

ỨNG DỤNG ENZYME PROTEASE LÀM TĂNG GIÁ TRỊ SINH HỌC CỦA PROTEIN TRONG CÁC SẢN PHẨM CHẾ BIẾN TỪ THỊT LỢN

Nguyễn Thị Phương Lan¹, Hoàng Thế Hưng²

Protease là enzyme xúc tác thủy phân protein tạo thành những phân tử thấp và các amino axit. Nghiên cứu này cho thấy sử dụng Enzyme Protease (PRT-01/dạng bột) trong quá trình chế biến thịt lợn đã làm tăng giá trị sinh học, chất lượng cảm quan màu sắc, mùi vị của sản phẩm, đảm bảo sức khỏe cho người sử dụng, nhất là khi cường độ lao động tăng cao. Nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng tỷ lệ, thời gian ướp enzyme protease trong quá trình chế biến. Kết quả thu được tỷ lệ enzyme protease 0,50%, thời gian ướp là 30 phút cho chất lượng cảm quan phù hợp nhất và hàm lượng 8 axit amin cần thiết tăng khoảng 2 lần so với sản phẩm chế biến từ thịt không được ướp enzyme.

Từ khóa: *Ứng dụng, enzyme protease, chế biến, thịt lợn.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Protease được sử dụng trong chế biến làm mềm thịt là ứng dụng có tính truyền thống, từ rất lâu nhân dân ta đã dùng dứa, đu đủ xanh bổ sung vào quá trình chế biến thịt bò, thịt chân giò để làm mềm, rút ngắn thời gian chế biến, tạo thức ăn dễ tiêu hóa đây thực chất là sử dụng các enzyme bromelin, papain. Tuy nhiên enzyme trong các thành phần đó còn có chứa một lượng tạp chất nhất định nên hiệu quả sử dụng enzyme sẽ không cao so với các chế phẩm enzyme đã được khai thác và tinh chế có mức độ tinh khiết theo tiêu chuẩn công nghiệp. Thịt lợn được sử dụng trong nghiên cứu là phần nạc mông từ giống lợn thịt, thí nghiệm sau khi giết mổ khoảng 3 tiếng. Phần nạc thăn từ thịt lợn được xử lý loại bỏ phần

tạp chất: mỡ, bì và chất bám dính trên bề mặt trong quá trình giết mổ. Định hình miếng thịt theo kích thước, khối lượng tương đương nhau sau đó ướp enzyme. Thịt dưới tác động của tỷ lệ enzyme, thời gian ướp ở nhiệt độ thường ($25^{\circ}\text{C}\pm 2$) sẽ xúc tác quá trình thủy phân liên kết peptide ($-\text{CO}-\text{NH}$)_n trong phân tử protein, polypeptide đến sản phẩm thủy phân cuối cùng là các acid amin, làm cho thịt có một độ mềm thích hợp và tăng hương vị cho thịt. Mục tiêu của nghiên cứu này là tăng giá trị sinh học của protein, giá trị cảm quan của sản phẩm chế biến từ thịt có bổ sung enzyme protease so với các sản phẩm chế biến theo cách thông thường, đặc biệt là giá trị sinh học của protein thể hiện qua hàm lượng axit amin

¹ThS. Viện Nghiên cứu Khoa học Hậu cần Quân sự/
Học viện Hậu cần

Email: ntplanhvhc@gmail.com

²NCS. Viện Nghiên cứu Khoa học Hậu cần Quân sự/
Học viện Hậu cần

Ngày gửi bài: 05/01/2021

Ngày phản biện đánh giá: 01/03/2021

Ngày đăng bài: 01/04/2021

không thay thế tăng khoảng 2 lần. Từ đó đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng, tăng sức đề kháng, độ dẻo dai của con người khi lao động ở cường độ cao.

II. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

- Thịt lợn nạc thăn đáp ứng TCVN 7046:2009 Thịt lợn tươi.

Yêu cầu khác: Sử dụng phần thịt sau khi giết mổ khoảng 3 giờ.

- Enzyme: Enzyme Protease (PRT -01/ dạng bột);

Hoạt lực 5000 IU/g;

pH: trung tính 5 -7;

Đơn vị cung ứng: Công ty CP Hóa dược và Công nghệ sinh học Biogreen.

2.2. Trang thiết bị dụng cụ

Trang thiết bị tại phòng thí nghiệm: Máy đập mẫu, pipet, bình tam giác, giấy lọc, bình định mức.

Địa điểm: Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học/ Viện Nghiên cứu Khoa học Hậu cần Quân sự/Học viện Hậu cần.

Trang bị dụng cụ cấp dưỡng: Xoong, nồi, bát đĩa, muối thùng, thớt, dao...

2.3. Hóa chất

Dung dịch fomandehyt trung hòa 30%;

Dung dịch NaOH 0,1N;

Dung dịch phenolphtalein 1%.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Phương pháp thực nghiệm

a. Nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme protease trong chế biến thịt lợn

Thịt nạc thăn sử dụng đảm bảo độ tươi theo TCVN 7046:2009 Thịt lợn tươi,

đem đi làm sạch và định hình theo khối lượng kích thước tương đương nhau. Chế phẩm enzyme protease hoạt động ở vùng pH 5 - 7 nên phản ứng được tiến hành pH tự nhiên của thịt. Tỷ lệ enzyme trên cơ chất tính theo % từ 0,30% đến 0,070% với bước nhảy $\delta = 0,05\%$. Tắm ướp từng mẫu thịt trong từng nồng độ enzyme khác nhau trong thời gian 5 phút. Lấy mẫu thịt ra đem chế biến trong 5 phút, thử cảm quan và xác định hàm lượng nitơ formol ở những tỷ lệ enzyme cho giá trị cảm quan tốt nhất sau đó chọn nồng độ enzyme thích hợp để làm mềm thịt.

b. Nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng thời gian ướp enzyme protease trong chế biến thịt lợn

Từ thí nghiệm 1 chọn được tỷ lệ enzyme protease thích hợp. Lấy tỷ lệ đó đem đi ướp các mẫu thịt có cùng khối lượng, kích thước ở thời gian khác nhau từ 15 phút đến 45 phút, với bước nhảy $\delta = 5$ phút. Sau khi đạt thời gian khảo sát đem chế biến trong vòng 5 phút, thử cảm quan và xác định sự thay đổi hàm lượng các axit amin tự do (8 axit amin cần thiết cho cơ thể người). Từ đó lựa chọn thời gian dừng quá trình ướp enzyme nhằm tạo ra sản phẩm có lượng axit amin không thay thế nhiều nhất, cho giá trị cảm quan, giá trị dinh dưỡng tốt nhất.

2.4.2. Phương pháp phân tích hóa lý

a. Phương pháp xác định hàm lượng nitơ formol

Phương pháp chuẩn độ Formol (phương pháp Sorensen).

b. Phương pháp xác định hàm lượng axit amin tự do

Sử dụng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC.

2.4.3. Phương pháp đánh giá cảm quan

Đánh giá chất lượng cảm quan theo TCVN 3215:1979.

2.4.4. Phương pháp xử lý số liệu: Sử dụng Excel.

III .KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1 .Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme protease trong chế biến thịt lợn.

Dùng phương pháp phân tích mô tả mục 2.4.2 và 2.4.3 ta thu được kết quả

chỉ ra ở hình 1; hình 2. và bảng 1. Từ đó ta thấy:

Kết quả đánh giá cảm quan cho thấy tỷ lệ enzyme trong khoảng 0,45% đến 0,50% trước khi xử lý nhiệt thịt có màu hồng tươi, có độ đàn hồi và không có hiện tượng rỉ nước. Sau khi xử lý nhiệt thịt mềm và có độ đàn hồi tốt nhất ở tỷ lệ 0,50%, thịt và nước thịt có mùi thơm đặc trưng. Ở tỷ lệ $\leq 0,40\%$ thịt vẫn còn cứng nhất là sau khi xử lý nhiệt, ở mẫu 0% trong nước còn có vẩn protein kết tủa, lớp màng nhẹ bám trên bề mặt thịt. Ở tỷ lệ $\geq 0,55\%$ thịt có hiện tượng rã (bã thịt), sau khi xử lý nhiệt có vị đắng ở hậu vị.



Hình 1. Mẫu thịt không ướp Enzyme và mẫu thịt ướp Enzyme

Tiến hành phân tích hàm lượng nitroformol ở tỷ lệ 0%; 0,45%; 0,50% và 0,55%. Các mẫu thí nghiệm đều được lặp lại 5 lần, xác định hàm lượng nitro

formol lặp lại 3 lần/1 mẫu thí nghiệm rồi lấy giá trị trung bình cho kết quả trong bảng 1:

Bảng 1: Ảnh hưởng của nồng độ Enzyme đến sự thay đổi hàm lượng nitơ formol khi thủy phân protein thịt lợn

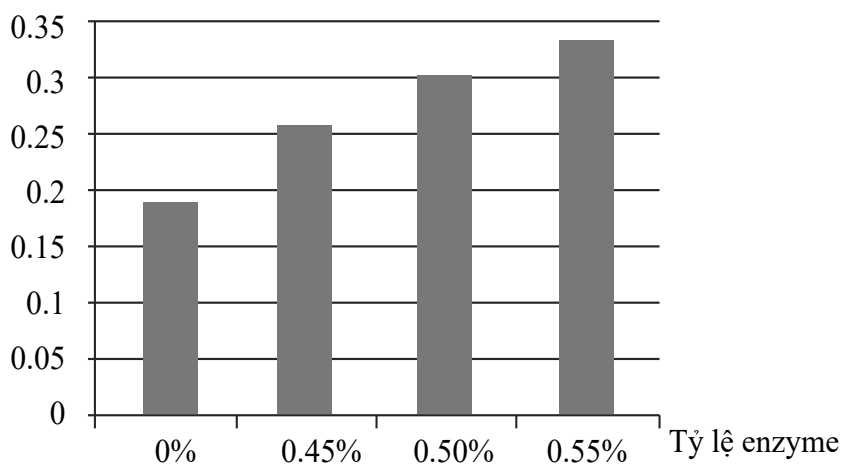
Mẫu/ Tỷ lệ enzyme (%)	Lượng nitơ formol g/100g thịt						
	TN1	TN2	TN3	TN4	TN5	TN6*	TB/5
1/0 (%)	0,21	0,18	0,14	0,20	0,22	0,20	0,19
5/0,45(%)	0,28	0,24	0,23	0,26	0,29	-	0,26
6/0,50(%)	0,31	0,28	0,27	0,29	0,33	0,28	0,30
7/0,55(%)	0,34	0,31	0,30	0,32	0,36		0,33

Ghi chú: TN thí nghiệm, * mẫu kiểm tra tại Viện Dinh Dưỡng Quốc Gia

Kết quả trong Bảng 1 cho thấy mẫu thịt không có enzyme thì hàm lượng nitơ formol thấp nhất chứng tỏ sự thủy phân diễn ra chậm thịt lâu mềm. Ở các tỷ lệ 0,45%; 0,50%; 0,55% hàm lượng nitơ formol tăng cao đặc biệt là mẫu 0,55%, sự thủy phân protein thịt diễn ra

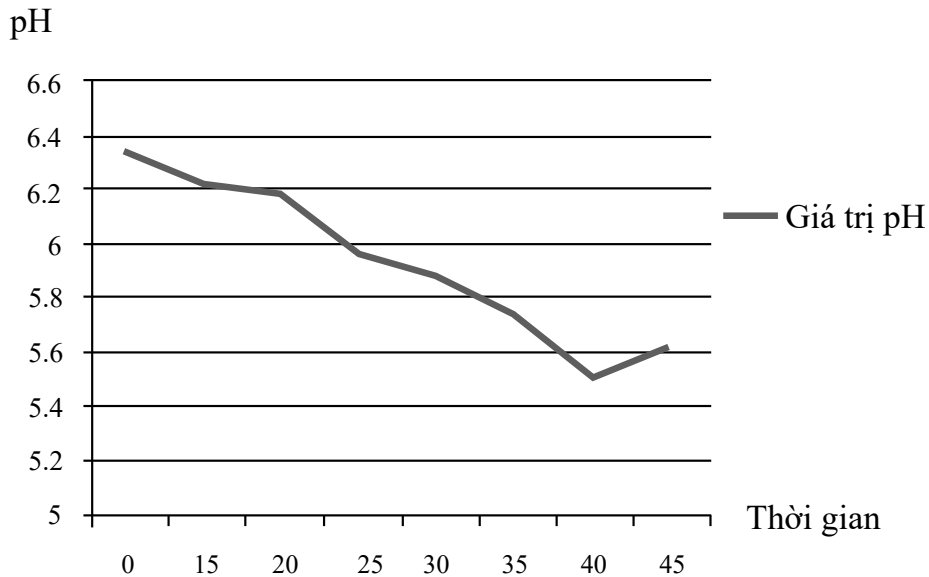
nhanh vì vậy thịt mau mềm. Tỷ lệ enzyme càng cao thì sự thủy phân protein diễn ra càng nhanh. Từ kết quả phân tích trên cho thấy ở tỷ lệ enzyme so với cơ chất là 0,50% thì hàm lượng nitơ formol ở mức hợp lý. Vì vậy, chọn tỷ lệ enzyme thích hợp là 0,50%.

Hàm lượng nitơ formol
(g/100g)



Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ Enzyme đến sự thay đổi hàm lượng nitơ formol khi thủy phân protein thịt lợn

3.2. Nghiên cứu chọn thời gian tối ưu để enzyme làm mềm thịt



Hình 3. Ảnh hưởng thời gian ướp Enzyme đến sự thay đổi pH khi thủy phân protein thịt lợn

- Kết quả kiểm tra pH của mẫu thể hiện theo hình số 3. pH của thịt giảm biểu hiện rằng các sợi cơ của thịt đã được làm mềm ra.

- Kết quả đánh giá cảm quan cho thấy thời gian làm mềm thịt trên 25 phút, khi dùng enzyme để làm mềm thịt thì tỷ lệ enzyme và thời gian ướp enzyme ảnh hưởng nhiều đến độ mềm của thịt. Nếu tỷ lệ enzyme càng cao, thời gian ướp enzyme càng lâu thì thịt càng mau mềm. Nếu tỷ lệ enzyme quá cao thì sẽ làm thịt có vị đắng nên tỷ lệ enzyme thích hợp để làm mềm thịt 0,50% và thời gian thích hợp là 30 phút. Ngược lại tỷ lệ enzyme càng thấp và thời gian ướp ngắn thì thịt lâu mềm hơn.

- Kết quả phân tích hàm lượng nitơ formol ở thời điểm 0 phút, 30 phút và 45

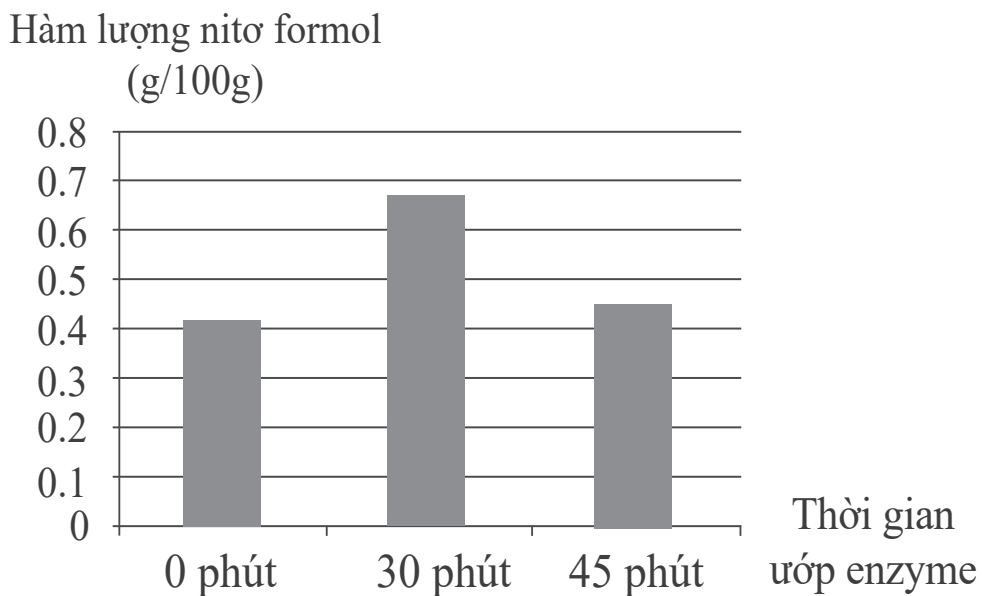
phút. Kết quả chỉ ra ở bảng 2 và hình 4

Hàm lượng nitơ formol tăng mạnh ở thời gian 30 phút tăng khoảng 2,5 lần sau đó giảm nhanh. Thịt dưới tác động của tỷ lệ enzyme, thời gian ướp sẽ xúc tác quá trình thủy phân liên kết peptide (-CO-NH)_n trong phân tử protein, polypeptide đến sản phẩm thủy phân cuối cùng là các axit amin, làm cho thịt có một độ mềm thích hợp và tăng hương vị cho thịt. Quá trình thủy phân protein do enzyme bổ sung và enzyme có sẵn trong thịt thời gian dài sẽ dẫn đến quá trình khử axit amin thành amoniac, axit, rượu, H₂S, indol, skatol. Các chất hữu cơ được tạo thành do sự phân hủy sơ bộ axit amin lại tiếp tục chuyển hóa khi đó mô thịt mất tính đàn hồi, pH cũng chuyển từ môi trường axit yếu đến môi trường kiềm hình 3.

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian ướp enzyme đến hàm lượng nitơ formol khi thủy phân protein thịt lợn

Mẫu/ Thời gian ướp	Lượng nitơ formol g/ 100g thịt					
	TN1	TN2	TN3	TN4	TN5	TB
1/0 phút	0,27	1,21	0,21	0,22	0,19	0,42
5/30 phút	0,52	1,31	0,49	0,55	0,48	0,67
8/45 phút	0,36	0,89	0,32	0,38	0,28	0,45

Ghi chú: TN thí nghiệm



Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian ướp Enzyme đến hàm lượng nitơ formol khi thủy phân protein thịt lợn

- Sau khi kiểm tra hàm lượng nitơ formol bằng phương pháp Sorensen kết hợp kiểm tra tại Viện Dinh dưỡng. Để khẳng định giá trị sinh học, giá trị dinh dưỡng của sản phẩm sau khi ướp enzyme chúng tôi đã tiến hành thí nghiệm

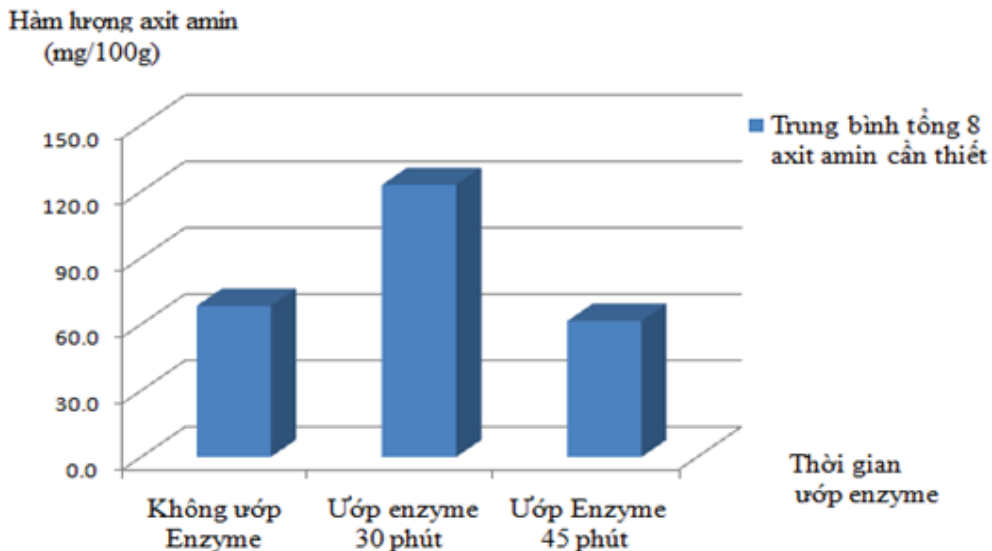
và phân tích hàm lượng axit amin tự do (8 loại axit amin cần thiết cho cơ thể người) phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC tại viện Dinh dưỡng. Kết quả được thể hiện ở Bảng 3 và Hình 5.

Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian ướp Enzyme đến sự thay đổi hàm lượng các axit amin không thay thế khi thủy phân thịt lợn

TT	Axit amin	Đơn vị	Thời gian					
			TN1			TN2		
			0 Phút	30 phút	45 phút	0 phút	30 phút	45 phút
1	Threonine	mg/100g	32,05	43,36	32,49	23,9	36,28	22,25
2	Valine	mg/100g	6,36	8,27	5,96	4,55	9,05	7,92
3	Methionine	mg/100g	2,42	3,97	3,5	2,57	7,33	7,38
4	Lysine	mg/100g	7,79	11,15	8,03	4,45	13,26	9,25
5	Leucine	mg/100g	20,27	28,23	36,97	6,99	29,64	18,84
6	Isoleucine	mg/100g	4,97	6,6	5,66	8,03	25,18	17,88
7	Phenylalanine	mg/100g	0	0,77	0	4,67	13,76	10,11
8	Tryptophan	mg/100g	0,67	1,23	0,66	6,97	8,07	8,85

Qua biểu đồ ở Hình 5 cho thấy sau khi ướp enzyme 30 phút tùy loại axit amin khác nhau tăng 1,2 đến 4,2 lần, khoảng 2 lần cho tổng 8 axit amin so

với mẫu không ướp enzyme, đến thời điểm 45 phút tất cả các mẫu đều giảm ít nhất 1,1 lần.



Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian ướp Enzyme đến sự thay đổi hàm lượng tổng 8 axit amin không thay thế khi thủy phân thịt lợn

Chất dinh dưỡng trong thức ăn sẽ trải qua một quá trình biến đổi về mặt hóa học để chuyển hóa thành dạng đơn giản mà các tế bào trong cơ thể có thể hấp thu như: protein được phân giải thành các axit amin. Do đó quá trình bổ sung enzyme trong chế biến thịt lợn sẽ rút ngắn được thời gian chuyển hóa của thức ăn trong cơ thể, giúp cơ thể dễ dàng hấp thu, tiêu hóa tốt hơn và tăng cảm giác ngon miệng khi sử dụng sản phẩm.

IV. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu sử dụng tỷ lệ enzyme protease (PRT-01/dạng bột) 0,50%, thời gian tẩm ướp là 30 phút làm tăng giá trị dinh dưỡng của thịt, tăng hàm lượng axit amin tự do, đặc biệt 8 loại axit amin thiết yếu tăng khoảng 2 lần và tăng giá trị cảm quan như màu sắc, mùi vị, độ mềm.

Thịt qua tẩm ướp enzyme sẽ rút ngắn được thời gian chế biến sản

phẩm rút ngắn được thời gian chuyển hóa của thức ăn trong cơ thể, giúp cơ thể dễ dàng hấp thu, tiêu hóa tốt hơn, và tăng cảm giác ngon miệng khi sử dụng sản phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Ngọc Tú, Đặng Thị Thu, Nguyễn Thị Thịnh (2010). *Hóa sinh công nghiệp*, Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật,
2. Đặng Thị Thu, Lê Ngọc Tú, Tô Kim Anh (2003). *Công nghệ enzyme*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội,
3. Wachirattanapongmetee, K., Thawornchinsombut, S., Pitirit, T., Yongsawatdigul, J., Park, J. W., (2009). *Functional Properties of Protein Hydrolysates Prepared from Alkali-Aided Protein Extraction of Hybrid Catfish Frame*. Trends Research in Science and Technology, (1): 71-81.

Summary

APPLICATION OF PROTEASE ENZYME TO IMPROVE BIOLOGICAL VALUES OF PROTEIN IN PORK PRODUCTS

Proteases are enzymes that decompose proteins into low-molecules products and amino acids. The study showed that using Protease Enzyme (PRT-01/powder) in pork processing can improve nutrition values, colors and tastes of the final products, as well as to ensure the health for users working in the intensive environment. Examining on the ratio and time of protease enzymes used in pork processing indicated that the most effective ratio of protease enzyme was 0.50% and the marinating duration was 30 minutes for the most suitable sensory quality. At the indicated ratio and duration, the content of 8 essential amino acids increased by 2 times in comparing with non-protease products.

Keywords: *Application, Protease enzyme, Processing, Pork.*