

Tối ưu hoá quá trình trích ly protein từ sinh khối rong *chaetomorpha* sp. bằng phương pháp bề mặt đáp ứng

Bạch Ngọc Minh^{1,2,*}, Huỳnh Hoàn Mỹ¹, Hoàng Kim Anh³, Ngô Kế Sương¹



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Rong lục *Chaetomorpha* sp. là loài rong nước lợ phân bố nhiều trong các ao nuôi tôm quảng canh tại đồng bằng sông Cửu Long. Chúng đóng vai trò như các nhà máy lọc nước trong ao nuôi để giúp tăng sức khỏe và năng suất tôm. Hàm lượng protein khoảng 10-20% w/w chất khô, với thành phần các acid amin cân đối. Protein trong rong *Chaetomorpha* sp. gồm hai nhóm chính là nhóm tan trong nước và nhóm tan trong dung môi kiềm (hơn 88% tổng hàm lượng protein). Rong khô được sử dụng làm nguyên liệu trích ly protein sử dụng cellulase (Crestone Conc., Genecor) và dung môi NaOH. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tối ưu hoá điều kiện trích ly bằng phương pháp bề mặt đáp ứng RSM. Kết quả nghiên cứu cho thấy, ở giai đoạn đầu trích ly protein bằng cellulase với các thông số tối ưu nồng độ enzyme 121U/g cơ chất, thời gian 90 phút ở nhiệt độ 40⁰C thì hàm lượng protein thu được là 38,921 mg/g cơ chất. Sau đó, tiếp tục quá trình trích ly nhóm protein tan trong dung môi NaOH với hai yếu tố nồng độ NaOH là 1,2% và thời gian trích ly là 78 phút ở 50⁰C. Kết quả hàm lượng protein thu được là 68,651 mg/g cơ chất. Sau quá trình tối ưu hoá, tổng hàm lượng protein thu được là 105,755 mg/g cơ chất. Quá trình tối ưu hoá tăng 10,33% hiệu suất trích ly protein so với phương pháp trích ly đơn yếu tố. Protein concentrate từ rong có thể được sử dụng trong thực phẩm và chăn nuôi.

Từ khoá: *Chaetomorpha* sp., cellulase, phương pháp bề mặt đáp ứng, rong nước lợ, tối ưu hoá, trích ly protein

¹Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Học viện Khoa học và Công nghệ

³Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn

Liên hệ

Bạch Ngọc Minh, Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Học viện Khoa học và Công nghệ

Email: greensi02@gmail.com

Lịch sử

- Ngày nhận: 01-12-2018
- Ngày chấp nhận: 02-7-2019
- Ngày đăng: 30-9-2019

DOI: 10.32508/stdjns.v3i2.864



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



MỞ ĐẦU

Chaetomorpha là một chi bao gồm 81 loài phân bố từ vùng biển đến vùng nước lợ trên toàn thế giới. Tám loài đã được ghi nhận ở Thái Lan, hầu hết trong số đó được phát hiện ở dọc bờ biển, trong khi đó một số xuất hiện ở vùng nước tù đọng, bao gồm các ao nuôi trồng thủy sản, ống dẫn nước, các hồ chứa và đất ngập mặn¹. Rong thường mọc thành những sợi dài, phát triển thành đám, nổi trên mặt nước. Trong quá trình phát triển, rong *Chaetomorpha* sử dụng nguồn dinh dưỡng dư thừa trong môi trường nước, do có khả năng hấp thụ phosphate và nitrate trong nước². Theo kết quả báo cáo của Dự án SenterNovem ITB-Algen rong *Chaetomorpha* sp. có thể phát triển trong điều kiện độ mặn rộng và có tốc độ tăng trưởng nhanh (5 – 12%/ngày). Rong *Chaetomorpha* sp. được người dân địa phương gọi là “rong mền” do rong phát triển thành từng đám đan xen vào nhau như những thảm mền trên mặt nước, sợi rong rất dài từ 2 – 4 m. Loài *Chaetomorpha* sp. có mặt phổ biến trong các ao nuôi tôm nước lợ quảng canh, có hàm lượng carbohydrate cao (44 – 45% w/w chất khô) và protein dao động từ (11 – 23% w/w chất khô) tùy vào thời điểm thu hoạch. Việc nghiên cứu chuyển hóa sinh khối rong nước lợ

thành các sản phẩm có giá trị, đặc biệt là các protein và peptide có hoạt tính sinh học là một cách tiếp cận mới mẻ và rất có triển vọng nhằm khai thác một cách hiệu quả nguồn sinh khối bền vững này^{3,4}.

Tác nhân chủ yếu được sử dụng để trích ly protein trong rong là dung môi kiềm. Tác giả Barbarino và Lourenço⁵ đã nghiên cứu quá trình trích ly protein từ 15 loại rong khác nhau sử dụng dung dịch NaOH 0,1N với sự hỗ trợ của quá trình đồng hóa trên rong được lạnh đông cho hiệu suất trích ly tốt nhất. Tuy nhiên, việc trích ly protein bị hạn chế bởi các thành phần polysaccharide trong thành tế bào như alginate, xylan, cellulose. Để cải thiện khả năng hòa tan của protein rong biển, phương án thường được lựa chọn là sử dụng hệ enzyme thủy phân thành tế bào và các polysaccharide bên trong tế bào. Các tác giả Amano³ và Fleurence⁶ cho thấy sử dụng các hỗn hợp enzyme cellulase, hemicellulase và glucanase giúp gia tăng khả năng trích ly protein từ rong lục. Theo Bạch Ngọc Minh⁷ thành phần protein trong rong lục *Chaetomorpha* sp. gồm hai nhóm protein tan trong kiềm và protein tan trong nước lần lượt chiếm tỷ lệ 55,76% và 34,33% so với tổng khối lượng protein.

Phương pháp qui hoạch thực nghiệm ngày càng được sử dụng phổ biến trong bố trí thí nghiệm. Phương

Trích dẫn bài báo này: Minh B N, Hoàn Mỹ H, Anh H K, Sương N K. **Tối ưu hoá quá trình trích ly protein từ sinh khối rong *chaetomorpha* sp. bằng phương pháp bề mặt đáp ứng.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 3(3):136-143.

pháp này ưu điểm tiết kiệm thời gian và số lượng mẫu thí nghiệm, đồng thời có thể đánh giá mối tương quan giữa các yếu tố thí nghiệm. Trong số những phương pháp qui hoạch thực nghiệm hiện đại, phương pháp bề mặt đáp ứng với sự hỗ trợ của các phần mềm xử lý số liệu đã trở thành một công cụ hữu ích giúp các chuyên gia thực hiện nghiên cứu các quá trình tối ưu hóa đa nhân tố, nhằm tiết kiệm thời gian, chi phí⁸. Mục tiêu của nghiên cứu này để xác định các giá trị tối ưu cho quá trình thu nhận protein từ rong *Chaetomorpha* sp. nhằm tiết kiệm chi phí và nâng cao hiệu suất trích ly protein.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Rong mền *Chaetomorpha* sp. được thu nhận tại các ao nuôi tôm quảng canh tại huyện Giá Rai, tỉnh Bạc Liêu sau 15– 20 ngày phát triển tùy thuộc vào điều kiện thời tiết. Rong được vận chuyển trong thùng xốp trong ngày về phòng thí nghiệm (tại Viện Sinh học Nhiệt đới).

Enzyme sử dụng là chế phẩm enzyme cellulase của hãng Genecor, Mỹ với tên thương mại là Crestone Conc. Đây là một loại enzyme cellulase mới được Genecor phát triển, có khả năng hoạt động tốt trong vùng pH trung tính từ 6,0 – 7,5, nhiệt độ từ 45 – 55^oC; có hoạt tính 1.100 UI/mL.

Phương pháp thực nghiệm

Dựa trên kết quả các thí nghiệm trích ly protein từ rong lục *Chaetomorpha* sp. đã được thực hiện bởi Bạch Ngọc Minh và cộng sự⁹, chúng tôi tiến hành lựa chọn các yếu tố có ảnh hưởng lớn đến quá trình trích ly hai nhóm protein tan trong nước và tan trong kiềm của rong *Chaetomorpha* sp. và tiến hành mô hình tối ưu hoá bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm.

Trích ly protein tan trong nước bằng enzyme cellulase và nhóm protein tan trong kiềm bằng dung dịch NaOH

Rong nguyên liệu được đem tách protein tan trong nước với enzyme cellulase (tên thương mại Crestone Conc) trong dung dịch đệm potassium phosphate pH7, nồng độ cơ chất 10% w/v, các yếu tố nồng độ enzyme (UI/g cơ chất), thời gian và nhiệt độ trích ly được khảo sát. Sau khi kết thúc quá trình, dung dịch thí nghiệm được ly tâm 10.000 vòng/phút trong 10 phút và thu phần dịch nổi để xác định hàm lượng protein hòa tan. Phần bã rắn còn lại sau khi tách protein tan trong nước bằng enzyme được tiếp tục sử dụng để tách chiết protein tan trong dung môi NaOH với tỷ lệ nguyên liệu và dung môi là (1:20), ở nhiệt độ 50^o C,

với 2 yếu tố nồng độ NaOH (%) và thời gian trích ly được khảo sát. Sau khi tách, ly tâm thu phần dịch nổi để xác định hàm lượng protein hòa tan.

Bố trí thí nghiệm tối ưu hoá trích ly protein bằng enzyme cellulase

Sau khi tiến hành các thí nghiệm đơn yếu tố, đã lựa chọn được ba yếu tố có vai trò quan trọng trong quá trình trích ly protein bằng enzyme để tiến hành thí nghiệm tối ưu hoá. Phương pháp bề mặt đáp ứng được lựa chọn để tối ưu hoá điều kiện trích ly theo mô hình trực giao cấp 2 có tâm xoay với 3 thí nghiệm tại tâm. Với ba yếu tố độc lập là: nồng độ enzyme (X₁), nhiệt độ (X₂) và thời gian (X₃). Hàm mục tiêu lựa chọn là hàm lượng protein hoà tan thu được sau quá trình trích ly. Ma trận thí nghiệm được thiết kế bằng phần mềm Modde 5.0.

Thí nghiệm được thực hiện tương tự thí nghiệm trên với hai yếu tố biến đổi là nồng độ dung môi NaOH (X₄) và thời gian trích ly (X₅).

Phương pháp phân tích

Xác định hàm lượng protein hoà tan

Hàm lượng protein hòa tan được xác định theo phương pháp Lowry trên máy đo quang phổ UV-Vis¹⁰.

Xử lý số liệu

Thí nghiệm tối ưu hoá quá trình trích ly được thực hiện theo mô hình tối ưu hoá hai yếu tố trực giao cấp 2 có tâm xoay với 3 thí nghiệm ở tâm, sử dụng phần mềm Modde 5.0 để thiết kế và xử lý số liệu thực nghiệm.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tối ưu hoá quá trình trích ly protein bằng enzyme cellulase

Mô hình bố trí thí nghiệm ảnh hưởng của các yếu tố: nồng độ enzyme (X₁), nhiệt độ (X₂) và thời gian (X₃) đến hàm lượng protein hòa tan (mg /g) thu được sau quá trình trích ly được trình bày ở Bảng 1.

Sau khi phân tích dữ liệu bằng phần mềm Modde 5.0, nhận được kết quả trong Bảng 2 và Hình 1. Phương trình hồi quy mô tả hàm lượng protein hòa tan thu được trong dịch trích như sau:

$$Y_1 = 37,024 + 3,452 X_1 + 2,322 X_3 - 3,137 X_1^2 - 1,417 X_3^2$$

Trong đó : Y₁, X₁, X₃ lần lượt là hàm lượng protein hòa tan thu được trong dịch trích (mg), nồng độ enzyme (UI/g) và thời gian trích ly (phút).

Như vậy, theo phương trình hồi quy chỉ có hai yếu tố X₁, X₃ là ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng protein

Bảng 1: Mô hình quy hoạch thực nghiệm và kết quả của quá trình trích ly khi thay đổi 3 yếu tố nồng độ enzyme, nhiệt độ và thời gian trích ly

STT	Biến mã hoá			Biến thực			Hàm mục tiêu	
	X ₁	X ₂	X ₃	Enzyme (UI/g)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	Hàm lượng protein (mg/g)	
1	-1	-1	-1	50	40	30	27,36	
2	1	-1	-1	150	40	30	32,12	
3	-1	1	-1	50	60	30	28,72	
4	1	1	-1	150	60	30	34,16	
5	-1	-1	1	50	40	90	33,12	
6	1	-1	1	150	40	90	36,04	
7	-1	1	1	50	60	90	30,88	
8	1	1	1	150	60	90	37,38	
9	$-\sqrt{2}$	0	0	16	50	60	20,26	
10	$\sqrt{2}$	0	0	184	50	60	36,63	
11	0	$-\sqrt{2}$	0	100	33	60	37,08	
12	0	$\sqrt{2}$	0	100	67	60	38,76	
13	0	0	$-\sqrt{2}$	100	50	10	28,36	
14	0	0	$\sqrt{2}$	100	50	110	38,26	
15	0	0	0	100	50	60	37,04	
16	0	0	0	100	50	60	35,75	
17	0	0	0	100	50	60	38,18	

thu được. Các biến số X₁, X₃ có ảnh hưởng dương tính đến giá trị của Y₁; trong khi đó các biến số X₁² và X₃² có ảnh hưởng âm tính đến giá trị của Y₁. **Bảng 2**, cho thấy biến có hiệu ứng lớn nhất là X₁ (nồng độ enzyme), tiếp theo đó là giá trị bậc 2 của X₁. Hệ số biến thiên thực R² của mô hình hồi qui là 0,931 và giá trị biến thiên ảo Q² là 0,509. Giá trị của hai hệ số R² và Q² càng tiến đến 1 thì độ tin cậy của mô hình hồi qui càng cao. Theo Gabrielsson và cộng sự¹¹ mô hình thí nghiệm đáng tin cậy khi giá trị biến thiên ảo Q² phải lớn hơn 0,5 và R² ở trong khoảng 0,80 – 0,97; khi các giá trị R² và Q² càng gần giá trị 1 thì hàm hồi quy càng mô tả tốt và chính xác các kết quả thí nghiệm.

Như vậy, kết quả của thí nghiệm thu được là hoàn toàn phù hợp với những tiêu chí mà tác giả này đã đưa ra khi quy hoạch thực nghiệm sử dụng phần mềm Modde 5.0.

Mối quan hệ của nồng độ enzyme và thời gian trích ly đến hàm lượng protein được thể hiện trên Hình 1. Kết quả cho thấy việc sử dụng enzyme góp phần tăng khả năng chiết xuất protein. Kết luận phù hợp với một số nghiên cứu Wang và cộng sự¹², Guan và Yao¹³

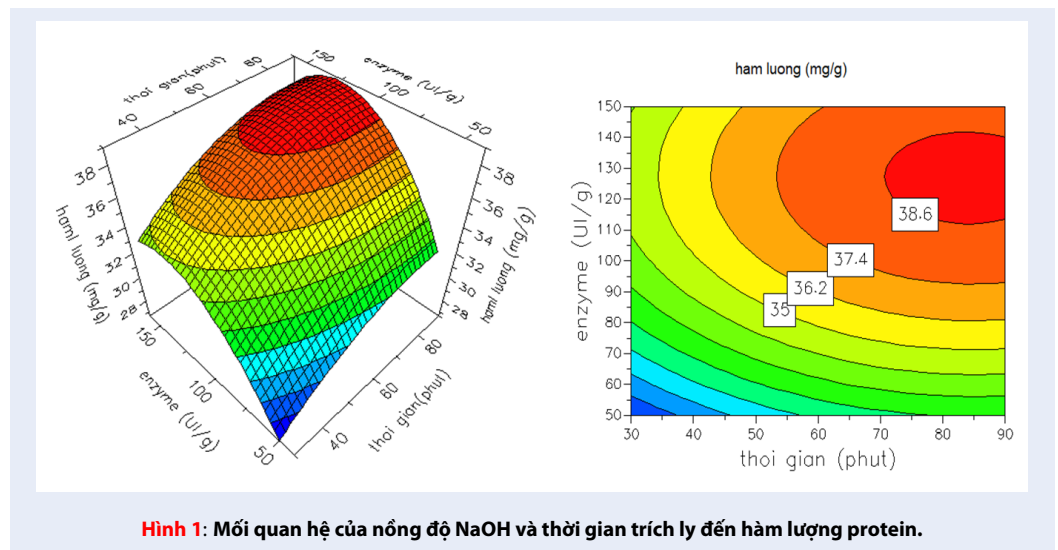
trên các đối tượng đậu phộng và yến mạch, nồng độ enzyme (cellulase và xylanase) 100UI/g cơ chất cũng được sử dụng khi nghiên cứu trên rong *P. palmate*¹⁴. Kết quả tối ưu đạt được theo phương trình hồi quy như sau : nồng độ enzyme là 121 UI/g cơ chất, nhiệt độ trích ly là 40⁰ C và thời gian trích ly là 90 phút. Hàm lượng protein dự đoán theo phương trình hồi quy là 38,921 mg/g cơ chất. Kiểm tra thực nghiệm quá trình trích ly protein từ rong với các thông số tối ưu thu được từ phương trình hồi quy, hàm lượng protein hoà tan thu được trong thực nghiệm là 37,651 mg/g cơ chất. Sự khác biệt về hàm lượng protein giữa giá trị được dự đoán theo phương trình hồi quy và giá trị thực nghiệm là 3,27 %. Như vậy, giá trị thực nghiệm thu được là rất gần với giá trị tính toán từ phương trình hồi quy.

Tối ưu hoá quá trình trích ly protein bằng dung môi NaOH

Sử dụng các thông số đã xác định được sau quá trình tối ưu hoá quá trình trích ly bằng enzyme để tiến hành trích ly ở protein ở giai đoạn đầu. Sau khi ly tâm

Bảng 2: Ảnh hưởng của các biến độc lập đến hàm lượng protein khi trích ly bằng enzyme

Hàm lượng protein	Coeff. SC	Std. Err.	P	Conf. int(±)
Constant	37,0237	1,15324	7,35717e-009	2,7270
X ₁	3,45245	0,54153	0,00037	1,2805
X ₂	0,38992	0,54153	0,49483	1,2805
X ₃	2,32180	0,54153	0,00362	1,2805
X ₁ * X ₁	-3,13687	0,59597	0,00116	1,4092
X ₂ * X ₂	0,21221	0,59597	0,73226	1,4092
X ₃ * X ₃	-1,41726	0,59597	0,04902	1,4092
X ₁ * X ₂	0,53250	0,70758	0,47625	1,6732
X ₁ * X ₃	-0,09749	0,70758	0,89428	1,6732
X ₂ * X ₃	-0,53750	0,70758	0,47228	1,6732
N = 17	Q2 =	0,509	Cond. no. =	4,9932
DF = 7	R2 =	0,931	Y-miss =	0
	R2 Adj. =	0,842	RSD =	2,0014
			Conf. lev. =	0,95



Hình 1: Mối quan hệ của nồng độ NaOH và thời gian trích ly đến hàm lượng protein.

thu dịch trích protein trong nước, phần bã được sử dụng để tiến hành khảo sát quá trình tối ưu hoá ở giai đoạn trích ly bằng dung môi NaOH. Mô hình bố trí thí nghiệm ảnh hưởng của thời gian (X₄) và nồng độ NaOH (X₅) đến hàm lượng protein hòa tan (mg /g) thu được sau quá trình trích ly được trình bày ở Bảng 3 và Bảng 4.

Sau khi xử lý số liệu, hệ số biến thiên thực R² của mô hình hồi quy là 0,957 và giá trị biến thiên ảo Q² là 0,702. Phương trình hồi quy mô tả hàm lượng protein hòa tan thu được trong dịch trích như sau:

$$Y_2 = 65,180 + 6,321 X_4 + 10,224 X_5 - 5,509 X_4 X_5 - 8,259 X_5^2$$

Trong đó: Y₂, X₄, X₅ lần lượt là hàm lượng protein hòa tan thu được trong dịch trích (mg /g), thời gian trích ly (phút), nồng độ NaOH (%).

Theo phương trình hồi quy chỉ có hai yếu tố X₄, X₅ là ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng protein thu được. Các biến số X₄, X₅ có ảnh hưởng dương tính đến giá trị của Y₂; trong khi đó các biến số X₄² và X₅ có ảnh hưởng âm tính đến giá trị của Y₂. Dựa vào

Bảng 4, biến X₅ (nồng độ NaOH) là biến có hiệu ứng

Bảng 3: Mô hình quy hoạch thực nghiệm và kết quả của quá trình trích ly khi thay đổi 2 yếu tố nồng độ NaOH và thời gian trích ly

STT	Biến mã hoá		Biến thực		Hàm mục tiêu
	X ₄	X ₅	Thời gian (phút)	Nồng độ NaOH (%)	Hàm lượng protein (mg/g)
1	-1	-1	45	0,5	33,37
2	-1	1	45	1,5	60,52
3	1	-1	90	0,5	60,45
4	1	1	90	1,5	65,57
5	$-\sqrt{2}$	0	68	0,3	51,67
6	$\sqrt{2}$	0	68	1,7	64,61
7	0	$-\sqrt{2}$	36	1,0	30,05
8	0	$\sqrt{2}$	100	1,0	65,17
9	0	0	68	1,0	63,89
10	0	0	68	1,0	65,15
11	0	0	68	1,0	66,50

Bảng 4: Ảnh hưởng của các biến độc lập đến hàm lượng protein khi trích ly bằng NaOH

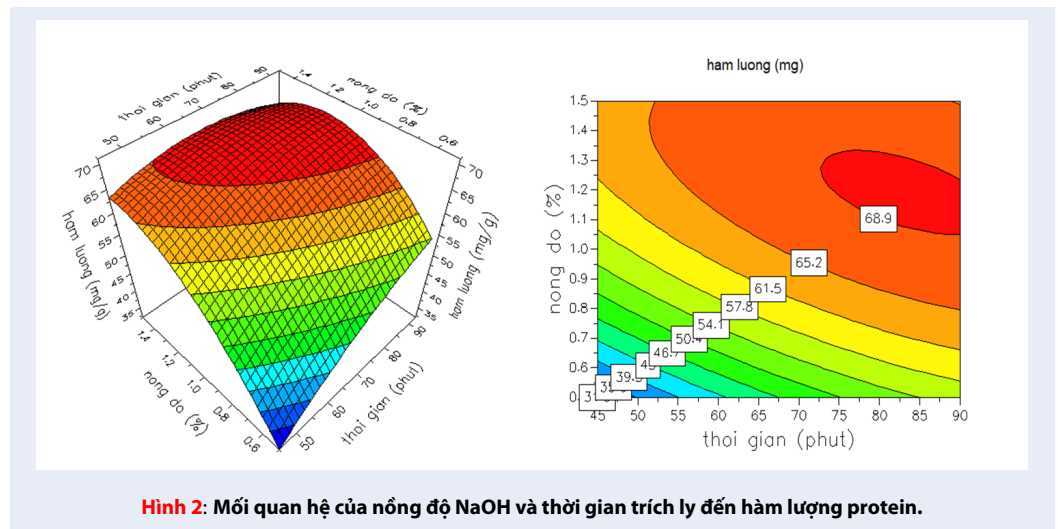
Hàm lượng protein	Coeff. SC	Std. Err.	P	Conf. int(±)
Constant	65,1798	2,23868	8,95817e-007	5,75471
X ₄	6,32068	1,37101	0,005786	3,52429
X ₅	10,2237	1,37101	0,000684	3,52429
X ₄ *X ₄	-2,9950	1,63203	0,125931	4,19529
X ₅ *X ₅	-8,2595	1,63203	0,003896	4,19529
X ₄ *X ₅	-5,5088	1,93875	0,036184	4,98373
N = 11	Q2 =	0,702	Cond. no. =	3,6208
DF = 5	R2 =	0,957	Y-miss =	0
	R2 Adj. =	0,914	RSD =	3,8775
			Conf. lev. =	0,95

lớn nhất đến hàm lượng protein (Y₂) ở cả giá trị bậc 1 và giá trị bậc 2. Tiếp đến là ảnh hưởng của biến thời gian trích ly (X₄) ở giá trị bậc 1, trong khi đó sự tương tác của hai biến độc lập mang lại hiệu ứng ảnh hưởng thấp nhất đến hàm lượng protein thu được. Mối quan hệ của nồng độ NaOH và thời gian trích ly đến hàm lượng protein được thể hiện trên **Hình 2**. Hệ số biến thiên thực R² của mô hình hồi quy là 0,931 và giá trị biến thiên ảo Q² là 0,509.

Kết quả tối ưu đạt được theo phương trình hồi quy như sau : nồng độ dung môi NaOH là 1,2% và thời gian trích ly là 72 phút. Hàm lượng protein dự đoán theo phương trình hồi quy là 68,651 mg/g cơ chất. Sử

dụng các thông số tối ưu của quá trình tối ưu hoá để bố trí thí nghiệm thực nghiệm. Hàm lượng protein hoà tan thu được trong thực nghiệm là 68,104 mg/g cơ chất. Sự khác biệt về hàm lượng protein giữa giá trị được dự đoán theo phương trình hồi quy và giá trị thực nghiệm là 0,8 %. Như vậy, giá trị thực nghiệm thu được là rất gần với giá trị tính toán từ phương trình hồi quy.

Hiện nay, chưa có nhiều nghiên cứu về quá trình trích ly protein từ rong lục *Chaetomorpha* sp. để làm cơ sở so sánh cho nghiên cứu, nhưng với các nghiên cứu về trích ly protein từ các đối tượng rong khác cho thấy sự phù hợp của phương pháp bề mặt đáp ứng RSM



Hình 2: Mối quan hệ của nồng độ NaOH và thời gian trích ly đến hàm lượng protein.

cho việc tối ưu hoá quá trình trích ly và thu nhận protein ¹⁵⁻¹⁸.

KẾT LUẬN

Phương pháp bề mặt đáp ứng RSM được sử dụng để tối ưu hoá quá trình trích ly protein từ sinh khối sinh lục *Chaetomorpha* sp. Rong khô được sử dụng để trích ly protein qua hai giai đoạn là trích ly nhóm protein tan trong nước có hỗ trợ của enzyme và trích ly nhóm protein tan trong kiềm bằng dung môi NaOH. Hiệu suất thu nhận protein sau hai lần trích ly là 95,847 mg/g cơ chất khi lần lượt tối ưu các thí nghiệm đơn yếu tố. Tối ưu hoá quá trình trích ly protein bằng qui hoạch thực nghiệm cho tổng hiệu suất thu nhận protein là 105,755 mg/g cơ chất. Hiệu quả trích ly khi sử dụng quy hoạch thực nghiệm tăng 10,33%.

Cam kết không xung đột lợi ích nhóm tác giả

Tôi là tác giả chính của bản thảo công bố kết quả nghiên cứu: “Tối ưu hoá quá trình trích ly protein từ sinh khối rong *Chaetomorpha* sp. bằng phương pháp bề mặt đáp ứng”. Tôi xin cam kết như sau:

- Tôi và cộng sự đồng tác giả của bản thảo này đã được phép của Đơn vị tài trợ và của Chủ nhiệm đề tài để sử dụng và công bố kết quả nghiên cứu.
- Tất cả các tác giả có tên trong bài đều đã đọc bản thảo, đã thỏa thuận về thứ tự tác giả và đồng ý gửi bài đăng trên tạp chí STDJNS.
- Công trình này không có bất kỳ sự xung đột về lợi ích nào giữa các tác giả trong bài và với các tác giả khác.

Đóng góp của từng tác giả cho bài báo

- Bạch Ngọc Minh: Tác giả chính của bản thảo, là người soạn thảo bài báo, thiết kế nghiên cứu, phân tích diễn giải các dữ kiện, thu thập dữ kiện và thực hiện các phân tích cơ bản và thống kê.
- Huỳnh Hoàn Mỹ: tham gia vào thiết kế và thực hiện nghiên cứu, phân tích diễn giải các dữ liệu, thu thập dữ kiện và thực hiện các phân tích cơ bản và thống kê.
- Hoàng Kim Anh: tham gia soạn thảo và chỉnh sửa bản thảo, phân tích dữ kiện, người trực tiếp quản lý công trình nghiên cứu, cố vấn và thiết kế nghiên cứu.
- Ngô Kế Sương: tham gia chỉnh sửa bản thảo, cố vấn cho quá trình nghiên cứu từ khi công trình vừa bắt đầu.

Đạo đức trong công bố

- Bản thảo được công bố với sự đồng thuận của các tác giả có tên trong bản thảo. Các số liệu sử dụng trong bản thảo là hoàn toàn trung thực và không có sự sao chép từ các bản thảo khác.

Danh mục từ viết tắt

- RSM : response surface methodology (phương pháp bề mặt đáp ứng)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tsutsui I, Miyoshi T, Aue-Umeoy D, Songphatkaew J, Meeanan C, Klomkling S, et al. High tolerance of *Chaetomorpha* sp. to salinity and water temperature enables survival and growth in stagnant waters of central Thailand. *International Aquatic Research*. 2015;7(1):47–62.
2. Tiến TV, Duy NH, Vinh NX, Tho N, Thiện LD, Sn HN. Ảnh hưởng của mật độ rong đến tăng trưởng và khả năng hấp thụ nitrate và phosphate của rong *Chaetomorpha aerea*. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*. 2015;13(4A):1397–1405.
3. Amano H, Noda H. Proteins from protoplasts from red alga *Porphyra yezoensis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 1990;56:1859–1864.
4. Fitzgerald CN, Gallagher E. Heart health peptides from macroalgae and their potential use in functional foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011;59(13):6829–6836.
5. Barbarino E, Loureno SO. An evaluation of methods for extraction and quantification of protein from marine macro- and microalgae. *Journal of Applied Phycology*. 2005;17:447–460.
6. Fleurence J, Antoine E, Lucon M. Method for extracting and improving digestibility of *Palmaria palmata* proteins. IN Organization, W. I. P. (Ed.). Paris: Institute National de la Propriété Industrielle World. 2001;.
7. Minh BN, Mỹ HH, Anh HK, Ánh L, Sương NK. Ảnh hưởng của dạng nguyên liệu và quá trình xử lý nguyên liệu đến hiệu suất tách protein từ rong lục *Chaetomorpha* sp. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*. 2015;13(4A):1335–1340.
8. Bezerra MA, Santelli RE, Oliveira EP, Villar LS, Escalera LA. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*. 2008;76(5):965–977.
9. Minh BN, Anh HK, Ánh LTH, Sng NK; 2014.
10. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*. 1951;193:265–75.
11. Gabrielsson J, Lindberg NO, Lundstedt T. Multivariate methods in pharmaceutical applications. *Journal of Chemometrics: A Journal of the Chemometrics Society*. 2002;16(3):141–160.
12. Wang W, Tai F, Chen S. Optimizing protein extraction from plant tissues for enhanced proteomics analysis. *Journal of separation science*. 2008;31(11):2032–2039.
13. Guan X, Yao H. Optimization of Viscozyme L-assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology. *Food Chemistry*. 2008;106(1):345–351.
14. Mæhre H, Jensen IJ, Eilertsen KE. Enzymatic pre-treatment increases the protein bioaccessibility and extractability in *Dulse* (*Palmaria palmata*). *Marine Drugs*. 2016;14(11):196–196.
15. Hadiyanto H, Sutrisnorhadi S. Response surface optimization of ultrasound assisted extraction (UAE) of phycocyanin from microalgae *Spirulina Platensis*. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2016;p. 227–234.
16. Dumay J, Clément N, Moranais M, Fleurence J. Optimization of hydrolysis conditions of *Palmaria palmata* to enhance R-phycoerythrin extraction. *Bioresource Technology*. 2013;131:21–27.
17. Nguyen H, Moranais M, Fleurence J, Dumay J. *Mastocarpus stellatus* as a source of R-phycoerythrin: optimization of enzyme assisted extraction using response surface methodology. *Journal of Applied Phycology*. 2017;29(3):1563–1570.
18. Parimi NS, Singh M, Kastner JR, Das KC, Forsberg LS, Azadi P. Optimization of protein extraction from *Spirulina platensis* to generate a potential co-product and a biofuel feedstock with reduced nitrogen content. *Frontiers in Energy Research*. 2015;3:30–30.

Optimization of protein extraction from green algae *Chaetomorpha* sp. By response surface methodology

Bach Ngoc Minh^{1,2,*}, Huynh Hoan My¹, Hoang Kim Anh³, Ngo Ke Suong¹



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

ABSTRACT

Green brackish algae *Chaetomorpha* sp. are easily found in shrimp ponds in Mekong Delta, Vietnam. They can also be co-cultured with shrimps in brackish water shrimp ponds to increase shrimp health and yield. *Chaetomorpha* sp. algae contain high amount of protein from 10 to 20% w/w db, including water soluble protein and alkaline-soluble protein with over 88% total protein. Dried material were used for protein extraction by using cellulase enzyme (Crestone Conc., Genecor) and NaOH solution. In this research, we optimize the extraction condition of protein from green algae *Chaetomorpha* sp. by using response surface methodology (RSM). At optimal extraction conditions, dried material was used for protein extraction by using cellulase enzyme (Crestone Conc., Genecor) with the enzyme dosage of 121 UI/g db at 40°C during 90 mins. After extraction, the slurry was centrifuged to separate the algae biomass residue to extract the alkaline-soluble protein. The protein extraction yield by using cellulase enzyme was 38.921 mg/g db. After that the, algae biomass residue was extracted by a 1.2% NaOH solution for 78 mins at 50°C. The protein extraction yield was 68.651 mg/g db. The total protein extraction yield was 105.755 mg/g db. The extraction yield was increased 10.33% when using the response surface methodology. Concentrated algae protein can be used as a good protein source for food and feed products.

Key words: *Chaetomorpha* sp., cellulase, response surface methodology, green brackish algae, optimization, protein extraction

¹Institute of Tropical Biology, Vietnam Academy of Science and Technology, Viet Nam

²Graduate University of Science and Technology, Viet Nam

³SaiGon Technology University, Viet Nam

Correspondence

Bach Ngoc Minh, Institute of Tropical Biology, Vietnam Academy of Science and Technology, Viet Nam

Graduate University of Science and Technology, Viet Nam

Email: greensi02@gmail.com

History

- Received: 01-12-2018
- Accepted: 02-7-2019
- Published: 30-9-2019

DOI : 10.32508/stdjns.v3i2.864



Copyright

© VNU-HCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Cite this article : Ngoc Minh B, Hoan My H, Kim Anh H, Ke Suong N. **Optimization of protein extraction from green algae *Chaetomorpha* sp. By response surface methodology.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 3(3):136-143.