

NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SỬ DỤNG HIỆU QUẢ NGUỒN PHÉ LIỆU TÔM

Trần Cảnh Đình¹, Nguyễn La Anh²

TÓM TẮT

Phế liệu vỏ tôm là nguồn lợi có nhiều giá trị hữu dụng và sản lượng rất lớn ở các nhà máy chế biến thủy sản nước ta. Việc sử dụng phế này hiện nay chưa triệt để, thường sản xuất chỉ lấy sản phẩm mục tiêu mà bỏ phí các sản phẩm phụ; như sản xuất kitin, chitosan bỏ phí lượng protein, khoáng... Trên cơ sở nghiên cứu, thử nghiệm sản xuất bằng các phương pháp hóa học, sinh học đã nghiên cứu tận dụng triệt để, hiệu quả các giá trị của phế liệu tôm: protein và các khoáng chất sản xuất dịch hương tôm, bã thải sản xuất kitin, chitosan và sản phẩm cuối cùng là glucosamin. Các sản phẩm hữu ích tạo ra đạt yêu cầu chất lượng và giảm thiểu sự tác động gây ô nhiễm môi trường. Quy trình công nghệ được trình bày chi tiết có khả năng áp dụng vào thực tế sản xuất.

Từ khóa: *Glucosamin, vỏ tôm.*

1. MỞ ĐẦU

Phế liệu vỏ tôm là nguồn lợi rất lớn ở các nhà máy chế biến thủy sản nước ta. Hiện nay đã có nhiều cơ sở tận dụng chúng để sản xuất kitin, chitosan hay glucosamin. Tuy nhiên, công nghệ sử dụng chủ yếu là phương pháp hóa học, gây ô nhiễm môi trường và đặc biệt là đã loại bỏ hoàn toàn lượng protein rất có giá trị trong vỏ tôm. Protein vỏ tôm có thể được chiết rút, cô đặc tạo ra sản phẩm dịch hương tôm (hay bột hương tôm) phục vụ cho việc sản xuất các sản phẩm mô phỏng giả tôm, mỳ tôm. Phần bã sau chiết rút vẫn có thể sản xuất kitin, chitosan hay glucosamin.

Đề tài: "*Nghiên cứu ứng dụng sản xuất thử nghiệm chondroitin và glucosamin từ nguyên liệu thủy sản*" đã nghiên cứu bằng các phương pháp hóa học, sinh học để tận dụng triệt để nguồn lợi phế liệu tôm sản xuất ra các sản phẩm dịch hương tôm, kitin, chitosan và glucosamin. Phân tích đánh giá chất lượng sản phẩm, hiệu quả kinh tế cũng như tác động môi trường của công nghệ. Trong bài viết này không trình bày chi tiết kết quả nghiên cứu của từng công đoạn của quá trình như thủy phân, tinh chế hay sàng lọc lựa chọn các chủng giống vi sinh vật (38 chủng xạ khuẩn, 34

¹ Viện Nghiên cứu Hải sản

² Viện Công nghiệp Thực phẩm Sinh học

chủng nấm mốc thuộc bộ sưu tập giống Viện Công nghiệp Thực phẩm và Đại học Bách khoa, 4 enzym thương mại) có khả năng sinh enzym thủy phân kitin, chitosan, ... mà chỉ giới thiệu quy trình công nghệ tổng hợp sử dụng hiệu quả nguồn phế liệu tôm và kết quả đánh giá chất lượng các sản phẩm tạo ra để người đọc có thể áp dụng hiệu quả vào thực tế sản xuất.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

- Phế liệu vỏ tôm: Thu mua tại nhà máy đông lạnh.
- Kitin và chitosan một số được mua trên thị trường để làm đối chứng.
- Hóa chất: trấu, cám gạo, glucoza, aga...: Việt Nam; glucozamin chuẩn: Mỹ; pepton, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaCl, KCl, CaCl_2 : Trung Quốc.

- Enzym thương mại: Enzym termamyl, oerflo, neutraza, xelulaza của Hãng Novo có sẵn trên thị trường.

- Các chủng vi sinh vật:

Chúng giống sử dụng trong quá trình nghiên cứu bao gồm các chủng vi khuẩn, xạ khuẩn và nấm mốc.

Các chủng vi khuẩn *Bacillus* thuộc bộ sưu tập giống Viện Công nghiệp Thực phẩm không có khả năng sinh tổng hợp enzym chitosanaza.

Các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* trong bộ sưu tập giống của Viện Công nghiệp Thực phẩm.

Các chủng nấm mốc thuộc bộ sưu tập giống Viện Công nghiệp Thực phẩm và Đại học Bách khoa Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu sản xuất dịch hương tôm: Sử dụng các enzym proteaza thương mại để thủy phân, cô chân không tạo độ đặc sánh và giữ được hương,...

2.2.2. Nghiên cứu sản xuất glucozamin bằng phương pháp hóa học: Sử dụng axit HCl để thủy phân

- Tổng hợp kết quả nghiên cứu của các tác giả đi trước qua các tài liệu đã công bố gần nhất. Phân tích đánh giá đưa ra hướng nghiên cứu tiếp theo phù hợp.

- Thực nghiệm theo kết quả của các tác giả đi trước ở công đoạn thủy phân để xác định chế độ thủy phân phù hợp với nguyên liệu.

- Công đoạn tinh chế nghiên cứu chế độ tủa bằng cồn ở các nồng độ cồn khác nhau, tẩy màu bằng than hoạt tính với các thông số: tỷ lệ than/nguyên liệu = 0,1, 0,3 và 0,5%, nhiệt độ và thời gian phản ứng 50, 60 và 70°C; 5, 10 và 15 phút.

- Trên cơ sở quy trình hoàn chỉnh thử nghiệm sản xuất với các nguyên liệu khác nhau: kitin vỏ cua ghe, kitin sản xuất bằng phương pháp thủy phân tận dụng protein và kitin, chitosan mua trên thị trường.

2.2.3. Nghiên cứu sản xuất glucosamin bằng phương pháp sinh học

Tiến hành khảo sát 38 chủng xạ khuẩn và 34 chủng nấm mốc thuộc bộ sưu tập chủng nhằm tăng sinh khối và kiểm tra độ tinh sạch của chủng giống. Chủng giống được giống Viện Công nghiệp Thực phẩm và Đại học Bách khoa Hà Nội.

Hoạt hoá giống: Chủng nấm mốc và xạ khuẩn được hoạt hoá từ ống giống bảo quản trên cát trên môi trường đĩa PDA (nấm mốc) và môi trường YS (xạ khuẩn). Việc hoạt hóa nuôi ở 28°C (nấm mốc) và 30°C với xạ khuẩn trong 48 giờ.

Kiểm tra hoạt tính: Khi giống phát triển trên môi trường PDA (nấm mốc) và YS (xạ khuẩn) tạo thành các khuẩn lạc riêng rẽ, thực hiện kiểm tra hoạt tính của một số khuẩn lạc đặc trưng. Kiểm tra hoạt tính của các khuẩn lạc này bằng cách cấy chấm điểm trên môi trường MS-chitosan (nấm mốc, xạ khuẩn) và đo vòng hoạt tính sau 36 giờ ở nhiệt độ 28°C. Chọn khuẩn lạc có vòng hoạt tính lớn để tiến hành giữ giống trên ống thạch nghiêng PDA (nấm mốc) và YS (xạ khuẩn) để lên men và bảo quản lại trên cát.

Khảo sát các chế phẩm enzym có khả năng thủy phân chitosan: Sử dụng các enzym có sẵn trên thị trường như: Termalyl, cereflo, neutraza, xelulaza và tiến hành khảo sát khả năng thủy phân chitosan tạo thành kito-oligosacarit và glucozamin của các enzym này.

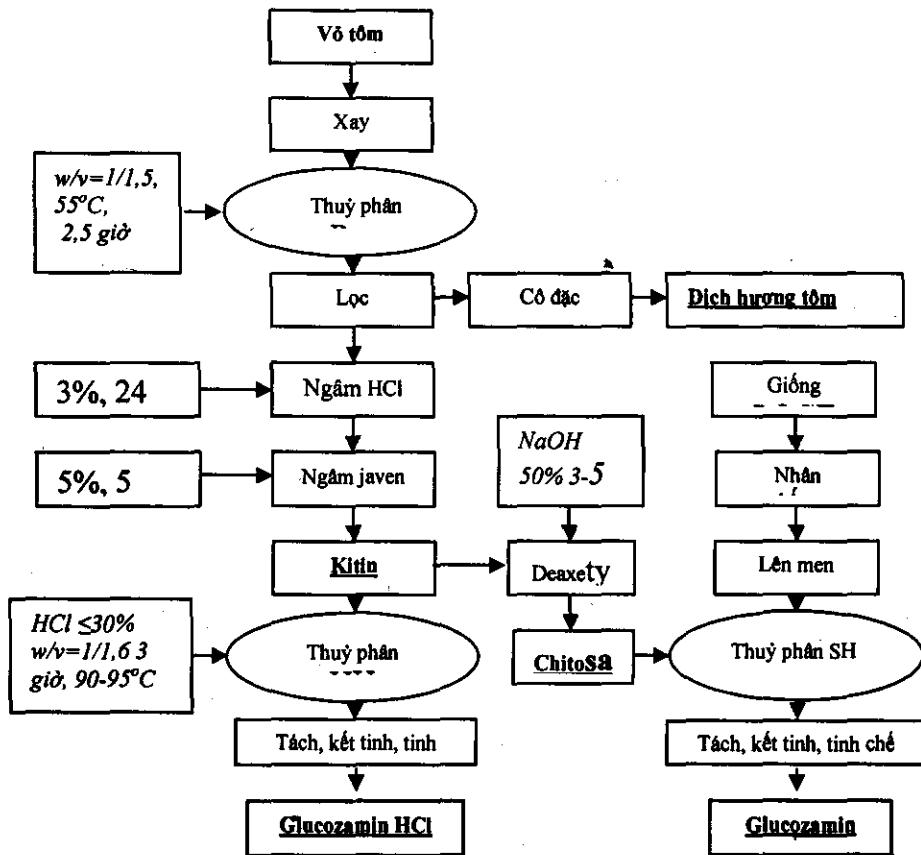
Kiểm tra hoạt tính bằng định tính trên môi trường MS-chitosan và bằng phương pháp định lượng hoạt độ enzym.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Do kết quả nghiên cứu của đề tài có khá nhiều nội dung; nghiên cứu tỉ mỉ từng công đoạn của các quá trình công nghệ từ việc xử lý nguyên liệu vỏ tôm, lựa chọn enzym thủy phân thích hợp, phối chế tạo ra sản phẩm dịch hương tôm, tinh chế sản phẩm glucozamin đạt tiêu chuẩn dược dụng, ... đặc biệt là nghiên cứu sàng lọc các chủng giống vi sinh vật có khả năng sinh enzym chitosanaza để thủy phân kitin, chitosan thành glucozamin,

nghiên cứu lựa chọn các enzym thương mại có khả năng thủy phân kitin, chitosan, ...nên trong khuôn khổ của bài viết này chỉ đưa ra kết quả cuối cùng là quy trình công nghệ tổng hợp tận dụng hiệu quả nguồn phế liệu tôm và các phân tích đánh giá chất lượng các sản phẩm tạo ra từ công nghệ này để người đọc có cái nhìn tổng quát và công nghệ để được áp dụng vào thực tế sản xuất.

3.1. Sơ đồ quy trình công nghệ



3.2. Giải thích quy trình

3.2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu đầu, vỏ tôm được thu tại phân xưởng chế biến thủy sản đông lạnh. Hoặc có thể sử dụng tôm dạt, tôm gai bán trên thị trường.

Nguyên liệu phải được bảo quản lạnh đúng cách, hợp vệ sinh đảm bảo yêu cầu nguyên liệu đưa vào sản xuất phải tươi, không có mùi lạ, không bị biến đổi, đen, không lẫn tạp chất.

3.2.2. Xay nghiền

- Nguyên liệu thu mua về phải được phân loại theo chủng loại tôm (tôm sắt, tôm rảo, tôm sú,...), theo vỏ thân, vỏ đầu riêng; rửa sạch, để ráo.

- Chuẩn bị máy xay và vệ sinh sạch sẽ trước khi đưa nguyên liệu vào xay. Máy xay đùn trục vít có đường kính mắt sàng 5 mm. Điều kiện nhiệt độ nguyên liệu sau khi xay không vượt quá 5°C để không ảnh hưởng tới chất lượng nguyên liệu.

3.2.3. Thủy phân

Chuẩn bị nồi thủy phân, điều chỉnh đặt nhiệt độ thủy phân 50°C.

Đầu tôm xay sau khi đã diệt men xong, để nguội đến nhiệt độ 50°C bổ sung nước tỷ lệ 1/1; enzym neutraza tỷ lệ E/S:1,5/100. Khuấy đều rồi đưa vào nồi thủy phân ở 50°C, thời gian: 120 phút.

Trong trường hợp sản xuất dịch hương tôm cần phải qua bước diệt men trước khi thủy phân vì trong đầu tôm có nhiều enzym nội tại có khả năng thủy phân protein nên phải diệt men trước khi thủy phân để tránh quá trình thủy phân tạo ra các chất không mong muốn. Điều kiện diệt men là đun sôi 5 phút.

Sau khi kết thúc quá trình thủy phân nâng nhiệt lên 90°C, duy trì ở nhiệt độ này 10 phút, enzym neutraza sẽ bị bất hoạt, dừng quá trình thủy phân.

3.2.4. Lọc - Chiết rút dịch riêng, bã riêng

Sử dụng lưới lọc có đường kính mắt lưới 0,25 mm (60 mesh) để lọc. Sau khi lọc lần 1 bổ sung dung dịch nước muối sinh lý (*nước muối* được pha chế với tỷ lệ 0,9%, tức, 1 lít *nước* với 9 gam *muối ăn NaCl* tinh khiết) để chiết lần 2, tỷ lệ dd/nl:1/3, ngâm 2-4 phút → lọc → lặp lại lần 3 như lần 2.

3.2.5. Dịch - Cô đặc tạo ra sản phẩm dịch hương tôm

Dung dịch lọc các lần chiết được trộn chung vào để cô (hoặc có thể dùng nước lọc lần 2, lần 3 để trộn với tôm xay của mẻ sau). Cô đặc với chế độ: Nhiệt độ: 70±5°C, thời gian: 120 phút, phụ gia bổ sung và tỷ lệ là glucoza 10%, dextrin 30% và muối ăn NaCl 11% so với nguyên liệu. Cô đến khi độ đặc của sản phẩm đạt 60 ± 2°brix là được (đo độ brix bằng máy chiết quang kế Milwaukee - MR80).

3.2.6. Bã - Ngâm HCl để khử khoáng làm kitin, chitosan

Bã sau khi lọc chiết hết dịch hương tôm đem ngâm trong dung dịch HCl nồng độ 3%, tỷ lệ lượng bã / thể tích dung dịch là 1/1,5, giữ ở nhiệt độ phòng 24 giờ.

3.2.7. Ngâm javen - Tẩy màu

Bã thủy phân sau khi ngâm khử khoáng kết thúc được rửa sạch đến trung tính bằng nước sạch (Chú ý: do bã thủy phân rất nhỏ cần phải có lưới lọc mịn để tránh thất thoát) vắt khô nước đưa vào ngâm javen để tẩy màu; nồng độ javen 5%, nhiệt độ phòng, thời gian 5 giờ.

3.2.8. Kitin

Sau khi ngâm javen tẩy màu lại được rửa sạch đến trung tính bằng nước sạch, sau đó vắt (hay ly tâm) ráo nước rồi đưa vào sấy nhiệt độ 70°C đến khi khô hoàn toàn, độ ẩm đạt khoảng 10% ta được kitin màu trắng đến trắng ngà.

3.2.9. Deaxetyl tạo chitosan

Kitin đưa vào môi trường NaOH đặc 50%, nhiệt độ 95-100°C, 3-5 giờ để cắt mạch loại bỏ gốc axetyl. Dùng dung dịch axit axetic 1% thử đến khi cho mảnh vỏ tôm vào tan hoàn toàn, tạo thành một dung dịch keo, nhớt là deaxetyl đạt yêu cầu. Kết thúc quá trình deaxetyl đưa ra rửa sạch kiểm, sấy khô được sản phẩm là chitosan.

Từ kitin, chitosan tiến hành sản xuất glucozamin theo các hướng hóa học hay sinh học như các quy trình riêng rẽ trên để tạo ra glucozamin hay glucozamin HCl.

K1. Sản xuất glucozamin hydroclorit

K1.1. Thủy phân: Đây là khâu quan trọng quyết định tới hiệu suất và chất lượng sản phẩm. Chế độ thủy phân như sau: Sử dụng HCl $\geq 30\%$, w/v=1/1,6, 90 - 95°C, 3 - 4 giờ.

K1.2. Kết tủa: Dịch sau khi thủy phân, để nguội, rồi dùng cồn 96° tủa, tỷ lệ cồn/dịch = 3/1, nhiệt độ phòng. Tủa xong ly tâm hoặc lọc lấy tủa, rửa lại tủa bằng cồn 96°.

K1.3. Tẩy màu: Tẩy màu bằng than hoạt tính. Cách tiến hành: hoà tan kết tủa thu được trong nước cất tỷ lệ 1 g/10 ml, thêm than hoạt tính, tỷ lệ than/nguyên liệu là 0,2%, nâng nhiệt độ lên 60°C, giữ thời gian 10 phút, lọc chân không, phễu thủy tinh xấp số 4.

K1.4. Cô đặc: Cô dung dịch ở 60°C đến khi dung dịch đạt 55 °brix, hoặc thấy bề mặt xuất hiện từng mảng tủa.

K1.5. Kết tinh: Hạ nhiệt độ khối dịch xuống 0-2°C giữ 1 giờ.

K1.6. Sấy khô: Sấy khô ở nhiệt độ 70°C.

K1.7. Bao gói bảo quản: Bao gói trong túi (thùng, hộp) kín, tránh ánh sáng, bảo quản nơi khô mát.

K2. Sản xuất glucozamin.

K2.1. Nhân giống và lên men

- Chủng giống *Penicillium oxalicum* Currie and Thom (POCT) từ bộ sưu tập giống của Đại học Bách khoa Hà Nội.

- Nhiệt độ nuôi cấy: 30°C.

- Tỷ lệ giống: 4,2.10⁸ bào tử/kg nguyên liệu khô.

Thời gian lên men: 96 giờ.

K2.2. Điều kiện trích ly enzyme và thủy phân

- Dung dịch đệm trích ly enzym: dung dịch đệm axetat 0,1 M, pH 4,5.

- Cơ chất bổ sung vào môi trường trích ly enzym: cơ chất chitosan qua tiền xử lý vật lý.

- Lượng cơ chất bổ sung: 4,4 g/l/1 lần bổ sung.

- Số lần bổ sung: 4 lần.

- Thời điểm bổ sung: 1 giờ, 3,5 giờ, 5 giờ, 7 giờ.

- Hàm lượng đường amin (glucozamin) : 20 - 22,11g/l.

- Hoạt độ enzym: 0,77 IU/ml – 0,81 IU/ml.

- Hiệu suất thu hồi: 99,08%.

- Thời gian trích ly enzym: 24 giờ.

3.3. Phân tích đánh giá chất lượng sản phẩm tạo ra

3.3.1. Phân tích chất lượng sản phẩm dịch hương tôm

Sản phẩm dịch hương tôm của đề tài và sản phẩm dịch hương tôm mẫu Hàn Quốc gửi đặt hàng được chúng tôi gửi Viện Công nghệ Sinh học – Phòng Hóa sinh Protein phân tích; kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Hàm lượng axit amin của sản phẩm dịch hương tôm

Stt	Axit amin	Dịch hương tôm VN (mẫu sp của đề tài) (%)	Dịch hương tôm HQ (mẫu của Hàn Quốc đưa sang) (%)
1	Aspartic axit	0,14	0,15
2	Glutamic	0,20	0,27
3	Serin	0,06	0,04
4	Histidin	0,01	0,01
5	Glyxin	0,07	0,06

6	Threonin	0,03	0,04
7	Alanin	0,15	0,13
8	Arginin	0,15	0,11
9	Tyroxin	0,08	0,03
10	Xystein + Xystin	0,02	0,03
11	Valin	0,10	0,10
12	Methionin	0,05	0,07
13	Phenylalanin	0,10	0,09
14	Isoleuxin	0,08	0,08
15	Leuxin	0,33	0,28
16	Lyxin	0,07	0,07
17	Prolin	0,04	0,04
	Tổng số	1,53	1,60

Kết luận: sản phẩm dịch hương tôm được sản xuất có chất lượng tương đương sản phẩm cùng loại của Hàn Quốc.

3.3.2. Phân tích chất lượng kitin, chitosan

Bảng 2. Chất lượng của sản phẩm kitin, chitosan

TT	Nguyên liệu	Chỉ tiêu chất lượng			
		Hàm ẩm (%)	Nitơ tổng số (%)	Tro (%)	Độ nhớt (°E)
1	Kitin	9,4 ÷ 9,75	5,65 ÷ 5,94	0,86 ÷ 0,92	-
2	Chitosan	9,5 ÷ 10,5	8,45 ÷ 8,54	0,68 ÷ 0,74	20,5 ÷ 22,4

3.3.3. Phân tích chất lượng glucozamin

Bảng 3. Chất lượng sản phẩm của đề tài

TT	Chỉ tiêu, yêu cầu theo USP 31	Kết quả
1	Định tính: Chế phẩm phải thể hiện các phép thử định tính của glucozamin hydroclorit	Đúng
2	pH: từ 3,0 đến 5,0	3,9 ÷ 4,2 Đạt
3	Góc quay cực riêng: từ +70° đến +73° (Đo trong vòng 30 phút sau khi pha dung dịch đo)	+82,3° ÷ +84,1°
4	Mất khối lượng do sấy khô: không được quá 1,0%	0,04 - 0,1 Đạt
5	Tro sunfat: Không được quá 0,1%	0,05 - 0,06 Đạt
6	Sunfat: Không được quá 0,24%	Đạt
7	Asen: Không được quá 3 µg/g	Đạt
8	Kim loại nặng: không được quá 0,001%	Đạt
9	Định lượng: Hàm lượng glucozamin hydroclorit trong chế phẩm phải đạt từ 98,0% đến 102,0% tính theo chế phẩm đã làm khô	98,3 - 100,4 Đạt

Sản phẩm glucosamin được gửi Viện Kiểm nghiệm Thuốc Trung ương phân tích đánh giá theo tiêu chuẩn dược điển Hoa Kỳ (USP 31); kết quả được trình bày trong bảng 3.

Kết luận:

- Đạt tiêu chuẩn USP 31 trừ góc quay cực riêng. Theo đăng ký của đề tài là đạt yêu cầu.

- Phân tích so sánh góc quay cực của sản phẩm đề tài so với sản phẩm của Hãng Sigma, ký hiệu sản phẩm: 4875-100G (giá 60 USD/100 gam) kết quả như sau: Góc quay cực +91° (Phiếu kiểm nghiệm số 41G 96 của Viện Kiểm nghiệm Thuốc Trung ương).

3.3.4. Đánh giá hiệu quả kinh tế

Trên cơ sở thực tế quá trình sản xuất thử nghiệm chúng tôi sơ bộ tính toán định mức tiêu hao nguyên liệu như sau:

Từ 1000 kg vỏ tôm tươi có thể sản xuất được 500 kg dịch hương tôm (có phối chế 30% phụ gia), hoặc 165 kg bột tôm thủy phân. Nếu sản xuất theo phương pháp sinh học được 59 – 61 kg kitin và 35-36 kg glucosamin HCl. Nếu sản xuất theo phương pháp hoá học được 70-71 kg kitin và 41- 42 kg glucosamin HCl.

4. KẾT LUẬN

- Quy trình công nghệ sử dụng nguồn phế liệu tôm đã tận dụng triệt để các giá trị của vỏ tôm, tiến hành sản xuất thử nghiệm cho sản phẩm đạt chất lượng, hiệu quả, hạn chế ô nhiễm môi trường.

- Quy trình đã đăng ký sở hữu “giải pháp hữu ích” và đã có 02 cơ sở xin tiếp nhận áp dụng, chuyển giao công nghệ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Cảnh Đình & ctv (2006). Nghiên cứu công nghệ sản xuất dịch hương tôm từ phế liệu đầu tôm phục vụ cho sản xuất các sản phẩm giá tôm, mì tôm. Báo cáo Khoa học. Viện Nghiên cứu Hải sản.

2. Trần Thái Hòa (2005). Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình deaxetyl và cắt mạch kitin để điều chế glucosamin. Tạp chí Khoa học - Đại học Huế. 27.

3. Trần Thị Luyến, Đỗ Minh Phụng & Nguyễn Anh Tuấn (2006). Sản xuất các chế phẩm kỹ thuật và y dược từ phế liệu thủy sản. NXB Nông nghiệp.

4. Makoto shimosaka, Masahiro Nogawa, Xui- Ying wang, Masanori and Mitsuo okasaki (1995). Production of two chitosanaza from a chitosan-Assimilating Bacterium, *Acinetobacter* sp. Strain CHB 101. *Applied and Enviromental microbiology*. pp 438-442.

TECHNOLOGY RESEARCH EFECTIVELY USE SHRIMP SCRAP

Tran Canh Dinh, Nguyen La Anh

Summary

On the basis of research, testing methods chemistry, biology, the authors forego the production of shrimp flavor, chitin, chitosan and glucosamine group of authors have given process technology using the power efficiency shrimp shell waste, all the value of shrimp shells are used to create useful products, reducing the environmental impact pollute the same. Technological processes are detailed in the ability to apply on actual production.

Keywords: *Glucosamine, chitin, chitosan, shrimp shell.*