



NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT BỘT ĐẠM VÀ BỘT CANXI TỪ XƯƠNG CÁ TRA (*Pangasianodon hypophthalmus*) BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦY PHÂN ENZYME

Lê Thị Minh Thủy* và Trương Thị Mộng Thu

Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm bài viết: Lê Thị Minh Thủy (email: ltmthuy@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 21/10/2019

Ngày nhận bài sửa: 28/11/2019

Ngày duyệt đăng: 23/04/2020

Title:

Study on enzymatic hydrolysis to produce protein powder and calcium powder from Tra catfish bone (*Pangasianodon hypophthalmus*)

Từ khóa:

Axit amin, bột canxi, bột đạm, xương cá tra

Keywords:

Amino acid, calcium powder, protein powder, Tra catfish bone

ABSTRACT

The research on effects of Tegalase enzyme concentration on the hydrolysis process as well as the influences of the heating time, drying conditions on the quality of fish protein and calcium powder from Tra Catfish bone was investigated. The results showed that hydrolysed sample at 50°C for 24 hours with the Tegalase enzyme concentration of 0.1% was obtained the formation of peptide bond was the highest (2,935 peptid bonds) and amino acid was 14.8% in fish protein solution. Furthermore, bone which collected after hydrolysis also got the highest mineral content (37.4%) and the lowest protein content (17.5%). The protein solution was heated at 95-100 °C within six minutes for the highest axit amin content (17.7%). After which, it was dried at 60 °C for one day to achieve moisture content, recovery yield and protein concentration (4.64, 5.48 and 68.9%, respectively). And fish bone was also treated at the same drying temperature for four hours to get 10.8% moisture and calcium accounts for 22.9%.

TÓM TẮT

Nghiên cứu sự ảnh hưởng của nồng độ enzyme Tegalase đến quá trình thủy phân protein cùng với việc khảo sát sự ảnh hưởng của thời gian nâng nhiệt, chế độ sấy đến chất lượng của bột đạm và bột canxi từ xương cá Tra đã được thực hiện. Kết quả cho thấy khi mẫu được thủy phân ở 50°C trong 24 giờ với nồng độ enzyme Tegalase 0,1% thì khả năng thủy phân các phân tử protein tạo thành liên kết peptit là tốt nhất (2.935 liên kết peptit) và hàm lượng đạm amin là 14,8% đối với phần dịch đạm. Bên cạnh đó, mẫu xương cá tra cũng đạt hàm lượng khoáng cao nhất (37,4%) và hàm lượng protein là thấp nhất (17,5%). Dịch đạm được nâng nhiệt ở 95-100 °C trong thời gian 6 phút sẽ thu được hàm lượng axit amin cao (17,7%). Sau đó dịch đạm sấy ở 60°C trong 1 ngày đạt được ẩm độ, hiệu suất thu hồi và hàm lượng đạm lần lượt là 4,64; 5,48 và 68,9%. Xương cá cũng được sấy ở 60°C trong 4 giờ để được bột canxi có ẩm độ tốt nhất 10,8% và hàm lượng canxi là 22,9%.

Trích dẫn: Lê Thị Minh Thủy và Trương Thị Mộng Thu, 2020. Nghiên cứu sản xuất bột đạm và bột canxi từ xương cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) bằng phương pháp thủy phân enzyme. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(Số chuyên đề: Thủy sản)(2): 248-254.

1 GIỚI THIỆU

Cá tra là loài có giá trị kinh tế được nuôi phổ biến ở khu vực Châu Á. Hiện nay, ở Việt Nam loài cá này là mặt hàng xuất khẩu chủ lực của vùng Đồng bằng sông Cửu Long với sản phẩm cá tra fillet đông lạnh. Sản phẩm này đã có mặt ở trên 140 quốc gia và phần đầu đạt sản lượng 1,51 triệu tấn, kim ngạch xuất khẩu khoảng 2,4 tỉ USD trong năm 2019 theo mục tiêu của Bộ Nông nghiệp - Phát triển nông thôn (Huỳnh Lợi, 2019). Tuy nhiên, phần lớn giá trị xuất khẩu thu được ở dạng cá fillet đông lạnh nên lượng phụ phẩm thải ra như đầu, xương, vây và nội tạng là khá lớn, trong đó xương chiếm 63-65% tổng trọng lượng thân cá (Thủy Sản Việt Nam, 2017), cần được tận dụng để làm ra những sản phẩm khác có giá trị kinh tế cao. Do đó, làm gia tăng giá trị sử dụng của nguồn phế phẩm này trở thành một yêu cầu cấp thiết nhằm giải quyết vấn đề phát triển kinh tế xã hội, đồng thời góp phần bảo vệ môi trường.

Phụ phẩm cá chứa nhiều protein và axit béo không sinh cholesterol (Rustad, 2003), cùng với các khoáng chất khác có thể sản xuất ra nhiều sản phẩm có giá trị như collagen, gelatin, dầu cá, bột đạm, bột canxi và ứng dụng trong nhiều sản phẩm khác. Trong đó, xương cá được xem là nguồn sản xuất canxi tự nhiên đầy tiềm năng do có hàm lượng canxi cao khoảng 34-36%, tồn tại chủ yếu ở dạng muối canxi photphat (Hamada *et al.*, 1995), rất cần thiết cho sức khỏe của con người, giúp ngăn ngừa các bệnh về xương khớp (Hamada *et al.*, 1995; Chaimongkol, 2012). Phương pháp hóa học được áp dụng phổ biến trong nhiều nghiên cứu sản xuất bột canxi từ xương cá (Techochatchawal *et al.*, 2009; Hemung, 2013 và Nemati *et al.*, 2017). Ngược lại, việc xử lý xương cá bằng phương pháp thủy phân enzyme còn khá hạn chế, do đó phương pháp này cần được nghiên cứu. Bên cạnh sản phẩm chính là bột canxi, phần thịt bám trên xương cá cũng được tận dụng triệt để để sản xuất ra bột đạm và sử dụng làm thức ăn cho gia súc hay trong nuôi trồng thủy sản (Nilsang *et al.*, 2005), góp phần nâng cao hàm lượng đạm trong một số sản phẩm. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm sản xuất các sản phẩm có giá trị kinh tế (bột đạm và bột canxi) từ nguồn phụ phẩm xương cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) bằng phương pháp thủy phân enzyme.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Chuẩn bị mẫu

Xương cá tra được thu từ công ty thủy sản Biển Đông, khu công nghiệp Trà Nóc và vận chuyển lạnh

về phòng thí nghiệm Chế biến Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ. Xương cá được rửa để loại bỏ tạp chất, vi sinh vật bám trên bề mặt và để ráo. Tiến hành cắt nhỏ xương cá khoảng 2-3 cm, đóng gói trong túi PE với khối lượng mỗi túi là 100 g và bảo quản ở -18°C đến khi tiến hành thí nghiệm.

2.2 Hóa chất

Các hóa chất được sử dụng như dung dịch NaOH, ethanol, axit boric, enzyme Tegalase R66L (dạng lỏng), Tegalase EP60G (dạng bột) tinh khiết và một số hóa chất thường dùng trong phòng thí nghiệm.

Enzyme Tegalase (Tegaferm Holding GmBh, Áo) thủy phân protein thành axit amin có pH tối thích là 7,8 - 8,8 và hoạt động trong miền nhiệt độ 50 - 60°C.

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 *Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến chất lượng của dịch đậm và hàm lượng khoáng của xương cá tra*

Xương cá được rửa đông trước khi tiến hành thủy phân bằng enzyme Tegalase ở các nồng độ khác nhau lần lượt là 0,1; 0,2 và 0,3% so với nguyên liệu (v/w) trong thời gian 24 giờ, tỉ lệ nước cất và nguyên liệu là 1: 10 (v/w), nhiệt độ trong suốt quá trình thủy phân là 50°C. Sau khi quá trình thủy phân kết thúc, tiến hành lọc thu dịch đậm và rửa sạch phần xương để phân tích ẩm độ, khoáng, protein. Phần dịch đậm được phân tích hàm lượng axit amin và số liên kết peptit tạo thành nhằm tìm ra nồng độ enzyme tối ưu nhất cho quá trình thủy phân. Khối lượng mẫu cho mỗi nghiệm thức là 50 g. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần ở mỗi nghiệm thức.

2.3.2 *Khảo sát ảnh hưởng của thời gian nâng nhiệt đến sự thủy phân protein thành axit amin từ quá trình thủy phân xương cá tra*

Dịch đậm sau khi thủy phân ở nồng độ enzyme tối ưu (kết quả thí nghiệm 1) được nâng nhiệt bằng thiết bị ủ ở 90-95°C trong các thời gian lần lượt là 2, 4 và 6 phút. Sau đó trung hòa bằng NaOH 3 % đến khi pH về trung tính. Mẫu được phân tích lại chỉ tiêu axit amin nhằm chọn được thời gian nâng nhiệt thích hợp để quá trình thủy phân protein thành axit amin là tốt nhất. Khối lượng mẫu cho mỗi nghiệm thức là 50 g. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần ở mỗi nghiệm thức.

2.3.3 *Khảo sát ảnh hưởng của thời gian sấy đến chất lượng của bột đạm và bột canxi*

Mẫu dịch đậm sau khi nâng nhiệt (kết quả thí nghiệm 2) được ly tâm, sau đó lấy phần đặc trải ra

khay và tiến hành sấy trong thời gian 1, 2 và 3 ngày ở nhiệt độ 60°C. Kết thúc quá trình sấy, mẫu được phân tích ẩm độ, hàm lượng đạm và tính hiệu suất thu hồi sau từng mốc thời gian nhằm tìm ra thời gian sấy tối ưu nhất để cho chất lượng bột đạm tốt nhất. Khối lượng mẫu cho mỗi nghiệm thức là 50 g. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần ở mỗi nghiệm thức.

Phần xương cá sau khi thủy phân với nồng độ enzyme tối ưu (kết quả thí nghiệm 1) được rửa sạch và sấy trong thời gian 2, 4 và 6 giờ ở nhiệt độ 60°C. Mẫu sau khi sấy với từng mốc thời gian được phân tích ẩm độ, độ hòa tan và hiệu suất thu hồi nhằm tìm ra thời gian sấy tối ưu nhất để cho bột canxi đạt chất lượng tốt nhất. Khối lượng mẫu cho mỗi nghiệm thức là 50 g. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần ở mỗi nghiệm thức. Các mẫu được sấy bằng thiết bị sấy không khí nóng (tủ sấy đối lưu tự nhiên ED 400 Binder, Đức). Nhiệt độ 60°C được chọn để sấy sản phẩm bột đạm và bột canxi vì chất lượng của sản phẩm cuối cùng hầu như không bị biến đổi, ngược lại nếu sấy mẫu ở nhiệt độ thấp hơn sẽ tăng thời gian sấy hoặc sấy với nhiệt độ cao hơn sẽ thúc đẩy quá trình oxy hóa xảy ra và ảnh hưởng không tốt đến chất lượng sản phẩm (màu sắc, mùi) thu được.

2.4 Phương pháp phân tích

Phân tích hàm lượng ẩm bằng phương pháp sấy, hàm lượng khoáng bằng phương pháp đốt, hàm lượng đạm tổng số bằng phương pháp Kjehdal, hàm lượng lipid bằng phương pháp Soxhlet và xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí theo phương pháp đồ đĩa (AOAC, 2000).

Xác định số liên kết peptit theo phương pháp của Hultmann *et al.* (2012) dựa trên sự có mặt của các chuỗi peptit mạch ngắn và các axit amin tự do có trong dung dịch. Hút 1,2 mL dung dịch đệm ở mức pH (5.5 hoặc 7.5 gồm acid citric 0,1 M và natri hydrophosphate 0,2 M) cho vào ống nghiệm 15 mL, tiếp tục cho vào 0,1 mL mẫu và lắc đều. Thêm 2 mL trichloroacetic acid (TCA 5%) vào để làm kết tủa protein, lắc đều và để yên 30 phút. Tiến hành lọc để bỏ kết tủa, thu phần dịch lọc. Hút 0,5 mL dung dịch vừa lọc được cho vào ống nghiệm, sau đó thêm vào 2,5 mL dung dịch D (1 mL dung dịch CuSO₄ 1% + 1 mL Potassium Sodium Tartrate 2% + 100 mL Na₂CO₃ 2% trong 0,1M NaOH), lắc đều và để yên 10 phút, cuối cùng thêm 0,25 mL Folin (pha loãng với nước tỷ lệ 1 folin: 2 nước, v:v) lắc đều và để yên 30 phút. Tiến hành đo màu quang phổ với bước sóng 750 nm. Mẫu trắng dùng cho cài đặt máy quang phổ cũng được chuẩn bị bằng cách thay mẫu thí nghiệm bằng nước cất, trình tự thí nghiệm được thực hiện

như trên. Do mẫu đã được lọc sạch nên dùng UV cho kết quả đo tương đối chính xác.

Xác định hàm lượng đạm amin bằng phương pháp Nitơ formol theo TCVN 3708:1990.

Xác định độ hòa tan bằng phương pháp lọc (Hemung, 2013). Cân 1 g bột cá (D) hòa tan với 10 mL nước cất, khuấy đều trong 12 giờ ở nhiệt độ phòng. Tiến hành lọc dung dịch bằng giấy lọc, sau đó giấy lọc được sấy đến khối lượng không đổi, cân để xác định khối lượng mẫu không tan (C), từ đó suy ra được độ hòa tan.

Xác định hàm lượng canxi theo AOAC 2013.06 (2016).

Xác định hiệu suất thu hồi bằng phương pháp kiểm tra khối lượng.

2.5 Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả được tính toán trung bình, độ lệch chuẩn bằng chương trình Microsoft Excel 2013. Xử lý thống kê One Way ANOVA và so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức trong cùng một thí nghiệm bằng phép thử Duncan (*p* < 0,05) bằng chương trình SPSS 16.0.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Thành phần hóa học của xương cá tra

Kết quả phân tích thành phần hóa học của xương cá tra được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1: Thành phần hóa học của xương cá tra theo căn bản khô

Chỉ tiêu	Hàm lượng (%)
Ẩm độ	23,1±0,115
Khoáng	18,8±0,351
Protein	36,1±0,392
Lipid	13,1±0,595

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

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy hàm lượng protein và khoáng chiếm tỷ lệ khá cao lần lượt là 36,1 và 18,8%, nên cần được tận dụng để sản xuất bột đạm và bột canxi có chất lượng cao nhằm gia tăng giá trị nguồn phụ phẩm này. Để thúc đẩy quá trình thủy phân phần thịt cá còn sót lại trên xương nhằm mục đích vừa sản xuất bột đạm, vừa tận dụng nguồn xương để tạo ra bột canxi, tiến hành bổ sung enzyme Tegalase để quá trình thủy phân protein diễn ra một cách tốt nhất và nâng cao chất lượng sản phẩm.

3.2 Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến chất lượng của dịch đậm và hàm lượng khoáng trong xương cá tra

Số liên kết peptit và hàm lượng đạm amin của dịch đậm sau quá trình thủy phân xương cá trong 24 giờ ở 50 °C với các nồng độ enzyme khác nhau được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2: Ảnh hưởng của nồng độ enzyme Tegalase đến chất lượng dịch đậm

Mẫu	Nồng độ enzyme Tegalase (%)	Liên kết peptit (liên kết)	Đạm amin (g/L)
Đối chứng	0	1194±20,5 ^a	8,4±0,004 ^a
1	0,1	2935±7,07 ^b	14,8±0,003 ^b
2	0,2	2947±10,6 ^b	14,9±0,001 ^b
3	0,3	2962±3,53 ^b	16,9±0,022 ^c

(Ghi chú: các ký tự (a, b, c) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), số liệu được biểu hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, n=3)

Kết quả thủy phân xương cá tra cho thấy khi tăng nồng độ enzyme từ 0,1 lên 0,3 % thì hàm lượng đạm amin tăng, số liên kết peptit tạo thành từ 2935 tăng lên 2962 liên kết do enzyme tương tác lên các liên kết nhị dương và làm thay đổi các liên kết trong phân tử cơ chất. Các liên kết này bị suy yếu và chuỗi

peptit dễ dàng bị cắt mạch một cách triệt để hơn, hình thành nhiều chuỗi peptit có khối lượng phân tử nhỏ hơn (Đặng Thị Hiền, 2008). Ban đầu khi chưa bổ sung enzyme vào nguyên liệu thì quá trình thủy phân chỉ xảy ra dưới tác dụng của hệ protease nội tại nên so với mẫu đối chứng thì số liên kết peptit được bề gãy ở nồng độ 0,1% tăng lên một cách rõ rệt, cao hơn ban đầu 1741 liên kết. Dưới tác dụng của enzyme, phân tử protein bị thủy phân tại các liên kết peptit và tạo thành các chuỗi peptit mạch ngắn, sau đó các chuỗi này tiếp tục được phân cắt thành các axit amin, do đó hàm lượng axit amin sẽ tăng lên và số liên kết peptit tạo thành cũng tăng khi tăng tỉ lệ enzyme (Nguyễn Đức Lượng, 2004). Tỉ lệ enzyme bổ sung tăng như số liên kết peptit cũng như hàm lượng đạm amin tăng không đáng kể, xu hướng này khá tương thích với sự giải thích của Guérard *et al.* (2002) và Nguyen *et al.* (2011), cụ thể, các chuỗi peptit mạch ngắn có trong hỗn hợp phản ứng được tạo thành từ quá trình thủy phân protein có thể là tác nhân làm bất hoạt tác dụng thủy phân của enzyme và là đối thủ cạnh tranh cơ chất đối với protein. Tuy nhiên, nồng độ liên kết peptit dùng cho quá trình thủy phân cũng giới hạn nên khả năng thủy phân ổn định mặc dù gia tăng nồng độ enzyme (Salwanee *et al.*, 2013). Qua đó cho thấy, chế độ thủy phân mẫu xương cá tra ở nồng độ enzyme 0,1% ở nhiệt độ 50°C là tối ưu nhất.

Bảng 3: Ảnh hưởng của nồng độ enzyme Tegalase đến hàm lượng khoáng trong xương cá tra

Mẫu	Nồng độ enzyme Tegalase (%)	Ẩm độ (%)	Protein (%)	Khoáng (%)
Đối chứng	0	58,6±0,661 ^b	33,9±0,018 ^b	9,57±0,061 ^a
1	0,1	46,9±0,772 ^a	17,5±0,041 ^a	37,4±0,121 ^c
2	0,2	45,3±0,171 ^a	18,3±0,322 ^a	33,5±0,136 ^b
3	0,3	46,8±0,823 ^a	17,7±0,571 ^a	34,1±0,186 ^b

(Ghi chú: các ký tự (a, b, c) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), số liệu được biểu hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, n=3)

Kết quả nghiên cứu ở Bảng 3 cho thấy khi nồng độ enzyme càng tăng thì hàm lượng protein càng giảm, hàm lượng khoáng theo xu hướng tăng dần. Do trong quá trình thủy phân, khi tăng nồng độ enzyme thì tốc độ thủy phân protein xảy ra nhanh do sự cắt mạch của các chuỗi peptit (Đặng Thị Thu, 2012) dẫn đến phần thịt vụn bám trên xương được tách ra càng nhiều và hàm lượng protein còn lại trong xương sẽ giảm xuống. So với mẫu đối chứng thì hàm lượng protein trong xương ở nồng độ 0,1% giảm xuống một cách rõ rệt từ 33,9 xuống 17,7% và hàm lượng khoáng tăng lên rất mạnh từ 9,57 lên 37,4%. Đối với thí nghiệm này khi dùng enzyme Tegalase để thủy phân xương cá nhằm loại protein ra khỏi xương thì hiệu suất loại protein ở nồng độ

0,1% là 51,6% so với mẫu đối chứng. Phương pháp này không những giúp giảm thiểu lượng hóa chất thải ra môi trường so với phương pháp truyền thống, mà còn tận dụng được nguồn protein từ quá trình thủy phân xương cá cho các mục đích khác. Ở nồng độ 0,1% cho kết quả hàm lượng khoáng cao nhất là 37,4% khá tương đồng với nghiên cứu về hàm lượng khoáng ở nhiều loài cá khác nhau (xấp xỉ 40%) của Toppe *et al.* (2007) và hàm lượng protein thấp nhất 17,5%. Kết hợp với chất lượng dịch đậm ở Bảng 2 thì nồng độ enzyme 0,1% được kiến nghị cho sự thủy phân xương cá.

3.3 Khảo sát ảnh hưởng của thời gian nâng nhiệt đến sự thủy phân protein thành axit amin từ quá trình thủy phân xương cá

Hàm lượng đạm amin trong mẫu dịch đậm sau khi nâng nhiệt trung hòa được thể hiện trong Bảng 4.

Bảng 4: Khảo sát ảnh hưởng của thời gian nâng nhiệt đến sự thủy phân protein thành axit amin từ quá trình thủy phân xương cá

Mẫu	Thời gian nâng nhiệt (phút)	Axit amin (g/L)
Đối chứng	0	8,41±0,396 ^a
1	2	14,9±0,099 ^b
2	4	15,7±0,001 ^b
3	6	17,7±0,099 ^c

(Ghi chú: các ký tự (a, b, c) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), số liệu được biểu hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, $n=3$)

Kết quả thí nghiệm cho thấy thời gian nâng nhiệt càng dài thì hàm lượng đạm amin càng tăng. Tăng thời gian nâng nhiệt từ 2 lên 6 phút thì đạm amin tăng từ 14,9 lên 17,7 g/L. Nguyên nhân là khi nâng

hiệu suất thu hồi của bột đạm và bột canxi từ quá trình thủy phân xương cá tra bằng enzyme Tegalase khi sấy ở 60°C trong các thời gian sấy khác nhau được thể hiện trong Bảng 5.

3.4 Ảnh hưởng của chế độ sấy đến chất lượng của bột đạm và bột canxi

Độ ẩm, hàm lượng protein và hiệu suất thu hồi của bột đạm và chất lượng của bột canxi từ quá trình thủy phân xương cá tra bằng enzyme Tegalase khi sấy ở 60°C trong các thời gian sấy khác nhau được thể hiện trong Bảng 5.

Bảng 5: Ảnh hưởng của thời gian sấy đến chất lượng của bột đạm và bột canxi

Mẫu	Thời gian sấy (ngày)	Bột đạm		
		Độ ẩm (%)	Hàm lượng protein (%)	Hiệu suất thu hồi (%)
1	1	4,64±0,113 ^a	68,9±0,131 ^a	5,48±0,021 ^a
2	2	3,96±0,035 ^b	70,9±0,396 ^a	4,12±0,608 ^b
3	3	2,37±0,057 ^c	73,7±0,247 ^b	3,77±0,233 ^b
Mẫu	Thời gian sấy (giờ)	Bột canxi		
		Độ ẩm (%)	Độ hòa tan (%)	Hiệu suất thu hồi (%)
1	2	15,8±0,219 ^c	14,1±0,141 ^a	18,5±0,417 ^b
2	4	10,8±0,177 ^b	16,2±0,155 ^b	17,8±0,424 ^b
3	6	3,99±0,061 ^a	16,9±0,283 ^c	15,5±0,424 ^a

(Ghi chú: các ký tự (a, b, c) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), số liệu được biểu hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, $n=3$)

Kết quả thí nghiệm ở Bảng 5 cho thấy khi thời gian sấy càng dài thì hàm lượng protein càng tăng, độ ẩm và hiệu suất thu hồi càng giảm. Khi tăng thời gian sấy từ 1 lên 3 ngày thì độ ẩm giảm từ 4,64 xuống còn 2,37%, hiệu suất thu hồi giảm từ 5,48 xuống còn 3,77%, riêng hàm lượng protein tăng từ 68,9 lên 73,7%. Nguyên nhân của sự khác biệt trên là do khi thời gian sấy càng dài, dưới tác dụng của nhiệt thì lượng nước bên trong sản phẩm thoát ra ngoài càng nhiều vì vậy dẫn đến độ ẩm và cả hiệu suất thu hồi đều giảm (Trọng Nguyễn Cần, 1990). Lượng nước trong sản phẩm càng thấp thì nồng độ chất khô càng cao, nên hàm lượng protein có xu hướng tăng dần. Trong nghiên cứu này, bột đạm có

hàm lượng protein thay đổi từ 68,9 tới 73,7% và cao hơn so với kết quả bột đạm thủy phân từ phụ phẩm cá (*Pangasius sp*) được công bố bởi Amiza et al. (2011) với tỉ lệ protein chiếm 65,05%. Bột đạm có hàm lượng ẩm <10% là thích hợp cho quá trình bảo quản, hạn chế được các biến đổi không mong muốn (Trần Thị Luyện, 1996). Vì vậy, mẫu dịch đậm được sấy 1 ngày ở 60°C có độ ẩm, hàm lượng protein và hiệu suất thu hồi lần lượt là 4,64; 68,9 và 5,48% được chọn làm mẫu tối ưu.

Chất lượng của bột canxi thu được cũng có khuynh hướng biến đổi tương tự như bột đạm. Cụ thể, khi sấy mẫu từ 2 đến 6 giờ thì ẩm độ giảm từ 15,8 xuống 3,99% và hiệu suất giảm từ 18,5 xuống

15,5%, còn độ hòa tan tăng dần theo thời gian sấy. Độ hòa tan phản ánh chất lượng của thành phần khoáng có trong bột canxi và liên quan đến khả năng hấp thụ của con người (Hemung, 2013). Đối với nghiên cứu sản xuất các chế phẩm canxi từ cá nước mặn (Bubel *et al.*, 2015) sản phẩm sấy ở nhiệt độ 60°C cho đến khi độ ẩm đạt 10% thì thu được bột canxi. Một báo cáo khác của Bubel *et al.* (2015) thì nhiệt độ 60°C cũng được đề xuất cho quá trình sấy sản phẩm bột canxi từ xương của một số loài cá như cá hồi (*Salmo salar*) và cá bò (*Gadus morhua callarias*) và sản phẩm có thành phần chất khô chiếm từ 90% trở lên. Vây mẫu có thời gian sấy 4 giờ ở nhiệt độ 60°C cho sản phẩm có ẩm độ là 10,8% phù hợp cho bảo quản các sản phẩm dạng bột (Lê Thị Minh Thủy, 2014).

3.5 Kết quả thành phần hóa học của sản phẩm bột đạm và bột canxi từ xương cá tra

Thành phần hóa học của sản phẩm bột đạm và bột canxi từ xương cá tra được thể hiện trong Bảng 6.

Bảng 6: Kết quả phân tích thành phần hóa học của bột đạm và bột canxi thành phẩm

Chỉ tiêu	Bột đạm	Bột canxi
Canxi (%)		22,9
Vi sinh (cfu/g)	2,62x10 ⁴	1,62x10 ³
Ẩm độ (%)	4,64±0,113	10,8±0,177
Khoáng (%)	2,44±0,037	66,3±0,192
Protein (%)	68,9±0,131	10,3±0,165
Lipid (%)	10,8±0,151	8,44±0,185

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

Từ kết quả phân tích thành phần hóa học (Bảng 6) cho thấy bột đạm từ nguồn xương cá tra có giá trị dinh dưỡng cao, hàm lượng protein của bột đạm chiếm đến 68,9% đạt yêu cầu, qui cách của bột cá thực phẩm (Lê Thị Minh Thủy, 2014) và phù hợp để bổ sung vào thức ăn, các sản phẩm bánh, snack hay được sử dụng để tăng cường hàm lượng đạm trong thức ăn cho động vật nuôi. Bột canxi thu được có hàm lượng ẩm tối ưu 10,8% và hàm lượng canxi chiếm 22,9%. Do hàm lượng canxi trong sản phẩm bột canxi thu được cao nên đây có thể được xem như là một nguồn cung cấp canxi tiềm năng cho con người thông qua việc bổ sung với liều lượng hợp lý vào khẩu phần ăn. Vì nguồn canxi tự nhiên từ xương cá chủ yếu ở dạng hợp chất canxi photphat và tương tự như thành phần xương của con người nên chúng rất dễ được hấp thụ vào cơ thể hiệu quả và an toàn (Hemung, 2013). Sản phẩm bột canxi này có thể được bổ sung vào các sản phẩm thực phẩm thông

thường khác như sữa và các sản phẩm từ sữa, các sản phẩm bột, mì, cũng như các loại đồ uống khác nhằm cải thiện hàm lượng canxi trong thực phẩm và thay thế các muối canxi thương mại đang được sử dụng như canxi cacbonat, canxi citrat (Singh *et al.*, 2007)

4 KẾT LUẬN

Để sản xuất bột đạm và bột canxi từ xương cá tra đạt chất lượng cao cần thủy phân mẫu xương cá tra với nồng độ enzyme Tegalase là 0,1% (v/w) trong thời gian 24 giờ ở nhiệt độ 50°C. Bột đạm được nâng nhiệt 95-100°C trong vòng 6 phút, sau đó sấy 1 ngày ở 60°C. Đối với bột canxi sau khi thủy phân cũng sẽ được sấy ở 60°C trong vòng 4 giờ để đạt được chất lượng tốt nhất. Sản phẩm bột đạm và bột canxi trong phạm vi nghiên cứu này có thể được tận dụng để làm thực phẩm cho con người hoặc bổ sung vào thức ăn cho động vật nuôi nhằm tăng cường giá trị dinh dưỡng cho bữa ăn.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được tài trợ bởi Dự án Nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA từ Chính phủ Nhật Bản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Amiza, M. A., Nurul Ashikin, S. and Faazaz, A. L., 2011. Optimization of enzymatic protein hydrolysis from silver catfish (*Pangasius sp.*) frame. *International Food Research Journal*. 18: 775-781.
- AOAC, 2000. *Official methods of Analysis of AOAC International, 17th Edition*, George W. Latimer, Jr (Eds), Volume II
- AOAC, 2016. Chapter 9. In: *Official Methods of Analysis of AOAC International, 20th Edition*, Geogre W. Latimer, Jr (Eds). Volume I.
- Bubel, F., Dobrzański, Z., Bykowski, P. J., Chojnacka, K., Opaliński, S. and Trziszka, T., 2015. Production of calcium preparations by technology of saltwater fish by product processing. *Open Chemistry*. 13(1): 1333-1340.
- Chaimongkol, L., 2012. Use of Selected Natural Calcium Sources for Calcium Enrichment of Crisp Rice. *KKU Science Journal*. 40(4): 1214-1224.
- Đặng Thị Hiền, 2008. Nghiên cứu sử dụng enzyme Protease trong quy trình sản xuất chitin-chitosan. Luận văn thạc sĩ kỹ thuật ngành Công nghệ sau thu hoạch. Khoa chế biến. Trường Đại học Nha Trang.
- Đặng Thị Thu, 2012. Công nghệ enzyme, NXB Khoa học và Kỹ thuật. 321 trang.
- Guérard, F., Guimas L. and Binet, A., 2002. Production of tuna waste hydrolysates by a

- commercial neutral protease preparation. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 19-20: 489-498.
- Hamada, M., Nagai, T., Kai, N., Tanoue, Y., Mae, H., Hashimoto, M., Miyoshi, K., Kumagai, H. and Saeki, K., 1995. Inorganic constituents of bone of fish. Fisheries Science. 61(3): 517-520.
- Hemung, B. O., 2013. Properties of tilapia bone powder and its calcium bioavailability based on transglutaminase assay. International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics. 3(4): 306-309.
- Hultmann, L., Phu, T. M., Tobiassen., Aas-Hansen, T. 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.
- Huỳnh Lợi, 2019. Năm 2019: Xuất khẩu cá tra nõ lực đạt 2,4 tỉ USD. Báo Sài gòn giải phóng. Ngày truy cập 10/06/2019, địa chỉ: <http://www.sggp.org.vn/nam-2019-xuat-khau-ca-tra-no-luc-dat-24-ty-usd-576281.html>
- Lê Thị Minh Thủy, 2014. Bài giảng công nghệ chế biến dầu bột cá và dược liệu. Khoa Thủy Sản. Trường Đại Học Cần Thơ.
- Nemati, M., Huda, N. and Ariffin, F., 2017. Development of calcium supplement from fish bone wastes of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and characterization of nutritional quality. International Food Research Journal. 24(6): 2419-2426.
- Nguyễn Đức Lương, 2004. Công nghệ enzyme. Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh, 284 trang
- Nguyễn Đức Lương, 2006. Công nghệ vi sinh tập 2. Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia Tp. Hồ Chí Minh. 372 trang.
- Nguyen, H. T. M., Sylla, K. S. B., Randriamahatody, Z., Donnay-Moreno C., Moreau, J., Tran, L. T. and Bergé, J. P., 2011. Enzymatic hydrolysis of yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) by-products using protamex protease. Food Technology and Biotechnology. 49(1): 48-55.
- Nguyễn Lê Hà, 2009. Thử nghiệm thủy phân hỗn hợp máu và gan cá ba sa bằng chế phẩm enzyme protease tách chiết từ đầu tôm sú (*Penaeus monodon*) và bước đầu tối ưu hoá quá trình. Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản. 1: 10-18.
- Nguyễn Trọng Căn, 1990. Công nghệ chế biến thực phẩm tập 2. Nhà xuất bản Nông nghiệp. Thành phố Hồ Chí Minh. 412 trang.
- Nilsang, S., Lertsiri, S., Suphantharika, M. and Assavanig., 2005. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. Journal of Food Engineering. 70(4): 571-578.
- Rustad, T., 2003. Utilisation of marine by-products. Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry. 2(4): 458-463.
- Salwanee, S., Wan Aida, W. M., Mamot, S. and Maskat, M. Y., 2013. Effects of enzyme concentration, temperature, pH and time on the degree of hydrolysis of protein extract from viscera of tuna (*Euthynnus affinis*) by using alcalase. Sains Malaysiana. 42(3): 279-287.
- Singh, G., Arora, S., Sharma, G. S., Sindhu, J. S., Kansal, V. K. and Sangwan, R. B. 2007. Heat stability and calcium bioavailability of calcium-fortified milk. LWT-Food Science and Technology 40(4): 625-631.
- Techochatchawal, K., Therdtai. and Khotavivattana, S., 2009. Development of calcium supplement from the bone of Nile Tilapia (*Tilapia nilotica*). Asian Journal of Food and Agro-Industry. 2(4): 539-546.
- Thủy Sản Việt Nam, 2017. Giá trị cá tra ăn giàu ở công nghệ. Địa chỉ <http://thuysanvietnam.com.vn/gia-tri-ca-tra-an-giau-o-cong-nghe-article-17057.tsvn>, truy cập ngày 10/6/2019.
- Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3708:1990. Thủy sản - phương pháp xác định hàm lượng nitơ axit amin, ngày truy cập 23/04/2019. Địa chỉ: <https://vanbanphapluat.co/tcvn-3708-1990-thuy-san-phuong-phap-xac-dinh-ham-luong-nito-axit-amin>.
- Toppe, J., Albrektsen, S., Hope, B. and Aksnes, A., 2007. Chemical composition, mineral content and amino acid and lipid profiles in bones from various fish species. Comparative Biochemical and Physiology. 146B: 395-401.
- Trần Thị Luyến, 1996. Giáo trình chế biến thủy sản tổng hợp tập 2: Công nghệ chế biến dầu cá, bột cá. Trường Đại học Nha Trang.