

NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ VỎ TÔM NHẪM MỤC ĐÍCH THU HỒI CÁC HỢP CHẤT TỰ NHIÊN CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC

A STUDY ON THE TREATMENT METHODS FOR SHRIMP'S SHELLS TO COLLECT NATURAL COMPOUNDS HAVING BIOACTIVITY

Bùi Xuân Đông, Đoàn Thị Hoài Nam

Trường Đại học Bách khoa, Đại học Đà Nẵng; Email: xdbui@dut.udn.vn

Tóm tắt: Phế liệu vỏ tôm và nội tạng cá không được xử lý hợp lý là nguyên nhân cơ bản dẫn tới tình trạng ô nhiễm môi trường hiện nay. Bài báo trình bày kết quả khảo sát thành phần hóa học của vỏ tôm sú (*Penaeus monodon fabricius*) và tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) trên địa bàn thành phố Đà Nẵng. Từ đặc điểm thành phần hóa học của vỏ tôm chúng tôi đã nghiên cứu tách chiết được hai hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học là chất màu carotenoid có thể ứng dụng trong sản xuất thực phẩm và chitin có hàm lượng khoảng chất và protein nhỏ hơn 0,5%. Ứng dụng enzyme protease tách chiết từ nội tạng cá trong sản xuất chitin có thể đạt độ khử protein từ vỏ tôm trên 75%; bên cạnh đó, giảm thiểu lượng axit đậm đặc so với phương pháp truyền thống.

Từ khóa: chitin, carotenoid, vỏ tôm, enzyme protease, nội tạng cá, hexan

1. Đặt vấn đề

Vỏ tôm là nguồn phế liệu chế biến thủy sản với trữ lượng lớn ở nước ta. Trong vỏ tôm chứa chitin liên kết rất chặt chẽ với protein, lipid và các chất khoáng tạo thành hệ rắn. Việc thu nhận chitin từ nguồn nguyên liệu này được xây dựng trên căn bản là đưa protein và các chất khoáng về trạng thái hòa tan, và từ đó loại bỏ chúng ra khỏi chitin. Để sản xuất chitin đạt các tiêu chuẩn chất lượng quốc tế cần loại bỏ hoàn toàn protein và khoáng chất, cũng như lipid [5].

Các hướng sử dụng chitin và dẫn xuất từ chitin trong những năm gần đây không ngừng được mở rộng dẫn tới cần tìm kiếm và thử nghiệm các phương pháp mới để sản xuất các polymer sinh học quý giá này [1,2]. Một vấn đề có tính thời sự còn tồn tại là nghiên cứu một phương pháp xử lý nguyên liệu vỏ tôm hợp lý nhằm thu hồi chitin và toàn bộ các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học có trong nó để sử dụng vào các mục đích khác nhau như thực phẩm, y dược,...

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

Vỏ tôm sú - tiger shrimp (*Penaeus monodon Fabricius*), vỏ tôm thẻ chân trắng - White Shrimp - (*Penaeus vannamei*) và hỗn hợp nội tạng cá nục sò (*Decapтерus maruadsi*), cá nục dài (*Decapтерus lajang Bleeker*) được thu gom từ công ty cổ phần XNK Thủy sản Miền trung: Công ty chế biến và xuất khẩu thủy sản Thọ Quang - TP Đà Nẵng.

Vỏ tôm sau khi thu nhận từ nhà máy chế biến thủy sản được sấy cho khô ròn ở nhiệt độ 40°C rồi nghiền nhỏ và bảo quản làm nguồn nguyên liệu thu nhận chitin, và sau đó từ chitin thu nhận chitosan. Các thí nghiệm được tiến

Abstract: Nowadays, untreated shell shrimps and fish viscera reasonably are able to become the main sources leading to the environmental pollution in the fishery factories. This report describes the results of the investigation into the chemical components from shells of giant tiger shrimps (*Penaeus monodon*) and shells of white leg shrimps (*Penaeus vannamei*) collected from Danang City, Vietnam. Based on the properties of the chemical components from shrimp's shells, we extracted two natural compounds having bioactivities, including carotenoid which can be used for food products and chitin containing minerals and protein that are lower than 0.5% for each. The applications of protease extracted from fish viscera can reduce more than 75% protein from shrimp's shells in the manufacturing chitin; besides it can decrease the amount of used stock acids compared with the traditional methods.

Key words: Chitin, carotenoid, shell shrimp, protease, fish viscera

hành trên hỗn hợp hai loại vỏ tôm sú và tôm thẻ chân trắng.

Nội tạng cá được bảo quản ở -20°C để thu nhận chế phẩm enzyme protease do cá nục sò (*Decapтерus maruadsi*) và cá nục dài (*Decapтерus lajang Bleeker*) có nguồn thức ăn chủ yếu là các loài động vật: chân chèo (*Copepoda*), có vỏ (*Ostracoda*), lưỡng túc (*Amphipoda*) [3] nên trong nội tạng của chúng chứa nhiều enzyme nhóm protease để phân giải thức ăn giàu protein. Tạo điều kiện cho việc tách chiết chế phẩm enzyme protease với hoạt tính protease cao.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Thu nhận chế phẩm enzyme protease từ nội tạng cá

Hỗn hợp nội tạng cá sau khi giá đông ở nhiệt độ phòng đến nhiệt độ -1 ÷ 0°C được xay nhỏ bằng máy xay thịt với kích thước 1-3 mm, phối trộn với nước cất theo tỉ lệ 1:0,5 (w nội tạng: w nước). Cho dung dịch HCl đậm đặc vào hỗn hợp để điều chỉnh pH lấy điểm tối ưu pH = 1,5- 2. Hỗn hợp được lên men trong tủ ấm ở nhiệt độ 40-50°C trong 40-60 phút để thực hiện quá trình lên men, thực hiện khuấy đảo mỗi 5 phút. Sau quá trình lên men, hỗn hợp được ly tâm với vận tốc 5000 vòng/phút trong 15 phút. Sau đó tách phần cặn, lọc để thu được dịch enzyme. Dịch enzyme thô sau khi xác định hoạt độ bằng phương pháp Anson cải tiến được bảo quản ở 5°C sử dụng để thủy phân loại bỏ protein trong vỏ tôm.

2.2.2. Tách chiết chất màu carotenoid từ vỏ tôm

Tách chiết chất màu carotenoid bằng phương pháp phối trộn hỗn hợp vỏ tôm nghiền nhỏ với cồn 96 độ ở nhiệt độ 60-70°C với tỉ lệ 1:2 và 1:3 (nguyên liệu: cồn), sau đó hỗn hợp được đặt trong nồi chân không 1 ÷ 2 giờ để tiến hành phản ứng tách chiết hỗn hợp lipid-carotenoid

ra khỏi nguyên liệu. Để loại bỏ nước và thu được chất màu carotenoid tan trong lipid cần phối trộn hỗn hợp lipid-carotenoid với hexan. Sau đó, để loại bỏ hexan đã tiến hành trong nồi chân không ở nhiệt độ 60-70°C.

2.2.3. Khử chất khoáng trong vỏ tôm sau khi tẩy màu

Quá trình khử khoáng vỏ tôm sau khi tẩy màu thực hiện bằng cách nhào trộn với nước với tỷ lệ 1:8 – 1:10 và axit HCl đậm đặc, hàm lượng axit HCl theo tính toán là 4% thể tích phản ứng. Quá trình khử khoáng được tiến hành ở nhiệt độ phòng và liên tục khuấy đảo hỗn hợp phản ứng. Axit HCl được cho dần dần vào bằng từng lượng nhỏ để tránh sự tạo thành nhiều bọt làm giảm tốc độ phản ứng [4].

2.2.4. Nghiên cứu quá trình thủy phân protein trong vỏ đầu tôm bằng chế phẩm enzyme protease, thu nhận từ nội tạng cá.

Tiến hành khảo sát sự phụ thuộc của mức độ thủy phân protein trong vỏ tôm vào nồng độ chế phẩm enzyme protease. Từ đó xác định nồng độ protease tối ưu để khử protein trong vỏ tôm. Mức độ thủy phân protein được tính

bằng tỉ lệ % khối lượng protein mất đi so với lượng protein trước thủy phân.

2.2.5. Các phương pháp phân tích khác:

Hàm lượng khoáng được phân tích theo chuẩn của AOAC (1990); Hàm lượng lipid (%), hàm lượng nước (%), hàm lượng protein được xác định theo GOST 7636-85 (LB Nga); Xác định hoạt độ enzyme trong nội tạng cá, và chế phẩm enzyme protease theo phương pháp Anson cải tiến; Phương pháp xác định N-formon theo Sorensen; Phương pháp xác định QMAFAM (CFU/g) theo GOST 10444.15 – 94 (LB Nga)

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Thành phần hóa học của nguyên liệu vỏ tôm ở thành phố Đà Nẵng

Phân tích thành phần hóa học của vỏ tôm sau khi được sấy khô ở nhiệt độ 40°C nhận thấy hàm lượng chitin từ 33-35% tổng khối lượng vỏ tôm khô, với trữ lượng vỏ tôm dồi dào như ở Đà Nẵng hàng năm có thể thu hồi sản phẩm chitin với khối lượng lớn (Bảng 1).

Bảng 1. Thành phần hóa học của nguyên liệu vỏ tôm

STT	Loại nguyên liệu	Thành phần hóa học, %				
		Protein	Lipid	Chất khoáng	Chitin	Nước
1	Vỏ tôm sú	14±1,3	1,5±0,2	37±1,9	33±1,2	14,5±1,9
2	Vỏ tôm thẻ chân trắng	12±1,2	0,4±0,1	40±2,1	35±2,5	12,6±1,7
3	Hỗn hợp vỏ tôm sú và vỏ tôm thẻ chân trắng	13±1,6	0,95±0,5	38,5±2,4	39,5±1,6	8,05±1,5

Bên cạnh đó hàm lượng protein là 12-14%, hàm lượng chất khoáng cao 37-40% tổng khối lượng nguyên liệu vỏ tôm, là những trở ngại khi hướng tới sản xuất chitin.

Hàm lượng lipid trong hỗn hợp vỏ tôm sú và vỏ tôm thẻ chân trắng gần 1%, các lipid liên kết chặt chẽ chất màu đặc trưng của vỏ tôm là carotenoid. Mặc dù carotenoid có thể gây ảnh hưởng đến chất lượng chitin về tính cảm quan, nhưng chúng ta có thể thu hồi và tận dụng chất màu này để ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm [4].

3.2. Kết quả xác định hoạt độ của chế phẩm enzyme protease tách chiết từ nội tạng cá.

Chế phẩm enzyme protease thu nhận từ nguyên liệu nội tạng cá có một số đặc điểm về chỉ tiêu chất lượng trình bày trong bảng 2, so sánh chỉ tiêu hoạt độ và lượng vi sinh vật tổng số của chế phẩm enzyme với quy chuẩn của SanPin 2.3.2.1078-01 (LB Nga) nhận thấy chế phẩm enzyme protease này có thể ứng dụng trong sản xuất thực phẩm.

Chế phẩm enzyme protease được bảo quản ở nhiệt độ 4-5°C để phục vụ nghiên cứu quá trình khử protein trong vỏ tôm bằng phản ứng thủy phân.

Bảng 2. Một số chỉ tiêu chất lượng của chế phẩm protease thu nhận từ nội tạng cá

Chỉ tiêu đánh giá	Chế phẩm enzyme protease
Độ đồng nhất của dung dịch	Độ đồng nhất cao
Màu sắc	Màu vàng tới nâu
Mùi vị	Mùi vị đặc trưng của các sản phẩm từ cá
pH	2 ÷ 2,5
Khối lượng riêng, g/ml	1,15
Hoạt độ, kat	2,1
QMAFAM, CFU/g	1,3x10 ⁴

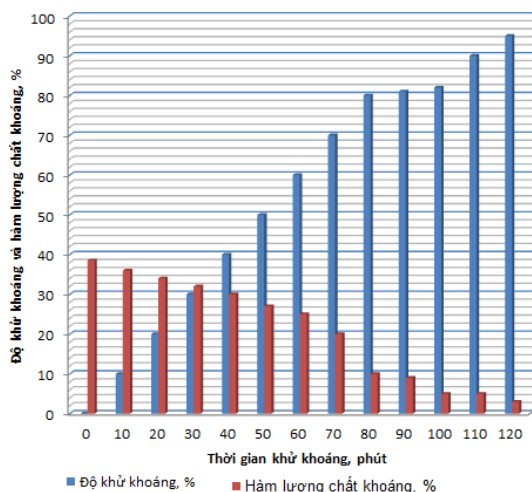
3.3. Kết quả nghiên cứu phương pháp xử lý nguyên liệu vỏ tôm nhằm khử khoáng chất và thu hồi chất màu carotenoid

Trong vỏ tôm hàm lượng lipid chiếm 0,4-1,5% liên kết chặt chẽ với carotenoid. Hiện nay nhiều nghiên cứu đã chứng minh carotenoid của vỏ tôm là chất màu có thể dùng trong công nghiệp chế biến thực phẩm vai trò chống oxy hóa và trong chuyên hóa vitamin A [6].

Thử nghiệm tách chiết chất màu tự nhiên carotenoid trong đạt được hiệu suất tách chiết là 0,3-0,32% khối lượng khô của hỗn hợp vỏ tôm. Chất màu tự nhiên này sẽ được nghiên cứu và định hướng sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo. Vỏ tôm sau khi tẩy màu được sấy khô để loại bỏ còn và được bảo quản làm nguyên liệu thu nhận chitin.

Kết quả quá trình khử khoáng trong 140 phút được trình bày trên đồ thị hình 1.

Bằng phương pháp thống kê dữ liệu chúng tôi đã xác định được thời gian tối ưu cho quá trình khử khoáng là 1,8 – 2 giờ. Hàm lượng chất khoáng còn lại trong nguyên liệu sau quá trình khử khoáng là 2,0 đến 3,2% (theo khối lượng chất khô), chưa đạt tiêu chuẩn chất lượng chitin, nguyên nhân là một phần các chất khoáng vẫn còn sót lại trong nguyên liệu vỏ tôm, do chúng nằm ở những vị trí không có khả năng tiếp xúc với axit.



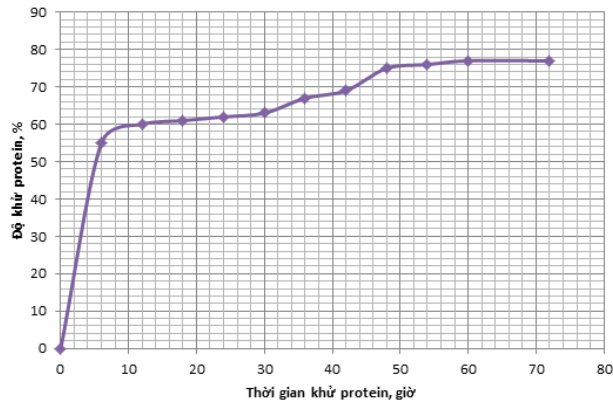
Hình 1. Ảnh hưởng của thời gian lên độ khử khoáng và hàm lượng chất khoáng còn lại trong vỏ tôm

3.4. Kết quả nghiên cứu phản ứng thủy phân protein trong nguyên liệu vỏ tôm bằng chế phẩm enzyme protease

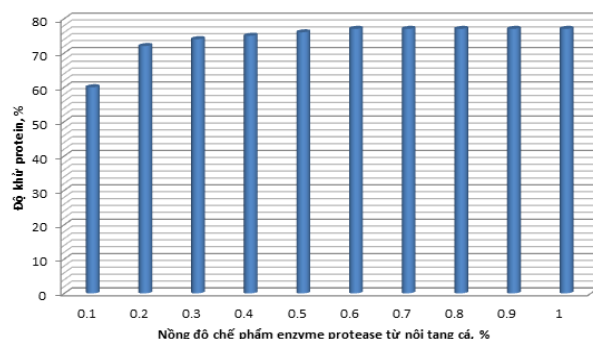
Nhằm giảm thiểu lượng hóa chất dùng trong các phản ứng hóa học ứng dụng trong thu nhận chitin theo phương pháp hóa học, chúng tôi đã tiến hành các thí nghiệm ứng dụng chế phẩm enzyme protease tách chiết từ nội tạng cá để thực hiện phản ứng thủy phân protein trong nguyên liệu vỏ tôm sau loại bỏ khoáng. Sau quá trình khử khoáng chúng tôi đã thực hiện điều chỉnh pH hỗn hợp phản ứng về pH = 2-2,5 bằng cách cho thêm nước vào hỗn hợp, nhằm tạo điều kiện cho chế phẩm enzyme protease từ nội tạng cá hoạt động. Sau đó cho vào hỗn hợp phản ứng một

lượng chế phẩm enzyme pha loãng tương ứng với tỷ lệ 1:4 về thể tích. Quá trình thủy phân protein được tiến hành ở nhiệt độ 40°C trong 72 giờ. Kết quả xác định độ khử protein được trình bày trên đồ thị hình 2.

Phân tích kết quả của quá trình thủy phân trên hình 2 cho thấy, chế phẩm enzyme protease hoạt động tốt ở môi trường phản ứng có pH 2-2,5. Độ khử protein sau 48 giờ xảy ra phản ứng thủy phân đạt 75 - 80%. Bên cạnh đó quá trình phản ứng enzyme trong môi trường pH 2 – 2,5 có khả năng làm giảm hàm lượng chất khoáng trong chitin xuống 0,3-0,4%, như vậy không cần tiến hành khử khoáng lần hai như công nghệ ứng dụng phương pháp hóa học, giảm được một lượng hóa chất HCl đáng kể.



Hình 2. Sự phụ thuộc độ khử protein trong nguyên liệu vỏ tôm vào thời gian.



Hình 3. Sự phụ thuộc của độ khử protein vào nồng độ chế phẩm enzyme protease từ nội tạng cá

Trên hình 3 là kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm enzyme protease lên độ khử protein trong nguyên liệu vỏ tôm sau khi tẩy màu và khử khoáng trong 72 giờ ở nhiệt độ 40°C

Từ đồ thị đã xác định được nồng độ chế phẩm enzyme tối ưu để thực hiện quá trình thủy phân là 0,45 – 0,5 % tính theo khối lượng hỗn hợp phản ứng.

3.5. Kết quả đánh giá chất lượng chitin được thu nhận bằng phương pháp ứng dụng enzyme protease từ nội tạng cá

Để đánh giá chất lượng chitin chúng tôi dùng phương pháp đánh giá cảm quan và xác định thành phần hóa học của chitin thành phẩm. Kết quả xác định được trình bày trong bảng 3

Bảng 3. Một số chỉ tiêu chất lượng của chitin sản xuất bằng phương pháp ứng dụng enzyme protease từ nội tạng cá

Chỉ tiêu	Kết quả
Màu sắc	Màu trắng
Hàm lượng nước, %	7,8-8,0
Hàm lượng protein, %	0,4-0,6
Hàm lượng chất khoáng, %	0,3-0,4
QMAFAM, CFU/g	$3,3 \times 10^2$

Chitin thu được có màu trắng tự nhiên, hàm lượng nước 7,8-8,0%, hàm lượng protein 0,4-0,6% và hàm lượng chất khoáng chiếm 0,3-0,4%. Đánh giá độ an toàn thông qua chỉ tiêu vi sinh vật tổng số (QMAFAM, CFU/g) là phù hợp với yêu cầu chất lượng tiêu chuẩn chitin quốc tế SanPin 2.3.2.1078-01 (của LB Nga)

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này chúng tôi đã khảo sát thành phần hóa học của vỏ tôm sú và tôm thẻ chân trắng trên địa bàn thành phố Đà Nẵng. Từ đặc điểm thành phần hóa học của vỏ tôm chúng tôi đã nghiên cứu tách chiết được hai hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học là chitin và chất

màu carotenoid. Các nghiên cứu cũng chứng minh khi ứng dụng chế phẩm enzyme protease tách chiết từ nội tạng cá vào quá trình khử protein ngoài thu được sản phẩm chitin có chất lượng bảo đảm còn hạn chế được một lượng hóa chất đáng kể, có thể góp phần cải tiến công nghệ sản xuất chitin và giảm thiểu ô nhiễm môi trường.

Tài liệu tham khảo

- [1] Hans Henric Huss (1988) Fresh fish – quality and quality changes, Rome, Italia
- [2] Mat B. Zakaria, Wan Mohamed Wan Muda (1995) Chitin and chitosan: The Versatile Environmentally Friendly Modern Materials, Bangi, Malaysia
- [3] Nguyễn Nhật Thi (1991) Cá biển Việt Nam, NXB Khoa học và kỹ thuật
- [4] Утеушев Р.Р (2006) Разработка технологии комплексной переработки панцирьсодержащего сырья из ракообразных волго-каспийского региона, ВНИРО, Москва
- [5] Маслова Г.В. (2010), Теоретические аспекты и технология получения хитина электрохимическим способом, РЫБПРОМ 2.2010, Москва
- [6] Лебская Т.К. (2000) Биологически активные вещества гидрабионтов как источники лечебного и профилактического питания, ПИНРО им. Н.М. Книповича, г. Мурманск

(BBT nhận bài: 13/12/2013, phản biện xong: 21/12/2013)