

NGHIÊN CỨU THỦY PHÂN ĐẦU CÁ MÓ (*Scaridae*) BẰNG SỰ KẾT HỢP ENZYME

Đỗ Trọng Sơn*, Phạm Thị Hiền

Trường Đại học Nha Trang

Ngày nhận bài: 30/08/2021; Ngày nhận đăng: 06/10/2021

Tóm tắt

Nội dung bài báo này tập trung nghiên cứu về điều kiện thủy phân protein từ đầu cá Mỏ (*Scaridae*) bằng kết hợp hai enzyme Protamex và enzyme Flavourzyme. Kết quả cho thấy điều kiện thủy phân thích hợp nhất ở giai đoạn đầu thủy phân bằng enzyme Protamex là tỷ lệ enzyme là 0,2% so với khối lượng nguyên liệu, nhiệt độ 50°C và thời gian thủy phân là 2 giờ và giai đoạn sau thủy phân bằng enzyme Flavourzyme là tỷ lệ enzyme là 0,3% so với khối lượng nguyên liệu, nhiệt độ 50°C và thời gian thủy phân là 3 giờ. Sản phẩm thủy phân protein từ đầu cá Mỏ có hàm lượng nitơ tổng số (12,60g/l), nitơ axit amin (6,75g/l), hàm lượng NH₃ (1,19g/l), hàm lượng lipid thấp (0,58g/l). Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra rằng sản phẩm thủy phân protein thu được từ đầu cá Mỏ chứa hàm lượng axit amin không thay thế cao (7,92g/l) và tỷ lệ axit amin không thay thế so với tổng số axit amin cao (61,02%). Những kết quả này cho thấy sản phẩm thủy phân này có tiềm năng ứng dụng trong sản xuất thức ăn cho động vật nuôi và trong lĩnh vực thực phẩm.

Từ khóa: Đầu cá Mỏ, Flavourzyme, Protamex, thủy phân, sản phẩm thủy phân protein

1. Đặt vấn đề

Nguyên liệu cá Mỏ là một loại nguyên liệu có giá trị kinh tế cao đang được quan tâm và khai thác trong môi trường nước biển mặn. Ngày nay, các nước trên thế giới nói chung cũng như Việt Nam nói riêng đang sử dụng các sản phẩm được làm từ cá Mỏ như sản phẩm cá Mỏ phi lê và cá Mỏ đông lạnh. Vì thế, để đáp ứng được nhu cầu đó, đã có một số nhà máy sản xuất cá Mỏ được thành lập. Tỉnh Khánh Hòa có nhà máy chế biến thủy sản Tín Thịnh và nhà máy chế biến thủy sản F17. Tại Quảng Ngãi, công ty TNHH Đại Dương Xanh cũng sản xuất các mặt hàng về cá Mỏ. Để cho nhà máy hoạt động liên tục thì nguồn cá Mỏ khai thác được phải dồi dào, có trữ lượng lớn. Sau quá trình chế biến các sản phẩm cá Mỏ thì lượng nguyên liệu còn lại

chiếm tỷ lệ khá cao chủ yếu đầu và xương. Do vậy, cần phải có biện pháp thích hợp để tận dụng lượng nguyên liệu còn lại này. Quá trình chế biến cá Mỏ đã tạo ra một lượng đáng kể nguyên liệu còn lại mà trước đây được coi là phế liệu, chiếm khoảng 40 – 50%, bao gồm đầu, xương, da và nội tạng (Nguyễn Thị Mỹ Hương, 2012). Đây sẽ là một nguồn đầy tiềm năng để tận dụng sản xuất các sản phẩm hữu ích, trong đó đặc biệt là sản phẩm thủy phân protein. Do đó, hướng nghiên cứu tận dụng các nguyên liệu còn lại từ quá trình chế biến cá Mỏ có nhiều ý nghĩa thiết thực, không chỉ tạo ra sản phẩm giá trị gia tăng mà còn góp phần giải quyết vấn đề ô nhiễm môi trường. Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là xác định điều kiện thủy phân thích hợp đối với đầu cá Mỏ bằng sự kết hợp hai loại enzyme Protamex và enzyme Flavourzyme (Nguyễn Thị Mỹ Hương, 2012; Liaset và cộng sự, 2002;

* Email: sondt@ntu.edu.vn

Nguyen, H.T.M và cộng sự, 2011), bao gồm xác định tỷ lệ enzyme thủy phân, nhiệt độ và thời gian thủy phân để thu được dịch thủy phân với chất lượng và hiệu quả cao. Bên cạnh đó, chất lượng sản phẩm thủy phân ở điều kiện thích hợp sẽ được đánh giá. Từ đó, sử dụng sản phẩm thủy phân này trong sản xuất bột nêm, bổ sung để tăng hàm lượng đạm cho nước mắm, bổ sung vào thức ăn chăn nuôi để tăng thành phần dinh dưỡng...

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Đầu cá Mỏ

Sử dụng đầu cá Mỏ trong nghiên cứu này là loài Cá Mỏ chấm (hay cá Mỏ đen) được thu mua tại công ty TNHH Tín Thịnh. Nguyên liệu ở trạng thái đông lạnh được rã đông, xay nhỏ và trộn đều bằng máy trộn trước khi được bao gói trong các túi PA hút chân không (500 g/túi). Các túi này được bảo quản ở nhiệt độ -20°C cho tới khi sử dụng.



2.1.2. Enzyme

Protamex và Flavourzyme là các enzyme Protease dùng cho thủy phân protein được cung cấp bởi Công ty Novozyme của Đan Mạch.

Protamex là một endo- protease có nguồn gốc từ vi khuẩn *Bacillus*, có hoạt độ 1,5 AU (Anson Units)/g, điều kiện thích hợp cho Protamex hoạt động ở nhiệt độ 35-60°C, pH = 5,5-7,5.

Flavourzyme có nguồn gốc từ *Aspergillus oryzae* có hoạt độ 500 LAPU/g.

Flavourzyme có cả hoạt tính của endoprotease và exopeptidase nhưng chủ yếu là exopeptidase (Kamnerdpetch và cộng sự, 2007). Điều kiện thích hợp cho Flavourzyme hoạt động: nhiệt độ từ 50-55°C, pH = 5,0- 7,0.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

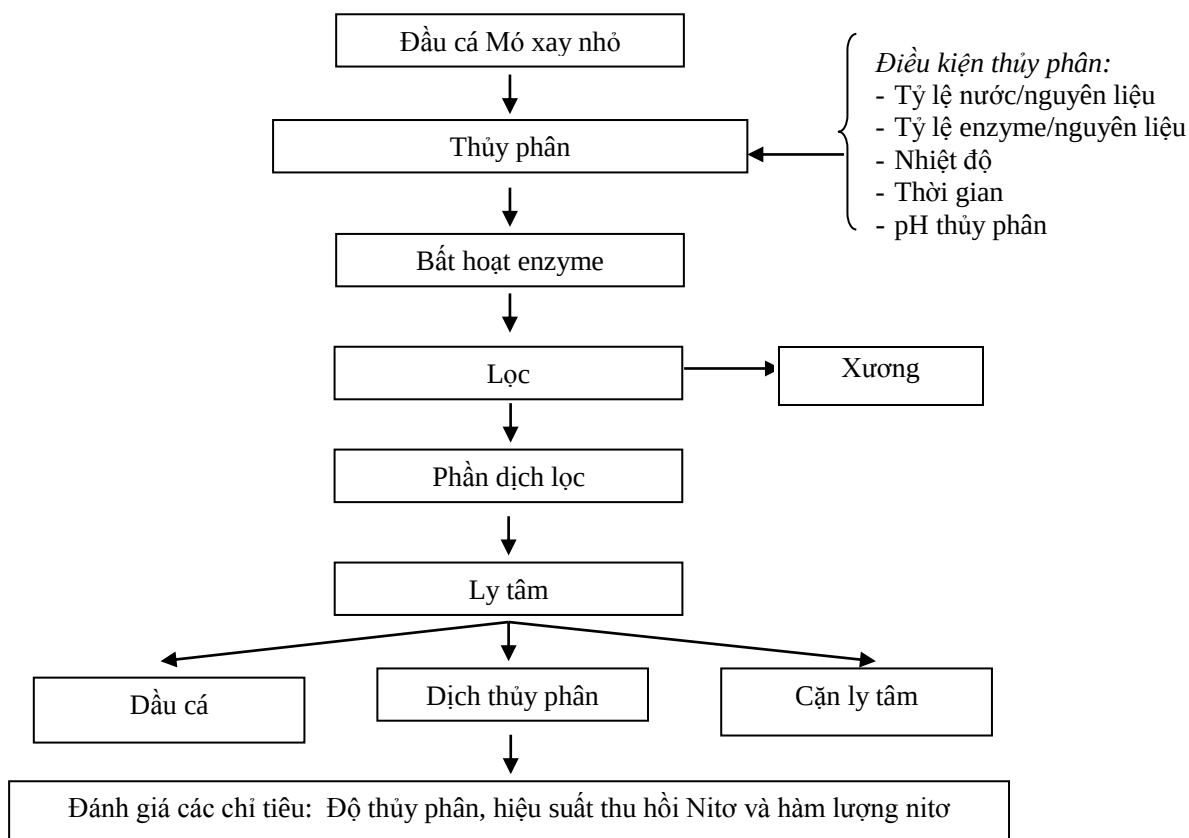
2.2.1. Sơ đồ qui trình thủy phân protein từ đầu cá Mỏ bằng enzyme cần nghiên cứu (Hình 1)

Thuyết minh nội dung nghiên cứu:

Đầu cá Mỏ xay nhỏ ở trạng thái đông lạnh, được rã đông trong tủ lạnh qua đêm, sau đó thủy phân bằng enzyme Protamex và Flavourzyme.

Giai đoạn đầu tiến hành thủy phân bằng enzyme Protamex để xác định được tỷ lệ enzyme so với nguyên liệu thích hợp cho quá trình thủy phân (0,1 - 0,5%), nhiệt độ (45-65°C) và thời gian thủy phân (1-6h), các thông số cố định gồm: tỷ lệ nước/nguyên liệu là 1/1, pH tự nhiên. Kết thúc giai đoạn đầu thủy phân bằng enzyme Protamex, tiến hành giai đoạn sau nghiên cứu chế độ thủy phân enzyme Flavourzyme. Nghiên cứu xác định điều kiện thủy phân bằng enzyme Flavourzyme về tỷ lệ enzyme so với nguyên liệu thích hợp cho quá trình thủy phân (0,1 - 0,5%), nhiệt độ (45-65°C) và thời gian thủy phân (1-6h) thích hợp.

Kết thúc quá trình thủy phân, enzyme được ức chế ở 95°C trong 15 phút. Hỗn hợp thủy phân thu được cho qua rây để tách riêng phần rắn (xương) và phần dịch lọc thủy phân. Phần dịch lọc thủy phân này được ly tâm với tốc độ 6.000 vòng/phút ở 4°C trong 30 phút. Sau khi ly tâm, thu được 3 phần: Lớp trên cùng là dầu, lớp giữa là dịch thủy phân và cặn ly tâm ở đáy. Dịch thủy phân thu được đem đánh giá các chỉ tiêu độ thủy phân, hiệu suất thu hồi Nitơ và hàm lượng nitơ ammoniac để lựa chọn các thông số nghiên cứu thích hợp.



Hình 1. Quá trình thủy phân protein từ đầu cá Mỏ bằng enzyme Protamex và Flavourzyme

2.2.2. Phương pháp phân tích

Hàm lượng nước, tro và protein được xác định theo phương pháp AOAC (1990).

Hàm lượng lipid được xác định theo phương pháp Folch và cộng sự (1957).

Hàm lượng nitơ ammoniac theo phương pháp chưng cất lôi cuốn bằng hơi nước.

Độ thủy phân được xác định theo phương pháp DNFB như đã được mô tả bởi Nguyen và cộng sự (2011).

Hiệu suất thu hồi Nitơ được xác định theo Liasset và cộng sự (2002) như sau:

Thu hồi Nitơ (%) = $\frac{\text{Lượng Nitơ tổng số trong sản phẩm thủy phân (g)}}{\text{Lượng Nitơ tổng số trong đầu cá Mỏ xay nhỏ đem thủy phân (g)}} \times 100$

Phân tích thành phần các axit amin được thực hiện trên hệ thống sắc ký hiệu

năng cao HPLC (Shimadzu, CBM-10A, Japan), với đầu dò UV-Vis (SPD-10A), sử dụng cột CTO-10A.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu báo cáo là trung bình của 3 lần phân tích. Kết quả được phân tích thống kê sử dụng phần mềm SPSS 13.0. Giá trị $p < 0,05$ được xem là có ý nghĩa về mặt thống kê.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Kết quả xác định thành phần hóa học cơ bản của đầu cá Mỏ

Thành phần hóa học cơ bản của đầu cá Mỏ được thể hiện trong bảng 1. Kết quả cho thấy đầu cá Mỏ chứa các thành phần cơ bản bao gồm nước, protein, lipid và khoáng lần lượt là: 72,33%, 14,94%, 4,2% và 8,42 %. Kết quả cũng cho thấy thành phần protein, lipid và khoáng khá cao. Khi so

sánh với loài cá khác chẳng hạn theo Nguyễn Thị Mỹ Hương (2011) đã công bố thành phần hóa học cơ bản của đầu cá Ngừ vây vàng gồm protein, lipit và khoáng lần lượt là: 14,80%, 13,5% và 11,8%. Vì vậy, đầu cá Mỏ có thể sử dụng để thu hồi protein phục vụ cho các mục đích khác nhau như: Sản xuất dịch thủy phân để ứng dụng trong sản xuất nước mắm, bột nêm,...

Bảng 1. Thành phần hóa học cơ bản của đầu cá Mỏ

Thành phần	Hàm lượng (%)
Nước	72,33± 0,15
Protein	14,94± 0,03
Lipit	4,2 ± 0,05
Tro	8,42 ± 0,10

3.2. Xác định các thông số thích hợp cho quá trình thủy phân đầu cá Mỏ bằng kết hợp hai enzyme Protamex và Flavourzyme

3.2.1. Kết quả xác định các thông số thích hợp cho quá trình thủy phân đầu cá Mỏ bằng enzyme Protamex ở giai đoạn đầu

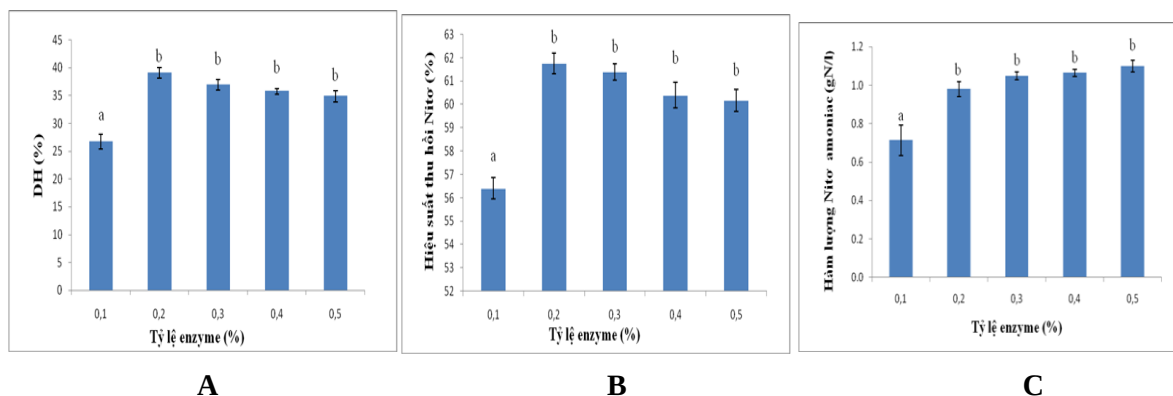
3.2.1.1. Xác định ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme Protamex đến quá trình thủy phân đầu cá Mỏ

Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme Protamex đến quá trình thủy phân được trình bày trong Hình 2. Hình 2A cho thấy ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme Protamex đến độ thủy phân (DH). Kết quả cho thấy khi tăng tỷ lệ enzyme Protamex từ 0,1% đến 0,2% thì giá trị DH tăng một cách đáng kể từ 26,74% đến 39,06%. Tuy nhiên giá trị DH giảm khi tăng tỷ lệ enzyme từ 0,3% đến 0,5%. Kết quả này cũng được ghi nhận bởi hiệu suất thu hồi nitơ (Hình 2B). Khi tăng tỷ lệ enzyme Protamex từ 0,1% đến 0,2% thì hiệu suất thu hồi nitơ tăng một cách đáng kể từ 56,40% đến 61,76%.

Không có sự khác nhau có ý nghĩa về sự thu hồi nitơ ở mẫu tỷ lệ hai enzyme 0,2% đến 0,5%. Kết quả này cũng có xu hướng tương tự như kết quả thủy phân từ nguyên liệu còn lại của quá trình chế biến cá ngừ (Guerard và cộng sự, 2002). Bên cạnh độ thủy phân và hiệu suất thu hồi nitơ thì hàm lượng nitơ amoniac trong dịch thủy phân cũng là một thông số cần quan tâm. Hình 2C chỉ ra ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme Protamex đến hàm lượng nitơ amoniac trong dịch thủy phân. Nhìn chung, khi tăng tỷ lệ enzyme thì hàm lượng nitơ amoniac có xu hướng tăng. Tuy nhiên, tỷ lệ enzyme từ 0,2% đến 0,5% thì hàm lượng nitơ amoniac tăng không đáng kể.

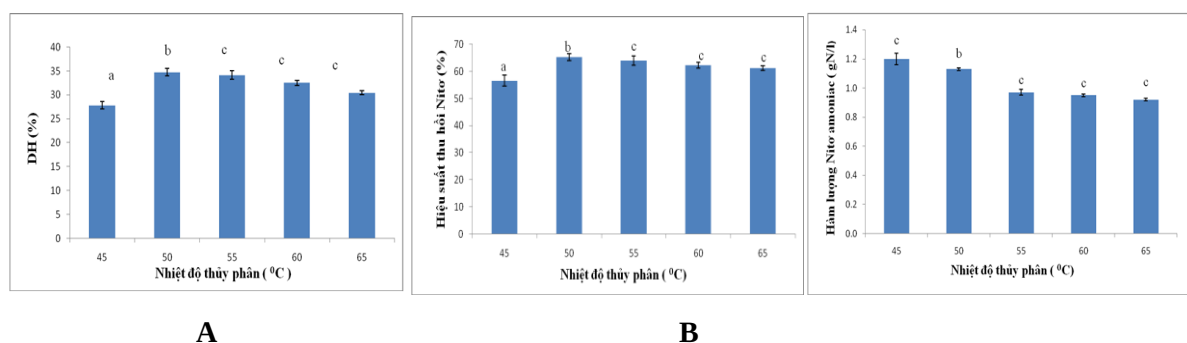
Độ thủy phân tăng khi tăng tỷ lệ enzyme Protamex có thể được giải thích là do khi tỷ lệ enzyme Protamex tăng thì quá trình thủy phân cắt mạch polypeptide để tạo thành các đoạn peptid ngắn hơn và các axit amin xảy ra mạnh hơn dẫn đến làm tăng hiệu suất thu hồi Nitơ cũng như làm tăng hàm lượng Nitơ amoniac trong dịch đậm thủy phân. Sự gia tăng hàm lượng nitơ amoniac trong dịch thủy phân khi tỷ lệ enzyme tăng có thể là kết quả kéo theo của việc tăng độ thủy phân cũng như hiệu suất thu hồi nitơ vì rằng khi độ thủy phân tăng cũng như hiệu suất thu hồi nitơ tăng sẽ xúc tiến quá trình chuyển hóa các sản phẩm thủy phân này thành NH_3 bởi vi sinh vật.

Từ kết quả phân tích trên cho thấy rằng ở tỷ lệ enzyme Protamex bằng 0,2% cho độ thủy phân và hiệu suất thu hồi nitơ cao và hàm lượng nitơ amoniac ở mức cho phép. Vì vậy, tôi chọn tỷ lệ enzyme Protamex thích hợp là 0,2% để tiếp tục nghiên cứu các thông số của quá trình thủy phân.



Hình 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme Protamex đến độ thủy phân (A), hiệu suất thu hồi Nito (B) và hàm lượng nito amoniac (C). Giá trị được trình bày là giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, các chữ cái khác nhau chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.2.1.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân đến quá trình thủy phân đầu cá Mỏ



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến độ thủy phân (A), hiệu suất thu hồi Nito (B) và hàm lượng nito amoniac (C). Giá trị được trình bày là giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, các chữ cái khác nhau chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

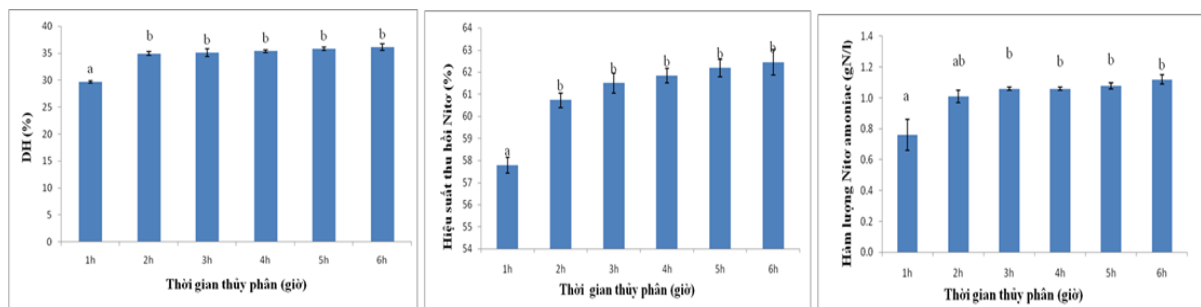
Kết quả nghiên cứu cho thấy khi tăng nhiệt độ thủy phân từ 45°C đến 50°C thì độ thủy phân tăng từ 27,83% đến 34,73% (Hình 3A). Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ thủy phân lên 55°C, 60°C, 65°C thì độ thủy phân lần lượt giảm xuống 34,15%, 32,52%, 30,42%. Xu hướng này cũng xảy ra tương tự với hiệu suất thu hồi Nito cụ thể là khi tăng nhiệt độ từ 45°C đến 50°C thì hiệu suất thu hồi Nito tăng từ 56,59% đến 65,23% nhưng khi tiếp tục tăng nhiệt độ thủy phân lên 55°C, 60°C, 65°C thì hiệu suất thu hồi Nito giảm lần lượt là 63,94%, 62,28%, 61,24% (Hình 3B). Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Liaset và cộng sự (2002) khi nghiên cứu thu hồi

nito trong quá trình thủy phân xương cá hồi bằng Protamex. Các tác giả này cũng cho thấy nhiệt độ ảnh hưởng đến độ thủy phân. Độ thủy phân và hiệu suất thu hồi Nito đạt cao nhất khi thủy phân ở nhiệt độ 50°C. Nguyên nhân được giải thích như sau: Do ở nhiệt độ này thì enzyme Protamex hoạt động mạnh nhất. Khi nhiệt độ thấp hơn hoặc cao hơn 50°C thì hoạt tính của enzyme Protamex giảm xuống, dẫn đến độ thủy phân và hiệu suất thu hồi nito thấp hơn so với nhiệt độ 50°C. Đối với hàm lượng nito amoniac trong dịch đậm thủy phân thì có xu hướng giảm xuống cụ thể là khi tăng nhiệt độ thủy phân từ 45°C đến 65°C thì hàm lượng nito amoniac giảm từ

1,20 (g/l) xuống 0,92 (g/l) (Hình 3C). Điều này được giải thích: có thể là do trong khoảng nhiệt độ này thì sự tăng nhiệt độ đã làm ức chế hoạt động của vi sinh vật gây thối dẫn đến hạn chế sự phân hủy của các

axít amin nên hàm lượng nitơ amoniac giảm. Từ kết quả nghiên cứu chọn nhiệt độ thủy phân thích hợp bằng enzyme Protamex là 50°C.

3.2.1.3. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến quá trình thủy phân đầu cá Mỏ



A

B

Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến độ thủy phân (A), hiệu suất thu hồi Nitơ (B) và hàm lượng nitơ amoniac (C). Giá trị được trình bày là giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, các chữ cái khác nhau chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến quá trình thủy phân đầu cá Mỏ được thể hiện trên Hình 4. Hình 4A cho thấy ảnh hưởng của thời gian thủy phân lên độ thủy phân. Kết quả cho thấy khi tăng thời gian thủy phân từ 1 giờ lên 6 giờ thì giá trị DH tăng đáng kể theo thời gian thủy phân. Cụ thể, thời gian thủy phân từ 1 giờ đến 2 giờ thì DH tăng từ 29,68% đến 34,92% và giá trị DH tăng không đáng kể khi tăng thời gian thủy phân từ 3 giờ đến 6 giờ. Không có sự khác nhau có ý nghĩa về độ thủy phân giữa các mẫu với thời gian 2 giờ và 6 giờ. Kết quả này cũng tương tự như kết quả thủy phân từ đầu cá hồi (Gbogouri và cộng sự, 2004), đầu cá sardine (Souissi và cộng sự, 2007). Đối với ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến hiệu suất thu hồi nitơ thể hiện ở Hình 4B, kết quả nghiên cứu cho thấy, khi thời gian thủy phân tăng từ 1 giờ đến 2 giờ thì hiệu suất thu hồi nitơ tăng đáng kể từ 57,79% lên đến 60,73%. Điều

này phù hợp với các công trình nghiên cứu trước đây cũng đã cho thấy sự hòa tan nitơ (hay protein) dưới tác dụng của enzyme trong quá trình thủy phân tăng theo thời gian thủy phân (Liaset và cộng sự, 2002; Aspomo và cộng sự, 2005). Khi tiếp tục tăng thời gian hơn 2 giờ thì hiệu suất thu hồi nitơ tăng không đáng kể. Hàm lượng nitơ amoniac tăng theo thời gian thủy phân. Cụ thể từ 1 giờ đến 2 giờ thủy phân thì hàm lượng nitơ amoniac tăng mạnh từ 0,76(gN/l) đến 1,01(gN/l) (Hình 4C) và hàm lượng nitơ amoniac tăng nhẹ ở khoảng thời gian 3 giờ đến 6 giờ. Điều này được giải thích như sau: Thời gian thủy phân tăng dẫn đến các liên kết peptid bị cắt mạch càng nhiều, tạo ra nhiều peptid và axít amin. Vì vậy, khi tăng thời gian thủy phân thì độ thủy phân và hiệu suất thu hồi nitơ tăng. Sau đó, càng tăng thời gian thủy phân thì độ thủy phân tăng chậm. Hàm lượng nitơ amoniac có xu hướng tăng theo thời

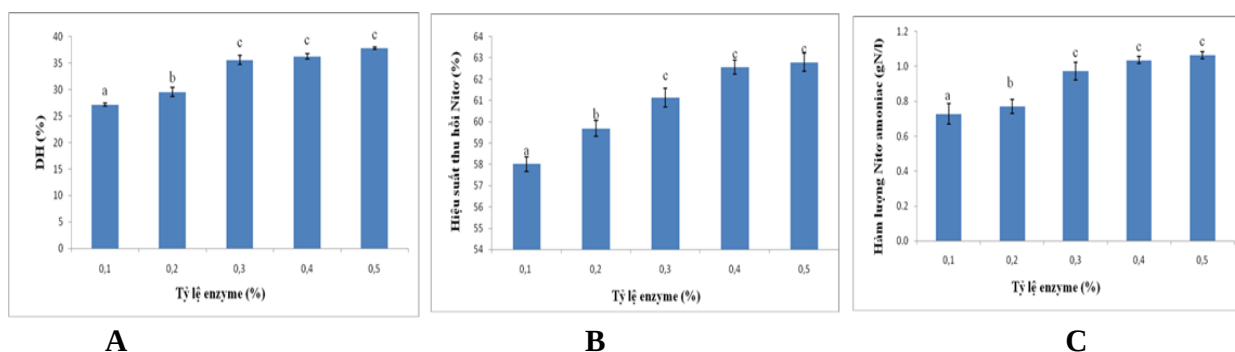
gian thủy phân là do thời gian thủy phân càng dài thì vi sinh vật gây thối rửa càng có điều kiện để hoạt động hơn nên hàm lượng nitơ amoniac tạo ra càng nhiều hơn. Từ kết quả phân tích trên cho thấy thời gian thủy phân thích hợp cho quá trình thủy phân đầu cá Mố ở giai đoạn đầu bằng enzyme Protamex là 2 giờ.

3.3. Kết quả xác định thông số thích hợp

cho quá trình thủy phân đầu cá Mố bằng enzyme Flavourzyme ở giai đoạn sau của quá trình thủy phân

3.3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme Flavourzyme đến quá trình thủy phân đầu cá Mố

Tỷ lệ của enzyme Flavourzyme đến quá trình thủy phân đầu cá Mố được thể hiện trên các Hình 5



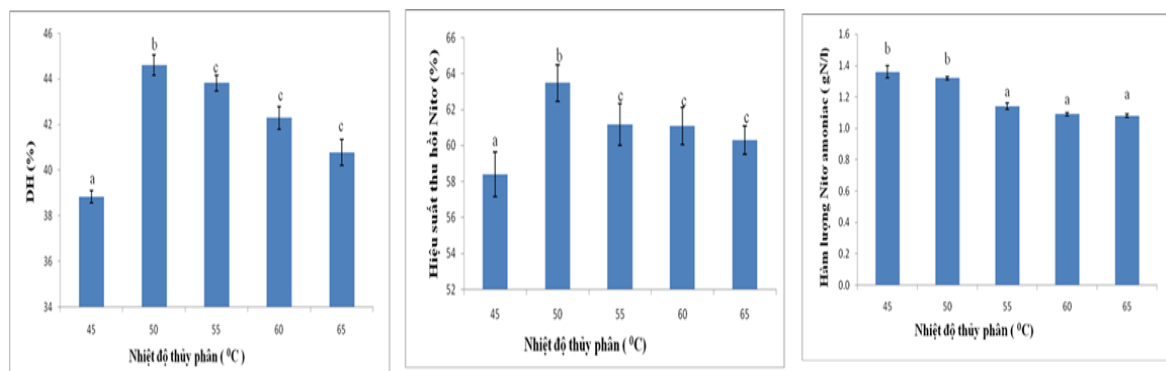
Hình 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme Flavourzyme đến độ thủy phân (A), hiệu suất thu hồi Nitơ (B) và hàm lượng nitơ amoniac (C). Giá trị được trình bày là giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, các chữ cái khác nhau chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Kết quả nghiên cứu cho thấy khi tăng tỷ lệ emzy Flavourzyme từ 0,1% đến 0,3% thì giá trị DH tăng một cách đáng kể từ 27,13 % đến 35,59% (Hình 5A). Tuy nhiên giá trị DH tăng không đáng kể khi tỷ lệ enzyme tăng từ 0,4% đến 0,5% và hiệu suất thu hồi nitơ tăng một cách đáng kể khi tăng tỷ lệ enzyme từ 0,1% đến 0,3% cụ thể là 58,01% (0,1%) lên 61,13%(0,3%)(Hình 5B). Không có sự khác nhau có ý nghĩa về sự thu hồi nitơ ở các mẫu tỷ lệ enzyme 0,3% đến 0,5%. Kết quả này cũng có xu hướng tương tự như kết quả thủy phân từ nguyên liệu còn lại của quá trình chế biến cá ngừ (Guerard và cộng sự, 2002). Bên cạnh độ thủy phân và hiệu suất thu hồi nitơ thì hàm lượng nitơ amoniac trong dịch thủy

phân cũng là một thông số cần quan tâm. Nhìn chung, khi tăng tỷ lệ enzyme thì hàm lượng nitơ amoniac có xu hướng tăng. Tuy nhiên, tỷ lệ enzyme từ 0,3% đến 0,5% thì hàm lượng nitơ amoniac tăng không đáng kể (Hình 5C).

Từ kết quả phân tích trên cho thấy rằng ở tỷ lệ enzyme Favourzyme bằng 0,3% cho độ thủy phân và hiệu suất thu hồi nitơ cao và hàm lượng nitơ amoniac ở mức cho phép. Vì vậy, chọn tỷ lệ enzyme Flavourzume thích hợp là 0,3% để tiếp tục nghiên cứu các thông số của quá trình thủy phân.

3.3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân bằng enzyme Flavourzyme đến quá trình thủy phân đầu cá Mố.



A

B

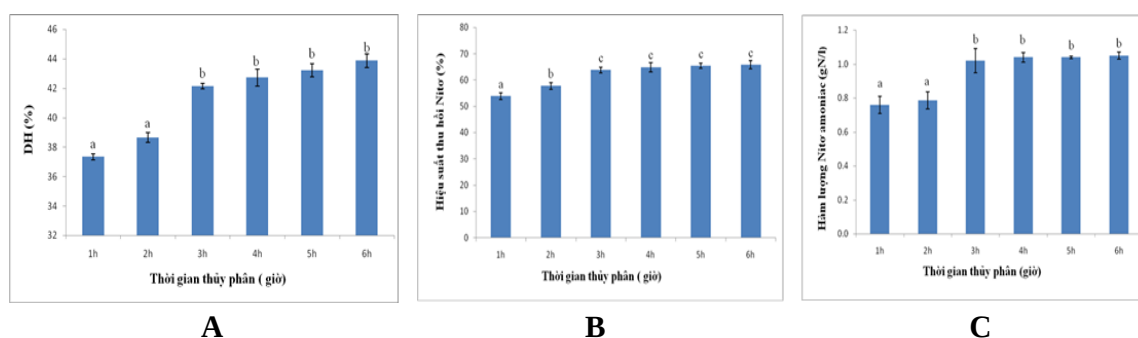
C

Hình 6. Ảnh hưởng nhiệt độ enzyme Flavourzyme đến độ thủy phân (A), hiệu suất thu hồi Nito (B) và hàm lượng nito amoniac (C). Giá trị được trình bày là giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, các chữ cái khác nhau chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Kết quả cho thấy khi tăng nhiệt độ thủy phân từ 45°C lên 65°C thì giá trị DH tăng đáng kể theo nhiệt độ thủy phân và DH đạt giá trị cao nhất là 44,60% ở nhiệt độ 50°C. Ở các mức nhiệt độ cao hơn hoặc thấp hơn 50°C đều làm giảm độ thủy (Hình 6A). Đối với hiệu suất thu hồi nito (Hình 6B), kết quả nghiên cứu cho thấy, khi nhiệt độ thủy phân tăng từ 45°C đến 50°C thì hiệu suất thu hồi nito tăng đáng kể từ 58,38% đến 63,48%. Khi tiếp tục tăng nhiệt độ hơn 50°C thì không làm tăng đáng

kể hiệu suất thu hồi nito. Hàm lượng nito amoniac giảm theo nhiệt độ thủy phân. Cụ thể khi tăng nhiệt độ thủy phân từ 45°C đến 65°C thì hàm lượng nito amoniac giảm từ 1,36(gN/l) đến 1,08(gN/l) (Hình 6C). Từ kết quả phân tích trên cho thấy nhiệt độ thủy phân thích hợp cho quá trình thủy phân đầu cá Mỏ bằng enzyme Flavourzyme là 50°C.

3.3.3. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình thủy phân bằng enzyme Flavourzyme từ đầu cá Mỏ.



A

B

C

Hình 7. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân Flavourzyme đến độ thủy phân (A), hiệu suất thu hồi Nito (B) và hàm lượng nito amoniac (C). Giá trị được trình bày là giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, các chữ cái khác nhau chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Hình 7A cho thấy ảnh hưởng của thời gian thủy phân lên độ thủy phân. Kết quả cho thấy khi tăng thời gian thủy phân từ 1 giờ lên 6 giờ thì giá trị DH tăng đáng

kể theo thời gian thủy phân. Cụ thể, thời gian thủy phân từ 1 giờ đến 3 giờ thì DH tăng từ 37,34% đến 42,14% và giá trị DH tăng không đáng kể khi tăng thời gian thủy

phân từ 4 giờ đến 6 giờ. Không có sự khác nhau có ý nghĩa về độ thủy phân giữa các mẫu với thời gian 3 giờ đến 6 giờ. Đối với ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến hiệu suất thu hồi nitơ thể hiện ở Hình 7B, kết quả nghiên cứu cho thấy, khi thời gian thủy phân tăng từ 1 giờ đến 3 giờ thì hiệu suất thu hồi nitơ tăng đáng kể từ 58,81% lên đến 63,72%. Điều này phù hợp với các công trình nghiên cứu trước đây cũng đã cho thấy sự hòa tan nitơ (hay protein) dưới tác dụng của enzyme trong quá trình thủy phân tăng theo thời gian thủy phân (Liaset và cộng sự, 2002; Aspmo và cộng sự, 2005). Khi tiếp tục tăng thời gian hơn 3 giờ thì hiệu suất thu hồi nitơ tăng không đáng kể. Hàm lượng nitơ amoniac tăng theo thời gian thủy phân. Cụ thể từ 1 giờ đến 3 giờ thủy phân thì hàm lượng nitơ amoniac mạnh từ 0,76(gN/l) đến 1,02(gN/l) và hàm lượng nitơ amoniac tăng nhẹ ở khoảng thời gian 4 giờ đến 6 giờ (Hình 7C).

Điều này được giải thích như sau: Thời gian thủy phân tăng dẫn đến các liên kết peptid bị cắt mạch càng nhiều, tạo ra nhiều peptid và axit amin. Vì vậy, khi tăng thời gian thủy phân thì độ thủy phân và hiệu suất thu hồi nitơ tăng. Sau đó, càng tăng thời gian thủy phân thì độ thủy phân tăng chậm. Hàm lượng nitơ amoniac có xu hướng tăng theo thời gian thủy phân là do thời gian thủy phân càng dài thì vi sinh vật gây thối rữa càng có điều kiện để hoạt động

hơn nên hàm lượng nitơ amoniac tạo ra càng nhiều hơn. Từ kết quả phân tích trên cho thấy thời gian thủy phân thích hợp cho quá trình thủy phân đầu cá Mỏ bằng enzyme Flavourzyme là 3 giờ.

3.4. Thành phần hóa học và axit amin của sản phẩm thủy phân đầu cá Mỏ

Sau khi xác định được các thông số thủy phân thích hợp ở giai đoạn đầu của quá trình thủy phân với tỷ lệ enzyme Protamex là 0,2%, nhiệt độ thủy phân là 50°C, thời gian thủy phân là 2 giờ và giai đoạn sau của quá trình thủy phân với tỷ lệ enzyme Flavourzyme là 0,3%, nhiệt độ thủy phân là 50°C, thời gian thủy phân là 3 giờ, tiến hành sản xuất dịch đậm thủy phân từ đầu cá Mỏ. Thành phần hóa học và thành phần axit amin của sản phẩm thủy phân thu được đã được xác định và thể hiện ở Bảng 2 và 3. Kết quả nghiên cứu cho thấy sản phẩm thủy phân protein chứa hàm lượng nitơ tổng số (12,60g/l), nitơ axit amin (6,75g/l), hàm lượng NH₃ (1,19g/l), hàm lượng lipid thấp (0,58g/l). Thành phần axit amin của sản phẩm thủy phân protein từ đầu cá Mỏ được trình bày trong Bảng 3. Kết quả cho thấy sản phẩm thủy phân protein từ đầu cá Mỏ chứa các axit amin không thay thế (EAA) với hàm lượng khá cao. Ba axit amin chiếm tỷ lệ cao nhất bao gồm: Lysine, Phenylalanine, Isoleucine với hàm lượng theo thứ tự là 2,37g/l, 1,16g/l và 1,13g/l.

Bảng 2. Chỉ tiêu hóa học của dịch đậm thủy phân

Chỉ tiêu	N _{Ts} (g/l)	N _{aa} (g/l)	N _{NH3} (g/l)	N _{aa} / N _{Ts} (%)	Lipid (%)
Hàm lượng	12,60 ± 0,15	6,75 ± 0,07	1,19 ± 0,05	53,57 ± 1,07	0,58 ± 0,05

Bảng 3. Thành phần axit amin của sản phẩm thủy phân protein đầu cá Mỏ

Tên axit amin	Hàm lượng (g/l)	Tên axit amin	Hàm lượng (g/l)
Methionine *	0,61	Serine	0,41
Phenylalanine *	1,16	Proline	0,28

Lysine *	0,89	Aspartic acid	0,42
Valine*	1,02	Alanine	0,68
Leucine *	2,37	Hydrolysine	1,34
Isoleucine *	1,13	Tyrosin	0,65
Threonine *	0,44	Glutamic acid	0,61
Histidine *	0,3	TAA	7,92
4-Hydroxyproline	0	TEAA	12,98
Glycine	0,45	TAA/TEAA (%)	61,02
Tryptophan	0,22		

(*)Axit amin không thay thế; TAA (Total amino acids): Tổng axit amin; TEAA (Total essential amino acids): Tổng axit amin không thay thế.

4. Kết luận

Điều kiện vào thủy phân protein từ đầu cá Mỏ (Scaridae) bằng kết hợp hai enzyme Protamex và enzyme Flavourzyme. Kết quả cho thấy điều kiện thủy phân thích hợp nhất ở giai đoạn đầu thủy phân bằng enzyme Protamex với tỷ lệ enzyme là 0,2% so với khối lượng nguyên liệu, nhiệt độ 50°C và thời gian thủy phân là 2 giờ và giai đoạn sau thủy phân bằng enzyme Flavourzyme với tỷ lệ enzyme là 0,3% so với khối lượng nguyên liệu, nhiệt độ 50°C và thời gian thủy phân là 3 giờ. Sản phẩm

thủy phân protein từ đầu cá Mỏ có hàm lượng nitơ tổng số (12,60g/l), nitơ axit amin (6,75g/l), hàm lượng NH₃ (1,19g/l), hàm lượng lipid thấp (0,58g/l). Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra rằng sản phẩm thủy phân protein thu được từ đầu cá Mỏ chứa hàm lượng axit amin không thay thế cao (7,92g/l) và tỷ lệ axit amin không thay thế so với tổng số axit amin cao (61,02%). Sản phẩm thủy phân protein cá có thể được ứng dụng trong lĩnh vực nuôi thủy sản cũng như trong lĩnh vực thực phẩm□

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- AOAC, (1990). Official Method of Analysis, 15th ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.
- Benjakul, S., Morrissey, M.T. (1997). *Protein hydrolysates from Pacific whiting solid waste*. J Agric. Food Chemistry.45: 3423-30.
- Gbogouri, G.A, Linder, M., Fanni, J., Parmentier, M. (2004). *Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon by-products hydrolysates*. J Food Sci., 69(8): 615-622.
- Nguyễn Thị Mỹ Hương (2012). Sản xuất sản phẩm thủy phân protein từ đầu cá Ngừ vây vàng bằng protease thương mại. *Tạp chí Khoa học – Công nghệ Thủy sản*, số 2/2012, 25-30.
- Liaset, B, Nortvedt, R, Lied, E, Espe, M. (2002). Studies on the nitrogen recovery in enzymatic hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) frames by ProtamexTM protease. Process Biochemistry. 37: 1263-1269.
- Nguyen, H.T.M., Pérez-Gálvez, R., Bergé, J.P. (2012). Effect of diets containing tuna head hydrolysates on the survival and growth of shrimp *Penaeus vannamei*. Aquaculture.

324-325: 127-134.

- 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.
- Sathivel, S., Bechtel, P.J., Babbitt, J., Smiley, S., Crapo, C., Reppond, K.D, Prinyawiwatkul W. (2003). Biochemical and functional properties of herring (*Clupea harengus*) byproduct hydrolysates. Food Science, 68: 2196-2200.
- Sathivel, S., Smiley, S., Prinyawiwatkul, W., Bechtel, P.J. (2005). Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) enzymatic hydrolysates. Food Science. 70(6): 401-406
- Souissi, N., Bougatef, A., Triki-Ellouz, Y., Nasri. (2007). Biochemical and functional properties of sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. Food Tech. Biotech, 45(2): 187-94

STUDY ON HYDROLYSIS OF THE SCARIDAE HEADS (SCARIDAE) BY ENZYME COMBINATION

Do Trong Son*, Pham Thi Hien

Nha Trang University

*Email: sondt@ntu.edu.vn

Received: August 30, 2020; Accepted: October 6, 2021

Abstract

The content of this paper focuses on the conditions of protein hydrolysis from the heads of cobia (Scaridae) by combining the two enzymes of Protamex and Flavorzyme. The results show that the most suitable hydrolysis conditions at the first stage of Protamex enzymatic hydrolysis are the enzyme rate of 0.2% compared to the weight of the raw materials, the temperature of 50°C and the hydrolysis time of 2 hours and the first stage of hydrolysis. The post enzymatic hydrolysis Flavorzyme is the enzyme rate of 0.3% compared to the mass of the material, the temperature is 50°C and the hydrolysis time is 3 hours. Protein hydrolysates from cobia heads have the total nitrogen content (12.60g/l), amino acid nitrogen (6.75g/l), NH₃ content (1.19g/l), low lipid content. 0.58g/l). The results also show that the protein hydrolysed product obtained from the head of cobia contains a high content of non-substituted amino acids (7.92g/l) and a high ratio of non-substituted amino acids to total amino acids (61.02%). These results indicate that this hydrolyzate product has potential applications in the production of animal feed and in the food sector.

Keywords: head of Scaridae, Flavourzym, Protamex, hydrolysis, protein hydrolysis