

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN THỦY PHÂN PHỤ PHẨM CÁ TRA BẰNG ENZYME ỨNG DỤNG TRONG SẢN XUẤT THỨC ĂN THỦY SẢN

Bùi Thị Thu Hiền^{1*}, Trần Thị Hương¹, Lê Anh Tùng¹,
Phạm Thị Diễm¹, Lê Xuân Quế¹, Đào Văn Hào², Trương Vĩnh Thành²

TÓM TẮT

Dịch đạm thủy phân từ phụ phẩm cá, chứa các peptide ngắn có hoạt tính sinh học và đa dạng các axit amin thiết yếu, là một nguồn dinh dưỡng tốt ứng dụng cho công nghiệp sản xuất bột cá và nguyên liệu cho ngành sản xuất thức ăn chăn nuôi. Trong nghiên cứu này, đã xác định được điều kiện thủy phân phụ phẩm cá tra bằng enzyme thương mại nhằm thu hồi và tận dụng nguồn nguyên liệu phụ phẩm dồi dào từ công nghiệp chế biến phi-lê cá tra. Trong số bốn enzyme được thử nghiệm thủy phân, SEB-Neutral PL cho hiệu quả cao nhất. Với điều kiện thủy phân được tối ưu hóa: tỷ lệ enzyme/cơ chất 0,46%; nhiệt độ 56°C; thời gian thủy phân 5,5 giờ; với pH tự nhiên của nguyên liệu $6,35 \pm 0,21$; tỷ lệ nước so với nguyên liệu là 10%. Sản phẩm dịch đạm thủy phân cá tra có hàm lượng Nts $26,9 \pm 0,14$ g/l, hàm lượng Naa $12,3 \pm 0,04$ g/l, sẽ là nguồn nguyên liệu phù hợp cho sản xuất thức ăn thủy sản về tiêu chí dễ tiêu hóa và hấp thụ.

Từ khóa: Protein, thủy phân, phế phụ phẩm, cá tra.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá tra là đối tượng thủy sản chiếm vị trí quan trọng trong lĩnh vực nuôi trồng, chế biến thủy sản ở nước ta nói chung và ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) nói riêng. Năm 2019, diện tích nuôi đạt 6,6 nghìn ha với sản lượng thu được 1,42 triệu tấn (VASEP, 2019). Ngành công nghiệp chế biến cá tra xuất khẩu tạo ra một lượng lớn phụ phẩm, chiếm từ 65-70% sản lượng nguyên liệu như thịt vụn, xương, đầu cá, nội tạng... (Nguyễn Thị Lan Chi, 2009). Cùng với việc nâng cao sản lượng nuôi để đáp ứng nhu cầu nội địa và xuất khẩu thì việc xử lý phụ phẩm cá tra của các nhà máy chế biến thủy sản nói chung và chế biến cá tra nói riêng đang được đặc biệt quan tâm. Đối với vùng ĐBSCL nơi có ngành nuôi trồng và chế biến thủy sản phát triển, vấn đề xử lý phụ phẩm cá tra hiệu quả, kinh tế và thân thiện với môi trường ngày càng trở nên cấp thiết, ngành công nghiệp chế biến cá tra fillet xuất khẩu gia tăng, các phụ phẩm được thải ra từ quá trình xử lý fillet gây nhiều tác hại lớn cho môi trường hoặc được chuyển đến các nhà máy sản xuất bột cá tra (Nguyễn Văn Mười, 2013). Phụ phẩm cá chứa nhiều protein và acid béo không sinh cholesterol (Rustad, 2003), cùng với các

khoáng chất khác có thể sản xuất ra nhiều sản phẩm có giá trị như bột cá, collagen, gelatin, dầu cá, bột đạm, bột canxi và ứng dụng trong nhiều sản phẩm khác. Những năm gần đây, việc tận dụng phụ phẩm cá tra đang nhận được sự quan tâm của các doanh nghiệp chế biến nhằm chế biến ra các mặt hàng có giá trị gia tăng, bột cá, da cá, nội tạng... Do đó, việc xử lý nguồn phụ phẩm này bằng biện pháp sinh học là một lựa chọn hàng đầu, đặc biệt là sử dụng enzyme thủy phân để thu hồi protein do tạo ra những sản phẩm có nhiều công dụng và giá trị dinh dưỡng cao (Min-Tian Gao, 2005; Wangkheirakpam, 2019). Việc sử dụng enzyme protease cho việc thủy phân phụ phẩm cá tra đang được quan tâm nghiên cứu và có nhiều triển vọng để ứng dụng trong sản xuất trên thực tế. Các enzyme thuộc nhóm protease có khả năng thủy phân liên kết protein thành các sản phẩm có kích thước nhỏ hơn, giúp tăng cường độ hấp thụ và tiêu hóa của vật nuôi khi ứng dụng trong ngành chăn nuôi. Ngoài ra, dịch thủy phân từ phụ phẩm cá có chất lượng cảm quan tốt, giá thành thấp, có độ hấp dẫn, đặc biệt là mùi thơm đặc trưng của thủy sản, có thể được ứng dụng làm dịch dẫn dụ hoặc cung cấp dinh dưỡng trong các sản phẩm thức ăn chăn nuôi. Nguyễn Công Hà và cộng sự (2015) đã khảo sát khả năng thủy phân protein từ phụ phẩm cá tra bằng enzyme Bromelain thương mại với hiệu suất đạt 22,75% (tính theo lượng tyrosin giải phóng ra),

¹ Viện Nghiên cứu Hải sản

² Công ty Cổ phần Đầu tư du lịch và Phát triển thủy sản

*Email: hien.rimf@gmail.com

Nguyễn Thị Thủy và cộng sự (2015) đã nghiên cứu thủy phân protein từ phụ phẩm cá tra bằng enzyme Papain thương mại sử dụng làm thức ăn nguồn protein cho lợn và gia cầm. Hiện nay, sản phẩm bột cá sản xuất theo công nghệ truyền thống vẫn đang được sử dụng làm nguồn cung cấp đạm chính trong các sản phẩm thức ăn chăn nuôi. Tuy nhiên, tại các nhà máy chế biến bột cá đang sử dụng phương pháp sản xuất truyền thống sử dụng nhiệt độ và áp suất cao để sản xuất bột cá nói chung và bột cá từ phụ phẩm cá tra nói riêng. Điều này dẫn tới sản phẩm bột cá truyền thống có hệ số tiêu hoá thấp, khả năng hấp thụ chưa cao, gây lãng phí trong quá trình nuôi trồng. Trong nghiên cứu này, dạng enzyme, tỉ lệ E/S, nhiệt độ, thời gian thủy phân, tỉ lệ nước, hàm lượng nito tổng số, hàm lượng axit amin, hiệu suất thủy phân sẽ được đánh giá. Sản phẩm dịch đậm thủy phân từ phụ phẩm cá tra có thể trở thành nguyên liệu có giá trị trong ngành công nghiệp sản xuất thức ăn chăn nuôi.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu, hóa chất và thiết bị

- Phụ phẩm cá tra được thu hồi từ nhà máy chế biến phile cá tra tập kết tại khu phân loại nguyên liệu của Công ty Cổ phần Đầu tư du lịch và Phát triển thủy sản – Trisedco, gồm: đầu, xương, vây, nội tạng (Hình 1). Phụ phẩm cá tra được xay sơ bộ thành các mảnh khoảng 3-5 mm, được đông lạnh trước khi sử dụng.



Hình 1. Phế phụ phẩm cá Tra làm nguyên liệu trong nghiên cứu này

Nguồn: Công ty Cổ phần Đầu tư du lịch và Phát triển thủy sản – Trisedco

- Enzyme protease: Bromelain pH hoạt động 5,5 – 7,0, nhiệt độ hoạt động 50-60°C, hoạt tính 500 IU; Protease có nhiệt độ tối ưu trong hoạt động khoảng từ 50°C đến 60°C, hoạt động trong khoảng pH tương đối rộng từ 4,5-8,5, hoạt tính 500 IU/g; Papain có

nhiệt độ hoạt động 50°C đến 70°C, pH tương đối rộng từ 4,5-8,5, hoạt tính 500 IU và SEB-Neutral PL có pH 5,5 - 7,5, nhiệt độ 35 - 60°C, hoạt tính 750 IU, được mua từ Công ty ICFOOD Việt Nam. Đây là các enzyme chuyên sử dụng trong sản xuất thức ăn chăn nuôi.

2.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm khảo sát điều kiện thủy phân cơ sở được thực hiện với phụ phẩm cá tra đã xay (kích thước 3-5 mm) được trộn với 20% nước. Các enzyme sử dụng trong nghiên cứu có chung điều kiện hoạt động trong khoảng 55-60°C, pH từ 5,5 – 7,0, do đó điều kiện thủy phân cơ sở được lựa chọn ở nhiệt độ 55°C, pH tự nhiên, trước khi bổ sung enzyme cho từng phản ứng riêng biệt. Quá trình thủy phân được thực hiện trong trong thiết bị thủy phân quy mô pilot công suất 80 kg/mẻ. Kết thúc phản ứng được thực hiện bằng cách nâng nhiệt độ nhanh lên đạt 95 - 100°C trong thời gian 10 phút. Hỗn hợp sau phản ứng được lọc thu hồi dịch và phân tích hàm lượng nito axit amin N_{aa} . Điều kiện phản ứng thích hợp được tìm ra bằng cách thực hiện thay đổi các điều kiện phản ứng đơn yếu tố. Hiệu suất thủy phân được đánh giá dựa trên tỷ lệ nito axit amin (N_{aa}) so với nito tổng số (Nts) có trong dịch đậm sau thủy phân.

a. Thí nghiệm 1: Khảo sát thành phần hoá của cơ chất dùng để thủy phân

Tiến hành phân tích các chỉ tiêu protein thô, hàm ẩm, lipid, tro, độ tươi TVB-N, tổng số vi sinh hiếu khí của nguyên liệu là phụ phẩm cá tra theo các phương pháp hiện hành trong mục 2.3.

b. Thí nghiệm 2: Khảo sát lựa chọn enzyme thích hợp

Thí nghiệm lựa chọn enzyme thủy phân phụ phẩm cá tra phù hợp được tiến hành với 4 enzyme Protease, Bromelain, Papain và SEB-Neutral PL với tỉ lệ E/S 0,3%, nhiệt độ 55°C, tỷ lệ nước bổ sung 20%, thời gian thủy phân 5 giờ. Sản phẩm sau thủy phân sẽ được phân tích các chỉ tiêu đạm tổng số, hàm lượng Naa, từ đó lựa chọn enzyme phù hợp.

c. Thí nghiệm 3: Khảo sát tỉ lệ enzyme/nguyên liệu

Thí nghiệm lựa chọn tỉ lệ enzyme/nguyên liệu được tiến hành với 7 công thức bổ sung bao gồm: 0%; 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%; 0,5% và 0,6%. Điều kiện thí nghiệm được thiết lập ở nhiệt độ 55°C, tỉ lệ nước bổ

sung 20%, thời gian thủy phân 5 giờ. Sản phẩm sau đó được lọc qua giấy lọc và phân tích các chỉ tiêu hoá học để lựa chọn nồng độ enzyme bổ sung thích hợp.

d. Thí nghiệm 4: Khảo sát nhiệt độ thủy phân thích hợp

Thí nghiệm lựa chọn nhiệt độ thủy phân thích hợp được tiến hành với 5 công thức bổ sung bao gồm: 45, 50, 55, 60 và 65°C. Điều kiện thí nghiệm được thiết lập ở tỉ lệ E/S 0,4%, tỉ lệ nước bổ sung 20%, thời gian thủy phân 5 giờ. Sản phẩm sau đó được lọc qua giấy lọc và phân tích các chỉ tiêu hoá học để lựa chọn nhiệt độ thủy phân thích hợp.

e. Thí nghiệm 5: Khảo sát tỉ lệ nước bổ sung thích hợp

Với các điều kiện tối ưu nhiệt độ 55°C, tỉ lệ E/S 0,4%, tiến hành thủy phân cơ chất với các tỉ lệ nước bổ sung sau: 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% trong 5 giờ. Sản phẩm sau đó được phân tích các chỉ tiêu protein tổng số, hàm lượng axit amin để đánh giá hiệu suất thủy phân, từ đó chọn ra tỉ lệ nước bổ sung thích hợp.

f. Tối ưu hóa điều kiện thủy phân phụ phẩm cá tra

Trên cơ sở các nghiên cứu sự ảnh hưởng của các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thủy phân phụ phẩm cá tra, tiến hành nghiên cứu thực nghiệm sự ảnh hưởng của các yếu tố: A - Thời gian thủy phân (h), B - Tỷ lệ E/S (%), C - Nhiệt độ (°C) tới quá trình thủy phân protein phụ phẩm cá tra theo quy hoạch thực nghiệm bậc hai Box-Behnken, hàm mục tiêu là tỷ lệ Naa/Nts (%). Khảo sát hoạt độ của các thí nghiệm khác nhau khi thay đổi đồng thời các yếu tố theo quy hoạch thực nghiệm Box-Behnken cho biết sự tương tác giữa các biến (yếu tố khảo sát) tới hàm mục tiêu (hiệu suất). Kết quả khảo sát được phần mềm DX phân tích và dự đoán phương án tối ưu nhất cho hiệu suất thủy phân phụ phẩm cá tra. Dựa trên khảo sát thực tế và phân tích của phần mềm để chọn phương án thực hiện khả thi nhất khi thủy phân phụ phẩm cá tra

2.3. Phương pháp phân tích

Các chỉ tiêu hóa học (hàm lượng nước, protein thô, nitơ axit amin (N_{aa}), nitơ bazơ bay hơi TVB-N) và tổng số vi sinh vật được phân tích theo các phương pháp TCVN: Phương pháp xác định protein thô (TCVN 3705:1990); phương pháp xác định hàm

lượng nitơ axit amin (TCVN 3708:1990); phương pháp xác định hàm lượng nước (TCVN 3700:1990); phương pháp xác định hàm lượng nitơ bazơ bay hơi (TCVN 9215:2012; phương pháp xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí (TCVN 5165: 1990/ TCVN 4884:2005).

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm đều tiến hành 3 lần, mỗi lần 3 mẫu và kết quả là trung bình cộng của các lần thí nghiệm. Xử lý số liệu thực nghiệm và vẽ đồ thị sử dụng phần mềm MS Excel 2007. Phân tích số liệu được thực hiện Design Expert (version 10).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chất lượng của phụ phẩm cá tra

Nguyên liệu trong nghiên cứu này bao gồm chủ yếu các phần đầu, xương, vây, vẩy là phần phế phụ phẩm trong chế biến cá tra phi lê đông lạnh. Đánh giá được chất lượng và đảm bảo độ tươi nguyên liệu là yêu cầu hàng đầu để kiểm soát chất lượng đầu vào của quá trình sản xuất (trong nghiên cứu này là quá trình thủy phân).

Bảng 1. Thành phần hóa học và vi sinh vật trong phế phụ phẩm phân tích

TT	Thành phần/ chỉ tiêu phân tích	Kết quả
1	Protein thô (%)	12,76 ± 0,48
2	Hàm ẩm (%)	59,27 ± 0,33
3	Lipid	21,19 ± 0,32
4	Tro	7,02 ± 0,24
5	TVB-N (mg/100 g)	13,45 ± 0,37
6	pH	6,41 ± 0,17
7	Nitơ axit amin (%)	0,07 ± 0,0028
8	Tổng VSV hiếu khí (CFU/g)	1,13 ± 0,18 x 10 ⁵

Kết quả phân tích hóa học và vi sinh vật nguyên liệu cho thấy: nguyên liệu có hàm lượng protein thô tương đối cao 12,76%, hàm ẩm 59,27% (Bảng 1) tương đồng với kết quả của các nghiên cứu trong nước trước đây đã công bố (Nguyễn Thị Lan Chi, 2009; Võ Đình Lệ Tâm, 2016). TVB-N (chỉ số đo độ tươi) đạt 13,45 (mg/100 g) cho thấy nguyên liệu có chất lượng tốt, thấp hơn nhiều so với giới hạn ≤ 35 mg/100 g; cho thấy nguyên liệu còn khá tươi, đảm bảo chất lượng phục vụ sản xuất nguyên liệu làm thức ăn chăn nuôi. Điều này có thể giải thích do nguồn phụ phẩm được cung cấp chủ yếu từ các nhà máy chế biến cá

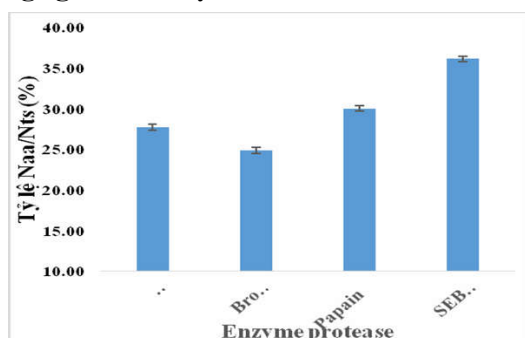
tra phile ngay trong khu công nghiệp, thời gian vận chuyển từ cơ sở sản xuất đến bãi tập kết của nguyên liệu trong khoảng 30-60 phút, phụ phẩm luôn đảm bảo độ tươi trước khi đưa vào sản xuất.

3.2. Xác định các điều kiện thủy phân phế phụ phẩm cá tra

3.2.1. Lựa chọn enzyme thủy phân hiệu quả

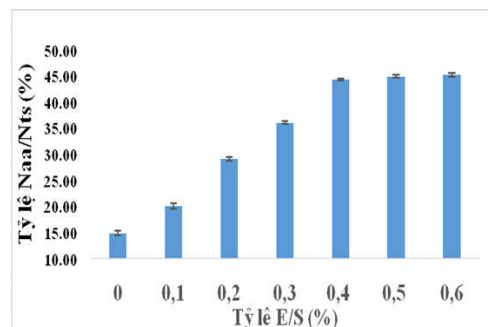
4 Enzyme (protease bromelain, papain, SEB-neutral PL) đã được lựa chọn để đánh giá hiệu quả thủy phân trên phế phụ phẩm cá tra, nhằm chọn ra enzyme phù hợp.

Trong cùng một điều kiện thủy phân (pH tự nhiên, nồng độ E/S, tỷ lệ nước bổ sung), sản phẩm dịch thủy phân bằng SEB-neutral PL có tỷ lệ Naa/Nts đạt được cao nhất ($36,12 \pm 0,31\%$), gấp hơn 1,4 lần so với dịch thủy phân sử dụng enzyme bromelin và gấp 1,3 lần so với protease hoặc papain đã sử dụng (Hình 2). Dựa vào kết quả thí nghiệm này, enzyme SEB-neutral PL đã được lựa chọn phù hợp để thủy phân hiệu quả phế phụ phẩm cá tra trong nghiên cứu này.



Hình 2. Ảnh hưởng của các enzyme đến chất lượng dịch thủy phân

3.2.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme/cơ chất



Hình 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme/cơ chất đến chất lượng dịch thủy phân

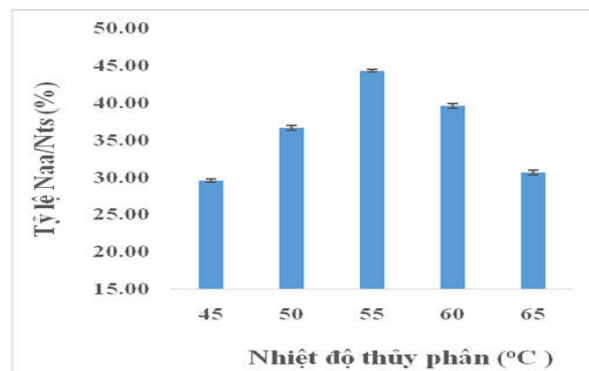
Kết quả khảo sát tỷ lệ enzyme so với nguyên liệu từ 0-0,6% được thể hiện trên hình 3. Kết quả phân tích (Hình 3) cho thấy hiệu suất thủy phân trong các thí nghiệm thủy phân thay đổi tăng theo tỷ lệ tăng dần nồng độ enzyme trong khoảng nồng độ lựa chọn để khảo sát (E/S = 0 - 0,6%).

Tỷ lệ Naa/Nts thấp nhất thu được ở công thức không bổ sung enzyme là $14,96 \pm 0,38\%$ và cao nhất ở công thức 0,6% là $45,22 \pm 0,32\%$. Tỷ lệ Naa/Nts ở các công thức bổ sung 0,1%, 0,2%, 0,3% và 0,4% lần lượt là $20,10 \pm 0,48\%$; $29,18 \pm 0,35\%$; $36,12 \pm 0,31\%$ và $44,32 \pm 0,16\%$. Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với Thái Văn Trọng (2014) khi sử dụng enzyme papain để thủy phân phụ phẩm cá tra, với tỉ lệ enzyme 0,4% ở thời gian thủy phân 4h. Do vậy, tỉ lệ E/S từ 0,3 - 0,5% có ảnh hưởng mạnh đến hiệu suất thủy phân sẽ được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.2.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân

Nhiệt độ là có yếu tố có ảnh hưởng lớn đến hiệu suất của phản ứng thủy phân. Thí nghiệm khảo sát điều kiện nhiệt độ 45- 65°C, kết quả phân tích được trình bày ở hình 4.

Kết quả nghiên cứu cho thấy hiệu suất thủy phân tỉ lệ thuận với mức gia tăng nhiệt độ thủy phân, và đạt cao ở mức nhất 55°C, tỷ lệ Naa/Nts là $44,32 \pm 0,16\%$ (Hình 4). Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ phản ứng lên 60 - 65°C thì hiệu suất thủy phân bị giảm xuống còn $39,65 \pm 0,33\%$ và $30,64 \pm 0,35\%$. Do vậy, với nhiệt độ thủy phân ở khoảng 50 - 60°C, hiệu suất thủy phân của enzyme trên cơ chất phế phụ phẩm cá tra đạt cao nhất, đây cũng là khoảng nhiệt độ có ảnh hưởng mạnh đến hiệu suất quá trình thủy phân. Do đó nhiệt độ 50 - 60°C được lựa chọn là điều kiện nhiệt độ cho các thí nghiệm tiếp theo.

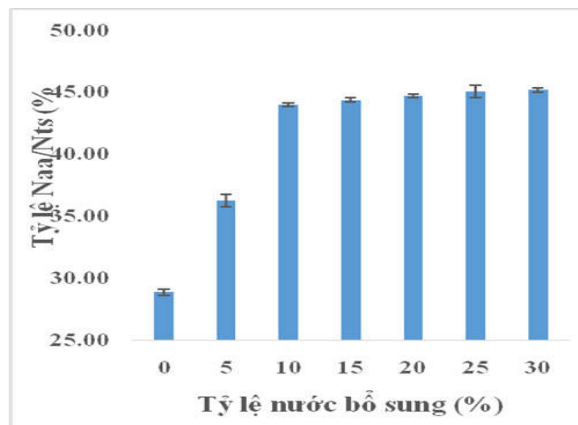


Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân đến chất lượng thủy phân

3.2.4. Xác định tỉ lệ nước bổ sung thích hợp

Lượng nước bổ sung có ảnh hưởng đến khả năng phân tán và hoạt động của enzyme khi tiếp xúc với cơ chất trong quá trình thủy phân. Hàm lượng nước bổ sung được khảo sát trong khoảng từ 0-30%, kết quả được thể hiện ở hình 5.

Từ hình 5 cho thấy được tỷ lệ Naa/Nts tăng dần theo lượng nước bổ sung từ $28,87 \pm 0,25\%$ đến $45,20 \pm 0,18\%$. Tỷ lệ Naa/Nts tăng nhanh khi tăng tỷ lệ nước bổ sung từ 0% đến 10%, ở 0% tỷ lệ Naa/Nts là $28,87 \pm 0,25\%$, ở 5% tỷ lệ Naa/Nts là $36,25 \pm 0,51\%$, ở 10% tỷ lệ Naa/Nts là $43,98 \pm 0,15\%$. Điều này có thể giải thích rằng khi tăng lượng nước lên thì enzyme được phân tán đều, tăng diện tích tiếp xúc của enzyme với nguyên liệu, từ đó tăng hiệu suất thủy phân của thí nghiệm. Còn từ 15% trở đi tỷ lệ Naa/Nts vẫn tăng nhưng tăng rất chậm. Đó là do dịch đậm thủy phân thu được loãng hơn, phần trăm lượng đậm Naa thấp đi nên tỷ lệ Naa/Nts tăng không đáng kể từ $39,60 \pm 0,31\%$ đến $40,46 \pm 0,21\%$.

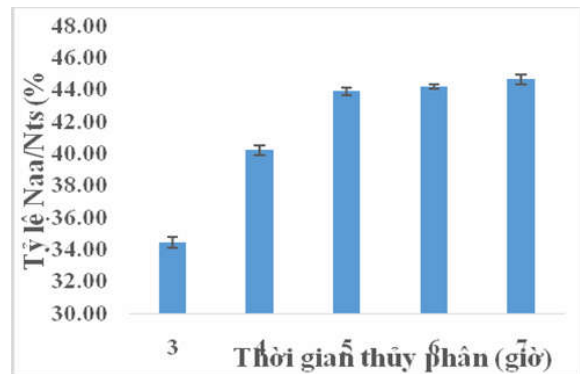


Hình 5. Ảnh hưởng của lượng nước bổ sung đến chất lượng dịch thủy phân

Tuy nhiên, khi xem xét về mục đích sử dụng dịch đậm sau khi thủy phân là bổ sung vào bột cá để tăng hàm lượng amin và chi phí năng lượng trong sản xuất thì bổ sung 10% là phù hợp. Do đó, dịch thủy phân được bổ sung 10% nước cho hiệu quả thủy phân tốt, đồng thời có hàm lượng Nts cao hơn.

3.2.5. Xác định thời gian thủy phân phù hợp

Để khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến quá trình thủy phân, tiến hành thủy phân trên 5 mẫu với các mức thời gian từ 3-7 giờ. Kết quả ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến chất lượng dịch thủy phân được thể hiện ở hình 6.



Hình 6. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân tới hiệu suất thủy phân

Từ hình 6 cho thấy hàm lượng Naa của dịch thủy phân tăng tỉ lệ thuận theo thời gian thủy phân. Kết quả nghiên cứu cho thấy từ 3 giờ đến 5 giờ tỷ lệ Naa/Nts trong dịch thủy phân tăng nhanh từ $34,44 \pm 0,34\%$ đến $43,90 \pm 0,26\%$. Công thức có thời gian thủy phân 7 giờ có tỷ lệ Naa/Nts đạt cao nhất, $44,65 \pm 0,30\%$, tiếp theo là công thức 6 giờ, $44,22 \pm 0,15\%$. Tuy nhiên sự khác biệt về tỷ lệ Naa/Nts giữa công thức thủy phân 7 giờ và 6 giờ là không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Liaset (2002) cũng chỉ ra rằng sự hòa tan nitơ dưới tác dụng của enzyme trong quá trình thủy phân tăng theo thời gian thủy phân. Theo Guerard và đồng tác giả (2002), sau một thời gian thủy phân nhất định, sự hình thành các sản phẩm thủy phân như các peptid, điều này làm hạn chế dần hoạt động của enzyme. Ngoài ra, sự giảm tốc độ thủy phân còn do sự giảm liên kết peptid trong quá trình thủy phân. Do đó, khoảng thời gian thủy phân thích hợp có ảnh hưởng mạnh đến hàm lượng Naa là 4-6 giờ được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Tối ưu hóa quá trình thủy phân phụ phẩm cá tra bằng enzyme Seb-Neutral PL

Tiến hành tối ưu hóa điều kiện thủy phân phụ phẩm cá tra bằng enzyme SEB-Neutral PL trên mô hình thực nghiệm với sự ảnh hưởng của các yếu tố: A - Thời gian thủy phân 4-6 (h), B - Tỷ lệ E/S 0,3-0,5%, C- Nhiệt độ 50-60 ($^{\circ}\text{C}$) tới quá trình thủy phân protein phụ phẩm cá tra theo quy hoạch thực nghiệm bậc hai Box-Behnken. Kết quả phân tích ANOVA của mô hình được thể hiện trong bảng 2.

Kết quả phân tích phương sai của mô hình trong bảng 2 (ANOVA) cho thấy sự ảnh hưởng tương đối của các yếu tố đến tỷ lệ Naa/Nts, tỷ lệ E/S là yếu tố

ảnh hưởng mạnh nhất đến quá trình thủy phân phụ phẩm cá tra, tiếp đến là thời gian thủy phân và nhiệt độ ít ảnh hưởng hơn. Kết quả phân tích cũng cho thấy sự tương tác giữa các yếu tố ít ảnh hưởng tới tỷ lệ Naa/Nts. Giá trị F của mô hình là 155,85 với $p < 0,0001$ ($p < 0,05$) cho thấy mô hình đã chọn có ý nghĩa. Giá trị độ không tương thích của mô hình với thực

thực nghiệm là 3,72 với $p=0,2190$ cho thấy mô hình đã chọn là phù hợp khi tiến hành thực nghiệm. Phương trình hồi quy biểu diễn sự phụ thuộc của quá trình thủy phân phụ phẩm cá tra vào các biến A - Tỷ lệ E/S, B - Nhiệt độ, C - Thời gian thủy phân và sự tương tác của chúng.

Bảng 2. Phân tích phương sai ANOVA của mô hình

Nhân tố	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	Tỷ số F	Giá trị P ($P < 0,05$)	
Mô hình	390,41	9	43,38	155,85	$< 0,0001$	Có ý nghĩa
A-Tỷ lệ E/S	116,13	1	116,13	417,24	$< 0,0001$	
B-Nhiệt độ	24,12	1	24,12	86,65	0,0002	
C-Thời gian	70,27	1	70,27	252,47	$< 0,0001$	
AB	4,82	1	4,82	17,31	0,0088	
AC	5,45	1	5,45	19,59	0,0069	
BC	4,67	1	4,67	16,76	0,0094	
A ²	58,95	1	58,95	211,81	$< 0,0001$	
B ²	112,44	1	112,44	403,98	$< 0,0001$	
C ²	12,68	1	12,68	45,57	0,0011	
Phần dư	1,39	5	0,2783			
Độ không tương thích	1,18	3	0,3934	3,72	0,2190	Không ý nghĩa
Độ sai lệch chuẩn	0,2115	2	0,1057			
R ² : 0,9964			Dự đoán R ² : 0,9506			

Sau khi tiến hành kiểm định ý nghĩa của các hệ số và kiểm định tính phù hợp của mô hình, kết quả nghiên cứu cho thấy mô hình hồi quy là phù hợp. Về ý nghĩa của các hệ số, hệ số của AB, AC và BC: A², B² và C² đều có $p < 0,05$ nên hệ số này có ý nghĩa và tồn tại trong phương trình hồi quy. Kết quả nghiên cứu xác định mô hình hồi quy thể hiện mối quan hệ liên quan giữa hàm mục tiêu Naa/Nts và các yếu tố nhiệt độ, tỷ lệ E/S, thời gian thủy phân được thể hiện theo phương trình hồi quy tuyến tính sau:

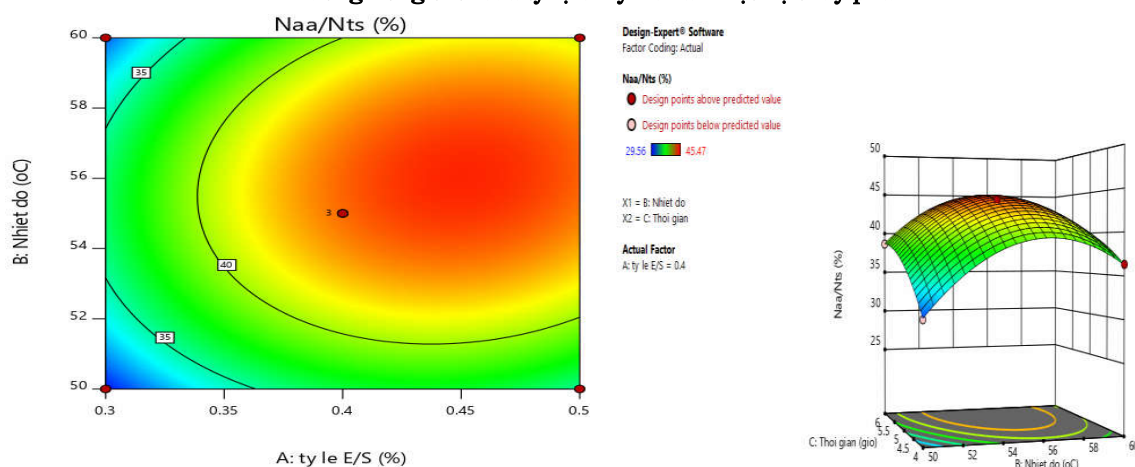
$$\text{Tỷ lệ Naa/Nts} = 43,79 + 3,81 \cdot A + 1,74 \cdot B + 2,96 \cdot C + 1,10 \cdot AB + 1,17 \cdot AC - 1,08 \cdot BC - 4,00 \cdot A^2 - 5,52 \cdot B^2 - 1,85 \cdot C^2. \quad (1)$$

Theo phương trình hồi quy (1), nhận thấy các hệ số b_1 , b_2 , b_3 của phương trình đều dương (+) và cho thấy trong vùng quy hoạch hiệu suất và kết quả thủy phân thể hiện qua tỷ lệ Naa/Nts luôn tỷ lệ thuận với các yếu tố của quá trình thủy phân đã sử dụng trong quy hoạch thực nghiệm, đó là ảnh hưởng của tỷ lệ E/S, nhiệt độ và thời gian. Độ lớn của các hệ số trong phương trình thể hiện mức độ

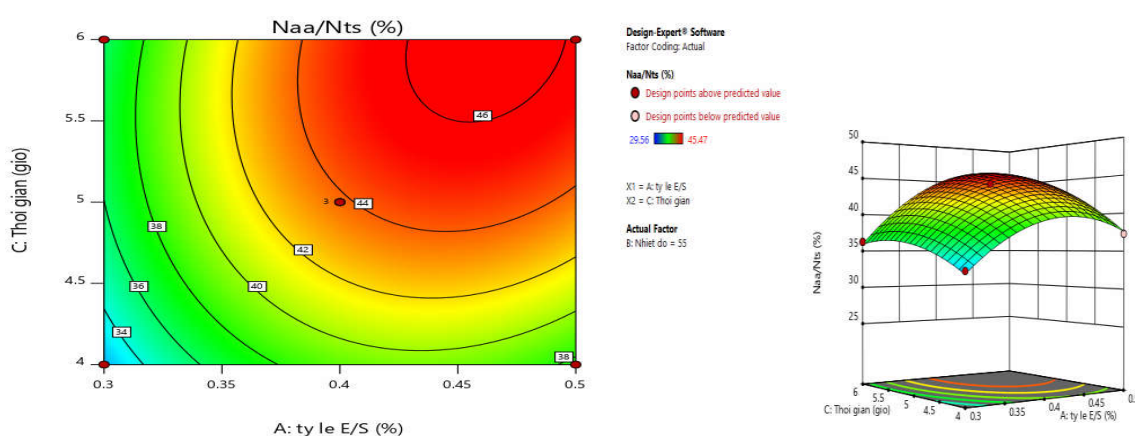
ảnh hưởng của các yếu tố đến hàm mục tiêu Naa/Nts của dịch đậm thủy phân. Vì $|b_1| > |b_3| > |b_2|$. Nên yếu tố tỷ lệ E/S có ảnh hưởng nhiều nhất sau đó đến thời gian và nhiệt độ. Kết quả này cũng phù hợp với đặc tính của các phản ứng thủy phân do enzyme tác động là tỷ lệ enzyme cơ chất luôn ảnh hưởng lớn đến tốc độ của phản ứng thủy phân. Hệ số b_1^2 , b_2^2 , b_3^2 , đều mang dấu âm (-) điều này chứng tỏ đồ thị là những mặt parabol có bề mặt lõm quay xuống và có điểm cực trị.

Hệ số b_{12} , b_{13} , của phương trình (1) mang dấu dương (+) chứng tỏ trong vùng quy hoạch tương tác giữa nhiệt độ và thời gian thủy phân với tỷ lệ E/S là mối tương quan thuận làm tăng tỷ lệ Naa/Nts. Đối với hệ số b_{23} của phương trình (1) mang dấu âm (-), chứng tỏ trong vùng quy hoạch tương tác giữa nhiệt độ và thời gian thủy phân là mối tương quan nghịch làm giảm tỷ lệ Naa/Nts. Kết quả này phù hợp với đặc tính của enzyme là trong điều kiện nhiệt độ cao và thời gian tác động dài enzyme có thể kém bền dẫn tới hoạt động thủy phân giảm.

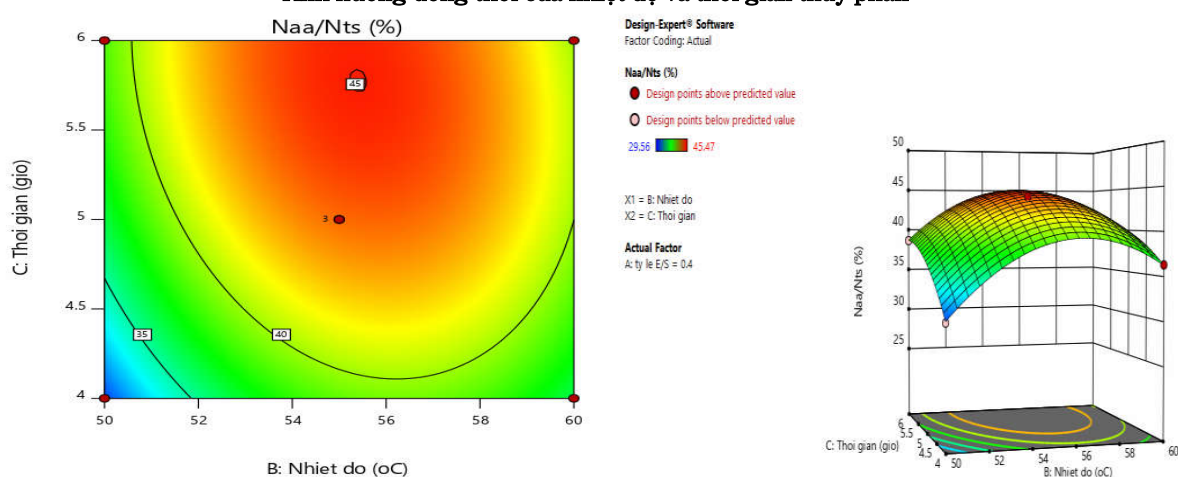
Ảnh hưởng đồng thời của tỷ lệ enzyme và nhiệt độ thủy phân



Ảnh hưởng đồng thời của tỷ lệ enzyme và thời gian thủy phân



Ảnh hưởng đồng thời của nhiệt độ và thời gian thủy phân



Hình 7. Đồ thị biểu diễn mức độ tương quan của các yếu tố đến hàm mục tiêu trong mô hình thực nghiệm

Từ kết quả dự đoán theo mô hình Box - Behnken lựa chọn kết quả tăng đậm cao nhất làm kiểm chứng.

Thông số thí nghiệm tiên đoán là: Tỷ lệ E/S 0,48%, nhiệt độ 56,52°C thời gian thủy phân là 5,77 giờ.

Bảng 3. Kết quả thí nghiệm tiên đoán và thực nghiệm

Điểm tiên đoán	Tỷ lệ E/S (%)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian thủy phân (h)	Tỷ lệ Naa/Nts (%)
Điểm tiên đoán	0,48	56,52	5,77	46,25
Thực nghiệm	0,48	57	6	46,08 ± 0,31

Kết quả thực hiện có sự sai khác không đáng kể so với mô hình. Do đó, điều kiện tối ưu cho quá trình thủy phân phụ phẩm cá tra là tỷ lệ nước 10% so với nguyên liệu, tỷ lệ enzyme SEB-Neutral PL 0,48% so với nguyên liệu phụ phẩm cá tra, nhiệt độ 57°C thời gian thủy phân là 6 giờ.

Bảng 4. Chất lượng dịch thủy phân từ phụ phẩm cá tra

TT	Chỉ tiêu	Kết quả
1	Nitơ tổng số (g/L)	26,94 ± 0,16
2	Nitơ axit amin (g/l)	12,41 ± 0,08
3	Tỷ lệ Naa/Nts (%)	46,08 ± 0,31
4	TBV-N (mg/100 g)	42,73 ± 0,63
5	Lipit (%)	2,6 ± 0,02
6	<i>E. coli</i>	Không có trong 1 g
7	Samonella	Không có trong 25 g
8	Cảm quan • Màu sắc: Màu nâu đậm • Mùi: mùi thơm đặc trưng của dịch thủy phân protein cá, không có mùi lạ.	

Kết quả đánh giá ở bảng 4 cho thấy hàm lượng nitơ tổng số cho thấy dịch đậm thủy phân cá tra còn có hàm lượng nitơ tổng số đạt 26,94 g/L, hàm lượng axit amin 12,41 g/L, chiếm 46,08% so với nitơ tổng. Sản phẩm dịch thủy phân cá tra là nguồn dinh dưỡng chất lượng cao, thích hợp dùng trong việc bổ sung vào công thức thức ăn (tăng hàm lượng đạm acid amin, tăng mùi vị hấp dẫn). Dịch thủy phân có màu nâu đỏ đặc trưng, mùi thơm, độ hấp dẫn của dịch đậm cá. Các chỉ tiêu an toàn chất lượng của dịch đậm thủy phân từ phụ phẩm cá tra đạt theo quy định hiện hành QCVN 01 - 190: 2020/BNNPTNT. Dịch thủy phân cá tra hoàn toàn có thể được sử dụng để bổ sung vào bột cá nhằm tăng hàm lượng amin trong sản phẩm giúp cải thiện hệ số tiêu hóa của bột cá thành phẩm, hoặc sử dụng như một dạng chất dẫn dụ trong sản xuất thức ăn nuôi thủy sản.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phân tích, đánh giá chất lượng của phụ phẩm cá tra và lựa chọn được enzyme thích hợp cho quá trình thủy phân phụ phẩm cá tra là

enzyme EB-Neutral BL. Đã xác định các khoảng giá trị có ảnh hưởng mạnh đến hàm lượng acid amin trong dịch đậm như tỷ lệ enzyme bổ sung so với cơ chất (0,3%-0,5%), thời gian thủy phân (4-6 giờ), nhiệt độ thủy phân (50-60 °C), lượng nước bổ sung 10%.

Đã tối ưu được điều kiện thủy phân phụ phẩm cá tra bằng enzyme SEB-Neutral PL với tỷ lệ nước 10%, tỷ lệ enzyme SEB-Neutral PL 0,48% so với nguyên liệu phụ phẩm cá tra, nhiệt độ 57°C thời gian thủy phân là 6 giờ. Dịch đậm thủy phân có hàm lượng nitơ tổng số đạt 26,94 g/L, hàm lượng axit amin 12,41 g/L, chiếm 46,08% so với nitơ tổng. Chất lượng của sản phẩm dịch đậm thủy phân này có thể dùng làm nguyên liệu đầu vào cho sản xuất bột cá tra có độ tiêu hóa cao phù hợp cho sản xuất thức ăn chăn nuôi.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Bộ Khoa học và Công nghệ đã cho phép Công ty Cổ phần Đầu tư du lịch và Phát triển thủy sản triển khai thực hiện Dự án “Hoàn thiện công nghệ và thiết bị sản xuất bột cá và bột nêm từ phụ phẩm cá tra” – mã số ĐM.49.DN20.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bagus Sediadi Bandol Utomo, Theresia Dwi Suryaningrum and Herbert R. Harianto (2014). Optimization of enzymatic hydrolysis of fish protein hydrolysate (fph) processing from waste of catfish fillet production. Squalen Bulletin of Marine & Fisheries Postharvest & Biotechnology, 9 (3), 2014, 115-126.
2. Chalamaiah, M., Kumar, B. D., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. Food Chemistry (Birch ed.), 135(4), 3020–3038.
3. Einarsson, M. I., Jokumsen, A., Bk, A. M., Jacobsen, C., Pedersen, S. A., Samuelsen, T. A., Palsson, J., Eliassen, O. and Flesland, O. (2019). Nordic Centre of Excellence Network in Fishmeal and Fish oil. Matis rapport.

4. Nguyễn Thị Lan Chi, Bùi Thị Hồng Khanh, Vũ Hồng Thiên (2009). Nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ sản xuất bột canxi thực phẩm từ phụ phẩm xương cá tra. Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản II.
5. Pigott, G. M. & Tucker, B. W. (1990). Utility Fish Flesh Effectively While Maintaining Nutritional Qualities. Seafood Effects of Technology and Nutrition. Marcel Decker, Inc., New York.
6. Thái Văn Trọng (2014). Thủy phân protein từ phụ phẩm cá tra bằng enzyme papain. Luận văn tốt nghiệp. Trường Đại học Cần Thơ.
7. Võ Đình Lệ Tâm, Nguyễn Thị Hương Thảo, Phan Văn Dự, Nguyễn Đỗ Minh Huy, Trần Quang Huy (2016). Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của dịch thủy phân từ phụ phẩm cá tra sử dụng chế phẩm Alcalase® 2.4L FG ứng dụng như một chất kháng oxy hóa tự nhiên. Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ số 19.
8. Wangkheirakpam, M., Mahanand, S., Majumdar, R., Sharma, S., Hidangmayum, D. and Netam, S. (2019). Fish waste Utilization with Reference to Fish Protein Hydrolysate—A Review. Fishery Technology 56: 169-178.
9. <http://vasep.com.vn/san-pham-xuat-khau/ca-tra/tong-quan-nganh-ca-tra>

STUDY OF ENZYMATIC HYDROLYSIS FROM CATFISH BY-PRODUCTS AS FEED STUFF INGREDIENTS

Bui Thi Thu Hien^{1*}, Tran Thi Huong¹, Le Anh Tung¹,
Pham Thi Diem¹, Le Xuan Que², Dao Van Hao², Truong Vinh Thanh²

¹Research Institute for Marine Fisheries

²Travel Investment & Seafood Development Corporation

Summary

The fish waste derived - protein hydrolysate have been increasingly concerned as an excellent but cheap source of bioactive peptides and amino acids in feed production. In the present study, a technological procedure for production of protein hydrolysate by the enzymatic hydrolysis of the waste of catfish (*Pangasius hypophthalmus*) in the industrial fillet processing have been investigated. Among three well-known sources of commercial enzyme including bromelain, papain and SEB-neutral PL, the last one has shown the most effective activity on the hydrolytic process. In the optimal conditions (enzyme/protein substrate ratio of 0.46% (w/w), natural pH, 56°C, 5.5 hours of hydrolysis), hydrolysate were generated at high level of nitrogen recovery. Pangasius hydrolyzed protein solution product with Nts content 26.90 ± 0.14 g/l, Naa content 12.30 ± 0.04 g/l will be a suitable source of raw materials for aquatic feed production products in terms of ease of digestion and absorption.

Keywords: Protein, hydrolysis, by-products, catfish.

Người phản biện: TS. Trần Thị Mai

Ngày nhận bài: 13/4/2021

Ngày thông qua phản biện: 13/5/2021

Ngày duyệt đăng: 20/5/2021