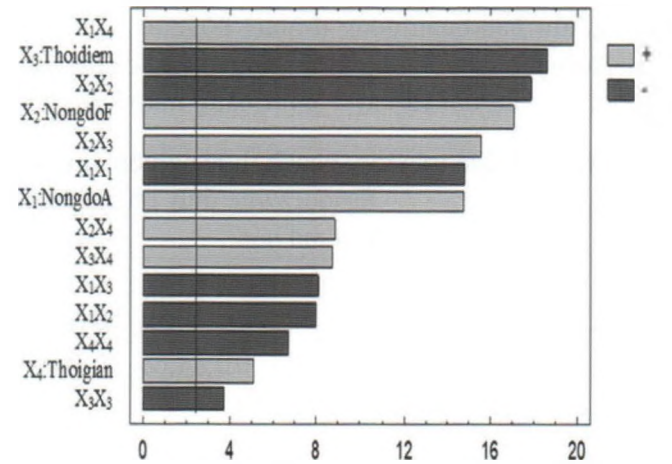
2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được tính trung bình ± độ lệch chuẩn bằng chương trình Microsoft Excel 2013. Thống kê số liệu sử dụng chương trình Statgraphics Centurion XV Version 15.1.02.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của các nhân tố nồng độ alcalase, nồng độ flavourzyme, thời điểm bổ sung flavourzyme và thời gian thủy phân đến hiệu suất thủy phân (DH)

Kết quả phân tích ảnh hưởng của các nhân tố mã hóa nồng độ alcalase (X₁), nồng độ flavourzyme (X₂), thời điểm bổ sung flavourzyme (X₃) và thời gian thủy phân (X₄) với phương trình hồi quy đến hiệu suất thủy phân (DH) được thể hiện ở hình 1.



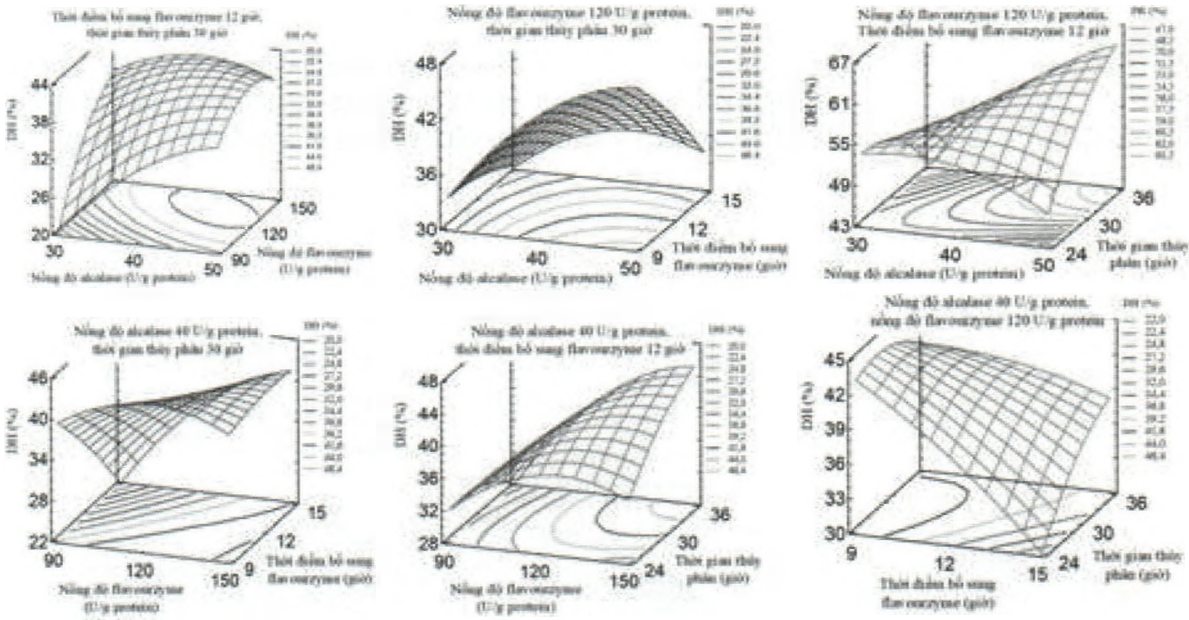
Hình 1. Đồ thị biểu diễn ảnh hưởng của các thừa số khảo sát (đơn lẻ, kết hợp) đến DH

Hình 1 cho thấy, hệ số hồi quy bậc 1 của X₁, X₂, X₃, X₄ cũng như hệ số tương tác của X₁, X₂, X₃, X₄ cho thấy nồng độ alcalase, nồng độ flavourzyme, thời điểm bổ sung flavourzyme và thời gian thủy phân đều ảnh hưởng đến DH và khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05). Hệ số hồi quy của X₁X₁, X₂X₂, X₃X₃, X₄X₄, X₁X₂, X₁X₃, X₁X₄, X₂X₃, X₂X₄, X₃X₄ cũng khác biệt ý nghĩa thống kê.

Đối với hàm đáp ứng Y₁ (DH) kết quả phân tích thống kê số liệu thu thập, phương trình hồi quy biểu diễn sự tương quan giữa các nhân tố X₁, X₂, X₃ và X₄ đến DH như sau:

$$Y_1 = 131,028 + 0,819633X_1 + 0,491151X_2 - 6,1131X_3 - 7,66735X_4 - 0,0313114X_1^2 - 0,0126682X_1X_2 - 0,0880943X_1X_3 + 0,156972X_1X_4 - 0,00408577X_2^2 + 0,0507444X_2X_3 + 0,0186489X_2X_4 - 0,0851414X_3^2 + 0,14214X_3X_4 - 0,0383082X_4^2 \quad (1)$$

Dựa vào phương trình hồi quy (1), đồ thị bề mặt đáp ứng về sự tương quan giữa từng cặp của các yếu tố khảo sát đến hàm mục tiêu (DH) được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Đồ thị bề mặt đáp ứng biểu diễn tác động tương tác các yếu tố đến DH

Hình 2 cho thấy, DH cao nhất khi nồng độ alcalase khoảng từ 46 – 56,8 U/g protein, nồng độ flavourzyme khoảng từ 100 – 130 U/g protein, thời điểm bổ sung flavourzyme khoảng từ 6,95 – 9 giờ và thời gian thủy phân khoảng từ 32 – 40 giờ.

Tối ưu hóa các nhân tố đến hàm mục tiêu DH (Y_1^{max}) được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Tối ưu hóa hàm mục tiêu DH

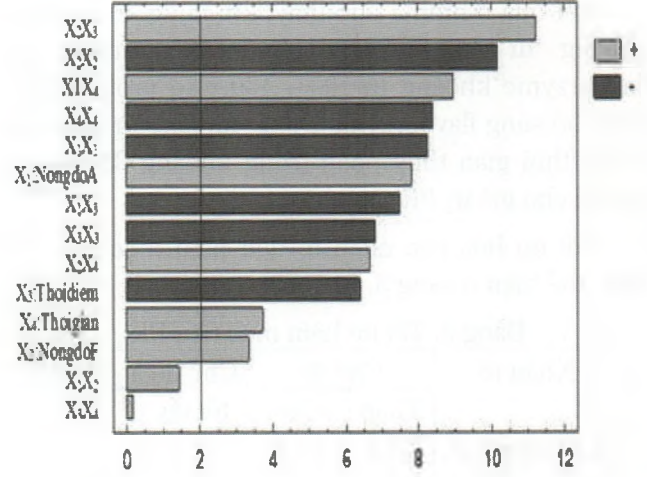
| Nhân tố | Chế độ | | Chế độ tối ưu | Y_1^{max} (%) |
|------------------|--------|------|---------------|-----------------|
| | Thấp | Cao | | |
| X_1 : NongdoA | 23,2 | 56,8 | 56,8 | 69,6 |
| X_2 : NongdoF | 69,5 | 170 | 105,8 | |
| X_3 : Thoidiem | 6,95 | 17,0 | 7,01 | |
| X_4 : Thoigian | 19,9 | 40,1 | 39,9 | |

Ghi chú: X_1 : (NongdoA): nồng độ alcalase (U/g protein), X_2 : (NongdoF): nồng độ flavourzyme (U/g protein), X_3 : (Thoidiem): thời điểm bổ sung flavourzyme (giờ) và X_4 : (Thoigian): thời gian thủy phân (giờ).

Bảng 2 cho thấy giá trị tối ưu của DH (69,6%) khi nồng độ alcalase là 56,8 U/g protein, nồng độ flavourzyme là 105,8 U/g protein, thời điểm bổ sung flavourzyme là 7,01 giờ và thời gian thủy phân là 39,9 giờ.

3.2. Ảnh hưởng của các nhân tố nồng độ alcalase, nồng độ flavourzyme, thời điểm bổ sung flavourzyme và thời gian thủy phân đến hiệu suất thu hồi protein (PR)

Kết quả phân tích ảnh hưởng của các nhân tố mã hóa với phương trình hồi quy đến hiệu suất thu hồi protein (PR) được thể hiện ở hình 3.



Hình 3. Đồ thị biểu diễn ảnh hưởng của các thừa số khảo sát (đơn lẻ, kết hợp) đến PR

Hình 3 cho thấy, tất cả các nhân tố và tương tác của các nhân tố đều có ảnh hưởng đến hàm mục tiêu PR trong quá trình thủy phân đầu cá lóc bằng phương pháp bổ sung alcalase trước và flavourzyme sau. Ngoại trừ, X_1X_2 và X_3X_4 không ảnh hưởng đến PR.

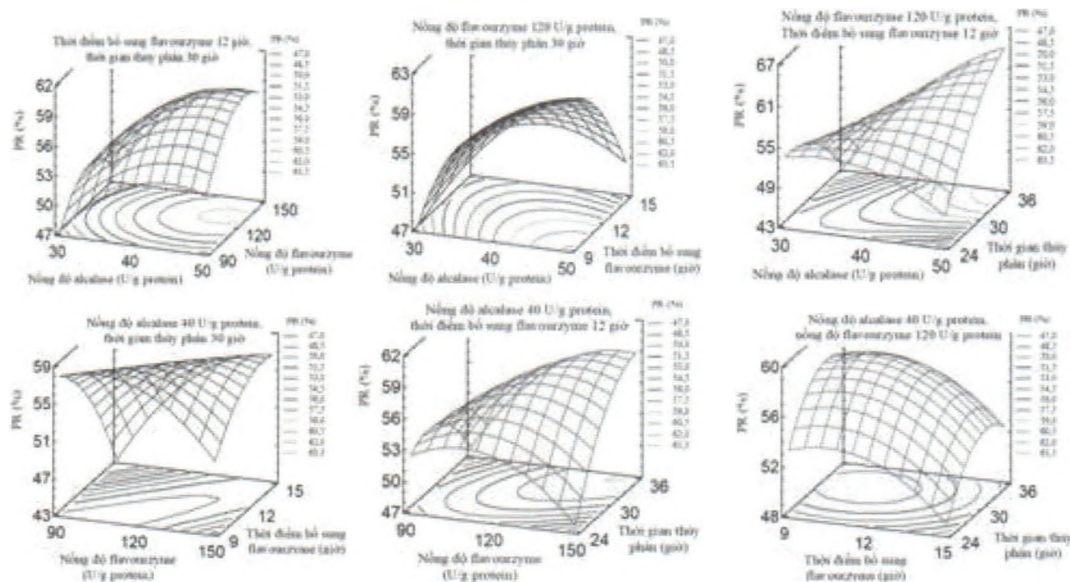
Dựa trên kết quả phân tích ANOVA, phương trình hồi quy thể hiện sự tương quan của các nhân tố X_1, X_2, X_3 và X_4 đến PR (Y_2) được thiết lập và sử dụng để dự đoán hiệu quả của quá trình thủy phân protein.

PR được xác định bằng cách thay các biến với giá trị thực vào phương trình sau:

$$Y_2 = 89,6483 + 0,319412X_1 - 0,557262X_2 + 3,18189X_3 - 2,30453X_4 - 0,0268264X_1^2 + 0,00351447X_1X_2 - 0,125471X_1X_3 + 0,109157X_1X_4 -$$

$$0,00357689X_2^2 + 0,0562811X_2X_3 + 0,0217165X_2X_4 - 0,239838X_3^2 + 0,00455356X_3X_4 - 0,0738721X_4^2 \quad (2)$$

Dựa vào phương trình hồi quy (2), đồ thị bề mặt đáp ứng về sự tương quan giữa từng cặp của các yếu tố khảo sát đến hàm mục tiêu PR ở hình 4.



Hình 4. Đồ thị bề mặt đáp ứng biểu diễn tác động tương tác của các yếu tố đến PR

Kết quả ở hình 4 cho thấy, khi nồng độ alcalase khoảng từ 48 – 56,8 U/g protein, nồng độ flavourzyme khoảng từ 100 – 130 U/g protein, thời điểm bổ sung flavourzyme trong khoảng từ 6,95 đến 9 giờ, thời gian thủy phân trong khoảng 32 đến 40 giờ thì cho giá trị PR cao nhất.

Tối ưu hóa các nhân tố đến hàm mục tiêu PR được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Tối ưu hàm mục tiêu PR

| Nhân tố | Chế độ | | Chế độ tối ưu | Y ₂ ^{max} (%) |
|---------------------------|--------|-------|---------------|-----------------------------------|
| | Thấp | Cao | | |
| X ₁ : NongdoA | 23,2 | 56,8 | 56,8 | 77,8 |
| X ₂ : NongdoF | 69,5 | 170 | 117,3 | |
| X ₃ : Thoidiem | 6,95 | 17,04 | 6,95 | |
| X ₄ : Thoigian | 19,91 | 40,09 | 40,0 | |

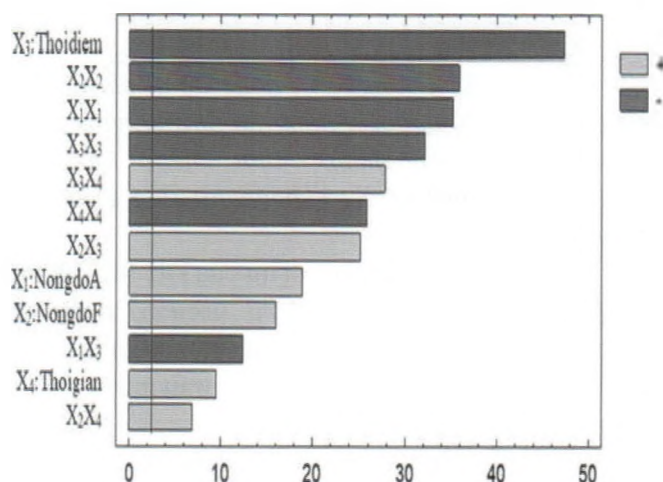
Ghi chú: X₁: (NongdoA): nồng độ alcalase (U/g protein), X₂: (NongdoF): nồng độ flavourzyme (U/g protein), X₃: (Thoidiem): thời điểm bổ sung flavourzyme (giờ) và X₄: (Thoigian): thời gian thủy phân (giờ).

Bảng 3 cho thấy với điều kiện thủy phân tối ưu là nồng độ alcalase là 56,8 U/g protein, flavourzyme là 117,3 U/g protein, thời điểm bổ sung flavourzyme là

6,95 giờ, thời gian thủy phân là 40,0 giờ thì hiệu suất thu hồi protein đạt giá trị cao nhất là 77,8%.

3.3. Ảnh hưởng của các nhân tố nồng độ alcalase, nồng độ flavourzyme, thời điểm bổ sung flavourzyme và thời gian thủy phân đến hàm lượng đạm axit amin (Naa)

Kết quả phân tích ảnh hưởng của các nhân tố mã hóa với hàm mục tiêu hàm lượng đạm axit amin (Naa) được thể hiện ở hình 5.



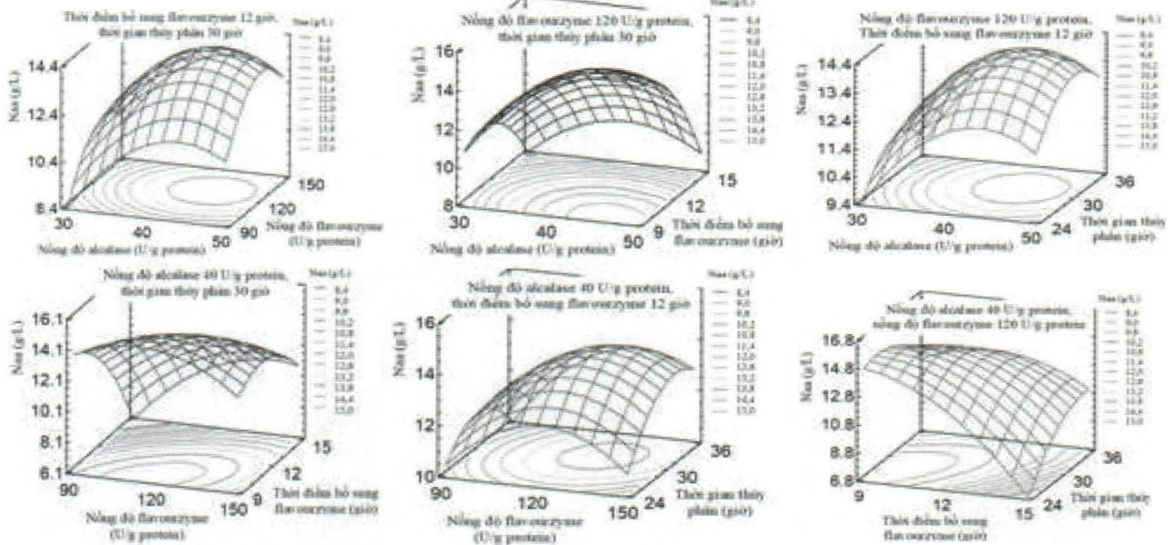
Hình 5. Đồ thị biểu diễn ảnh hưởng của các thừa số khảo sát (đơn lẻ, kết hợp) đến Naa

Kết quả ở hình 5 cho thấy Naa chịu ảnh hưởng của cả bốn nhân tố và tương tác giữa các nhân tố. Ngoại trừ, X_1X_2 và X_1X_4 không ảnh hưởng đến Naa.

Phương trình hồi quy biểu diễn sự tương quan các nhân tố X_1, X_2, X_3, X_4 đến Naa: $Y_3 = -39,0208 + 1,83338X_1 + 0,170949X_2 - 0,520963X_3 + 0,559294X_4 -$

$$0,0170184X_1^2 - 0,0283224X_1X_3 - 0,00188645X_2^2 + 0,0173693X_2X_3 + 0,0032805X_2X_4 - 0,169003X_3^2 + 0,0961058X_3X_4 - 0,0338701X_4^2 \quad (3)$$

Đồ thị bề mặt đáp ứng sự tương quan giữa từng cặp của các yếu tố khảo sát đến hàm mục tiêu Naa được thể hiện ở hình 6.



Hình 6. Đồ thị bề mặt đáp ứng biểu diễn tác động tương tác các nhân tố đến Naa

Hình 6 cho thấy, để Naa đạt giá trị cao khi nồng độ alcalase khoảng từ 42 - 50 U/g protein, nồng độ flavourzyme khoảng từ 130 - 145 U/g protein, thời điểm bổ sung enzyme flavourzyme là 6,95 - 9 giờ và thời gian thủy phân trong khoảng từ 28 - 32 giờ.

Tối ưu hóa các nhân tố đến hàm mục tiêu Naa được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Tối ưu hóa hàm mục tiêu Naa

| Nhân tố | Chế độ | | Chế độ tối ưu | Y_3^{max} (g/L) |
|------------------|--------|------|---------------|-------------------|
| | Thấp | Cao | | |
| X_1 : NongdoA | 23,2 | 56,8 | 47,9 | 16,6 |
| X_2 : NongdoF | 69,5 | 170 | 97,4 | |
| X_3 : Thoidiem | 6,95 | 17,0 | 6,95 | |
| X_4 : Thoigian | 19,9 | 40,1 | 22,9 | |

Ghi chú: X_1 : (NongdoA): nồng độ alcalase (U/g protein), X_2 : (NongdoF): nồng độ flavourzyme (U/g protein), X_3 : (Thoidiem): thời điểm bổ sung flavourzyme (giờ) và X_4 : (Thoigian): thời gian thủy phân (giờ).

Từ bảng 4 cho thấy giá trị tối ưu của hàm lượng đạm axit amin (16,6 g/L) khi nồng độ alcalase là 47,9 U/g protein, flavourzyme là 97,4 U/g protein, thời điểm bổ sung flavourzyme là 6,95 giờ, thời gian thủy phân là 22,9 giờ.

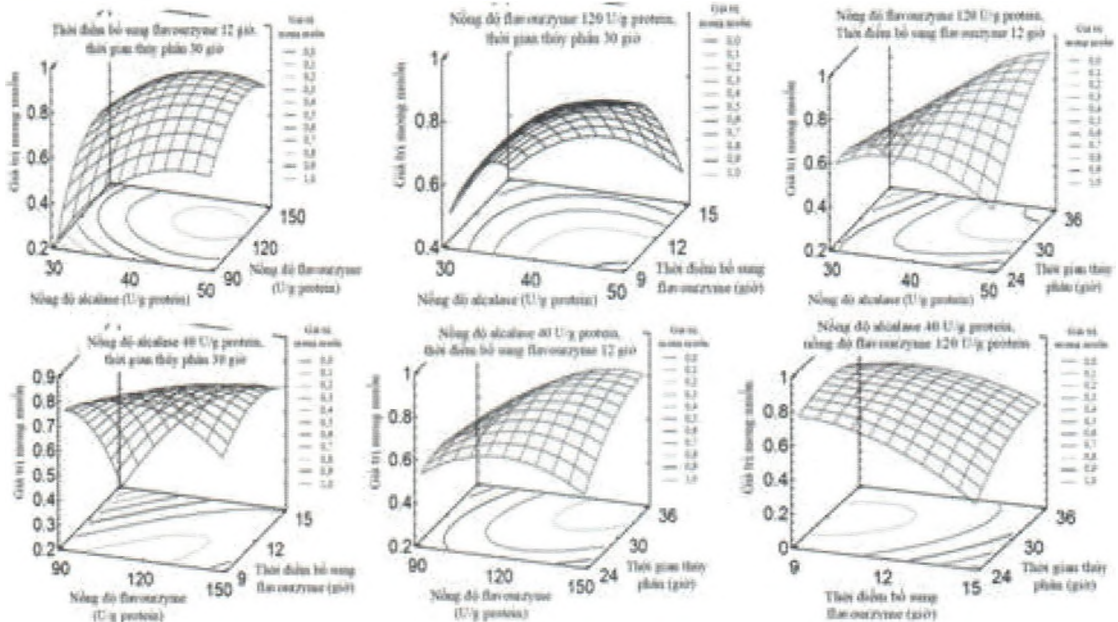
3.4. Tối ưu hóa chế độ thủy phân cho cả ba hàm mục tiêu hiệu suất thủy phân (DH), hiệu suất hồi protein (PR) và hàm lượng đạm axit amin (Naa)

Đồ thị bề mặt đáp ứng thể hiện sự tương tác giữa các yếu tố nồng độ alcalase, nồng độ flavourzyme, thời điểm bổ sung flavourzyme và thời gian thủy phân được thể hiện ở hình 7.

Hình 7 cho thấy, giá trị tối ưu của các nhân tố khảo sát như nồng độ alcalase, nồng độ flavourzyme, thời điểm bổ sung flavourzyme và thời gian thủy phân ảnh hưởng rất lớn tới các hàm mục tiêu DH, PR, Naa. Giá trị hàm mục tiêu DH, PR, Naa đạt cao khi nồng độ alcalase khoảng từ 46 - 56,8 U/g protein và nồng độ flavourzyme khoảng từ 100 - 130 U/g protein, thời điểm bổ sung enzyme flavourzyme là 6,95 - 9 giờ và thời gian thủy phân trong khoảng từ 28 - 32 giờ. Khi tăng nồng độ enzyme, quá trình thủy phân protein (cắt mạch polypeptide) xảy ra mãnh liệt do cơ chất thừa nên DH tăng, dẫn đến PR và Naa tăng. Tuy nhiên tốc độ phản ứng thủy phân tăng tới một giá trị giới hạn nhất định. Khi $v=v_{max}$ nếu tiếp tục tăng nồng độ enzyme thì tốc độ phản ứng thủy phân tăng không đáng kể, thậm chí không tăng [11]. Thời gian thủy phân cần đủ dài để enzyme phân cắt các

liên kết trong cơ chất tạo thành các sản phẩm cần thiết của quá trình thủy phân. Do đó, khi thời gian thủy phân tăng thì các liên kết peptide bị cắt mạch càng nhiều dẫn đến DH tăng, đồng thời các peptide mạch ngắn và axit amin tự do hình thành hòa tan trong dịch thủy phân càng nhiều nên PR và Naa tăng [12]. 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 khi cơ chất đã hết thì các sản phẩm của quá trình thủy phân tiếp tục phân cắt làm giảm DH, PR và Naa. Hơn nữa, nếu thời gian dài vi sinh vật gây thối có thể phân hủy một số axit amin sinh ra các sản phẩm thứ cấp như: NH_3 , H_2S ,... làm thay đổi hàm lượng đạm axit amin [12].



Hình 7. Đồ thị bề mặt đáp ứng thể hiện tương tác của các yếu tố đến hiệu quả thủy phân

Từ phương trình (1), (2), (3) tiến hành tối ưu hóa theo từng hàm mục tiêu để xác định giá trị của các yếu tố và mức độ tối ưu của từng hàm mục tiêu. Các

giá trị tối ưu khi giải phương trình hồi quy (1), (2), (3) với nhiều hàm mục tiêu: Y_1 , Y_2 và Y_3 được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Giá trị tối ưu của các điều kiện thủy phân thu hồi protein từ đầu cá lóc

| Nhân tố | Chế độ | | Chế độ tối ưu | Y_1^{max} (%) | Y_2^{max} (%) | Y_3^{max} (g/L) |
|------------------|--------|-------|---------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| | Thấp | Cao | | | | |
| X_1 : NongdoA | 23,2 | 56,8 | 53,1 | 53,3 | 66,0 | 14,3 |
| X_2 : NongdoF | 69,5 | 170 | 104,1 | | | |
| X_3 : Thoidiem | 6,95 | 17,04 | 7,93 | | | |
| X_4 : Thoigian | 19,9 | 40,1 | 31,1 | | | |

Ghi chú: X_1 : (NongdoA): nồng độ alcalase (U/g protein), X_2 : (NongdoF): nồng độ flavourzyme (U/g protein), X_3 : (Thoidiem): thời điểm bổ sung flavourzyme (giờ) và X_4 : (Thoigian): thời gian thủy phân (giờ). Y_1^{max} (%): Giá trị tối ưu của hiệu suất thủy phân; Y_2^{max} (%): Giá trị tối ưu của hiệu suất thu hồi protein; Y_3^{max} (g/L): Giá trị tối ưu của hàm lượng đạm amin.

Bảng 5 cho thấy, tiến hành thủy phân đầu cá lóc thu hồi dịch đạm với điều kiện thủy phân tối ưu là nồng độ alcalase là 53,1 U/g, nồng độ flavourzyme là 104,1 U/g, thời điểm bổ sung flavourzyme là 7,93 giờ và thời gian thủy phân là 31,1 giờ, cho hiệu suất thủy phân, hiệu suất thu hồi protein và hàm lượng đạm axit amin là 53,3%; 66,0% và 14,3 g/L. Kết quả khác với nghiên cứu trước đây của Trần Thanh Trúc và cs

(2015) [5] đã chọn nhiệt độ, thời gian, pH để tối ưu quá trình thủy phân protein từ thịt đầu tôm sú bằng enzyme protease nội tại lần lượt là 30°C; 8 giờ; pH 9 cho hiệu suất thủy phân là 9,88%. Nguyễn Văn Mười và Hà Thị Thụy Vy (2018) [13] đã chọn nồng độ enzyme alcalase 20 UI/g protein, thời gian thủy phân 4 giờ ở pH 7,65 và nhiệt độ 58,78°C là điều kiện tối ưu

để thủy phân protein từ thịt đầu tôm thẻ chân trắng đạt hiệu suất thủy phân cao (37,6%).

4. KẾT LUẬN

Điều kiện tối ưu cho quá trình thủy phân protein đầu cá lóc là nồng độ alcalase 53,1 U/g protein, nồng độ flavourzyme là 104,1 U/g protein, thời điểm bổ sung flavourzyme là 7,93 giờ, thời gian thủy phân là 31,1 giờ cho hiệu suất thủy phân, hiệu suất thu hồi protein và hàm lượng đạm axit amin cao nhất lần lượt là 53,3% và 66,0% và 14,3 g/L.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện thông qua sự tài trợ kinh phí từ đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ (Bộ Giáo dục và Đào tạo), mã số: CT2020.01.TCT.03 thuộc Chương trình Khoa học và Công nghệ “Nghiên cứu ứng dụng và phát triển công nghệ tiên tiến trong bảo quản, chế biến nông thủy sản vùng đồng bằng sông Cửu Long”.

Trương Thị Mộng Thu được tài trợ bởi Tập đoàn Vingroup – Công ty CP và hỗ trợ bởi Chương trình học bổng thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF), Viện Nghiên cứu Dữ liệu lớn, mã số VINIF.2021.TS.093.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Mười, Trần Thanh Trúc. (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.

2. Rebah, F.B., & Miled, N. (2013). Fish processing wastes for microbial enzyme production: a review. *Journal of Food Science*, 3(4), 255 – 265.

3. Nguyen, H. T. M., Sylla, K. S. B., Randriamahatody, Z., Donnay-Moreno, C., Moreau, J., Tran, L. T., & Bergé, J. P. (2011). Enzymatic hydrolysis of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) by-products using Protamex protease. *Food Technology and Biotechnology*, 49(1), 48-55.

4. Chiang, J. H., Loveday, S. M., Hardacre1, A. K. & Parker, M. E. (2019). Effects of enzymatic hydrolysis treatments on the physicochemical properties of beef bone extract using endo- and exoproteases. *International Journal of Food Science and Technology*, 54, 111-120.

5. Trần Thanh Trúc, Vi Nhã Tuấn, Võ Thị Anh Minh, Nguyễn Văn Mười (2015). Nghiên cứu khả

năng thủy phân dịch protein của thịt đầu tôm sú bằng enzyme protease nội tại. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học*, 37 (2), 39-46.

6. 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>

7. Ovissipour, M., Kenari, A. A., Motamedzadegan, A., & Nazari, R. M. (2012). Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Food Bioprocess Technology*, 5, 696–705. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-037-x>

8. Cupp-enyard, C. (2008). Sigma’s Non-specific Protease Activity Assay - Casein as a Substrate. *Journal of Visualized Experiments*, 19, 1–3. <https://doi.org/10.3791/899>

9. Nielsen, P. M., Petersen, D., & Dambmann, C. (2001). Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Food Chemistry and Toxicology*, 66(5), 642–646. <https://doi.org/10.1002/chir.20844>

10. Wang, X., Yu, H., Xing, R., Chen, X., Liu, S. & Li. P. (2018). Optimization of antioxidative peptides from mackerec (*Pneumatophorus japonicas*) viscera. *Peer Journal*, 6, 1-21.

11. Copeland, R. A. (2000). *A practical introduction to structure, mechanism, and data analysis* (2 nd ed.). Wiley-VCH, Inc New York. New York, 412 pages.

12. Đỗ Thị Thanh Thủy, Nguyễn Anh Tuấn. (2017). Nghiên cứu ứng dụng hỗn hợp alcalase và flavourzyme để thủy phân cá nục gai (*Decapterus ruselli*) thu hồi dịch đạm thủy phân. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ thủy sản - Trường Đại học Nha Trang*, 3, 73-79.

13. Nguyễn Văn Mười, Hà Thị Thụy Vy (2018). Khảo sát điều kiện hoạt động tối ưu của enzyme alcalase thủy phân protein từ thịt đầu tôm thẻ chân trắng. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 54 (Số chuyên đề: Nông nghiệp): 148-156.

OPTIMIZATION ENZYME CONCENTRATION AND FLAVOURZYME ADDITION TIME FOR THE PRODUCTION OF ENZYMATIC PROTEIN HYDROLYSIS FROM SNAKEHEAD HEAD BY USING ENZYME ALCALASE AND FLAVOURZYME

Truong Thi Mong Thu^{1,2}, Le Thi Minh Thuy²,

Nguyen Van Muoi³, Tran Thanh Truc³

¹*PhD student of Food Technology Course 2020, Can Tho University*

²*College of Aquaculture and Fisheries, Can Tho University*

³*College of Agriculture, Can Tho University*

Summary

The study was conducted to investigate enzyme concentration and flavourzyme addition time to produce protein hydrolysate from snakehead (*Channa striata*) head by adding method alcalase before and flavourzyme after. Hydrolysis process was performed by using response surface method with 4 factors including alcalase concentration (23.18 - 56.81 U/g protein); flavourzyme concentration (69.54 - 170.45 U/g protein); flavourzyme addition time (6.95 - 17.04 hours) and hydrolyzing time (19.91 – 40.09 hours) included 19 treatments and 3 replicates. The results showed that the optimal hydrolysis conditions for snakehead head were alcalase concentration (53.1 U/g), flavourzyme concentration (104.1 U/g), flavourzyme addition time (7.93 hours) and hydrolysis time (31.1 hours). With optimal hydrolysis condition gave high degree of hydrolysis (53.3%), protein recovery (66.0%) and amino acid content (14.3 g/L).

Keywords: *Alcalase, flavourzyme, flavourzyme addition time, optimization, snakehead head.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Duy Lâm

Ngày nhận bài: 22/4/2022

Ngày thông qua phản biện: 5/5/2022

Ngày duyệt đăng: 6/9/2022