



DOI:10.22144/ctu.jvn.2020.065

NGHIÊN CỨU THỦY PHÂN PROTEIN TỪ THỊT CÁ TRA (*Pangasianodon hypophthalmus*) BẰNG ENZYME THƯƠNG PHẨM VÀ ỨNG DỤNG CHẾ BIẾN BỘT NÊM

Trương Thị Mộng Thu* và Lê Thị Minh Thủy

Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ, Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Trương Thị Mộng Thu (email: tmthu@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 28/02/2020

Ngày nhận bài sửa: 27/04/2020

Ngày duyệt đăng: 29/06/2020

Title:

Hydrolysis for fish seasoning powder product from Tra catfish flesh (*Pangasianodon hypophthalmus*) by using alcalase and flavourzyme enzyme mixture

Từ khóa:

Alcalase và flavourzyme, bột nêm, cá tra, dịch đậm, mía

Keywords:

Alcalase and flavourzyme, fish protein hydrolysate, fish seasoning powder, sugarcane, Tra catfish flesh

ABSTRACT

Fish protein hydrolysate was produced from Tra catfish flesh by using alcalase and flavourzyme enzyme mixture at pH 6.5 -7.0, hydrolysis temperature 55°C and an alcalase and flavourzyme ratio of 1:3. The result showed that the optimal hydrolysis condition as the ratio between enzyme mixture to fish flesh and hydrolysis time was 0.2% (v/w) and 26 hours. Peptide content, nitrogen amino acid content, and NH₃-N in obtained fish protein hydrolysate were 21.1 g/L, 10.2 g/L and 0.472 g/L. Fish seasoning powder was produced by mixing fish protein hydrolysate and sugarcane juice at the ratio of sugarcane juice: fish protein hydrolysate of 20%: 45% (w/w). Sensory score, protein content, moisture content and recovery yield in fish seasoning powder were 18.2, 17.6%, 4.27% and 39.7%. The product still remained good sensory quality, moisture content, and total aerobic bacteria in acceptable level after four weeks of storage at room temperature.

TÓM TẮT

Dịch đậm thủy phân đã được sản xuất từ fillet cá tra bằng hỗn hợp enzyme alcalase và flavourzyme ở pH 6.5 -7.0, với nhiệt độ thủy phân là 55°C và tỷ lệ alcalase và flavourzyme là 1:3. Kết quả nghiên cứu cho thấy điều kiện thủy phân thích hợp là tỷ lệ hỗn hợp enzyme so với thịt cá là 0,2% (v/w) và thời gian thủy phân 26 giờ. Dịch thủy phân thu được có hàm lượng peptide và hàm lượng amino acid cao nhất lần lượt là 21,1 g/L và 10,2 g/L, hàm lượng NH₃-N thấp là 0,472 g/L. Bột nêm thu được có chất lượng cảm quan tốt nhất theo phương pháp cho điểm đạt 18,2; hàm lượng protein là 17,6%; hàm lượng ẩm thấp là 4,27%; hiệu suất thu hồi cao đạt 39,7% khi phối trộn dịch thủy phân với dịch mía theo tỷ lệ dịch mía: dịch đậm là 20%:45% (w/w), sấy ở 60°C trong 72 giờ. Sản phẩm vẫn đảm bảo chất lượng cảm quan tốt, độ ẩm và vi sinh nằm trong giới hạn cho phép sau 4 tuần bảo quản ở nhiệt độ phòng.

Trích dẫn: Trương Thị Mộng Thu và Lê Thị Minh Thủy, 2020. Nghiên cứu thủy phân protein từ thịt cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) bằng enzyme thương phẩm và ứng dụng chế biến bột nêm. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(3B): 160-167.

1 GIỚI THIỆU

Cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) với thành phần dinh dưỡng và sản lượng cao là một trong những loài thủy sản xuất khẩu phổ biến ở nước ta. Men *et al.* (2005) đã đánh giá sự đa dạng sinh học và giá trị dinh dưỡng của cá tra cho thấy cá tra có hàm lượng đạm từ 16,1 đến 17,5% (khối lượng tươi), hàm lượng 11 loại amino acid và thành phần acid béo cũng đã được xác định. Bên cạnh đó, cá tra fillet vùng Đồng bằng Sông Cửu Long có chất lượng thịt thơm ngon, cấu trúc cơ thịt chắc, hàm lượng cholesterol thấp. Tuy nhiên, cá tra được chế biến đông lạnh và xuất khẩu chủ yếu là dạng thô như cá tra fillet, cá tra nguyên con, cá tra cắt khúc, chưa đem lại hiệu quả kinh tế cao (Nguyễn Văn Mười và Trần Thanh Trúc, 2006). Vì vậy, nghiên cứu nhằm đa dạng hóa các sản phẩm từ cá tra, góp phần nâng cao giá trị nguồn nguyên liệu và mang lại thu nhập cao cho người nuôi là rất cần thiết.

Việc sử dụng enzyme thương mại để thủy phân fillet cá tra nhằm nâng cao hiệu quả kinh tế và đa dạng hóa các sản phẩm từ loài cá này đã và đang được xem là một trong những phương pháp hiệu quả nhất. Các enzyme thủy phân được sử dụng phổ biến trong các nghiên cứu thủy phân bằng enzyme là alcalase, flavourzyme, neutrase, protamex và kojizyme (Nguyen *et al.*, 2011). Alcalase có hoạt tính endopeptidase có nguồn gốc từ vi khuẩn *Bacillus licheniformis* (Liaset *et al.*, 2002), nhờ vào hoạt tính endopeptidase của alcalase thủy phân liên kết peptide chủ yếu tại các nhóm -COOH kỵ nước bên trong phân tử protein (Chiang *et al.*, 2019). Flavourzyme có cả hoạt tính endopeptidase và exopeptidase nhưng chủ yếu là exopeptidase, có nguồn gốc từ *Aspergillus oryzae* (Kamnerdpetch *et al.*, 2007). Nhờ vào hoạt tính exopeptidase của flavourzyme, thủy phân từ đầu-C hoặc đầu-N của các amino acid kỵ nước cuối cùng của phân tử protein dẫn đến giảm vị đắng của dịch đậm thu được (Chiang *et al.*, 2019). Vì vậy, Trần Kiều Anh và *ctv.* (2017) đã nghiên cứu các điều kiện thủy phân phụ phẩm cá hồi (*Salmo salar*) nhằm thu nhận dịch đậm thủy phân chứa peptide mạch ngắn có hoạt tính chống oxy hóa bằng enzyme alcalase. Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn (2017) đã nghiên cứu ứng dụng hỗn hợp alcalase và flavourzyme để thủy phân cá nục gai (*Decapterus russelli*) thu hồi dịch đậm thủy phân. Bên cạnh đó, Trần Thị Bích Thủy và Đỗ Thị Thanh Thủy (2016) cũng đã nghiên cứu ứng dụng enzyme protamex để thủy phân cá trích thu hồi dịch đậm thủy phân. Thu hồi dịch đậm thủy phân là cơ sở quan trọng để tiếp tục phát triển sản

xuất ra nhiều dòng sản phẩm giá trị gia tăng như các loại nước chấm cao cấp, bổ sung dinh dưỡng cho nhiều loại thực phẩm, ứng dụng trong nông học, y dược (Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn, 2017).

Bột nêm được sản xuất chủ yếu từ thịt heo và nấm (Phạm Thị Đan Phượng, 2013). Bột nêm sản xuất từ dịch đậm thu được từ quá trình thủy phân nguyên liệu và phụ phẩm thủy sản là sản phẩm khá mới ở nước ta hiện nay. Trước đây, Phạm Thị Đan Phượng (2013) đã nghiên cứu chế biến bột nêm tôm đạt tiêu chuẩn của bột canh theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7396:2004 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2004) từ chế phẩm đậm giàu carotenoid thu nhận từ đầu tôm thẻ chân trắng bằng hỗn hợp enzyme alcalase và flavourzyme. Bên cạnh đó, mía được sử dụng trong thực phẩm để tạo vị ngọt, mía còn cung cấp sắt và vitamin A, C, B₁, B₂, B₃, B₅, B₆ cùng khá nhiều các phytonutrient, chất chống oxy hóa, protein và chất xơ hòa tan khác cần thiết cho cơ thể (Thái Văn Đức, 2011). Chính vì vậy, việc nghiên cứu thủy phân protein từ thịt cá tra bằng enzyme thương phẩm và ứng dụng chế biến bột nêm được thực hiện nhằm khảo sát các yếu tố ảnh hưởng trong quá trình thủy phân và tỷ lệ phối trộn dịch mía với dịch đậm. Từ đó, đưa ra thông số thích hợp để xây dựng công thức tạo sản phẩm bột nêm có giá trị dinh dưỡng cao, góp phần đa dạng hóa sản phẩm và nâng cao giá trị nguyên liệu cá tra.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Nguyên liệu chính là cá tra với khối lượng 1,3-1,5 kg/con và các nguyên liệu phụ khác như mía, bột bắp Miezana gói 150 g và các gia vị dùng trong thí nghiệm được mua ở chợ Tân An (Thành phố Cần Thơ). Maltodextrin công nghiệp được mua tại Công ty TNHH Hóa Chất Bách Khoa (Thành phố Hồ Chí Minh). Alcalase và flavourzyme là các enzyme protease được sản xuất bởi Công ty Novozyme, Đan Mạch. Enzyme alcalase có hoạt độ là 2,4 AU (Anson Units)/g, điều kiện hoạt động thích hợp là nhiệt độ 55÷70°C, pH = 6,5÷8,5. Enzyme flavourzyme có hoạt độ là 500 LAPU (Leucine Aminopeptidase Units)/g, điều kiện hoạt động thích hợp là 50÷55°C, pH = 5,0÷7,0.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Cách chuẩn bị mẫu

Cá sau khi mua về được để ổn định trong bể nước sạch khoảng 30 phút, sau đó cắt tiết, xả máu, fillet, lạng da và loại mỡ, thịt đỏ, rửa sạch. Miếng fillet

được cắt nhỏ, xay thô 10 giây (100 g/lần) trước khi tiến hành thí nghiệm. Sử dụng đầu xay thịt của máy xay sinh tố Bluestone BLB-5329, xay ở mức cao nhất của máy (mức 2).

2.2.2 *Xác định thành phần hóa lý của nguyên liệu ban đầu*

Nguyên liệu cá tra được xử lý theo mục 2.2.1 được xay nhuyễn và tiến hành phân tích thành phần hóa lý như độ ẩm, protein, lipid và khoáng.

2.2.3 *Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ hỗn hợp enzyme alcalase và flavourzyme so với thịt cá và thời gian thủy phân đến chất lượng dịch đậm*

Thịt cá tra được xử lý theo mục 2.2.1. Thịt cá sau khi xay được thủy phân theo phương pháp của Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn (2017) có điều chỉnh cho phù hợp với điều kiện thí nghiệm. Thí nghiệm được thực hiện với 2 nhân tố (tỷ lệ hỗn hợp enzyme alcalase và flavourzyme so với thịt cá là 0,2; 0,3 và 0,4% (v/w) và thời gian thủy phân 20 giờ, 26 giờ). Tổng cộng có 6 nghiệm thức, 3 lần lặp lại, tổng số mẫu thí nghiệm là 18, khối lượng mỗi mẫu là 30 g thịt cá tra. Sử dụng ethanol như chất phòng thối trong quá trình thủy phân theo nghiên cứu của Lý Thị Minh Phương (2011). Tỷ lệ thịt cá tra:nước:ethanol 35° là 1:0,8:0,2. Cho enzyme vào nước cất và ethanol 35°, lắc đều trước khi cho dung dịch enzyme vào thịt cá xay nhằm tạo điều kiện cho enzyme tiếp xúc đều với cơ chất.

Tiến hành thủy phân ở điều kiện pH 6,5-7,0, nhiệt độ 55°C (dựa trên nhiệt độ hoạt động của enzyme alcalase là 55÷70°C và flavourzyme là 50÷55°C) và tỷ lệ giữa alcalase và flavourzyme là 1:3 theo nghiên cứu của Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn (2017). Sau khi thủy phân xong bất hoạt enzyme ở nhiệt độ 95°C trong 15 phút, lọc bằng rây để loại tạp chất, thu được dịch đậm. Tỷ lệ hỗn hợp enzyme alcalase và flavourzyme so với thịt cá và thời gian thủy phân được chọn thích hợp để hàm lượng peptide, hàm lượng amino acid cao và NH₃-N thấp.

2.2.4 *Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của việc phối trộn dịch mía vào dịch đậm đến giá trị cảm quan và thành phần dinh dưỡng của bột nêm thành phẩm*

Dịch đậm thu được từ kết quả thí nghiệm 1 được phối trộn với dịch mía với tỷ lệ dịch mía: dịch đậm thay đổi lần lượt là 20%:45%, 25%:40%, 30%:35%, 35%:30% (w/w) so với 30 g hỗn hợp (gồm 65% dịch mía:dịch đậm và 35% gia vị, phụ gia). Tổng cộng có

4 nghiệm thức, 3 lần lặp lại, tổng số mẫu thí nghiệm là 12 và khối lượng mỗi mẫu là 30 g hỗn hợp.

Dịch nước mía có 20,8 °Brix được tiến hành phối trộn vào dịch đậm với dịch mía:dịch đậm theo các tỷ lệ bố trí thí nghiệm. Tỷ lệ (w/w) gia vị cố định tính trên 30 g hỗn hợp: 5,5% muối, 0,5% bột ngọt, 15% bột bắp, 1% tiêu, 3% củ hành, 10% maltodextrin được bổ sung theo nghiên cứu của Đỗ Trọng Sơn (2012). Trộn hỗn hợp thật kỹ, trải giấy bạc lên khay inox (20 x 30 cm), dàn đều 30 g hỗn hợp lên khay và sấy ở 60°C trong 72 giờ bằng thiết bị sấy đối lưu tự nhiên ED 400 Binder (Đức). Sau đó xay mịn thu được bột nêm. Tỷ lệ dịch mía: dịch đậm được chọn thích hợp để giá trị cảm quan, hiệu suất thu hồi, hàm lượng protein cao và độ ẩm bột nêm thấp.

2.2.5 *Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian bảo quản ở nhiệt độ phòng đến chất lượng bột nêm thành phẩm*

Bột nêm thu được từ thí nghiệm 2, xay mịn cho vào túi PA (30 g/túi) hút chân không, sau đó tiến hành bảo quản ở nhiệt độ phòng trong 4 tuần (0, 1, 2, 3 và 4 tuần). Thí nghiệm được thực hiện với một nhân tố (thời gian bảo quản), 5 nghiệm thức, 3 lần lặp lại và tổng số mẫu thí nghiệm là 15, khối lượng mỗi mẫu thí nghiệm là 30 g bột nêm/túi. Bột nêm thành phẩm được đánh giá cảm quan, độ ẩm và tổng số vi khuẩn hiếu khí mỗi tuần để xác định thời gian bảo quản thích hợp nhất.

2.3 Phương pháp phân tích

Thành phần hóa học của nguyên liệu thịt cá tra và bột nêm thành phẩm được xác định theo AOAC (2016), cụ thể hàm lượng ẩm bằng phương pháp sấy, lipid thô bằng phương pháp Soxhlet, tro bằng phương pháp nung, protein tổng số bằng phương pháp Kjeldahl.

Đánh giá cảm quan bằng phép thử mô tả và phương pháp cho điểm dựa trên các chỉ tiêu màu sắc, mùi, vị và trạng thái được mô tả thang điểm cảm quan cho sản phẩm được xây dựng theo bảng cơ sở đánh giá cảm quan cho thực phẩm của TCVN 3215-79 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 1979), xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN-5165-1990 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 1990), giới hạn cho phép theo quy định của Bộ Y Tế (2007). Xác định hàm lượng amino acid theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3708:1990 và hàm lượng NH₃-N theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3706:1990 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 1990).

Xác định hiệu suất thu hồi của sản phẩm bằng công thức $H = \frac{Y}{X} \times 100\%$. Trong đó, Y (g) là khối lượng bột nếm thu được sau sấy; X (g) là khối lượng mẫu đem thủy phân.

Hàm lượng peptide: Chuẩn bị mẫu theo phương pháp của Hultmann *et al.*, (2012) có điều chỉnh. Cho 1,2 mL dung dịch đệm có pH 5,5 vào ống nghiệm, cho tiếp 0,8 mL dịch đậm (mẫu sau khi lọc), lắc đều, cho thêm 2 mL trichloroacetic acid (TCA 5%), lắc đều để yên 30 phút, sau đó lọc bỏ kết tủa thu phần dịch lọc. Hàm lượng peptide có trong dịch lọc được đo bằng phương pháp của Lowry *et al.*, (1951). Hút 0,5 mL dịch lọc cho vào ống nghiệm, cho tiếp 2,5 mL dung dịch D (1 mL dung dịch CuSO₄ 1%, 1 mL dung dịch Potassium Sodium Tartrate (KNaC₄H₄O₆.4H₂O) 2%, 100 mL Na₂CO₃ 2% trong NaOH 0,1 M), lắc đều để yên 10 phút, cuối cùng cho thêm 0,25 mL dung dịch Folin 1 N (tỷ lệ Folin: nước là 1:2), lắc đều để yên 30 phút tiến hành đo màu quang phổ với bước sóng 750 nm.

2.4 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được tính trung bình, độ lệch

Bảng 1: Thành phần hóa học của thịt cá tra

Chỉ tiêu	Âm độ (%)	Khoáng (%)	Protein (%)	Lipid (%)	pH
Hàm lượng ¹	78,7±0,484	0,76±0,020	17,1±0,221	2,38±0,241	6,78±0,23

¹Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, n=3

3.2 Ảnh hưởng của tỷ lệ hỗn hợp enzyme so với thịt cá và thời gian thủy phân đến hàm lượng peptide, amino acid và NH₃-N của dịch đậm

Dịch đậm thủy phân có giá trị dinh dưỡng cao, giàu amino acid không thay thế chiếm khoảng 51% trên tổng lượng amino acid (Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn, 2017). Trong các thông số sinh hóa của quá trình thủy phân, hàm lượng peptide và amino acid là những thông số quan trọng vì nó trực tiếp ảnh hưởng đến giá trị dinh dưỡng và các tính

chất sử dụng chương trình Microsoft Excel 2010. Sự khác biệt của các nhân tố giữa các nghiệm thức được phân tích bằng ANOVA hai nhân tố (thí nghiệm 1), một nhân tố (thí nghiệm 2 và 3) với mức ý nghĩa 95% và phép thử Duncan ($p < 0,05$) bằng chương trình Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 18.0.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Thành phần hóa học của thịt cá tra

Các thành phần cơ bản của nguyên liệu như độ ẩm, protein, lipid và khoáng được phân tích làm cơ sở để có biện pháp xử lý cho sản phẩm đạt chất lượng tốt và hiệu suất thu hồi cao. Kết quả thành phần hóa học như độ ẩm, protein, khoáng và lipid của thịt cá tra được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1 cho thấy thịt cá tra có hàm lượng protein tương đối cao (17,1%) và hàm lượng lipid chiếm tỷ lệ thấp (2,38%) rất thích hợp cho việc sản xuất dịch đậm thủy phân (Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn, 2017).

chất cảm quan của sản phẩm thủy phân. Ngoài ra, hàm lượng NH₃-N cũng khá quan trọng vì chúng cung cấp thông tin hữu ích về sản phẩm thủy phân (Trần Thị Bích Thủy và Đỗ Thị Thanh Thủy, 2016). Hàm lượng peptide, amino acid và NH₃-N của dịch đậm sau quá trình thủy phân thịt cá tra ở 55°C với các tỷ lệ hỗn hợp enzyme alcalase và flavourzyme và thời gian thủy phân khác nhau được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2: Ảnh hưởng của tỷ lệ (v/w) hỗn hợp enzyme so với thịt cá và thời gian thủy phân đến hàm lượng peptide, amino acid và NH₃-N của dịch đậm

Thời gian (giờ)	Tỷ lệ (%)	Hàm lượng peptide (g/L)	Hàm lượng amino acid (g/L)	Hàm lượng NH ₃ -N (g/L)
20	0,2	20,0±2,7 ^c	9,28±0,027 ^d	0,195±0,010 ^a
	0,3	19,0±3,5 ^b	8,62±0,219 ^b	0,220±0,004 ^b
	0,4	18,2±2,7 ^a	8,24±0,097 ^a	0,219±0,006 ^b
26	0,2	21,1±2,9^d	10,2±0,158 ^c	0,206±0,003 ^a
	0,3	21,0±1,5 ^d	8,98±0,189 ^c	0,235±0,017 ^b
	0,4	18,3±2,0 ^a	8,63±0,203 ^b	0,237±0,002 ^b
P-Value		0,000	0,012	0,785

Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (*). Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, n=3

Bảng 2 cho thấy, cùng tỷ lệ hỗn hợp enzyme alcalase và flavourzyme so với thịt cá, nếu tăng thời gian thủy phân từ 20 lên 26 giờ thì hàm lượng peptide và amino acid tăng và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), tuy nhiên ở tỷ lệ hỗn hợp enzyme 0,4%, hàm lượng peptide không khác biệt khi tăng thời gian thủy phân. Hàm lượng $\text{NH}_3\text{-N}$ khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p \geq 0,05$). Thời gian thủy phân phải đảm bảo để enzyme có thể phân cắt các liên kết trong cơ chất, tạo được sản phẩm cuối cùng mong muốn. Thời gian tác động kéo dài thì enzyme có điều kiện thủy phân protein thịt cá triệt để (Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn, 2017). Vì vậy, khi tăng thời gian thủy phân từ 20 lên 26 giờ, hàm lượng peptide (peptide mạch ngắn và amino acid tự do) và amino acid tăng ở tỷ lệ hỗn hợp enzyme 0,2% và 0,3%. Tuy nhiên, ở tỷ lệ hỗn hợp enzyme 0,4%, khi tăng thời gian thủy phân, hàm lượng amino acid tăng, nhưng hàm lượng peptide không khác biệt. Khi tỷ lệ hỗn hợp enzyme cao và thời gian dài thì quá trình thủy phân tiếp tục nên hàm lượng amino acid tăng. Tuy nhiên, hàm lượng peptide không khác biệt có thể do cơ chất (protein) đã hết (Trần Thị Bích Thủy và Đỗ Thị Thanh Thủy, 2016).

Ở thời gian thủy phân 20 và 26 giờ, nếu tăng tỷ lệ hỗn hợp enzyme so với thịt cá từ 0,2 đến 0,4% thì hàm lượng peptide và amino acid giảm nhưng $\text{NH}_3\text{-N}$ lại tăng lên. Khi tỷ lệ hỗn hợp enzyme tăng thì quá trình thủy phân xảy ra nhanh trong gian đoạn đầu sẽ sinh ra một lượng lớn sản phẩm (các peptide mạch

ngắn và amino acid tự do). Tuy nhiên, các sản phẩm của quá trình thủy phân có thể đóng vai trò như chất kìm hãm không cạnh tranh khi enzyme có ái lực với cả các sản phẩm tạo thành của quá trình thủy phân và cơ chất. Vì vậy, hàm lượng peptide và amino acid giảm vì các sản phẩm sinh ra của quá trình thủy phân có thể tác dụng với enzyme (Copeland, 2000). Hàm lượng amino acid giảm cũng có thể là do amino acid bị phân hủy tạo thành các sản phẩm cấp thấp như: NH_3 , H_2S , indol, scaptol, vì vậy hàm lượng $\text{NH}_3\text{-N}$ tăng nhẹ (Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn, 2017).

Tỷ lệ hỗn hợp enzyme so với thịt cá là 0,2% và thời gian thủy phân là 26 giờ cho hàm lượng peptide và hàm lượng amino acid cao nhất lần lượt là 21,1 g/L và 10,2 g/L, $\text{NH}_3\text{-N}$ thấp là 0,206 g/L. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn (2017) với tỷ lệ hỗn hợp enzyme so với cơ chất là 0,2% cho lượng amino acid là 10,91 g/L và $\text{NH}_3\text{-N}$ là 0,99 g/L. Vì vậy, nghiệm thức có tỷ lệ hỗn hợp enzyme so với thịt cá là 0,2% và thời gian thủy phân 26 giờ được chọn làm nghiệm thức phù hợp để tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

3.3 Ảnh hưởng của tỷ lệ dịch mía phối trộn vào dịch đậm đến giá trị cảm quan và thành phần dinh dưỡng của sản phẩm bột nêm

Kết quả độ ẩm, cảm quan, hiệu suất thu hồi và hàm lượng protein của sản phẩm bột nêm theo tỷ lệ dịch mía phối trộn với dịch đậm được thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 3: Ảnh hưởng tỷ lệ dịch mía phối trộn vào dịch đậm đến giá trị cảm quan và thành phần dinh dưỡng của sản phẩm bột nêm

Tỷ lệ dịch mía:dịch đậm (%:%)	Độ ẩm (%)	ĐTBCTL	Hiệu suất thu hồi (%)	Đạm tổng số (%)
20:45	4,27±0,020 ^a	18,2±0,034 ^{ab}	39,7±0,071 ^a	17,6±0,763 ^c
25:40	4,72±0,086 ^b	18,6±0,328 ^b	41,3±0,375 ^b	17,2±0,961 ^{bc}
30:35	4,59±0,337 ^{ab}	18,0±0,147 ^a	40,2±0,686 ^a	15,3±0,919 ^{ab}
35:30	5,34±0,087 ^c	17,7±0,034 ^a	41,6±0,205 ^b	14,3±0,368 ^a

Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%, Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, n=3. ĐTBCTL: Điểm trung bình có trọng lượng.

Bảng 3 cho thấy mẫu có tỷ lệ phối trộn dịch mía : dịch đậm từ 20%:45% đến 35%:30% thì hiệu suất thu hồi và độ ẩm tăng từ 39,7% và 4,27% lên 41,6% và 5,34% tương ứng, protein và cảm quan giảm từ 17,6% và 18,2 điểm xuống 14,3% và 17,7 điểm tương ứng. Độ ẩm và hiệu suất thu hồi tăng vì tỷ lệ dịch mía tăng dần nên làm cho độ ẩm sản phẩm tăng lên dẫn đến hiệu suất thu hồi cũng tăng theo. Protein giảm do tỷ lệ dịch đậm bổ sung vào giảm dần nên protein của sản phẩm cũng giảm theo. Khi bổ sung

tỷ lệ dịch mía : dịch đậm là 25%:40% thì đạt cảm quan tốt nhất là 18,6 điểm, sản phẩm bột nêm có màu trắng ngà, có mùi đặc trưng của cá và gia vị, vị mặn ngọt hài hòa và trạng thái khô mịn. Tuy nhiên, không khác biệt với nghiệm thức có tỷ lệ dịch mía : dịch đậm là 20%:45%.

Nghiệm thức với tỷ lệ dịch mía : dịch đậm là 20%:45% cho giá trị cảm quan cao là 18,2 điểm, độ ẩm thấp nhất là 4,27% và protein cao nhất là 17,6%. Độ ẩm của sản phẩm bột nêm trong nghiên cứu này

cao hơn sản phẩm bột canh < 3% theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7396:2004 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2004). Vì trong nghiên cứu này, bột nêm được sấy bằng tủ sấy đối lưu tự nhiên ở 60°C, để đạt độ ẩm sản phẩm <3% thì thời gian sấy rất dài, do đó ảnh hưởng đến chất lượng cảm quan của sản phẩm. Vì vậy, sản phẩm được sấy ở 60°C trong 72 giờ để đạt giá trị cảm tốt và độ ẩm thấp nhất. Vì vậy mẫu có tỷ lệ phối trộn dịch mía: dịch đậm là 20%: 45% được chọn để làm thí nghiệm tiếp theo.

3.4 Ảnh hưởng của thời gian bảo quản ở nhiệt độ phòng đến độ ẩm, cảm quan và tổng số vi sinh vật hiếu khí của sản phẩm bột nêm

Chế biến các sản phẩm khô là quá trình loại ẩm trong sản phẩm giúp kéo dài thời gian bảo quản (Nguyễn Trọng Căn và Đỗ Minh Phụng, 1990). Mặc dù sản phẩm được loại ẩm đến giới hạn an toàn để bảo quản nhưng trong quá trình bảo quản sản phẩm vẫn có khả năng bị thay đổi chất lượng. Kết quả phân tích độ ẩm, cảm quan, tổng số vi sinh vật hiếu khí của sản phẩm bột nêm theo thời gian bảo quản ở nhiệt độ phòng được thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4: Ảnh hưởng của thời gian bảo quản ở nhiệt độ phòng đến độ ẩm, cảm quan và tổng số vi sinh vật hiếu khí của sản phẩm bột nêm

Thời gian bảo quản (tuần)	Độ ẩm(%)	ĐTBCTL	Tổng số VSVHK (cfu/g)
0	4,27±0,020 ^a	18,6±0,328 ^d	9,8×10 ²
1	5,38±0,186 ^b	18,3±0,249 ^{cd}	1,5×10 ³
2	6,21±0,248 ^c	18,0±0,178 ^{bc}	4,6×10 ³
3	7,53±0,040 ^d	17,5±0,158 ^{ab}	5,5×10 ³
4	8,17±0,130 ^e	17,3±0,079 ^a	6,5×10 ³

Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (*). Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, n=3. ĐTBCTL: Điểm trung bình có trọng lượng, VSVHK: Vi sinh vật hiếu khí.

Bảng 4 cho thấy từ tuần 0 đến tuần 4 độ ẩm trong bột nêm tăng nhẹ từ 4,72% lên 8,17%. Nguyên nhân có thể là do sự hút ẩm trong quá trình bảo quản. Sự hút ẩm phụ thuộc vào điều kiện bao gói, độ ẩm của không khí và đặc tính của sản phẩm (Nguyễn Trọng Căn và Đỗ Minh Phụng, 1990). Bột nêm được cho vào túi PA, do đó tùy thuộc vào tốc độ thẩm khí của bao bì mà quá trình hút ẩm xảy ra nhiều hay ít (Đồng Thị Anh Đào, 2012). Đồng thời, sản phẩm được bảo quản ở nhiệt độ phòng nên có thể hút ẩm trở lại, đặc biệt là vào buổi tối khi độ ẩm không khí trong phòng có thể cao hơn độ ẩm của sản phẩm (Nguyễn Trọng Căn và Đỗ Minh Phụng, 1990). Tổng số vi khuẩn hiếu khí tăng nhẹ từ 9,8×10² cfu/g lên 6,5×10³ cfu/g. Do sản phẩm hút ẩm nhẹ tạo điều kiện cho vi sinh vật phát triển (Nguyễn Trọng Căn và Đỗ Minh Phụng, 1990). Bên cạnh đó, thời gian bảo quản càng dài thì vi sinh vật hiếu khí sẽ thích nghi dần với điều kiện bảo quản và tiếp tục phát triển, vì vậy tổng số vi khuẩn hiếu khí tăng (Adams and Moss, 2008). Tổng số vi khuẩn hiếu khí sau 4 tuần bảo quản là 8,9×10³ cfu/g, thấp hơn giá trị tối đa cho phép (10⁴ cfu/g) về vi sinh vật sản phẩm bột canh theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7396:2004 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2004) và theo Quyết định số 46 /2007/QĐ-BYT (Bộ Y Tế, 2007). Chất lượng cảm quan của bột nêm vẫn đảm bảo theo tiêu chuẩn của

sản phẩm bột canh theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7396:2004 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2004). Sản phẩm vẫn giữ được màu trắng ngà, vị mặn ngọt hài hòa và trạng thái khô mịn nhưng về mùi thì có sự giảm nhẹ, có mùi đặc trưng của cá và gia vị nhưng không rõ như ban đầu.

Sản phẩm bột nêm thành phẩm được sản xuất từ dịch đậm thu được từ quá trình thủy phân thịt cá tra có giá trị dinh dưỡng cao, thể hiện ở hàm lượng protein chiếm 17,6%, lipid và độ ẩm thấp lần lượt là 2,71% và 4,27%, khoáng chiếm 11,3%. Sản phẩm bột nêm có màu trắng ngà, mùi đặc trưng của cá và gia vị, vị mặn ngọt hài hòa và trạng thái khô mịn với điểm cảm quan cao đạt 18,2. Tổng số vi sinh vật hiếu khí thấp 9,8×10² cfu/g.

4 KẾT LUẬN

Bột nêm thực phẩm được sản xuất từ dịch đậm thu được từ quá trình thủy phân thịt cá tra ở nhiệt độ 55°C với tỷ lệ hỗn hợp enzyme alcalase và flavouzyme so với thịt cá là 0,2% trong 26 giờ. Dịch thủy phân phối trộn với dịch mía ở tỷ lệ dịch mía: dịch đậm là 20%: 45% cho sản phẩm bột nêm có hàm lượng protein tương đối cao là 17,6% và giá trị cảm quan cao đạt 18,2 điểm. Sản phẩm bột nêm vẫn đảm bảo an toàn về chỉ tiêu vi sinh, cảm quan và độ ẩm tốt sau 4 tuần bảo quản ở nhiệt độ phòng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adams, M. R., and Moss, M. O., 2008. Food Microbiology, (3rd ed.) Royal Society of Chemistry. United Kingdom, 463 pages.
- AOAC, 2016. The official methods of analysis of AOAC International, 20th edn. George W. Latimer, Jr. 3172p. Available at <http://www.eoma.aocac.org>.
- Bộ Khoa học và Công nghệ, 2004. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7396:2004 về “Bột canh gia vị - Yêu cầu kỹ thuật” do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F4, Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành, ngày truy cập 12/01/2020. Địa chỉ: <https://vanbanphapluat.co/tcvn-7396-2004-bot-canng-gia-vi-yeu-cau-ky-thuat>.
- Bộ Khoa học và Công nghệ, 1979. Quyết định số 722/QĐ, ngày 31/12/1979 về việc “Sản phẩm thực phẩm - Phân tích cảm quan bằng phương pháp cho điểm” do Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành, ngày truy cập 10/07/2019. Địa chỉ: <https://vanbanphapluat.co/tcvn-3215-1979-san-pham-thuc-pham-phan-tich-cam-quan-phuong-phap-cho-diem>
- Bộ Khoa học và Công nghệ, 1990. Quyết định số 735/QĐ, ngày 31/12/1990 về việc “Sản phẩm thực phẩm – Phương pháp xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí” do Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành, ngày truy cập 11/07/2019. Địa chỉ: <https://vanbanphapluat.co/tcvn-5165-1990-san-pham-thuc-pham-phuong-phap-xac-dinh-tong-so-vi-khuan>
- Bộ Khoa học và Công nghệ, 1990. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3706:1990 về “Thủy sản - Phương pháp xác định hàm lượng nitơ amoniac” do Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành, ngày truy cập 10/01/2020. Địa chỉ: <https://vanbanphapluat.co/tcvn-3706-1990-thuy-san-phuong-phap-xac-dinh-ham-luong-nito-amoniac>
- Bộ Khoa học và Công nghệ, 1990. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3708:1990 về “Thủy sản - Phương pháp xác định hàm lượng amino acid” do Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành, ngày truy cập 11/07/2019. Địa chỉ: <https://vanbanphapluat.co/tcvn-3708-1990-thuy-san-phuong-phap-xac-dinh-ham-luong-nito-axit-amin>.
- Bộ Y Tế, 2007. Quyết Định 46/2007/QĐ-Bộ Y tế, ngày 19/12/2007 về việc “Quy định giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm”, ngày truy cập 10/07/2019. Địa chỉ: <https://vanbanphapluat.co/quyet-dinh-46-2007-qd-byt-quy-dinh-gioi-han-toi-da-o-nhiem-sinh-hoc-hoa-hoc-thuc-pham>.
- Chiang, J. H., Loveday, S. M., Hardacre1, A. K., and Parker, M. E., 2019. Effects of enzymatic hydrolysis treatments on the physicochemical properties of beef bone extract using endo- and exoproteases. International Journal of Food Science and Technology. 54: 111-120.
- Copeland, R. A., 2000. A practical introduction to structure, mechanism, and data analysis, 2nd ed. Wiley-VCH, Inc New York. New York, 412 pages.
- Đông Thị Anh Đào, 2012. Bao bì thực phẩm. NXB Đại học Quốc Gia Thành Phố Hồ Chí Minh. Thành Phố Hồ Chí Minh.
- Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn, 2017. Nghiên cứu ứng dụng hỗn hợp alcalase và flavourzyme để thủy phân cá nục gai (*Decapterus ruselli*) thu hồi dịch đậm thủy phân. Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản. 3: 73-79.
- Đỗ Trọng Sơn, 2012. Nghiên cứu sản xuất dịch thủy phân từ đầu cá chêm (*Lates calcarifer*) và ứng dụng trong việc sản xuất bột nêm. Luận văn Thạc sĩ. Trường Đại học Nha Trang. Thành phố Nha Trang, Khánh Hòa.
- Hultmann, L., Phu, T. M., Tobiassen, T., Aas-Hansen, Ø., and Rustad, T., 2012. Effects of pre-slaughter stress on proteolytic enzyme activities and muscle quality of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*). Food Chemistry. 134(3): 1399-1408.
- Kamnerdpetch, C., Weiss, M., Kasper, C., and Scheper, T., 2007. An improvement of potato pulp protein hydrolyzation process by the combination of protease enzyme systems. Enzyme and Microbial Technology. 40(4): 508-514.
- Liaset, B., Nortvedt, R., Lied, E., and Espe, M., 2002. Studies on the nitrogen recovery in enzymic hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar, L.*) frames by ProtamexTM protease. Process Biochemistry. 37(11): 1263-1269.
- Lý Thị Minh Phương, 2011. Nghiên cứu sản xuất chế phẩm dịch thủy phân từ thịt hầu biển dùng trong thực phẩm. Tạp chí Đại học Công nghiệp số 2 (3): 16-25.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry. 193: 265-275.
- Men, L.T., Thanh, V.C., Hirata, Y., Yamasaki, S., 2005. Evaluation of the genetic diversities and the nutritional values of the Tra (*Pangasius hypophthalmus*) and the Basa (*Pangasius bocourti*) catfish cultivated in the Mekong river delta of Vietnam. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 18: 671-676.
- Nguyễn Văn Mười và Trần Thanh Trúc, 2006. Các yếu tố ảnh hưởng chế biến trong cá tra fillet xông khói. Tạp chí nghiên cứu khoa học. Đại Học Cần Thơ.5: 105-114.
- Nguyen, H. T. M., Sylla, K. S. B., Randriamahatody, Z., et al., 2011. Enzymatic hydrolysis of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) by-products

- using Protamex protease. Food Technology and Biotechnology. 49 (1): 48-55.
- Nguyễn Trọng Cần và Đỗ Minh Phụng, 1990. Công nghệ chế biến thủy sản, tập 2. Nhà xuất bản Nông nghiệp, 392 trang.
- Phạm Thị Đan Phượng, 2013. Chế biến bột nêm tôm từ chế phẩm đậm giàu carotenoid thu nhận từ đầu tôm thẻ chân trắng. Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản. 3: 39-46.
- Thái Văn Đức, 2011. Bài giảng Công nghệ sản xuất đường mía. Trường Đại học Nha Trang. Thành phố Nha Trang, Khánh Hòa.
- Trần Kiều Anh, Nguyễn Hà Trung, Nguyễn Khánh Hoàng Việt, Nguyễn Thị Hồng Loan, Phạm Kiên Cường, 2017. Nghiên cứu các điều kiện thủy phân phụ phẩm cá hồi (*Salmo salar*) nhằm thu nhận peptit mạch ngăn có hoạt tính chống ô xi hóa. Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ. 33(1S): 7-13.
- 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. 2: 93-100.