

THỦY PHÂN PROTEIN BỘT PHỤ PHẨM CÁ TRA (*Pangasius hypophthalmus*) VÀ ỨNG DỤNG ĐỂ SẢN XUẤT BỘT NÊM

Lê Thị Hồng Sơn^{1*}, Cao Xuân Thủy²

TÓM TẮT

Nghiên cứu này tập trung vào khảo sát mức độ thủy phân trong quá trình thủy phân protein của bột phụ phẩm cá tra bằng enzyme Alcalase 2.4L ở các điều kiện thủy phân khác nhau và tối ưu hóa bằng phương pháp bề mặt đáp ứng nhằm thu được FPH (Fish Protein Hydrosate) có mức độ thủy phân (DH, %) cao nhất. Sản phẩm dịch thủy phân thu được sau quá trình thủy phân được phối trộn với các thành phần phụ gia, gia vị theo quy trình sản xuất bột nêm. Kết quả nghiên cứu cho thấy, mức độ thủy phân đạt cao nhất là 20,48% với các điều kiện thủy phân bao gồm: hàm lượng enzyme/cơ chất là 0,40%, thời gian thủy phân 120 phút, nhiệt độ thủy phân 60°C, pH 6,5, tỷ lệ nước thêm vào so với khối lượng nguyên liệu là 185%. Dịch đậm thủy phân thu được có thành phần nitơ axit amin là 10 g/l và hiệu suất thu hồi protein của quá trình thủy phân là 63,44%. Dịch đậm thủy phân được phối trộn vào các thành phần phụ gia và gia vị trong quy trình sản xuất bột nêm với tỷ lệ phối trộn thích hợp là 75%.

Từ khóa: *Alcalase 2.4L, bề mặt đáp ứng, bột nêm, dịch đậm thủy phân, phụ phẩm cá tra.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nguồn phụ phẩm cá tra tại các nhà máy chế biến thủy sản rất lớn (khoảng hơn 1 triệu tấn/năm) nhưng chưa được tận dụng triệt để và hiệu quả [1]. Quá trình chế biến cá tra thải ra một lượng lớn các phụ phẩm như đầu, da, xương, vây, thịt vụn và nội tạng [2]. Thành phần phụ phẩm cá tra chứa đến 30% protein và các axit amin không thể thay thế [2], [3]. Do vậy, chế biến phụ phẩm cá tra thành những sản phẩm có giá trị gia tăng cao là rất cần thiết và có ý nghĩa về kinh tế, môi trường [4]. Hiện nay, các phụ phẩm cá tra ở Việt Nam chủ yếu được sử dụng để sản xuất bột cá, dầu cá và thức ăn gia súc, đây là những sản phẩm thô có hiệu quả kinh tế thấp [3]. Gần đây, một số phụ phẩm cá tra được khai thác sử dụng trong chế biến đồ hộp, nước mắm, collagen, gelatin [5].

Phương pháp thủy phân protein bằng enzyme hạn chế sử dụng hóa chất nên ít biến đổi axit amin, tránh hàm lượng muối cao hoặc nồng độ dung môi trong sản phẩm cuối cùng, sản phẩm an toàn vì mô phỏng quá trình phân cắt enzyme trong hệ tiêu hóa [6]. Một số nghiên cứu trước đây đã chứng minh quá

trình thủy phân protein của các phụ phẩm cá tra bằng enzyme đã tạo ra những sản phẩm giàu axit amin và peptide có hoạt tính sinh học [1], [2], [5], [7], [8]. Một số nghiên cứu khác đã thu nhận dịch đậm hòa tan giàu axit amin từ nguyên liệu thủy sản, từ đó ứng dụng vào sản xuất và chế biến thực phẩm [9], [10]. Trong các thông số sinh hóa của quá trình thủy phân thì mức độ thủy phân (DH) là một thông số quan trọng nhất vì nó trực tiếp ảnh hưởng đến sự phân cắt các axit amin và chiều dài của peptide [10]. Trong nghiên cứu này, các phụ phẩm cá tra được khai thác và chế biến thành bột phụ phẩm có chứa hơn 60% hàm lượng protein, hàm lượng nước và lipid thấp nên là nguồn nguyên liệu thích hợp để thu nhận protein thủy phân.

Nội dung nghiên cứu tập trung vào quá trình thủy phân protein từ bột phụ phẩm cá tra, khảo sát và tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng lên mức độ thủy phân để thu nhận dịch đậm thủy phân sinh học chứa tối đa các axit amin và peptide mạch ngắn chứa trong dịch đậm sinh học, từ đó ứng dụng vào thử nghiệm bột nêm gia vị.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Các phụ phẩm bao da, đầu, xương, vây, thịt vụn và nội tạng do Công ty Cổ phần Thủy sản Cần Thơ cung cấp. Enzyme Alcalase 2.4L được mua từ Công ty EAC, nhập khẩu từ hãng Novozymes có nhiệt độ tối ưu trong khoảng 30-65°C và pH trong khoảng 7-9

¹ Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh

² Bộ môn Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

*Email: hsonle2503@gmail.com

với hoạt tính duy trì trong 24 tháng bảo quản dưới 10°C. Hoạt tính của enzyme là 656 đơn vị Anson/ml, tương đương với 0,66UI enzyme/gam cơ chất.

2.2. Chuẩn bị bột phụ phẩm cá tra

Các thành phần nguyên liệu tươi được thu nhận một lần từ cơ sở chế biến cá và bảo quản lạnh. Nguyên liệu được rửa sạch, loại bỏ mỡ và nội tạng tối đa, cắt nhỏ và ép để giảm bớt nước và chất béo. Sau đó sấy khô ở nhiệt độ 80-90°C đến khi độ ẩm nguyên liệu đạt 6-8% và nghiền đến kích thước 5 mm. Bột phụ phẩm cá tra này được bảo quản trong các túi nhỏ với tổng khối lượng khoảng 1 kg.

2.3. Thủy phân và thu nhận dịch đậm từ bột phụ phẩm cá Tra

Mẫu bột phụ phẩm cá (50 g) được bổ sung nước với tỷ lệ khác nhau, xử lý nhiệt ở 95°C trong 15 phút, làm nguội đến nhiệt độ thích hợp, bổ sung Alcalase 2.4L để thủy phân protein. Bố trí các thông số thủy phân khác nhau về tỷ lệ E/S, độ pH, tỷ lệ nước thêm vào so với khối lượng nguyên liệu, nhiệt độ và thời gian thủy phân. Sau khi thủy phân kết thúc tiến hành bất hoạt enzyme bằng xử lý nhiệt ở 90°C/10 phút. Dịch chiết được lọc thô nhằm loại bỏ, những tạp chất thô, cặn nguyên liệu và một phần béo. Làm lạnh đến 4°C để tách mỡ sơ bộ và ly tâm tách mỡ ở tốc độ 15.000 vòng/phút trong 20 phút. Phần dịch trong được sử dụng để xác định mức độ thủy phân, hàm lượng nitơ axit amin và hiệu suất thu hồi protein trong quá trình thủy phân.

Mức độ thủy phân (Degree of Hydrolysate - DH) được xác định theo phương pháp pH-start. Hàm lượng nitơ axit amin được xác định theo phương pháp TCVN 3708-90. Hiệu suất thủy phân tính theo lượng nitơ tổng số trong sản phẩm thủy phân chia cho lượng nitơ tổng số trong nguyên liệu đem thủy phân.

2.4. Tối ưu hóa các yếu tố trong quá trình thủy phân phụ phẩm cá

Phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology - RSM) với phương án quay bậc 2 có tâm (cánh tay đòn $\alpha = 1.682$) được áp dụng để tối ưu hóa các điều kiện của quá trình thủy phân. Trong đó, kết quả của thí nghiệm khảo sát sơ bộ trước đó được chọn làm cơ sở để thiết kế thí nghiệm tối ưu hóa. Ở thí nghiệm này, độ pH (X_1), nhiệt độ thủy phân (X_2 , °C) và tỷ lệ nước thêm vào so với khối lượng nguyên liệu (X_3 , %) được khảo sát đồng thời.

2.5. Khảo sát tỷ lệ dung dịch đậm phối trộn trong sản xuất bột nêm

Cô quay chân không dịch thủy phân đến khi nồng độ chất khô đạt 20°Brix. Sau đó, dịch đậm cô đặc sẽ được phối trộn đều với tỷ lệ khác nhau vào các thành phần phụ gia, gia vị (tinh bột gạo, maltodextrin, đường, muối, bột ngọt, siêu bột ngọt, tiêu, hành, ớt). Phối trộn nhằm tăng thêm hương vị, tạo sự hài hòa cho bột nêm. Đối với hành củ, tiêu bột và ớt giã thật nhuyễn, dùng nước ấm có nhiệt độ 80°C cho vào chiết và lọc lấy dịch chiết rồi cho vào dịch đậm thủy phân. Hỗn hợp sau khi phối trộn sẽ được đem đi sấy phun và thu nhận thành phẩm bột nêm.

Phương pháp đánh giá các tính chất cảm quan bột nêm của các mẫu thí nghiệm trong quá trình khảo sát tỷ lệ dịch đậm phối trộn được thực hiện bằng phép thử so hàng thị hiếu (xếp dây). Các mẫu thử tương ứng với các tỷ lệ thành phần dịch đậm phối trộn khác nhau được mã hóa bằng 3 chữ số ngẫu nhiên, trật tự trình bày mẫu được thiết kế cân bằng theo hình vuông Latin Williams bình phương. Các mẫu được đánh giá chỉ tiêu về vị ngọt của bột nêm. Số lượng người thử là 30 người và chưa qua huấn luyện. Kiểm định Friedman được sử dụng cho phép thử so hàng thị hiếu.

2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu thí nghiệm được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ($\pm$ SD). Phần mềm JMP Pro 13 được ứng dụng để quy hoạch thực nghiệm và tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình thủy phân.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định thành phần hóa học cơ bản của bột phụ phẩm cá

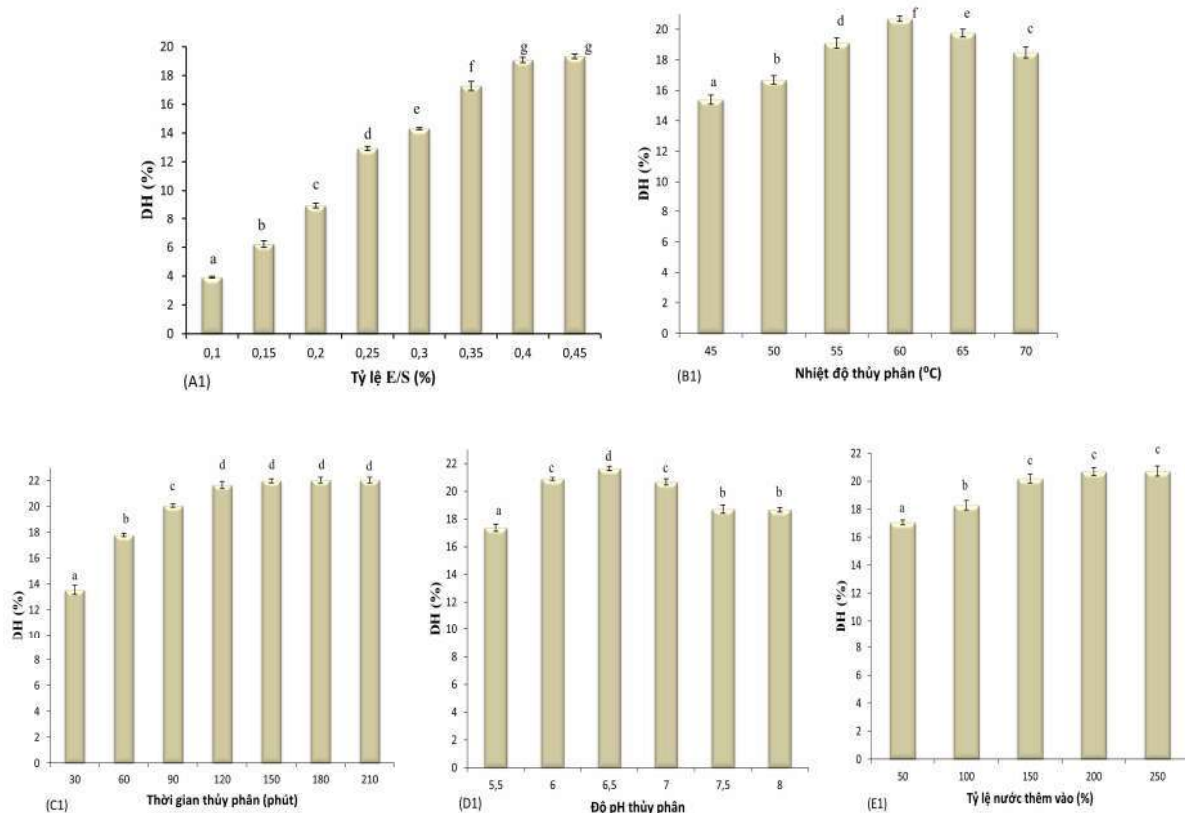
Kết quả từ bảng 1 cho thấy, hàm lượng protein thô chiếm 60,7% trong bột phụ phẩm cá tra là tỷ lệ cao nhất so với các thành phần hóa học khác của nguyên liệu và cao hơn hẳn so với phụ liệu thô ban đầu là 9,24% đến 35,10%, tùy theo các loại phụ phẩm khác nhau. Đồng thời thành phần lipid của bột phụ phẩm cá tra là 9,70%, giảm đi rất nhiều so với nguyên liệu phụ phẩm thô ban đầu theo kết quả khảo sát phụ liệu cá tra là 20,49% và 32,21% [1], [3]. Do đó, có thể khẳng định bột phụ phẩm cá tra là nguồn nguyên liệu thích hợp để sản xuất protein thủy phân.

Bảng 1. Thành phần hóa học cơ bản bột phụ phẩm cá tra

Thành phần	Tỷ lệ (%) so với khối lượng ướt
Nước	6,11 ± 0,06
Protein	60,70 ± 0,90
Lipid	9,70 ± 0,50
Tro	23,38 ± 0,36

3.2. Kết quả khảo sát sơ bộ mức độ thủy phân bột phụ phẩm cá

Trước khi thực hiện tối ưu hóa các yếu tố thủy phân đến hiệu quả quá trình thủy phân, tiến hành khảo sát sơ bộ ảnh hưởng của 5 yếu tố: tỷ lệ E/S, nhiệt độ, thời gian thủy phân, độ pH và tỷ lệ nước thêm vào đến mức độ thủy phân (DH, %) của bột phụ phẩm cá tra.



Hình 1. Ảnh hưởng của các yếu tố tới mức độ thủy phân (DH, %)

Kết quả khảo sát thể hiện ở hình 1 cho thấy ảnh hưởng của các yếu tố tỷ lệ E/S, nhiệt độ thủy phân, thời gian thủy phân, độ pH và tỷ lệ nước thêm vào so với khối lượng nguyên liệu lên mức độ thủy phân (DH, %) bột phụ phẩm cá tra. Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức thí nghiệm đối với mức độ thủy phân (DH, %). Điều này chứng tỏ sự thay đổi các yếu tố ảnh hưởng trên có ảnh hưởng rõ rệt lên hiệu quả của quá trình thủy phân.

Hình 1-A1 thể hiện ảnh hưởng của tỷ lệ E/S lên quá trình thủy phân: nếu tăng hàm lượng chế phẩm enzymn từ 0,1% đến 0,4% thì DH tăng nhanh và đạt 19,09% (tăng gấp 5 lần so với bổ sung chế phẩm enzyme 0,1%). Nếu tiếp tục tăng lượng chế phẩm

enzyme cao hơn 0,4% thì DH tăng chậm và kết quả kiểm định LSD cho thấy không có sự khác biệt về mặt thống kê ($p > 0,05$).

Hình 1-B1 thể hiện ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân: nếu tăng nhiệt độ từ 45°C đến 60°C, mức độ thủy phân cũng tăng từ 15,39% đến 20,69%. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nhiệt độ cao hơn 60°C thì DH giảm đáng kể ở nhiệt độ 65°C và 70°C. Kết quả này cho thấy nhiệt độ tối ưu cho enzyme hoạt động là 60°C, điều này phù hợp với công bố của Novozymes (2022) cho thấy, Alcalase có nhiệt độ tối ưu nằm trong khoảng 30 - 65°C [11].

Hình 1-C1 thể hiện ảnh hưởng của thời gian thủy phân: DH tăng nhanh trong giai đoạn đầu khi tăng thời gian thủy phân từ 30 phút đến 120 phút và DH đạt tối ưu ở 120 phút là 21,65%. Sau đó, DH tăng

chậm lại nếu tiếp tục tăng thời gian thủy phân từ 120 phút đến 210 phút. Kết quả kiểm định LSD cho thấy sự thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) khi thời gian thủy phân tăng lên 210 phút.

Hình 1-D1 thể hiện ảnh hưởng của pH: nếu tăng pH từ 5,5 đến 6,5, mức độ thủy phân tăng từ 17,38% đến 21,65% và đạt DH tối ưu ở pH 6,5 là 21,65%. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng độ pH từ 6,5 đến 7,5 thì mức độ thủy phân giảm dần và thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) theo kết quả kiểm định LSD.

Hình 1-E1 thể hiện ảnh hưởng của tỷ lệ nước thêm vào so với khối lượng nguyên liệu: DH tăng nhanh trong giai đoạn đầu khi tỷ lệ nước thêm vào tăng từ 50% đến 150% và đạt DH tối ưu ở 150% là 20,18%. Sau đó, mức độ thủy phân tăng chậm lại khi tiếp tục thêm vào tỷ lệ nước từ 200% đến 250%. Kết quả kiểm định LSD cho thấy mức độ thủy phân thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) khi tỷ lệ nước thêm vào tăng lên 200% và 250%.

Các quy luật ảnh hưởng của các yếu tố trên đã được quan sát bởi các nghiên cứu của Thụy (2014) [1], Thụy và cs (2018) [7], Benjakul và cs (1997) [12], Murna và cs (2012) [13], Ovissipour và cs (2010) [14] và See và cs (2011) [15]. Theo đó, kết quả này cũng tương tự với các báo cáo của các tác giả khi nghiên cứu sử dụng enzyme Alcalase để thủy phân các loại phụ phẩm cá như: thủy phân phụ phẩm đầu và xương cá tra thu nhận PFY (Peptide for Yeilds) với các điều kiện tối ưu là tỷ lệ enzyme/cơ chất là 0,15% (0,5IU/g cơ chất), pH là 6,5 và nhiệt độ là 58°C [7]; thủy phân da cá hồi với nhiệt độ là 55,3°C [15].

3.3. Tối ưu hóa quá trình thủy phân

Phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) với phương án quay bậc 2 có tâm (cánh tay đòn $\alpha = 1,682$) được áp dụng để tối ưu hóa các điều kiện của quá trình thủy phân: độ pH (X_1), nhiệt độ thủy phân (X_2 , °C) và tỷ lệ nước thêm vào so với khối lượng nguyên liệu (X_3 , %) được khảo sát.

Bảng 2. Các mức của yếu tố trong thí nghiệm tối ưu hóa

Yếu tố thí nghiệm	Mức yếu tố				
	- α	-1	0	+1	+ α
Độ pH (X_1)	5,7	6	6,5	7	7,3
Nhiệt độ thủy phân (X_2 , °C)	52	55	60	65	68
Tỷ lệ nước thêm vào (X_3 , %)	66	100	150	200	234
Các mức của biến mã hóa: mức trên, +1; mức cơ sở, 0; mức dưới, -1; $\alpha = 1,682$					

Phương trình hồi quy thực nghiệm mô tả sự phụ thuộc của mức độ thủy phân và các yếu tố thí nghiệm là một đa thức bậc 2 có dạng như sau:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2$$

Trong đó: Y là hàm mục tiêu (mức độ thủy phân), X_i và X_j là các mức của biến độc lập (yếu tố thí nghiệm) đại diện cho ảnh hưởng của X_1 ; X_2 ; X_3 lên

hàm mục tiêu Y; β_0 là hằng số; β_i , β_{ii} , β_{ij} là các hệ số của phương trình hồi quy. Để xây dựng mô tả toán học dưới dạng phương trình hồi quy, cần phải tiến hành xác định các hệ số của phương trình.

Số thí nghiệm được tính theo công thức: $N = 2^k + 2k + n_0 = 2^3 + 2.3 + 6 = 20$ (k: số yếu tố thí nghiệm (k=3), n_0 : số thí nghiệm tại tâm ($n_0=6$)).

Bảng 3. Ma trận thực nghiệm thể hiện sự kết hợp của các mức yếu tố

Thí nghiệm	Biến mã hóa			Biến thực			Y thực nghiệm (trung bình)	Y dự đoán
	x_1	x_2	x_3	X_1	X_2	X_3		
1	-1	-1	-1	6,0	55	100	16,89	16,87
2	-1	-1	1	6,0	55	200	19,03	18,85
3	-1	1	-1	6,0	65	100	17,55	17,66
4	-1	1	1	6,0	65	200	19,26	19,43
5	1	-1	-1	7,0	55	100	18,46	18,48
6	1	-1	1	7,0	55	200	19,09	19,16
7	1	1	-1	7,0	65	100	17,34	17,70
8	1	1	1	7,0	65	200	17,97	18,18
9	-1,6818	0	0	5,7	60	150	17,22	17,26

10	1,68179	0	0	7,3	60	150	17,86	17,56
11	0	-1,6818	0	6,5	52	150	18,73	18,88
12	0	1,68179	0	6,5	68	150	19,13	18,71
13	0	0	-1,6818	6,5	60	66	18,17	17,98
14	0	0	1,68179	6,5	60	234	20,11	20,04
15	0	0	0	6,5	60	150	20,42	20,26
16	0	0	0	6,5	60	150	20,55	20,26
17	0	0	0	6,5	60	150	20,22	20,26
18	0	0	0	6,5	60	150	19,87	20,26
19	0	0	0	6,5	60	150	19,90	20,26
20	0	0	0	6,5	60	150	20,55	20,26

Từ bảng 4 cho thấy hầu hết các hệ số đều có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$), ngoại trừ 3 hệ số b_1 , b_2 và

b_{23} là không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Như vậy, hệ số b_1 , b_2 và b_{23} bị loại khỏi phương trình hồi quy.

Phương trình hồi quy thực nghiệm như sau:

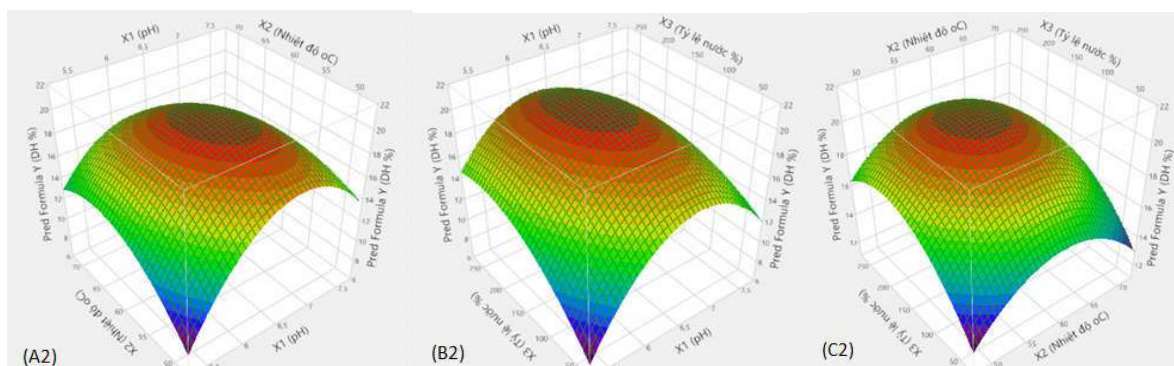
$$Y = 20,26 + 0,61X_3 - 0,39X_1X_2 - 0,32X_1X_3 - 1,01X_1^2 - 0,52X_2^2 - 0,44X_3^2$$

Kiểm tra tính tương thích của phương trình hồi quy với thực nghiệm, kết quả P value $< 0,001$ cho thấy các yếu tố thí nghiệm có ảnh hưởng mạnh lên mức độ thủy phân ($P < 0,05$). Phương trình hồi quy sẽ tương thích với thực nghiệm nếu kết quả phân tích “lack of fit” là không có ý nghĩa thống kê [16]. Kiểm định “lack of fit” là không có ý nghĩa thống kê, kết quả P value là 0,4138 ($P > 0,05$) nên phương trình hồi quy có sự tương thích cao với thực nghiệm. Như vậy, mô hình thống kê này có thể được sử dụng để dự đoán điều kiện tối ưu của quá trình thủy phân.

Bảng 4. Kết quả tính toán và kiểm tra ý nghĩa các hệ số của phương trình hồi quy

STT	Hệ số	Giá trị ước lượng	Giá trị P
1	b_0	20,26	$< 0,001$
2	$b_1^{(*)}$	0,09	0,3401
3	$b_2^{(*)}$	-0,05	0,5862
4	b_3	0,61	$< 0,001$
5	b_{12}	-0,39	0,0068
6	b_{13}	-0,32	0,0185
7	$b_{23}^{(*)}$	-0,05	0,6508
8	b_{11}	-1,01	$< 0,001$
9	b_{22}	-0,52	0,0001
10	b_{33}	-0,44	0,0004

(*) Các hệ số không có ý nghĩa thống kê



Hình 2. Bề mặt đáp ứng thể hiện các yếu tố thí nghiệm lên mức độ thủy phân

Ghi chú: (A2) Ảnh hưởng của độ pH và nhiệt độ lên mức độ thủy phân; (B2) Ảnh hưởng của tỷ lệ nước thêm vào (%) và độ pH lên mức độ thủy phân; (C2) Ảnh hưởng của nhiệt độ (°C) và tỷ lệ nước thêm vào (%) lên mức độ thủy phân.

Hình 2 trình bày bề mặt đáp ứng được xây dựng dựa trên phương trình hồi quy thực nghiệm. Nhìn chung, mức độ thủy phân tăng dần cùng với sự gia tăng các biến là độ pH (X_1), nhiệt độ thủy phân (X_2 ,

°C) và tỷ lệ nước thêm vào so với khối lượng nguyên liệu (X_3 , %) đến một giá trị tới hạn. Sau đó mức độ thủy phân giảm xuống khi các biến tăng quá mức tới hạn này. Hình 2-A2 thể hiện ảnh hưởng của cặp yếu

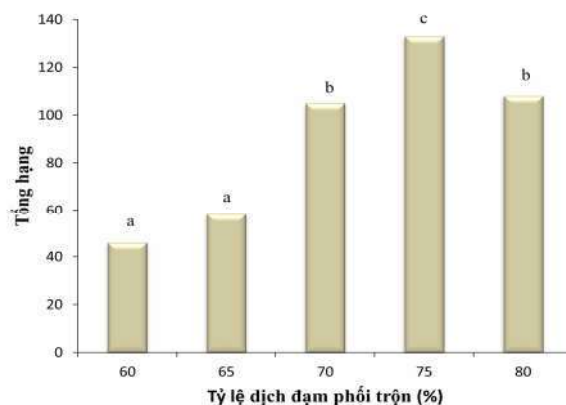
tổ độ pH và nhiệt độ thủy phân lên mức độ thủy phân. Kết quả chỉ ra rằng, mức độ thủy phân tăng xấp xỉ 20,48% cùng với sự gia tăng của độ pH ở 6,5 và nhiệt độ thủy phân đến 60°C. Tuy nhiên, mức độ thủy phân giảm xuống khi quá trình thủy phân được tiến hành ở độ pH và nhiệt độ thủy phân cao hơn. Sự ảnh hưởng của tỷ lệ nước thêm vào so với khối lượng nguyên liệu và độ pH được thể hiện ở hình 2-B2, theo đó, mức độ thủy phân tăng dần đến khi tỷ lệ nước thêm vào đạt 185% và độ pH đạt 6,5. Tuy nhiên khi tỷ lệ nước thêm vào và độ pH tiếp tục tăng thì mức độ thủy phân giảm xuống. Quy luật tương tự cũng được quan sát khi xét sự ảnh hưởng đồng thời của nhiệt độ thủy phân và tỷ lệ nước thêm vào so với khối lượng nguyên liệu (Hình 2-C2). Mức độ thủy phân tăng dần đến khi nhiệt độ thủy phân đạt 60°C và tỷ lệ nước thêm vào đạt 185%. Sau đó mức độ thủy phân giảm dần khi giá trị nhiệt độ và tỷ lệ nước thêm vào tiếp tục tăng.

Kết quả tối ưu hóa cho thấy khi tổ hợp 3 yếu tố thí nghiệm, khả năng mức độ thủy phân của bột phụ phẩm cá tra cao nhất là 20,48% với điều kiện thủy phân như sau: pH là 6,5, nhiệt độ thủy phân là 60°C, tỷ lệ nước thêm vào so với khối lượng nguyên liệu là 185%.

Kết quả xác định hàm lượng nitơ axit amin trong dịch đậm thủy phân là 10 g/l và hiệu suất quá trình thủy phân đạt 63,44%. Theo đó, kết quả này tương đồng với các nghiên cứu trước đó của Trần Thị Bích Thủy và Đỗ Thị Thanh Thủy (2016) [10] thu nhận dịch đậm thủy phân từ phụ phẩm hay cá có giá trị thấp.

3.4. Kết quả khảo sát tỷ lệ dịch đậm thủy phân phối trộn

Thành phần dịch thủy phân cô đặc được phối trộn với các tỷ lệ khác nhau là 60%, 65%, 70%, 75% và 80% vào các thành phần phụ gia, gia vị như: tinh bột gạo (8,0%), maltodextrin (8,0%), đường (3,0%), muối (2,0%), bột ngọt (0,8%), siêu bột ngọt (0,2%), tiêu (0,5%), hành (2,0%), ớt (0,5%) tính trên 100 g nguyên liệu ban đầu. Theo dõi chỉ tiêu về vị ngọt của sản phẩm bột nêm bằng phương pháp đánh giá cảm quan so hàng thị hiếu (xếp dãy). Kết quả khảo sát được trình bày ở hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ dịch đậm phối trộn đến vị ngọt sản phẩm bột nêm

Kiểm định Friedman (F_{test}) cho thấy kết quả $F_{test} > F_{tra\ bảng}$, tương ứng với giá trị là 71,44 và 9,49, điều này chứng tỏ rằng có một sự khác biệt thực sự tồn tại giữa các mẫu thử đánh giá với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$. Kết quả tính giá trị LSRD là 24,01 và so sánh với hiệu số tổng hạng giữa các cặp được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Tổng hợp kết quả sau khi phân tích dữ liệu

Mẫu thử	Tổng hạng	Mức ý nghĩa ¹
Dịch đậm phối trộn 60%	46	A
Dịch đậm phối trộn 65%	58	A
Dịch đậm phối trộn 70%	105	B
Dịch đậm phối trộn 75%	133	C
Dịch đậm phối trộn 80%	108	B

Ghi chú: ¹Những mẫu có cùng kí tự không khác nhau tại mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Kết quả ở hình 3 cho thấy sự ưa thích về vị ngọt của sản phẩm bột nêm tăng dần trong giai đoạn đầu khi tăng tỷ lệ phối trộn của dịch đậm từ 60% đến 75% và đạt được sự ưa thích nhất ở tỷ lệ 75% với tổng hạng là 133 do tạo được vị ngọt hài hòa cho sản phẩm. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng tỷ lệ phối trộn dịch đậm lên 80% thì vị ngọt của sản phẩm bột nêm không được ưa thích nhiều với tổng hạng giảm xuống là 108. Kết quả tính giá trị LSRD và so sánh với hiệu số tổng hạng giữa các cặp ở bảng 6 cho thấy sự ưa thích về vị ngọt ở tỷ lệ dịch đậm phối trộn 60% và 65% không khác nhau tại mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$; tương tự sự ưa thích về vị ngọt ở tỷ lệ dịch đậm phối trộn 70% và 80% không khác nhau tại mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$, sự ưa thích cao nhất ở tỷ lệ dịch đậm phối trộn là 75% và có sự khác nhau với các mẫu còn lại tại mức ý nghĩa $\alpha =$

0,05. Kết quả cho thấy khả năng sự ưa thích nhất về vị ngọt sản phẩm bột nêm với tổng hạng đạt 133 ở tỷ lệ dịch đậm phối trộn là 75%.

4. KẾT LUẬN

Dịch đậm thủy phân thu nhận từ phụ phẩm chế biến cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) thông qua quá trình thủy phân bằng Alcalase 2.4L có mức độ thủy phân cao nhất là 20,48%, tương ứng với điều kiện tối ưu của quá trình thủy phân: pH là 6,5, nhiệt độ thủy phân là 60°C, tỷ lệ nước thêm vào là 185%, tỷ lệ E/S là 0,4%, thời gian thủy phân là 120 phút. Hàm lượng nitơ axit amin có trong dịch đậm thủy phân là 10 g/l và hiệu suất quá trình thủy phân đạt 63,44%. Dịch đậm thủy phân được ứng dụng trong quy trình sản xuất bột nêm với tỷ lệ phối trộn thích hợp là 75% với các thành phần phụ gia và gia vị (tính trên 100 g nguyên liệu ban đầu).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thuy, C. (2014). Nghiên cứu hoạt tính liên kết canxi của đậm cá phân lập từ phụ liệu cá tra (*Pangasius hypophthalmus*). *Vietnam Journal of Science and Technology*, 52(5): 653-653.
2. Chalamaiah, M., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food chemistry*, 135(4): 3020-3038.
3. Thuy, N. T., Loc, N. T., Lindberg, J. E., & Ogle, B. (2007). Survey of the production, processing and nutritive value of catfish by-product meals in the Mekong delta of Vietnam. *Livestock Resesearch for Rural Development*, 19 (124), 1-5.
4. Zamora-Sillero, J., Gharsallaoui, A., & Prentice, C. (2018). Peptides from fish by-product protein hydrolysates and its functional properties: An Overview. *Marine Biotechnology*, 20(2): 118-130.
5. Nguyễn Thị Mỹ Hương (2019). Ứng dụng dịch thủy phân protein phụ phẩm cá tra trong sản xuất nước mắm. *Tạp chí Khoa học – Công nghệ Thủy sản*. Số 1/2019: 39-48.
6. Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000). Fish protein hydrolysates: Production, biochemical, and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(1): 43-81.
7. Thuy, C. X., Lam, T. B., & Toan, H. T. (2018). Hydrolysis of *Pangasius hypophthalmus* by-products to peptide form – foodtech.hufi.edu.vn.
8. Vo, T. D., Chung, D. T., Doan, K. T., Le, D. T., & Trinh, H. V. (2017). Investigation of antioxidant potential of peptide fractions from the Tra Catfish by-product-derived hydrolysate using Alcalase® 2.4 L. AIP Conference Proceedings (Vol. 1878, No.1, p.020043). AIP Publishing LLC.
9. Nguyễn Thị Mỹ Hương (2014). Thành phần dinh dưỡng của các sản phẩm thủy phân đầu và xương cá chẽm (*Lates calcarifer*) bằng enzyme Lavourzyme. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*; số chuyên đề: Thủy sản (2014) (1): 49-53.
10. Trần Thị Bích Thủy và Đỗ Thị Thanh Thủy (2016). Nghiên cứu ứng dụng enzyme protamex để thủy phân cá trích (*Sardinella Gibbosa*) thu dịch đậm. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*, số 2: 93-100.
11. Novozymes (2022). Alcalase® 2.4 L FG. Biosolutions.novozymes.com
<https://biosolutions.novozymes.com/en/fine-chemicals-diagnostics/products/alcalaser-24-lfg>.
12. Benjakul, S., & Morrissey, M. T. (1997). Protein hydrolysates from Pacific whiting solid waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(9): 3423-3430.
13. Muzaifa, M., Safriani, N., & Zakaria, F. (2012). Production of protein hydrolysates from fish byproduct prepared by enzymatic hydrolysis. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation* 5(1): 36-39.
14. Ovissipour, M., Benjakul, S., Safari, R., & Motamedzadegan, A. (2010). Fish protein hydrolysates production from yellowfin tuna *thunus albacares* head using Alcalase and Protamex. *International Aquatic Research*, 2(2): 87-95.
15. See, S. F., Hoo, L. L., & Babji, A. S. (2011). Optimization of enzymatic hydrolysis of Salmon (*Salmo salar*) skin by Alcalase. *International Food Research Journal*, 18(4): 1359-1365.
16. Chen K. N. and Chen M. J. (2008). Statistical Optimization: Response Surface Methodology. Optimization in Food Engineering. CRC Press, 140 – 165.

**THE PROTEIN HYDROLYSIS OF BY-PRODUCT POWDER FROM *Pangasius hypophthalmus*
AND ITS UTILISATION FOR SEASONING PRODUCTION****Le Thi Hong Son^{1,*}, Cao Xuan Thuy²***¹Faculty of Food Technology, Ho Chi Minh city University of Food Industry**²Department of Food Technology, Ho Chi Minh city University of Technology – International
University***Summary**

The processing of frozen *Pangasius hypophthalmus* fillets was produced a significant amount of by-products such as head, skin, bones, fins, trimmings, organs. This is an abundant source of raw materials, relatively low cost, and ingredients containing a considerable amount of protein content. Utilizing these *Pangasius hypophthalmus* by-products is indispensable to reduce environmental pollution and maximize profits for processing factories. This study was designed to examine and optimize the conditions for hydrolysis of *Pangasius hypophthalmus* by-products by enzyme Alcalase 2.4L to achieve the highest hydrolysis efficiency and obtain the hydrolyzed protein solution which contains rich in amino acid contents and apply this hydrolyzed protein to produce seasoning products. Results of optimal conditions for hydrolysis of *Pangasius hypophthalmus* by-products showed that the ratio of enzyme/substrate (E/S) is 0.40% (equivalent 0.66 UI/g substrate); temperature is 60°C; pH 6.5; time of hydrolysis is 120 minutes; rate of water added 185%. The highest degree of hydrolysis of *Pangasius hypophthalmus* by-products was 20.48%. The hydrolyzed protein solution contains 10 g/l amino acid contents and a hydrolysis efficiency of 63.44%. The additives and spices were added to the hydrolyzed protein solution appropriate mixing ratio of 75%.

Keywords: *Alcalase 2.4L, by-product Pangasius hypophthalmus, degree of hydrosis, hydrolyzed protein solution, optimization response surface methodology, seasoning product.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Duy Lâm**Ngày nhận bài:** 11/4/2022**Ngày thông qua phản biện:** 4/5/2022**Ngày duyệt đăng:** 22/7/2022