



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0004321

(51) **C08B 37/08; A23J 1/04**
2024.01

(13) **Y**

(21) 2-2025-00083

(22) 01/02/2023

(67) 1-2023-00597

(45) 25/09/2025 450

(43) 25/05/2023 422A

(73) Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VN)
số 18, phố Hoàng Quốc Việt, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

(72) Phí Quyết Tiến (VN); Vũ Thị Hạnh Nguyên (VN); Quách Ngọc Tùng (VN).

(54) **QUY TRÌNH SẢN XUẤT CHITIN TỪ ĐẦU VỎ TÔM PHẾ LIỆU TẠI CÁC CƠ
SỞ CHẾ BIẾN TÔM**

(21) 2-2025-00083

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất chitin từ đầu vỏ tôm phế liệu tại các cơ sở chế biến tôm, trong đó quy trình này bao gồm các bước (i) ép đầu vỏ tôm bằng máy ép đùn trục vít tách dịch ép, bã ép đầu vỏ tôm; (ii) thủy phân và thu hồi chitin thô, bã ép được thủy phân bằng enzym proteaza ở 50°C, độ pH 7,0 khuấy 50 vòng/phút trong 3 giờ và chitin thô được loại bỏ protein dư bằng NaOH 1,0 % ở 80°C khuấy 50 vòng/phút trong 1 giờ; (iii) loại màu, tẩy trắng chitin thô bằng thuốc tím KMnO_4 0,1 % trong 15 phút, sau đó ngâm với dung dịch axit oxalic ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$) 1,0 % trong 1 - 2 giờ; và (iv) sấy khô và thu sản phẩm chitin.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực công nghệ sinh học. Cụ thể, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất chitin từ đầu vỏ tôm phế liệu bằng máy ép đùn trực vít để nâng cao hiệu quả thu hồi và tách protein khỏi đầu vỏ tôm phế liệu và sử dụng enzym sinh học proteaza để thủy phân protein nhằm giảm lượng hóa chất, giảm thời gian xử lý, tạo nguồn protein thủy phân (có hàm lượng axit amin và mạch peptit ngắn) cao, giúp nâng cao giá trị protein và nguồn chitin tiềm năng có chất lượng cao ứng dụng trong thực phẩm, y dược. Áp dụng công nghệ sinh học vào thu hồi, nâng cao giá trị protein, chitin chất lượng cao, giảm sử dụng hóa chất giúp bảo vệ môi trường, giảm ô nhiễm thứ cấp và nâng cao chất lượng phụ phẩm của ngành chế biến tôm.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Ở nước ta, chế biến thủy sản là ngành mũi nhọn. Ước tính phế thải tôm khoảng hơn 240.000 tấn/năm (theo tổng cục thủy sản Việt Nam), trong đó có khoảng 144.000 tấn đầu vỏ tôm (Tổng cục thủy sản, 2014). Phế thải tôm được sử dụng để làm thức ăn chăn nuôi với các phương pháp truyền thống như: Sấy khô hoặc phơi nắng sau đó đem đi xay mịn bổ sung vào thức ăn chăn nuôi. Việc sấy khô đòi hỏi năng lượng lớn, tốn kém. Phơi nắng thì phụ thuộc vào thời tiết, mất vệ sinh và gây ô nhiễm môi trường. Cả hai phương pháp này không loại được khoáng và chitin mà hai chất này gây khó tiêu cho gia súc, gia cầm. Vậy nếu lợi dụng tổng hợp phế thải này bằng cách tách riêng phần protein ở đầu tôm ra phục vụ chăn nuôi, tách hợp chất màu (Astaxanthin) để phục vụ công nghiệp nhuộm, chế biến chitin để phục vụ nông nghiệp, công nghiệp, mỹ phẩm, y tế thì giá trị mang lại từ nguồn phế liệu tôm sẽ lớn hơn gấp nhiều lần so với chỉ đem phế liệu tôm đi sấy khô hay phơi nắng nghiền bột cho gia súc, gia cầm ăn.

Trước tình hình đó các nhà nghiên cứu đã đưa ra các giải pháp vừa giải quyết được vấn đề ô nhiễm môi trường, vừa nâng cao giá trị sử dụng cho các phế liệu đem lại hiệu quả kinh tế cao. Một trong những giải pháp đó là sử dụng phế liệu tôm để sản xuất chitin-chitosan, tuy nhiên chưa ai chú ý đến công đoạn tiền xử lý bằng axit trước khi ủ để loại bỏ một phần khoáng và protein nhằm mục đích rút ngắn thời gian xử lý, nâng cao chất lượng chitin-chitosan, đồng thời tận thu được nguồn protein và sắc tố có giá trị dinh dưỡng cao từ đầu tôm. Do đó việc sử dụng công đoạn tiền xử lý bằng axit trong sản xuất chitin-chitosan rất quan trọng, cho nên trong đề tài này với mục tiêu là áp dụng axit hydrochloric ở công đoạn đầu để tạo điều kiện cho axit lactic hoạt động tốt hơn, duy trì độ pH thích hợp cho vi khuẩn lactic phát triển, ức chế vi sinh vật gây thối hoạt động và

hạn chế hư hỏng astaxanthin trong hỗn hợp caroten-protein. Đầu vỏ từ chế biến tôm là nguồn nguyên liệu tiềm năng giàu protein hiện đã được sử dụng để thu hồi protein sản xuất thức ăn chăn nuôi cũng để sản xuất các chất có hoạt tính sinh học khác như chitin và carotenoit (Kumar, 2000; Manni và cs., 2010; Jellouli và cs., 2011). Chất lượng của protein và chitin trong quy trình xử lý bằng hóa học thường có chất lượng thấp do ảnh hưởng của hóa chất và vì vậy hoá chất không được thu hồi mà thải ra môi trường, dẫn đến gây ô nhiễm trầm trọng môi trường xung quanh các cơ sở chế biến phế liệu tôm. Do đó, việc nghiên cứu cải tiến quy trình sản xuất chitin từ phế liệu tôm bằng việc kết hợp xử lý sinh học (dùng enzym proteaza), thu hồi protein và chitin là rất cần thiết, góp phần hình thành và phát triển ngành công nghiệp xử lý phế liệu thủy sản theo hướng bền vững, giảm thiểu ô nhiễm môi trường. Để nghiên cứu quy trình cải tiến, việc xác định thành phần cơ bản và hàm lượng có trong đầu, vỏ tôm sau khi ép là quan trọng, có ý nghĩa trong việc đánh giá mức độ giảm khối lượng của đầu tôm trong công đoạn này. Xuất phát từ các luận điểm trên, việc thực hiện quy trình sản xuất protein và chitin từ đầu vỏ tôm phế liệu có ý nghĩa thực tế, đáp ứng yêu cầu thực tế của doanh nghiệp và các cơ sở chế biến tôm.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là sản xuất protein và chitin từ đầu vỏ tôm phế liệu bằng máy ép đùn trục vít để nâng cao hiệu quả thu hồi và tách protein khỏi đầu vỏ tôm phế liệu và sử dụng enzym sinh học proteaza để thủy phân protein nhằm giảm lượng hóa chất, giảm thời gian xử lý, tạo nguồn protein thủy phân cao và nguồn chitin tiềm năng có chất lượng cao ứng dụng trong thực phẩm, y dược. Giải pháp tận dụng được nguồn phế liệu đầu vỏ tôm sẵn có tại các cơ sở chế biến tôm, nâng cao giá trị tôm phế liệu tạo sản phẩm protein và chitin giá trị và chất lượng cao, giảm chi phí xử lý ô nhiễm môi trường. Cụ thể, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình sản xuất protein và chitin từ đầu vỏ tôm phế liệu tại các cơ sở chế biến tôm sử dụng enzym sinh học ứng dụng trong chăn nuôi và nông nghiệp, quy trình này bao gồm các bước:

- (i) ép đầu vỏ tôm;
- (ii) thủy phân và thu hồi chitin thô;
- (iii) loại màu, tẩy trắng chitin thô; và
- (iv) sấy khô và thu sản phẩm chitin.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là sơ đồ khối quy trình sản xuất protein và chitin từ đầu vỏ tôm phế liệu ứng dụng trong chăn nuôi và nông nghiệp

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất protein và chitin từ đầu vỏ tôm phế liệu từ các cơ sở chế biến tôm sử dụng enzym sinh học proteaza, trong đó quy trình này các bước:

(i) ép đầu vỏ tôm

Nguyên liệu đầu vỏ tôm phế liệu được thu tại các cơ sở chế biến tôm, yêu cầu nguyên liệu phải tươi, là phế liệu ngay sau quá trình sơ chế trong nhà máy, không có màu, mùi lạ. Đầu vỏ tôm sau khi thu nhận được vận chuyển lạnh nhanh về khu vực xử lý mẫu trong thùng xốp cách nhiệt. Nguyên liệu đầu vỏ tôm phế liệu 300 kg được ép bằng máy ép đùn trục vít công suất 3 kw, năng suất 200 kg/giờ; với 300 kg nguyên liệu được ép trong 1 giờ 30 phút; sau khi ép xong thu được dịch ép đầu vỏ tôm và bã ép đầu vỏ tôm, bã ép đầu vỏ tôm thu được tiếp tục chuyển sang bước thủy phân protein bằng enzym sinh học.

(ii) thủy phân và thu hồi chitin thô

Dịch ép đầu vỏ tôm thu được từ đầu vỏ tôm, tiếp tục thủy phân với với enzym sinh học proteaza (chế phẩm proteaza thương mại của hãng Novozyme dạng bột, màu nâu được sản xuất bằng phương pháp lên men rắn, là enzym mang cả hai hoạt tính endoproteaza và exoproteaza, có khả năng thủy phân các liên kết peptit bên trong chuỗi polypeptit và các liên kết ở hai đầu tận cùng của chuỗi. Chế phẩm có hoạt độ proteaza 1,0 AU (Anson Unit)/g. Hoạt động tối ưu ở độ pH 7,0 - 7,5, nhiệt độ 50°C), enzym proteaza bổ sung vào dịch ép đầu vỏ tôm là 1,2% ở nhiệt độ phản ứng 50°C, độ pH 7,0 ở điều kiện khuấy 50 vòng/phút trong 3 giờ. Sau thời gian thủy phân thu được sản phẩm protein.

Phần bã ép đầu vỏ tôm bã thu được sau quá trình ép được trộn với nước trước khi thủy phân bằng enzym sinh học theo tỉ lệ bã : nước là 1:4 (w/v). Sau khi bã đầu vỏ tôm trộn với nước tiếp tục thủy phân với với enzym sinh học proteaza (chế phẩm proteaza thương mại của hãng Novozyme dạng bột, màu nâu được sản xuất bằng phương pháp lên men rắn, là enzym mang cả hai hoạt tính endoproteaza và exoproteaza, có khả năng thủy phân các liên kết peptit bên trong chuỗi polypeptit và các liên kết ở hai đầu tận cùng của chuỗi. Chế phẩm có hoạt độ proteaza 1,0 AU (Anson Unit)/g. Hoạt động tối ưu ở độ pH 7,0 - 7,5, nhiệt độ 50°C), trong đó enzym proteaza chiếm 1,2% tổng khối lượng của bã và enzym trước khi bổ sung nước, nhiệt độ phản ứng 50°C, độ pH 7,0 ở điều kiện khuấy 50 vòng/phút trong 3 giờ; sau thời gian thủy phân, hỗn dịch được ly tâm với tốc

độ 4.000 vòng/phút trong 15 phút; loại bỏ protein thu được chitin thô.

Để loại bỏ hoàn toàn protein trong chitin thô, chitin thô tiếp tục được xử lý với NaOH 1,0% theo tỉ lệ chitin thô : dung dịch NaOH 1,0% là 1:1 (w/v), ở nhiệt độ 80°C, ở điều kiện khuấy 50 vòng/phút trong 1 giờ; sau thời gian 1 giờ, lọc qua phin lọc thu chitin thô, chitin thô được rửa với nước cho tới khi độ pH đạt 6,5 – 7,0; sau khi loại bỏ protein và nước thu được chitin thô.

(iii) loại màu, tẩy trắng chitin thô

Chất màu còn trong chitin thô được tẩy với dung dịch thuốc tím KMnO_4 0,1% với tỉ lệ chitin thô : KMnO_4 là 1:1 (w/v), ngâm trong 15 phút; sau đó lọc qua phin lọc và chitin được rửa sạch bằng nước, tiếp đó ngâm trong dung dịch axit oxalic ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$) 1,0% với tỉ lệ chitin : axit oxalic là 1:1 (w/v) trong 1 - 2 giờ cho đến khi sản phẩm có màu trắng thì lọc qua phin lọc và chitin được rửa sạch bằng nước, thu được sản phẩm chitin sạch;

(iv) sấy khô và thu sản phẩm chitin

Sản phẩm chitin sạch sau khi loại bỏ protein và tẩy trắng được sấy ở nhiệt độ 45°C có quạt gió tản nhiệt trong 16 - 18 giờ cho tới khi độ ẩm đạt dưới 10% và thu được sản phẩm chitin tinh khiết.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ dưới đây chỉ nhằm minh họa các phương án thực hiện giải pháp hữu ích mà không làm hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của giải pháp hữu ích.

Ví dụ 1: Phân tích thành phần và chỉ tiêu an toàn của đầu vỏ tôm sử dụng cho thu hồi protein và chitin

Phân tích thành phần hóa học cơ bản của đầu tôm thể chân trắng như protein, chitin, khoáng, kim loại nặng hay hàm lượng vi sinh vật tổng số là cần thiết để chuẩn hoá nguồn nguyên liệu đầu vào. Kết quả này tạo tiền đề để tối ưu quá trình thu hồi protein và chitin thô. Ngoài ra, phân tích nguyên liệu đầu vào còn góp phần hỗ trợ quá trình xử lý nước thải sau này.

Bảng 1. Thành phần hoá học và chỉ tiêu phân tích vi sinh từ tôm thể chân trắng thu thập tại cơ sở chế biến tôm.

STT	Chỉ tiêu	Phương pháp phân tích	Đơn vị	Đầu vỏ tôm thể chân trắng BTT-2	Đầu vỏ tôm thể chân trắng BTT-3	Đầu vỏ tôm thể chân trắng BTT-4
1	Độ ẩm	TCVN 4326 :2001	%	78,5	74,6	75,1

2	Hàm lượng chitin	MKL-HH 1097 Ref. International Journal of Mechanical Engineering and Technology	%	16,65	16,7	16,9
3	Hàm lượng protein thô	TCVN 4328-1:2007	%	28,3	27,8	30,6
4	Hàm lượng lipid	TCVN 4331:2001	%	1,2	1,8	1,7
5	Hàm lượng astaxanthin	MKL-HH406 Ref. Biomed. Chromatogr. 2013; 27: 757–764	%	7,05	6,95	7,1
6	Hàm lượng nitơ tổng	TCVN 9215:2012	%	4,53	4,44	4,89
7	Hàm lượng phot pho tổng	TCVN 1525:2001	%	0,9	1,2	1,12
8	Hàm tro tổng	TCVN 4327:2007	%	18,6	18,5	18,9
9	Hàm lượng khoáng	TCVN 4327:2007	%	18,6	18,5	18,9
10	Hàm lượng nitơ ammoniac	TCVN 10494:2014	%	3,2	3,1	3,3
11	Hàm lượng muối NaCl	TCVN 4806-1:2018	mg/kg khô	2,356	2,507	2,454
12	Aflatoxin tổng số	TCVN 7596:2007 ISO 16050: 200	mg/kg khô	ND	ND	ND
13	Asen (As)	AOAC 986.15	mg/kg khô	ND	ND	ND
14	Cadimi (Cd)	AOAC 973.34 TCVN 7603:2007	mg/kg khô	0,207	0,1	0,2
15	Chì (Pb)	TCVN 7602:2007	mg/kg khô	ND	0,03	0,06
16	Thủy ngân (Hg)	AOAC 971.21 TCVN 7604:2007	mg/kg khô	ND	ND	ND
17	<i>Coliforms</i>	ISO 4832:2006 (TCVN 8648:2007)	MPN/100g	5,0x10 ¹	9,0x10 ¹	6,0x10 ¹
18	<i>Staphylococcus aureus</i>	MKL-HS 05.5 Ref. ISO 6888-1:1999/Amd.1:2003	CFU/g	3,0x10 ¹	3,0x10 ¹	2,0x10 ¹
19	<i>Clostridium perfringens</i>	ISO 7937:2004	CFU/g	<10	<10	<10
20	<i>Escherichia coli</i>	ISO 16649-2:2001 (TCVN 7924-2:2008)	CFU/g	4,0x10 ¹	3,0x10 ¹	4,0x10 ¹
21	<i>Salmonella</i>	ISO 6579-1:2017 (TCVN 4829:2005)	CFU/g	ND	ND	ND

Mẫu đầu và vỏ tôm đại diện cho 3 mẻ tôm thẻ chân trắng phế liệu được phân tích các thành phần hoá học như thể hiện ở bảng 1. Ở các mẫu tôm, độ ẩm chiếm tỉ lệ cao, đạt 74,6 - 75,1 %. Thành phần hóa học của đầu và vỏ tôm thẻ chân trắng chủ yếu chứa protein (13,8 - 30,6 %), khoáng (9,86 - 18,9 %), chitin (16,6 - 16,9 %) và lipid (1,2 - 1,58 %). Protein trong nguyên liệu đầu và vỏ tôm chủ yếu là phần thịt còn sót lại và một phần protein liên kết trong cấu trúc chitin. Chất khoáng trong vỏ tôm chủ yếu là CaCO₃, Ca₃(PO₄)₂ và một số muối vô cơ khác. Bên cạnh đó, tôm phế liệu cũng được phân tích và đánh giá nồng độ kim loại nặng. Kết quả bảng 1 cho thấy, hàm lượng asen trong mẫu

dao động từ 0 - 0,177 mg/kg khô và cadimi có nồng độ từ 0,1 - 0,207 mg/kg khô. Trong khi đó, thủy ngân và chì nằm ở giới hạn thấp và gần như không có. Do vậy, quá trình xử lý nước thải sau này cần đặc biệt lưu ý đến công nghệ xử lý asen và cadimi. Các mẫu tôm thẻ chân trắng cũng đồng thời được đánh giá thành phần vi sinh vật gây bệnh. Mẫu tôm phế liệu có *Coliforms* thấp, dao động từ 0 – 90 MPN/100g. *Coliforms* có thể được tìm thấy trong môi trường nước, trong đất và trên thảm thực vật. Mặc dù bản thân *Coliforms* không phải là nguyên nhân gây bệnh nghiêm trọng nhưng chúng được sử dụng để chỉ ra rằng các sinh vật gây bệnh khác có thể tồn tại. Tương tự như *Coliforms*, sự xuất hiện của *S. aureus*, *C. perfringens*, *Salmonella* đều ở ngưỡng cho phép và không phát hiện. Kết quả trên một phần khẳng định độ an toàn về chất lượng thực phẩm của tôm thẻ chân trắng thu thập tại cơ sở chế biến tôm.

Bảng 2. Thành phần hoá học và chỉ tiêu phân tích vi sinh từ tôm sú thu thập tại cơ sở chế biến tôm.

STT	Chỉ tiêu	Phương pháp phân tích	Đơn vị	Đầu vỏ tôm sú BTS-1	Đầu vỏ tôm sú BTS-2	Đầu vỏ tôm sú BTS-3
1	Độ ẩm	TCVN 4326 :2001	%	70,6	78,5	74,6
2	Hàm lượng chitin	MKL-HH 1097 Ref. International Journal of Mechanical Engineering and Technology	%	16,8	16,85	17,0
3	Hàm lượng protein thô	TCVN 4328-1:2007	%	14,1	33,5	30,5
4	Hàm lượng lipid	TCVN 4331:2001	%	1,78	4,1	4,5
5	Hàm lượng astaxanthin	MKL-HH406 Ref. Biomed. Chromatogr. 2013; 27: 757–764	%	7,0	7,12	6,95
6	Hàm lượng nitơ tổng	TCVN 9215:2012	%	2,26	5,36	4,88
7	Hàm lượng phot pho tổng	TCVN 1525:2001	%	0,34	1,41	1,13
8	Hàm tro tổng	TCVN 4327:2007	%	6,18	16,7	14,3
9	Hàm lượng khoáng	TCVN 4327:2007	%	6,18	16,7	14,3
10	Hàm lượng nitơ ammoniac	TCVN 10494:2014	%	0,03	4,2	3,8
11	Hàm lượng muối NaCl	TCVN 4806-1:2018	mg/kg khô	5,834	2,456	2,258
12	Aflatoxin tổng số	TCVN 7596:2007 ISO 16050: 200	mg/kg khô	ND	ND	ND
13	Asen (As)	AOAC 986.15	mg/kg khô	0,248	ND	ND
14	Cadimi (Cd)	AOAC 973.34 TCVN 7603:2007	mg/kg khô	0,062	0,031	0,05
15	Chì (Pb)	TCVN 7602:2007	mg/kg khô	ND	ND	0,04

STT	Chỉ tiêu	Phương pháp phân tích	Đơn vị	Đầu vỏ tôm sú BTS-1	Đầu vỏ tôm sú BTS-2	Đầu vỏ tôm sú BTS-3
16	Thủy ngân (Hg)	AOAC 971.21 TCVN 7604:2007	mg/kg khô	ND	ND	ND
17	<i>Coliforms</i>	ISO 4832:2006 (TCVN 8648:2007)	MPN/100g	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	7,0x10 ¹
18	<i>Staphylococcus aureus</i>	MKL-HS 05.5 Ref. ISO 6888-1:1999/Amd.1:2003	CFU/g	<10	2,0x10 ¹	3,0x10 ¹
19	<i>Clostridium perfringens</i>	ISO 7937:2004	CFU/g	<10	<10	<10
20	<i>Escherichia coli</i>	ISO 16649-2:2001 (TCVN 7924-2:2008)	CFU/g	<10	2,0x10 ¹	3,0x10 ¹
21	<i>Salmonella</i>	ISO 6579-1:2017 (TCVN 4829:2005)	CFU/g	ND	ND	ND

Ngoài tôm thẻ chân trắng, một lượng lớn tôm sú được chế biến tại các cơ sở chế biến tôm. Từ bảng 2 cho thấy, protein, khoáng và chitin là ba thành phần lớn nhất ở 03 mẫu tôm sú thu thập tại 3 mẻ khác nhau. Hàm lượng protein từ tôm sú cao hơn tôm thẻ chân trắng ở trên. Tuy nhiên, hàm lượng khoáng lại thấp hơn nhiều. Sự sai khác có thể do loại tôm khác nhau và môi trường sống. Hàm lượng sắc tố trong vỏ tôm là 6,9 - 7,1%, được biết đến chủ yếu là astaxanthin. Trong quá trình sản xuất chitin, astaxanthin sẽ bị mất một phần do tác động của HCl và NaOH, tuy nhiên sản phẩm chitin vẫn còn chứa một lượng astaxanthin nhất định và chính lượng astaxanthin này tạo nên màu đặc trưng cho sản phẩm chitin. Trong khi đó, hàm lượng astaxanthin chiếm hàm lượng lớn trong dịch thủy phân protein từ tôm phế liệu. Đây là một chất có giá trị kinh tế cao, có thể thu hồi đồng thời với protein.

Ngoài các thành phần trên, trong phế liệu tôm còn chứa một lượng đáng kể lipid (1,78%). Thành phần lipid này có thể được loại bỏ trong quá trình khử protein bằng hoá chất như NaOH thông qua phản ứng xà phòng hóa. Ngoài ra, hàm lượng muối từ mẫu tôm sú (5,834 mg/kg khô) cao hơn tôm thẻ chân trắng dù cùng môi trường nuôi (4,577 mg/kg khô).

Để đánh giá độ an toàn và yếu tố công nghệ trong quá trình xử lý nước thải, các chỉ tiêu về kim loại nặng và vi sinh vật được đánh giá (Bảng 2). Tương tự như mẫu tôm thẻ chân trắng, hàm lượng asen khá tương đương, đạt khoảng 0,248 mg/kg khô. Trong khi đó, chì và thủy ngân gần như không phát hiện được hoặc ở mức thấp. Sự giống nhau có thể do môi trường nuôi trồng tôm có hàm lượng asen cao hơn các kim loại nặng còn lại. Về đánh giá độ an toàn thực phẩm và chỉ tiêu xử lý nước thải, mẫu tôm sú phế liệu có *Coliforms* đạt 5,0 x 10¹ MPN/100g, cao hơn không đáng kể so với tôm thẻ chân trắng (Bảng 2). Đặc biệt, *S. aureus*, *C. perfringens*, *E. coli* đều dưới ngưỡng 10 CFU/g. Vi khuẩn *Salmonella* gây bệnh ngộ độc thực phẩm không được phát hiện. Điều này khẳng

định độ an toàn về chất lượng thực phẩm của tôm sú và tạo tiền đề để xây dựng phương án xử lý nước thải chế biến.

Ví dụ 2: Thu hồi protein và chitin bằng enzym sinh học quy mô 300kg đầu vỏ tôm phế liệu/mẻ

(i) ép đầu vỏ tôm

Nguyên liệu đầu vỏ tôm phế liệu 300kg được ép bằng máy ép đùn trục vít công suất 3kw, năng suất 200 kg/giờ; với 300kg nguyên liệu được ép trong 1 giờ 30 phút; sau khi ép xong thu được dịch ép đầu vỏ tôm và bã ép đầu vỏ tôm, bã ép đầu vỏ tôm thu được tiếp tục chuyển sang bước thủy phân protein bằng enzym sinh học;

(ii) thủy phân và thu hồi chitin thô

Dịch ép đầu vỏ tôm thu được từ đầu vỏ tôm, tiếp tục thủy phân với với enzym sinh học proteaza (chế phẩm proteaza thương mại của hãng Novozyme dạng bột, màu nâu được sản xuất bằng phương pháp lên men rắn, là enzym mang cả hai hoạt tính endoproteaza và exoproteaza, có khả năng thủy phân các liên kết peptit bên trong chuỗi polypeptit và các liên kết ở hai đầu tận cùng của chuỗi. Chế phẩm có hoạt độ proteaza 1,0 AU (Anson Unit)/g. Hoạt động tối ưu ở độ pH 7,0 - 7,5, nhiệt độ 50°C), enzym proteaza bổ sung vào dịch ép đầu vỏ tôm là 1,2% ở nhiệt độ phản ứng 50°C, độ pH 7,0 ở điều kiện khuấy 50 vòng/phút trong 3 giờ. Sau thời gian thủy phân thu được sản phẩm protein.

Phần bã ép đầu vỏ tôm thu được sau quá trình ép được trộn với nước theo tỉ lệ bã : nước là 1:4 (w/v); sau đó tiếp tục thủy phân với enzym sinh học proteaza, trong đó enzym proteaza chiếm 1,2% tổng khối lượng của bã và enzym trước khi bổ sung nước, nhiệt độ phản ứng 50 °C, độ pH 7,0 ở điều kiện khuấy 50 vòng/phút trong 3 giờ; sau thời gian thủy phân, hỗn dịch được ly tâm với tốc độ 4.000 vòng/phút trong 15 phút; loại bỏ protein thu được chitin thô;

Để loại bỏ hoàn toàn protein trong chitin thô, chitin thô tiếp tục được xử lý với NaOH 1,0% theo tỉ lệ chitin thô : dung dịch NaOH 1,0% là 1:1 (w/v), ở nhiệt độ 80°C, ở điều kiện khuấy 50 vòng/phút trong 1 giờ; sau thời gian 1 giờ, lọc qua phin lọc thu chitin thô, chitin thô được rửa với nước cho tới khi độ pH đạt 6,5 – 7,0; sau khi loại bỏ protein và nước thu được chitin thô;

(iii) loại màu, tẩy trắng chitin thô

Chất màu còn trong chitin thô được tẩy với dung dịch thuốc tím KMnO_4 0,1% với tỉ lệ chitin thô : KMnO_4 là 1:1 (w/v), ngâm trong 15 phút; sau đó lọc qua phin lọc và chitin được rửa sạch bằng nước, tiếp đó ngâm trong dung dịch axit oxalic ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$) 1,0% với tỉ lệ chitin : axit oxalic là 1:1 (w/v) trong 1 - 2 giờ cho đến khi sản phẩm có màu trắng thì lọc qua phin lọc và chitin được rửa sạch bằng nước, thu được sản phẩm chitin sạch;

(iv) sấy khô và thu sản phẩm chitin

Sản phẩm chitin sạch sau khi loại bỏ protein và tẩy trắng được sấy ở nhiệt độ 45°C có quạt gió tản nhiệt trong 16 - 18 giờ cho tới khi độ ẩm đạt dưới 10% và thu được sản phẩm chitin tinh khiết.

Bảng 3. Kết quả phân tích chế phẩm nguyên liệu protein của các mẫu protein NLP1, NLP2 và NLP3

STT	Chỉ tiêu	Phương pháp phân tích	Đơn vị	Kết quả phân tích mẫu NLP1	Kết quả phân tích mẫu NLP2	Kết quả phân tích mẫu NLP3
1	Độ ẩm	TCVN 4326:2001	%	86,9	90,0	91,0
2	Hàm lượng natri clorua (NaCl)	TCVN 4806-1:2018	%	1,13	2,32	2,21
3	Tro tổng	TCVN 4327: 2007	%	1,52	0,811	0,924
4	Nitơ amoniac	TCVN 10494:2014	%	0,620	0,701	0,800
5	Hàm lượng khoáng tổng số	TCVN 4327: 2007	%	1,52	0,811	0,924
6	Protein thô	TCVN 4328-1: 2007	%	8,36	15,8	16,2
7	<i>Clostridium perfringens</i>	ISO 7937:2004	CFU/g	<10	<10	<10
8	Định lượng <i>Staphylococcus aureus</i>	AOAC 975.55	CFU/g	<10	<10	<10
9	Định lượng <i>Coliforms</i>	TCVN 6848:2007 (ISO 4832:2006)	CFU/g	<10	<10	<10
10	Phát hiện <i>Salmonella</i> spp.	ISO 6579-1: 2017/ Amd.1:2020	Phát hiện/25g	<10	ND	ND
11	Định lượng <i>E. coli</i>	TCVN 7924-2:2008 (ISO 16649-2:2001)	CFU/g	<10	<10	<10
12	Chì (Pb)	AOAC 986.15	mg/kg	ND	ND	ND
13	Asen (As)	AOAC 986.15	mg/kg	ND	ND	ND
14	Cadimi (Cd)	AOAC 986.15	mg/kg	ND	ND	ND
15	Thủy ngân (Hg)	EN 16277:2012	mg/kg	ND	ND	ND
16	Aflatoxin tổng số	TCVN 9126:2011	$\mu\text{g/kg}$	ND	ND	ND

Kết quả thành phần của nguyên liệu protein thu hồi từ đầu và vỏ tôm thẻ chân trắng được phân tích và thể hiện ở bảng 3. Ở cả ba mẫu, độ ẩm chiếm tỉ lệ cao, đạt 86,9 – 91 %. Thành phần hóa học chứa protein (8,36 - 16,2 %), khoáng (0,811 - 1,52 %) và NaCl (1,13 - 2,31 %). Protein trong nguyên liệu đầu và vỏ tôm chủ yếu là phần thịt còn sót lại và một phần protein liên kết trong cấu trúc chitin. Chất khoáng trong nguyên liệu chủ yếu là CaCO_3 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ và một số muối vô cơ khác. Thông thường phần khoáng này sẽ bị hòa tan khi xử lý với dung dịch HCl, tuy nhiên lượng nhỏ khoáng liên kết sâu trong cấu trúc chitin rất khó tách. Bên cạnh đó, nguyên liệu cũng được phân tích và đánh giá nồng độ kim loại nặng. Kết quả cho thấy hàm lượng asen, thủy ngân, cadimi, chì trong mẫu không xác định. Theo QCVN 01 - 190: 2020/BNNPTNT quy chuẩn về thức ăn chăn nuôi, những chỉ tiêu này đạt tiêu chuẩn sử dụng trong thức ăn chăn nuôi từ nguyên liệu có nguồn gốc thủy sản.

Ngoài ra, các mẫu cũng đồng thời được đánh giá thành phần vi sinh vật gây bệnh. Tất cả các mẫu đều không phát hiện *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. và *E. coli*, *Coliforms* có thể được tìm thấy trong môi trường nước, trong đất và trên thảm thực vật. Mặc dù *Coliforms* không phải là nguyên nhân gây bệnh nghiêm trọng nhưng được sử dụng để chỉ ra rằng các sinh vật gây bệnh khác có thể tồn tại. Chỉ tiêu về chất độc aflatoxin cũng đạt tiêu chuẩn cho thành phần thức ăn chăn nuôi với kết quả phân tích không phát hiện sự có mặt của chất này trong mẫu nguyên liệu. Các kết quả thu được đã khẳng định thành phần dinh dưỡng và độ an toàn về chất lượng của nguyên liệu protein thu được từ đầu vỏ tôm.

Bảng 4. Kết quả phân tích sản phẩm chitin của các mẫu CPC5, CPC6

STT	Chỉ tiêu	Phương pháp phân tích	Đơn vị	Chế phẩm chitin CPC5	Chế phẩm chitin CPC6
1	Nitơ amoniac	TCVN 10494:2014	%	ND	ND
2	Hàm lượng Natri clorua (NaCl)	TCVN 4806-1:2018	%	0,055	0,059
3	Độ ẩm	TCVN 4326:2001	%	8,51	8,20
4	Hàm lượng khoáng tổng số	TCVN 4327: 2007	%	0,680	0,712
5	Tro tổng	TCVN 4327: 2007	%	0,680	0,712
6	Protein thô	TCVN 4328-1: 2007	%	0,606	0,302
7	Phot pho	TCVN 1525:2001	%	ND	ND
8	Nitơ tổng số	TCVN 4328-1: 2007	%	0,097	0,048
9	Lipit	TCVN 4331:2001	%	0,131	0,144
10	Chì (Pb)	AOAC 986.15	mg/kg	ND	ND
11	Asen (As)	AOAC 986.15	mg/kg	ND	ND
12	Cadimi (Cd)	AOAC 986.15	mg/kg	ND	ND
13	Thủy ngân (Hg)	EN 16277:2012	mg/kg	ND	ND
14	Aflatoxin tổng số	TCVN 9126:2011	µg/kg	ND	ND

15	Astaxanthin	MKL-HH406 Ref. Biomed. Chromatogr. 2013; 27: 757–764	%	16,82	16,85
16	Chitin	MKL-HH 1097 Ref. international journal of mechanical engineering and technology	%	16,7	16,6

Kết quả từ bảng 4 cho thấy đối với nhóm mẫu CPC5, CPC6, chitin là thành phần lớn nhất dao động từ 16,6 - 16,7 % ở hai mẫu phân tích. Hàm lượng protein không quá khác biệt giữa các mẫu dưới 1,0 %. Hàm lượng khoáng được xác định từ 0,680 - 0,712 % và lượng NaCl không dao động nhiều trong khoảng 0,055 - 0,059 %. Độ ẩm của cả hai mẫu đều chiếm tỉ lệ trong khoảng 8,20 - 8,51 %. Tương tự như các mẫu CPC5, CPC6 cũng được đánh giá về độ an toàn dựa trên sự có mặt của các kim loại nặng, vi sinh vật và chất gây độc. Hàm lượng asen, chì, thủy ngân và cadimi đều không xác định trong cả hai mẫu. Các vi sinh vật *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. và *E. coli* đều không phát hiện cho thấy mẫu nguyên liệu đủ tiêu chuẩn an toàn thực phẩm. Aflatoxin cũng không xuất hiện trong hai mẫu, khẳng định độ an toàn về chất lượng thực phẩm của nguyên liệu và có tiềm năng phát triển thành sản phẩm sử dụng trong nông nghiệp và thực phẩm.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất protein và chitin từ đầu vỏ tôm phế liệu sử dụng enzym sinh học để xử lý theo giải pháp hữu ích giúp tận dụng được nguồn phế liệu từ ngành chế biến tôm, giảm ô nhiễm thứ cấp và nâng cao giá trị kinh tế phụ phẩm của ngành chế biến tôm, việc sử dụng enzym sinh học proteaza sử dụng trong quy trình để thu nhận đầu vỏ tôm có nhiều ưu điểm so với phương pháp hóa học thông thường, không cần axit để loại khoáng, giảm hàm lượng NaOH 50%. Ngoài ra, nâng cao giá trị protein thủy phân có hàm lượng axit amin, các mạch peptit ngắn cao ứng dụng bổ sung vào thức ăn chăn nuôi hiệu quả và thu được hàm lượng chitin có độ tinh sạch cao hàm lượng đạt trên 16%, độ ẩm dưới 10% và protein dư dưới 1,0% và không chứa kim loại nặng và vi sinh vật gây bệnh. Đây là giải pháp tốt với việc tận dụng phụ phẩm đầu vỏ tôm phế liệu từ các cơ sở chế biến tôm là nguồn thu protein, chitin chất lượng cao, giảm tiêu ô nhiễm môi trường và nâng cao hiệu quả kinh tế của phụ phẩm từ ngành tôm.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất chitin từ đầu vỏ tôm phế liệu tại các cơ sở chế biến tôm, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

(i) ép đầu vỏ tôm

nguyên liệu đầu vỏ tôm phế liệu 300kg được ép bằng máy ép đùn trục vít công suất 3kw, năng suất 200kg/giờ; với 300kg nguyên liệu được ép trong 1 giờ 30 phút; sau khi ép xong thu được dịch ép đầu vỏ tôm và bã ép đầu vỏ tôm, bã ép đầu vỏ tôm thu được tiếp tục chuyển sang bước thủy phân protein bằng enzym sinh học;

(ii) thủy phân và thu hồi chitin thô

phần bã ép đầu vỏ tôm thu được ở bước (i) sau quá trình ép được trộn với nước theo tỉ lệ bã : nước là 1:4 (w/v); sau đó tiếp tục thủy phân với enzym sinh học proteaza, trong đó enzym proteaza chiếm 1,2% tổng khối lượng của bã và enzym trước khi bổ sung nước, nhiệt độ phản ứng 50°C, độ pH 7,0 ở điều kiện khuấy 50 vòng/phút trong 3 giờ; sau thời gian thủy phân, hỗn dịch được ly tâm với tốc độ 4.000 vòng/phút trong 15 phút; loại bỏ protein thu được chitin thô;

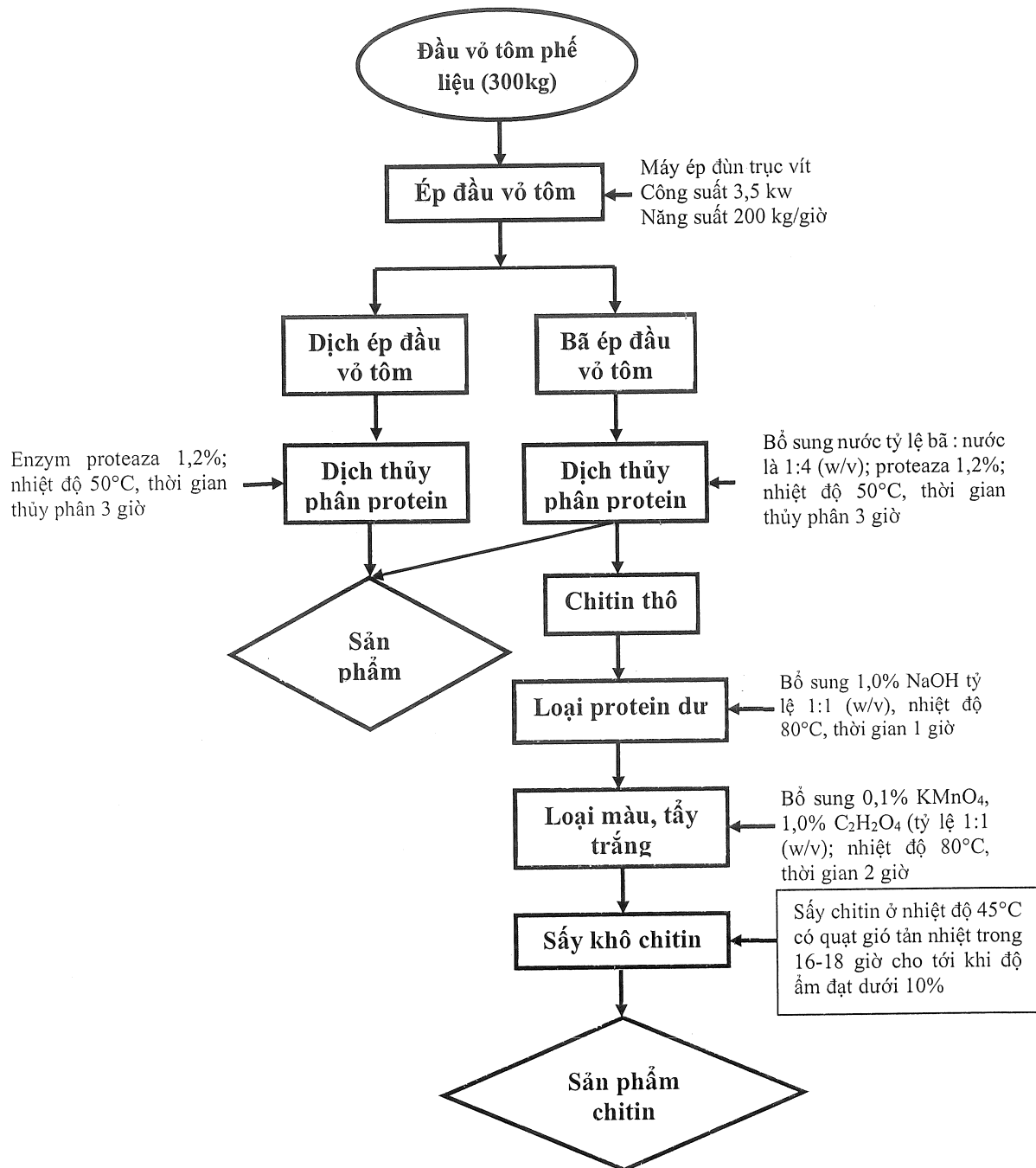
để loại bỏ hoàn toàn protein trong chitin thô, chitin thô tiếp tục được xử lý với NaOH 1,0% theo tỉ lệ chitin thô : dung dịch NaOH 1,0% là 1:1 (w/v), ở nhiệt độ 80°C, ở điều kiện khuấy 50 vòng/phút trong 1 giờ; sau thời gian 1 giờ, lọc qua phin lọc thu chitin thô, chitin thô được rửa với nước cho tới khi độ pH đạt 6,5 – 7,0; sau khi loại bỏ protein và nước thu được chitin thô;

(iii) loại màu, tẩy trắng chitin thô

Chất màu còn trong chitin thô thu được ở bước (ii) được tẩy với dung dịch thuốc tím KMnO_4 0,1% với tỉ lệ chitin thô : KMnO_4 là 1:1 (w/v), ngâm trong 15 phút; sau đó lọc qua phin lọc và chitin được rửa sạch bằng nước, tiếp đó ngâm trong dung dịch axit oxalic ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$) 1,0% với tỉ lệ chitin : axit oxalic là 1:1 (w/v) trong 1 - 2 giờ cho đến khi sản phẩm có màu trắng thì lọc qua phin lọc và chitin được rửa sạch bằng nước, thu được sản phẩm chitin sạch;

(iv) sấy khô và thu sản phẩm chitin

sản phẩm chitin sạch sau khi loại bỏ protein và tẩy trắng thu được ở bước (iii) được sấy ở nhiệt độ 45°C có quạt gió tản nhiệt trong 16 - 18 giờ cho tới khi độ ẩm đạt dưới 10% và thu được sản phẩm chitin tinh khiết.



Hình 1.