

KHẢO SÁT QUÁ TRÌNH THỦY PHÂN THU NHẬN PEPTIDE TỪ RONG BÚN *Enteromorpha* sp.

Nguyễn Quốc Kiệt, Cao Thị Trúc Ngân, Hoàng Thị Ngọc Nhơn*

Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

*Email: nhonhtn@huit.edu.vn

Ngày nhận bài: 08/5/2023; Ngày nhận bài sửa: 31/5/2023; Ngày chấp nhận đăng: 19/6/2023

TÓM TẮT

Enteromorpha sp. là loại rong nước lợ phổ biến ở đồng bằng Sông Cửu Long, chứa hàm lượng protein cao và được xem là nguồn cung cấp peptide có hoạt tính sinh học tiềm năng. Mục tiêu của nghiên cứu là tác động các thông số đến quá trình thủy phân thu nhận peptide từ protein rong *Enteromorpha* sp. bằng enzyme flavourzyme với các thông số khảo sát gồm nồng độ enzyme, pH, nhiệt độ và thời gian thủy phân bằng enzyme. Hiệu quả của quá trình thủy phân được xác định dựa trên mức độ thủy phân (%DH) và khả năng kháng oxy hóa của peptide thu được. Các yếu tố khảo sát bao gồm nồng độ enzyme sử dụng (100, 300, 500, 700, 900 UI/g), nhiệt độ (40, 50, 60, 70, 80 °C), pH (4, 5, 6, 7, 8), thời gian (30, 60, 90, 120, 150 phút). Với sự hỗ trợ của enzyme flavourzyme cùng các thông số điều kiện thủy phân sau: nồng độ enzyme 700 UI/g; nhiệt độ 50 °C; pH 6,0; thời gian 120 phút. Mức độ thủy phân (DH) protein thu peptide là $40,72 \pm 1,32\%$. Khả năng bắt gốc tự do DPPH của peptide thủy phân bằng enzyme flavourzyme từ rong *Enteromorpha* sp. là $95,13 \pm 0,77\%$.

Từ khoá: Chống oxy hóa, *Enteromorpha* sp., Flavourzyme, mức độ thủy phân.

1. GIỚI THIỆU

Rong *Enteromorpha* sp. hay còn gọi là rong bún, thuộc ngành rong lục (*Chlorophyta*). Trên thế giới có khoảng 100 loài, tại Việt Nam rong lục được tìm thấy có 12 loài [1, 2]. Rong bún phân bố tự nhiên với sinh khối lớn trong các thủy vực nước lợ tại vùng Đồng bằng sông Cửu Long, điển hình ở các tỉnh Sóc Trăng và Cà Mau...[3]. Loài rong này có giá trị dinh dưỡng cao, được sử dụng làm nguồn thực phẩm cho con người cũng như thức ăn cho thủy sản. Ngoài ra, rong bún còn có vai trò hỗ trợ giảm thiểu ô nhiễm và cải thiện môi trường trong hoạt động nuôi trồng thủy sản [4]. Nghiên cứu của Aguilera-Morales M. và cộng sự (2005) chỉ ra rằng *Enteromorpha* sp. có 9 – 14% protein, acid béo n-6 và n-3 lần lượt là 10,9 và 10,4 g/100 g acid béo tổng số. Protein rong này có tỷ lệ tiêu hóa cao (98%) [5, 6].

Protein thủy phân thu được những peptide có cấu trúc ngắn đoạn với khối lượng phân tử dưới 6000 Da, được cấu tạo từ 2 đến 20 acid amin nối với nhau bằng liên kết peptide, là các đoạn protein đặc hiệu có khả năng tạo ra những tác động sinh học tích cực lên các chức năng của cơ thể và có liên quan đến việc cải thiện sức khỏe con người [7]. Có thể hiểu peptide có hoạt tính sinh học là các đoạn protein ngắn đặc hiệu, có các nhóm chức khác nhau và mỗi nhóm chức đặc trưng cho một hoạt tính nhất định. Có hơn 1500 peptide sinh học khác nhau đã được báo cáo trong cơ sở dữ liệu có tên “BIOPEP” [7]. Hoạt tính của peptide phụ thuộc vào cấu trúc của nó, tức là thành phần acid amin, loại acid amin đầu C và N, độ dài chuỗi peptide, ví dụ như các peptide có hoạt tính ức chế enzym chuyển angiotensin (ACE) cao thường có acid amin cơ bản hoặc thơm ở đầu N, số lượng acid amin kỵ nước và tích điện dương cao hơn ở đầu C [8]. Gonzalez Montoya và cộng sự (2018) đã thực hiện nghiên cứu xác định hoạt tính chống đái tháo đường từ đậu nành nảy mầm bằng cách ức chế các enzyme dipeptidyl peptidase-IV, α -amylase và α -glucosidase. Nghiên cứu đã đánh giá tiềm năng của peptide đậu nành nảy mầm để điều chỉnh phản ứng đường huyết sau ăn thông qua ức chế dipeptidyl peptidase IV (DPP-V), α -amylase nước bọt và α -glucosidase ruột, phycobiliproteins (PCBEx) với tuần tự enzyme pepsin và pancreatin. Mức độ thủy phân của pepsin ở mẫu tảo SpRPh (Spirulina đã khử polyphenol) đạt 11,2% và ở mẫu tảo PCBEx (phycobiliproteins) đạt 17,1%. Các giá trị này tăng lên thành 31,4% và 36,7% ở giai đoạn thứ hai sau khi cho pancreatin [9]. Như vậy, khác với protein, peptide có cấu trúc ngắn hơn nên linh hoạt

hơn và thể hiện được nhiều hoạt tính sinh học có giá trị. Do đó, xu hướng thu nhận các peptide sinh học là điều rất được quan tâm hiện nay. Hiện nay, các nghiên cứu về quá trình thủy phân protein thu nhận peptide và đánh giá hoạt tính sinh học của peptide từ rong *Enteromorpha* sp. chưa được tìm thấy nhưng loại rong *Enteromorpha* sp. này thì lại rất phổ biến ở Việt Nam, dễ dàng tìm kiếm và mua được trong nước để nghiên cứu.

Để thu nhận chế phẩm peptide, thông thường sử dụng enzyme protease nhằm để thủy phân protein. Nghiên cứu của Seo và cộng sự (2008) đã chứng minh về độ đắng của các sản phẩm thủy phân protein và nhận ra mức độ thủy phân protein càng tăng thì độ đắng càng tăng. Vị đắng từ các chuỗi peptide chứa acid amin kỵ nước. Tuy nhiên, flavourzyme thì ngược lại, khi mức độ thủy phân tăng thì không gây ra vị đắng [10]. Trên cơ sở đó, nghiên cứu này nhằm khảo sát các yếu tố tác động của enzyme flavourzyme đến thủy phân protein thu nhận chế phẩm peptide từ rong bún *Enteromorpha* sp. đồng thời đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của peptide thu nhận được.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Nguyên liệu: Rong *Enteromorpha* sp. có màu vàng xanh, được thu hoạch vào tháng 11-12/2022 ở các ao nuôi tôm quảng canh tại Gò Công Đông, tỉnh Đồng Tháp. Mẫu rong sau khi thu hoạch được bảo quản trong thùng xốp và chuyển về phòng thí nghiệm của Trung tâm Thí nghiệm thực hành trong cùng ngày. Tại đây, mẫu được xử lý để loại bỏ tạp chất và sấy ở 60 °C trong 12 giờ ở thiết bị Memmert cho tới khi hàm ẩm đạt $\leq 10\%$. Tiếp đến, mẫu được nghiền nhỏ bằng cối xay cơ học. Thu nhận bột mẫu, tiến hành thực hiện sàng loại bỏ tạp chất, bột rong được rây qua lưới 0,5 – 1 mm được thu nhận và dùng cho toàn bộ thí nghiệm.

Hóa chất: Enzyme flavourzyme 1000 L của hãng Novozyme – Đan Mạch và được phân phối bởi Công ty TNHH TM Nông sản và Hóa chất Phương Trâm. Hoạt lực của enzyme 1000 LAPU/g, giá trị pH khoảng 4 – 8, nhiệt độ 30 – 65 °C.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát nồng độ enzyme flavourzyme thủy phân protein để thu nhận peptide

Protein được thủy phân bằng enzyme được thực hiện sử dụng chế phẩm enzyme flavourzyme. Các thí nghiệm được thực hiện cân 0,5 mg protein cho vào 5 cốc thủy tinh 250 mL khác nhau, sau đó thêm 100 mL đệm phosphat pH 7,4. Khuấy đều để protein và đệm trộn vào nhau, thêm enzyme vào các cốc với nồng độ enzyme khảo sát lần lượt là: 100, 300, 500, 700, 900 UI/g so với khối lượng protein, giữ ổn định nhiệt độ các mẫu trên ở 50 °C trong 1 giờ ở bể ổn nhiệt. Hỗn hợp sau đó được ly tâm ở 5000 rpm trong 20 phút, phần dịch nổi được thu và lọc để thu nhận dịch thủy phân. Mức độ thủy phân (DH) được biểu thị bằng phần trăm các nhóm amin tự do được giải phóng từ protein trong quá trình thủy phân, được tính toán dựa trên mối quan hệ giữa hàm lượng nitơ amin (AN) và tổng nitơ (TN). Hàm lượng AN được xác định theo phương pháp chuẩn độ formol.

2.2.2. Khảo sát nhiệt độ thủy phân protein để thu nhận peptide

Cân 0,5 mg protein cho vào 5 cốc thủy tinh 250 mL khác nhau, sau đó thêm 100 mL đệm phosphat pH 7,4. Khuấy đều để protein và đệm trộn vào nhau, thêm enzyme vào các cốc với nồng độ enzyme (là kết quả thí nghiệm mục 2.2.1) so với khối lượng protein, giữ ổn nhiệt độ các mẫu trên trong bể ổn nhiệt ở nhiệt độ khảo sát lần lượt là: 40, 50, 60, 70, 80 °C trong thời gian 1 giờ. Hỗn hợp mẫu được đem đi ly tâm 5000 rpm trong 20 phút và đem đi lọc phần dịch trong để thu được dịch thủy phân.

2.2.3. Khảo sát pH thủy phân protein để thu nhận peptide

Cân 0,5 mg protein cho vào 5 cốc thủy tinh 250 mL khác nhau, sau đó thêm 100 mL đệm phosphat với pH ở các mức lần lượt: 4, 5, 6, 7, 8. Khuấy đều để protein và đệm trộn vào nhau, thêm enzyme vào các cốc với nồng độ enzyme (kết quả thí nghiệm mục 2.2.1), giữ ổn nhiệt các mẫu trên ở nhiệt độ (kết quả thí nghiệm mục 2.2.2) trong thời gian 1 giờ. Hỗn hợp mẫu được đem đi ly tâm 5000 rpm trong 20 phút và đem đi lọc phần dịch trong để thu được dịch thủy phân.

2.2.4. Khảo sát thời gian thủy phân protein để thu nhận peptide

Cân 0,5 mg protein cho vào 5 cốc thủy tinh 250 mL khác nhau, sau đó thêm 100 mL đệm phosphat pH (kết quả thí nghiệm mục 2.2.3). Khuấy đều để protein và đệm trộn vào nhau, thêm enzyme vào các cốc với nồng độ enzyme (kết quả thí nghiệm mục 2.2.1), giữ ổn nhiệt các mẫu trên ở nhiệt độ (kết quả thí nghiệm mục 2.2.2) trong thời gian ở các mức lần lượt là 30, 60, 90, 120, 150 phút. Mẫu được đem đi ly tâm 5000 rpm trong 20 phút và đem đi lọc phần dịch trong để thu được dịch thủy phân.

2.2.5. Xác định hoạt tính kháng oxy hóa DPPH

Dung dịch DPPH sẽ được pha ra cốc 250 mL ở nồng độ 0,1 mM. Đối với các mẫu cao chiết và đối chứng dương vitamin C ở các nồng độ sẽ được pha loãng bằng methanol trong bình định mức 10 mL. Sử dụng pipet 2 mL hút lần lượt 2 mL dung dịch thử vào ống nghiệm, tiếp theo, 2 mL dung dịch DPPH 0,1 mM được bổ sung vào hệ phản ứng. Mẫu đối chứng được thay thế bằng MeOH, còn mẫu trắng chỉ chứa MeOH. Mẫu được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, sau đó đo giá trị hấp thụ quang phổ tại bước sóng 517 nm [6].

$$DPPH (\%) = \frac{OD_c - OD_m}{OD_c} \times 100$$

2.2.6. Xác định hiệu suất thủy phân

Các bước tiến hành:

Mẫu protein thủy phân (5 mL) trộn trong 20 mL nước cất và chuẩn độ đến pH 8,2 bằng NaOH 0,5 M. Sau khi bổ sung 10 mL dung dịch formalin 37%, hỗn hợp tiếp tục được chuẩn độ bằng NaOH 0,05 M cho đến khi pH đạt 9,2. Thể tích dung dịch NaOH sử dụng trong quá trình điều chỉnh pH từ 8,2 đến 9,2 được ghi nhận [10].

Công thức tính toán:

$$DH(\%) = \frac{N_{\alpha \text{ amin}}}{N_{\text{tổng}}} \times 100$$

Trong đó:

$N_{\alpha \text{ amin}}$: hàm lượng đạm amin (mg N/g)

$N_{\text{tổng}}$: hàm lượng đạm tổng số (mg N/g)

2.3. Phương pháp chuẩn độ formol

Các bước tiến hành:

Hút 20 mL dung dịch mẫu cho vào bình tam giác 250 mL. Thêm 20 mL dung dịch formol trung tính và 5 giọt chỉ thị phenolphthalein 1%. Chuẩn độ bằng NaOH 0,2 N cho đến màu đỏ tươi. Chuẩn độ dung dịch bằng NaOH 0,2 N từ màu hồng sang màu đỏ tươi (pH = 9,6) [10].

Công thức tính toán:

$$X (\text{g/l}) = \frac{0,0028 \times V \times f}{V_m} \times 1000$$

Trong đó:

0,0028: lượng N tương ứng với 1 mL NaOH 0,2N; V: thể tích NaOH 0,2 N tiêu tốn; F (V_{dm} / V_{xd}): hệ số pha loãng; M hay V_m : số gam hay số mililit mẫu thử.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

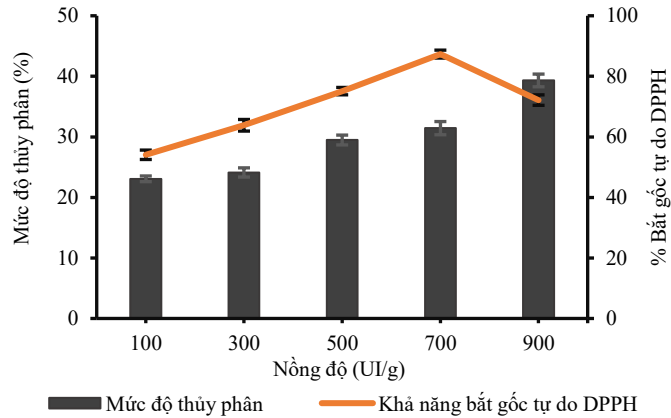
Các số liệu thí nghiệm sử dụng phần mềm Minitab 19 để xử lý phân tích thống kê. Sự sai khác giữa các giá trị được xác định bằng kiểm định Student's t-test với mức ý nghĩa $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme flavourzyme đến thủy phân thu nhận peptide

Trong quá trình thủy phân protein, enzyme trước tiên sẽ liên kết với cơ chất và hình thành phức enzyme-cơ chất tại bề mặt của các hạt cơ chất, nơi diễn ra sự phân cắt các liên kết peptide. Khi hàm

lượng cơ chất trong hệ phản ứng thấp, không phải toàn bộ enzyme đều có cơ hội tương tác với cơ chất. Do đó, việc tăng nồng độ enzyme trong điều kiện này không làm tăng thêm hiệu quả thủy phân. Tốc độ phản ứng chỉ đạt mức tối đa khi toàn bộ enzyme đều được gắn kết với cơ chất [11]. Tiến hành khảo sát với các nồng độ (100, 300, 500, 700, 900 UI/g) ảnh hưởng đến quá trình thủy phân protein. Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) cho thấy sự gia tăng nồng độ enzyme flavourzyme dẫn đến sự tăng đáng kể của mức độ thủy phân. Nồng độ tăng từ 100 UI/g lên 700 UI/g thì mức độ thủy phân tăng lên rõ rệt (Hình 1).

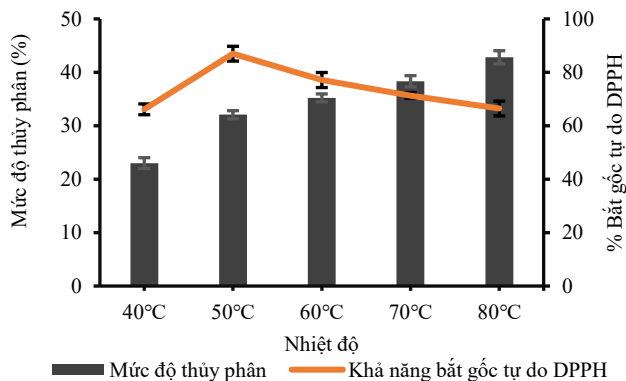


Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme thủy phân protein để thu nhận peptide
Sự khác biệt giữa các nghiệm thức trong từng yếu tố khảo sát được thể hiện bằng các chữ cái khác nhau trên các cột và được xác định có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$ thông qua phân tích ANOVA.

Kết quả Hình 1 cho thấy nồng độ enzyme 700 UI/g và 900 UI/g cho hiệu quả cao hơn các nồng độ enzyme khác. Mức độ thủy phân ở nồng độ enzyme flavourzyme là 700 UI/g ($31,44 \pm 1,09\%$) và cao nhất khi sử dụng nồng độ enzyme 900 UI/g ($38,32 \pm 1,05\%$). Tuy nhiên, khi sử dụng nồng độ 900 UI/g thì bất gốc tự do DPPH (%) giảm xuống còn $72,15 \pm 0,73\%$ so với $87,34 \pm 1,31\%$ ở nồng độ 700 UI/g. Vì vậy nồng độ enzyme thích hợp sử dụng để thủy phân và cho khả năng bất gốc tự do DPPH tốt nhất là 700 UI/g.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến thủy phân thu nhận peptide bằng enzyme flavourzyme

Trong quá trình thủy phân, nhiệt độ tăng sẽ làm tăng tốc độ thủy phân. Tuy nhiên, enzyme khi vượt giới hạn hoạt động thì phản ứng enzyme bị tác động do sự biến tính của phân tử protein và enzyme. Nhiệt độ hoạt động của enzyme thường nằm trong khoảng 30-50 °C [12]. Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của các mức nhiệt độ (40, 50, 60, 70, 80 °C) đến protein được thủy phân. Dựa vào dữ liệu, cho thấy mức độ thủy phân có sự thay đổi tăng khi nhiệt độ tăng (Hình 2).

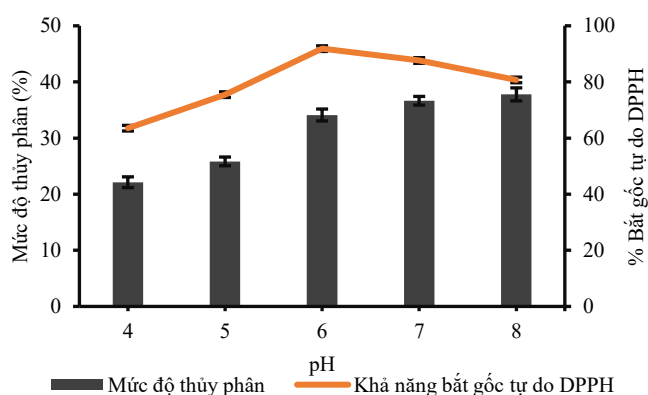


Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân protein để thu nhận peptide
Sự khác biệt giữa các nghiệm thức trong từng yếu tố khảo sát được thể hiện bằng các chữ cái khác nhau trên các cột và được xác định có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$ thông qua phân tích ANOVA.

Dựa vào kết quả Hình 2, khi thủy phân ở nhiệt độ 80 °C thì mức độ thủy phân của enzyme flavourzyme là $42,82 \pm 1,23\%$, cao hơn so với ở nhiệt độ 50 °C, 60 °C và 70 °C. Tuy nhiên, khi thủy phân ở 80 °C thì bất gộc tự do DPPH của dịch thủy phân giàu peptide ($66,46 \pm 0,78\%$) thấp hơn so với ở 50 °C ($86,98 \pm 0,77\%$). Vì vậy, nhiệt độ thích hợp được lựa chọn trong thí nghiệm này là 50 °C.

3.3. Ảnh hưởng của pH đến thủy phân thu nhận peptide bằng enzyme flavourzyme

Ở các giá trị pH khác nhau của một số phân tử protein sẽ bị biến đổi tính chất của các liên kết trung tâm hoạt động enzyme và cơ chất. Do đó, giá trị pH khác nhau sẽ dẫn đến giá trị xúc tác khác nhau. Vì vậy, thay đổi môi trường pH làm cho enzyme nhạy cảm. Enzyme thường đạt hoạt tính xúc tác cao nhất trong một khoảng pH nhất định, được gọi là pH tối ưu. Giá trị pH này có thể thay đổi theo cơ chất, nồng độ cơ chất và điều kiện nhiệt độ của phản ứng. Betancur-Ancona và cộng sự cho thấy khi sử dụng flavourzyme để phân giải protein từ hạt cây đậu *Phaseolus lunatus*, pH thích hợp nhất cho quá trình này là khoảng pH 6 [13]. Tiến hành khảo sát với các pH (4, 5, 6, 7, 8) ảnh hưởng đến quá trình thủy phân protein. Dựa vào kết quả phân tích ANOVA cho thấy mức độ thủy phân có sự thay đổi tăng lên khi pH tăng dần. Mức pH tăng từ 4 lên 7 thì mức độ thủy phân tăng lên rõ rệt.



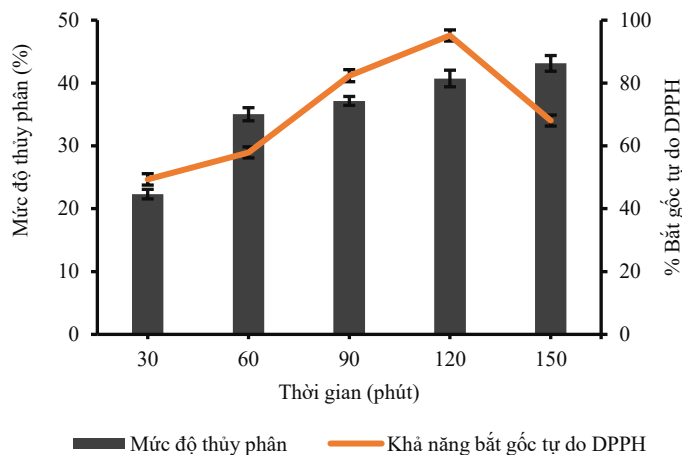
Hình 3. Ảnh hưởng của pH thủy phân protein để thu nhận peptide. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức trong từng yếu tố khảo sát được thể hiện bằng các chữ cái khác nhau trên các cột và được xác định có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$ thông qua phân tích ANOVA.

Kết quả ở Hình 3 cho thấy mức độ thủy phân có pH = 7 và pH = 8 là cao vượt trội hơn các pH khác. Enzyme flavourzyme với pH = 7 thì mức độ thủy phân của enzyme flavourzyme là $36,65 \pm 0,77\%$ so với khi ở pH = 6 là $34,11 \pm 1,06\%$. Tuy nhiên khi thủy phân ở pH = 7 thì bất gộc tự do DPPH của dịch thủy phân thấp hơn so với khi thủy phân ở pH = 6 là $87,64 \pm 0,75\%$ so với $91,87 \pm 0,56\%$. Vì vậy pH thích hợp sử dụng để thủy phân và cho khả năng bắt gốc tự do DPPH tốt nhất là pH = 6.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian đến thủy phân thu nhận peptide bằng enzyme flavourzyme

Tiến hành khảo sát với các mốc thời gian thủy phân (30, 60, 90, 120, 150 phút) ảnh hưởng đến hiệu quả thủy phân protein. Dựa vào dữ liệu cho thấy mức độ thủy phân có sự thay đổi tăng lên khi thời gian tăng dần (Hình 4).

Kết quả ở Hình 4 cho thấy thời gian 120 phút và 150 phút là cao hơn các khoảng thời gian khảo sát khác. Có thể thấy khi thủy phân trong 120 phút và 150 phút thì mức độ thủy phân ở 2 thông số khảo sát này không có sự khác biệt ($40,72 \pm 1,32\%$ và $43,13 \pm 1,25\%$). Tuy nhiên, khi thủy phân trong 120 phút thì bất gộc tự do DPPH của dịch peptide cao nhất là $95,13 \pm 0,77\%$. Vì vậy thời gian thủy phân và cho khả năng bắt gốc tự do DPPH tốt nhất là 120 phút. Khả năng oxy hóa giảm mạnh tại 150 phút, giống kết quả với nghiên cứu của Matkowski [13].



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân protein để thu nhận peptide khác biệt giữa các nghiệm thức trong từng yếu tố khảo sát được thể hiện bằng các chữ cái khác nhau trên các cột và được xác định có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$ thông qua phân tích ANOVA.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã tìm được điều kiện thủy phân thu nhận peptide từ rong *Enteromorpha* sp. nhờ hỗ trợ của enzyme flavourzyme. Các thông số số điều kiện thủy phân thu được như sau: nồng độ enzyme 700 UI/g; nhiệt độ 50 °C; pH 6,0; thời gian 120 phút. Kết quả cho thấy dịch peptide từ rong *Enteromorpha* sp. có tiềm năng chống oxy hóa cao. Các nghiên cứu sâu hơn về kết hợp các điều kiện thủy phân cũng như đánh giá thêm các hoạt tính sinh học và các trình tự acid amine của các chuỗi peptide trong dịch thủy phân cần được thực hiện để có cơ sở dữ liệu ban đầu cho các nghiên cứu về peptide nhằm ứng dụng của peptide từ rong *Enteromorpha* sp trong các lĩnh vực khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đàm Đức Tiến, "Đa dạng sinh học và nguồn lợi rong biển Việt Nam," *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam* vol. 4A, 2021.
- [2] J. H. Kang *et al.*, "Species composition, diversity, and distribution of the genus *Ulva* along the coast of Jeju Island, Korea based on molecular phylogenetic analysis," *Public Library of Science One*, vol. 14, no. 7, p. e0219958, 2019. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219958>
- [3] T. N. A. Nguyen *et al.*, "Survey on the roles and impacts of seaweeds and aquatic plants in the improved extensive black tiger shrimp farms in Bac Lieu province," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 13, no. Aquaculture, pp. 21-29, 2021. doi: <https://doi.org/10.22144/ctu.jen.2021.013>
- [4] Pramanick P. *et al.*, "A review on tropical seaweed diversity and benefits.," *Journal of Chemical Biology and Physical Science* vol. 4, no. 4, pp. 3909-3920, 2014.
- [5] M. Aguilera-Morales *et al.*, "Chemical composition and microbiological assays of marine algae *Enteromorpha* spp. as a potential food source," *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 18, no. 1, pp. 79-88, 2005. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2003.12.012>
- [6] K. Ganesan *et al.*, "Studies on chemical composition of three species of *Enteromorpha*," *Biomedicine & Preventive Nutrition*, vol. 4, no. 3, pp. 365-369, 2014. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bionut.2014.04.001>
- [7] B. P. Singh *et al.*, "Functional significance of bioactive peptides derived from soybean," *Peptides*, vol. 54, pp. 171-9, Apr 2014. doi: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.01.022>

- [8] Y. Li *et al.*, "Research progress in structure-activity relationship of bioactive peptides," *Journal of Medicinal Food*, vol. 18, no. 2, pp. 147-56, Feb 2015. doi: <https://doi.org/10.1089/jmf.2014.0028>
- [9] M. Gonzalez-Montoya *et al.*, "Bioactive peptides from germinated soybean with anti-diabetic potential by inhibition of dipeptidyl peptidase-IV, alpha-amylase, and alpha-glucosidase enzymes," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, no. 10, Sep 22 2018. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms19102883>
- [10] S. M. Rutherford, "Methodology for determining degree of hydrolysis of proteins in Hydrolysates: A Review," *Journal of AOAC International*, vol. 93, no. 5, pp. 1515-1522, 2010. doi: <https://doi.org/10.1093/jaoac/93.5.1515>
- [11] T. Nguyễn Chí *et al.*, "Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình thủy phân protein từ phụ phẩm cá lười trâu bằng enzyme alcalase," *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy Sản, Trường Đại học Nha Trang*, no. 04, pp. 106-114, 2019. doi: <https://doi.org/10.53818/jfst.04.2019.395>
- [12] L. N. Tú, "Hoá sinh Công nghiệp," *Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật Hà Nội* 2002.
- [13] A. Matkowski, "Plant in vitro culture for the production of antioxidants - A review," *Biotechnol Adv*, vol. 26, no. 6, pp. 548-60, Nov-Dec 2008. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.07.001>

ABSTRACT

RESEARCH ON THE HYDROLYSIS PROCESS TO OBTAIN PEPTIDE FROM *Enteromorpha* sp. ALGAE

Nguyen Quoc Kiet, Cao Thi Truc Ngan, Hoang Thi Ngoc Nhon*

Ho Chi Minh City University of Industry and Trade

*Email: nhonhtn@huit.edu.vn

Enteromorpha sp is an abundant brackish water seaweed in the Mekong Delta, that contains high content of protein, which is considered a potential source of bioactive peptides. The study aimed to investigate the influencing factors of the protein hydrolysis process to obtain peptide from *Enteromorpha* sp. by flavourzyme enzyme, including enzyme concentration, pH, temperature, and hydrolysis time. The hydrolysis efficiency is evaluated by the hydrolysis degree (%DH), and the antioxidant activity of the obtained peptides. The investigated factors include enzyme concentrations (100, 300, 500, 700, 900 UI/g), temperatures (40, 50, 60, 70, 80 °C), pH (4, 5, 6, 7, 8), and time (30, 60, 90, 120, 150 min). The obtained results were enzyme concentration of 700 UI/g, temperature of 50 °C, and pH 6.0 in 120 min. The protein hydrolysis yield was $40.72 \pm 1.32\%$.

Keywords: Antioxidant activity, *Enteromorpha* sp., Flavourzyme enzyme, hydrolysis degree.