

TỐI ƯU ĐIỀU KIỆN THỦY PHÂN PROTEIN ĐẦU TÔM THÊ CHÂN TRẮNG (*LITOPENAEUS VANNEMEI*) BẰNG ENZYME ALCALASE

OPTIMIZATION OF PROTEIN HYDROLYSIS CONDITIONS FROM WHITELEG SHRIMP HEADS (*LITOPENAEUS VANNEMEI*) USING ALCALASE

Phạm Đức Hùng¹, Hoàng Thùy Linh¹, Đặng Thị Tố Uyên³, Nguyễn Văn Minh^{2*}

1. Viện Nuôi trồng Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang

2. Phòng Đào tạo Sau đại học, Trường Đại học Nha Trang

3. Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang

Tác giả liên hệ: Nguyễn Văn Minh, Email: minhnv@ntu.edu.vn

Ngày nhận bài: 8/5/2025; Ngày phản biện thông qua: 9/7/2025; Ngày duyệt đăng: 20/09/2025

TÓM TẮT

Protein thủy phân từ động vật thủy sản có chứa nhiều peptide mạch nhỏ, amino acid và các chất có hoạt tính sinh học nên có nhiều ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm. Mục tiêu của nghiên cứu này là tối ưu các điều kiện thủy phân cho enzyme alcalase (nồng độ enzyme, nhiệt độ và thời gian thủy phân) để thu nhận dịch protein thủy phân từ đầu tôm thẻ chân trắng sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng với bố trí thí nghiệm theo mô hình Box–Behnken. Kết quả nghiên cứu đã xây dựng được hai phương trình hồi quy đánh giá ảnh hưởng của nồng độ enzyme, nhiệt độ và thời gian thủy phân đến độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan của dịch thủy phân đầu tôm thẻ chân trắng; cả hai phương trình hồi quy đều phù hợp với độ tin cậy lớn hơn 99%. Điều kiện thủy phân tối ưu khi thủy phân đầu tôm thẻ chân trắng bằng enzyme alcalase là nồng độ enzyme 0,77% (w/w), nhiệt độ 54,4 °C và thời gian thủy phân 7,1 giờ; tại điều kiện tối ưu độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan lần lượt là 40,98% và 50,67 mg/mL.

Từ khóa: protein thủy phân, enzyme alcalase, điều kiện thủy phân, tối ưu

ABSTRACT

Protein hydrolysates obtained from aquatic animals generally contain high levels of small peptides, amino acids, and bioactive compounds, which have many applications in the food industry. The objective of this study was to optimise the hydrolysis conditions for alcalase (enzyme concentration, temperature, and hydrolysis time) to obtain protein hydrolysate from whiteleg shrimp heads using a Box–Behnken experimental design of response surface methodology (RSM). Two regression equations were established to evaluate the effects of alcalase concentration, temperature, and hydrolysis time on the degree of hydrolysis (DH) and soluble protein (SP) content in the protein hydrolysate. Both regression equations were found to be suitable, with a confidence level greater than 99%. An alcalase concentration of 0.77% (w/w), a temperature of 54.4 °C and a hydrolysis time of 7.1 h were found to be the optimum conditions to achieve the maximum DH of 40.98% and a SP content of 50.67 mg/mL.

Keywords: protein hydrolysates, enzyme alcalase, hydrolysis conditions, optimisation.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tôm là một trong những loài thủy sản được nuôi phổ biến ở Việt Nam với hai loài chính là tôm sú (*Penaeus monodon*) và tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*). Năm 2024, sản lượng tôm của Việt Nam đạt 1,264 triệu tấn, trong đó tôm sú đạt 284 nghìn tấn và tôm thẻ chân trắng đạt 980 nghìn tấn, đem về kim ngạch xuất khẩu gần 4 tỷ USD (Nguyễn Anh, 2025). Ngành công nghiệp chế biến tôm tạo ra

lượng phụ phẩm chiếm khoảng 35-40% khối lượng nguyên liệu đầu vào, bao gồm vỏ, đầu và thịt vụn; trong đó đầu tôm chiếm hơn 70% khối lượng phụ phẩm (Trung và Phuong 2012). Phụ phẩm từ chế biến tôm chứa nhiều thành phần có giá trị dinh dưỡng và dược học như protein, carotenoids, chitin, lipid và khoáng chất; đây là nguồn nguyên liệu dồi dào để chế biến thành các sản phẩm sử dụng trong thực phẩm, dược phẩm, mỹ phẩm, thức ăn chăn nuôi và nông

ngiệp (Hsu và cộng sự, 2000).

Protein thủy phân từ động vật thủy sản đã được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như chế biến thực phẩm và thực phẩm bảo vệ sức khỏe, mỹ phẩm, thức ăn chăn nuôi, do chúng chứa nhiều các peptide mạch nhỏ với 2-20 amino acid, nên thích hợp cho sự tiêu hóa trong ruột của động vật (Neklyudov và cộng sự, 2000). Ngoài cung cấp dinh dưỡng, việc bổ sung protein thủy phân trong chế biến thực phẩm còn giúp làm tăng khả năng nhũ hóa và tăng khả năng giữ nước của sản phẩm (Ibarra và cộng sự, 2013). Nhiều nghiên cứu cho thấy, trong protein thủy phân có chứa hàm lượng đáng kể các chất chống oxy hóa (Dekkers và cộng sự, 2011; You và cộng sự, 2011). Các peptide được tạo ra trong quá trình thủy phân có khả năng gắn với các ion kim loại, khử các gốc tự do từ đó ngăn cản/làm chậm quá trình oxy hóa lipid (You và cộng sự, 2011). Nghiên cứu của Dekkers và cộng sự (2011) cho thấy sự hình thành các chất hydroperoxide và các hợp chất hoạt hóa của acid thiobarbituric (TBARS) trong cơ thịt đỏ cá mahi mahi giảm đáng kể khi được ngâm trong dịch protein thủy phân từ cá rô phi. Trong nuôi trồng thủy sản, protein thủy phân từ động vật thủy sản cũng được bổ sung vào thức ăn nhằm thay thế một phần bột cá. Việc bổ sung protein thủy phân từ động vật thủy sản vào thức ăn giúp kích thích tăng trưởng, kích thích tiêu hóa và tăng khả năng miễn dịch cho cá bớp (Costa-Bomfim và cộng sự, 2017), cá lóc (Fang và cộng sự, 2019) và cá tráp đỏ (Khosravi và cộng sự, 2015). Nghiên cứu này được tiến hành nhằm thu nhận protein thủy phân từ đầu tôm thẻ chân trắng để bổ sung vào thức ăn trong ương cá bẹ vầu (*Caranx ignobilis* Forsskal, 1775).

Nhiều phương pháp đã được ứng dụng để thu nhận protein thủy phân từ phụ phẩm chế biến thủy sản như phương pháp hóa học (sử dụng acid hoặc kiềm), phương pháp hóa lý (sử dụng nhiệt) và phương pháp sinh học (sử dụng enzyme). Trong đó, phương pháp thủy phân protein sử dụng enzyme được chứng minh là phương pháp thân thiện với môi trường,

sản phẩm protein thủy phân thu được có chất lượng cao, có thể không chế quá trình thủy phân để thu được các mạch peptides có phân tử lượng tùy theo mục đích sử dụng. Nhiều loại enzyme thương mại đã được nghiên cứu ứng dụng vào thủy phân phụ phẩm chế biến thủy sản như alcalase, flavouzyme, papain, neutrase, protamex,... (Nguyễn Văn Mười và Hà Thị Thụy Vy, 2018; Denis và cộng sự, 2023, Trương Thị Mộng Thu và cộng sự, 2022; Randriamahatody và cộng sự, 2011; Gunasekaran và cộng sự, 2015). Các enzyme có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp các cặp với nhau nhằm tăng hiệu quả thủy phân. Alcalase được xem là một enzyme có hiệu quả thủy phân cao và được ứng dụng rộng rãi trong thủy phân các phụ phẩm chế biến thủy sản (Nguyễn Văn Mười và Hà Thị Thụy Vy, 2018; Denis và cộng sự, 2023, Trương Thị Mộng Thu và cộng sự, 2022). Hiệu quả thủy phân protein của enzyme phụ thuộc vào nhiều yếu tố như nồng độ cơ chất, nhiệt độ, nồng độ enzyme, thời gian thủy phân, pH môi trường và tính chất của nguồn liệu (Randriamahatody và cộng sự, 2011; Gunasekaran và cộng sự, 2015; Nguyễn Văn Mười và Hà Thị Thụy Vy, 2018; Denis và cộng sự, 2023). Việc nghiên cứu tìm ra điều kiện thủy phân phù hợp đối với từng loại nguyên liệu là cần thiết nhằm tối đa hiệu quả thủy phân để thu nhận protein có các tính chất đáp ứng từng mục tiêu ứng dụng cụ thể. Do vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) để xác định điều kiện thủy phân tối ưu cho enzyme alcalase (nồng độ enzyme, nhiệt độ, thời gian thủy phân) nhằm thu nhận protein thủy phân từ đầu tôm thẻ chân trắng. Các hàm mục tiêu sử dụng trong nghiên cứu là độ thủy phân (DH) và hàm lượng protein hòa tan (SP).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên vật liệu

Đầu tôm thẻ chân trắng được thu mua tại nhà máy chế biến tôm ở Khu Công nghiệp Suối Dầu, huyện Diên Khánh, tỉnh Khánh Hòa. Tôm được nhà máy thu mua tại các địa nuôi

thuộc huyện Ninh Hòa, tỉnh Khánh Hòa. Đầu tôm tươi, sạch, không có mùi lạ được bảo quản lạnh trong thùng xốp và vận chuyển về phòng thí nghiệm thuộc Trung tâm Thí nghiệm Thực hành - Trường Đại học Nha Trang. Đầu tôm được xay nhuyễn, bao gói chân không trong bao bì PA, làm đông và bảo quản ở nhiệt độ -20 ± 2 °C cho đến khi sử dụng. Trước khi thủy phân, đầu tôm được rã đông trong tủ lạnh ở nhiệt độ 2-4 °C qua đêm cho đến khi rã đông hoàn toàn.

Enzyme alcalase (hoạt độ 2,4 AU/g và mật độ 1,18 g/mL) là chế phẩm protease thương mại do hãng Novozyme - Đan Mạch cung cấp. Alcalase thuộc nhóm enzyme serine endopeptidase thu nhận từ chủng *Bacillus licheniformis*. Enzyme được bảo quản ở nhiệt độ 4 ± 1 °C.

Tất cả hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đạt chất lượng phân tích và được mua từ Sigma-Aldrich (Pasir Panjang Road, Singapore).

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Chuẩn bị mẫu thủy phân

Nguyên liệu đầu tôm đã xay nhỏ được trộn với dung dịch đệm phosphate 0,1 M với tỉ lệ 1:1. Giá trị pH của hỗn hợp được điều chỉnh về pH tối ưu của enzyme alcalase (pH 8,5) bằng dung dịch NaOH 0,2N và HCl 0,1N (Ovissipour và cộng sự, 2009). Bổ sung enzyme alcalase và

tiến hành thủy phân ở các điều kiện theo bố trí thí nghiệm (Bảng 2). Sau khi kết thúc quá trình thủy phân, mẫu được nâng nhiệt đến 90 °C và giữ trong thời gian 15 phút để bất hoạt enzyme. Hỗn hợp sau thủy phân được làm nguội nhanh bằng nước đá và ly tâm lạnh ở tốc độ 5.000 vòng/phút, nhiệt độ 4 °C trong 25 phút. Dịch thủy phân từ tôm được thu nhận và phân tích các chỉ tiêu độ thủy phân (DH) và hàm lượng protein hòa tan (SP).

2.2. Thiết kế thí nghiệm tối ưu điều kiện thủy phân

Với nồng độ enzyme (E_n , X_1 , % (w/w)), nhiệt độ thủy phân (T_e , X_2 , °C) và thời gian thủy phân (T_i , X_3 , h), được xác định như là các biến độc lập. Các giá trị biên của các yếu tố nghiên cứu được xác định dựa vào các thí nghiệm thăm dò và các kết quả nghiên cứu đã công bố (Bảng 1). Phương pháp bề mặt đáp ứng với thiết kế thí nghiệm theo mô hình Box-Behnken trên phần mềm Minitab được sử dụng để tối ưu điều kiện thủy phân nhằm thu nhận dịch thủy phân có độ thủy phân (DH) và hàm lượng protein hòa tan (SP) cao nhất. Số thí nghiệm được tính theo công thức $N = 2 \times k \times (k - 1) + N_0$, trong đó k là số yếu tố ($k = 3$), N_0 là số thí nghiệm lặp lại ở tâm ($N_0 = 3$), vậy tổng số thí nghiệm là $N = 15$ (Bảng 2).

Bảng 1. Giá trị biên cho các yếu tố trong thiết kế theo Box-Behnken để tối ưu điều kiện thủy phân

Yếu tố	Đơn vị	Ký hiệu	Mã biến	Khoảng		
				-1	0	1
Nồng độ enzyme	% (w/w)	E_n	X_1	0,5	0,75	1,0
Nhiệt độ	°C	T_e	X_2	50	55	60
Thời gian	h	T_i	X_3	4	7	10

Mô hình hồi quy đa thức bậc hai được sử

dụng để tính toán số liệu thực nghiệm:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} X_i X_j$$

Trong đó: k là số yếu tố; X_i và X_j là biến độc lập ảnh hưởng tới biến phụ thuộc Y (độ thủy phân-DH, % và hàm lượng protein hòa

tan-SP, mg/mL); β_0 , β_i , β_{ii} and β_{ij} là các hệ số hồi quy.

Bảng 2. Ma trận quy hoạch thực nghiệm quá trình thủy phân protein từ đầu tôm thẻ chân trắng

STT	Giá trị biến thực			Kết quả thực nghiệm	
	Nồng độ E (% <i>, w/w</i>)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (h)	DH (%)	SP (mg/mL)
1	0,50	55	4	39,52	46,51
2	0,75	60	4	37,64	42,65
3	0,50	55	10	39,63	48,66
4	1,00	50	7	40,09	46,33
5	1,00	55	4	40,70	48,74
6	1,00	60	7	37,41	43,40
7	0,75	55	7	40,79	50,57
8	0,75	60	10	36,73	42,65
9	0,75	55	7	40,86	50,66
10	0,75	55	7	40,79	50,57
11	0,75	50	4	39,52	46,51
12	0,75	50	10	40,14	47,42
13	1,00	55	10	39,35	47,59
14	0,50	60	7	37,70	44,38
15	0,50	50	7	39,26	45,62

X_1 (Nồng độ enzyme, %), X_2 (Nhiệt độ thủy phân, °C), X_3 (Thời gian thủy phân, h), -1 = giá trị biên thấp, 0 = giá trị trung tâm, $+1$ = giá trị biên cao, DH: độ thủy phân, SP: hàm lượng protein hòa tan

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Phương pháp xác định thành phần hóa học cơ bản

Thành phần hóa học cơ bản của nguyên liệu và dịch protein thủy phân được xác định theo phương pháp của AOAC (1980). Hàm lượng nước được xác định bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ 105 °C. Hàm lượng protein tổng số được xác định bằng phương pháp Kjeldahl ($N \times 6,25$). Hàm lượng lipid được xác định theo phương pháp Soxhlet. Hàm lượng tro tổng số được xác định bằng phương pháp nung ở 550 °C cho đến khi mẫu được chuyển sang màu trắng. Tất cả thí nghiệm được lặp lại ba lần.

2.3.2. Xác định độ thủy phân (DH)

Độ thủy phân (DH) là tỷ số giữa số liên kết peptide bị phá vỡ (h) với tổng số liên kết peptide trên đơn vị khối lượng (h_{tot}) và được tính theo công thức của Goodwin (1968).

$$DH (\%) = \frac{h_i}{h_{tot}} \times 100$$

Trong đó, h_i được xác định bằng cách đo lượng nhóm α -amino tự do được tạo thành trong quá trình thủy phân protein. Nguyên tắc dựa trên phản ứng giữa các nhóm α -amino tự do với thuốc thử dinitrofluorobenzene (DNFB) để tạo thành phức amino acid có màu vàng. Độ hấp thụ quang của phức này được đo tại bước sóng 410 nm. h_{tot} là số liên kết peptide, với 0,0086 mol liên kết peptide tương đương trong 1 g protein thủy sản (Silva và cộng sự, 2014). Khi đó công thức tính độ thủy phân được viết thành:

$$DH (\%) = \frac{A \times V \times D_f}{P \times 0,0086} \times 100$$

Trong đó, A là nồng độ nhóm α -amino tự do (mol/mL) có trong mẫu, được xác định dựa trên đường chuẩn xây dựng từ glycine; V là thể tích mẫu được sử dụng để phân tích (mL); P là

khối lượng protein có trong thể tích mẫu phân tích (g); 0,0086 là số mol liên kết peptide tương đương có trong 1 gam protein thủy sản; D_f là hệ số pha loãng dịch protein thủy phân.

2.3.3. Xác định hàm lượng protein hòa tan (SP)

Hàm lượng protein hòa tan trong dịch thủy phân được xác định bằng phương pháp Biuret (Torten và Whitaker, 1964). Hàm lượng protein hòa tan được tính toán dựa vào đường chuẩn xây dựng từ albumin huyết thanh bò (BSA, Fraction V, Approx. 99%, Sigma-Aldrich, Singapore).

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được tính trung bình, độ lệch chuẩn sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2016. Thiết kế thí nghiệm theo Box-Behnken và tối ưu hóa điều kiện thủy phân theo phương pháp bề mặt đáp ứng được thực hiện trên phần mềm Minitab 16 (Version 16, Minitab Inc., Pennsylvania State, USA). Số liệu thực

nhịệm được xử lý thống kê phân tích phương sai (ANOVA) với độ tin cậy 95%.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hóa học cơ bản của đầu tôm thể chân trắng

Thành phần hóa học cơ bản của đầu tôm thể chân trắng được thể hiện trong Bảng 3. Đầu tôm nguyên liệu có hàm lượng nước cao, chiếm $72,66 \pm 0,25\%$. Protein thô trong đầu tôm thể chân trắng khoảng 15,05%, cao hơn với hàm lượng protein từ đầu tôm thể chân trắng trong công bố của Huỳnh Chấn Tỷ (2018) và Nguyễn Văn Mười và Hà Thị Thụy Vy (2018) với protein khoảng 13,25% và 12,80%. Điều này có thể do sự khác nhau về điều kiện nuôi và thức ăn sử dụng trong quá trình nuôi dẫn đến sự khác nhau về thành phần hóa học. Như vậy, đầu tôm thể chân trắng có hàm lượng protein khá cao, đây là nguồn nguyên liệu tiềm năng để thu nhận protein thủy phân.

Bảng 3. Thành phần hóa học của đầu tôm thể chân trắng

Thành phần	Hàm lượng (% theo vật liệu ướt)
Nước	$72,66 \pm 0,25$
Protein thô	$15,05 \pm 1,53$
Lipid	$1,45 \pm 0,05$
Tro	$4,40 \pm 0,08$

3.2. Tối ưu điều kiện thủy phân đầu tôm thể chân trắng bằng enzyme alcalase

Ảnh hưởng của nồng độ enzyme (X_1), nhiệt độ (X_2) và thời gian thủy phân (X_3) đến độ thủy phân (DH) và hàm lượng protein hòa tan (SP) trong dịch thủy phân từ đầu tôm thể chân trắng được trình bày trong Bảng 2. Kết quả cho thấy độ thủy phân thực nghiệm dao động từ 36,73% đến 40,86% và hàm lượng protein hòa tan thực nghiệm dao động từ 42,65 đến 50,66 mg/mL. Độ thủy phân trong nghiên cứu này cao hơn so với kết quả công bố bởi Nguyễn Văn Mười và Hà Thị Thụy Vy (2018) khi nghiên cứu thủy phân thịt đầu tôm thể chân trắng bằng enzyme alcalase ở điều kiện nồng độ enzyme alcalase tối ưu 20 UI/g trong thời gian thủy phân 4 giờ, ở pH 7,65 và nhiệt độ 58,78 °C, độ

thủy phân đạt 37,6%. Tuy nhiên, độ thủy phân trong nghiên cứu này thấp hơn so với kết quả công bố bởi Guo và cộng sự (2014) khi thủy phân phụ phẩm tôm *Penaeus chinensis* sử dụng enzyme dispase ở nồng độ 2%, nhiệt độ và thời gian thủy phân lần lượt là 57 °C và 3 giờ, tại điều kiện tối ưu độ thủy phân là 57,65%. Sự khác nhau về độ thủy phân ở các nghiên cứu là do sự khác nhau về tính chất của nguyên liệu, loại enzyme sử dụng và điều kiện thủy phân.

Theo kết quả phân tích phương sai ANOVA thể hiện ở Bảng 4 cho thấy, cả mô hình tuyến tính và mô hình bậc hai của các yếu tố nghiên cứu (nồng độ enzyme, nhiệt độ và thời gian thủy phân) đều ảnh hưởng ý nghĩa đến độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan. Trong khi đó, mô hình tương tác giữa các yếu tố nghiên

cứu có ảnh hưởng lớn hơn đến độ thủy phân (p = 0,019) so với ảnh hưởng đến hàm lượng

protein hòa tan (p = 0,205).

Bảng 4. Hệ số phương trình hồi quy và kết quả phân tích phương sai ANOVA

Hệ số	Độ thủy phân (%)			Hàm lượng protein hòa tan (mg/mL)		
	Tổng bình phương (SS)	F-value	P-value	Tổng bình phương (SS)	F-value	P-value
Mô hình tuyến tính	11,904	73,46	0,000	21,035	12,76	0,009
Enzyme	0,259	4,80	0,080	0,099	0,18	0,689
Nhiệt độ	11,353	210,16	0,000	20,480	37,26	0,002
Thời gian	0,293	5,42	0,067	0,456	0,83	0,404
Mô hình bậc hai	12,233	75,49	0,000	77,768	47,16	0,000
Enzyme * Enzyme	0,310	14,02	0,013	2,932	11,35	0,020
Nhiệt độ * Nhiệt độ	10,763	208,24	0,000	67,338	128,13	0,000
Thời gian * Thời gian	1,160	21,47	0,006	7,498	13,64	0,014
Tương tác	1,432	8,83	0,019	3,644	2,21	0,205
Enzyme * Nhiệt độ	0,314	5,81	0,061	0,714	1,30	0,306
Enzyme * Thời gian	0,533	9,87	0,026	2,722	4,95	0,077
Nhiệt độ * Thời gian	0,585	10,83	0,022	0,207	0,38	0,566
Mô hình hồi quy	25,569	52,59	0,000	102,447	20,71	0,002
Sự thiếu phù hợp của mô hình (Lack of fit)	0,267	7,63	0,118	2,743	8,92	0,103
Sai số thuần (Pure error)	0,023			0,205		

Từ kết quả ở Bảng 4 cho phép rút ra các phương trình hồi quy thể hiện ảnh hưởng của nồng độ enzyme, nhiệt độ và thời gian thủy

phân đến độ thủy phân (DH) và hàm lượng protein hòa tan (SP) trong dịch thủy phân đầu tôm thẻ chân trắng:

$$Y_{DH}(\%) = -186,112 + 27,3167X_1 + 7,7880X_2 + 2,5755X_3 - 0,2240X_1X_2 - 0,4866X_1X_3 - 0,0255X_2X_3 - 7,2467X_1^2 - 0,0698X_2^2 - 0,0622X_3^2$$

$$Y_{SP}\left(\frac{mg}{mL}\right) = -506,173 + 57,9350X_1 + 19,2567X_2 + 3,9554X_3 - 0,3380X_1X_2 - 1,1000X_1X_3 - 0,0151X_2X_3 - 20,8000X_1^2 - 0,1747X_2^2 - 0,1583X_3^2$$

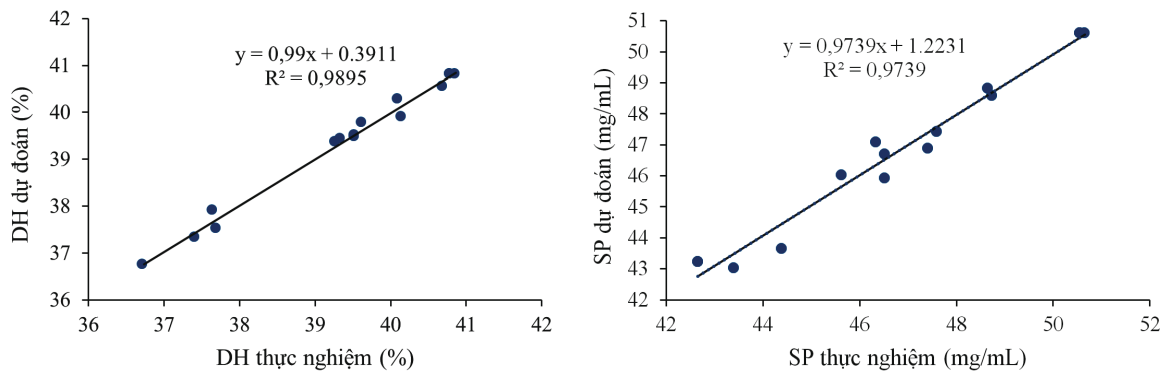
Theo kết quả phân tích phương sai ANOVA kiểm định tính tương thích của mô hình hồi quy dự đoán độ thủy phân (p = 0.000) và hàm lượng protein hòa tan (p = 0.002) cho thấy, cả hai phương trình hồi quy đều có ý nghĩa với độ tin cậy lớn hơn 99%. Ngoài ra giá trị F của hai mô hình hồi quy cao thể hiện sự tác động của các yếu tố và tương tác giữa các yếu tố nghiên

cứu đến độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan có ý nghĩa. Mức độ phù hợp của hai phương trình hồi quy cũng được đánh giá thông qua giá trị kiểm định sự thiếu phù hợp. Kết quả cho thấy, giá trị p của cả hai mô hình không có ý nghĩa thống kê (p = 0,118 cho DH và p = 0,103 cho SP) đồng thời giá trị F nhỏ (F = 7,63 cho DH và F = 8,92 cho SP) nên cả hai

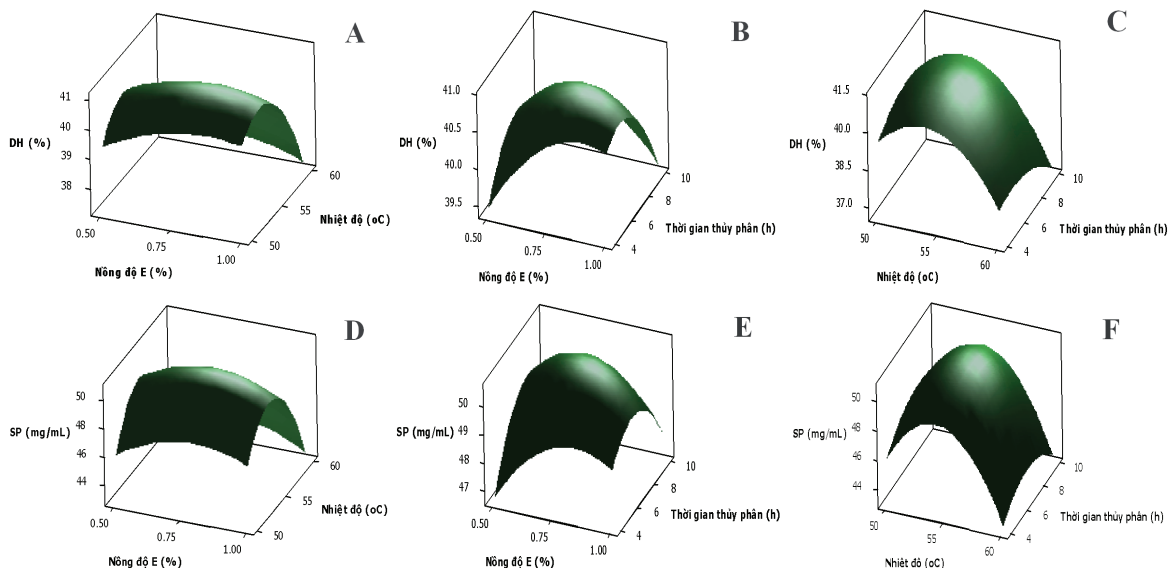
mô hình có độ phù hợp cao (Bảng 4).

Kết quả đánh giá sự tương quan giữa giá trị thực nghiệm của độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan với giá trị tiên đoán bằng phương trình hồi quy thể hiện trên Hình 1 cho thấy, độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan thu được từ thực nghiệm và tính toán theo phương trình hồi quy có độ tương thích cao với giá trị R^2 lần lượt là 0,9895 và 0,9739. Như vậy, có thể kết luận hai phương trình hồi quy thu được đã mô tả đúng các kết quả thực nghiệm. Hệ số tương quan 98,95% và 97,39% cho thấy

sự thay đổi độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan trong dịch thủy phân là do ảnh hưởng của các biến độc lập X_1 (nồng độ enzyme), X_2 (nhiệt độ) và X_3 (thời gian thủy phân); chỉ có 1,05% và 2,61% sự thay đổi là do ảnh hưởng của các yếu tố thủy phân khác. Kết quả này hoàn toàn tương đồng với kết quả công bố bởi Nguyễn Văn Mười và Hà Thị Thụy Vy (2018) khi thủy phân cơ thịt đầu tôm thể chân trắng bằng enzyme alcalase, và kết quả công bố bởi Denis và cộng sự (2023) khi thủy phân đầu cá ngừ vây vàng bằng enzyme alcalase.



Hình 1. Tương quan giữa độ thủy phân (DH) và hàm lượng protein hòa tan (SP) thực nghiệm với giá trị dự đoán bằng phương trình hồi quy

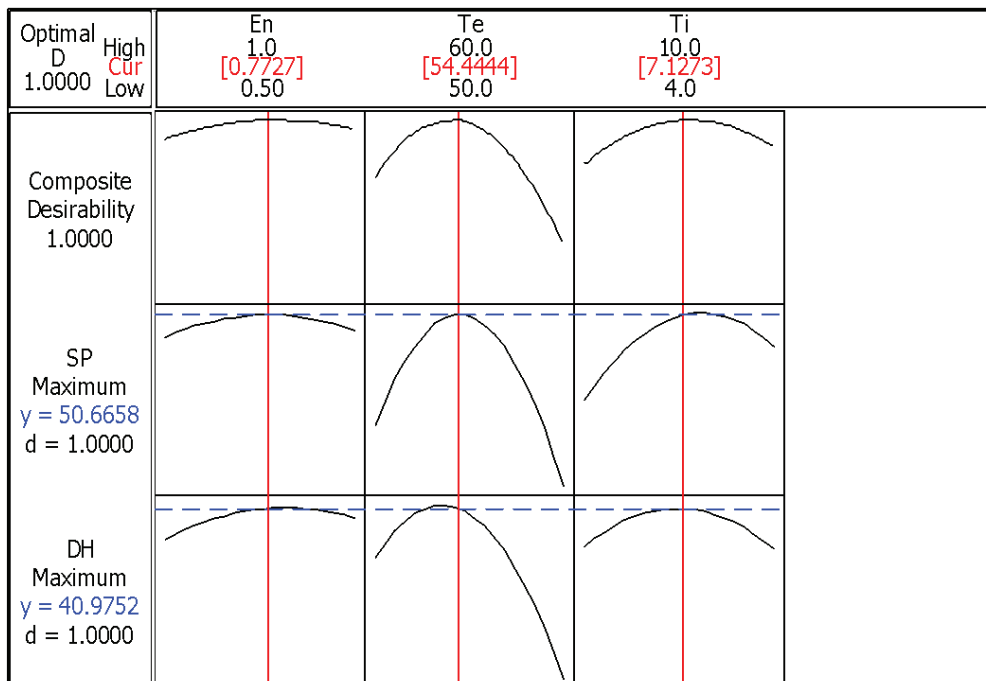


Hình 2. Đồ thị bề mặt đáp ứng thể hiện ảnh hưởng của các cặp yếu tố nồng độ enzyme (X_1), nhiệt độ (X_2) và thời gian thủy phân (X_3) đến độ thủy phân (DH) và hàm lượng protein hòa tan (SP) trong dịch thủy phân thu nhận từ đầu tôm thể chân trắng

Kết quả thể hiện ở Hình 2 cho thấy, các cặp yếu tố nghiên cứu có ảnh hưởng đồng thời đến hiệu quả thủy phân protein từ đầu tôm thẻ chân trắng của enzyme alcalase. Ở cặp yếu tố nồng độ enzyme và nhiệt độ, khi tăng đồng thời hai yếu tố này thì độ thủy phân (Hình 2A) và hàm lượng protein hòa tan (Hình 2D) tăng dần và đạt giá trị cực đại ở nồng độ enzyme và nhiệt độ phù hợp. Tuy nhiên, khi hai yếu tố này vượt quá giá trị phù hợp thì độ thủy phân (DH) và hàm lượng protein hòa tan (SP) có xu hướng giảm xuống. Kết quả tương tự cũng thu được khi đánh giá ảnh hưởng của cặp yếu tố nồng độ enzyme và thời gian thủy phân (Hình 2B và 2E), cặp yếu tố nhiệt độ và thời gian thủy phân (Hình 2C và 2F) đến độ thủy phân (DH) và hàm lượng protein hòa tan (SP). Các enzyme thủy phân protein có bản chất là protein do vậy khi tăng nhiệt độ và thời gian thủy phân sẽ tăng tốc độ thủy phân cắt đứt liên kết peptide làm tăng độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan. Tuy nhiên, khi nhiệt độ quá cao và thời gian kéo

dài có thể làm biến tính protein, phá vỡ trung tâm hoạt động của enzyme làm mất khả năng xúc tác thủy phân protein (Souissi và cộng sự, 2007) nên độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan có xu hướng giảm. Tương tự, khi tăng nồng độ enzyme sẽ tăng khả năng cắt đứt liên kết peptide tạo thành các peptides mạch ngắn, làm tăng độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan. Khi nồng độ enzyme bão hòa với cơ chất, dù nồng độ enzyme có tăng cũng không làm tăng độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan (Denis và cộng sự, 2023). Kết quả tương tự cũng được công bố bởi Nguyễn Văn Mười và Hà Thị Thụy Vy (2018) khi thủy phân cơ thịt đầu tôm thẻ chân trắng bằng enzyme alcalase; Denis và cộng sự (2023) khi thủy phân đầu cá ngừ vây vàng bằng enzyme alcalase.

Kết quả tối ưu ảnh hưởng đồng thời của ba yếu tố nồng độ enzyme (X_1 , En), nhiệt độ (X_2 , Te) và thời gian thủy phân (X_3 , Ti) đến độ thủy phân (DH) và hàm lượng protein hòa tan (SP) được thể hiện trên Hình 3.



Hình 3. Biểu đồ tối ưu ảnh hưởng của đồng thời các yếu tố thủy phân đến độ thủy phân (DH) và hàm lượng protein hòa tan (SP)

En: nồng độ enzyme (X_1), Te: nhiệt độ thủy phân (X_2), Ti: thời gian thủy phân (X_3), DH: độ thủy phân, SP: hàm lượng protein hòa tan

Kết quả thể hiện trên Hình 3 cho thấy, điều kiện thủy phân tối ưu khi thủy phân đầu tôm thẻ chân trắng bằng enzyme alcalase là nồng độ enzyme 0,77% (w/w), nhiệt độ 54,4 °C và thời gian thủy phân 7,1 giờ. Ở điều kiện thủy phân tối ưu, độ thủy phân thu được là 40,98%, dịch protein thủy phân có hàm lượng protein hòa tan là 50,67 mg/mL. Kết quả công bố bởi Denis và cộng sự (2023), điều kiện nồng độ enzyme alcalase, nhiệt độ và thời gian tối ưu khi thủy phân đầu cá ngừ vây vàng tương ứng là 0,82%, 55 °C và 7 giờ; ở điều kiện thủy phân tối ưu độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan lần lượt là 29,8% và 36,3 mg/mL. Nghiên cứu của Nguyễn Văn Mười và Hà Thị Thụy Vy (2018), điều kiện tối ưu khi thủy phân thịt đầu tôm thẻ chân trắng là nồng độ enzyme alcalase 20UI/g với thời gian thủy phân trong 4 giờ, ở nhiệt độ 58,78 °C và pH 7,65, tại điều kiện tối ưu độ thủy phân đạt 37,6%. Trong khi đó, ở điều kiện tối ưu khi thủy phân phụ phẩm cá lười

trâu bằng enzyme alcalase, độ thủy phân cao nhất đạt được là 33,42% (Nguyễn Chí Thanh và cộng sự, 2019). Kết quả nghiên cứu của Trương Thị Mộng Thu và cộng sự (2022), điều kiện thủy phân protein đầu cá lóc bằng enzyme alcalase là nồng độ enzyme 0,8% trong thời gian 30 giờ cho độ thủy phân là 40,5%. Sự khác nhau về điều kiện thủy phân tối ưu và độ thủy phân đạt được ở các nghiên cứu là do sự khác nhau về hàm lượng và cấu trúc của protein trong nguyên liệu thủy phân.

Kết quả kiểm định sự sai lệch giữa mô hình dự đoán và giá trị thực nghiệm ở điều kiện thủy phân tối ưu được thể hiện trên Bảng 5. Sai số tương đối giữa giá trị độ thủy phân dự đoán và giá trị thực nghiệm là 1,70%; giữa giá trị hàm lượng protein hòa tan dự đoán và giá trị thực nghiệm là 1,76%, nhỏ hơn 2% chứng tỏ mô hình dự đoán rất gần với thực nghiệm. Điều này khẳng định điều kiện thủy phân tối ưu xác định được là chính xác và có độ tin cậy cao.

Bảng 5. Độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan ở điều kiện tối ưu

Yếu tố	Điều kiện tối ưu	DH (%)		SP (mg/mL)		Sai số tương đối RE (%)	
		Dự đoán	Thực nghiệm	Dự đoán	Thực nghiệm	DH	SP
Nồng độ enzyme (%)	0,77						
Nhiệt độ (°C)	54,4	40,98	41,69±0,11	50,67	51,58±0,17	1,70	1,76
Thời gian (h)	7,1						

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy các yếu tố nồng độ enzyme, nhiệt độ và thời gian thủy phân có ảnh hưởng lớn đến độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan trong dịch thủy phân thu nhận từ đầu tôm thẻ chân trắng. Các phương trình hồi quy thu được hoàn toàn phù hợp và mô tả đúng các giá trị thực nghiệm. Điều kiện thủy phân tối ưu khi thủy phân đầu tôm thẻ chân trắng bằng enzyme alcalase là nồng độ enzyme 0,77% (w/w), nhiệt độ

54,4 °C và thời gian thủy phân 7,1 giờ. Dịch protein thủy phân từ đầu tôm thẻ chân trắng ở điều kiện tối ưu có độ thủy phân và hàm lượng protein hòa tan lần lượt là 40,98% và 50,67 mg/mL.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo, mã số B2024-TSN-17.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Huỳnh Chấn Tỷ (2018), *Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến thành phần hóa học và đặc tính chức năng của sản phẩm thủy phân protein từ đầu tôm thẻ chân trắng*, Luận văn Thạc sĩ, Trường Đại học Nha Trang.
2. Nguyễn Anh (2025), “Gam màu tươi sáng của ngành tôm năm 2025”, *Tạp chí thủy sản Việt Nam*.
3. Nguyễn Chí Thanh, Nguyễn Ngọc Hà và Nguyễn Phúc Cẩm Tú (2019), “Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình thủy phân protein từ phụ phẩm cá lưỡi trâu bằng enzyme alcalase”, *Tạp chí Khoa học-Công nghệ Thủy sản*, số 4, tr. 106-114.
4. Nguyễn Văn Mười và Hà Thị Thụy Vy (2018), “Khảo sát điều kiện hoạt động tối ưu của enzyme alcalase thủy phân protein từ thịt đầu tôm thẻ chân trắng”, *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ*, số 54, tr. 148-156.
5. Trương Thị Mộng Thu, Lê Thị Minh Thủy, Nguyễn Văn Mười và Trần Thanh Trúc (2022), “Ảnh hưởng của nồng độ và thời gian thủy phân protein từ đầu cá lóc (*Channa striata*) sử dụng các protease khác nhau”, *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ*, số 4B, tr. 78-86.

Tiếng Anh

6. AOAC - Association of Official Analytical of Chemist. (1980), *Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical of Chemist*. Virginia (US): AOAC International.
7. Costa-Bomfim, C. N., Silva, V. A., Bezerra, R. D. S., Druzian, J. I., & Cavalli, R. O. (2017), “Growth, feed efficiency and body composition of juvenile cobia (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766) fed increasing dietary levels of shrimp protein hydrolysate”, *Aquaculture Research*, 48(4), 1759-1766.
8. Dekkers, E., Raghavan, S., Kristinsson, H. G., & Marshall, M. R. (2011), “Oxidative stability of mahi mahi red muscle dipped in tilapia protein hydrolysates”, *Food Chemistry*, 124, 640-645.
9. Denis M., Pham, D. H., & Nguyen, M. V. (2023), “Optimisation of hydrolysis conditions for yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) heads using alcalase enzyme”. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1155, 1-9.
10. Fang, H., Xie, J., Liao, S., Guo, T., Xie, S., Liu, Y., Tian, L., & Niu, J. (2019), “Effects of Dietary Inclusion of Shrimp Paste on Growth Performance, Digestive Enzymes Activities, Antioxidant and Immunological Status and Intestinal Morphology of Hybrid Snakehead (*Channa maculata* ♀ × *Channa argus* ♂)”, *Frontiers in Physiology*, 10, 1027.
11. Goodwin, J. F. (1968), “The colorimetric estimation of plasma amino nitrogen with DNFB”, *Clinical Chemistry*, 14, 1080-1090.
12. Gunasekaran, J., Kannuchamy, N., Kannaiyan, S., Chakraborti, R., & Gudipati, V. (2015), “Protein Hydrolysates from Shrimp (*Metapenaeus dobsoni*) Head Waste: Optimization of Extraction Conditions by Response Surface Methodology”, *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 24(5), 429-442.
13. Guo, X., Han, X., He, Y., Du, H., & Tan, Z. (2014), “Optimization of enzymatic hydrolysis for preparation of shrimp flavor precursor using response surface methodology”, *Journal of Food Quality*, 37(4), 229-236.
14. Hsu, K. C. (2010), “Purification of antioxidative peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product”, *Food Chemistry*, 122(1), 42-48.
15. Ibarra, J. P., Teixeira, A., Simpson, R., Valencia, P., Pinto, M., & Almonacid, S. (2013), “Addition of fish protein hydrolysate for enhanced water retention in sous vide processing of Salmon”, *Journal of Food Processing & Technology*, 4(7), 1-7.
16. Khosravi, S., Rahimnejad, S., Herault, M., Fournier, V., Lee C. R., Dio, Bui, H. T., Jeong, J. B., & Lee, K. J.

17. (2015), “Effects of protein hydrolysates supplementation in low fish meal diets on growth performance, innate immunity and disease resistance of red sea bream *Pagrus major*”, *Fish & Shellfish Immunology*, 45(2), 858-868.
18. Neklyudov, A. D., Ivankin, A. N., & Berdutina, A. V. (2000), “Properties and uses of protein hydrolysates”, *Applied Biochemistry and Microbiology*, 36, 452-459.
19. Nilsang, S., Lertsiri, S., Suphantharika, M., & Assavanig, A. (2005), “Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases”, *Journal of Food Engineering*, 70(4), 571-578.
20. Ovissipour, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R., & Shahiri, H. (2009), “The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera”, *Food chemistry*, 115(1), 238-242.
21. Randriamahatody, Z., Sylla, K. S. B., Nguyen, H. T. M., Donnay-Moreno, C., Azanamparany, L. R., & Bourgougnon, N. (2011), “Proteolysis of shrimp by-products (*Peaneus monodon*) from Madagascar”, *CyTA - Journal of Food*, 9(3), 220-228.
22. Silva, C. M., da Fonseca, R. D. S., & Prentice, C. (2014), “Comparing the hydrolysis degree of industrialization byproducts of Withemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) using microbial enzymes”, *International Food Research Journal*, 21(5), 1757-1761.
23. Souissi, N., Bougatef, A., Triki-ellouz, Y., & Nasri, M. (2007), “Biochemical and functional properties of sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates”, *Food Technology and Biotechnology*, 45, 187-194.
24. Torten, J., & Whitaker, J. R. (1964), “Evaluation of the biuret and dye-binding methods for protein determination in meats”, *Journal of Food Science*, 29, 168-174.
25. Trung, T. S., & Phuong, P. T. D. (2012), “Bioactive compounds from by-products of shrimp processing industry in Vietnam”, *Journal of Food and Drug Analysis*, 20(1), 194-197.
26. You, L., Zhao, M., Regenstein, J. M., & Ren, J. (2011), “*In vitro* antioxidant activity and *in vivo* anti-fatigue effect of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) peptides prepared by papain digestion”, *Food Chemistry*, 124(1), 188-194.