

DOI:10.22144/ctu.jsi.2020.059

NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT GLUCOSAMINE HYDROCHLORUA TỪ VỎ TÔM SÚ (*Penaeus monodon*)

Lê Thị Minh Thủy* và Nguyễn Văn Thơm

Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm bài viết: Lê Thị Minh Thủy (email: ltmthuy@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 21/10/2019

Ngày nhận bài sửa: 25/02/2020

Ngày duyệt đăng: 23/04/2020

Title:

Study on glucosamine hydrochlorua extract from tiger shrimp (*Penaeus monodon*) shell

Từ khóa:

Chitin, extraction, glucosamine hydrochlorua, vỏ tôm sú

Keywords:

Black tiger shrimp shell, chitin, glucosamine hydrochlorua, chiết xuất

ABSTRACT

The research was conducted to investigate the effect of technological factors on glucosamine hydrochlorua quality extracted from black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) shell through demineralization and deproteinization process to obtain chitin. After that, the crude chitin was hydrolyzed by using HCl with various concentrations to produce glucosamine hydrochlorua. The results showed that demineralization by HCl 8% for 9 hours, the lowest mineral content was 0.89%. The protein content accounted for 6.43% by deproteinization in NaOH 10% for 16 hours. The recovery yield of glucosamine hydrochlorua was highest (57.30%) when HCl concentration of 12 M was used to convert chitin to glucosamine hydrochlorua. The FTIR spectrum analysis revealed that glucosamine hydrochlorua product was similar to commercial products. The final product dried at 50 °C for 10 hours had moisture content, the highest recovery yield and solubility of 3.93%, 60.83%, 84.0%, respectively.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến chất lượng sản phẩm glucosamine hydrochlorua từ vỏ tôm sú thông qua quá trình khử khoáng và khử protein để thu chitin. Chitin được tiến hành thủy phân bởi HCl với các nồng độ khác nhau để sản xuất glucosamine hydrochlorua. Kết quả thí nghiệm cho thấy khi khử khoáng với nồng độ HCl 8% trong 9 giờ, hàm lượng khoáng còn lại thấp nhất, chiếm 0,89 % và hàm lượng protein là 6,43 % khi sử dụng NaOH ở nồng độ 10% trong 16 giờ để khử protein. Chitin được chuyển thành glucosamine hydrochlorua bằng HCl 12 M cho hiệu suất thu hồi glucosamine hydrochlorua cao nhất là 57,30 %. Qua phân tích phổ FTIR cho thấy, sản phẩm glucosamine hydrochlorua thu được trong nghiên cứu này gần giống với sản phẩm thương mại. Sản phẩm được sấy ở nhiệt độ 50 °C trong 10 giờ có ẩm độ, hiệu suất thu hồi cao nhất và độ hòa tan lần lượt là 3,92, 60,83 và 84,0%.

Trích dẫn: Lê Thị Minh Thủy và Nguyễn Văn Thơm, 2020. Nghiên cứu chiết xuất glucosamine hydrochlorua từ vỏ tôm sú (*Penaeus monodon*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(Số chuyên đề: Thủy sản)(2): 231-239.

1 GIỚI THIỆU

Bên cạnh cá tra là mặt hàng thủy sản xuất khẩu chủ lực của Việt Nam, tôm cũng là đối tượng xuất khẩu chính và đóng vai trò quan trọng trong kim ngạch xuất khẩu của nước ta với tổng giá trị xuất khẩu đạt 3,1 tỉ USD, trong đó xuất khẩu tôm sú chiếm 20,6% và đạt 636 triệu USD trong 11 tháng đầu năm 2019 (VASEP, 2019)

Với mức sản xuất mặt hàng tôm ngày càng nhiều, lượng phế phẩm tạo ra rất lớn và chiếm khoảng 40 - 50%, chủ yếu là đầu và vỏ tôm (Xu *et al.*, 2008). Sản lượng phụ phẩm tôm thải ra hàng năm ở nước ta khoảng 325.000 tấn/năm, trong đó vỏ tôm chiếm 10 - 15% (Bộ Công Thương, 2019). Do đó, phụ phẩm từ ngành công nghiệp chế biến tôm, đặc biệt là vỏ tôm được xem là nguồn nguyên liệu tiềm năng để sản xuất ra các sản phẩm có giá trị kinh tế cao như astaxathin, chitin, chitosan và quan trọng hơn là hợp chất glucosamine. Glucosamine là một monosaccharit và là thành phần chủ yếu của chitin có trong vỏ của các loài giáp xác và côn trùng, nó được sử dụng rộng rãi và cho hiệu quả cao trong điều trị các bệnh về xương khớp (Haupt *et al.*, 1999), đồng thời glucosamine còn có khả năng chống viêm, kháng khuẩn và ngăn ngừa ung thư tốt (Nagaoka *et al.*, 2011) và không ảnh hưởng đến chuyển hóa glucose trong cơ thể (Anderson *et al.*, 2005) nên nhu cầu tiêu thụ chúng rất lớn (White and Stegemann, 2001). Vỏ giáp xác được xử lý bằng hóa chất hay enzyme để loại bỏ các thành phần liên kết chặt chẽ với chitin như protein, khoáng chất, lipid và sắc tố để sản xuất glucosamine (Percot *et al.* 2003). Chitin thô được thủy phân trong môi trường axit để chuyển chitin thành N-acetyl glucosamine tương thích nhằm thu được chitin có độ tinh khiết cao (Xu *et al.*, 2008). Nhiều loại phụ phẩm khác nhau đã được nghiên cứu để sản xuất glucosamine như vỏ tôm biển *Metapenaeus monoceros* (Mojarrad *et al.*, 2007), vỏ ghe xanh, vỏ cua, vỏ tôm sú (Sibi *et al.*, 2013; Cahyono1 *et al.*, 2014), vỏ tôm thẻ chân trắng (Wanichpongpan and Attasat, 2016). Tuy nhiên, các nghiên cứu về chiết xuất glucosamine từ nguồn vỏ tôm sú ban đầu chưa được nghiên cứu nhiều, hầu hết các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào quy trình sản xuất chitin hay chitosan. Vì vậy, nghiên cứu chiết xuất glucosamine hydrochlorua từ vỏ tôm sú bao gồm các quá trình khử khoáng, loại protein và thủy phân chitin đã được thực hiện nhằm mục đích lựa chọn phương pháp tối ưu nhất để tạo ra sản phẩm glucosamine hydrochlorua đạt chất lượng và hiệu suất cao.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Vỏ tôm sú được thu nhận từ Công Ty Cổ Phần Thủy Sản Minh Phú, khu công nghiệp Sông Hậu, tỉnh Hậu Giang. Nguyên liệu được chứa trong các thùng xốp cách nhiệt có sẵn nước đá để duy trì nhiệt độ khoảng 6 °C trong suốt quá trình vận chuyển về phòng thí nghiệm của Bộ môn Chế biến Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ. Nguyên liệu được loại bỏ phần thịt, chân tôm còn sót lại và rửa sạch, sau đó vỏ tôm sú được phơi ráo (độ ẩm khoảng 10%), cắt nhỏ và đóng gói trong túi PE với khối lượng mỗi túi là 50 g. Các túi PE chứa vỏ tôm sú đó được bảo quản ở nhiệt độ -20 °C cho đến khi tiến hành các thí nghiệm.

2.2 Hóa chất

Hóa chất sử dụng trong quá trình thí nghiệm: HCl, NaOH, ethanol và một số hóa chất khác có xuất xứ từ Trung Quốc.

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian ngâm vỏ tôm sú trong dung dịch HCl đến khả năng khử khoáng

Vỏ tôm sú sau khi được làm sạch và phơi ráo sẽ được khử khoáng bằng dung dịch HCl theo phương pháp của Benavente *et al.* (2015). Nồng độ dung dịch HCl 8% được chọn để bố trí thí nghiệm khử khoáng với 3 mốc thời gian khác nhau lần lượt là 9, 12 và 15 giờ. Khối lượng vỏ tôm sú ở mỗi nghiệm thức là 50 g, tỉ lệ vỏ tôm sú so với dung dịch HCl 8% (w/v) là 1: 10 ở nhiệt độ phòng. Kết thúc quá trình ngâm, vỏ tôm sú được rửa trung tính, dùng giấy đo pH để đo độ pH của vỏ tôm sú trong quá trình rửa. Sau đó, vỏ tôm sú phơi cho ráo đều và tiến hành phân tích chỉ tiêu hàm lượng khoáng còn lại. Thí nghiệm tiến hành thông qua một nhân tố (thời gian khử khoáng) với 3 lần lặp lại.

2.3.2 Nghiên cứu thời gian xử lý vỏ tôm sú trong dung dịch NaOH đến khả năng khử protein

Vỏ tôm sú đã loại khoáng ở thí nghiệm 1 được xử lý tiếp tục trong dung dịch NaOH (Benavente *et al.*, 2015) với nồng độ 10% ở 3 mốc thời gian khác nhau là 16, 24 và 36 giờ ở nhiệt độ phòng. Khối lượng mẫu mỗi nghiệm thức là 50 g, tỉ lệ vỏ tôm sú so với dung dịch NaOH 10% (w/v) là 1: 5. Sau đó, mẫu được rửa trung tính và kiểm tra hàm lượng protein còn lại trong nguyên liệu. Thí nghiệm khảo sát thông qua một nhân tố (thời gian khử protein) với 3 lần lặp lại.

2.3.3 Ảnh hưởng của nồng độ HCl đến khả năng thủy phân chitin thành glucosamine hydrochlorua

Chitin thu được thông qua các kết quả tối ưu thời gian khử khoáng và khử protein ở thí nghiệm 1 và 2 được sấy ở nhiệt độ 60°C trong 4 giờ và được tiến hành thủy phân theo phương pháp của Benavente *et al.* (2015) với một số điều chỉnh. Chitin thô (50 g) được xử lí bằng dung dịch HCl ở 2 nồng độ khác nhau lần lượt là 10 và 12 M trong thời gian 5 giờ, ở nhiệt độ 85 °C. Tỷ lệ chitin với dung dịch HCl là 1: 20, sử dụng máy khuấy từ để khuấy mẫu trong suốt quá trình thí nghiệm. Tiếp theo, hỗn hợp được đem lọc và thu dung dịch, thêm từ từ dung dịch ethanol 95° với tỉ lệ (w/v) là 1: 15 vào dung dịch lọc và lắc đều ở nhiệt độ thường. Ủ mẫu 15 ngày ở nhiệt độ 5°C để tạo thành kết tủa. Sau 15 ngày, kết tủa được lọc ra và rửa kết tủa bằng ethanol 95°. Kết thúc thí nghiệm này, chitin sẽ chuyển thành glucosamine hydrochlorua. Sấy mẫu ở 50°C trong 12 giờ để thu hồi glucosamine hydrochlorua, sản phẩm thu được sau khi sấy được xác định hiệu suất thu hồi và phân tích phổ FTIR và được so sánh với glucosamine thương mại. Thí nghiệm khảo sát thông qua một nhân tố (nồng độ HCl) với 3 lần lặp lại.

2.3.4 Nghiên cứu thời gian sấy thích hợp cho sản phẩm glucosamine có chất lượng cao nhất

Glucosamine hydrochlorua thu được từ thí nghiệm 3 được đem đi sấy ở 50°C trong 3 mốc thời gian khác nhau là 10, 12 và 14 giờ. Kết thúc quá trình sấy, mẫu được phân tích ẩm độ nhằm chọn ra thời gian sấy phù hợp để ẩm độ sản phẩm <5%, từ đó theo dõi sự thay đổi của hiệu suất thu hồi và độ hòa tan của glucosamine hydrochlorua. Thí nghiệm tiến hành thông qua một nhân tố (thời gian sấy) với 3 lần lặp lại.

2.4 Phương pháp phân tích

Các chỉ tiêu chất lượng của nguyên liệu và sản phẩm glucosamine hydrochlorua được phân tích bằng các phương pháp sau:

Xác định hàm lượng ẩm bằng phương pháp sấy, phân tích khoáng bằng phương pháp đốt, phân tích protein trong nguyên liệu bằng phương pháp Kjeldahl (AOAC, 2000).

Xác định hoạt tính glucosamine hydrochlorua bằng phổ FTIR với bước sóng 500 - 4000 cm⁻¹. Sử dụng tài liệu tham khảo của Bruker Optics ALPHA.

Xác định độ hòa tan (%) bằng phương pháp lọc (Hemung, 2013). Theo công thức $T = [(D-C)/D] \times 100$. Trong đó: T là độ hòa tan của glucosamine

hydrochlorua. D (g) là khối lượng glucosamine hydrochlorua thu được cho hòa tan với 10 mL nước cất. C (g) là khối lượng glucosamine hydrochlorua không tan, khối lượng này được tính như sau: khi glucosamine hydrochlorua hòa tan với 10 mL nước cất và lắc bằng máy lắc trong 12 giờ thì được lọc lại bằng giấy lọc (giấy lọc được cân trước), những phần không tan sẽ ở lại trên giấy lọc. Đem giấy lọc đi sấy sẽ tính được lượng glucosamine hydrochlorua không tan.

Xác định hiệu suất thu hồi (H) bằng phương pháp kiểm tra khối lượng. Gọi X (g) là khối lượng mẫu vỏ tôm ban đầu, Y (g) là lượng glucosamine hydrochlorua thu được sau khi sấy. Vậy hiệu suất thu hồi: $H = Y/X \times 100\%$.

2.5 Phương pháp xử lí số liệu

Số liệu thu thập được phân tích bằng phương pháp thống kê mô tả (trung bình, độ lệch chuẩn). Sự khác biệt của các yếu tố giữa các nghiệm thức được phân tích ANOVA với mức ý nghĩa 5% bằng phần mềm SPSS 16.0 và phép thử Duncan.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Thành phần hóa học của vỏ tôm sú

Chất lượng của chitin được quyết định bởi các tính chất của nguyên liệu ban đầu (Allwin *et al.*, 2015) vì thế cần biết rõ đặc điểm của nguyên liệu để có thể đề xuất các biện pháp xử lí hợp lí. Kết quả phân tích thành phần hóa học của vỏ tôm sú được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1: Kết quả phân tích thành phần nguyên liệu vỏ tôm sú (tính theo căn bản khô)

Chỉ tiêu	Hàm lượng (%)
Khoáng	28,7±1,31
Protein	49,5±0,54
Ẩm độ	5,2±0,17

(Ghi chú: số liệu được biểu thị dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn với n=3)

Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng khoáng và protein chiếm tỉ lệ cao lần lượt là 28,7% và 49,5% (Bảng 1). Hàm lượng khoáng và protein trong vỏ tôm sú cao là nguyên nhân chính ảnh hưởng đến chất lượng của chitin, và chất lượng của glucosamine hydrochlorua thu nhận được từ quá trình thủy phân chittin cũng sẽ bị ảnh hưởng vì chất lượng của glucosamine hydrochlorua phụ thuộc vào các thuộc tính của chitin ban đầu. Vì vậy để thu được glucosamine hydrochlorua có độ tinh khiết cao và có hoạt tính tốt, vỏ tôm sú cần được tiến hành loại bỏ khoáng và protein ra khỏi nguyên liệu.

3.2 Ảnh hưởng thời gian ngâm vỏ tôm sú trong dung dịch HCl đến khả năng khử khoáng

Hàm lượng khoáng chất có trong chitin hay chitosan sẽ ảnh hưởng đến độ hòa tan, góp phần làm giảm độ nhớt, hoặc có thể ảnh hưởng đến các đặc điểm quan trọng khác của sản phẩm cuối cùng (Nessa *et al.*, 2011), vì thế các thành phần này cần được loại bỏ. Kết thúc quá trình khử khoáng, hàm lượng khoáng còn lại trong nguyên liệu được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2: Ảnh hưởng thời gian ngâm vỏ tôm sú trong dung dịch HCl 8% đến khả năng khử khoáng (tính theo căn bản khô)

Mẫu	Thời gian ngâm HCl(giờ)	Hàm lượng khoáng (%)
Đối chứng	0	28,7±1,31 ^a
1	9	0,89±0,28 ^b
2	12	0,86±0,21 ^b
3	15	0,71±0,35 ^b

(Ghi chú: những chữ cái (a,b) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Số liệu được thể hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn với $n=3$)

Thành phần chất khoáng có trong vỏ tôm chủ yếu là muối của nguyên tố Canxi nên khi tác dụng với HCl sẽ tạo muối Ca^{2+} hòa tan trong dung dịch và được loại bỏ trong giai đoạn rửa trung tính dẫn đến hàm lượng khoáng trong nguyên liệu giảm đáng kể (Trần Thị Luyện, 2006). Bảng 2 cho thấy vỏ tôm khử khoáng ở cùng một nồng độ HCl 8% với ba mốc thời gian khác nhau 9, 12 và 15 giờ, hàm lượng khoáng trong vỏ tôm giảm nhanh và thấp hơn 1% sau 9 giờ xử lý trong dung dịch HCl, phản ứng loại khoáng ra khỏi nguyên liệu diễn ra mạnh và tương đồng với công bố của Percot *et al.* (2003a). Tương tự, hàm lượng khoáng còn lại trong nang mực giảm xuống đáng kể, còn 1,48% sau 12 giờ ngâm trong dung dịch HCl ở cùng nồng độ 8% (Lê Thị Minh Thủy và *ctv.*, 2019). Tiếp tục khử khoáng vỏ tôm sú với 12 và 15 giờ, hàm lượng khoáng giảm rất chậm và không có ý nghĩa thống kê so với mẫu vỏ tôm đã trải qua 9 giờ khử khoáng, vì một lượng nhỏ chất khoáng tham gia liên kết chặt chẽ với chitin có trong vỏ tôm và một số thành phần khác tạo thành phức hợp bền cho nên rất khó để loại bỏ các hợp chất khoáng này (Percot *et al.*, 2003a).

Tương tự, Toan (2011) đã xử lý vỏ tôm sú trong axit salicylic có nồng độ 0,04 M, 10 giờ nhằm làm mềm nguyên liệu rồi mới tiến hành khử khoáng vỏ tôm bằng HCl 2,5% trong 8 giờ với tỉ lệ v/w là 1: 1 và cho mẫu có hàm lượng khoáng dưới 1%. Theo

nghiên cứu chiết rút chitosan từ vỏ tôm (*Parapenaeus longirostris*) của Seghir and Benhamza (2017), bước loại khoáng vỏ tôm được thực hiện trong dung dịch 4% HCl trong 24 giờ ở 25 °C và tỉ lệ 1: 15 (w/v), quá trình khử khoáng vỏ tôm (*Parapenaeopsis stylifera*) bằng HCl có nồng độ 1M với tỉ lệ w/v là 1: 10 ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ cũng được Percot *et al.* (2003b) triển khai thực hiện, do sử dụng hóa chất có nồng độ thấp hơn so với phạm vi của nghiên cứu này nên cần nhiều thời gian hơn để quá trình khử khoáng được diễn ra triệt để. Một kết quả khác của Phạm Thị Đan Phượng và Trang Sĩ Trung (2012) đã công bố dung dịch HCl có nồng độ 4% được sử dụng để khử khoáng vỏ tôm thẻ chân trắng trong 12 giờ cho hàm lượng khoáng còn lại là 0,93%. Theo Trần Thị Luyện và *ctv* (2004), vỏ tôm khử khoáng bằng dung dịch HCl 10% với thời gian là 5 giờ, hàm lượng khoáng còn lại trong vỏ tôm là 2,28%, cao hơn so với kết quả nghiên cứu. Điều này có thể lí giải, mặc dù nồng độ HCl là 10% nhưng thời gian khử khoáng khá ngắn (5 giờ), không đủ thời gian để phản ứng khử khoáng diễn ra hoàn toàn nên hàm lượng khoáng còn lại trong vỏ tôm cao hơn so với vỏ tôm khử khoáng với 8% HCl trong 9 giờ ở nghiên cứu này.

Theo Rao *et al.* (2007), hàm lượng khoáng dưới 1% đã đạt tiêu chuẩn chất lượng chitin công nghiệp. Hàm lượng khoáng trong nguyên liệu khác biệt nhưng không có ý nghĩa thống kê ở 3 mốc thời gian và đều dưới 1%. Bên cạnh đó, thời gian xử lý dài với nồng độ cao cũng ảnh hưởng đến tính chất của chitin, có thể dẫn đến cắt mạch chitin làm giảm trọng lượng phân tử và giảm hiệu suất thu hồi (El-Saharty and Bary, 2002; Ahmad *et al.*, 2016). Vì vậy, với mục đích tiết kiệm thời gian khử khoáng mà vẫn đảm bảo tiêu chuẩn chất lượng nên vỏ tôm sú được xử lý ở nồng độ HCl 8%, thời gian 9 giờ là thích hợp.

3.3 Ảnh hưởng thời gian ngâm của vỏ tôm sú trong dung dịch NaOH đến khả năng khử protein

Sự thay đổi hàm lượng protein của vỏ tôm sú khi được xử lý trong dung dịch NaOH được thể hiện ở Bảng 3. Hàm lượng protein còn lại trong nguyên liệu có xu hướng giảm dần khi tăng thời gian xử lý ở cùng nồng độ NaOH.

Bảng 3 cho thấy khi tăng thời gian ngâm vỏ tôm trong dung dịch NaOH 10% từ 0 đến 36 giờ, hàm lượng protein còn lại trong vỏ tôm sú có sự giảm mạnh từ 49,5 xuống 6,43%. Hàm lượng protein trong vỏ tôm sú giảm do protein bị dung dịch kiềm thủy phân thành các axit amin tự do tan được trong dung dịch kiềm và được loại bỏ trong quá trình rửa

trung tính (Trần Thị Luyến, 2011). Nồng độ dung dịch NaOH 10% được lựa chọn cho việc loại protein trong vỏ tôm để thu hồi chitin (Benavente *et al.*, 2015, Seghir and Benhamza, 2017). Một vài nghiên cứu khác cũng khử protein của vỏ tôm (*Metapenaeus monoceros*) bằng NaOH 3,5% với tỉ lệ w/v là 1: 10 với thời gian khoảng 2 giờ ở 65°C (Mojarrad *et al.*, 2007), khử protein vỏ tôm (*Penaeus monodon*) bằng NaOH có nồng độ 1 N, tỉ lệ w/v là 1: 12 ở 90°C trong 2 giờ (Sibi *et al.*, 2013) và NaOH 5%, với tỉ lệ 1: 12 ở 90°C trong 24 giờ (w/v) (Islam *et al.*, 2011). Điểm chung của hầu hết các nghiên cứu trên là hóa chất được sử dụng với nồng độ thấp nhưng quá trình xử lí được thực hiện ở nhiệt độ cao làm tốc độ phản ứng khử protein diễn ra nhanh nên thời gian xử lí ngắn hơn so với thí nghiệm này. Sau các mốc thời gian khử protein lần lượt là 16, 24 và 32 giờ trong cùng một nồng độ NaOH 10%, hàm lượng protein tiếp tục giảm nhưng rất chậm, tuy khác biệt về hàm lượng nhưng không có ý nghĩa thống kê. Điều này có thể lý giải do một phần protein liên kết cộng hóa trị với thành phần chitin có trong vỏ tôm và hình thành hệ phức hợp ổn định. Do đó khả năng loại bỏ thành phần protein này ra khỏi nguyên liệu là rất khó nên tốc độ khử protein xảy ra chậm khi hàm lượng protein còn lại trong nguyên liệu khá thấp (No *et al.*, 1989; Holanda and Netto, 2006). Vì vậy, 16 giờ là thời gian được chọn

để tiến hành khử protein trong thí nghiệm này vì hàm lượng protein còn lại thấp và khác biệt không có ý nghĩa thống kê với 2 mẫu còn lại.

Bảng 3: Ảnh hưởng thời gian ngâm của vỏ tôm sú trong dung dịch NaOH 10% đến khả năng khử protein (tính theo căn bản khô)

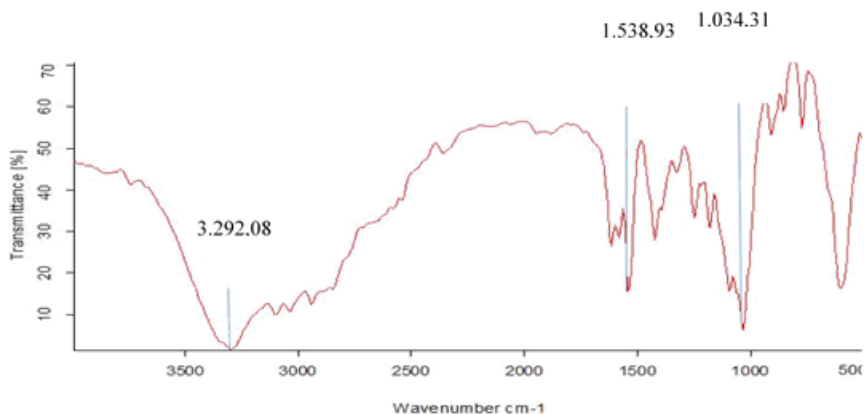
Mẫu	Thời gian ngâm NaOH (giờ)	Hàm lượng protein (%)
Đối chứng	0	49,5±0,54 ^a
1	16	8,07±0,94 ^b
2	24	8,09±0,44 ^b
3	36	6,43±0,26 ^b

(Ghi chú: những chữ cái (a,b) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Số liệu được thể hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn với $n=3$)

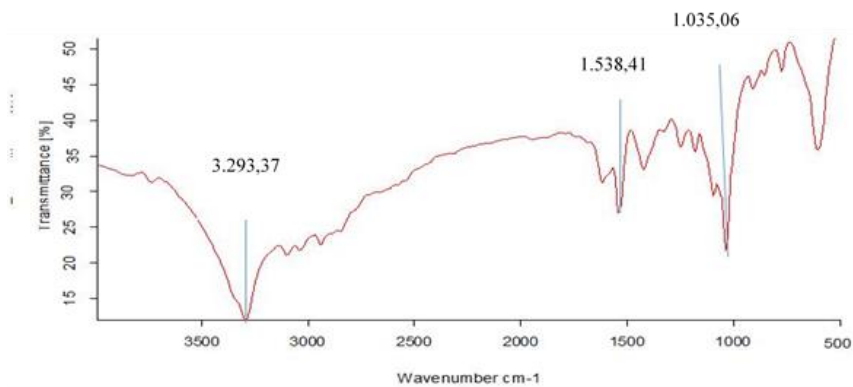
3.4 Ảnh hưởng của nồng độ HCl đến sự thủy phân chitin thành glucosamine hydrochlorua

3.4.1 Kết quả FTIR

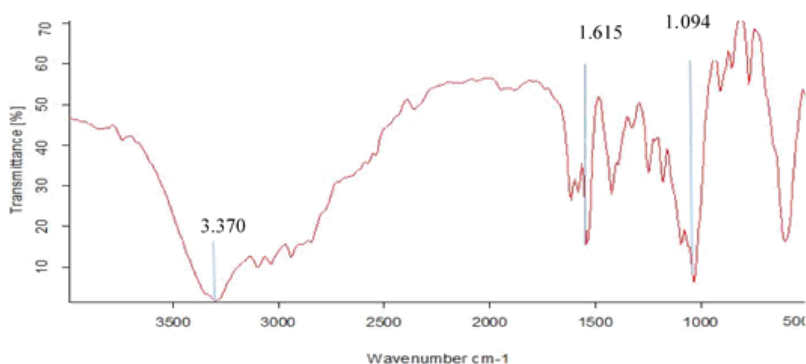
Dùng phổ FTIR để kiểm tra kết quả của glucosamine hydrochlorua từ chitin được thủy phân trong HCl có nồng độ lần lượt là 10 và 12 M. Kết quả của thí nghiệm 3 được thể hiện Hình 1 và Hình 2.



Hình 1: Quang phổ FTIR của glucosamine hydrochlorua (HCl 10 M)



Hình 2: Quang phổ FTIR của glucosamine hydrochlorua (12 M)



Hình 3: Quang phổ FTIR của glucosamine hydrochlorua thương mại

Glucosamine hydrochlorua thương mại có các peak chuẩn như: peak 1 từ 3.300-3.370 cm^{-1} là biểu hiện rõ ràng của nhóm -OH và -NH, nhóm -NH₂ thể hiện ở peak 1.615 cm^{-1} và ở peak 1.094 cm^{-1} là nhóm -OH cấu trúc thứ cấp của rượu.

Kết quả của Hình 1 glucosamine hydrochlorua 10 M có peak 1 là 3.292,08 cm^{-1} nằm trong khoảng của peak từ 3.300-3.370 cm^{-1} của nhóm -OH và -NH, peak 2 là 1.538,93 cm^{-1} nằm gần nhất với peak 1.615 cm^{-1} của nhóm -NH₂ và peak 3 là 1.034,31 cm^{-1} có khoảng cách gần nhất với peak 1.094 cm^{-1} nhóm -OH cấu trúc thứ cấp của rượu.

Kết quả của Hình 2 glucosamine hydrochlorua 12 M có peak 1 là 3.293,37 cm^{-1} nằm trong khoảng của peak 3.300-3.370 cm^{-1} của nhóm -OH và -NH, peak 2 là 1.538 cm^{-1} nằm gần nhất với peak 1.615 cm^{-1} của nhóm -NH₂ và peak 3 1.035,06 cm^{-1} có khoảng cách gần nhất với peak 1.094 cm^{-1} nhóm -OH cấu trúc thứ cấp của rượu.

Từ kết quả các peak của Hình 1, 2 và 3 cho thấy. Sau khi đo quang phổ FTIR thì cả glucosamine

hydrochlorua 10 và 12 M đều tương thích với glucosamine hydrochlorua thương mại.

3.4.2 Hiệu suất thu hồi của glucosamine hydrochlorua 10 và 12 M

Sau khi phân tích phổ FTIR, cả 2 mẫu glucosamine hydrochlorua khá tương đồng khi được xử lý với nồng độ HCl 10 M và 12 M, cho nên cần dựa vào hiệu suất thu hồi để xác định nồng độ hóa chất thích hợp để thủy phân chitin thành glucosamine hydrochlorua. Kết quả hiệu suất thu hồi được thể hiện trong Bảng 4.

Bảng 4: Hiệu suất thu hồi của glucosamine hydrochlorua 10 và 12 M (tính theo căn bản khô)

Mẫu	Nồng độ HCL(M)	Hiệu suất thu hồi (%)
1	10	47,07±3,25 ^a
2	12	57,30±1,79 ^b

Ghi chú: những chữ cái (a,b) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Số liệu được thể hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn với $n=3$.

Kết quả của Bảng 4 cho thấy hiệu suất thu hồi glucosamine hydrochlorua tăng dần khi tăng nồng độ HCl. Mẫu chitin được thủy phân trong HCl 10 M cho hiệu suất thu hồi glucosamine hydrochlorua đạt 47,07%, thấp hơn khi xử lý với HCl nồng độ 12 M đạt 57,30%, do nồng độ hóa chất cao nên hiệu quả cắt các liên kết glycoside của chuỗi chitin tốt hơn, chitin cũng được thủy phân tốt hơn (Trần Thái Hòa, 2005; Benavente *et al.*, 2015). Tác giả Benavente *et al.* (2015) cũng ghi nhận chất lượng glucosamine tốt nhất khi chitin được thủy phân trong dung dịch HCl 12 M ở điều kiện nhiệt độ 85 °C. Theo nghiên cứu của Novikov (2004) thủy phân chitin và chitosan vỏ tôm (*Pandalus borealis*) được tiến hành bằng HCl 36,5 % để thu hồi glucosamine. Nồng độ HCl 37 % và 90 °C, thời gian xử lý 24 giờ cũng là thông số được nhóm nghiên cứu của Islam *et al.* (2011) sử dụng để sản xuất glucosamine với hiệu suất thu hồi

đạt 63,45% và độ tinh khiết cao từ nguồn phế liệu tôm. Hiệu suất thu hồi glucosamine sẽ giảm khi chitin xử lý với nồng độ hóa chất cao và nhiệt độ cao trong thời gian dài vì khi đó một phần glucosamine tạo thành sẽ bị phân hủy, mặc dù ở điều kiện này sẽ thúc đẩy quá trình thủy phân chitin xảy ra tốt hơn (Mojarrad *et al.*, 2007). Dựa vào kết quả phân tích phổ FTIR và hiệu suất thu hồi, nồng độ dung dịch HCl 12 M được chọn để thủy phân chitin thành glucosamine hydrochlorua.

3.5 Sự thay đổi của thời gian sấy ảnh hưởng đến chất lượng của glucosamine hydrochlorua thành phẩm

Thời gian sấy sản phẩm glucosamine hydrochlorua tác động tới ẩm độ, hiệu suất thu hồi và độ hòa tan được thể hiện ở Bảng 5.

Bảng 5: Ảnh hưởng của thời gian sấy đến chất lượng của sản phẩm (tính theo căn bản khô)

Mẫu	Thời gian sấy (giờ)	Ẩm độ (%)	Hiệu suất thu hồi (%)	Độ hòa tan (%)
1	10	3,92±0,13 ^a	60,8± 1,17 ^a	84,0±1,37 ^a
2	12	2,93±0,57 ^a	54,0±2,35 ^b	87,7±1,69 ^a
3	14	2,55±0,70 ^a	51,7±0,940 ^b	87,7±0,53 ^a

Ghi chú: những chữ cái (a,b) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Số liệu được thể hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn với $n=3$.

Kết quả phân tích cho thấy khi tăng thời gian sấy từ 10 lên 14 giờ trong cùng một nhiệt độ sấy 50°C, độ ẩm giảm từ 3,92 xuống 2,55%. Hiệu suất thu hồi của glucosamine hydrochlorua giảm từ 60,8 xuống 51,7%. Nguyên nhân khi tăng thời gian sấy dẫn đến giảm ẩm độ và hiệu suất glucosamine hydrochlorua thu được là do lượng hơi nước trong sản phẩm bị thoát ra càng nhiều nên ẩm độ và hiệu suất thu hồi đều giảm (Nguyễn Trọng Cán, 1990). Độ hòa tan của sản phẩm tăng từ 84,0 lên 87,71% sau khi sấy 10 và 12 giờ và khi tăng lên 14 giờ, độ hòa tan không tăng nữa. Theo nghiên cứu chiết xuất glucosamine hydrochlorua từ vỏ tôm của Benavente *et al.* (2013) glucosamine hydrochlorua sấy ở 50°C trong 12 giờ cho hiệu suất thu hồi là 58%. Và nhiệt độ này cũng được áp dụng để sấy sản phẩm trong nghiên cứu của Sibi *et al.* (2013). Dựa vào các chỉ tiêu như ẩm độ, độ hòa tan và hiệu suất thu hồi, glucosamine hydrochlorua được sấy trong 10 giờ ở 50°C là thích hợp nhất.

4 KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra điều kiện tối ưu để sản xuất glucosamine hydrochlorua từ vỏ tôm sú bao gồm khử khoáng với HCl 8% trong 9 giờ; protein được khử trong NaOH 10% trong 16 giờ; nồng độ HCl thích hợp để chuyển chitin thành glucosamine

hydrochlorua là 12 M ở 85°C; thời gian sấy để glucosamine hydrochlorua đạt chất lượng cao nhất là 10 giờ ở 50°C.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được tài trợ bởi Dự án Nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA từ chính phủ Nhật Bản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahmad, L. O., Permal, D., Sabarwatil, S. H., Ramadhan, L. O. A. N. and Rianse, U., 2016. Improved Chitosan Production from Tiger Shrimp Shell Waste (*Penaeus monodon*) by Multistage Deacetylation Method and Effect of Bleaching. *Advances in Environmental and Geological Science and Engineering*. 373-378.
- Allwin, S. I. J., Jeyasanta K. I. and Patterson J., 2015. Extraction of chitosan from white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste and examination of its bioactive potentials. *Advances in Biological Research*. 9(6): 389-396.
- Anderson, J. W., Nicolosi, R. J. and Borzelleca, J. F., 2005. Glucosamine effects in humans: a review of effects on glucose metabolism, side effects, safety considerations and efficacy. *Food and Chemical Toxicology*. 43(2): 187-201.

- AOAC, 2000. Official methods of Analysis. In: Horwitz, W (Ed). Association of official analytical chemists international, Senventh Edition. Washington DC. USD.
- Benavente, M., Arias, S., Moreno, L. and Martínez, J., 2015. Production of glucosamine hydrochloride from crustacean shell. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 3(1): 20-26.
- Bộ Công Thương, 2019. Tận dụng phụ phẩm ngành tôm Việt Nam thu được trăm tỷ mỗi năm, ngày truy cập 09/01/2020. Địa chỉ: <https://www.moit.gov.vn/CmsView-EcoIT-portlet/html/print cms.jsp?articleId=16013>.
- Cahyono, E., Suptijah, P. and Wientarsih, I., 2014. Development of a pressurized hydrolysis method for producing glucosamine. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*. 2(5): 390-396
- El-Saharty, Y. S. and Bary, A. A., 2002. High-performance liquid chromatographic determination of nutraceuticals, glucosamine sulphate and chitosan, in raw materials and dosage forms. *Analytica Chimica Acta*. 462(1): 125-131.
- Hemung, B. O., 2013. Properties of Tilapia Bone Powder and Its Calcium Bioavailability Based on Transglutaminase Assay. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 3(4): 306-309.
- Holanda, H. D. D. and Netto, F. M., 2006. Recovery of components from Shrimp (*Xiphopenaeuskroyeri*) Processing Waste by enzymatic Hydrolysis. *Journal of Food Science*. 71(5): 298-303.
- Houpt, J.B., McMillan, R., Wein, C., Paget-Dellio, S. D., 1999. Effect of glucosamine hydrochloride in the treatment of pain of osteoarthritis of the knee. *Journal of Rheumatology*. 26(11): 2423-2430.
- Islam, M. M., Masum, S. M., Rahman, M. M. and Shaikh, A. A., 2011. Preparation of Glucosamine Hydrochloride from Indigenous Shrimp Processing Waste. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*. 46(3): 375-378.
- Lê Thị Minh Thủy, Nguyễn Văn Thơm và Trần Thanh Trúc, 2019. Ảnh hưởng của phương pháp loại khoáng và protein đến chất lượng chitosan từ nang mực nang (*Sepia esculenta*). *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*. 358: 43-48.
- Mojarrad, J. S., Nemati, M., Valizadeh., Ansarin, M. and Bourbour, S., 2007. Preparation of Glucosamine from Exoskeleton of Shrimp and Predicting Production Yield by Response Surface Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(6): 2246-2250
- Nagaoka, M., Igarashi, J., Hua., Y., Ju, S., Yomogida. and Sakamoto, K. 2011. Recent aspects of the antiinflammatory actions of glucosamine. *Carbohydrate Polymers*. 84(2): 825- 830.
- Nessa, F., Masum, S. M., Asaduzzaman, M., Roy, S., Hossain, M. and Jahan, M., 2011. A Process for the Preparation of Chitin and Chitosan from Prawn Shell Waste. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*. 45(4): 323-330.
- Nguyễn Trọng Căn, 1990. Công nghệ chế biến thực phẩm tập 2. Nhà xuất bản Nông nghiệp. Thành phố Hồ Chí Minh. 412 trang.
- No, H. K., Meyers, S. P., Lee, K. S., 1989. Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 37(3): 575-579.
- Novikov, V. Y., 2004. Acid Hydrolysis of Chitin and Chitosan. *Russian Journal of Applied Chemistry*. 77(3): 484-487.
- Percot, A., Viton, C. and Domand, A., 2003a. Optimazation of Chitin Extracion from Shrimp Shells. *Biomacromolecules*. 4(1): 12-18.
- Percot, A., Viton, C. and Domard, A., 2003b. Characterization of shrimp shell deproteinization. *Biomacromolecules*. 4: 1380-1385.
- Phạm Thị Đan Phượng và Trang Sĩ Trung, 2012. Tính chất của chitin và chitosan từ vỏ tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) khử protein bằng phương pháp hóa học và sinh học. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản Trường Đại học Nha Trang*. 3: 48-52.
- Rao, M. S., Nyein, K. A., Trung, T. S. and Steven, W. F., 2007. Optimum paramaters for production of chitin and chitosan from Squilla (*S. empusa*). *Journal of Applied Polymer Science*. 103(6): 3694-3700.
- Seghir, B. B. and Benhamza, M. H., 2017. Preparation, optimization and characterization of chitosan polymer from shrimp shells. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 11(3): 1137-1147.
- Sibi, G., Dhananjaya, K., Ravikumar, K. R., Mallesha, H., Venkatesha, R. T., Trivedi, D., Bhusal, K. P., Neeraj. and Gowda, K., 2013. Preparation of Glucosamine Hydrochloride from Crustacean Shell Waste and It's Quantitation by RP-HPLC. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*. 8(2): 63-67.
- Toan, N. V., 2011. Improved chitin and chitosan production from black tiger shrimp shells using salicylic acid pretreatment. *The Open Biomaterials Journal*. 3: 1-3.
- Trần Thái Hòa, 2005. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình deacetyl và cắt mạch chitin để điều chế glucosamine. *Tạp chí Khoa học. Đại học Huế*. 27: 1-7.

- Trần Thị Luyến, 2006. Sản phẩm các chế phẩm kỹ thuật và y dược từ phế liệu thủy sản. NXB Nông nghiệp. TP. Hồ Chí Minh. 162 trang.
- Trần Thị Luyến, 2011. Giáo trình các phản ứng cơ bản và biến đổi thực phẩm trong quá trình công nghệ. Đại học Nha Trang.
- Trần Thị Luyến, Lê Văn Khẩn, Trang Sĩ Trung và Đặng Văn Hợp, 2004. Báo cáo tổng kết dự án sản xuất thí nghiệm cấp bộ chitin - chitosan từ phế liệu thủy sản (vỏ tôm, vỏ gẹ). Bộ giáo dục đào tạo. Trường Đại học Thủy Sản.
- VASEP, 2019. Xuất khẩu tôm đảo chiều nhích nhẹ trong tháng 11, ngày truy cập 02/01/2020. Địa chỉ: http://vasep.com.vn/Tin-Tuc/1203_58661/Xuat-khau-tom-dao-chieu-nhich-nhe-trong-thang-11.htm.
- Wanichpongpan, P. and Attasat, S., 2016. Optimum conditions for preparation of glucosamine hydrochloride and glucosamine sulfate from shrimp - shell Chitin. *International Journal of Applied Science and Technology*. 6(2): 24:29.
- White, T. and Stegemann, J. A., 2001. Environmentally preferred materials. *AdVance in EnVironmental Materials*. Material Research Society of Singapore: 249-260.
- Xu, Y., Gallert, C. and Winter, J., 2008. Chitin purification from shrimp wastes by microbial deproteination and decalcification. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 79(4): 687-697.