

NGHIÊN CỨU THỦY PHÂN PROTEIN TỪ THỊT CÁ LÓC BẰNG ENZYME ALCALASE

*Ung Minh Anh Thu*¹

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng thủy phân protein từ thịt cá lóc để thu dịch đậm dựa trên tác động của enzyme alcalase thương mại. Nội dung nghiên cứu tập trung vào khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thủy phân protein từ thịt cá lóc như pH dung môi, nhiệt độ thủy phân, nồng độ enzyme và thời gian thủy phân. Kết quả cho thấy, hiệu suất thủy phân protein từ thịt cá lóc đạt tốt nhất (42,47%) ở điều kiện pH dung môi là 8,1; nhiệt độ thủy phân là 580C, nồng độ alcalase là 2,9% (v/w) và thời gian thủy phân là 3,94 giờ (236 phút). Nghiên cứu cho thấy tính khả thi của việc sử dụng enzyme alcalase thương mại trong thủy phân protein từ thịt cá lóc, mở ra triển vọng cho việc sản xuất dịch đậm giàu các axit amin và peptide mạch ngắn có giá trị dinh dưỡng, có thể ứng dụng trong chế biến các sản phẩm giàu protein.

Từ khóa: *Alcalase, cá lóc, thủy phân*

II. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam luôn là nước có thế mạnh về xuất khẩu thủy sản. Trong những năm gần đây, cùng với sự bão hòa về thị trường tiêu thụ cá tra, nhiều hộ dân ở đồng bằng sông Cửu Long chuyển sang nuôi cá lóc. Việc mở rộng diện tích nuôi cá lóc ở nhiều địa phương trong vùng như Vĩnh Long, Đồng Tháp, An Giang, Tiền Giang... có thể dẫn đến nguy cơ không tiêu thụ hết cá sống, người nuôi cá phải đối diện với thị trường tiêu thụ và giá cả bấp bênh.

Nhằm mục đích nâng cao giá trị nguồn nguyên liệu, ổn định thu nhập cho các hộ nuôi cá lóc, một trong những hướng có thể nghĩ đến là sản xuất dịch đậm bằng cách thủy phân protein từ thịt cá lóc thành các axit amin và peptide mạch ngắn có giá trị dinh dưỡng cao, dễ hấp thu, có thể sử dụng trực tiếp hoặc bổ

sung vào thực phẩm. Đặc biệt, dịch đậm thủy phân từ thịt cá lóc có thể là nguồn dinh dưỡng tốt để cung cấp cho những bệnh nhân không có khả năng sử dụng trực tiếp các loại thực phẩm thông thường.

Do đó, khảo sát việc sử dụng enzyme alcalase thương mại vào việc thủy phân thịt cá lóc – nguồn nguyên liệu rất dồi dào ở đồng bằng sông Cửu Long, mở ra triển vọng trong việc chế biến các sản phẩm giàu protein như: bột protein, dịch đậm cao cấp cho con người.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Thịt cá lóc fillet (Cá lóc *Channa striata*, mua tại Chợ Gạo - Tiền Giang), bao bì PE, màng bọc thực phẩm, giấy lọc.

¹Trường Cao đẳng Nông nghiệp Nam Bộ, Tp. Mỹ Tho, Tiền Giang
Phone: 0918841548; Email: anhthu@sac.edu.vn

Ngày gửi bài: 1/8/2019
Ngày phản biện đánh giá: 20/8/2019
Ngày đăng bài: 30/9/2019

- Enzyme alcalase (hoạt tính 2,4 AU-A/g). Alcalase là enzyme có đặc tính thủy phân được sản xuất từ quá trình lên men chìm *Bacillus lichenniformis*, hoạt động tối ưu trong khoảng nhiệt độ từ 50 - 70°C và trong khoảng pH từ 7 – 9 tùy theo loại cơ chất. Alcalase cho phép điều chỉnh quá trình thủy phân dễ dàng do hoạt động trong môi trường kiềm và bị bất hoạt ở 90°C trong 10 phút, sản phẩm thủy phân không có vị đắng đồng thời có sự cân bằng tốt các axit amin thiết yếu [1], hiệu quả thủy phân cao hơn so với flavourzyme [2].

- Các hóa chất: Ortho-phthaldialdehyde (OPA), serine, dithiothreitol, sodium dodecyl sulphate, disodium tetraborate, ethanol, disodium hydrogen phosphate, potassium dihydrogen phosphate, glycine, sodium hydroxide.

- Thiết bị nghiên cứu: Máy đo pH, cân điện tử, máy khuấy từ, bể điều nhiệt, máy quang phổ so màu, dụng cụ thủy tinh (cốc thủy tinh, ống đong, bình định mức) các loại...

- Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm Bộ môn Công nghệ thực phẩm - Trường Đại học Cần Thơ và Phòng thí nghiệm - Trường Cao đẳng Nông nghiệp Nam Bộ.

2.2. Phương pháp công nghệ

2.2.1. Xử lý mẫu: Thịt cá lóc fillet được xay nhuyễn và chia thành các mẫu có khối lượng xác định (50 gam/mẫu), bao gói trong bao bì PE và trữ đông ở $-18 \pm 20^\circ\text{C}$.

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm:

* Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của pH dung môi và nhiệt độ thủy phân đến hiệu quả thủy phân protein từ thịt cá lóc.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 2 nhân tố: nhân tố A là pH dung môi thay đổi với 3 mức độ là $A_1 = 7$, $A_2 = 8$, $A_3 = 9$ và nhân tố B là nhiệt độ thủy phân thay đổi với 3 mức độ là $B_1 = 50^\circ\text{C}$, $B_2 = 60^\circ\text{C}$, $B_3 = 70^\circ\text{C}$.

Tiến hành thí nghiệm: Mẫu thí nghiệm được vô hoạt enzyme nội bào ở 90°C trong 10 phút, điều chỉnh pH dung môi (pH = 7 và pH = 8 thì sử dụng đệm phosphate, pH = 9 thì sử dụng đệm glycine - NaOH) và nhiệt độ thủy phân theo các mức độ khảo sát với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/1 (50 gam nguyên liệu/50 ml dung môi), nồng độ enzyme alcalase là 0,5% (volume/weight, v/w), tiến hành thủy phân trong thời gian 2 giờ. Dịch đậm sau khi thủy phân được lọc và xác định hiệu suất thủy phân để chọn pH dung môi và nhiệt độ thủy phân thích hợp nhất.

* Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ enzyme và thời gian thủy phân đến hiệu quả thủy phân protein từ thịt cá lóc.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 2 nhân tố: nhân tố C là nồng độ enzyme (v/w) thay đổi với 4 mức độ là $C_1 = 0,5\%$, $C_2 = 1,5\%$, $C_3 = 2,5\%$, $C_4 = 3,5\%$ và nhân tố D là thời gian thủy phân thay đổi với 4 mức độ là $D_1 = 2$ giờ, $D_2 = 3$ giờ, $D_3 = 4$ giờ, $D_4 = 5$ giờ.

Tiến hành thí nghiệm: Các bước thực hiện tương tự thí nghiệm 1, pH dung môi và nhiệt độ thủy phân được chọn từ thí nghiệm 1, nồng độ enzyme và thời gian thủy phân thay đổi theo các mức độ khảo sát. Dịch đậm sau khi thủy phân được lọc và xác định hiệu suất thủy phân để chọn nồng độ enzyme và

thời gian thủy phân cho hiệu suất thủy phân cao nhất.

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Phương pháp hóa lý: Các chỉ tiêu cơ bản được xác định như sau: giá trị pH dung môi được xác định bằng pH kế, hàm lượng ẩm được xác định bằng phương pháp sấy ở 100 – 500⁰C đến khối lượng không đổi, hàm lượng đạm tổng số được xác định bằng phương pháp Kjeldahl, hàm lượng chất béo được xác định bằng phương pháp Soxhlet, hàm lượng tro được xác định bằng phương pháp nung cháy hoàn toàn các chất hữu cơ ở 550 - 600⁰C [3].

2.3.2. Xác định hiệu suất thủy phân: được xác định theo phương pháp OPA (ortho-phthadialdehyde) [4] do những ưu điểm như: ít tốn thời gian hơn so với phương pháp TNBS (trinitro benzene sulfonic axit), thuốc thử ổn định hơn và ít độc hại hơn, dựa trên nguyên tắc: những axit amin và peptide mạch ngắn có thể phản ứng tạo phức chất với dung dịch OPA và được hấp thụ ở bước sóng 340 nm, từ độ hấp thụ đó xác định được hàm lượng đạm amin, từ hàm lượng đạm amin xác định được hiệu suất thủy phân theo công thức (1) với N_{amin} là hàm lượng đạm amin (mg N/g) và NTS là hàm lượng đạm tổng số (mg N/g).

$$\text{Hiệu suất thủy phân (\%)} = \frac{N_{amin}}{N} \cdot 100 \quad (1)$$

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần và kết quả thí nghiệm được thể hiện dưới dạng giá trị trung bình.

Sử dụng phần mềm Statgraphics Centurion XVI để xử lý kết quả thí nghiệm và thông qua phân tích ANOVA để đánh giá sự khác biệt giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Xác định thành phần hóa lý cơ bản của thịt cá lóc

Kết quả phân tích thành phần hóa lý cơ bản của thịt cá lóc được thể hiện như Bảng 1. Số liệu phân tích từ Bảng 1 cho thấy thịt cá lóc là nguồn nguyên liệu có giá trị dinh dưỡng cao và thích hợp với việc trích ly protein không chỉ vì sự vượt trội về hàm lượng protein (> 18% tính theo căn bản ướt) trong chất khô mà còn vì chứa chất béo cũng như lượng tro thấp.

Bảng 1. Thành phần hóa lý cơ bản của thịt cá lóc

Thành phần	Giá trị
Độ ẩm (%)	79,30±0,5
Hàm lượng đạm tổng số (%)	18,10±0,5
Hàm lượng chất béo (%)	1,45±0,5
Hàm lượng tro (%)	1,15±0,5

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của pH dung môi và nhiệt độ thủy phân đến hiệu quả thủy phân protein từ thịt cá lóc

Hiệu suất thủy phân xác định theo phương pháp OPA [4] được thể hiện ở Bảng 2. Kết quả cho thấy cả hai nhân tố có sự tương tác và ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thủy phân protein từ

thịt cá lóc. Qua đó, nghiên cứu xác định hồi quy tương quan của 2 nhân tố, bao gồm pH dung môi (X1,7 - 9)

và nhiệt độ thủy phân (X2, 50 - 70⁰C) đến hiệu suất thủy phân protein (Y1, %) được thực hiện.

Bảng 2. Hiệu suất thủy phân theo giá trị pH dung môi và nhiệt độ thủy phân

pH dung môi	Nhiệt độ thủy phân (⁰ C)	Hàm lượng đạm amin (mg N/g nguyên liệu)	Hiệu suất thủy phân (%)
7	50	40,18	22,2
7	60	44,20	24,42
7	70	37,07	20,48
8	50	44,62	24,65
8	60	48,01	26,52
8	70	40,46	22,35
9	50	42,47	23,46
9	60	44,58	24,63
9	70	36,90	20,39

Kết quả phân tích ảnh hưởng của các nhân tố mã hóa đối với phương trình hồi quy được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của pH dung môi và nhiệt độ thủy phân đến phương trình hồi quy

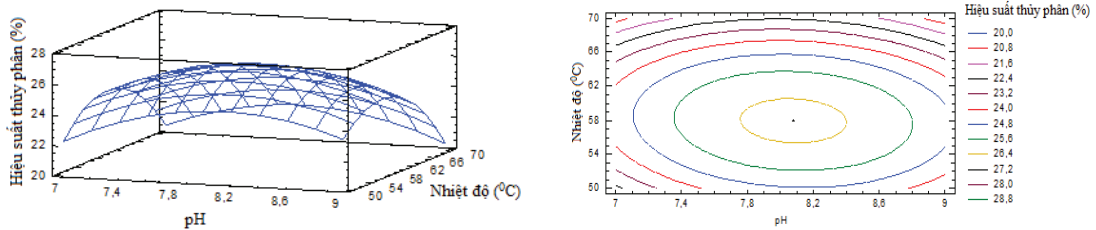
Nhân tố	Tổng bình phương	Bậc tự do	Phương sai	Tỉ số F	Giá trị P
X ₁	0,9522	1	0,9522	53,15	0,0000
X ₂	25,1577	1	25,1577	1404,13	0,0000
X ₁ X ₁	21,9141	1	21,9141	1223,09	0,0000
X ₁ X ₂	1,38041	1	1,38041	77,04	0,0000
X ₂ X ₂	51,7832	1	51,7832	2890,19	0,0000
Số lần lặp lại	0,00925185	2	0,00462593	0,26	0,7751
Sai số	0,340421	19	0,0179169		

Từ Bảng 3 cho thấy, kết quả có độ tin cậy cao khi số lần lặp lại thí nghiệm đều không có sự khác biệt ý nghĩa về mặt

thống kê, thể hiện ở giá trị P = 0,7751 (> 0,05). Đồng thời, tất cả giá trị P của các thừa số đều nhỏ hơn 0,05 đã chứng

tổ các nhân tố đều ảnh hưởng đến quá trình thủy phân protein từ thịt cá lóc. Hệ số hồi quy bậc một của X1, X2 cũng như hệ số tương tác của X1X2 đều khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê ở độ tin cậy 95%, đồng thời hệ số hồi quy bậc hai của X12, X22 cũng khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê. Điều này đã góp

phần khẳng định mức độ ảnh hưởng của từng biến độc lập cũng như các tương tác có ý nghĩa đến quá trình thủy phân. Đồ thị bề mặt đáp ứng và đường đồng điểm biểu diễn sự tương tác của pH dung môi và nhiệt độ thủy phân đến hiệu suất thủy phân protein được thể hiện ở đồ thị Hình 1.



Hình 1. Đồ thị biểu diễn sự tương tác của pH dung môi và nhiệt độ thủy phân đến hiệu suất thủy phân protein từ thịt cá lóc bằng enzyme alcalase

Xét về nhân tố pH, kết quả từ đồ thị ở Hình 1 cho thấy, khi tăng giá trị pH từ 7 đến 8 thì hiệu suất thủy phân tăng và đạt cực đại ở giá trị pH 8. Ảnh hưởng của pH môi trường đến vận tốc phản ứng enzyme có liên quan đến sự thay đổi trạng thái ion hóa của enzyme và của cơ chất, ảnh hưởng tới tính bền của enzyme. Trung tâm hoạt động của enzyme được hình thành từ những nhóm chức có khả năng ion hóa, thay đổi pH môi trường sẽ làm ảnh hưởng đến khả năng ion hóa của chúng, vì thế sẽ ảnh hưởng đến khả năng kết hợp của enzyme và cơ chất [5]. Do đó, khi tiếp tục tăng giá trị pH đến 9 thì hiệu suất thủy phân giảm xuống.

Xét về nhiệt độ thủy phân, kết quả từ đồ thị ở Hình 1 cũng cho thấy, khi tăng nhiệt độ thủy phân từ 50 đến 60°C thì hiệu suất thủy phân tăng và đạt cực đại ở nhiệt độ 60°C. Nhiệt độ thủy phân là nhân tố ảnh hưởng lớn đến hoạt tính xúc

tác enzyme, cũng như các phản ứng hoá học thông thường, vận tốc phản ứng enzyme tăng khi nhiệt độ tăng. Tuy nhiên, enzyme có bản chất là protein nên tốc độ phản ứng enzyme không phải lúc nào cũng tỉ lệ thuận với nhiệt độ phản ứng. Tốc độ phản ứng chỉ tăng đến một giới hạn nhiệt độ nhất định, vượt quá giới hạn đó, tốc độ phản ứng sẽ giảm và dẫn đến mức triệt tiêu [6]. Do đó, khi tiếp tục tăng nhiệt độ thủy phân đến 70°C thì hiệu suất thủy phân giảm xuống.

Giá trị pH dung môi bằng 8 là thông số được lựa chọn của rất nhiều nghiên cứu liên quan như nghiên cứu của Ghassem và cộng sự (2014) [7] thủy phân protein cơ của cá lóc (Snakehead fish), nghiên cứu của Herpandi và cộng sự (2016) [8] thủy phân mô cơ sạm màu ở cá ngừ (*Katsuwonus pelamis*). Giá trị nhiệt độ bằng 60°C cũng là thông số được lựa chọn của các nghiên cứu liên quan như

nghiên cứu của Normah (2005) [9] thủy phân protein trên cá tráp (*Nemipterus japonicus*), nghiên cứu của Trần Thanh Nhân và Nguyễn Tú Oanh (2009) [10] thủy phân protein từ máu cá ba sa (*Pangasius bocourti*).

Dựa trên kết quả phân tích ANOVA, phương trình hồi quy thể hiện sự tương quan của pH dung môi và nhiệt độ thủy phân được thiết lập và sử dụng để dự đoán hiệu quả của quá trình thủy phân protein. Hiệu suất thủy phân được xác định bằng cách thay các biến với giá trị thực vào phương trình sau đây:

$$Y1 = - 212,63 + 32,8428X1 + 3,67844X2 - 1,91111X12 - 0,0339167X1X2 - 0,0293778X22 \quad (1)$$

Dựa vào đồ thị Hình 1 và phương trình hồi quy (1), hiệu suất thủy phân (Y1) đạt cực đại (26,59%) khi giá trị pH (X1) là

8,08 ($\approx 8,1$) và nhiệt độ thủy phân (X2) là $57,94^{\circ}\text{C}$ ($\approx 58^{\circ}\text{C}$).

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ enzyme alcalase và thời gian thủy phân đến hiệu quả thủy phân protein từ thịt cá lóc

Hiệu suất thủy phân xác định theo phương pháp OPA [4] được thể hiện ở Bảng 4. Nồng độ enzyme và thời gian thủy phân là hai yếu tố có ảnh hưởng rất lớn đến hiệu suất thủy phân. Kết quả cho thấy hai nhân tố này đều có sự chi phối đáng kể đến hoạt động của enzyme alcalase và ảnh hưởng lớn đến hiệu suất thủy phân protein từ thịt cá lóc. Qua đó, nghiên cứu xác định hồi quy tương quan của 2 nhân tố, bao gồm nồng độ enzyme (X3, 0,5 - 3,5%) và thời gian thủy phân (X4, 2 - 5 giờ) đến hiệu suất thủy phân protein (Y2, %) được thực hiện.

Bảng 4. Hiệu suất thủy phân theo nồng độ enzyme và thời gian thủy phân

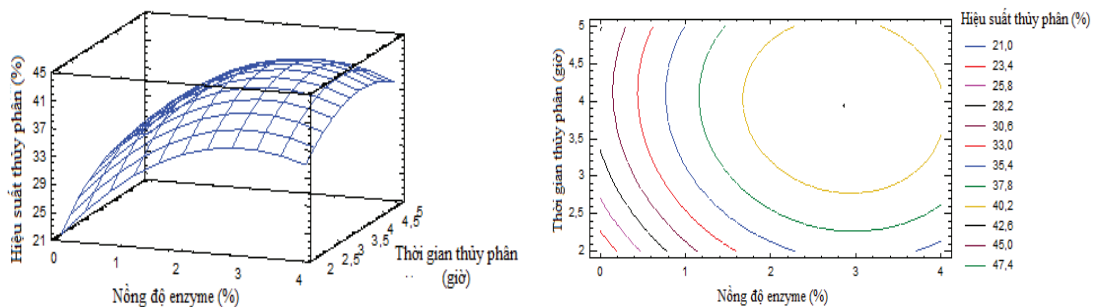
Nồng độ enzyme (%)	Thời gian thủy phân (giờ)	Hàm lượng đạm amin (mg N/g nguyên liệu)	Hiệu suất thủy phân (%)
0,5	2	48,27	26,67
0,5	3	54,83	30,29
0,5	4	62,25	34,39
0,5	5	58,47	32,30
1,5	2	59,36	32,80
1,5	3	65,30	36,08
1,5	4	72,23	39,91
1,5	5	67,28	37,17
2,5	2	65,62	36,25
2,5	3	73,66	40,70
2,5	4	79,42	43,88
2,5	5	72,73	40,18
3,5	2	64,74	35,77
3,5	3	71,66	39,59
3,5	4	76,80	42,43
3,5	5	71,42	39,46

Kết quả phân tích ảnh hưởng của các nhân tố mã hóa đối với phương trình hồi quy được trình bày ở Bảng 5. Từ Bảng 5 cho thấy, kết quả có độ tin cậy cao khi số lần lặp lại thí nghiệm đều không có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê, thể hiện ở giá trị $p = 0,9697$ (lớn hơn 0,05). Đồng thời, tất cả giá trị P của các thừa số đều nhỏ hơn 0,05 đã chứng tỏ các nhân tố đều ảnh hưởng đến quá trình

thủy phân protein từ thịt cá lóc. Hệ số hồi quy bậc một của X3, X4 cũng như hệ số tương tác của X3X4 đều khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê ở độ tin cậy 95%, đồng thời hệ số hồi quy bậc hai của X32, X42 cũng khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê. Điều này đã góp phần khẳng định mức độ ảnh hưởng của từng biến độc lập cũng như các tương tác có ý nghĩa đến quá trình thủy phân.

Bảng 5. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme và thời gian thủy phân đến phương trình hồi quy

Nhân tố	Tổng bình phương	Bậc tự do	Phương sai	Tỉ số F	Giá trị p
X ₃	503,354	1	503,354	655,83	0,0000
X ₄	167,618	1	167,618	218,39	0,0000
X ₃ X ₃	127,368	1	127,368	165,95	0,0000
X ₃ X ₄	4,07517	1	4,07517	5,31	0,0265
X ₄ X ₄	133,367	1	133,367	173,77	0,0000
Số lần lặp lại	0,0473292	2	0,0236646	0,03	0,9697
Sai số	30,7004	40	0,76751		



Hình 2. Đồ thị biểu diễn sự tương tác của nồng độ enzyme alcalase và thời gian thủy phân đến hiệu suất thủy phân protein từ thịt cá lóc

Đồ thị bề mặt đáp ứng và đường đồng điểm biểu diễn sự tương tác của nồng độ enzyme và thời gian thủy phân đến hiệu suất thủy phân protein của enzyme alcalase được thể hiện ở đồ thị Hình 2.

Xét về nhân tố nồng độ enzyme, kết quả từ đồ thị ở Hình 2 cho thấy có sự tương tác giữa nồng độ enzyme và thời gian thủy phân. Khi tăng nồng độ enzyme từ 0,5 đến 3,5% thì hiệu suất thủy phân tăng và đạt cực đại ở nồng độ enzyme 2,5%. Enzyme là chất xúc tác sinh học làm tốc độ phản ứng tăng nhanh khi dư thừa cơ chất, do đó, khi tăng nồng độ enzyme tốc độ phản ứng được tăng cường làm tăng hiệu suất thủy phân protein. Kết quả nghiên cứu cho thấy khi tiếp tục tăng nồng độ enzyme đến 3,5% thì hiệu suất thủy phân không tăng thêm nữa, điều này cho thấy tốc độ phản ứng đạt cực đại với nồng độ enzyme thích hợp.

Xét về thời gian thủy phân, kết quả từ đồ thị ở Hình 2 cũng cho thấy, khi tăng thời gian thủy phân từ 2 đến 4 giờ thì hiệu suất thủy phân tăng và hiệu suất thủy phân đạt cực đại sau 4 giờ thủy phân. 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. 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 hiệu suất thủy phân [11]. Do đó, khi tiếp tục tăng thời gian thủy phân đến 5 giờ thì hiệu suất thủy phân giảm xuống do sản phẩm của quá trình thủy phân tiếp tục bị phân cắt.

Kết quả này khá phù hợp với nghiên

cứ của Guerard và cộng sự (2001) [12], hiệu suất thủy phân protein từ cá ngừ vây vàng (*Thunnus albacores*) tăng dần khi sử dụng nồng độ enzyme từ 0,2 đến 3% và hiệu suất thủy phân đạt cao nhất ở nồng độ enzyme 3%. Nghiên cứu của Herpandi và cộng sự (2012) [13], Salwanee và cộng sự (2013) [14] cũng cho thấy hiệu suất thủy phân protein trên thịt cá ngừ bằng alcalase đạt cao nhất sau 4 giờ thủy phân.

Dựa trên kết quả phân tích ANOVA, phương trình hồi quy thể hiện sự tương quan của nồng độ enzyme và thời gian thủy phân được thiết lập và sử dụng để dự đoán hiệu quả việc thủy phân protein. Hiệu suất thủy phân được xác định bằng cách thay các biến với giá trị thực vào phương trình sau đây:

$$Y2 = 0,651706 + 10,2281X3 + 13,8057X4 - 1,62896X32 - 0,2331X3X4 - 1,66687X42 \quad (2)$$

Dựa vào đồ thị Hình 2 và phương trình hồi quy (2), hiệu suất thủy phân (Y2) đạt cực đại (42,47%) khi nồng độ enzyme (X3) là 2,86% ($\approx 2,9\%$) và thời gian thủy phân (X4) là 3,94 giờ (236 phút).

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã xác định được các thông số tối ưu của quá trình thủy phân protein từ thịt cá lóc như: pH dung môi là 8,1, nhiệt độ thủy phân là 58°C, nồng độ alcalase là 2,9% (v/w) và thời gian thủy phân là 3,94 giờ (236 phút).

Dung dịch đậm thu hồi được chứa 17 loại axit amin, trong đó có đầy đủ các axit amin không thay thế (8/8 axit amin) với tỷ lệ cân đối, từ đó, mở ra triển vọng cho việc sản xuất dịch đậm

giàu các axit amin và peptide mạch ngắn có giá trị dinh dưỡng cao, có thể ứng dụng trong chế biến các sản phẩm giàu protein như: dịch đậm cô đặc, bột protein...

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Adler - Nissen J. (1986). *Enzymic Hydrolysis of Food Proteins*. Elsevier Science Ltd, pp. 451.
2. Murna Muzaifa, Safriani N, Zakaria F. (2012). *Production of protein hydrolysate from fish by-product prepared by enzymatic hydrolysis*. International Journal of the Biofux Society, 5(1), 36-39.
3. Phạm Văn SỔ và Bùi Thị Như Thuận (1991). *Kiểm nghiệm lương thực, thực phẩm*. Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.
4. Nielsen P.M., Petersen D., and Dambmann C. (2001). *Improved method for determining food protein degree of hydrolysis*. Journal of Food Science, 66(5), 642-646.
5. Đỗ Quý Hai (2004). *Giáo trình công nghệ và ứng dụng enzyme*. Trường Đại học Khoa học Huế.
6. Mathewson P.R. (1988). *Enzymes*. Maarcel Dekker Inc., pp. 20-35.
7. Ghassem Masomeh, Babji Abdul Salam, Said Mamot, Mahmoodani Fatemeh, Arihara Keido (2014). *Angiotensin I-Converting enzyme inhibitory peptides from snakehead fish sarcoplasmic protein hydrolysate*. Journal of food biochemistry, 38(2), 140-149.
8. Herpandi, Nurul Huda, Rosma Ahmad, Wan Nadiyah, Wan Abdullah (2016). *Protein quality of hydrolyzed dark muscle protein of skipjack tuna (Katsuwonus pelamis)*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 16, 177-186.
9. Normah (2005). *Optimization of hydrolysis conditions for the production of threadfin bream (Nemipterus japonicus) hydrolysate by alcalase*. Journal of Muscle Foods, 16(2), 87-102.
10. Trần Thanh Nhân và Trần Nguyễn Tú Oanh (2009). *Tối ưu hóa quy trình xử lý máu cá ba sa bằng enzyme*. Tạp chí Y học Tp.HCM, 13(2), 224-228.
11. See, S. F., Hoo, L. L. and Babji, A. S (2011). *Optimization of enzymatic hydrolysis of salmon (Salmo salar) skin by alcalase*. International Food Research Journal, 18(4), 1359-1365.
12. Guerard F, Dufosse L, De La Broise D, Binet A (2001). *Enzymatic hydrolysis of proteins from yellowfin tuna (Thunnus albacores) wastes using alcalase*. Journal Molecular Catalysis B-Enzymatic, 11, 1051-1059.
13. Herpandi, Huda, N., Rosma, A. and Wan Nadiyah W. A. (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, 19, 863-867
14. S. Salwaneh, W. M. WAn Aida, S. Mamot, M.Y. Maskat, S. Ibrahim (2013). *Effects of Enzyme Concentration, Temperature, pH and Time on the Degree of Hydrolysis of Protein Extract from Viscera of Tuna (Euthynnus affinis) by Using Alcalase*. Sains Malaysiana, 42, 279-287.

Summary**STUDY ON HYDROLYSIS OF PROTEIN OBTAINED FROM THE FLESH OF SNAKEHEAD FISH USING ALCALASE ENZYME**

This study was performed to evaluate the possibility of hydrolysis of protein obtained from the flesh of snakehead fish by using commercial alcalase enzyme. The effects of factors such as pH, temperature, enzyme concentration and time on proteolysis were investigated. The results showed that proteolytic yield obtained was highest (42.47%) at pH 8.1, hydrolyzed temperature of 58oC, enzyme concentration of 2.9% (v/w) and hydrolyzed time of 3.94h. The study has illustrated practicability of using commercial alcalase enzyme to hydrolysis protein acquired from the flesh of snakehead fish, as well as opening the prospect for producing of protein broth with high content of amino axits and high nutritional value short-chain peptides which can be used in the processing of protein-rich products.

Keywords: *Alcalase, snakehead, hydrolysis.*

