

NGHIÊN CỨU CHẾ BIẾN BỘT NÊM THỰC PHẨM TỪ DỊCH ĐẠM THỦY PHÂN THỊT CÁ RÔ PHI (*Oreochromis niloticus*) BẰNG HỖN HỢP ALCALASE VÀ FLAVOURZYME

Trương Thị Mộng Thu^{1*}, Nguyễn Chí Cường²

¹Trường Đại học Cần Thơ;

²Trường Đại học Tây Đô.

*Tác giả liên hệ: ttmthu@ctu.edu.vn

Nhận bài: 17/02/2021 Hoàn thành phản biện: 31/03/2021 Chấp nhận bài: 25/06/2021

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến chất lượng bột nêm thực phẩm từ thịt cá rô phi. Nghiên cứu bao gồm 3 thí nghiệm: (i) ảnh hưởng của tỷ lệ hỗn hợp enzyme Alcalase và Flavourzyme (AF) so với cơ chất và thời gian thủy phân; (ii) tỷ lệ dịch bắp và dịch đạm thủy phân; và (iii) thời gian bảo quản ở nhiệt độ phòng đến chất lượng sản phẩm. Kết quả cho thấy thịt cá rô phi được thủy phân với tỷ lệ hỗn hợp enzyme AF so với cơ chất là 0,3% trong 20 giờ cho hàm lượng peptide, đạm amin cao nhất lần lượt là 28,4 g/L; 9,22 g/L và đạm amon thấp là 0,257 g/L. Bột nêm thu được có chất lượng cảm quan tốt nhất theo phương pháp cho điểm đạt 19,3; hàm lượng protein là 16,9% và hiệu suất thu hồi cao đạt 37,6%, trong khi độ ẩm thấp là 3,84% khi phối trộn dịch bắp với dịch đạm thủy phân theo tỷ lệ 25% dịch bắp: 40% dịch đạm thủy phân và sấy ở 60°C trong 72 giờ. Bột nêm thành phẩm vẫn đảm bảo chất lượng cảm quan và an toàn vệ sinh thực phẩm ít nhất 4 tuần ở nhiệt độ phòng. Kết quả này mở ra khả năng sản xuất các dòng sản phẩm mới, có giá trị dinh dưỡng và cảm quan cao.

Từ khóa: Alcalase, Bột nêm, Cá rô phi, Flavourzyme, Hạt bắp, Thủy phân

STUDY ON PREPARATION OF FISH SEASONING POWDER PRODUCT FROM FISH PROTEIN HYDROLYSATE OF NILE TILAPIA FLESH BY USING ALCALASE AND FLAVOURZYME ENZYME MIXTURE

Truong Thi Mong Thu^{1*}, Nguyen Chi Cuong²

¹Can Tho University;

²Tay Do University.

ABSTRACT

The study was conducted to investigate the effects of technological factors on the quality of fish seasoning powder from fish protein hydrolysate of Nile tilapia flesh. The research included three experiments: (i) the effects of the ratio of Alcalase and Flavourzyme (AF) enzyme mixture to substrate and hydrolysis time; (ii) the ratio of corn juice and fish protein hydrolysate; (iii) storage time at room temperature on the product quality. The results showed that hydrolyzed samples at the ratio of AF mixture to substrate was 0.3% for 20 hours to give the highest peptide and amino acid contents (28.4 g/L and 9.22 g/L, respectively) and low ammonia content of 0.257 g/L. Fish seasoning powder had good sensory score (19.3), high protein content (16.9%) and recovery yield (37.6%) whereas low moisture content (3.84%) when mixing corn juice and fish protein hydrolysate at the ratio of corn juice: fish protein hydrolysate of 25%: 40% (w/w) and drying at 60°C for 72 hours. The product still remained good sensory quality and total aerobic bacteria in acceptable level at least four weeks of storage period at room temperature. This result opens up the possibilities for the production of new products with high nutritional and sensory value.

Keywords: Alcalase and Flavourzyme, Corn seed, Fish seasoning powder, Hydrolysis, Nile tilapia

1. MỞ ĐẦU

Với tỷ lệ tăng trưởng nhanh, dễ nuôi, sản lượng cá rô phi ngày càng tăng ước đạt 232 nghìn tấn năm 2018 (VASEP, 2018). Đồng thời, sản lượng tiêu thụ cũng ngày càng tăng vì giá thành thấp, giá trị dinh dưỡng cao, cơ thịt trắng, ngon, chứa nhiều Omega-3 hơn các loài cá nước ngọt khác (Mohamed và cs., 2016). Tuy nhiên, cá rô phi tiêu thụ chủ yếu ở thị trường trong nước, chưa được xuất khẩu nhiều nên giá trị kinh tế thấp. Do đó, việc sử dụng enzyme thương mại để thủy phân thịt cá rô phi đã và đang được coi là một trong những phương pháp hiệu quả nhất nhằm đa dạng hóa các sản phẩm từ cá rô phi, góp phần nâng cao giá trị nguồn nguyên liệu và mang lại thu nhập cao cho người nuôi là rất cần thiết. 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 và cs., 2011). Alcalase có hoạt tính endopeptidase có nguồn gốc từ vi khuẩn *Bacillus licheniformis* (Liaset và cs., 2002). Loại endopeptidase này thủy phân liên kết peptide chủ yếu tại các nhóm -COOH trong phân tử protein (Chiang và cs., 2019). Flavourzyme có cả hoạt tính endopeptidase và exopeptidase nhưng chủ yếu là exopeptidase, có nguồn gốc từ *Aspergillus oryzae* (Kamnerdpetch và cs., 2007). Nhờ vào hoạt tính exopeptidase của Flavourzyme, thủy phân từ đầu-C hoặc đầu-N của các axit amin kỵ nước cuối cùng của phân tử protein dẫn đến giảm vị đắng của dịch đậm thủy phân thu được (Chiang và cs., 2019). Vì vậy, Trần Kiều Anh và cs. (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: Flavourzyme (AF) để thủy phân cá nục gai (*Decapterus russelli*) thu hồi dịch đậm thủy phân. 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. Bên cạnh đó, bột nêm được sản xuất chủ yếu từ thịt heo và nấm (Phạm Thị Đan Phượng, 2013). Sản xuất bột nêm từ dịch đậm thủy phân thu được từ quá trình thủy phân nguyên liệu và phụ phẩm thủy sản là 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 bột canh theo 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 AF. Hạt bắp được sử dụng trong thực phẩm để tạo vị ngọt, hạt bắp còn cung cấp tinh bột, protein, các axit amin thiết yếu (Blumenthal và cs., 2008). Chính vì vậy, việc nghiên cứu chế biến bột nêm thực phẩm từ dịch đậm thủy phân protein từ thịt cá rô phi bằng hỗn hợp AF được thực hiện nhằm khảo sát các yếu tố ảnh hưởng trong quá trình thủy phân thịt cá, tỷ lệ phối trộn dịch bắp với dịch đậm thủy phân và thời gian bảo quản đến chất lượng sản phẩm. 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 rô phi.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Nguyên liệu chính là cá rô phi còn sống có khối lượng khoảng 300 g đến 400 g/con được mua từ 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 $55 \div 70^\circ\text{C}$, pH = $6,5 \div 8,5$. Enzyme Flavourzyme có hoạt độ là 500 LAPU (Leucine Aminopeptidase Units)/g, điều kiện hoạt động thích hợp là $50 \div 55^\circ\text{C}$, pH = $5,0 \div 7,0$.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Cách chuẩn bị mẫu

Cá sau khi mua về fillet tách lấy thịt, rửa sạch tạp chất, cắt nhỏ, xay thô 60 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 học của nguyên liệu ban đầu

Thịt cá rô phi xay được xử lý theo mục 2.2.1 được tiến hành phân tích thành phần hóa học như độ ẩm, protein, lipid và khoáng.

2.2.3. Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ hỗn hợp enzyme Alcalase: Flavourzyme so với cơ chất và thời gian thủy phân đến chất lượng của dịch đậm thủy phân

Mẫu cá chuẩn bị theo mục 2.2.1 được thủy phân theo phương pháp của Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn (2017) với một vài 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: Flavourzyme (AF) so với cơ chất và thời gian thủy phân là 0,2%; 0,3% và 0,4% trong thời gian 20 giờ và 26 giờ), 6 nghiệm thức, lặp lại 3 lần. Khối lượng mỗi mẫu là 30 g thịt cá xay. Tiến hành thủy phân ở pH từ 6,5 đến 6,9; tỷ lệ giữa 2 enzyme Alcalase và Flavourzyme là 1:3, nhiệt độ thủy phân là 55°C (dựa trên nhiệt độ hoạt động của enzyme Alcalase là $55 \div 70^\circ\text{C}$ và Flavourzyme là $50 \div 55^\circ\text{C}$). Sử dụng

ethanol như chất phòng thối trong quá trình thủy phân theo nghiên cứu của Lý Thị Minh Phương (2011) với tỷ lệ thịt cá xay: dung dịch ethanol 20° là 1:1. Cho enzyme vào dung dịch ethanol 20° , lắc đều trước khi cho dung dịch enzyme vào thịt cá xay nhằm tạo điều kiện cho enzyme tiếp xúc đều với cơ chất. Sau khi thủy phân, tiến hành bất hoạt enzyme ở nhiệt độ 95°C trong thời gian 10 phút, lọc qua rây để loại bỏ tạp chất, thu được dịch đậm thủy phân. Dịch đậm thủy phân được phân tích chỉ tiêu như hàm lượng peptide, đạm amin, đạm amon. Từ kết quả trên chọn ra tỷ lệ hỗn hợp enzyme so với cơ chất và thời gian thủy phân thích hợp nhất.

2.2.4. Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ dịch bắp: dịch đậm thủy phân đến chất lượng cảm quan, hiệu suất thu hồi, độ ẩm và đạm tổng số của bột nêm thành phẩm

Dịch đậm thủy phân thu được từ thí nghiệm 1, được sử dụng để tiến hành thí nghiệm 2. Thí nghiệm được thực hiện với 1 nhân tố (tỷ lệ dịch bắp: dịch đậm thủy phân), 4 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Khối lượng mỗi mẫu là 30 g hỗn hợp (gồm 65% dịch bắp: dịch đậm thủy phân và 35% phụ gia, gia vị). Bắp được tách hạt, xay nhuyễn bổ sung nước với tỷ lệ bắp: nước là 1:1 (w/v), lọc bằng vải để loại bỏ bã, thu dịch lọc. Dịch bắp được tiến hành phối trộn với tỷ lệ dịch bắp: dịch đậm thủy phân tương ứng là 20:45; 25:40; 30:35 và 35%:30%. Hỗn hợp này đồng thời được bổ sung thêm các gia vị theo tỷ lệ cố định lần lượt là 6% muối, 15% bột bắp, 10% maltodextrin, 3% củ hành và 1% tiêu (Phạm Thị Đan Phượng, 2013). Trộn thật kỹ, trải đều lên khay inox (20 x 30 cm) và sấy ở 60°C trong 72 giờ bằng thiết bị sấy đối lưu tự nhiên ED 400 Binder (Đức) đến độ ẩm $<3\%$ và cảm quan sản phẩm đạt theo TCVN 7396 : 2004 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2004). Sản phẩm sau khi sấy, xay nhuyễn thu được bột nêm thành phẩm. Tiến hành phân tích độ ẩm, đạm tổng số,

hiệu suất thu hồi và đánh giá cảm quan sản phẩm. Từ kết quả trên chọn được tỷ lệ dịch bắp: dịch đậm thủy phân thích hợp nhất.

2.2.5. Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian bảo quản ở nhiệt độ phòng đến chất lượng cảm quan, tổng số vi khuẩn hiếu khí và ẩm độ của bột nêm thành phẩm

Bột nêm thu được ở thí nghiệm 2 được xay nhuyễn, bảo quản bằng túi PA (30 g/PA) và hút chân không ở nhiệt độ phòng (24 - 34°C) trong thời gian 4 tuần (0, 1, 2, 3 và 4 tuần). Tiến hành lấy mẫu với tần suất 1 tuần 1 lần. Thí nghiệm được thực hiện với một nhân tố (thời gian bảo quản), 5 nghiệm thức, 3 lần lặp lại, khối lượng mỗi mẫu là 30 g bột nêm thành phẩm. Các chỉ tiêu phân tích là độ ẩm, đánh giá cảm quan và tổng số vi khuẩn hiếu khí để tìm được thời gian bảo quản thích hợp nhất theo TCVN 7396:2004 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2004).

2.3. Phương pháp phân tích

Thành phần hóa học như độ ẩm, protein, lipid và khoáng của nguyên liệu thịt cá rô phi và bột nêm thành phẩm được xác định theo AOAC (2016).

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 theo TCVN 3215-79 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 1979). Xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí theo 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 đạm amin theo TCVN 3708:1990 và hàm lượng đạm amon theo TCVN 3706:1990 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 1990).

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

Hàm lượng peptide: Chuẩn bị mẫu theo phương pháp của Hultmann và cs, (2012) có điều chỉnh. Cho 1,2 mL dung dịch đậm có pH 5,5 vào ống nghiệm, cho tiếp 0,8 mL dịch đậm thủy phân (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 và cs., (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 ở bước sóng 750 nm.

2.4 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được tính (trung bình, độ lệch chuẩn bằng phần mềm Microsoft Excel 2013). Sự khác biệt giữa các nghiệm thức được phân tích ANOVA hai nhân tố (thí nghiệm 1), ANOVA một nhân tố (thí nghiệm 2,3) và phép thử Duncan ($p < 0,05$) bằng phần mềm SPSS 16.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hóa học của thịt cá rô phi

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. Thành phần hóa học thịt cá rô phi gồm độ ẩm, protein, khoáng, lipid được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Thành phần hóa học của thịt cá rô phi tính theo nguyên liệu tươi (n=3)

Chỉ tiêu	Hàm lượng (%)
Độ ẩm	77,3 ± 0,96
Khoáng	1,03 ± 0,02
Protein	17,2 ± 0,35
Lipid	4,18 ± 1,13

Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn

Từ Bảng 1 cho ta thấy thịt cá rô phi có hàm lượng protein chiếm tỷ lệ khá cao 17,2%, nhưng thấp hơn so với hàm lượng protein trong thịt cá lóc 18,6% (Trần Thị Thanh Trúc và cs., 2016). Nguyên nhân có thể là do loại nguyên liệu khác nhau (Lê Thị Minh Thủy, 2016) dẫn đến kết quả có sự khác biệt. Hàm lượng lipid thấp là 4,18% thích hợp cho việc sản xuất dịch đậm thủy phân (Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn, 2017).

3.2. Hàm lượng peptide, đạm amin, đạm amon của dịch đậm thủy phân theo tỷ lệ hỗn hợp enzyme Alcalase: Flavourzyme so với cơ chất và thời gian thủy phân

Dịch đậm thủy phân có giá trị dinh dưỡng cao, giàu axit amin không thay thế

Bảng 2. Hàm lượng peptide, đạm amin và đạm amon (n=3)

Thời gian thủy phân (giờ)	Tỷ lệ (%) enzyme so với cơ chất	Hàm lượng peptide (g/L)	Đạm amin (g/L)	Đạm amon (g/L)
20	0,2	19,2 ± 2,34 ^{b*}	9,57 ± 0,35 ^d	0,258 ± 0,004 ^a
	0,3	28,4 ± 3,81 ^d	9,22 ± 0,35 ^{cd}	0,257 ± 0,015 ^a
	0,4	19,3 ± 1,18 ^b	7,94 ± 0,20 ^a	0,260 ± 0,023 ^a
26	0,2	20,6 ± 1,60 ^c	9,64 ± 0,20 ^d	0,259 ± 0,005 ^a
	0,3	27,8 ± 4,34 ^d	8,94 ± 0,20 ^{bc}	0,254 ± 0,010 ^a
	0,4	16,9 ± 9,86 ^a	8,63 ± 0,21 ^b	0,263 ± 0,007 ^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

Từ Bảng 2 cho thấy, ở thời gian 20 và 26 giờ khi tỷ lệ hỗn hợp enzyme Alcalase: Flavourzyme so với cơ chất tăng từ 0,2 đến 0,3% thì hàm lượng peptide tăng. Nguyên nhân là do tỷ lệ enzyme tăng so với cơ chất thì quá trình thủy phân xảy ra nhanh, do đó một lượng lớn liên kết peptide trong phân tử protein bị phân cắt tạo thành peptide mạch ngắn (Jun và Sakayu, 2002). Tuy nhiên, hàm lượng peptide giảm khi tỷ lệ hỗn hợp enzyme tăng đến 0,4%. Như vậy, tốc độ

chiếm khoảng 51% trên tổng lượng axit amin (Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn, 2017). Trong các thông số sinh hóa của quá trình thủy phân, hàm lượng peptide và axit amin là những thông số quan trọng vì nó trực tiếp ảnh hưởng đến giá trị dinh dưỡng và các tính 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, đạm amin và đạm amon theo tỷ lệ hỗn hợp enzyme Alcalase: Flavourzyme so với cơ chất và thời gian thủy phân được trình bày ở Bảng 2.

phản ứng đạt cao nhất với tỷ lệ enzyme thích hợp. Nếu tỷ lệ enzyme quá cao, tốc độ phản ứng sẽ chậm lại. Xét trong cùng thời gian thủy phân, tốc độ phản ứng chậm lại làm hiệu suất thủy phân cũng giảm. Bên cạnh đó, bản chất của enzyme là protein nên những enzyme chưa tiếp xúc được với cơ chất lại có xu hướng thủy phân enzyme khác khi tỷ lệ enzyme bổ sung vào nguyên liệu quá cao (Copeland, 2000). Ở thời gian 20 giờ và 26 giờ, khi tỷ lệ enzyme tăng từ

0,2 lên 0,4% thì đạm amin giảm và khác biệt có ý nghĩa thống kê. Hàm lượng đạm amon tăng nhẹ, nhưng không khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê. Nguyên nhân có thể là do một lượng acid amin bị vi sinh vật gây thối sử dụng tạo thành các sản phẩm cấp thấp như NH_3 , H_2S ... (Trần Thị Bích Thủy và Đỗ Thị Thanh Thủy, 2016).

Khi cố định tỷ lệ enzyme 0,2% và 0,3%, tăng thời gian thủy phân từ 20 lên 26 giờ thì đạm amin khác biệt không có ý nghĩa thống kê, tuy nhiên hàm lượng peptide tăng ở tỷ lệ 0,2% và không khác biệt có ý nghĩa thống kê với tỷ lệ 0,3%. Ở tỷ lệ enzyme 0,4%, tăng thời gian thủy phân từ 20 lên 26 giờ thì đạm amin tăng, nhưng hàm lượng peptide giảm. 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 tỷ lệ hỗn hợp enzyme cao và thời gian dài thì quá trình thủy phân triệt để nên hàm lượng đạm amin tăng và hàm lượng peptide giảm ở tỷ lệ 0,4% và thời gian tăng từ 20 giờ lên 26 giờ (Trần Thị Bích Thủy và Đỗ Thị Thanh Thủy, 2016). Hàm lượng đạm amon khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p \geq 0,05$) khi tỷ lệ enzyme tăng từ 0,2 lên 0,4% ở cả hai mốc thời gian 20 giờ và 26 giờ.

Nghiệm thức thịt cá rô phi được thủy phân với tỷ lệ hỗn hợp enzyme AF so với cơ chất là 0,3% ở 20 giờ thì hàm lượng peptide cao nhất (28,4 g/L) và đạm amin cao (9,22 g/L), đạm amon (0,225 g/L) thấp. Hàm

lượng đạm amin và đạm amon trong nghiên cứu này thấp hơn nghiên cứu của Đỗ Thị Thanh Thủy và Nguyễn Anh Tuấn (2017) đã ứng dụng hỗn hợp AF để thủy phân cá nục gai thu hồi dịch đạm thủy phân với hàm lượng đạm amin là 10,91 g/L và đạm amon là 0,99 g/L khi sử dụng tỷ lệ hỗn hợp enzyme so với cơ chất là 0,2%. Hàm lượng đạm amin khác nhau có thể do loại nguyên liệu (cơ chất), thành phần hóa học của nguyên liệu khác nhau (Nguyễn Trọng Căn và cs., 1998). Hàm lượng amon trong nghiên cứu này thấp hơn nghiên cứu trước có thể là do điều kiện thủy phân thích hợp hoặc do tác dụng của ethanol như chất phòng thối (Lý Thị Minh Phương, 2011). Vì vậy, nghiệm thức có tỷ lệ hỗn hợp enzyme AF so với thịt cá là 0,3% và thời gian thủy phân 20 giờ được chọn làm nghiệm thức phù hợp để tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Kết quả chất lượng cảm quan, hiệu suất thu hồi, độ ẩm và hàm lượng protein của bột nêm theo tỷ lệ phối trộn dịch bắp: dịch đạm thủy phân

Hàm lượng protein của hạt bắp thường dao động từ 8 đến 11%. Protein chính của hạt bắp là zein, một loại prolamine gần như không có lysine và tryptophan. Trong hạt bắp toàn phần có 4-5% lipid, phần lớn tập trung ở mầm. Trong chất béo của hạt bắp có 50% là acid linoleic, 31% là oleic acid, 13% là panmitic acid và 3% là stearic acid. Tinh bột trong ngô chiếm khoảng 72-73% (Nguyễn Đức Thành, 2017). Vì vậy, bổ sung dịch bắp nhằm tăng giá trị về mặt dinh dưỡng và cảm quan cho sản phẩm bột nêm. Chất lượng cảm quan, hiệu suất thu hồi, độ ẩm và hàm lượng protein của bột nêm theo tỷ lệ dịch bắp: dịch đạm thủy phân được thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả chất lượng cảm quan, hiệu suất thu hồi, độ ẩm và hàm lượng protein của bột nêm (n=3)

Tỷ lệ dịch bắp (%): dịch đậm thủy phân (%)	Hiệu suất thu hồi (%)	Độ ẩm (%)	Protein (%)	ĐTBCTL
20:45	38,2 ± 0,19 ^c	3,94 ± 0,61 ^{ab}	17,9 ± 0,71 ^c	18,3 ± 0,14 ^b
25:40	37,6 ± 0,12 ^{bc}	3,84 ± 0,39 ^a	16,9 ± 0,76 ^{bc}	19,3 ± 0,18 ^c
30:35	37,1 ± 0,45 ^{ab}	4,99 ± 0,25 ^c	16,0 ± 0,52 ^b	17,7 ± 0,15 ^a
35:30	36,5 ± 0,48 ^a	4,66 ± 0,14 ^{bc}	11,9 ± 0,16 ^a	17,6 ± 0,33 ^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.

ĐTBCTL: Điểm trung bình có trọng lượng

Từ Bảng 3 cho thấy chất lượng bột nêm chịu ảnh hưởng nhiều bởi tỷ lệ phối trộn dịch bắp: dịch đậm thủy phân. Nhìn chung, khi tỷ lệ dịch phối trộn dịch bắp: dịch đậm thủy phân thay đổi từ 20%: 45% lên 35%:30% thì hiệu suất thu hồi và hàm lượng protein giảm dần tương ứng từ 38,2% và 17,9% xuống còn 36,5% và 11,9%; tuy nhiên độ ẩm tăng từ 3,94% lên 4,66%. Nguyên nhân có thể là do tỷ lệ dịch đậm thủy phân giảm dần từ 45% xuống 30% nên hàm protein của sản phẩm giảm dần. Tuy nhiên hàm lượng ẩm lại tăng có thể là do lượng ẩm trong dịch bắp nhiều nên khi tăng tỷ lệ dịch bắp từ 20% lên 35% thì độ ẩm sản phẩm tăng theo. Đồng thời, hiệu suất thu hồi giảm có thể là do hàm lượng protein trong sản phẩm giảm nhiều hơn hàm lượng ẩm tăng. Khi tỷ lệ dịch bắp: dịch đậm thủy phân thay đổi từ 20%:45% đến 25%:40% thì điểm trung bình có trọng lượng tăng và đạt giá trị cao nhất là 19,3 điểm; sản phẩm bột nêm có màu vàng nhạt, có mùi thơm đặc trưng của cá và gia vị, vị mặn ngọt hài hòa và trạng thái khô mịn. Nghiệm thức phối trộn 25% dịch bắp: 40% dịch đậm thủy phân cho điểm cảm quan, hiệu suất thu hồi và hàm lượng protein cao lần lượt là 19,3; 37,6% và 16,9% và ẩm thấp nhất là 3,84%.

Độ ẩm của sản phẩm bột nêm trong nghiên cứu này cao hơn sản phẩm bột canh < 3% theo 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 thế chọn tỷ lệ phối trộn dịch bắp: dịch đậm thủy phân là 25%: 40% để tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

3.4. Kết quả cảm quan, tổng số vi sinh vật hiếu khí và độ ẩm của bột nêm thành phẩm theo thời gian bảo quản ở nhiệt độ phòng

Chế biến các sản phẩm khô là quá trình loại ẩm trong sản phẩm giúp kéo dài thời gian bảo quản (Nguyễn Trọng Cảnh 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, chất lượng cảm quan và tổng số vi khuẩn hiếu khí của bột nêm thành phẩm ở nhiệt độ phòng trong thời gian 4 tuần được thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả cảm quan, tổng số vi sinh vật hiếu khí và độ ẩm theo thời gian bảo quản

Thời gian (tuần)	Độ ẩm (%)	ĐTBCTL	Tổng số vi sinh vật hiếu khí (CFU/g)
0	3,84 ± 0,386 ^a	19,3 ± 0,181 ^b	7,12 x 10 ²
1	4,35 ± 0,145 ^b	19,0 ± 0,305 ^b	1,17 x 10 ³
2	5,42 ± 0,246 ^c	18,7 ± 0,249 ^b	6,03 x 10 ³
3	7,19 ± 0,206 ^d	17,5 ± 0,068 ^a	6,29 x 10 ³
4	7,43 ± 0,047 ^d	16,7 ± 0,509 ^a	8,21 x 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

Từ Bảng 4 cho thấy khi tăng thời gian bảo quản từ 0 đến 4 tuần thì độ ẩm và tổng vi sinh vật hiếu khí tăng dần tương ứng từ 3,84 lên 7,43% và 7,12 x 10² CFU/g lên 8,21 x 10³ CFU/g. Nguyên nhân độ ẩm tăng 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 Cần và Đỗ Minh Phụng, 1990). Tổng số vi khuẩn hiếu khí tăng có thể là do độ ẩm của sản phẩm tăng tạo điều kiện cho vi sinh vật phát triển. 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). Chất lượng cảm quan giảm dần từ 19,3 điểm xuống 16,7 điểm khi thời gian bảo quản tăng từ 0 đến 4 tuần, cụ thể mùi đặc trưng của bột nêm giảm dần, nhưng màu sắc, trạng thái và vị không thay đổi nhiều. Tổng số vi khuẩn hiếu khí sau 4 tuần bảo quản là 8,21 x 10³ CFU/g, thấp hơn giá trị tối đa cho phép (10⁴ cfu/g) theo TCVN 7396 : 2004 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2004).

Sản phẩm bột nêm thành phẩm được sản xuất từ dịch đậm thủy phân từ thịt cá rô phi có giá trị dinh dưỡng cao, thể hiện ở hàm lượng protein chiếm 16,9%, lipid và độ ẩm thấp lần lượt là 2,13% và 3,84%, khoáng chiếm 11,9%. Sản phẩm bột nêm có màu vàng nhạt, mùi đặc trưng của cá và gia vị, vị mặn ngọt hài hòa và trạng thái khô mịn với điểm cảm quan cao đạt 19,3. Hàm lượng protein, lipid và khoáng của sản phẩm bột nêm trong nghiên cứu này thấp hơn, tuy

nhiên hàm lượng ẩm cao hơn nghiên cứu của Phạm Thị Đan Phượng (2013) đã ứng dụng hỗn hợp enzyme AF thủy phân đầu tôm thẻ chân trắng thu chế phẩm đậm giàu carotenoid để sản xuất bột nêm có hàm lượng protein, lipid và khoáng cao tương ứng lần lượt là 21,4%, 6,7% và 54,8%, trong khi độ ẩm thấp là 2,3%. Thành phần dinh dưỡng của sản phẩm bột nêm trong nghiên cứu này khác với nghiên cứu trước có thể là do loại và thành phần hóa học của dịch đậm thủy phân, loại và tỷ lệ phụ gia phối trộn, cũng như điều kiện và thiết bị sấy. Tuy nhiên, tổng số vi sinh vật hiếu khí là 7,12 x 10² CFU/g thấp hơn 2,1 x 10³ CFU/g (Phạm Thị Đan Phượng, 2013). Chỉ tiêu vi sinh của sản phẩm bột nêm đạt tiêu chuẩn cho phép theo TCVN 7396 : 2004 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2004).

4. KẾT LUẬN

Ở điều kiện khảo sát, dịch đậm thủy phân từ thịt cá rô phi đạt chất lượng tốt khi thủy phân với tỷ lệ hỗn hợp enzyme Alcalase và Flavourzyme so với cơ chất là 0,3% trong thời gian 20 giờ. Dịch đậm thủy phân thu được phối trộn với tỷ lệ 25% dịch bắp: 40% dịch đậm thủy phân và sấy ở 60°C trong thời gian 72 giờ thu được bột nêm thành phẩm đạt chất lượng tốt nhất. Sản phẩm được bảo quản ít nhất 4 tuần ở nhiệt độ phòng vẫn đảm bảo được yêu cầu về cảm quan và an toàn vệ sinh thực phẩm.

TÀI LIỆU KHAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

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 12/07/2020. Khai thác từ: <https://vanbanphapluat.co/tcvn-7396-2004-bot-can-h-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 10/07/2020 Khai thác từ: <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 11/07/2020. Khai thác từ: <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 10/07/2020. Khai thác từ: <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 11/07/2020. Khai thác từ: <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 10/07/2020. Khai thác từ: <https://vanbanphapluat.co/quyet-dinh-46-2007-qd-byt-quy-dinh-gioi-han-toi-da-o-nhiem-sinh-hoc-hoa-hoc-thuc-pham>.
- 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 Trường Đại học Nha Trang*, 3, 73 - 79.
- Nguyễn Đức Thành, 2017. Tăng cường giá trị dinh dưỡng của ngô bằng công nghệ sinh học. *Tạp chí Sinh học*, 39(1), 1 - 14.
- Nguyễn Trọng Cần và Đỗ Minh Phụng. (1990). *Công nghệ chế biến thủy sản, tập 2*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, 392 trang.
- Nguyễn Trọng Cần, Nguyễn Thị Hiền, Đỗ Thị Giang và Trần Thị Luyện. (1998). *Công nghệ enzyme*. Hà Nội: Nhà xuất bản Nông nghiệp. 376 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 Trường Đại học Nha Trang*, 3, 39 - 46.
- 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 ngắn 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 Trường Đại học Nha Trang*, (2), 93 - 100.
- VASEP (2018). *Tổng quan ngành*. Truy cập ngày 05/08/2020. Khai thác từ <http://vasep.com.vn/1192/OneContent/tong-quan-nganh.htm>.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Adams, M. R., & Moss, M. O. (2008). *Food and Microbiology*. University of Suildford, UK. 20 - 36.
- AOAC. (2016). *The official methods of analysis of AOAC International, 20th edn*. George W. Latimer, Jr. 3172p. Retrieved from <http://www.eoma.aoac.org>.
- Blumenthal, J. M., Baltensperger, D. D., Cassman, K. G., Mason, S. C., & Pavlista, A. D. (2008). Importance and effect of nitrogen on crop quality and health. In *Nitrogen in the Environment* (pp. 51-70). Academic Press.
- Chiang, J. H., Loveday, S. M., Hardacre1, A. K. & 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.
- Hultmann, L., Phu, T. M., Tobiassen, T., Aas-Hansen, Ø. & 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.
- Jun and Sakayu. (2002). Industrial microbial enzymes: the discovery by screening and use in large scale production of useful chemicals in Japan. *Current Opinion in Biotechnology*, 13, 367 - 375.
- Kamnerdpetch, C., Weiss, M., Kasper, C. & 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. & Espe, M. (2002). Studies on the nitrogen recovery in enzymic hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) frames by Protamex™ protease. *Process Biochemistry*, 37(11), 1263 - 1269.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265 - 275.
- Mohamed, F. A., Khogali, F. A., Mohamed, A. H., Deng, O. O., & Mohammed, A. A. (2016). Body weight characteristics and chemical composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) collected from three different Sudanese dams. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 4(5), 507 - 510.
- Nguyen, H. T. M., Sylla, K. S. B., Randriamahatody, Z., Donnay-Moreno, C., Moreau, J., Tran, L. T., & Bergé, J. P. (2011). Enzymatic hydrolysis of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) by-products using Protamex protease. *Food Technology and Biotechnology*, 49(1), 48 - 55.