

NGHIÊN CỨU THU NHẬN DỊCH ĐẠM THỦY PHÂN TỪ VỎ ĐẦU TÔM BẰNG ENZYME ALCALASE

RESEARCH ON OBTAINING PROTEIN HYDROLYSATE FROM SHRIMP HEAD WASTE USING ALCALASE ENZYME

Bùi Xuân Đông¹, Phạm Thị Mỹ², Huỳnh Văn Anh Thi¹, Trần Trung Thanh Bình³, Ngô Thị Ngọc Bích⁴,
Nguyễn Văn Tuyên⁵, Hà Ngọc Tuấn⁶

¹Trường Đại học Bách khoa - Đại học Đà Nẵng; xdbui@dut.udn.vn

²Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng

³Trường Cao đẳng Bách khoa Đà Nẵng

⁴Học viện CNTT Microsoft - Đại học Đà Nẵng

⁵Trường Cao đẳng Lương thực - Thực phẩm Đà Nẵng

⁶Trung tâm Chất lượng Nông Lâm Thủy sản vùng 2 - Đà Nẵng

Tóm tắt - Trong bài báo này, chế phẩm dịch đạm (PPH) từ vỏ đầu tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) được nghiên cứu thu hồi bằng công nghệ enzyme. Enzyme alcalase đã được sử dụng để nghiên cứu phản ứng thủy phân protein trong vỏ đầu tôm. Nghiên cứu đã xác định được các thông số cơ bản của phản ứng enzyme để thủy phân protein trong vỏ đầu tôm như nhiệt độ môi trường, pH môi trường, tỷ lệ enzyme với cơ chất, thời gian phản ứng enzyme lần lượt là 55°C; 8,0; 1,5% và 80 phút, hiệu suất thu protein khi đó đạt mức 61,28 ± 0,5%. Chế phẩm dịch đạm từ vỏ đầu tôm có hàm lượng protein xác định được là 7,93%, hàm lượng nitơ axit amin là 0,87 gam/lít. Chế phẩm dịch đạm từ vỏ đầu tôm được xác định đủ điều kiện sử dụng làm thức ăn chăn nuôi (theo QCVN 01-183:2016/BNNPTNT).

Từ khóa - chế phẩm dịch đạm (PPH); vỏ đầu tôm; enzyme alcalase; *Bacillus licheniformis*; protein; protease; endopeptidase; hợp chất có hoạt tính sinh học; ô nhiễm môi trường

1. Đặt vấn đề

Việc tận dụng phế liệu công nghiệp chế biến tôm để sản xuất các sản phẩm giá trị gia tăng đã gây ra những tác động xấu trong những năm qua. Tác động xấu sinh ra khi dùng công nghệ lạc hậu có thể kể đến là vấn nạn ô nhiễm môi trường. Công nghệ hiện đang sử dụng để xử lý phế liệu tôm thải ra những sản phẩm phụ là các chất độc hại như HCl, acid acetic và NaOH vào hệ sinh thái nước, tác động mạnh tới môi sinh của động vật và thực vật trong nước, dẫn tới mất cân bằng sinh thái. Vì vậy vấn đề nghiên cứu và sử dụng công nghệ thay thế an toàn hơn là vấn đề cấp thiết [1]. Phế liệu vỏ đầu tôm chứa các hoạt chất sinh học như chitin, chất màu, axit amin và các acid béo. Những hoạt chất sinh học này được ứng dụng rộng rãi trong y học, điều trị, mỹ phẩm, công nghiệp dệt và sản xuất giấy, công nghệ sinh học và công nghệ thực phẩm [1, 3]. Mục tiêu của nghiên cứu này là tìm giải pháp sinh học để thu các amino acid và peptid (sản phẩm thủy phân protein) từ vỏ đầu tôm, từ đó tạo ra chế phẩm dịch đạm nhằm định hướng ứng dụng trong chăn nuôi. Chế phẩm dịch đạm (preparation of protein hydrolysate- PPH) từ vỏ đầu tôm được dùng làm thức ăn bổ sung trong chăn nuôi gia súc, gia cầm và trong nuôi trồng thủy sản. Việc nghiên cứu sản xuất PPH hiện nay rất được quan tâm [1-3].

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Abstract - In this article, preparation of protein hydrolysate (PPH) from shrimp waste mainly comprising head and shell of *Penaeus vannamei* by enzymatic hydrolysis is presented. Enzyme alcalase is used to optimize hydrolysis conditions for shrimp waste hydrolysis. A model equation is proposed to determine effects of temperature; pH; enzyme/substrate ratio and time on degree of hydrolysis where optimum values are found to be 55°C; 8,0; 1,5% and 80 min, for maximum degree of hydrolysis 61,28±0,5% respectively. The extraction of prepared protein hydrolysate obtained contains protein content (7,93%) and nitrogen amino acid content (0,87 g/l). Prepared protein hydrolysate is suitable enough to recommend as a functional food additive (according to QCVN 01-183:2016/BNNPTNT).

Key words - preparation of protein hydrolysate (PPH); shrimp head waste; enzyme alcalase; *Bacillus licheniformis*; protein; protease; endopeptidase; bioactive compound; environment pollution

2.1.1. Vỏ đầu tôm

Mẫu vỏ đầu tôm thuộc loại tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) được thu mua tại Xí nghiệp đông lạnh 32 - Công ty Cổ phần Thủy sản và Thương mại Thuận Phước, Đà Nẵng. Các mẫu vỏ đầu tôm được chứa trong các túi nilon và chuyển ngay về phòng kiểm nghiệm - Trung tâm Chất lượng Nông Lâm Thủy sản Vùng 2, Đà Nẵng. Tại đây, mẫu vỏ đầu tôm được rửa sạch dưới vòi nước chảy để bỏ thịt vụn và bùn, sau đó để ráo nước và phân chia vào các bao PE dán để đảm bảo vô trùng, mỗi túi chứa 50g vỏ đầu tôm nguyên liệu. Các mẫu này có thể sử dụng làm thí nghiệm ngay hoặc đem đi cấp đông ở nhiệt độ -20°C. Những lần sử dụng tiếp theo sẽ tiến hành rã đông từ từ trong tủ lạnh trước khi thực hiện các thí nghiệm.

Khi tiến hành thí nghiệm, các mẫu vỏ đầu tôm được nghiền đến kích thước 2 - 3 mm để tăng diện tích tiếp xúc với enzyme.

2.1.2. Enzyme

Nghiên cứu này sử dụng enzyme Alcalase 2.4L của hãng Novo Nordisk, Bagsvaerd, Denmark.

Alcalase là enzyme thủy phân protein thu nhận từ *Bacillus licheniformis*. Chúng có khả năng phân cắt các liên kết peptide nội phân tử (endopeptidase) để chuyển các phân tử protein thành peptide. Các điều kiện tối thích cho enzyme Alcalase là nhiệt độ từ 55°C đến 70°C, phụ thuộc vào loại cơ chất, và giá trị pH là từ 6,5 đến 8,5.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định tỷ lệ enzyme Alcalase/nguyên liệu vỏ đầu tôm thích hợp cho phản ứng enzyme thủy phân protein

Cho 50g vỏ đầu tôm đã nghiền nhỏ (kích thước 2 – 3mm) vào các bao PE dán, bổ sung 50ml nước (trước đó điều chỉnh pH nước về pH = 8 bằng NaOH 20%). Thêm enzyme Alcalase 2.4L với các tỉ lệ là 0,5%, 1,0 %, 1,5% và 2,0% so với khối lượng nguyên liệu vỏ đầu tôm. Quá trình thủy phân được thực hiện ở nhiệt độ 45°C trong thời gian 80 phút. Tiến hành thu dịch thủy phân và đánh giá các chỉ tiêu chất lượng.

2.2.2. Xác định giá trị pH thích hợp cho phản ứng enzyme thủy phân protein trong vỏ đầu tôm

Cho 50g vỏ đầu tôm đã nghiền nhỏ (kích thước 2 - 3mm) vào bao PE dán, bổ sung 50ml nước, điều chỉnh pH môi trường các mẫu tương ứng pH = 6, pH = 7, pH = 8, pH = 9 bằng dung dịch NaOH 20%. Thêm enzyme Alcalase 2.4L với tỉ lệ 1,5% so với khối lượng nguyên liệu vỏ đầu tôm. Quá trình thủy phân được thực hiện ở nhiệt độ 45°C trong thời gian 80 phút. Tiến hành thu dịch thủy phân và đánh giá các chỉ tiêu chất lượng nhằm tối ưu hóa thông số tiếp theo.

2.2.3. Xác định nhiệt độ thích hợp cho phản ứng enzyme thủy phân protein trong vỏ đầu tôm

Cho 50g vỏ đầu tôm đã nghiền nhỏ (kích thước 2 – 3mm) vào bao PE dán, bổ sung 50ml nước, chỉnh pH môi trường về pH = 8 bằng NaOH 20%. Thêm enzyme Alcalase 2.4L với tỉ lệ là 1,5% so với khối lượng nguyên liệu vỏ đầu tôm. Quá trình thủy phân được thực hiện ở các giá trị nhiệt độ là 40°C, 45°C, 50°C, 55°C trong thời gian 80 phút. Tiến hành thu dịch thủy phân và đánh giá các chỉ tiêu chất lượng.

2.2.4. Hiệu suất thu hồi protein từ vỏ đầu tôm

Hiệu suất thu hồi protein từ vỏ đầu tôm được tính theo công thức:

$$H(\%) = \frac{C_{N1}}{C_{N2}} \times 100$$

Trong đó: C_{N1} - là hàm lượng protein trong dịch đậm;

C_{N2} - là hàm lượng protein trong vỏ đầu tôm nguyên liệu (Hàm lượng protein được xác định thông qua hàm lượng nitơ tổng số nhân với hệ số chuyển đổi là 6,25)

2.3. Các phương pháp phân tích

2.3.1. Các phương pháp phân tích thành phần nguyên liệu và chất lượng PPH

- Nghiên cứu sử dụng các phương pháp phân tích chuẩn theo quy định hiện hành để phân tích thành phần hóa học của nguyên liệu và sản phẩm PPH. Cụ thể như sau: hàm lượng protein được xác định bằng phương pháp Kjeldahl; hàm lượng lipit được xác định theo tiêu chuẩn NMKL số 131 – 1989; hàm lượng ẩm được xác định theo tiêu chuẩn NMKL số 23 – 1991; hàm lượng tro được xác định theo tiêu chuẩn NMKL số 173-2005; hàm lượng nitơ amin được xác định theo TCVN 3708 – 1990; hàm lượng axit amin được xác định theo TCVN 8764 – 2012.

- Hàm lượng astaxanthin trong đầu tôm được phân tích theo phương pháp của Metusalach [4] và Tolasa và cộng sự [5]. Cân chính xác 1g mẫu cho vào ống đồng hóa (hay cốc thủy tinh).

Thêm 5ml dung môi chứa hexan và isopropanol với tỷ lệ 3:2 (v:v). Đồng hóa trong 2 phút với tốc độ 15000 vòng/phút. Để yên 30 phút. Sau đó tiến hành lọc qua giấy lọc Whatman No.1. Tách chiết 3 lần. Dịch chiết được đựng trong bình chiết và bổ sung thêm nước muối sinh lý với tỷ lệ 1:2. Lắc nhẹ bình chiết và để yên trong 10 phút ở nhiệt độ phòng cho tách pha hoàn toàn. Tách bỏ pha dưới, lấy pha hexan bên trên. Sau đó, rửa pha hexan bằng nước muối sinh lý. Tiến hành cô quay chân không ở 40°C để bay hơi hexan. Hòa tan mẫu với ete dầu hỏa và định mức lên 10ml. Sau đó, tiến hành pha loãng mẫu (nếu cần) và đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 468 nm (A468), dùng ete dầu hỏa làm dung dịch so sánh. Hàm lượng astaxanthin tổng số trong mẫu được tính theo công thức của Saito và Regier (1971):

$$C(\mu\text{g} / \text{g}) = \frac{A \times D \times V}{0,2 \times G}$$

Trong đó: C : là hàm lượng astaxanthin ($\mu\text{g/g}$ mẫu);

A : độ hấp thụ của dung dịch ở 468 nm;

V : thể tích pha loãng (ml);

D : hệ số pha loãng;

G : trọng lượng mẫu khô (g);

0,2: là độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 468 nm của 1 $\mu\text{g/ml}$ astaxanthin chuẩn.

2.3.2. Các phương pháp phân tích vi sinh

Khả năng lây nhiễm vi sinh vật có hại của PPH được đánh giá thông qua việc: định lượng tổng số vi sinh vật hiếu khí theo TCVN 4884 – 2005; định lượng *Coliforms* theo TCVN 6848 – 2007; định lượng *E. coli* β - glucuronidase dương tính theo TCVN 7924 – 2008; định lượng *Staphylococcus aureus* tiêu chuẩn NMKL 66 – 2003.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

- Các thí nghiệm trong nghiên cứu được lặp lại tối thiểu 3 lần, kết quả đưa ra là trung bình hoặc có tính chất đại diện tốt nhất cho 3 lần thí nghiệm.

Trong một số thí nghiệm có số lần lặp lại cao hơn và số liệu được xử lý thống kê.

- Các kết quả được tính toán và xử lý bằng chương trình Microsoft Excel 2010.

3. Kết quả nghiên cứu và khảo sát

3.1. Kết quả xác định thành phần hóa học của vỏ đầu tôm

Bảng 1 cho thấy độ ẩm của vỏ đầu tôm nguyên liệu là 79,5%, hàm lượng protein chiếm 63,1% và khoáng chiếm 18,7% theo hàm lượng chất khô.

Bảng 1. Thành phần hóa học của nguyên liệu vỏ đầu tôm thẻ chân trắng

STT	Chỉ tiêu phân tích	Đơn vị	Kết quả
1	Độ ẩm	%	79,5±0,3
2	Hàm lượng tro	%	18,7±0,06
3	Hàm lượng protein	%	63,1±0,07
4	Hàm lượng lipit	%	9,7±0,4
5	Hàm lượng astaxanthin	mg/kg	141,8±0,3

Theo nghiên cứu của Trang Sĩ Trung và cộng sự [5], hàm lượng protein chiếm 54,4% và hàm lượng khoáng chiếm 21,2% theo hàm lượng chất khô của nguyên liệu vỏ

đầu tôm thẻ chân trắng. Các kết quả phân tích hàm lượng protein và khoáng trong các thí nghiệm này có sự chênh lệch so với tác giả trước có thể giải thích là do đặc điểm về loài, thành phần thức ăn và chu kì sinh sản của tôm chân trắng và vị trí địa lý.

Hàm lượng astaxanthin (carotenoid) trong nguyên liệu vỏ đầu tôm chân trắng khoảng 141,85 mg/kg theo hàm lượng chất khô, đây là thành phần thường được thu hồi để ứng dụng trong y học và công nghệ thực phẩm [4; 5; 6].

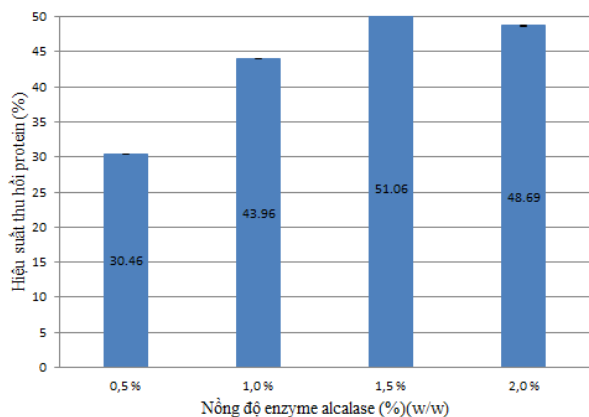
Theo Sachindra và cộng sự [7], hàm lượng carotenoid chứa trong vỏ đầu tôm khoảng 35 – 153 µg/g. Thành phần carotenoid này sẽ ảnh hưởng nhiều đến chất lượng cảm quan của sản phẩm chitin đồng thời làm ô nhiễm nguồn nước, do đó cần xử lý triệt để trong quá trình sản xuất chitin.

Thành phần chính của carotenoid trong vỏ đầu tôm là astaxanthin (86-96%) nên có thể hiệu thu carotenoid là thu astaxanthin.

3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng tỉ lệ enzyme Alcalase/ vỏ đầu tôm đến hiệu suất thủy phân protein từ vỏ đầu tôm

Nồng độ cơ chất và nồng độ enzyme có ảnh hưởng đến tốc độ của phản ứng enzyme [13]. Trong Hình 1, hiệu suất thu hồi protein phụ thuộc nhiều vào nồng độ enzyme Alcalase sử dụng. Ở tỷ lệ 0,5% enzyme Alcalase, hiệu suất thu hồi protein là 30,46%, khi tỷ lệ enzyme tăng lên gấp hai, gấp ba lần thì hiệu suất thu hồi tăng lên tương ứng là 43,96% và 51,06%. Việc tăng tỷ lệ enzyme làm tăng hiệu suất thu hồi protein do số lượng phân tử enzyme tiếp xúc và phân cắt protein trong tăng. Nhưng khi tỷ lệ enzyme Alcalase/ vỏ đầu tôm tăng lên 2,0% thì hiệu suất đạt 48,69%.

Shahidi và cộng sự [10] đã chứng minh rằng trong giai đoạn đầu của quá trình thủy phân, lượng lớn protein hòa tan sẽ được giải phóng và không có sự tăng lên các sản phẩm thủy phân hòa tan khi thêm enzyme trong giai đoạn ổn định của quá trình thủy phân.



Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ Enzyme alcalase đến hiệu suất thu hồi protein từ vỏ đầu tôm

Diniz và Martin [11] đã báo cáo rằng, khi cơ chất có mặt trong dịch thủy phân được gắn vào trung tâm hoạt động của enzyme, các enzyme tự do có thể sẽ ức chế quá trình thủy phân và có thể thủy phân chúng. Bởi vậy, việc tăng nồng độ enzyme lên quá cao trên 4% không được khuyến khích và sẽ không kinh tế.

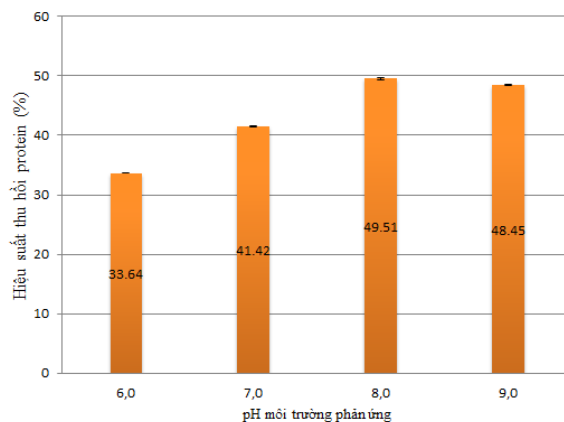
Với phân tích trên đây, sử dụng tỷ lệ enzyme Alcalase là 1,5% thì hiệu suất thu hồi protein là tốt nhất –

đạt mức 51,06%. Kết quả này sẽ được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của độ pH đến hiệu suất thủy phân protein trong vỏ đầu tôm bằng enzyme

Theo Phạm Thị Trân Châu [12], pH môi trường ảnh hưởng rõ rệt đến phản ứng enzyme vì nó ảnh hưởng đến mức độ ion hóa cơ chất, enzyme và ảnh hưởng đến độ bền của protein enzyme.

Hình 2 thể hiện ảnh hưởng của pH đến hiệu suất thu hồi protein từ vỏ đầu tôm.



Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ pH đến hiệu suất thu hồi protein từ vỏ đầu tôm

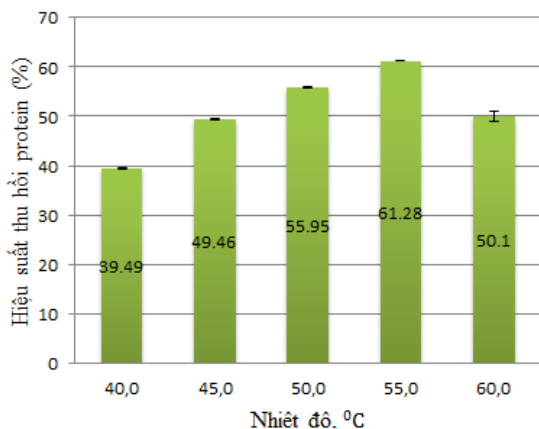
Khi sử dụng pH = 6 cho phản ứng thủy phân protein, đây chưa phải là mức pH tối thích cho hoạt động của enzyme Alcalase, bởi vậy hiệu suất thu hồi chỉ đạt 33,64%. Khi phản ứng thủy phân vỏ đầu tôm được thực hiện ở pH trung tính (pH = 7), hiệu suất thu hồi protein đã tăng lên một cách đáng kể, khoảng 41,42%. Và khi phản ứng thủy phân thực hiện ở giá trị pH là 8 thì hiệu suất thu hồi là 49,51%, đạt cao nhất trong bốn phản ứng. Và cuối cùng, khi cho phản ứng xảy ra ở pH = 9 thì đây không còn là điều kiện tối thích cho enzyme Alcalase hoạt động, hiệu suất thu hồi protein giảm xuống còn 48,45%, điều này có thể giải thích do khi pH tăng sẽ ảnh hưởng đến độ bền của enzyme làm cho hoạt động của nó trở nên yếu hơn, kéo theo làm giảm lượng protein tạo thành. Như vậy, giá trị pH = 8 sẽ là pH tối ưu cho quá trình thủy phân vỏ đầu tôm thẻ chân trắng. Kết quả này sẽ được sử dụng để thực hiện thí nghiệm tiếp theo.

3.4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất thủy phân protein

Theo Nguyễn Đức Lượng [13], nhiệt độ ảnh hưởng rất lớn đến phản ứng enzyme và người ta thường sử dụng yếu tố nhiệt độ để điều khiển hoạt động của enzyme và tốc độ phản ứng trong bảo quản và chế biến thực phẩm.

Hình 3 thể hiện ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất thu hồi protein từ vỏ đầu tôm. Như thấy được trong hình, sự thay đổi nhiệt độ ảnh hưởng rõ rệt nhất đến hiệu suất thu hồi protein. Ở nhiệt độ 40°C, hiệu suất thu hồi protein là 39,49%, khi tăng nhiệt độ lên thêm 5°C thì hiệu suất thu hồi protein tăng thêm 9,97%. Khi thực hiện phản ứng thủy phân ở 50°C thì hiệu suất thu hồi vẫn tăng nhưng tăng chậm, chỉ tăng thêm 6,48% so với nhiệt độ 45°C. Tiếp theo, thí nghiệm được tiến hành ở 55°C, hiệu suất thu hồi protein chỉ tăng thêm 5,33% so với khi thực hiện ở 50°C. Hiệu suất

thu hồi protein cao nhất ở nhiệt độ 55°C. Nhưng ở mức nhiệt độ 60°C thì hiệu suất thu hồi protein lại giảm, chỉ đạt mức 50,1% có thể do enzyme bắt đầu bị biến tính dưới tác dụng của nhiệt độ cao.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất thu hồi protein từ vỏ đầu tôm

Satya S. Dey & Krushna Chandra Dora [14], khi nghiên cứu thủy phân thu hồi protein từ vỏ đầu tôm sú *Penaeus monodon* bằng 4 loại enzyme Alcalase, Neutrase, Protamex, Flavourzyme cho thấy Alcalase có tác dụng tốt nhất. Chế độ tối ưu đề xuất thủy phân là ở nhiệt độ 59,37°C, pH 8,25, tỷ lệ enzyme/cơ chất 1,84%, thời gian 84,42 phút. Như vậy, nếu so sánh với kết quả nghiên cứu của bài báo này thì có sự khác biệt đáng kể. Điều này có thể giải thích do nghiên cứu của Satya S. Dey & Krushna Chandra Dora thủy phân trên đối tượng là tôm sú khác với đối tượng sử dụng trong nghiên cứu này là tôm thẻ chân trắng. Ngoài ra, do thành phần của vỏ đầu tôm nguyên liệu tôm khác nhau theo vị trí địa lý, mùa vụ sinh trưởng, điều kiện môi trường thủy phân, ... nên kết quả ở đây có sự khác nhau.

Như vậy, nhiệt độ 55°C là thích hợp cho quá trình thủy phân vỏ đầu tôm bằng enzyme Alcalase.

3.5. Kết quả khảo sát chất lượng PPH

Từ những nghiên cứu và luận giải trên đây, điều kiện phản ứng enzyme xác định được là nhiệt độ môi trường phản ứng 55°C, tỉ lệ enzyme Alcalase/vỏ đầu tôm là 1,5%, giá trị pH = 8 (được điều chỉnh bằng NaOH), thời gian phản ứng là 80 phút.



Hình 4. Mẫu PPH từ vỏ đầu tôm

Nhóm nghiên cứu đã tiến hành thu PPH ở điều kiện xác định được, hiệu suất thu protein đạt 61,28±0,5 % so với

hàm lượng trong nguyên liệu ban đầu, sau đó phân tích các chỉ tiêu chất lượng PPH thu được. Trên Hình 4 là mẫu chế phẩm PPH thu được sau khi thực hiện phản ứng enzyme.

3.5.1. Thành phần hóa học và thành phẩm acid amin của PPH

Kết quả xác định thành phần hóa học và đặc tính hóa lý của PPH được trình bày trong Bảng 2

Bảng 2. Kết quả phân tích thành phần hóa học PPH

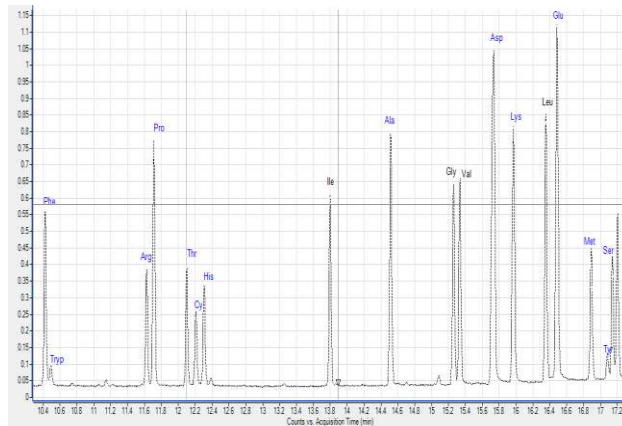
Chỉ tiêu phân tích	Đơn vị	Kết quả
Độ ẩm	%	90,5±0,06
Khoáng	%	0,82±0,4
Protein (N×6,26)	%	7,93±0,03
Lipit	%	0,95±0,5
Astaxanthin	mg/kg	25,5±0,5
Nitơ axit amin	g/l	0,87±0,07
pH	-	7,0-7,5

Phân tích kết quả trong Bảng 2, cho thấy hàm lượng protein đạt mức 7,93%, hàm lượng nitơ axit amin ở mức 0,87g/l. Trong chế phẩm PPH còn chứa lipit và astaxanthin, đây là những thành phần có giá trị dinh dưỡng và giá trị sinh học cao.

Kết quả phân tích thành phần các axit amin trong PPH được trình bày trong Bảng 3 và trên sắc kí đồ HPLC (Hình 5)

Bảng 3. Thành phần các axit amin trong chế phẩm PPH

STT	Axit amin	Kết quả (g/l)	STT	Axit amin	Kết quả (g/l)
1	Alanine	0,58	10	Glutamic axit	0,89
2	Glycine	0,52	11	Phenylalanine	0,27
3	Proline	0,56	12	Asparagine	0,68
4	Valine	0,44	13	Arginine	0,18
5	Serine	0,16	14	Cystine	0,1
6	Leucine	0,67	15	Lysine	0,66
7	Isoleucine	0,43	16	Histidine	0,14
8	Threonine	0,18	17	Tyrosine	0,09
9	Methionine	0,18	18	Tryptophan	0,03



Hình 5. Sắc kí đồ HPLC thu được khi phân tích thành phần axit amin của chế phẩm PPH

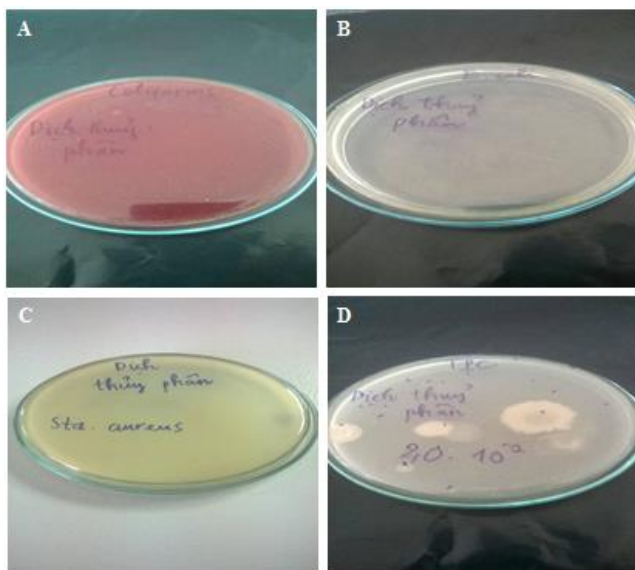
Trong Bảng 3, ta thấy PPH thu được từ quá trình thủy phân vỏ đầu tôm bằng enzyme alcalase 2.4L chứa tổng hàm lượng axit amin là 6,76 g/l. Đặc biệt là các axit amin thiết yếu có giá trị cao về dinh dưỡng như valine, leucine, isoleucine, methionine, threonine, phenylalanine, tryptophan, lysine, arginine, histidine [17].

Ibrahim và cộng sự [15], đã nghiên cứu thành phần các

axit amin trong vỏ đầu tôm sấy khô và nhận thấy trong nguyên liệu có chứa lượng các axit amin như axit glutamic (8,38%), lysine (3,13%), valine (4,56%), asparagine (2,36%), proline (2,0%). Do trong nghiên cứu của Ibrahim và cộng sự đã sử dụng tôm sấy khô, dưới tác dụng của nhiệt độ nên đã làm hao hụt phần lớn các axit amin. Vì vậy so với kết quả nghiên cứu này thì có sự khác biệt như trên đã phân tích.

3.5.2. Kết quả phân tích các vi sinh vật gây bệnh trong PPH

Kết quả phân tích vi sinh vật trong PPH được trình bày trên Hình 6 và Bảng 4.



Hình 6. Kết quả phân tích các vi sinh vật gây bệnh:

A – Coliforms; B – *Escherichia coli*;

C – *Staphylococcus aureus*; D – Tổng số vi sinh vật hiếu khí

Qua kết quả phân tích vi sinh vật thấy được chất lượng của PPH là khá tốt. Các chỉ tiêu *Coliforms*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ở mức dưới 01 CFU/ml và tổng số vi sinh vật hiếu khí là $2,0 \times 10^1$ CFU/ml, các kết quả này đều nằm trong giới hạn cho phép đối với các loại thức ăn chăn nuôi [16]. Điều này có thể giải thích do chế độ pH và nhiệt độ trong quá trình thủy phân đã ức chế gần như hoàn toàn các vi sinh vật gây bệnh. Phần lớn các vi sinh vật này phát triển ở nhiệt độ 30 – 37°C, nên khi nâng nhiệt độ lên 55°C kéo dài trong 80 phút thì hầu hết các vi sinh vật đã bị tiêu diệt.

Bảng 4. Kết quả phân tích vi sinh vật trong PPH

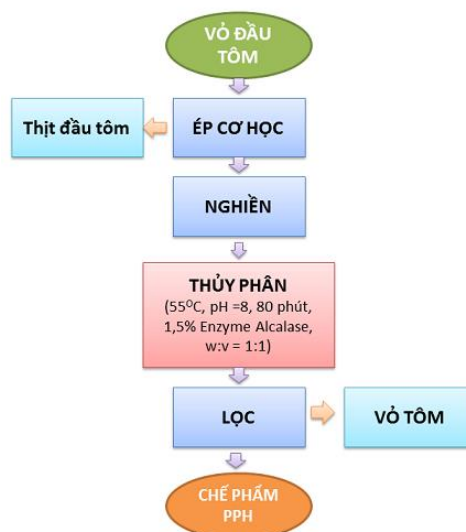
Chỉ tiêu phân tích	Đơn vị	Kết quả
Tổng số vi sinh vật hiếu khí	CFU/ml	$2,0 \times 10^1$
<i>Coliforms</i>	CFU/ml	<1,0
<i>Escherichia coli</i>	CFU/ml	<1,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	CFU/ml	<1,0

3.6. Đề xuất quy trình công nghệ thu nhận PPH từ vỏ đầu tôm

Trên cơ sở các kết quả nghiên cứu ở trên, nhóm nghiên cứu đề xuất quy trình công nghệ thu hồi PPH như Hình 7.

Quy trình công nghệ được mô tả như sau: Vỏ đầu tôm sau quá trình rửa và xử lý để loại bỏ tạp chất được đưa vào máy ép cơ học. Dưới tác dụng nén ép của trục vít phần thịt đầu tôm sẽ được tách ra khỏi phần bã vỏ đầu tôm dưới dạng dịch. Phần này sau đó được tinh chế và sử dụng như PPH.

Sau khi ép, vỏ tôm được nghiền tới kích thước 1-3 mm và đưa sang quá trình thủy phân bằng enzyme Alcalase. Quá trình thủy phân protein từ vỏ đầu tôm được thực hiện ở nhiệt độ 55°C, tỉ lệ enzyme Alcalase/vỏ đầu tôm là 1,5%, tỉ lệ nước cất/ nguyên liệu là 1:1, giá trị pH = 8 trong thời gian 80 phút. Sau khi kết thúc quá trình thủy phân, dịch thủy phân protein được lọc và tách khỏi bã vỏ đầu tôm, quá trình lọc có thể thực hiện trong máy lọc ép khung bản. Dịch lọc thu được mang đi tinh chế qua các quá trình đồng hóa, và cô đặc chân không để tạo PPH.



Hình 7. Quy trình công nghệ thu nhận PPH từ vỏ đầu tôm

4. Kết luận

Từ các kết quả nghiên cứu chúng tôi rút ra những kết luận sau đây:

- Đã xác định được thành phần hóa học của vỏ đầu tôm nguyên liệu, trong đó hàm lượng protein là 63,1%, lipid là 9,7%, astaxanthin là 141,85 mg/kg theo hàm lượng chất khô.

- Xác định được điều kiện thích hợp cho phản ứng enzyme thủy phân protein trong vỏ đầu tôm nghiền nhỏ. Cụ thể: tỉ lệ enzyme Alcalase/ vỏ đầu tôm là 1,5%, nhiệt độ và pH môi trường phản ứng $t=55^{\circ}\text{C}$, pH = 8; thời gian phản ứng là 80 phút. Hiệu suất thu protein đạt $61,28 \pm 0,5\%$ so với hàm lượng trong nguyên liệu ban đầu.

- Phân tích thành phần axit amin của PPH cho thấy chứa hầu hết các axit amin như valine (0,44 g/l), lysine (0,66 g/l), leucine (0,67 g/l), alanine (0,58 g/l), glycine (0,52 g/l), proline (0,56 g/l), axit glutamic (0,89 g/l), asparagine (0,68 g/l). Đây là các axit amin có giá trị dinh dưỡng, có thể được sử dụng cho công nghệ thực phẩm và thức ăn chăn nuôi.

- PPH có các chỉ tiêu vi sinh như *Coliforms*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* nhỏ hơn 1 CFU/ml và tổng số vi sinh vật hiếu khí là $2,0 \times 10^1$ CFU/ml, các kết quả này đều nằm trong giới hạn cho phép đối với các loại thức ăn chăn nuôi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Prameela Kandra & Murali Mohan Challa & Hemalatha Kalangi Padma Jyothi, "Efficient use of shrimp waste: present and future trends". *Appl Microbiol Biotechnol* 2012, №93:pp. 17–29.

- [2] Trang Sĩ Trung, Trần Thị Luyên, Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Thị Hằng Phương. *Chitin-Chitosan từ phế liệu thủy sản và ứng dụng*. NXB Nông nghiệp, TP. HCM, 2010.
- [3] Đỗ Văn Nam và ctv, “Nghiên cứu đánh giá hiện trạng môi trường các cơ sở chế biến thủy sản, đề xuất các giải pháp quản lý”. *Viện nghiên cứu Hải Sản*, Hải Phòng, 2005.
- [4] Metusalach, Brown, J.A., Shahidi, F., “Effects of stocking density on colour characteristics and deposition of carotenoids in cultured Arctic char (*Salvelinus alpinus*)”. *Food Chemistry*, №59, 1997, pp.107–114.
- [5] Tolasa, S., Cakli, S., Ostermeyer, U., “Determination of astaxanthin and canthaxanthin in salmonid”. *European Food Research and Technology*, № 221, 2005, pp. 787–791.
- [6] Trang Sĩ Trung and Phạm Thị Doan Phương, “Bioactive Compounds from By-Products of Shrimp Processing Industry in Vietnam”, *Journal of Food and Drug Analysis*, № 20(1), 2012, pp. 194–197.
- [7] N.M. Sachindra, N. Bhaskar, N.S. Mahendrakar, “Recovery of carotenoids from shrimp waste in organic solvents”, *Waste Management*, № 26, 2006, pp. 1092–1098.
- [8] Nguyễn Văn Ngoan và cộng sự, *Nghiên cứu công nghệ tổng hợp sử dụng phế thải trong sản xuất tôm đông lạnh xuất khẩu*, Đề tài KN-04-07, Viện nghiên cứu hải sản, Hải Phòng, 1995.
- [9] Haslaniza, H., Maskat, M. Y., Wan Aida, W. M. and Mamot, S., “The effects of enzyme concentration, temperature and incubation time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cockle (*Anadara granosa*) meat wash water”, *International Food Research Journal*, № 17, 2010, pp. 147–152.
- [10] Fereidoon Shahidi, Xiao-Qing Han & Jozef Synowiecki, “Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*)”, *Food Chemistry*, № 53, 1995, pp. 285–293.
- [11] Diniz F.M, Martin A.M., “Use of response surface methodology to describe the combined effects of pH, temperature and E/S ratio on the hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) muscle”, *Int J Food Sci Tech*, № 31, 1996, pp. 419–426.
- [12] Phạm Thị Trân Châu, Trần Thị Áng, *Hóa sinh học*, Nhà xuất bản Giáo dục, 2006.
- [13] Nguyễn Đức Lương, *Công nghệ enzyme*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, 2004.
- [14] Satya Sadhan Dey & Krushna Chandra Dora, “Antioxidative activity of protein hydrolysate produced by alcalase hydrolysis from shrimp waste (*Penaeus monodon* and *Penaeus indicus*)”, *Journal of Food Science and Technology*, Volume 51, Issue 3, March 2014, pp. 449–457.
- [15] H.M. Ibrahim, M.F. Salama and H.A. El-Banna, “Shrimp’s waste: Chemical composition, nutritional value and utilization”. *Molecular Nutrition & Food Research*, Volume 43(6), 1999, pp. 418–423.
- [16] QCVN 01-183:2016/BNNPTNT *Quy định giới hạn tối đa cho phép hàm lượng độc tố nấm mốc, kim loại nặng và vi sinh vật trong thức ăn hỗn hợp cho gia súc, gia cầm*, Hà Nội, 2016.
- [17] Lê Ngọc Tú và cộng sự. *Hóa sinh công nghiệp*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, 1997.

(BBT nhận bài: 20/04/2017, hoàn tất thủ tục phản biện: 25/07/2017)