

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG BROMELIN THÔ TỪ VỎ DỨA ĐỂ NÂNG CAO HÀM LƯỢNG AMINO ACID TRONG SỮA ĐẬU NÀNH

Trần Ngọc Hùng⁽¹⁾

(1) Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài 28/9/2023; Ngày gửi phản biện 23/12/2023; Chấp nhận đăng 25/01/2024

Liên hệ email: hungtn@tdmu.edu.vn

<https://doi.org/10.37550/tdmu.VJS/2024.01.504>

Tóm tắt

Sữa đậu nành là thức uống quen thuộc. Việc nâng cao tỷ lệ amino acid trong sữa đậu nành sẽ giúp gia tăng hiệu quả hấp thu protein. Nghiên cứu tập trung vào việc đánh giá hàm lượng amino acid trong một số loại sữa đậu nành; hiệu quả thủy phân protein trong sữa khi sử dụng bromelin thô. Từ đó, khảo sát ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ đến khả năng thủy phân của enzyme. Kết quả thí nghiệm cho thấy, tỷ lệ bổ sung bromelin ở mức 0,04U/mL sữa cho hiệu quả thủy phân protein cao nhất. Kết quả các thí nghiệm sàng lọc và tối ưu hóa ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian thủy phân bằng phương pháp đáp ứng bề mặt (response surface methodology, RSM) đã cho thấy bromelin thủy phân protein sữa đậu nành tốt nhất ở 60°C trong 276 phút, hàm lượng amino acid đạt $1,20 \pm 0,04$ mg tyrosine equivalent (TE)/mL sữa.

Từ khóa: bromelin, phương pháp đáp ứng bề mặt, sữa đậu nành thủy phân

Abstract

STUDY ON USING THE CRUDE BROMELIN FROM PEEL OF PINEAPPLE TO INCREASE THE AMINO ACID IN SOYA MILK

Increasing the ratio of amino acid in soya milk, a popular drink, will help improve the protein absorption of digestive system. The study focus on assessing the content of amino acid in some kinds of soya milk; the protein hydrolytic yield of crude bromelin. On that basis, the optimal time and temperature of the bromelin activity will be surveyed. The results indicated the bromelin activity of 0.04U/mL soya milk showed the best hydrolytic yield. Screening suitable parameters and optimizing the effects of temperature and hydrolytic time by the response surface methodology (RSM) showed the highest yield of hydrolysing soya milk protein was recored at 60°C for 276 minutes. The amino acid content of the hydrolysed soya milk gets 1.20 ± 0.04 mg tyrosine equivalent (TE)/mL soya milk.

1. Đặt vấn đề

Đậu nành (*Glycine max* L.) thuộc họ Đậu (*Fabaceae*), là loại hạt có giá trị dinh dưỡng và kinh tế cao. Đây là một trong những nguồn protein thực vật đứng đầu thế giới về số lượng và chất lượng. Hàm lượng protein của đậu nành trong khoảng 36-56% trọng lượng khô. Protein trong đậu nành chứa hầu hết các acid amin thiết yếu. Các nghiên cứu khoa học đã cho thấy hạt đậu nành có nhiều tác dụng tốt cho sức khỏe như: hỗ trợ phòng chống loãng xương, giảm các triệu chứng của phụ nữ như tiền mãn kinh, cải thiện các vấn đề tiêu hóa của bệnh nhân..., đặc biệt là giảm nguy cơ cho bệnh tim mạch. Bên cạnh đó, hoạt chất isoflavones trong đậu nành giúp cơ thể chống sự hình thành gốc tự do; hoạt chất saponin góp phần làm giảm cholesterol trong máu. Hạt đậu nành có thể được chế biến thành bột đậu nành, đậu phụ, tào phớ, nước tương, dầu đậu nành và phổ biến nhất là sữa đậu nành. Với nguồn dinh dưỡng dồi dào, sữa đậu nành là một món ăn bổ dưỡng cho cơ thể với các tác dụng chính như: giúp trái tim khỏe mạnh hơn, làm chậm quá trình lão hóa, ngăn ngừa loãng xương, bổ sung lượng protein cần thiết (Cynthia và cs., 2018). Tuy nhiên, đạm trong sữa đậu nành tồn tại chủ yếu ở dạng protein. Điều này phần nào đã hạn chế việc hấp thu của cơ thể.

Việc bổ sung protease vào sữa đậu nành ở một thời điểm nhất định có thể giúp thủy phân một phần protein, hình thành các peptid và các amino acid tự do, giúp thuận lợi hơn trong việc hấp thu của cơ thể. Sử dụng các protease thực vật như bromelin không chỉ giúp nâng cao hàm lượng amino acid trong sữa đậu nành và còn có thể mang lại những hương vị mới lạ từ nguồn protein trong các loại trái cây được sử dụng. Những nghiên cứu khoa học liên quan đến sữa đậu nành trước đây tập trung vào việc hoàn thiện quy trình sản xuất sữa và các lợi ích sức khỏe mà sữa đậu nành mang lại cho người sử dụng. Việc sử dụng giải pháp enzyme để nâng cao hàm lượng amino acid trong sữa đậu nành hiện vẫn chưa có công bố nào. Trong nghiên cứu này, khả năng thủy phân protein trong sữa đậu nành của bromelin thô ly trích từ vỏ dứa được đánh giá; ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian thủy phân đến hàm lượng amino acid trong sữa đậu nành tiếp tục được khảo sát, từ đó tối ưu hóa thông số nhiệt độ và thời gian thủy phân để thu được sữa có hàm lượng amino acid cao nhất.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Enzyme bromelin thô: được thu từ dịch ép lớp vỏ trái dứa chín, trồng tại huyện Châu Thành, tỉnh Tiền Giang.

Các sản phẩm sữa đậu nành bao gồm Fami Canxi, Nuti, Soya được mua tại các cửa hàng tiện lợi trên địa bàn thành phố Thuận An, tỉnh Bình Dương.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp chuẩn bị sữa đậu nành

Rửa sạch 200g đậu nành rồi ngâm với nước sạch trong 8 giờ. Trần qua nước sôi trong 10 phút rồi để nguội; đong 750mL nước cho vào đậu nành rồi xay nhuyễn; thêm 250mL nước vào rồi xay lại lần hai; nấu sôi dịch đã xay nhuyễn trong khoảng 15 phút; thu được sữa đậu nành, để nguội và đóng vào chai.

Phương pháp thu nhận enzyme bromelin thô

Phần vỏ trái dừa được rửa sạch, để ráo nước; xay nhuyễn và ép lấy phần dịch; lọc qua vải lọc rồi tiếp tục ly tâm ở tốc độ 5000 vòng/phút trong thời gian 5 phút để thu nhận dịch. Enzyme bromelin thô được thu nhận bằng cách thêm 80mL ethanol tuyệt đối vào 20mL dịch dừa, giữ ở 5°C trong 60 phút; ly tâm thu nhận kết tủa protein và hòa tan lại vào 5mL nước cất (Nguyễn Phú Thọ, 2018).

Xác định hàm lượng amino acid trong dịch thủy phân

Hàm lượng amino acid trong dung dịch được xác định theo phương pháp Lowry (1951) với một số thay đổi. Dịch thủy phân được loại bỏ các phần lơ lửng bằng cách ly tâm với tốc độ 5000 vòng/phút trong thời gian 10 phút. Dịch sau ly tâm tiếp tục được loại bỏ protein bằng cách bổ sung dung dịch Trichloroacetic acid (TCA) 10% với tỷ lệ 1:4 rồi lọc qua giấy lọc. Thêm 2mL dung dịch C vào 0,4mL dung dịch acid amin, lắc đều rồi để yên trong 5 phút; bổ sung 0,2mL dung dịch thuốc thử Folin đã pha loãng với tỷ lệ 1:4 rồi lắc đều trong 5 phút; thêm nước cất cho đủ 5mL rồi đo mật độ quang ở bước sóng 750nm. Tyrosine với các nồng độ khác nhau được sử dụng để xây dựng đường chuẩn. Hàm lượng amino acid trong dung dịch được thể hiện thông qua đương lượng tyrosine (tyrosine equivalent - TE).

Xử lý thống kê

Các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần. Phân tích ANOVA bằng phần mềm Stargraphic Centurion 15. Thí nghiệm tối ưu hóa được thực hiện bằng phần mềm Modde 5.0.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Đánh giá hàm lượng amino acid trong một số loại sữa đậu nành

Hàm lượng amino acid tự do trong sữa đậu nành là một yếu tố cho thấy chất lượng của sản phẩm, giúp cơ thể hấp thu hiệu quả nguồn đạm. Các sản phẩm sữa đậu nành thương mại và sữa đậu nành thử nghiệm được loại bỏ protein bằng cách kết tủa với TCA. Dịch lọc được kiểm tra hàm lượng amino acid theo phương pháp Lowry với chất chuẩn là tyrosine. Các nghiệm thức được lặp lại 3 lần.

Hiệu quả thủy phân protein trong sữa đậu nành của bromelin thô

Cùng với việc lựa chọn loại protease thực vật phù hợp, liều lượng của mỗi loại enzyme sử dụng cũng có ảnh hưởng nhiều đến hiệu quả thủy phân. Sữa đậu nành thử nghiệm được bổ sung enzyme bromelin thô với các mức 0,02; 0,03; 0,04 và 0,05U/mL sữa. Sau 2 giờ thủy phân ở nhiệt độ 45°C, loại bỏ protein bằng cách kết tủa với dung dịch TCA. Xác định hàm lượng amino acid trong dịch ly tâm theo phương pháp Lowry. Các nghiệm thức được lặp lại 3 lần.

Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân

Enzyme bromelin thô được bổ sung vào sữa đậu nành với hàm lượng 0,04U/mL sữa. Nhiệt độ thủy phân trong các nghiệm thức được giữ ở các mốc: 40°C; 45°C; 50°C; 55°C và 60°C. Sau 2 giờ thủy phân, loại bỏ protein và xác định hàm lượng amino acid trong dịch ly tâm sữa đậu nành theo phương pháp Lowry. Các nghiệm thức được lặp lại 3 lần.

Ảnh hưởng của thời gian thủy phân

Enzyme bromelin thô được bổ sung vào sữa đậu nành với hàm lượng 0,04U/mL sữa. Thủy phân ở nhiệt độ 50°C. Sau các khoảng thời gian 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 8 giờ và 10 giờ, loại bỏ protein và xác định hàm lượng amino acid trong dịch ly tâm theo phương pháp Lowry. Các nghiệm thức được lặp lại 3 lần.

Tối ưu hóa thời gian và nhiệt độ thủy phân protein trong sữa đậu nành bằng enzyme papain thô

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp trực giao hai yếu tố theo mô hình CCF-design. Phần mềm Modde 5.0 được sử dụng để thiết kế và xử lý số liệu thực nghiệm. Ký hiệu các biến số, giá trị mã hóa và nội dung các nghiệm thức được thể hiện trong bảng 1 và bảng 2.

Bảng 1. Ký hiệu các biến số và giá trị mã hóa

Biến số	Ký hiệu	Ký hiệu giá trị mã hóa		
		-1	0	1
Thời gian thủy phân (phút)	X1	120	240	360
Nhiệt độ thủy phân (°C)	X2	50	55	60

Bảng 2. Thiết kế thí nghiệm tối ưu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian thủy phân

Nghiệm thức	Các biến		Thời gian thủy phân (phút)	Nhiệt độ thủy phân (°C)
	X1	X2		
N 1	-1	-1	120	50
N 2	1	-1	360	50
N 3	-1	1	120	60
N 4	1	1	360	60
N 5	-1	0	120	55
N 6	1	0	360	55
N 7	0	-1	240	50
N 8	0	1	240	60
N 9	0	0	240	55
N 10	0	0	240	55
N 11	0	0	240	55

Mô hình phương trình hồi quy đa thức bậc 2 được lựa chọn để mô tả ảnh hưởng của các nhân tố lựa chọn đến đường lượng tyrosine (mg/mL):

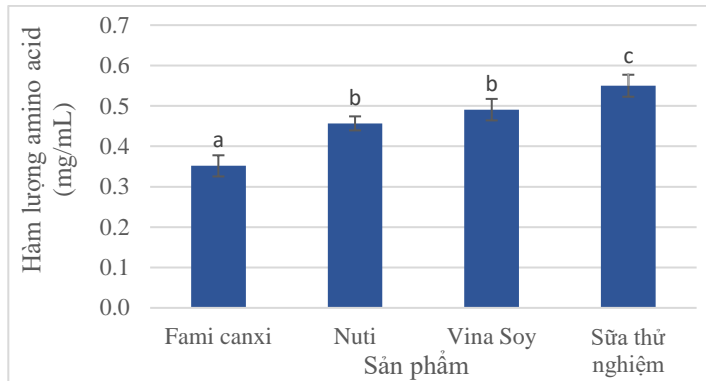
$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_{12}X_1X_2 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2$$

Với: X₁, X₂ là các biến độc lập; a₀ là hệ số phương trình hồi quy; a₁₂ là hệ số tương tác; a₁₁, a₂₂ là hệ số bậc 2; Y là đường lượng tyrosine

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Đánh giá hàm lượng amino acid trong một số loại sữa đậu nành

Loại bỏ protein có trong các sản phẩm sữa đậu nành thương mại và sữa đậu nành thử nghiệm bằng cách kết tủa với dung dịch TCA 10%. Dịch lọc được kiểm tra hàm lượng amino acid theo phương pháp Lowry. Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong hình 1.



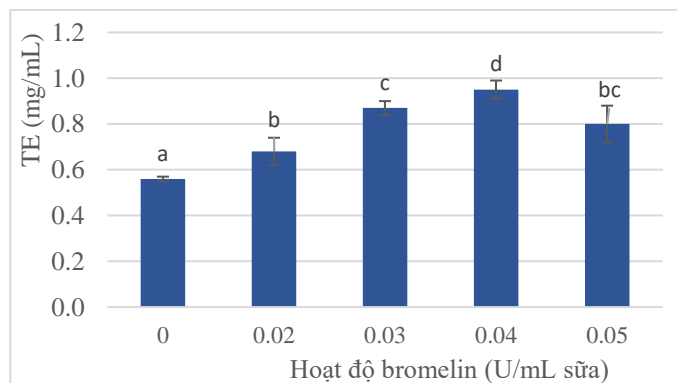
Hình 1. Hàm lượng amino acid tự do trong một số sản phẩm sữa đậu nành.

Các ký tự trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P \leq 0,05$).

Các sản phẩm sữa đậu nành kiểm tra đều có chứa amino acid tự do. Các sản phẩm thương mại có hàm lượng amino acid tự do dao động trong khoảng 0,35-0,49mg/mL, tương đương với 20,9-32,6% so với tổng số protein. Sữa đậu nành thử nghiệm có hàm lượng amino acid đạt $0,55 \pm 0,03$ mg/mL, tương đương với 30,1% so với tổng số protein. Sự khác biệt này có thể do tỷ lệ đậu nành sử dụng hoặc các công thức phối trộn khác nhau giữa sản phẩm tự nấu và các sản phẩm thương mại.

3.2. Hiệu quả thủy phân protein trong sữa đậu nành của bromelin thô

Cùng với papain, enzyme bromelin thô ly trích từ dịch ép trái dứa cũng được đánh giá hiệu quả thủy phân protein có trong sữa đậu nành với các hoạt động tương tự. Sau 2 giờ thủy phân ở nhiệt độ 45°C , hàm lượng amino acid trong dung dịch sau khi loại bỏ protein được xác định theo phương pháp Lowry. Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong hình 2.

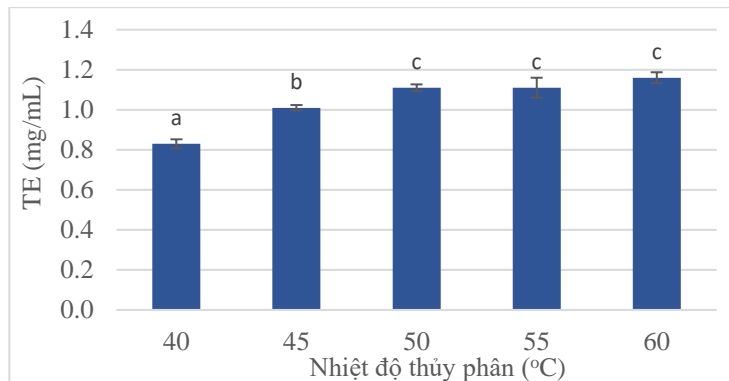


Hình 2. Ảnh hưởng của hoạt độ bromelin đến khả năng thủy phân protein trong sữa đậu nành. Các ký tự khác nhau trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

Khác với papain, hoạt độ enzyme bromelin trong khoảng khảo sát có ảnh hưởng nhiều tới khả năng thủy phân protein đậu nành. Hàm lượng amino acid tự do trong sữa tăng từ 0,68 đến 0,95mg TE/mL khi hoạt độ bromelin bổ sung tăng từ 0,02 đến 0,04U/mL. Việc gia tăng hoạt độ bromelin bổ sung lên mức 0,05U/mL sữa không đem lại hiệu quả khác biệt so với khi bổ sung ở mức 0,02 và 0,03U/mL. Những nghiên cứu về động học của enzyme nói chung đều cho thấy khả năng thủy phân chỉ gia tăng khi hoạt độ enzyme được sử dụng trong một giới hạn nhất định. Khả năng xúc tác của papain cũng thay đổi nhiều khi thủy phân protein từ các nguồn nguyên liệu khác nhau. Bromelin thu nhận từ chồi dừa thủy phân protein cá trong quy trình làm nước mắm cho thấy mức bổ sung tối ưu vào khoảng 0,16U/mL dịch thủy phân (Trần Công Hòa, 2010). Trong nghiên cứu này, mức bổ sung 0,04U/mL bromelin được sử dụng để tiến hành các khảo sát tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân protein

Enzyme bromelin thô được bổ sung vào sữa đậu nành với hàm lượng 0,04U/mL sữa. Nhiệt độ thủy phân được khảo sát từ 40°C đến 60°C, với mỗi nghiệm thức cách nhau 5°C. Thời gian thủy phân giữ cố định trong 2 giờ. Hàm lượng acid amin trong sữa đậu nành sau khi thủy phân được thể hiện trong hình 4.



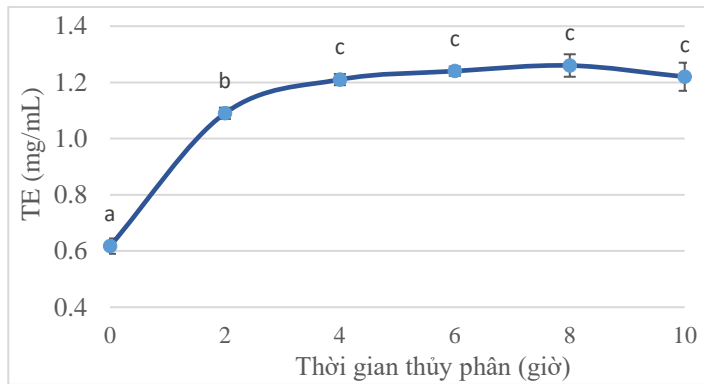
Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự thủy phân protein trong sữa đậu nành của bromelin. Các ký tự khác nhau trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

Nhiệt độ có ảnh hưởng đáng kể đến khả năng thủy phân protein đậu nành của bromelin. Hàm lượng amino acid tự do trong sữa tăng dần khi nhiệt độ thủy phân tăng từ 40 đến 50°C. Ở các nhiệt độ thủy phân 55°C và 60°C, khả năng thủy phân của bromelin chưa bị ảnh hưởng nhưng hiệu quả thu nhận amino acid không khác biệt so với khi thủy phân ở 50°C. Trên các nguồn cơ chất khác nhau, nhiệt độ phù hợp nhất cho hoạt động xúc tác của bromelin nhìn chung không có nhiều sự khác biệt. Trên nguồn protein từ cá tra, bromelin thủy phân tốt nhất ở nhiệt độ 55°C (Nguyễn Công Hà và cs., 2015). Đối với protein từ cá tạp, khoảng nhiệt độ phù hợp nhất cho khả năng thủy phân được ghi nhận từ 55-60°C (Đỗ Trung Sỹ và cs., 2013).

3.4. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân protein

Thời gian thủy phân được khảo sát ở các mức 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 8 giờ và 10 giờ. Enzyme bromelin thô được bổ sung vào sữa đậu nành với hàm lượng 0,04 U/mL sữa.

Thủy phân ở nhiệt độ 50°C. Hàm lượng amino acid trong dịch ly tâm sữa đậu nành được thể hiện trong hình 5.



Hình 4. Khả năng thủy phân protein trong sữa đậu nành của bromelin sau các khoảng thời gian. Các ký tự khác nhau trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

Trong khoảng thời gian khảo sát, hàm lượng amino acid trong sữa tăng dần từ 0 đến 4 giờ thủy phân, đạt $1,21 \pm 0,02$ mg TE/mL. Thời gian thủy phân kéo dài không đem lại sự khác biệt về hàm lượng amino acid ở độ tin cậy 95%. Việc duy trì hoạt động ở nhiệt độ cao trong thời gian kéo dài có thể tác động phần nào đến độ bền của bromelin. Nghiên cứu của Đặng Minh Hiền và cs. (2018) khi sử dụng bromelin để thủy phân protein trong máu cá tra cũng cho thấy thời gian tốt nhất là 4 giờ. Đối với nguồn protein từ cá tra, thời gian thủy phân tốt nhất của bromelin chỉ sau 2 giờ (Nguyễn Công Hà và cs., 2015). Tuy nhiên, trên nguồn protein từ cá tạp, thời gian thủy phân kéo dài lên đến 48 giờ (Đỗ Trung Sỹ và cs., 2013). Điều này cho thấy thời gian thủy phân phù hợp của bromelin thay đổi rất nhiều theo thành phần cơ chất.

3.5. Tối ưu hóa thời gian và nhiệt độ thủy phân protein trong sữa đậu nành bằng enzyme bromelin thô

Nhằm tìm hiểu tác động đồng thời của thời gian thủy phân trong khoảng 120-360 phút và nhiệt độ trong khoảng 50-60 °C, thí nghiệm đã xây dựng các nghiệm thức theo như mô tả trong bảng 1 và bảng 2. Các kết quả thu được theo quy hoạch thực nghiệm bậc 2 được trình bày trong bảng 3.

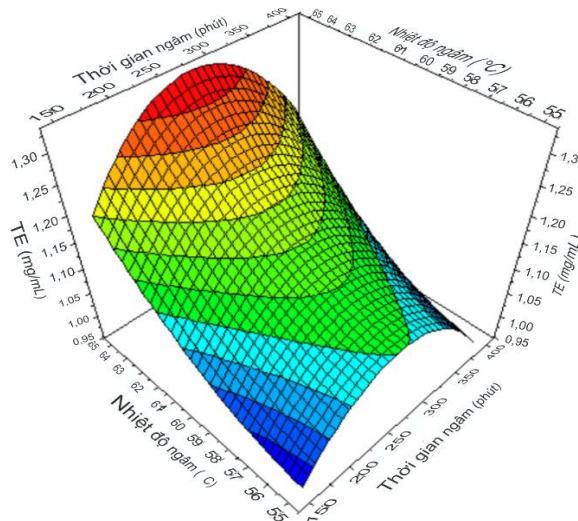
Bảng 3. Ảnh hưởng của các biến đến hàm lượng amino acid trong sữa đậu nành thủy phân

Amino acid content	Coeff. SC	Std. Err.	P	Conf. int (±)
Constant	1,07947	0,0317506	4,13987 e-007	0,0816177
X1	0,0750001	0,0252679	0,0312219	0,0645932
X2	0,0300001	0,0252679	0,288442	0,0645932
X1*X1	-0,138684	0,0388864	0,016105	0,0999609
X2*X2	0,0463157	0,0388864	0,287087	0,0999609
X1*X2	-0,00249999	0,0309467	0,938748	0,0795511
N = 11	Q ² = -0,133 DF = 5 R ² Adj. = 0,643	Cond. no. = 3,0822 R ² = 0,821 RSD = 0,0619 Conf. lev. = 0,95	Y-miss = 0	

Ảnh hưởng của mỗi biến số trong mô hình hồi quy được thể hiện ở bảng 3 với mức ý nghĩa 95%. Kết quả cho thấy thời gian thủy phân có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng amino acid thu được. Trong khi đó, nhiệt độ thủy phân tại các mốc khảo sát lại không tác động đến hàm mục tiêu. Kết quả xử lý số liệu cho thấy tính hồi quy của phương trình đạt yêu cầu với $R^2 = 0,821 (>0,8)$. Dựa trên kết quả xử lý số liệu, các tham số không có ý nghĩa ($P>0,05$) được loại bỏ, phương trình hồi quy thu được như sau:

$$Y = 1,07947 + 0,0750001X_1 - 0,138684X_1^2$$

Trong đó, Y là hàm lượng amino acid (mg/L); X_1 là thời gian thủy phân (°C); X_2 là nhiệt độ thủy phân (phút).



Hình 5. Bề mặt đáp ứng thể hiện ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ly trích đến hàm lượng amino acid

Hiệu quả thu nhận amino acid cao nhất được xác định thông qua tối ưu bằng phần mềm Modde 5.0. Ở thời gian thủy phân 276 phút, nhiệt độ thủy phân 60°C, hàm lượng amino acid đạt 1,17mg/mL. Tiến hành kiểm tra thực nghiệm với các thông số chiết tối ưu cho thấy dịch chiết có hàm lượng amino acid tự do theo đương lượng tyrosine đạt $1,20 \pm 0,04$ mg/mL sữa. So với sữa đậu nành truyền thống, việc xử lý với bromelin giúp tăng hàm lượng amino acid tự do lên 2,04 lần. Ngoài ra, các chất kháng dưỡng có bản chất là protein có thể sẽ bị thủy phân qua hoạt động của bromelin, góp phần nâng cao khả năng hấp thu chất đạm và các chất dinh dưỡng khác cho người sử dụng.

4. Kết luận

Hàm lượng amino acid trong sữa cao nhất khi bổ sung bromelin với tỷ lệ 0,04U/mL sữa. Kết quả các thí nghiệm sàng lọc và tối ưu hóa ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian thủy phân đã cho thấy bromelin thủy phân protein sữa đậu nành tốt nhất ở 60°C trong 276 phút, hàm lượng amino acid đạt $1,20 \pm 0,04$ mg TE/mL sữa.

Lời cảm ơn: Tác giả xin gửi lời cảm ơn đến trường đại học Thủ Dầu Một đã hỗ trợ một số trang thiết bị để thực hiện nghiên cứu này; xin cảm ơn sự hỗ trợ trong quá trình thí nghiệm của các bạn sinh viên ngành Công nghệ Thực phẩm, bao gồm: Phạm Hồng Như và Lê Yến Ngọc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Chu Thị Mỹ Duyên, Nguyễn Tự Tân, Võ Thị Bích Thủy, Bùi Xuân Đông (2020). Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ enzyme, thời gian phản ứng đến mức độ thủy phân protein và tính kháng oxy hóa của sữa đậu nành sử dụng *Bacillus protease*. *Báo cáo Khoa học về Nghiên cứu và Giảng dạy sinh học ở Việt Nam. Hội nghị Khoa học Quốc gia lần 4*. 712-719. DOI: 10.15625/vap.2020.00088.
- [2] Cynthia C., Stephen G., Chao-Wu X. (2018). Soybean bioactive peptides and their functional properties. *Nutrients*, 10(9). 1211. doi: 10.3390/nu10091211
- [3] Đặng Minh Hiền, Nguyễn Công Hà, Ngô Thảo Trang, Huỳnh Thị Bích Tran, Vo Thi Nhu Lan, Nguyễn Thị Cẩm Tú (2018). Khảo sát quá trình sử dụng bromelain thủy phân protein thu hồi từ nước rửa máu cá tra trong chế biến cá tra phi lê và ứng dụng trong nuôi cấy *Aspergillus oryzae*. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 117-124.
- [4] Đỗ Trung Sỹ, Trần Đình Toại, Lê Tất Thành, Hoàng Thị Bích, Nguyễn Văn Tuyên Anh, Nguyễn Đình Tuyên, Nguyễn Xuân Nguyên, Phạm Quốc Long (2013). *Nghiên cứu quy trình thủy phân cá tạp và phế liệu thủy sản bằng enzyme để sản xuất sản phẩm cao đạm giàu axit amin ứng dụng trong y, dược*. Kỷ yếu Hội nghị Quốc tế “Biển Đông 2012”, Nha Trang, 520-528.
- [5] Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L. & Randall R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-75. doi:10.1016/S0021-9258(19)52451-6. PMID 14907713.
- [6] Nguyễn Công Hà, Lê Nguyễn Đoàn Duy, Nguyễn Thị Thủy, Nguyễn Thị Bích Phượng (2015). *Khảo sát khả năng thủy phân protein từ phụ phẩm cá tra (Pangasius hypophthalmus) bằng enzyme bromelain*. Hội nghị khoa học chăn nuôi - Thú Y toàn quốc, Trường Đại học Cần Thơ.
- [7] Nguyễn Phú Thọ (2018). Nghiên cứu thu nhận enzyme bromelain thô từ chồi ngọn dứa (*Ananas comosus*). *Tạp chí Khoa học trường Đại học An Giang*, 21(3), 84-93.
- [8] Trần Công Hòa (2010). *Nghiên cứu ảnh hưởng của enzyme bromelain và nồng độ muối đến quá trình sản xuất nước mắm* (Luận văn thạc sĩ). Đại học Đà Nẵng.