

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

Trần Kiều Anh^{1,*}, Nguyễn Hà Trung¹, Nguyễn Khánh Hoàng Việt¹,
Nguyễn Thị Hồng Loan², Phạm Kiên Cường¹

¹*Viện Công nghệ Mới, 17 Hoàng Sâm, Hà Nội, Việt Nam*
²*Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN,
334 Nguyễn Trãi, Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam*

Nhận ngày 16 tháng 8 năm 2017

Chỉnh sửa ngày 14 tháng 9 năm 2017; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 10 năm 2017

Tóm tắt: Peptit có hoạt tính sinh học là những protein có mạch ngắn khoảng từ 2-20 a xít amin, có khối lượng phân tử dưới 10000 Da. Những peptit này ngoài giá trị dinh dưỡng chúng còn có một số ảnh hưởng đặc biệt đến chức năng sinh lý của cơ thể, giúp tăng cường và nâng cao sức khỏe của con người như khả năng chống ô xi hóa, kháng vi sinh vật, khả năng điều hòa miễn dịch. Cho đến nay đã có nhiều loại peptit có hoạt tính sinh học được tách chiết và xác định từ các nguồn thực phẩm khác nhau như: động vật (cá, sữa, trứng, nọc rắn,...), thực vật (đậu tương, nấm,...). Trong nghiên cứu này chúng tôi đã xác định điều kiện thủy phân phụ phẩm cá hồi (*Salmo salar*) để thu nhận được peptit mạch ngắn có hoạt tính chống ô xi hóa. Kết quả thu được phụ phẩm cá hồi được thủy phân bằng Trypsin 2% ở pH 8,5, nhiệt độ 40°C trong 2 giờ, tiếp theo được thủy phân bằng Alcalase 2% ở pH 8,0, nhiệt độ 55°C trong 2 giờ, sau đó được lọc tiếp tuyến qua màng 30kDa và 10kDa. Dịch thủy phân thu được có hàm lượng a xít amin đạt 29,48 mg/ml và có hoạt tính chống ô xi hóa đo qua khả năng bắt gốc tự do DPPH (SC) là 70,34%.

Từ khóa: Cá hồi, thủy phân protein, peptit có hoạt tính sinh học.

1. Mở đầu

Cá hồi (*Salmo salar*) là nguồn lợi thủy sản quý, chứa nhiều chất có lợi cho sức khỏe như các vitamin, DHA, các nguyên tố vi chất và nhiều a xít amin. Ở Việt Nam, cá hồi được ương, nuôi ở Sapa (Lào Cai), Đà Lạt (Lâm Đồng), Lạng Sơn, Bắc Giang và một số địa phương khác,... Theo “Quy hoạch phát triển cá nước lạnh đến năm 2020, tầm nhìn 2030” của

Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ước tính tổng sản lượng nuôi cá nước lạnh đến năm 2015 đạt 3460 tấn (cá hồi là 1448 tấn), đến năm 2020, sản lượng nuôi đạt 10000 tấn (cá hồi là 2713 tấn) [1].

Trong quá trình chế biến cá, một lượng lớn các sản phẩm phụ (xương, da, vụn thịt,...) thường được chế biến làm thức ăn cho tôm, cá, gia súc hoặc sử dụng cho các sản phẩm có giá trị kinh tế thấp như chế biến thành bột cá, dầu cá hay làm dầu diesel sinh học. Phụ phẩm cá hồi cũng chứa một hàm lượng protein lớn và có một số ứng dụng như: chế biến đồ hộp, sản xuất nước mắm, tinh chế collagen,... Chính vì vậy,

*Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-1666460110.
Email: kieuanhtrankieuanh@gmail.com
<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4628>

việc chế biến, xử lý các phụ phẩm cá hồi nhằm thu được protein có giá trị thương mại cao hơn đồng thời tránh các vấn đề về môi trường đang được quan tâm nghiên cứu. Trong đó, việc thủy phân bằng enzym để thu hồi protein từ phụ phẩm cá là một cách tiếp cận hiệu quả và được ứng dụng rộng rãi [2-4].

Nghiên cứu của See và tập thể (2011) đã sử dụng enzym thủy phân protein từ nguồn phụ phẩm từ cá hồi để tạo ra các peptit và các axit amin có giá trị dinh dưỡng cao. Sử dụng enzym Alcalase 2.4 L để thủy phân protein từ da cá hồi ở nhiệt độ từ 55,3°C, pH 8,39 với tỷ lệ enzym là 2,5% đã tìm được mức độ thủy phân cao nhất đạt 77,03% [5]. Các protease như Alcalase, Bromelain hay một số protease thương mại khác như Trypsin, Flavourzyme đã được sử dụng để thủy phân một số nguyên liệu phụ phẩm thủy sản thu được hiệu quả cao [6, 7]. Các nghiên cứu đã đánh giá hoạt tính của các peptit thu được từ thủy phân da cá hồi cho thấy chúng có khả năng chống ôxi hóa, kháng khuẩn, liên kết canxi [5].

Hiện nay, ở Việt Nam chưa có công trình nào công bố về nghiên cứu các peptit mạch ngắn từ cá hồi để sử dụng làm nguyên liệu chế biến thực phẩm chức năng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã xác định các điều kiện thủy phân phụ phẩm cá hồi để thu nhận được peptit mạch ngắn có hoạt tính sinh học và đánh giá hoạt tính sinh học của các peptit thu nhận được.

2. Nguyên liệu và phương pháp

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Phụ phẩm trong quá trình chế biến cá hồi như: vụn thịt, da được thu mua bảo quản lạnh từ Sapa (Lào Cai), vận chuyển về phòng thí nghiệm. Phụ phẩm cá hồi được rửa sạch, cắt nhỏ kích thước khoảng 1x1 cm, xay nhuyễn chia thành nhiều phần đều nhau cho mỗi lần thí nghiệm. Mẫu được bảo quản -20°C cho đến khi sử dụng.

Các hoá chất Alcalase 2.4L, Trypsin của Novozymes, 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl

(DPPH), pyridine, axit L-glutamic và một số hóa chất khác của hãng Sigma (Mỹ), Meck (Đức), Thermo Scientific (Đức)...

2.2. Thiết bị

Các thiết bị chính bao gồm tủ ẩm của hãng Memmert (Đức), máy khuấy từ gia nhiệt của hãng Cole Palmer (Mỹ), máy vortex (Mỹ), máy short spin của hãng Hermle (Mỹ), máy ly tâm lạnh của hãng Orto lresa (Tây Ban Nha), hệ thống lọc tiếp tuyến AKTA flux của hãng GE Healthcare (Úc).

2.3. Phương pháp

2.3.1. Xác định thành phần hóa học của phụ phẩm cá hồi

Độ ẩm, hàm lượng protein và lipid của phụ phẩm cá hồi được xác định theo các phương pháp như trong Bảng 1.

Bảng 1. Phương pháp xác định thành phần hóa học của nguyên liệu.

Thành phần	Phương pháp
Độ ẩm	Sấy đến khối lượng không đổi [8]
Hàm lượng protein tổng số	Phương pháp Kjeldahl [8]
Hàm lượng lipid	Phương pháp Soxhlet [8]

2.3.2. Phương pháp tách lipid khỏi phụ phẩm cá hồi [9, 10]

Phụ phẩm cá hồi đã xay nhỏ sau khi rã đông sẽ được xử lý tách lipid theo 2 cách:

- Tách lipid bằng nhiệt [9]: Phụ phẩm cá hồi xay nhỏ được bổ sung nước theo tỷ lệ 1:1 (khối lượng/thể tích), lắc đều với tốc độ 200 vòng/phút, gia nhiệt 95°C trong 1 giờ, sau đó tiến hành hạ nhiệt độ hỗn hợp về nhiệt độ phòng, ly tâm tốc độ 10 000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C để phân lớp lipid. Sau khi loại bỏ lipid hỗn hợp phụ phẩm được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

- Tách lipid bằng hỗn hợp dung môi ethyl ether/ethanol [10]: Hỗn hợp phụ phẩm cá được xử lý với dịch ethyl ether/ethanol (3:2 [thể tích/thể tích]) theo tỷ lệ 1:1 (khối lượng/thể tích) trong 1 giờ, ở nhiệt độ -20°C, khuấy đều. Tiếp theo, tiến hành loại bỏ dịch nổi, thay đổi

dung môi ethyl ether/etanol lạnh với các tỷ lệ lần lượt là 1:3; 1:1; 3:1; bước cuối cùng chỉ sử dụng ethyl ether. Sau khi loại bỏ dịch nổi, sấy khô thu được hỗn hợp phụ phẩm cá đã tách lipit.

$$\text{Hiệu suất tách lipit} = \frac{X_t - X_s}{X_t} \times 100 (\%)$$

Xt: Khối lượng nguyên liệu ban đầu

Xs: Khối lượng nguyên liệu sau khi tách lipit

2.3.3. Phương pháp thủy phân bằng enzym [11]

Phụ phẩm cá hồi sau khi tách lipit được bổ sung nước theo tỷ lệ 1:1 (khối lượng/thể tích), khuấy đều tạo thành hỗn hợp đồng nhất. Hỗn hợp được thủy phân bằng enzym Alcalase hoặc Trypsin trong các phản ứng với tỷ lệ nồng độ enzym/cơ chất thay đổi từ 1-5% tương ứng lần lượt với hoạt độ của Alcalase từ 0,024 U/g - 0,12 U/g và Trypsin từ $2,5 \times 10^4$ USP U/g; $12,5 \times 10^4$ USP U/g. Tiến hành thủy phân nguyên liệu trong bể điều nhiệt với nhiệt độ (45-60°C cho Alcalase và 30-45°C cho Trypsin) cùng với pH môi trường thay đổi từ 7,0 đến 9,0 (sử dụng NaOH 0,1N để điều chỉnh), trong thời gian thủy phân từ 1 đến 6 giờ. Khi kết thúc quá trình thủy phân, các enzym được bất hoạt bằng cách xử lý hỗn hợp ở 90°C trong 10 phút, đưa mẫu về nhiệt độ phòng và ly tâm với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 15 phút tại 4°C, thu lấy dịch trong, loại bỏ tủa. Phần dịch trong tiếp tục được lọc tiếp tuyến sử dụng hệ thống AKTA flux với màng lọc theo thứ tự 30kDa và 10kDa. Dịch lọc sau đó được xác định hàm lượng peptit, a xít amin và khả năng chống ô xi hóa.

2.3.4. Phương pháp định lượng axit amin bằng ninhydrin

0,1 ml dịch lọc được cho vào ống nghiệm, bổ sung 1 ml pyridine 20% và 1 ml ninhydrin 2%, ủ mẫu tại nhiệt độ 70-75°C trong 7-10 phút, sau đó lấy ra để nguội ở nhiệt độ phòng. Sau 30 phút, xác định độ hấp thụ của mẫu bằng đo quang phổ ở bước sóng A_{570} nm và dựa vào đường chuẩn glutamic để xác định hàm lượng a xít amin có trong mẫu thử.

2.3.5. Xác định hoạt tính chống ô xi hóa của protein bằng 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) [9]

0,1 ml dịch lọc được cho vào ống nghiệm, bổ sung 1,9 ml dung dịch DPPH trong methanol

99%, ủ 20 phút trong điều kiện không có ánh sáng, ở nhiệt độ phòng. Hoạt tính chống ô xi hoá được đánh giá thông qua giá trị hấp thụ ánh sáng của mẫu nghiên cứu so với đối chứng tại bước sóng A_{517} nm.

Tỉ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH

$$= \frac{OD_c - OD_m}{OD_c} \times 100$$

Trong đó: ODc là giá trị mật độ quang của chứng âm

ODm là giá trị mật độ quang của mẫu nghiên cứu

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Thành phần hóa học của phụ phẩm cá hồi

Kết quả xác định một số thành phần hóa học của nguyên liệu phụ phẩm cá hồi được thể hiện ở Bảng 2 cho thấy đây là một nguồn giàu protein thô với hàm lượng protein tổng số lên đến 30,21%; hàm lượng lipit và độ ẩm lần lượt là 17,74% và 48,45%. Hàm lượng protein trong phụ phẩm cá hồi cao hơn so với cá tuyết (da chứa 27%, đầu 15%, xương sống chứa 16% protein), da cá trích (16% protein) [12]. Do lượng protein thô trong nguyên liệu chính là lượng protein tối đa có thể thu được [13], như vậy phụ phẩm cá hồi là một nguồn thu protein tiềm năng.

Bảng 2. Thành phần hóa học của phụ phẩm cá hồi

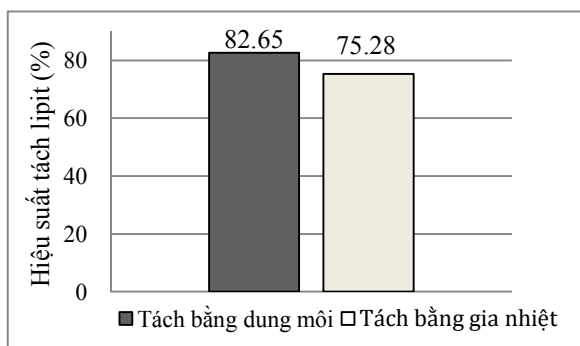
Thành phần	Hàm lượng (%)
Độ ẩm	48,45
Hàm lượng protein tổng số	30,21
Hàm lượng lipit	17,74

3.2. Đánh giá hiệu suất tách lipit khỏi phụ phẩm cá hồi

Việc tách lipit khỏi nguyên liệu trước khi thủy phân sẽ giúp tăng hàm lượng protein thu được và dễ dàng cho việc bảo quản cũng như tốt hơn về mặt cảm quan [14]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng 2 phương pháp tách lipit bằng dung môi và bằng gia nhiệt. Kết quả được thể hiện ở Hình 1 cho thấy, phương pháp

tách chiết bằng dung môi cho hiệu suất cao hơn 10% so với tách bằng nhiệt. Điều này có thể giải thích do trong điều kiện nhiệt độ cao (95°C) sẽ khiến các protein bị phá vỡ cấu trúc cuộn xoắn khiến các phân tử lipit bị mắc kẹt lại, giảm khả năng giải phóng ra ngoài [15].

Tuy nhiên sự chênh lệch hiệu suất giữa hai phương pháp là không quá lớn, hơn nữa việc dùng dung môi thường ít được sử dụng trong công nghiệp thực phẩm do độ độc hại. Vì vậy, phương pháp tách lipit khỏi phụ phẩm cá hồi bằng gia nhiệt sẽ được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 1. So sánh hiệu suất tách lipit từ phụ phẩm cá hồi bằng 2 phương pháp.

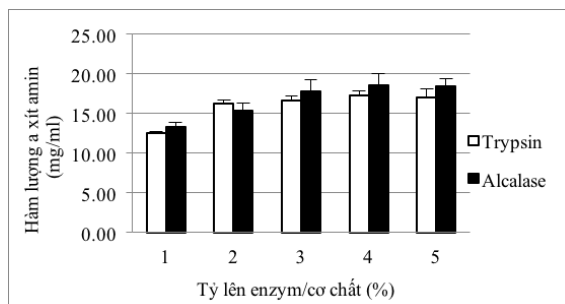
3.3. Xác định điều kiện thủy phân phụ phẩm cá hồi nhằm thu nhận peptit

Trong nghiên cứu này, phản ứng thủy phân phụ phẩm cá hồi bằng enzyme sẽ được tiến hành trong các điều kiện khác nhau, đánh giá hiệu quả phản ứng thủy phân bằng cách định lượng hàm lượng a xít amin và khả năng bao vây gốc tự do DPPH để lựa chọn điều kiện tối ưu nhất.

3.3.1. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến phản ứng thủy phân

Với cùng một lượng nguyên liệu, tiến hành phản ứng thủy phân với Alcalase và Trypsin ở các nồng độ enzyme khác nhau, kết quả thu được như ở Hình 2 cho thấy với cả Alcalase và Trypsin ở tỷ lệ enzyme/cơ chất là 4% hàm lượng axit amin thu được là cao nhất: 17,33 mg/ml (Trypsin) và 18,64 mg/ml (Alcalase) với % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH tương ứng là 54,46% (Trypsin), 33,06% (Alcalase). Do đó tỷ lệ

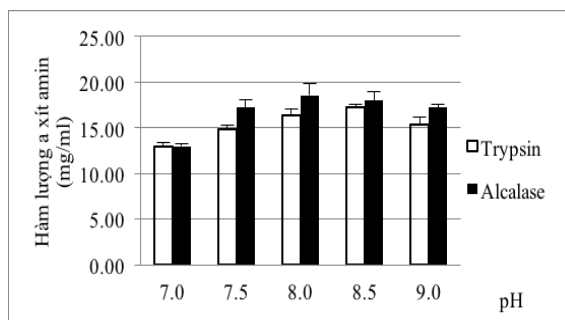
enzym/cơ chất trong phản ứng thủy phân là 4% được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến phản ứng thủy phân phụ phẩm cá hồi.

3.3.2. Ảnh hưởng của pH môi trường đến hiệu quả phản ứng thủy phân

pH ảnh hưởng đến mức độ ion hóa cơ chất và độ bền của enzyme nên ảnh hưởng đến khả năng hoạt động của enzyme. Trong nghiên cứu này, kết quả ảnh hưởng của pH đến phản ứng thủy phân phụ phẩm cá hồi (Hình 3) cho thấy tại pH 8,5 với Trypsin và pH 8,0 với Alcalase hàm lượng a xít amin thu được trong dịch thủy phân là cao nhất: 17,29 mg/ml (Trypsin), 18,57 mg/ml (Alcalase) với hoạt tính bắt gốc tự do tương ứng là 53,92% (Trypsin), 33,13% (Alcalase). Vì vậy pH 8,5 với Trypsin và pH 8,0 với Alcalase được sử dụng để thủy phân.



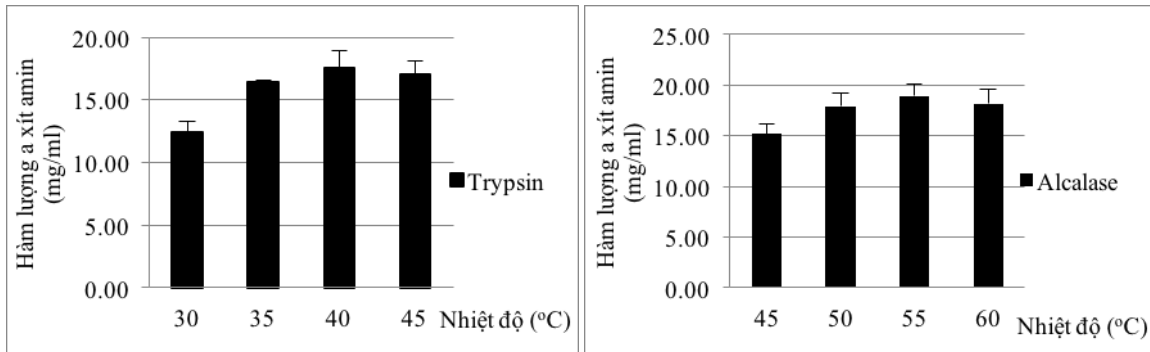
Hình 3. Ảnh hưởng của pH môi trường đến khả năng thủy phân phụ phẩm cá hồi của Alcalase và Trypsin.

3.3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến phản ứng thủy phân

Thông thường, khi nhiệt độ tăng sẽ làm tăng vận tốc của phản ứng và hoạt tính enzyme tăng theo, tuy nhiên đến nhiệt độ tới hạn sẽ làm biến tính protein, bất hoạt enzyme và phản ứng

thủy phân bị ngừng lại. Trong nghiên cứu này, kết quả Hình 4 cho thấy, khi phản ứng thủy phân xảy ra tại nhiệt độ 40°C với Trypsin và 55°C với Alcalase thu được hàm lượng axit

amin là cao nhất 17,51 mg/ml (Trypsin), 18,94 mg/ml (Alcalase) với % hoạt tính bắt gốc tự do tương ứng là 56,6% (Trypsin) và 33,72% (Alcalase).



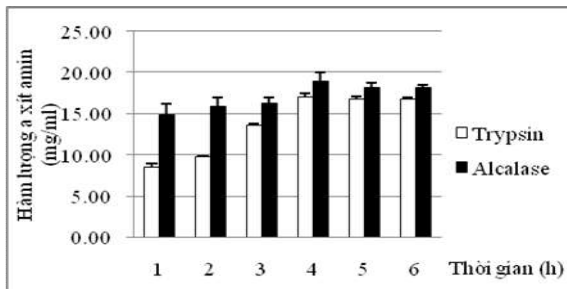
Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến phản ứng thủy phân phụ phẩm cá hồi bằng enzyme.

3.3.4. Ảnh hưởng của thời gian đến phản ứng thủy phân

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến hiệu quả quá trình thủy phân (Hình 5) cho thấy, sau 4 giờ thủy phân lượng sản phẩm mới tạo thành thay đổi không nhiều với Trypsin, giảm với Alcalase. Hàm lượng axit amin thu được cao nhất khi thủy phân 4 giờ với Alcalase là 17,03 mg/ml và Trypsin là 18,86 mg/ml với % hoạt tính bắt gốc tự do tương ứng là 54,03% (Trypsin), 33,68% (Alcalase).

gian phản ứng lượng sản phẩm mới tăng không nhiều. Các nghiên cứu thời gian thủy phân khác nhau từ 1 đến 5 giờ đã được tiến hành tương tự [17-19] khi thời gian thủy phân dài hơn 5,5 giờ không thấy tăng năng suất thủy phân, quá trình thủy phân dừng lại sau 4 giờ [20].

Như vậy, điều kiện thích hợp cho phản ứng thủy phân phụ phẩm cá hồi bằng Alcalase là 4% enzym, tại 55°C, pH 8,0, trong 4 giờ và điều kiện thích hợp của Trypsin là 4% enzym, tại 40°C, pH 8,5 trong 4 giờ. Mặc dù điều kiện tối ưu của Alcalase đã được nhà sản xuất công bố (50-60°C, pH 8,0) tuy nhiên có sự khác biệt khi sử dụng các cơ chất khác nhau như Normah và tập thể (2005) đã xác định điều kiện tối ưu để Alcalase thủy phân cá đồng là 60°C, pH 8,5 [7] hay với thịt đen của cá ngừ vẫn là tại 65,4°C, pH 8,86 [6].



Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian đến phản ứng thủy phân phụ phẩm cá hồi bằng enzyme.

Trong quá trình thủy phân các liên kết peptit nhạy cảm sẽ được phân cắt trước với tốc độ nhanh, sau đó các liên kết ít nhạy cảm hơn sẽ được phân cắt với tốc độ chậm hơn [16]. Mặt khác, ở giai đoạn sau của quá trình thủy phân, các sản phẩm sẽ cạnh tranh với cơ chất còn lại ở vị trí bám dính của protease, làm ức chế phản ứng thủy phân [11]. Kết quả là khi kéo dài thời

3.3.5. Điều kiện thủy phân phụ phẩm cá hồi để thu nhận peptit mạch ngắn có hoạt tính chống ô xi hóa

Kết quả xác định các điều kiện thủy phân phụ phẩm cá hồi cho thấy hiệu suất thủy phân bằng Alcalase cao hơn thủy phân bằng Trypsin, trong khi đó hoạt tính chống ô xi hóa của dịch thủy phân bằng Trypsin cao hơn dịch thủy phân bằng Alcalase. Do đó để xây dựng quy trình thủy phân với hiệu suất thủy phân và hoạt tính chống ô xi hóa cao chúng tôi tiến hành thủy phân phụ phẩm cá hồi bằng việc kết hợp 2 enzym Trypsin và Alcalase.

Bảng 3. Kết quả thủy phân phụ phẩm cá hồi bằng hai enzym Trypsin và Alcalase

Mẫu	Khối lượng bã (g)	Thể tích dịch (ml)	Hàm lượng a xít amin (mg/ml)	% Hoạt tính chống ô xi hóa
Alcalase 4% (4 giờ)	23,57	72	18,87	33,05
Trypsin 4% (4 giờ)	31,72	62	17,53	56,62
Alcalase 2% (2 giờ) → Trypsin 2% (2 giờ)	20,13	73	21,20	64,72
Trypsin 2% (2 giờ) → Alcalase 2% (2 giờ)	18,33	81	29,48	70,34
Alcalase 2% + Trypsin 2% (4 giờ)	22,24	72	20,02	59,45

So sánh kết quả thủy phân cùng một lượng nguyên liệu với cùng thời gian và lượng enzym như nhau (4% enzym, thời gian thủy phân 4 giờ), kết quả thu được thể hiện trong Bảng 4 cho thấy, mẫu thủy phân với enzym Trypsin 2% trong 2 giờ sau đó thủy phân tiếp bằng Alcalase 2% trong 2 giờ thu được lượng bã ít nhất (18,33 g), thể tích dịch thủy phân lớn nhất (81 ml), hàm lượng a xít amin cao nhất đạt 29,48 mg/ml và hoạt tính chống ô xi hóa cao nhất đạt 70,34%.

4. Kết luận

Phụ phẩm cá hồi có hàm lượng protein tổng số, lipit và độ ẩm lần lượt là 30,21%; 17,74% và 48,45%. Phương pháp tách lipit bằng gia nhiệt đạt hiệu suất 75,28%.

Điều kiện thủy phân phụ phẩm cá hồi để thu nhận peptit mạch ngắn có hoạt tính chống ô xi hóa như sau: phụ phẩm cá hồi sau khi tách mỡ bằng nhiệt được thêm nước tỷ lệ 1:1 (khối lượng/thể tích), tiến hành thủy phân bằng Trypsin 2% ở pH 8,5, nhiệt độ 40°C trong 2 giờ, tiếp theo thủy phân bằng Alcalase 2% ở pH 8,0, nhiệt độ 55°C trong 2 giờ, sau đó lọc tiếp tuyến qua màng 30kDa và 10kDa.

Dịch thủy phân thu được có hàm lượng a xít amin đạt 29,48 mg/ml và có hoạt tính chống ô xi hóa đo qua khả năng bắt gốc tự do DPPH (SC) là 70,34%.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí từ đề tài “Nghiên cứu tách chiết peptit mạch ngắn có

hoạt tính sinh học để sản xuất thực phẩm chức năng dành cho bộ đội làm nhiệm vụ đặc biệt”, số ĐT.04.16/CNSHCB của Bộ Công Thương.

Tài liệu tham khảo

- [1] Quy hoạch phát triển cá nước lạnh đến năm 2020, tầm nhìn 2030, Bộ Nông Nghiệp và Phát triển nông thôn, số 3195/QĐ-BNN-TCTS, Hà Nội, 2015.
- [2] Kim S.M., Manufacture of fish hydrolyzate by enzyme, Korean Journal of Food Science and Technology 31, 3 (1999) 727.
- [3] Kristinsson, Hordur G., and Rasco B.A., Fish protein hydrolysates: production, biochemical and functional properties, Critical Reviews in Food Science and Nutrition 40, 1 (2000) 43.
- [4] Oh K.S., Kim J.S., and Hur J.W., Processings of flavoring substances from small Kingfish, Korean Journal of Food Science and Technology 30, 6 (1998) 1339.
- [5] See S., Hoo L., and Babji A.S., Optimization of enzymatic hydrolysis of Salmon (*Salmo salar*) skin by Alcalase, International Food Research Journal 18, 4 (2011).
- [6] Herpandi H., Huda N., Rosma A., and Nadiyah W.A., Optimizing the enzymatic hydrolysis of Skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) dark flesh using Alcalase enzyme: A response surface approach, Journal of Fisheries and Aquatic Science 8, 4 (2013) 494.
- [7] Normah I., Normah I., Jamilah B., Saari N., and Yaakob B, Optimization of hydrolysis conditions for the production of threadfin bream (*Nemipterus japonicus*) hydrolysate by Alcalase, Journal of Muscle Foods 16, 2 (2005) 87.
- [8] AOAC, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Virginia, 2016.
- [9] Amisshah J., Bioactive properties of Salmon skin protein hydrolysates, Diss. McGill University Libraries, 2012.

- [10] Głowacz R.A., Tynek M., Malinowska P.E., Martysiak Ż.D., Pawłowicz R., and Kołodziejska I., Comparison of oil yield and quality obtained by different extraction procedures from salmon (*Salmo salar*) processing byproducts, *European Journal of Lipid Science and Technology* 118, 11 (2016) 1759.
- [11] Adler N.J., *Enzymic hydrolysis of food proteins*, Elsevier applied science publishers, London, 1986.
- [12] Kołodziejska I., Skierka E., Sadowska M., Kołodziejski W., and Niecikowska C., Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal, *Food Chemistry* 107, 2 (2008) 700.
- [13] Muyonga J.H., Colec C.G.B., and Duodub K.G., Extraction and physicochemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatine, *Food Hydrocolloids* 8 (2004) 581.
- [14] Opheim M., Slizyte R., Sterten H., Provan F., Larssen E., and Kjos N.P., Hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*) rest raw materials-Effect of raw material and processing on composition, nutritional value and potential bioactive peptides in the hydrolysates, *Process Biochemistry* 50, 8 (2015) 1247.
- [15] Chantachum S., Benjakul S., and Sriwirat N., Separation and quality of fish oil from precooked and non-precooked tuna heads, *Food Chem* 69 (2000) 289.
- [16] O'Meara G., Munro P.A., Effects of reaction variables on the hydrolysis of lean beef tissue by Alcalase, *Meat science* 11, 3 (1984) 227.
- [17] Gbogouri G.A., Linder M., Fanni J., and Parmentier M., Influence of hydrolysis degree on the functional properties of Salmon by products hydrolysates, *Journal of Food science* 69, 8 (2004).
- [18] Guerard F., Guimas L., and Binet A., Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 19 (2002) 489.
- [19] Shahidi F., Han X.Q., Synowiecki J., and Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*), *Food Chemistry* 53, 3 (1995) 285.
- [20] Guerard F., Dufosse L., De La Broise D., and Binet A., Enzymatic hydrolysis of proteins from yellow tuna (*Thunnus albacores*) wastes using Alcalase, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 11, 4 (2001) 1051.

Study of Hydrolysis Conditions of Salmon Waste to Collect Antioxidant Peptides

Tran Kieu Anh¹, Nguyen Ha Trung¹, Nguyen Khanh Hoang Viet¹,
Nguyen Thi Hong Loan², Pham Kien Cuong¹

¹*Institute of New Technology, 17 Hoang Sam Str, Hanoi, Vietnam*

²*Faculty of Biology, VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Thanh Xuan, Hanoi, Vietnam*

Abstract: Bioactive peptides are considered short chains of 2-20 amino acids, with molecular weights of less than 10 000 Da. They not only have nutritional value but also have positive impacts on body functions and promote health as activities antioxidant, anti-microbial, antithrombotic, immunostimulatory. Many bioactive peptides have been isolated from difference foods: from animal (fish, milk, snake venom,...), from plant (soybean, mushroom,...). In this study, we selected hydrolysis conditions of Salmon waste to collect antioxidant peptides. The results show that the appropriate hydrolysis conditions were: Trypsin 2%, pH 8.5, temperature 40°C in 2 hours then Alcalase 2%, pH 8.0, temperature 55°C in 2 hours, after that they were obtained by ultrafiltration of protein hydrolysate through molecular weight cut-off membranes of 30kDa, 10kDa. The hydrolysis protein solution contains 29.48 mg/ml amino acid and DPPH radical scavenging capacity is 70.34%.

Keywords: Salmon, protein hydrolysis, bioactive peptide.