

ẢNH HƯỞNG CỦA PHƯƠNG PHÁP LOẠI KHOÁNG VÀ PROTEIN ĐẾN CHẤT LƯỢNG CHITOSAN TỪ NANG MỰC NANG (*SEPIA ESCULENTA*)

Lê Thị Minh Thủy¹, Nguyễn Văn Thom¹, Trần Thanh Trúc²

TÓM TẮT

Sản xuất chitosan bằng phương pháp giảm lượng hóa chất sử dụng nhằm bảo vệ môi trường và nâng cao giá trị của phụ phẩm là hướng nghiên cứu được quan tâm trong những năm gần ở Việt Nam. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của phương pháp khử khoáng và loại protein đến chất lượng của chitosan từ nang mực nang đã được khảo sát. Mẫu được loại khoáng bằng hai phương pháp khác nhau: (i) ngâm trong HCl 8% trong 24 giờ và (ii) xử lý trong CH₃COOH 5% rồi tiếp tục ngâm trong HCl 6% trong 24 giờ. Sau khi chọn được phương pháp xử lý cho hiệu quả khử khoáng tốt nhất, mẫu được chia thành hai nhóm để tiếp tục khử protein: nhóm 1 xử lý trong NaOH 8% và nhóm 2 xử lý bằng enzyme alcalase nồng độ 0,2% trong 15 giờ ở nhiệt độ 50-55°C. Sau khi loại protein, hai nhóm mẫu được tiến hành deacetyl hóa trong NaOH nóng độ 50% trong 48 giờ ở 65°C - 70°C thì cho độ deacetyl khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Từ kết quả nghiên cứu có thể kết luận rằng phương pháp khử khoáng bằng cách kết hợp acid acetic và HCl (giảm nồng độ HCl từ 8% xuống còn 6%) và loại protein bằng enzyme alcalase 0,2% (loại được lượng NaOH 8% theo phương pháp hóa học) nhưng vẫn không ảnh hưởng đến chất lượng của chitosan từ nang mực nang.

Từ khóa: Chitosan, khử khoáng, loại protein, nang mực.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bên cạnh tôm và cá tra, mực nang cũng là một trong những mặt hàng xuất khẩu chủ lực của nước ta, với sản lượng khai thác khoảng 26.000 tấn trên một năm, phần lớn ở vùng biển Nam bộ đạt khoảng 20.000 tấn, chiếm khoảng 76% tổng sản lượng mực nang. Miền Trung chiếm sản lượng khoảng 5.000 tấn (21%) và được xuất khẩu sang hơn 30 thị trường khác nhau (Hội Nghề cá Khánh Hòa, 2016). Vì thế lượng phụ phẩm nang mực từ ngành chế biến mực nang cũng không nhỏ. Nang mực được xem như là một vị thuốc với nhiều công dụng chữa bệnh. Ngoài ra, nang mực cũng là một nguồn nguyên liệu để sản xuất chitosan.

Chitosan - chitin là một polymer có nguồn gốc từ quá trình deacetyl chitin được chiết rút từ vỏ của các loài giáp xác (tôm, cua, nang mực) là chủ yếu (Shahidi *et al.*, 1999; Rinaudo, 2006). Chitosan được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như nông nghiệp, công nghiệp, y dược, thực phẩm và môi trường (Rinaudo, 2006) bởi tính an toàn sinh học, không độc, tr phân hủy, tạo màng, kháng khuẩn và chống oxy hóa tốt (Terbojevich and Muzarelli, 2000; Liu *et*

al., 2000; Jeon *et al.*, 2006). Quá trình sản xuất chitosan từ vỏ giáp xác trải qua ba công đoạn chính: khử khoáng, khử protein và deacetyl hóa. Hầu hết các qui trình sản xuất chitosan đều sử dụng hóa chất nồng độ cao và thời gian xử lý dài để loại khoáng và khử bớt protein, tạo ra lượng chất thải khó xử lý (Trang Sĩ Trung, 2009). Vì vậy, sản xuất chitosan theo qui trình giảm thiểu lượng chất thải hóa chất khó xử lý góp phần hình thành và phát triển ngành công nghiệp xử lý phế liệu thủy sản theo phương thức bền vững, thân thiện với môi trường và tăng hiệu quả kinh tế, cũng như nâng cao chất lượng chitosan. Xuất phát từ thực tế trên, nghiên cứu "Ảnh hưởng của phương pháp khử khoáng và loại protein đến chất lượng của chitosan từ nang mực nang (*Sepia esculenta*)" đã được thực hiện.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nang mực được thu tại Công ty TNHH Thủy sản Huy Nam, khu cảng cá Tắc Cậu, Kiên Giang được bảo quản lạnh và chuyển về Phòng thí nghiệm chế biến thủy sản, Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ. Mẫu được trữ trong tủ đông -20°C cho đến khi bố trí thí nghiệm.

2.2. Hóa chất

Hóa chất sử dụng trong quá trình ly trích: HCl, enzyme alcalase tinh khiết, NaOH, Methyl Red, dung

¹ Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

Email: ltmthuy@cctu.edu.vn

dịch acetic acid 5%. Va một số hóa chất sử dụng trong phòng thí nghiệm.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của phương pháp xử lý và thời gian xử lý đến khả năng khử khoáng trong nguyên liệu

Tiến hành thí nghiệm: nang mực được rửa sạch, cắt nhỏ, phơi ráo nước rồi chia thành 2 nhóm mẫu. Nhóm 1 ngâm trong HCl 8% ở 3 mốc thời gian khác nhau lần lượt là 12, 24 và 36 giờ. Nhóm 2 được ngâm trong CH₃OOH 5% trong 15 giờ rồi tiếp tục xử lý với HCl 6% trong các mốc thời gian khác nhau lần lượt là 12, 24 và 36 giờ, tỷ lệ nang mực: dung dịch (w/v) là 1:7 trong điều kiện nhiệt độ phòng. Sau khi ngâm, mẫu được rửa trung tính, phơi ráo mẫu và đem phân tích hàm lượng khoáng còn lại trong nang mực để tìm ra phương pháp xử lý và thời gian khử khoáng thích hợp nhất cho hiệu quả khử khoáng cao nhất.

Thí nghiệm được khảo sát thông qua hai nhân tố (phương pháp xử lý và thời gian ngâm hóa chất) và được lặp lại 3 lần. Khối lượng mỗi mẫu là 100 g trên một lần bố trí thí nghiệm.

2.3.2. Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của phương pháp xử lý và thời gian ngâm đến khả năng khử protein trong nguyên liệu

Tiến hành thí nghiệm: sau khi chọn được chế độ khử khoáng thích hợp (kết quả thí nghiệm 1), nang mực được chia làm 2 nhóm thí nghiệm: nhóm 1 khử protein bằng NaOH 8% trong 3 mốc thời gian, nhóm 2 được thủy phân bằng enzyme alcalase 0,2% (tỷ lệ nang mực:dung dịch enzyme (w/v) là 1:10) trong điều kiện nhiệt độ là 50°C-55°C ở các mốc thời gian khác nhau lần lượt là 12, 15 và 18 giờ. Sau khi xử lý, mẫu được rửa trung tính, phơi ráo rồi phân tích protein còn lại trong mẫu nhằm đánh giá ảnh hưởng của phương pháp xử lý đến hiệu quả loại protein của nang mực.

Thí nghiệm được khảo sát thông qua hai nhân tố (phương pháp xử lý và thời gian xử lý), được lặp lại 3 lần. Khối lượng mỗi mẫu là 100 g trên một lần bố trí thí nghiệm.

2.3.3. Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của thời gian ngâm trong NaOH đến độ deacetyl hóa của sản phẩm

Tiến hành thí nghiệm: hai nhóm mẫu sau khi loại protein (kết quả thí nghiệm 2) được deacetyl

trong NaOH nóng độ 50% với tỷ lệ nang mực: dung dịch (w/v) là 1:8, trong các mốc thời gian khác nhau lần lượt là 24, 36 và 48 giờ và nhiệt độ trong suốt quá trình deacetyl là 65°C -70°C. Mẫu sau khi xử lý NaOH tiến hành rửa trung tính, sấy khô mẫu, nghiên cứu sau đó được đo độ deacetyl hóa nhằm tìm ra thời gian xử lý trong NaOH 50% thích hợp nhất để đạt độ deacetyl cao nhất.

Thí nghiệm được khảo sát thông qua một nhân tố (thời gian ngâm trong NaOH) và lặp lại 3 lần. Khối lượng mỗi mẫu là 100 g trên một lần bố trí thí nghiệm.

2.4. Phương pháp phân tích

Đo độ deacetyl hóa (DD): Sử dụng phương pháp chuẩn độ axit - bazơ. Mẫu chitosan 0,1 g (m) được hòa tan trong 30 mL HCl 0,1 M (C1) ở điều kiện nhiệt độ phòng, sau đó nhỏ 5-6 giọt methyl đỏ vào. Dung dịch chitosan đó được chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,1M (C2) cho đến khi chuyển thành màu cam. Độ deacetyl được tính dựa trên số mL NaOH đã chuẩn độ theo công thức:

$$DD (\%) = (C_1 V_1 - C_2 V_2) \times 0,016 / (m \times 0,0994)$$

Đo độ nhớt: Sử dụng máy Brookfield DV. Mẫu chitosan 0,1% được pha trong dung dịch acetic acid 1% cho tan hoàn toàn và đo ở nhiệt độ phòng, tốc độ quay 1000 rpm (Kim *et al.*, 1994).

Xác định hàm lượng ẩm bằng phương pháp sấy. Xác định hàm lượng đạm tổng số bằng phương pháp Kjehdal. Xác định hàm lượng khoáng bằng phương pháp nung (OAO, 2000).

Xác định độ hòa tan: theo phương pháp lọc (Hemung, 2003): sử dụng acid loãng để hòa tan chitosan, cân chính xác 0,1 g chitosan (A) và hòa tan vào 20 ml dung dịch acetic acid 1% khuấy đảo trong 30 phút. Sau đó dung dịch được lọc qua giấy lọc (khối lượng giấy lọc M) và đem sấy ở nhiệt độ 60°C đến khi khối lượng không đổi (B). Tiến hành cân lại khối lượng chitosan không tan sau khi sấy và xác định độ hòa tan của chitosan theo công thức:

$$X (\%) = (A - (B - M)) / A \times 100$$

2.5. Phương pháp xử lý 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 nang mực nang

Thành phần hóa học của nang mực nang được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Thành phần hóa học cơ bản của nang mực nang (tính trên căn bản khô)

Chỉ tiêu	Hàm lượng (%)
Ẩm độ	7,82±0,780
Khoáng	83,0±0,007
Protein	3,50±0,107

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

Thành phần hóa học là cơ sở để tìm ra các biện pháp phù hợp nhằm tối ưu hóa qui trình sản xuất. Kết quả phân tích trong bảng 1 cho thấy thành phần chủ yếu của nang mực là khoáng và protein. Trong đó, khoáng có hàm lượng tương đối cao là 83,0% và protein có hàm lượng khá thấp 3,5%. Chính hai thành phần này làm cản trở quá trình deacetyl và hiệu quả chiết rút chitosan của nguyên liệu. Để có được chitosan đạt chất lượng và hiệu suất chiết rút cao thì cần phải loại bỏ hai thành phần này.

3.2. Ảnh hưởng của phương pháp xử lý và thời gian xử lý đến khả năng khử khoáng trong nguyên liệu

Nang mực được loại khoáng bằng phương pháp 1 (ngâm HCl 8%) và phương pháp 2 (kết hợp của acetic acid 5% trong 15 giờ và HCl 6%), hàm lượng khoáng còn lại trong nguyên liệu được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Hàm lượng khoáng trong nang mực sau khi xử lý bằng 2 phương pháp khác nhau

Thời gian (h)	Hàm lượng khoáng còn lại (%) theo phương pháp 1	Hàm lượng khoáng còn lại (%) theo phương pháp 2
0	83,0±0,007 ^c	83,0±0,007 ^c
12	1,48±0,056 ^b	2,62±0,056 ^b
24	0,830±0,101 ^a	0,640±0,168 ^a
36	0,721±0,172 ^a	0,552±0,024 ^a

(Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa của các nghiệm thức khảo sát ở mức độ tin cậy 95%)

Qua kết quả thu được ở bảng 2 cho thấy, khi tăng thời gian khử khoáng nang mực bằng cách ngâm trong HCl 8% (phương pháp 1) từ 0 đến 36 giờ

thì hàm lượng khoáng giảm từ 83,0% còn 0,721%. Khi xử lý kết hợp acetic acid 5% trong 15 giờ và HCl 6% (phương pháp 2) nhằm giảm nồng độ HCl thì hàm lượng khoáng giảm từ 83,0% còn 0,552%. Sự giảm mạnh của hàm lượng khoáng trong nang mực là do thành phần hóa học của nang mực chủ yếu là các muối CaCO₃ và Ca₃PO₄, nên khi xử lý trong acid, Ca²⁺ bị tách ra khỏi nguyên liệu và kết hợp với acid tạo ra các muối khoáng hòa tan và mất đi trong quá trình rửa trung tính (Trần Thị Luyến *et al*, 2006).

Phương pháp khử khoáng kết hợp acid hữu cơ và acid vô cơ nhằm giảm nồng độ acid vô cơ đã được khảo sát trên vỏ tôm thẻ chân trắng (Ngô Thị Hoài Dương *et al*, 2008) khi sử dụng formic acid 0,4% (w/v=1:1) trong 8 giờ kết hợp HCl 4% trong 12 giờ loại được khoáng trong vỏ tôm thẻ còn 0,85%. Hàm lượng khoáng còn lại trong sản phẩm chitosan là 0,48% khi sử dụng salicylic acid 0,04 M, để xử lý mẫu vỏ tôm sú trong 10 giờ trước khi tiến hành quá trình khử khoáng bằng HCl 2,5%, 8 giờ ở 30°C, tỉ lệ 1:1 (w/v) loại được hàm lượng khoáng trong vỏ tôm sú còn dưới 1% (Nguyễn Văn Toàn, 2011). Từ các nghiên cứu trên ta thấy rằng khử khoáng trên nang mực theo phương pháp kết hợp acetic acid 5% và HCl 6% đạt hiệu quả khử cao hơn, giảm được lượng hóa chất vô cơ sử dụng. Theo Percot *et al*. (2003) tốc độ phản ứng của quá trình tách khoáng diễn ra rất nhanh ở thời gian đầu và bước xử lý với acetic acid giúp loại bỏ một lượng khoáng nhất định, làm mềm nguyên liệu, giảm thời gian và khử khoáng triệt để hơn cho HCl.

Theo kết quả xử lý thống kê thu được, tất cả các mẫu xử lý theo phương pháp 1 và 2 đều có hàm lượng khoáng <1%. Để giảm được lượng hóa chất vô cơ sử dụng, phương pháp 2 (kết hợp acetic acid 5% và HCl 6% trong 24 giờ) được chọn là phương pháp loại khoáng phù hợp.

3.3. Ảnh hưởng của phương pháp loại protein và thời gian xử lý đến khả năng khử protein của nguyên liệu

Nang mực đã khử khoáng được loại protein ở các mốc thời gian khác nhau bằng phương pháp hóa học (ngâm trong NaOH 8%) và phương pháp sinh học (xử lý bằng enzyme alcalase 0,2%), lượng protein còn lại trong nguyên liệu được thể hiện trên bảng 3.

Khi tăng thời gian xử lý nang mực trong NaOH 8% từ 0 lên 18 giờ thì lượng protein trong nguyên liệu

giảm từ 40,8% xuống còn 19,2%. Trong khi mẫu xử lý bằng enzyme alcalase 0,2% khi tăng thời gian thủy phân từ 0 lên 18 giờ thì lượng protein trong nguyên liệu giảm từ 40,8% xuống còn 26,2%. Do hoạt động của enzyme, xúc tác các phản ứng làm phân cắt các liên kết peptide trong phân tử protein thành các amino acid, peptide hòa tan và loại bỏ trong quá trình rửa nguyên liệu sau khi thủy phân nên làm giảm hàm lượng protein trong nguyên liệu (Trần Thị Luyện *et al.*, 2006).

Bảng 3. Hàm lượng protein còn lại trong nguyên liệu sau khi loại protein bằng phương pháp hóa học và sinh học ở các thời gian ngâm khác nhau

Thời gian xử lý (giờ)	Lượng protein còn lại (%) theo phương pháp hóa học	Lượng protein còn lại (%) theo phương pháp sinh học
0	40,8±0,840 ^c	40,8±0,840 ^c
12	26,6±1,29 ^b	36,2±2,21 ^b
15	20,9±0,58 ^c	27,4±0,042 ^a
18	19,2±0,85 ^c	26,2±1,18 ^a

Ghi chú: các chữ cái (a, b) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%

Kết quả nghiên cứu cho thấy hiệu quả loại protein bằng phương pháp sinh học có phần hạn chế hơn phương pháp hóa học. Quá trình khử protein vô tôm bằng enzyme alcalase nồng độ 3% ở 60°C, tỉ lệ 1:1 (w/v) đã làm giảm hàm lượng protein trong nguyên liệu xuống còn 9,19%. Vô tôm xử lý với KOH (5%, tỉ lệ 1:10 (w/v)) lượng protein còn lại là 3,99% (Holanda và Netto, 2006). Điều này là do sự liên kết chặt chẽ giữa chitin và protein trong nguyên liệu làm hạn chế sự tiếp xúc của enzyme với cơ chất trong quá trình thủy phân (Phạm Thị Đan Phương và Trang Sĩ Trung, 2012). Tuy nhiên, việc sử dụng enzyme để loại protein thay hóa chất sẽ giảm thiểu được lượng hóa chất xử lý, tăng tính an toàn cho sản phẩm, giải quyết vấn đề môi trường, góp phần phát triển bền vững vùng ngành công nghiệp sản xuất chitin-chitosan. Để so sánh ảnh hưởng của phương pháp khử protein đến tính chất của chitosan từ nang mực, chọn mẫu xử lý bằng NaOH 8% trong 15 giờ và mẫu xử lý bằng enzyme alcalase 0,2% trong thời gian 15 giờ để tiến hành thí nghiệm deacetyl hóa.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian ngâm NaOH đến độ deacetyl hóa của sản phẩm

Chitin là một tập hợp các phân tử liên kết với nhau được xử lý NaOH đậm đặc ở nhiệt độ cao để thực hiện quá trình deacetyl hóa tạo thành chitosan. Kết quả đo độ deacetyl hóa của chitosan thu được đã được thể hiện trên bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng thời gian xử lý NaOH 50% đến độ deacetyl hóa của sản phẩm

Thời gian deacetyl (giờ)	Độ deacetyl (%) của chitosan khử protein bằng NaOH 8%	Độ deacetyl (%) của chitosan khử protein bằng enzyme alcalase 0,2%
24	83,9±3,41 ^c	84,5±1,13 ^c
36	93,7±5,69 ^a	93,1±4,10 ^a
48	95,8±1,14 ^a	95,2±5,13 ^a

Ghi chú: các chữ cái (a, b) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%

Thông qua số liệu đã phân tích, khi tăng thời gian deacetyl trong môi trường NaOH 50% từ 24 đến 48 giờ, độ deacetyl của chitosan khử protein bằng NaOH 8% tăng từ 83,9% đến 95,8%. Trong khi độ deacetyl của chitosan khử protein bằng enzyme alcalase 0,2% tăng từ 84,5% đến 95,2%. Trong nguyên liệu chitin hầu hết ở trạng thái liên kết với protein, CaCO₃ và các hợp chất hữu cơ khác, dưới tác dụng của kiềm đặc và điều kiện nhiệt độ cao, nhóm -NHCOCH₃ có trong chitin bị chuyển thành nhóm -NH₂, loại bỏ nhóm acetyl (-CO-CH₃) và tạo thành chitosan tương ứng. Nồng độ và thời gian xử lý NaOH càng cao thì độ deacetyl càng cao và khi đạt ngưỡng >70% thì quá trình deacetyl đã hoàn thành (Trần Thị Luyện *et al.*, 2006).

Đã có nhiều nghiên cứu sử dụng NaOH 50% để deacetyl hóa chitin thành chitosan. Lertsuthiwong *et al.* 2012 (Lertsuthiwong *et al.*, 2002) đã deacetyl hóa vô tôm thẻ bằng NaOH 50% ở 40°C trong 72 giờ đạt 88%, còn với nghiên cứu của Toan (2011) thì độ deacetyl hóa vô tôm sú bằng NaOH 50%, 65°C trong 18 giờ là 89% (Lertsuthiwong *et al.*, 2002). Điều này cho thấy độ deacetyl phụ thuộc vào loại nguyên liệu ban đầu, nhiệt độ và thời gian deacetyl hóa khác nhau. Tóm lại, chitosan từ nang mực nang được loại protein bằng NaOH 8% và loại protein bằng enzyme alcalase 0,2% được deacetyl hóa bằng NaOH 50% trong 48 giờ đạt độ deacetyl hóa cao nhất và hai mẫu được xử lý loại protein bằng 2 phương pháp khác

nhau có độ deacetyl khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi được xử lý deacetyl trong 48 giờ. Điều này cho thấy phương pháp loại protein của nang mực trong nghiên cứu này không ảnh hưởng đến độ deacetyl của sản phẩm chitosan.

3.5. Kết quả so sánh chất lượng của chitosan nang mực nang loại protein bằng 2 phương pháp khác nhau

Sự khác biệt về chất lượng và các yếu tố đánh giá chất lượng chitosan như độ deacetyl hóa, độ nhớt và độ hòa tan của sản phẩm của chitosan từ nang mực nang được loại protein bằng 2 phương pháp khác nhau thể hiện trên bảng 5.

Bảng 5. Kết quả so sánh chất lượng chitosan từ nang mực nang được sản xuất theo 2 phương pháp loại protein khác nhau

Chi tiêu	Chitosan loại protein bằng NaOH 8%	Chitosan loại protein bằng enzyme alcalase 0,2%
Độ deacetyl (%)	95,8±1,14	95,2±5,13
Độ nhớt (mPas)	32,3±0,212	31,1±1,07
Độ hòa tan (%)	96,6±0,318	96,8±0,416

Chất lượng của chitosan được đánh giá dựa trên độ nhớt và độ deacetyl. Qua bảng 5, khi so sánh các chi tiêu quan trọng đánh giá chất lượng chitosan, ta thấy độ deacetyl, độ hòa tan và độ nhớt của sản phẩm chitosan từ nang mực nang được loại protein bằng 2 phương pháp khác nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Từ so sánh trên ta nhận thấy, chất lượng sản phẩm chitosan từ nang mực nang không bị ảnh hưởng bởi phương pháp loại protein. Vì vậy, có thể lựa chọn phương pháp sinh học để loại protein trong nang mực để giảm thiểu lượng hóa chất sử dụng, hạn chế vấn đề chất thải gây ô nhiễm môi trường.

4. KẾT LUẬN

Sản xuất chitosan theo phương pháp giảm lượng hóa chất sử dụng góp phần hình thành và phát triển ngành công nghiệp xử lý phế liệu thủy sản theo phương thức bền vững, thân thiện với môi trường và tăng hiệu quả kinh tế. Kết quả nghiên cứu cho thấy: nang mực xử lý loại khoáng bằng acetic acid 5% trong 15 giờ và tiếp tục xử lý với HCl 6% trong 24 giờ giúp giảm lượng HCl sử dụng (phương pháp 1 dùng HCl 8%), tiếp tục loại protein bằng enzyme alcalase 0,2% trong thời gian 15 giờ (giảm lượng NaOH 8% theo

phương pháp hóa học) rồi deacetyl hóa bằng NaOH 50% trong 48 giờ ở nhiệt độ 65°C -70°C thu được chitosan có chất lượng tốt.

LỜI CẢM ƠN

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

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. AOAC (2000). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists Arlington.
2. Domard, A., Rinaudo, M. (1983). Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan. International Journal of Biological Macromolecules. 5(1): 49-52.
3. 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.
4. Hội Nghề cá Khánh Hòa (2016). Mực nang - cuttlefish. Truy cập ngày 5/9/2018, địa chỉ: <http://www.khafia.org.vn/privateres/htm/cbts/spcbts.htm>.
5. Holanda, H. D. D. and Netto, F. M. (2006). Recovery of components from Shrimp (*Litopenaeus setiferus*) Processing Waste by enzymatic Hydrolysis. Journal of Food Science. 71(5): 298-303.
6. Jeon, Y. J., Kamil, J. Y. V. A. and Shahidi, F. (2002). Chitosan as an edible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 20: 5167-5178.
7. Kim, S. K., Byun, H. G. and Lee, E. H., 1994. Optimum Extraction Conditions of Gelatin from Fish Skins and its Physical Properties. Journal of Korean Industrial and Engineering Chemistry. 5: 547-559.
8. Lertsuthiwong, P., How, Ng, C., Chandrakranch, S. and Stevens, W. F. (2002). Effect of chemical treatment on the characteristics of shrimp chitosan. Journal of Metals, Materials and Minerals. 12(1): 11-18.
9. Liu, X. F., Guan, Y. L., Yang, D. Z., Li, Z. and Yao, K. D. (2000). Antibacterial action of chitosan

and carboxymethylated chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*. 79(7): 1324-1335.

10. Ngô Thị Hoài Dương, Trang Sĩ Trung, Phạm Thị Đan Phượng (2008). Kết hợp xử lý sơ bộ bằng acid formic trong qui trình chế biến phế liệu tôm để nâng cao chất lượng chitin-chitosan. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*. 4: 24-29.

11. Nguyen Van Toan (2011). Improved chitin and chitosan production from black tiger shrimp shells using salicylic acid pretreatment. *The Open Biomaterials Journal*. 3: 1-3.

12. Percot, A., Viton, C. and Domand, A. (2003). Optimazation of Chitin Extracion from Shrimp Shells. *Biomacromolecules*. 4(1): 12-18.

13. Phạm Thị Đan Phượng, Trang Sĩ Trung (2012). Tinh 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*. 3: 48-52.

14. Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applicattons. *Progress in Polymer Science*. 31(7): 603-632.

15. Shahidi, F., Arachchi, J. K. V. and Jeon, Y. J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science and Technology*. 10(2): 37-51.

16. Terbojevich, M. and Muzarelli, R. A. A. (2000). Chitosan. In: Philips, G. O., Williams, P. A. (Eds.). *Handbook of hydrocolloids*. Woodhead Publishing Ltd. Press. Cambridge. UK. 367-378.

17. Trần Thị Luyến, Đỗ Minh Phụng và Nguyễn Anh Tuấn (2006). Sản xuất các chế phẩm kỹ thuật và y dược từ phế liệu thủy sản. NXB Nông nghiệp. TP. Hồ Chí Minh. 128 trang.

18. Trang Sĩ Trung (2009). Đánh giá chất lượng sản phẩm và hiệu quả môi trường của quy trình sản xuất chitin cải tiến kết hợp xử lý enzyme. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*. 1: 3-9.

THE EFFECT OF METHOD TO REMOVE MINERAL AND PROTEIN CONTENT ON THE QUALITY OF CHITOSAN PRODUCTION FROM CUTTLFISH CYSTIC (*Sepia esculenta*)

Le Thi Minh Thuy¹, Nguyen Van Thom¹, Tran Thanh Truc²

¹College of Aquaculture and Fisheries, Can Tho University

²College of Agriculture, Can Tho University

Email: ltmthuy@ctu.edu.vn

Summary

Chitosan production according to the method to minimize chemical amount with purpose to protect environmental and increase the value of by-products was research trend in recently years in Vietnam. In this research, the effect of demineralization and remove the protein content on the quality of chitosan from cuttlefish cystic were investigated. Sample were removed the mineral content by two different method: (i) soaking in HCl 8% for 24 hours and (ii) treating in CH₃COOH 5% for 15 hours then soaking in HCl 6% for 24 hours. After selecting the method to show the best demineralization efficiency, sample were separated two groups to discard the protein content: first group were treated in NaOH 8% and second group were treated with Alcalase enzyme at the concentrations of 0.2% for 15 hours at 50°C - 55°C C. After removing protein content, two group samples were deacetyl with NaOH at the content of 50% for 48 hours at 65°C-70°C to show degree of deacetylation was not significantly difference. From the results, it was concluded that the method to demineralization by combining acid acetic and HCl (to reduce HCl from 8% to 6%) and remove the protein by using Alcalase enzyme 0.2% (to reject the NaOH 8% according to chemical method) in cuttlefish cystic was not affected on the quality of chitosan.

Keywords: Chitosan, cuttlefish cystic, demineralization, remove the protein content.

Người phản biện: TS. Trần Thị Mai

Ngày nhận bài: 11/01/2019

Ngày thông qua phản biện: 11/02/2019

Ngày duyệt đăng: 18/02/2019