Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ
Số chuyên đề: Công nghệ chiến lược - Động lực phát triển Đồng bằng sông Cửu Long (SDMD)
ISSN 1859-2333 | e-ISSN 2815-5599

DOI:10.22144/ctujos.2026.259

NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG GARBAGE ENZYME TỪ VỎ KHÓM CẦU ĐÚC *(Ananas comosus)* ĐỂ GIẢM THIỂU HÓA CHẤT TRONG QUÁ TRÌNH TIỀN XỬ LÝ VỎ TÔM THẺ CHÂN TRẮNG *(Litopenaeus vannamei)* TÁCH CHIẾT CHITOSAN

Lê Thị Minh Thủy[1,*], Trần Ngô Xuân Mỹ[2] và Trương Thị Mộng Thu[1]
[1]*Trường Thủy sản, Đại học Cần Thơ, Việt Nam*
[2]*Sinh viên ngành Công nghệ Chế biến thủy sản Khóa 48, Trường Thủy sản, Đại học Cần Thơ, Việt Nam*
[*]*Tác giả liên hệ (Corresponding author): ltmthuy@ctu.edu.vn*

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 17/08/2026
Sửa bài (Revised): 08/09/2026
Duyệt đăng (Accepted): 07/11/2026

Title: *Study on the application of garbage enzyme derived from Cau Duc pineapple (Ananas comosus) peels for reducing chemical usage in the chitosan extraction process from white leg shrimp (Litopenaeus vannamei) shells*

Author(s): *Le Thi Minh Thuy[1,*], Tran Ngo Xuan My[2] and Truong Thi Mong Thu[1]*

Affiliation(s): *[1]College of Aquaculture and Fisheries, Can Tho University, Viet Nam; [2]Student of Aquatic Product Processing and Technology, 48[th]Cohort, Can Tho University, Viet Nam*

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá khả năng ứng dụng garbage enzyme (GE) từ vỏ khóm Cầu Đúc (Ananas comosus) trong tiền xử lý vỏ tôm thẻ chân trắng (Litopenaeus vannamei). Các yếu tố khảo sát gồm thời gian xử lý bằng GE, nồng độ HCl trong khử khoáng, nồng độ NaOH trong khử protein và trong deacetyl hóa. Kết quả cho thấy sau khi xử lý bằng GE trong 9 giờ, hàm lượng protein và khoáng trong vỏ tôm giảm lần lượt còn 20,1% và 21,4%. Tiếp theo, việc xử lý bằng HCl 2% trong 24 giờ giúp giảm hàm lượng khoáng xuống còn 0,61%, trong khi xử lý bằng NaOH 4% trong 24 giờ làm giảm hàm lượng protein còn 8,59%. Quá trình deacetyl hóa bằng NaOH 40% ở 110°C trong 2 giờ tạo chitosan có độ deacetyl hóa là 70,5%, độ hòa tan là 71,1% và khả năng giữ nước là 415%. Phổ FTIR xác nhận sự hiện diện của các nhóm chức đặc trưng của chitosan.

Từ khóa: *Chitosan, FTIR, garbage enzyme, vỏ tôm thẻ chân trắng*

ABSTRACT

This study investigated the application of garbage enzyme (GE) derived from Cau Duc pineapple (Ananas comosus) peels as a biological pretreatment for whiteleg shrimp (Litopenaeus vannamei) shells. The investigated factors included GE treatment time, HCl concentration for demineralization, and NaOH concentration for deproteinization and deacetylation. The results showed that treatment with GE for 9 h reduced the protein and mineral contents of shrimp shells to 20.1% and 21.4%, respectively. Subsequent treatment with 2% HCl for 24 h further reduced the mineral content to 0.61%, while treatment with 4% NaOH for 24 h decreased the protein content to 8.59%. Deacetylation using 40% NaOH at 110°C for 2 h produced chitosan with a deacetylation degree of 70.5%, solubility of 71.1%, and water-binding capacity of 415%. Fourier-transform infrared (FTIR) spectra confirmed the characteristic functional groups of chitosan.

Keywords: *Chitosan, FTIR, garbage enzyme, white leg shrimp shells*

1. GIỚI THIỆU

Ngành chế biến tôm tạo ra lượng lớn phụ phẩm giáp xác như đầu và vỏ tôm, chiếm khoảng 35 – 45% khối lượng nguyên liệu. Tại Việt Nam, tổng lượng phụ phẩm này ước tính đạt khoảng 200.000 tấn mỗi năm (VASEP, 2024). Tuy nhiên, phần lớn vẫn chưa được khai thác hiệu quả, dẫn đến nguy cơ gia tăng ô nhiễm môi trường nếu không được thu gom và xử lý phù hợp, đồng thời gây lãng phí nguồn nguyên liệu có giá trị sinh học. Trong đó, vỏ tôm là nguồn nguyên liệu giàu chitin, một polysaccharide tự nhiên có thể chuyển hóa thành chitosan, là hợp chất có khả năng phân hủy sinh học, tương thích sinh học và được ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực thực phẩm, y sinh, dược phẩm và xử lý môi trường (Rai et al., 2025). Hiện nay, chitosan chủ yếu được sản xuất bằng phương pháp hóa học thông qua các công đoạn khử khoáng bằng acid, khử protein bằng kiềm và deacetyl hóa chitin ở nồng độ kiềm cao. Mặc dù phương pháp này mang lại hiệu quả xử lý tương đối cao nhưng việc sử dụng lượng lớn hóa chất như HCl và NaOH có thể làm phát sinh nước thải có độ acid hoặc kiềm mạnh, đồng thời ảnh hưởng đến chất lượng chitosan và môi trường xung quanh (Younes & Rinaudo, 2015). Do đó, xu hướng ứng dụng các phương pháp sinh học nhằm giảm lượng hóa chất sử dụng trong quá trình sản xuất chitosan đang nhận được nhiều sự quan tâm.

Garbage enzyme (GE) là sản phẩm thu được từ quá trình lên men phụ phẩm hữu cơ giàu carbohydrate (điển hình như vỏ trái cây) trong môi trường chứa đường và nước. GE có khả năng hỗ trợ phân giải protein và khoáng chất trong nguyên liệu sinh học (Pasalari et al., 2024). Trong đó, vỏ khóm được đánh giá là nguyên liệu có tiềm năng cao để sản xuất GE, do chứa carbohydrate phù hợp cho quá trình lên men. Đặc biệt, vỏ khóm còn chứa bromelain có khả năng xúc tác quá trình thủy phân protein (Bruce & Boateng, 2025). Ngoài ra, quá trình lên men vỏ khóm còn tạo thành các acid hữu cơ và hợp chất sinh học góp phần hỗ trợ xử lý các thành phần hữu cơ trong nguyên liệu vỏ tôm (Nalladiyil et al., 2023). Mặc dù garbage enzyme đã được nghiên cứu trong xử lý chất thải hữu cơ và ứng dụng môi trường như Nalladiyil et al. (2023) đã khảo sát quá trình xử lý nước rỉ rác bãi chôn lấp bằng garbage enzyme (GE) được chiết xuất từ bốn loại vỏ trái cây khác nhau (vỏ dứa, chuối, cam và chanh) hay Arun and Sivashanmugam (2015) đã nghiên cứu khả năng hòa tan của bùn hoạt tính thải (WAS) bằng cách bổ sung GE được tạo ra từ nhiều loại chất thải trái cây trước tiêu dùng khác nhau (dứa, súp lơ, cam, cà chua và bã xoài). Tuy nhiên, việc sử dụng GE từ vỏ khóm trong tiền xử lý vỏ tôm nhằm hỗ trợ quá trình sản xuất chitosan vẫn còn hạn chế và chưa được nghiên cứu đầy đủ. Đặc biệt, hiệu quả kết hợp giữa xử lý sinh học bằng GE để giảm sử dụng hóa chất trong các công đoạn khử khoáng, khử protein trong quá trình tách chiết chitosan chưa được đánh giá đầy đủ. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng ứng dụng garbage enzyme từ vỏ khóm Cầu Đúc (*Ananas comosus*) trong tiền xử lý vỏ tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) để giảm lượng hóa chất sử dụng trong quá trình sản xuất chitosan theo hướng bền vững và thân thiện với môi trường. Đồng thời, nguồn phụ phẩm từ quá trình chế biến thủy sản, nông nghiệp được tận dụng nhằm nâng cao giá trị nguyên liệu theo hướng sản xuất nông nghiệp sạch.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Vỏ tôm thẻ chân trắng tươi được thu mua tại Công ty Cổ phần Thủy sản Cổ Chiên (thành phố Cần Thơ), được ướp nước đá trong thùng xốp và vận chuyển về phòng thí nghiệm Trường Thủy sản, Đại học Cần Thơ. Sau đó, nguyên liệu được loại bỏ tạp chất, chân tôm, rửa sạch và để ráo nước. Tiếp theo, nguyên liệu được sấy khô ở nhiệt độ 60°C đến khi độ ẩm đạt 20 – 22%, xay thô và cho vào túi PE (500 g/túi) bảo quản ở nhiệt độ phòng nơi khô ráo thoáng mát. Vỏ tôm thẻ sấy khô được phân tích thành phần hóa học gồm độ ẩm, hàm lượng protein và khoáng.

Vỏ khóm được thu mua tại chợ Hưng Lợi (thành phố Cần Thơ), chuyển về phòng thí nghiệm và tiến hành sơ chế (rửa sạch, loại bỏ bụi bẩn và phần bị hư hỏng) và tiến hành ủ để thu dung dịch GE.

Mật rỉ đường được mua tại Công ty TNHH Công nghệ sinh học Đức Bình, Hà Nội (có độ brix > 79%): là chất lỏng sánh, màu đen, chứa nhiều thành phần hữu cơ, acid amin và nhiều loại đường đơn như glucose, fructose và nhiều khoáng vi lượng khác.

Chế phẩm vi sinh Emzeo chứa các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải protein và carbohydrate được sản xuất và cung cấp bởi Công ty TNHH Công nghệ sinh học Đức Bình, Hà Nội.

Chuẩn bị dung dịch garbage enzyme (GE): Theo phương pháp của Pasalari et al. (2024), các công đoạn bao gồm: 900 g vỏ khóm đã được xử lý được cân và cho vào thùng đã trộn 300 mL mật rỉ đường, 3 lít nước cất và 150 g chế phẩm vi sinh Emzeo và đảo đều hỗn hợp; sau đó, thùng được đậy kín nắp ủ ở chỗ tối và khô thoáng ở nhiệt độ phòng. Cứ 3 đến

5 ngày thì mở nhẹ nắp để xả bớt khí sinh ra trong quá trình ủ GE. Sau 30 ngày lên men tiến hành lọc bỏ bã bằng 2 lớp vải lọc và thu dung dịch GE. Dung dịch GE được xác định hàm lượng polyphenol và đo pH. Dung dịch GE được bảo quản ở nhiệt độ 4°C và sử dụng để thực hiện các thí nghiệm trong thời gian 3 tuần (các thời điểm sử dụng đo lại pH dao động 4,6 - 4,8)

Chitosan thương phẩm được cung cấp từ Đại học Nha Trang (có khối lượng phân tử 1.000.000 Da và độ deacetyl là 95%)

2.2. Bố trí thí nghiệm

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian ngâm trong garbage enzyme từ vỏ khóm để hỗ trợ loại khoáng và protein trong vỏ tôm thẻ chân trắng

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 1 nhân tố (thời gian ngâm), với 4 mốc thời gian thay đổi lần lượt là 9 giờ, 12 giờ, 15 giờ, 18 giờ, gồm 4 nghiệm thức với 3 lần lặp lại, tổng số mẫu thí nghiệm là 12 mẫu, khối lượng mỗi mẫu là 20 g. Vỏ tôm đã được xử lý sấy khô như mục 2.1 và được ngâm trong dung dịch garbage enzyme với tỷ lệ vỏ tôm: dung dịch GE là 1: 10 (w/v), ở nhiệt độ phòng và ngâm với các mốc thời gian như bố trí thí nghiệm theo phương pháp của Gopalakannan et al. (2000). Kết thúc quá trình ngâm, lọc bằng vải để thu phần vỏ tôm và loại bỏ phần dung dịch GE, sau đó rửa vỏ tôm với tỷ lệ vỏ tôm: nước là 1:10 trong 5 phút và lặp lại 5 đến 7 lần cho đến khi đạt pH trung tính. Sau đó, vỏ tôm được sấy khô ở 60ºC đến độ ẩm 20 - 22%; hàm lượng đạm, hàm lượng khoáng đã được phân tích và hiệu suất thu hồi đã được tính. Từ kết quả phân tích, thời gian ngâm thích hợp nhất được chọn ra.

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung dịch HCl đến khả năng loại khoáng trong vỏ tôm thẻ chân trắng

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 1 nhân tố (nồng độ HCl), với 4 mức thay đổi lần lượt 1%, 2%, 3%, 4%, gồm 4 nghiệm thức với 3 lần lặp lại, tổng số mẫu thí nghiệm là 12 mẫu, khối lượng mỗi mẫu là 20 g. Vỏ tôm sau khi ngâm GE với thời gian tốt nhất từ thí nghiệm 1, được ngâm trong HCl với tỷ lệ vỏ tôm: dung dịch là 1:10 (w/v) ở nhiệt độ phòng (28°C) và khuấy trong 24 giờ (Hossain & Iqbal, 2014). Kết thúc quá trình ngâm, hỗn hợp được lọc bằng vải để thu vỏ tôm và loại bỏ phần dung dịch HCl; sau đó, vỏ tôm được rửa và sấy như thí nghiệm 1 đến độ ẩm 20 - 22% để phân tích hàm lượng khoáng và tính hiệu suất thu hồi. Từ đó, nồng độ HCl cho hiệu quả khử khoáng cao nhất được chọn. Mẫu đối chứng là mẫu vỏ tôm thẻ chân trắng ngâm trực tiếp trong HCl 6% trong 24 giờ loại khoáng xuống dưới 1%.

2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung dịch NaOH đến khả năng loại protein trong vỏ tôm thẻ chân trắng

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 1 nhân tố (nồng độ NaOH), với 4 mức mức thay đổi lần lượt là 2%, 3%, 4%, 5%, gồm 4 nghiệm thức với 3 lần lặp lại, tổng số mẫu thí nghiệm là 12 mẫu, khối lượng mỗi mẫu là 20 g. Vỏ tôm sau khi ngâm HCl với nồng độ thích hợp nhất được chọn từ thí nghiệm 2 được tiếp tục ngâm trong dung dịch NaOH ở các nồng độ như bố trí thí nghiệm với tỷ lệ vỏ tôm: dung dịch NaOH là 1:10 (w/v), ở nhiệt độ phòng (28°C) và khuấy trong 24 giờ (Minh và ctv., 2016). Kết thúc quá trình ngâm, hỗn hợp được lọc bằng vải để thu phần vỏ tôm và loại bỏ phần dung dịch NaOH; sau đó, vỏ tôm được rửa và sấy như thí nghiệm 1 đến độ ẩm 20 - 22% để phân tích hàm lượng protein và tính hiệu suất thu hồi. Từ đó, nồng độ NaOH phù hợp nhất được chọn ra. Mẫu đối chứng là mẫu vỏ tôm thẻ chân trắng ngâm trực tiếp trong NaOH 6% trong 24 giờ để loại protein.

2.2.4. Ảnh hưởng của nồng độ NaOH đến quá trình deacetyl hóa chitin thành chitosan

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 1 nhân tố (nồng độ NaOH), với 3 mức khác nhau lần lượt là 30%, 40% và 50%, gồm 3 nghiệm thức với 3 lần lặp lại, tổng số mẫu thí nghiệm là 9, khối lượng mỗi mẫu là 20 g. Vỏ tôm sau khi ngâm NaOH với nồng độ thích hợp nhất được chọn từ thí nghiệm 3, mẫu được deacetyl hóa bằng NaOH với nồng độ khác nhau như bố trí thí nghiệm, ở 110°C trong 2 giờ, tỷ lệ vỏ tôm: dung dịch NaOH là 1:10 (w/v) (Dũ và ctv., 2020). Kết thúc quá trình, việc lọc được tiến hành để thu phần vỏ tôm và bỏ phần dung dịch NaOH; sau đó, vỏ tôm được rửa với tỷ lệ vỏ tôm: nước là 1:10 trong 5 phút và lặp lại 7 đến 8 lần cho đến khi pH trung tính và sấy khô ở 60ºC trong 4 giờ để thu được chitosan thô có độ ẩm <10%. Chitosan được kiểm tra độ deacetyl hóa, hiệu suất thu hồi, độ hòa tan và khả năng liên kết với nước. Chọn mẫu chitosan có độ deacetyl hóa cao nhất để phân tích phổ FTIR.

2.3. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

2.3.1. Phương pháp phân tích

Thành phần hóa học của nguyên liệu vỏ tôm thẻ được phân tích các chỉ tiêu như: hàm lượng ẩm bằng phương pháp sấy, hàm lượng tro bằng phương pháp

nung, hàm lượng protein bằng phương pháp Kjeldahl (AOAC, 2000).

Độ deacetyl hóa (DDA): Phương pháp chuẩn độ acid-bazo (Domard & Rinaudo, 1983) được sử dụng. Mẫu chitosan 0,1 g được hòa tan trong 30 mL HCl có nồng độ 0,1 M ở nhiệt độ phòng; tiếp theo, 5 - 6 giọt methyl đỏ được cho thêm vào. Sau đó, dung dịch được chuẩn độ bằng NaOH 0,1 M, ngừng chuẩn độ khi dung dịch chuyển sang màu cam. DDA của chitosan thô được tính dựa trên số mL NaOH 0,1 M đã dùng trong suốt quá trình chuẩn độ. Độ deacetyl hóa được tính theo công thức:

$$DDA\ (\%) = \frac{(C_1V_1 - C_2V_2) \times 0{,}016}{M \times 0{,}0994} \times 100$$

Trong đó: C_1 là nồng độ dung dịch HCl dùng hòa tan chitosan (M), C_2 là nồng độ dung dịch NaOH dùng để chuẩn độ (M), V_1 là thể tích dung dịch HCl (mL), V_2 là thể tích dung dịch NaOH đã dùng trong chuẩn độ (mL), M là khối lượng của mẫu chitosan thô (g).

Hiệu suất thu hồi (H) tại các công đoạn xử lý được xác định bằng phương pháp cân: thông qua việc xác định khối lượng mẫu ban đầu (X) và khối lượng mẫu sau khi sấy khô (Y). Hiệu suất thu hồi tính theo công thức:

$$H\ (\%) = \frac{Y}{X} \times 100$$

Việc phân tích phổ FTIR được tiến hành nhằm xác định các nhóm chức đặc trưng của chitosan được mô tả bởi Benavente et al. (2015). Sử dụng máy quang phổ Bruker Optics ALPHA và đo ở bước sóng từ 4.000 đến 500 cm^{-1}.

Độ hòa tan của chitosan được xác định bằng phương pháp lọc theo phương pháp của Çelebi et al. (2026) với một vài hiệu chỉnh. Trong đó, 0,5 g mẫu chitosan được cho vào 50 mL dung dịch acetic acid 0,1 M, khuấy với tốc độ 250 vòng/phút và ở 25°C, 8 giờ. Sau đó, dung dịch được lọc qua giấy lọc và sấy ở 60°C đến khối lượng không đổi. Độ hòa tan (T) được tính theo công thức:

$$T\ (\%) = \frac{(D - C)}{D} \times 100$$

Trong đó: D (g) là khối lượng mẫu chitosan ban đầu, C (g) là khối lượng vật chất còn lại trên giấy lọc sau sấy.

Khả năng liên kết với nước của chitosan (WBC) được xác định: Khả năng liên kết với nước được xác định theo phương pháp của No et al. (2000). Trong đó, 0,5 g mẫu chitosan được cân chính xác và cho vào ống ly tâm; sau đó, 10 mL nước cất được thêm vào ống và lắc trộn đều trong 2 phút. Hỗn hợp được để ở nhiệt độ phòng (28°C) trong 30 phút nhằm đạt trạng thái cân bằng hấp phụ. Hỗn hợp được ly tâm ở 4.000 vòng/phút trong 45 phút. Phần nước nổi bên trên được loại bỏ, giữ lại phần cặn và cân khối lượng. Khả năng liên kết nước được tính theo công thức:

$$WBC\ (\%) = \frac{M_2(g) - M_1(g)}{M_1(g)} \times 100$$

Trong đó: M_{sau} là khối lượng cặn sau ly tâm (g), $M_{đầu}$ là khối lượng mẫu ban đầu (g)

Tổng hàm lượng polyphenol của dung dịch GE từ vỏ khóm được xác định theo phương pháp của Singleton et al. (1999). Trong đó, 10 mL dung dịch garbage enzyme từ vỏ khóm được cho vào ống ly tâm; sau đó, hỗn hợp được ly tâm 10.000 vòng trong 10 phút ở 20°C. Tiếp theo, 0,5 mL dung dịch sau ly tâm được hút và cho vào ống nghiệm, cho thêm 0,1 mL Folin (pha loãng 2 lần trong nước cất) lắc 3 phút. Sau đó, 1,5 mL Na_2CO_3 2% được thêm vào, giữ ở nhiệt độ phòng (28°C) trong 30 phút và đo màu ở bước sóng 760 nm. Hàm lượng polyphenol có đơn vị (mgGAE/mL) và được tính theo công thức:

Abs 760 = 18,339 x mg Gallic + 0,0355.

Giá trị pH của dung dịch GE từ vỏ khóm được đo bằng máy đo pH để bàn Consort C1020P (Bỉ).*2.3.2. Phương pháp xử lý số liệu*

Số liệu thu thập được tính trung bình ± độ lệch chuẩn, sử dụng chương trình Microsoft Excel 2016. Sự khác biệt của các yếu tố giữa các nghiệm thức được phân tích bằng ANOVA một nhân tố với mức ý nghĩa 95% và phép thử Duncan ($p < 0{,}05$), bằng chương trình Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 21.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hóa học của vỏ tôm thẻ chân trắng

Thành phần hóa học của vỏ tôm thẻ chân trắng được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Thành phần hóa học của vỏ tôm thẻ chân trắng

Chỉ tiêu	Hàm lượng (%)
Độ ẩm	7,18 ± 0,16
Protein (căn bản khô)	40,3 ± 1,49
Khoáng (căn bản khô)	30,3 ± 2,67

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 3).

Bảng 1 cho thấy hàm lượng protein và khoáng trong vỏ tôm sấy khô chiếm tỷ lệ cao, lần lượt đạt 40,3% và 30,3%. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Dũ và ctv. (2020); trong đó, hàm lượng protein và khoáng của vỏ tôm thẻ sấy khô lần lượt là 49,4% và 25,3%. Bên cạnh đó, theo Trung và Phượng (2012), hàm lượng chitin trong vỏ tôm thẻ chân trắng chiếm khoảng 17,2%, cho thấy đây là nguồn nguyên liệu tiềm năng để sản xuất chitin–chitosan. Tuy nhiên, sự hiện diện của protein và khoáng trong nguyên liệu có thể ảnh hưởng đến hiệu quả deacetyl hóa cũng như chất lượng chitosan thu được (Naibaho et al., 2026). Vì vậy, các bước tiền xử lý cần được thực hiện nhằm loại bỏ protein và khoáng trước quá trình tách chiết chitosan.

3.2. Hàm lượng polyphenol và pH của dung dịch garbage enzyme từ vỏ khóm

Hàm lượng polyphenol tổng và pH của dung dịch garbage enzyme từ vỏ khóm sau lên men được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2 cho thấy sau 30 ngày ủ vỏ khóm với mật rỉ đường và chế phẩm vi sinh Emzeo, dung dịch GE có pH thấp đạt 4,63. Giá trị pH thấp phản ánh quá trình lên men đã diễn ra hiệu quả dưới tác động của hệ vi sinh vật trong chế phẩm Emzeo, chuyển hóa nguồn carbohydrate trong mật rỉ và vỏ khóm đường thành các acid hữu cơ như acid lactic, acid acetic và một số acid khác. Sự tích lũy các acid hữu cơ làm gia tăng nồng độ ion H^+ trong môi trường, kết quả là làm cho dung dịch GE có pH thấp sau quá trình lên men (Zhang et al., 2024). Bên cạnh đó, hàm lượng polyphenol tổng của dung dịch GE đạt 0,188 mg GAE/mL, cho thấy quá trình lên men có thể đã góp phần giải phóng các hợp chất polyphenol hòa tan từ nguyên liệu vỏ khóm. Polyphenol có khả năng tương tác với protein thông qua các liên kết cộng hóa trị và liên kết không cộng hóa trị (Batool et al., 2026).

Bảng 2. Hàm lượng polyphenol tổng và pH của dung dịch garbage enzyme từ vỏ khóm

Chỉ tiêu	Sau 30 ngày ủ
pH	4,63 ± 0,47
Tổng hàm lượng polyphenol (mgGAE/mL)	0,188 ± 0,0012

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 3).

3.3. Ảnh hưởng của thời gian ngâm trong garbage enzyme từ vỏ khóm để hỗ trợ loại protein và khoáng trong vỏ tôm thẻ chân trắng

Kết quả ảnh hưởng của thời gian xử lý trong GE đến hàm lượng protein và khoáng còn lại trong vỏ tôm sấy khô được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng protein và khoáng còn lại trong vỏ tôm thẻ sau khi ngâm garbage enzyme từ vỏ khóm (căn bản khô)

Thời gian (giờ)	Protein (%)	Khoáng (%)	Hiệu suất thu hồi (%)
0	$40,3 \pm 1,49^a$	$30,3 \pm 2,67^a$	–
9	$20,1 \pm 0,21^b$	$21,4 \pm 1,91^b$	$89,9 \pm 1,91^a$
12	$18,2 \pm 1,50^b$	$21,0 \pm 0,55^b$	$83,4 \pm 1,32^b$
15	$17,5 \pm 1,39^b$	$20,8 \pm 1,32^b$	$83,0 \pm 0,55^b$
18	$17,4 \pm 1,08^b$	$19,1 \pm 0,03^b$	$80,3 \pm 0,03^c$

Ghi chú: Các giá trị có các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n =3). Mẫu đối chứng (0 giờ) hay mẫu ban đầu chưa qua xử lý nên không tính toán hiệu suất thu hồi.

Bảng 3 cho thấy hàm lượng protein trong vỏ tôm giảm đáng kể sau khi xử lý bằng GE. Cụ thể, khi tăng thời gian ngâm từ 0 đến 9 giờ, hàm lượng protein ban đầu là 40,3% giảm xuống còn 20,1%, tương ứng hiệu quả khử protein đạt 50,1% và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Các thử nghiệm đầu tiên ở các mốc thời gian ngâm 3 và 6 giờ cho thấy protein và khoáng trong vỏ tôm giảm rất ít, cho thấy thời gian ngâm thấp chưa phát huy được khả năng tương tác của GE lên vỏ tôm để loại bỏ các chất không cần thiết. Tuy nhiên, khi tiếp tục kéo dài thời gian xử lý từ 9 đến 18 giờ, hàm lượng protein khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p > 0,05$). Kết quả này cho thấy phần lớn protein dễ tiếp cận đã được loại bỏ trong giai đoạn đầu của quá trình xử lý. Khả năng khử protein có thể liên quan đến đặc tính acid và hoạt tính enzyme protease trong dung dịch GE từ vỏ khóm. Giá trị pH thấp của GE (4,63) có khả năng làm các nhóm chức của protein trên vỏ tôm bị proton hóa, làm suy yếu các liên kết ion và liên kết hydro, dẫn đến biến tính cấu trúc không gian của protein. Từ đó tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình thủy phân protein thành các peptide và acid amin hòa tan (Ghorbel-Bellaaj et al., 2012). Tuy nhiên, khi thời gian xử lý kéo dài, hiệu quả khử protein thay đổi

không đáng kể do phần lớn protein dễ thủy phân đã được loại bỏ, làm tốc độ phản ứng giảm dần theo thời gian (Roskoski, 2015). Hiệu quả khử protein trong nghiên cứu này thấp hơn nghiên cứu của Priatni et al. (2025), việc sử dụng papain 1% ở 40°C trong 9 giờ giúp giảm hàm lượng protein từ 33,66% xuống còn 5,75% (hiệu quả khử protein đạt 82,74%). Tuy nhiên, kết quả lại cao hơn nghiên cứu của Huynh et al. (2024), trong đó xử lý vỏ tôm bằng dịch chiết chứa papain hoặc bromelain chỉ đạt hiệu quả khử protein khoảng 18 – 23%. Sự khác biệt giữa các nghiên cứu có thể liên quan đến loại enzyme, điều kiện xử lý, nhiệt độ, thời gian ngâm và đặc điểm nguyên liệu sử dụng (Gopalakannan et al., 2000).

Bên cạnh khả năng khử protein, việc xử lý bằng GE cũng góp phần làm giảm hàm lượng khoáng trong vỏ tôm. Sau 9 giờ ngâm, hàm lượng khoáng giảm từ 30,3% xuống còn 21,4%. Nguyên nhân là do các acid hữu cơ hình thành trong quá trình lên men thu dung dịch GE như acid lactic, acid acetic và acid citric có khả năng phản ứng với $CaCO_3$ trong vỏ tôm, tạo thành các muối hòa tan và bị loại bỏ trong quá trình rửa (Thiết & Tú, 2007; Younes & Rinaudo, 2015). Khi kéo dài thời gian xử lý từ 9 đến 18 giờ, hàm lượng khoáng tiếp tục giảm nhẹ nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy quá trình khử khoáng có xu hướng chậm lại do lượng acid hữu cơ giảm dần và sự tích lũy Ca^{2+} trong môi trường làm hạn chế khả năng tiếp xúc giữa acid và cấu trúc khoáng trong vỏ tôm (Pohling et al., 2022). Hiệu suất thu hồi giảm từ 89,9% xuống 80,3% khi thời gian xử lý trong GE tăng từ 9 đến 18 giờ, chủ yếu do sự giảm hàm lượng protein và khoáng trong nguyên liệu.

Từ các kết quả thu được, thời gian xử lý bằng garbage enzyme trong 9 giờ được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo do hiệu suất thu hồi vỏ tôm sau xử lí cao và tiết kiệm thời gian xử lí loại khoáng, protein của vỏ tôm.

3.4. Ảnh hưởng của nồng độ HCl đến khả năng loại khoáng trong vỏ tôm thẻ chân trắng

Quá trình xử lý bằng garbage enzyme (GE) từ vỏ khóm đã hỗ trợ loại bỏ một phần khoáng trong vỏ tôm, góp phần giảm lượng hóa chất sử dụng ở các công đoạn tiếp theo. Tuy nhiên, để đảm bảo chất lượng chitin–chitosan, hàm lượng khoáng còn lại cần được duy trì ở mức thấp, thường dưới 1% (No & Meyers, 1995). Vì vậy, vỏ tôm tiếp tục được xử lý khử khoáng lần 2 bằng dung dịch HCl. Kết quả được trình bày ở Bảng 4.

Kết quả Bảng 4 cho thấy khi tăng nồng độ HCl từ 0% lên 2% thì hàm lượng khoáng giảm từ 21,4% xuống còn 0,61% và khác biệt có ý nghĩa thống kê, tuy nhiên khi tiếp tục tăng nồng độ HCl lên đến 4% thì hàm lượng khoáng giảm nhẹ nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Bên cạnh đó, hiệu suất thu hồi giảm từ 82,65% xuống 70,45% khi nồng độ dung dịch HCl tăng từ 1 đến 4%, điều này cho thấy hiệu quả khử khoáng càng cao thì hiệu suất thu hồi càng thấp. Mẫu vỏ tôm sau khi ngâm GE và tiếp tục xử lý trong HCl ở nồng độ 2% đã đạt hiệu quả khử khoáng < 1% tương đương với mẫu đối chứng xử lý trực tiếp trong HCl 6%. Điều này cho thấy việc xử lý trong GE góp phần giảm nồng độ HCl để khử khoáng cho vỏ tôm thẻ chân trắng.

Bảng 4. Hàm lượng khoáng trong vỏ tôm thẻ chân trắng sau khi xử lý trong dung dịch HCl căn bản khô)

Nồng độ HCl (%)	Khoáng (%)	Hiệu suất thu hồi (%)
0	$21,4 \pm 1,91^a$	–
1	$9,42 \pm 0,17^b$	$82,65 \pm 0,62^a$
2	$0,61 \pm 0,06^c$	$75,05 \pm 0,78^b$
3	$0,32 \pm 0,01^c$	$72,50 \pm 1,13^c$
4	$0,24 \pm 0,02^c$	$70,45 \pm 1,48^c$
Mẫu đối chứng	$0,62 \pm 0,04^c$	$74,95 \pm 0,84^b$

Ghi chú: Các giá trị có các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn ($n = 3$). Mẫu 0%) chưa xử lý bằng HCl nên không tính toán hiệu suất thu hồi. Mẫu đối chứng là mẫu ngâm trực tiếp trong HCl 6% để loại khoáng.

Sự giảm mạnh hàm lượng khoáng khi tăng nồng độ HCl có thể được giải thích do môi trường acid cung cấp lượng proton (H^+) lớn hơn, thúc đẩy phản ứng hòa tan $CaCO_3$ trong vỏ tôm và tạo thành $CaCl_2$ hòa tan trong nước, từ đó làm giảm đáng kể hàm lượng khoáng còn lại trong nguyên liệu (Younes & Rinaudo, 2015). Tuy nhiên, khi nồng độ HCl tăng trên 2%, hiệu quả khử khoáng gần như không thay đổi, cho thấy quá trình đã tiến gần trạng thái cân bằng và không còn phụ thuộc nhiều vào nồng độ acid.

Hàm lượng khoáng còn lại 0,61% khi xử lý bằng HCl 2% trong nghiên cứu này thấp hơn hoặc tương đương với một số nghiên cứu sử dụng nồng độ acid cao hơn. Minh và ctv. (2016) sử dụng HCl 4% để khử khoáng vỏ đầu tôm và thu được hàm lượng khoáng còn lại 0,8%, trong khi Thủy và Thơm (2020) sử dụng HCl 8% để xử lý vỏ tôm sú và đạt hàm lượng khoáng còn lại 0,89%. Kết quả một

nghiên cứu khác của Hosney et al. (2025) đã ghi nhận hàm lượng khoáng còn lại trong vỏ tôm thẻ chân trắng dao động từ 0,7 đến 0,8% khi sử dụng HCl có nồng độ từ 2% đến 4% để xử lý vỏ tôm thẻ chân trắng. Qua đó cho thấy tiền xử lý bằng GE đã góp phần nâng cao hiệu quả khử khoáng, giúp giảm nồng độ HCl sử dụng mà vẫn đạt yêu cầu về độ tinh sạch của chitin. Theo Roja et al. (2015), việc sử dụng acid ở nồng độ cao có thể gây phân cắt các liên kết glycosidic trong cấu trúc polysaccharide của chitin, dẫn đến hiện tượng depolymer hóa và làm giảm chất lượng chitin–chitosan. Do đó, việc sử dụng HCl ở nồng độ phù hợp không chỉ giúp khử khoáng hiệu quả mà còn hạn chế ảnh hưởng bất lợi đến cấu trúc polymer. Hiệu quả khử khoáng cao trong nghiên cứu này có thể liên quan đến quá trình tiền xử lý bằng garbage enzyme (GE) trước đó. Các acid hữu cơ hình thành trong quá trình lên men có khả năng hòa tan một phần $CaCO_3$ trong cấu trúc vỏ tôm, từ đó làm suy giảm liên kết giữa khoáng và chitin (Meena et al., 2021). Nhờ vậy, cấu trúc nguyên liệu trở nên kém bền và tăng khả năng thấm của dung dịch HCl, góp phần nâng cao hiệu quả khử khoáng ngay cả ở nồng độ acid thấp.

Từ kết quả thu được, việc xử lý bằng HCl 2% ở nhiệt độ phòng (28°C) trong 24 giờ được xem là điều kiện phù hợp cho quá trình khử khoáng do đạt hàm lượng khoáng còn lại dưới 1%, đồng thời góp phần giảm sử dụng hóa chất và hạn chế tác động đến môi trường.

3.5. Ảnh hưởng của nồng độ NaOH đến khả năng loại protein trong vỏ tôm thẻ chân trắng

Dung dịch garbage enzyme (GE) từ vỏ khóm có khả năng hỗ trợ loại bỏ một phần protein trong vỏ tôm thông qua quá trình thủy phân sinh học. Tuy nhiên, phương pháp này chủ yếu tác động lên các protein dễ tiếp cận, trong khi một phần protein vẫn liên kết bền vững với cấu trúc chitin. Do đó, bước khử protein lần 2 bằng dung dịch NaOH cần được thực hiện nhằm nâng cao độ tinh sạch của chitin–chitosan. Kết quả được trình bày ở Bảng 5.

Kết quả Bảng 5 cho thấy khi tăng nồng độ NaOH từ 0% lên 4%, hàm lượng protein giảm đáng kể từ 20,1% xuống còn 8,59% và khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$). Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ NaOH lên 5%, hàm lượng protein chỉ giảm nhẹ và không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức 4%. Đồng thời, hiệu suất thu hồi có xu hướng giảm khi nồng độ NaOH tăng, từ 59,7% ở nồng độ 2% xuống còn khoảng 51,8% ở nồng độ 4 – 5%. Điều này cho thấy quá trình khử protein càng mạnh thì lượng vật chất bị hòa tan và thất thoát khỏi nguyên liệu càng lớn. Mẫu vỏ tôm sau khi ngâm GE và tiếp tục xử lý trong NaOH ở nồng độ 4% đã đạt hiệu quả loại protein tương đương với mẫu đối chứng xử lý trực tiếp trong HCl 8%. Điều này cho thấy việc xử lý trong GE góp phần giảm nồng độ NaOH để khử protein cho vỏ tôm thẻ chân trắng.

Bảng 5. Hàm lượng protein trong vỏ tôm thẻ chân trắng sau khi xử lý trong dung dịch NaOH (căn bản khô)

Nồng độ NaOH (%)	Hàm lượng protein (%)	Hiệu suất thu hồi (%)
0	$20,1 \pm 0,21^{a}$	–
2	$14,7 \pm 0,58^{b}$	$59,7 \pm 0,79^{a}$
3	$11,2 \pm 0,49^{c}$	$53,9 \pm 1,12^{b}$
4	$8,59 \pm 0,93^{d}$	$51,8 \pm 0,53^{b}$
5	$8,06 \pm 0,45^{d}$	$51,8 \pm 0,81^{b}$
Mẫu đối chứng	$8,67 \pm 0,79^{c}$	$51,4 \pm 0,93^{b}$

Ghi chú: Các giá trị có các chữ khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn ($n = 3$). Mẫu 0% chưa xử lý bằng NaOH nên không tính toán hiệu suất thu hồi. Mẫu đối chứng là mẫu ngâm trực tiếp trong NaOH 8% để loại protein.

Hàm lượng protein trong nguyên liệu giảm dần khi nồng độ NaOH tăng từ 2% đến 4%, cho thấy hiệu quả khử protein được cải thiện trong môi trường kiềm mạnh. NaOH có khả năng phá vỡ các liên kết giữa protein và chitin trong cấu trúc vỏ tôm, đồng thời thúc đẩy quá trình thủy phân protein thành các peptide và acid amin hòa tan trong nước. Khi nồng độ kiềm tăng, mức độ phân cắt liên kết peptide cũng gia tăng, tạo điều kiện chuyển protein sang dạng hòa tan và dễ dàng tách khỏi nguyên liệu. Kết quả này phù hợp với nhận định của Percot et al. (2003) về vai trò của dung dịch kiềm trong quá trình khử protein từ phụ phẩm giáp xác. Tuy nhiên, khi nồng độ NaOH tiếp tục tăng lên 5%, hàm lượng protein chỉ giảm nhẹ và không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức sử dụng NaOH 4%. Điều này cho thấy quá trình khử protein đã tiệm cận trạng thái bão hòa. Ở nồng độ 4% NaOH, phần lớn protein có khả năng bị thủy phân, đặc biệt là các protein liên kết yếu hoặc phân bố ở bề mặt nguyên liệu, đã được loại bỏ. Phần protein còn lại chủ yếu tồn tại dưới dạng liên kết bền vững hoặc nằm sâu trong cấu trúc vi tinh thể chitin có độ kết tinh cao, làm hạn chế khả năng tiếp xúc của dung dịch kiềm. Trong giai đoạn này, hiệu quả khử protein không còn phụ thuộc đáng kể vào việc gia tăng nồng độ NaOH mà chủ yếu bị chi phối bởi khả năng khuếch

tán của tác nhân kiềm vào bên trong cấu trúc nguyên liệu. Do đó, việc tăng nồng độ NaOH lên 5% không làm gia tăng đáng kể hiệu quả thủy phân và loại bỏ protein (Percot et al., 2003; Synowiecki & Al-Khateeb, 2003). Kết quả nghiên cứu cho thấy chỉ cần sử dụng NaOH 4% đã đạt hiệu quả khử protein tương đối cao, thấp hơn so với nhiều quy trình hóa học truyền thống như Chang and Tsai (1997) sử dụng NaOH 8% để khử protein vỏ tôm hồng và ghi nhận hiệu quả khử protein khoảng 56,25%, trong khi Thủy và Thơm (2020) sử dụng NaOH 10% để xử lý vỏ tôm sú. Mặc dù các nghiên cứu này đạt hiệu quả khử protein cao, việc sử dụng kiềm ở nồng độ lớn kết hợp với nhiệt độ cao có thể gây ảnh hưởng đến cấu trúc và chất lượng chitin (Minh và ctv., 2016). Hiệu quả khử protein ở nồng độ NaOH thấp trong nghiên cứu này có thể liên quan đến quá trình tiền xử lý bằng GE trước đó. Các enzyme protease và hợp chất sinh học hình thành trong quá trình lên men đã góp phần thủy phân một phần protein và làm suy yếu liên kết chitin–protein, từ đó tăng khả năng tiếp xúc của dung dịch NaOH với cấu trúc nguyên liệu (Huynh et al., 2024).

Theo Lyon et al. (2022), protein liên kết trong chitin có nguồn gốc sinh học là thành phần khó loại bỏ hoàn toàn trong quá trình chiết tách. Việc sử dụng nồng độ kiềm cao hơn có thể cải thiện hiệu quả khử protein, nhưng đồng thời cũng làm tăng nguy cơ biến đổi cấu trúc chitin. Do đó, nồng độ NaOH 4% được xem là phù hợp cho quá trình khử protein, vừa đảm bảo hiệu quả xử lý tương đối cao, vừa góp phần giảm tiêu hao hóa chất và hạn chế ảnh hưởng đến chất lượng chitin-chitosan.

3.6. Ảnh hưởng của nồng độ NaOH đến quá trình deacetyl hóa chitin thành chitosan

3.6.1. Độ deacetyl, độ hòa tan và khả năng liên kết nước của chitosan từ vỏ tôm thẻ chân trắng

Độ deacetyl hóa (DDA) là chỉ tiêu quan trọng phản ánh mức độ chuyển hóa chitin thành chitosan và có ảnh hưởng lớn đến tính chất cũng như khả năng ứng dụng của chitosan (Yuan et al., 2011). Bên cạnh đó, độ hòa tan và khả năng liên kết nước (WBC) cũng là các chỉ tiêu quan trọng đánh giá chất lượng chitosan. Chitosan có độ hòa tan cao được đánh giá là có tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực thực phẩm, dược phẩm và xử lý môi trường (Hossain & Iqbal, 2014). Ảnh hưởng của nồng độ NaOH đến DDA, độ hòa tan và WBC của chitosan được trình bày trong Bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nồng độ NaOH trong quá trình deacetyl hóa đến mức độ deacetyl, độ hòa tan và khả năng liên kết với nước

NaOH (%)	Độ deacetyl hóa (%)	Độ hòa tan (%)	WBC (%)
30	$48,8 \pm 4,24^{a}$	$50,2 \pm 1,15^{a}$	$345 \pm 14,5^{a}$
40	$70,5 \pm 4,22^{b}$	$71,1 \pm 1,52^{b}$	$415 \pm 31,2^{b}$
50	$74,3 \pm 2,83^{b}$	$72,7 \pm 0,92^{b}$	$458 \pm 9,19^{b}$

Ghi chú: Các giá trị có các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn ($n = 3$). WBC: khả năng liên kết nước.

Kết quả ở Bảng 6 cho thấy khi tăng nồng độ NaOH từ 30% lên 40%, DDA của chitosan tăng đáng kể từ 48,8% lên 70,5% và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Đồng thời, độ hòa tan và WBC cũng tăng tương ứng từ 50,2% lên 71,1% và từ 345% lên 415%. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ NaOH lên 50%, các chỉ tiêu này chỉ tăng nhẹ và không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức 40%. Kết quả cho thấy độ deacetyl hóa (DDA) tăng khi nồng độ NaOH tăng, chứng tỏ hiệu quả deacetyl hóa được cải thiện trong môi trường kiềm mạnh. Các ion OH^- từ NaOH tấn công liên kết amide của nhóm acetyl ($–NHCOCH_3$) trong cấu trúc chitin, làm giải phóng nhóm acetyl và hình thành các nhóm amino tự do ($–NH_2$), từ đó làm tăng DDA (Dũ và ctv., 2020). Tuy nhiên, khi tăng nồng độ NaOH từ 40% lên 50%, tốc độ gia tăng DDA có xu hướng chậm lại. Nguyên nhân là do số lượng nhóm acetyl còn lại giảm dần và chủ yếu phân bố trong các vùng cấu trúc tinh thể chặt chẽ, làm hạn chế khả năng tiếp xúc với dung dịch kiềm. Đồng thời, mạng lưới liên kết hydro cùng cấu trúc phức hợp giữa chitin với protein, khoáng và sắc tố trong vỏ tôm cũng cản trở sự khuếch tán của NaOH vào bên trong nguyên liệu, làm cho tốc độ deacetyl hóa tăng chậm ở nồng độ kiềm cao hơn (Hargono & Djaeni, 2003). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Hossain and Iqbal (2014), khi DDA chỉ tăng nhẹ từ 79,6% lên 81,3% dù nồng độ NaOH tăng từ 50% lên 60%, cho thấy hiệu quả deacetyl hóa có xu hướng tiệm cận giới hạn ở nồng độ kiềm cao.

Bên cạnh đó, độ hòa tan của chitosan cũng có xu hướng tăng cùng với DDA. Sự gia tăng nồng độ NaOH thúc đẩy quá trình deacetyl hóa, làm tăng mức độ deacetyl hóa, dẫn đến số lượng nhóm $–NH_2$ trong cấu trúc polymer tăng lên, giúp chitosan dễ

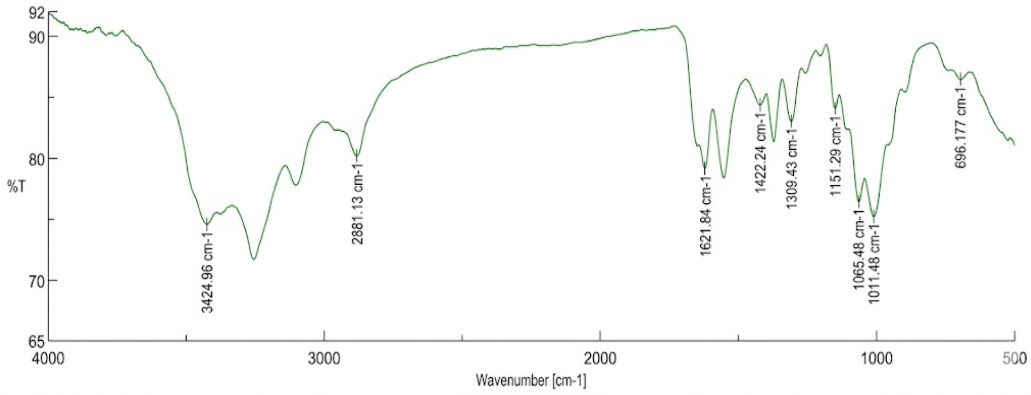
proton hóa thành $–NH_3^+$ trong môi trường acid và làm tăng khả năng hòa tan (Aranaz et al., 2021). Mối quan hệ giữa độ hòa tan và độ deacetyl hóa đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu trước đây (Jha & Mayanovic, 2023). Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với Cho et al. (2000), khi DDA tăng từ khoảng 50% lên 80% khi tăng nồng độ NaOH từ 40% lên 50%, đồng thời độ hòa tan của chitosan trong dung dịch acid tăng từ khoảng 60% lên 80%. Tương tự, Kumari et al. (2017) cũng ghi nhận chitosan có DDA khoảng 78% và độ hòa tan đạt khoảng 85% khi sử dụng NaOH 45 – 50%. Tuy nhiên, kết quả ở Bảng 6 cho thấy độ hòa tan chỉ tăng nhẹ khi nồng độ NaOH tăng từ 40% lên 50% và sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), cho thấy khả năng hòa tan có xu hướng ổn định khi DDA đạt mức cao.

Nồng độ NaOH tăng ảnh hưởng đáng kể đến khả năng giữ nước của chitosan do làm tăng mức độ deacetyl hóa (DDA), từ đó gia tăng số lượng nhóm $–NH_2$, nâng cao mật độ nhóm ưa nước và cải thiện khả năng giữ nước (Hasriani et al., 2024). Mối quan hệ giữa DDA và khả năng liên kết nước đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu. Cụ thể, Hossain and Iqbal (2014) cho thấy chitosan deacetyl hóa ở NaOH 60% đạt khả năng giữ nước 537,29%, trong khi Cho et al. (2000) ghi nhận WBC của chitosan thương mại từ vỏ tôm và cua dao động 458 – 805%. Tuy nhiên, tương tự DDA và độ hòa tan, WBC chỉ tăng nhẹ khi nồng độ NaOH tăng từ 40% lên 50%, cho thấy hiệu quả cải thiện tính chất của chitosan không còn rõ rệt ở nồng độ kiềm cao.

Các kết quả trên cho thấy nồng độ NaOH ảnh hưởng đáng kể đến DDA, độ hòa tan và khả năng liên kết nước của chitosan. Mặc dù các chỉ tiêu đều tăng khi tăng nồng độ NaOH, nhưng sự cải thiện từ 40% lên 50% không đáng kể. Do đó, NaOH 40% được xem là điều kiện phù hợp cho quá trình deacetyl hóa chitin thành chitosan, vừa đảm bảo chất lượng sản phẩm, vừa góp phần giảm tiêu hao hóa chất và hạn chế tác động bất lợi đến cấu trúc polymer.

3.6.2. Kết quả phân tích phổ FTIR

Mẫu tối ưu được deacetyl hóa trong NaOH 40% ở 110°C trong 2 giờ cho chất lượng tốt nhất. Mẫu này được chọn để phân tích FTIR và kết quả được trình bày ở Hình 1.



Hình 1. Phổ FTIR của chitosan từ vỏ tôm thẻ chân trắng

Phổ FTIR của chitosan thể hiện các dải hấp thụ đặc trưng liên quan đến các nhóm chức amide. Dải rộng tại khoảng 3.200 – 3.500 cm^{-1} đặc trưng cho dao động kéo giãn của liên kết N–H và O–H (amide A), trong khi vùng 2.800 – 3.000 cm^{-1} liên quan đến dao động C–H (amide B). Đỉnh hấp thụ tại khoảng 1.650 cm^{-1} đặc trưng cho dao động kéo giãn C=O của nhóm amide I và đỉnh tại 1.550 – 1.600 cm^{-1} tương ứng với dao động uốn N–H của amide II. Ngoài ra, dải tại khoảng 1.320 – 1.260 cm^{-1} liên quan đến amide III (dao động C–N), phản ánh cấu trúc polymer của chitosan và mức độ deacetyl hóa của vật liệu (Rehman et al., 2023). Kết quả phân tích phổ FTIR của chitosan chiết xuất từ vỏ tôm thẻ chân trắng hiển thị các đặc trưng cấu trúc điển hình của một polysaccharide mạch thẳng. Dải hấp thụ mạnh tại 3.424,96 cm^{-1} là tín hiệu chồng lấp của dao động kéo giãn nhóm –OH và –NH, minh chứng cho mạng lưới liên kết hydro nội phân tử phong phú. Đỉnh 2.881,13 cm^{-1} xác nhận sự hiện diện của liên kết C–H bão hòa trong khung xương polymer. Kết quả cho thấy đỉnh tại 1.621,81 cm^{-1} đặc trưng cho dao động biến dạng của nhóm C=O. Tuy nhiên, không quan sát rõ đỉnh amide II (~1.550 – 1.590 cm^{-1}), điều này cho thấy hàm lượng nhóm $–NHCOCH_3$ đã giảm đáng kể do quá trình deacetyl hóa, dẫn đến sự suy giảm hoặc chồng lấp của dải này. Các đỉnh tại 1.422,24 cm^{-1} và 1.309,43 cm^{-1} lần lượt liên quan

đến dao động biến dạng của CH_2 và dao động kéo giãn C–N (amide III). Ngoài ra, các dải hấp thụ mạnh tại 1.151,29 cm^{-1}, 1.065,48 cm^{-1} và 1.011,48 cm^{-1} đặc trưng cho dao động kéo giãn của cầu C–O–C và liên kết C–O trong vòng glucosamine, xác nhận cấu trúc polysaccharide của chitosan.

Các kết quả này phù hợp với công bố trước đây của Kumirska et al. (2010) cho thấy trong quang phổ hồng ngoại của chitosan đỉnh 3.429 cm^{-1} (O-H kéo dài chồng lên N–H kéo dài), đỉnh 2.921 và 2.867 cm^{-1} (Kéo dài C–H), đỉnh 1.640 cm^{-1} (dải amide II, độ giãn C–O của nhóm axetyl), đỉnh 1.592 cm^{-1} (dải amide II, kéo dài N-H). Kết quả so sánh cho thấy mẫu thu được có các dải hấp thụ đặc trưng của chitosan.

3.7. Kết quả so sánh giữa chitosan thành phẩm và chitosan thương mại

Chitosan thành phẩm thu được sau quá trình tiền xử lý bằng garbage enzyme được so sánh với chitosan thương mại từ vỏ tôm thẻ chân trắng, kết quả so sánh được trình bày trong Bảng 7.

Kết quả trình bày ở Bảng 7 cho thấy chitosan từ vỏ tôm thẻ chân trắng có độ ẩm thấp là 8,16% nên có thể hạn chế những biến đổi trong quá trình bảo quản. Hàm lượng khoáng của chitosan thành phẩm và chitosan thương mại đều thấp (< 1%), đạt yêu cầu của sản phẩm chitosan thành phẩm (No & Meyers, 1995). Bên cạnh đó, ba chỉ tiêu quan trọng quyết định chất lượng của chitosan chính là độ deacetyl, độ hòa tan và khả năng liên kết nước, kết quả đánh giá cho thấy chitosan thành phẩm qua tiền xử lý bằng garbage enzyme có độ deacetyl hóa và độ hòa tan thấp hơn so với chitosan thương mại bán trên thị trường, tuy nhiên khả năng giữ nước không khác biệt có ý nghĩa thống kê, đạt hiệu quả 415% tương đương với chitosan thương mại 458%. Dựa trên các đặc tính phân tích này, kết quả đã cho thấy chitosan thu được có tiềm năng ứng dụng, tuy nhiên, cần tiếp tục việc đánh giá hiệu quả và tính năng của chitosan đối với từng ứng dụng cụ thể.

Bảng 7. Kết quả so sánh chitosan thương mại và chitosan sản xuất từ vỏ tôm thẻ chân trắng

Chỉ tiêu	Chitosan thành phẩm	Chitosan thương mại
Ẩm độ (%)	8,16 ± 0,08	17,6 ± 1,03
Khoáng (%)	0,52 ± 0,15	0,4 ± 0,07
Độ deacety (%)	70,5 ± 4,22[a]	95,8 ± 1,14[b]
Độ hòa tan (%)	71,1 ± 1,52[a]	95,6 ± 0,42[b]
WBC (%)	415 ± 31,2[a]	458 ± 0,34[a]

Ghi chú: Các giá trị có các chữ cái theo sau (a, b) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 3). WBC: Khả năng liên kết nước.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy khi ngâm trong dung dịch garbage enzyme từ vỏ khóm trong 9 giờ, một phần khoáng và protein đã được loại bỏ. Tiếp đó, quá trình khử khoáng được thực hiện bằng HCl 2% trong 12 giờ ở nhiệt độ phòng (28°C) và khử protein bằng NaOH 4% trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, deacetyl hóa bằng NaOH 40% được tiến hành trong 2 giờ ở 110°C và thu được chitosan có chất lượng phù hợp. Trong nghiên cứu này, phụ phẩm vỏ khóm đã được tận dụng để sản xuất garbage enzyme và ứng dụng trong quy trình sản xuất chitosan từ vỏ tôm thẻ chân trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

AOAC. (2000). *Official methods of Analysis of AOAC International,* 17th Edition, George W. Latimer, Jr. (Eds), Volume II. Washington DC. USA.

Arun, C., & Sivashanmugam, P. (2015). Solubilization of waste activated sludge using a garbage enzyme produced from different pre-consumer organic waste. *RSC Advances*, 5, 51421–51427. https://doi.org/10.1039/c5ra07959d.

Aranaz, I., Alcántara, A. R., Civera, M. C., Arias, C., Elorza, B., Heras Caballero, Á., & Acosta, N. (2021). Chitosan: An overview of its properties and applications. *Polymers*, *13*(19), 3256. https://doi.org/10.3390/polym13193256.

Batool, Z., Ahmed, S., Hu, G., & Shen, B. (2026). Protein–polyphenol interactions in plant-based systems: Mechanisms, structure–function relationships, and nutritional implications. *Food Chemistry*, *516,* 149387. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2026.149387.

Benavente, M., Arias, S., Moreno, L., & Martínez, J. (2015). Production of glucosamine hydrochloride from crustacean shell. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *3*(1), 20–26. https://doi.org/10.17265/2328-2150/2015.01.003.

Bruce, B. B., & Boateng, I. D. (2025). Pineapple by-products: A critical review of their bioactive compounds as eco–friendly pesticides in pest management. *Food Chemistry: X*, 28, 102567. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.102567.

Chang, K. L. B., & Tsai, G. J. (1997). Response surface optimization and kinetics of isolating chitin from pink shrimp (*Solenocera melantho*) shell waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *45*(5), 1900–1904. https://doi.org/10.1021/jf9606870.

Çelebi, M., Tav, A., Kaya, M. A., & Özdemir, Z. Ö. (2026). Scalable production of low-molecular-weight chitosan: Comparative study of conventional, microwave, and autoclave-assisted methods. *Polymers*, *18*(2), 213. https://doi.org/10.3390/polym18020213.

Cho, Y. W., Jang, J., Park, C. R., & Ko, S. W. (2000). Preparation and solubility in acid and water of partially deacetylated chitins. *Biomacromolecules*, *1*(4), 609–614. https://doi.org/10.1021/bm000036j.

Domard, A., & Rinaudo, M. (1983). Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, *5*, 49–50. https://doi.org/10.1016/0141-8130(83)90078-8.

Dũ, P. V., Thương, N.T.K., Thơm, N.V., & Thủy, L.T.M. (2020). Nghiên cứu chiết rút và khảo sát tính kháng khuẩn của chitosan tan trong nước từ vỏ tôm thẻ chân trắng *(Litopenaeus vannamei). Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, *56*(2B), 136–145. https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2020.040.

Ghorbel-Bellaaj, O., Jridi, M., Ben-Khaled, H., Jellouli, K., & Nasri, M. (2012). Bioconversion of shrimp shell waste for the production of antioxidant and chitosan used as fruit juice clarifier. *International Journal of Food Science & Technology*, *47*(9), 1835–1841. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03020.x.

Gopalakannan, A., Jasmine, G. I., Shanmugam, S., & Sugumar, G. (2000). Application of proteolytic enzyme, papain for the production of chitin and chitosan from shrimp waste. *Journal of the Marine Biological Association of India*, 42, 167-172.

Hargono, H. & Djaeni, M., 2003. Utilization of chitosan prepared from shrimp shell as fat diluent. *Journal of Coastal Development*, *7*(1), 31–37. https://doi.org/10.14710/reaktor.7.1.37-40

Hasriani, D., Olii, A. T., & Najib, A. (2024). The effect of temperature variations on the deacetylation process of chitosan characteristics from mud crab (*Scylla serrata*) shell waste. *Universal Journal of Pharmaceutical Research*, *9*(4), 28–31. https://doi.org/10.22270/ujpr.v9i4.1151.

Hiệp hội Chế biến và Xuất khẩu Thủy sản Việt Nam (VASEP) (2024). *Chế biến phụ phẩm tôm để tăng giá trị thực hiện kinh tế tuần hoàn*. https://vasep.com.vn/san-pham-xuat-khau/tom/che-bien-phu-pham-tom-de-tang-gia-tri-thuc-hien-kinh-te-tuan-hoan-30399.html.

Hosney, A., Urbonavičius, M., Varnagiris, Š., Ignatjev, I., Ullah, S., & Barčauskaitė, K. (2025). Feasibility study on optimizing chitosan extraction and characterization from shrimp biowaste via acidic demineralization. *Biomass Conversion and Biorefinery*, *15*(8), 12673-12687. https://doi.org/10.1007/s13399-024-06017-y.

Hossain, M. S., & Iqbal, A. (2014). Production and characterization of chitosan from shrimp waste. *Journal of Bangladesh Agricultural University*, *12*(1), 153–160. https://doi.org/10.3329/jbau.v12i1.21406.

Huynh, T. M. T., Dang, C. B., Pham, T. T. T., Pham, V. C. H., Nguyen, L. T. T., Phan, N. T. T., Nguyen, D. D., & Hoang, D. A. (2024). Experimental evaluation of the process of protein removal from waste shrimp shells using papaya and pineapple juice solution. *Vietnam Journal of Food Control*, *7*(2), 124–131. https://doi.org/10.47866/2615-9252/vjfc.4260.

Jha, R., & Mayanovic, R. A. (2023). A review of the preparation, characterization, and applications of chitosan nanoparticles in nanomedicine. *Nanomaterials*, *13*(8), 1302. https://doi.org/10.3390/nano13081302.

Kumari, S., Annamareddy, S. H. K., Abanti, S., & Rath, P. K. (2017). Physicochemical properties and characterization of chitosan synthesized from fish scales, crab and shrimp shells. *International Journal of Biological Macromolecules*, *104*(B), 1697–1705. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.119.

Kumirska, J., Czerwicka, M., Kaczyński, Z., Bychowska, A., Brzozowski, K., Thöming, J., & Stepnowski, P. (2010). Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. *Marine Drugs*, *8*(5), 1567 – 1636. https://doi.org/10.3390/md8051567.

Lyon, J. D. R., Smith, B. R., Abidi, N., & Shamshina, J. L. (2022). Deproteinization of chitin extracted with the help of ionic liquids. *Molecules*, *27*(13), 3983. https://doi.org/10.3390/molecules27133983.

Meena, L., Sengar, A. S., Neog, R., & Sunil, C. K. (2021). Pineapple processing waste (PPW): bioactive compounds, their extraction, and utilisation: a review. *Journal of Food Science*

and Technology, *59*(11), 4152–4164. https://doi.org/10.1007/s13197-021-05271-6.

Minh, N. C., Hòa, N. V., Phượng, P. T. Đ., Trung, & T. S. (2016). Nghiên cứu cải tiến quy trình thu nhận chitin từ phế liệu tôm bằng kết hợp xử lý nhiệt và tẩy màu. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp*, *4*(5), 45–52.

Nalladiyil, A., Prakash, P., & Sivakumar-Babu, G.L. (2023). Garbage enzyme-mediated treatment of landfill leachate: A sustainable approach. *Bioresource Technology*, 385, 129361 https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129361.

Naibaho, J., Manikyaparambil, H., Hannon, S., Pathania, S., McDonagh, C., & Tiwari, B. K. (2026). Trends in shrimp shells valorization for bioactive ingredients extraction: Opinion and perspectives towards circular biorefinery approaches. *Cleaner Food Systems*, *3*, 100017. https://doi.org/10.1016/j.clfs.2026.100017.

No, H. K., & Meyers, S. P. (1995). Preparation and characterization of chitin and chitosan—a review. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, *4*(2), 27-52. https://doi.org/10.1300/J030v04n02_03

No, H. K., Lee, K. S., & Meyers, S. P. (2000). Correlation between physicochemical characteristics and binding capacities of chitosan products. *Journal of Food Science*, *65*(7), 1134–1137. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10250.x.

Pasalari, H., Drastinawati, D., Komalasari, K., Afriani, Y., & Maulana, S. (2024). A systematic review on garbage enzymes and their applications in environmental processes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 278, 116698.

Percot, A., Viton, C., & Domard, A. (2003). Characterization of shrimp shell deproteinization. *Biomacromolecules*, *4*(5), 1380–1385. https://doi.org/10.1021/bm034115h.

Pohling, J., Dave, D., Liu, Y., Murphy, W., & Trenholm, S. (2022). Two-step demineralization of shrimp (*Pandalus borealis*) shells using citric acid: An environmentally friendly, safe and cost-effective alternative to the traditional approach. *Green Chemistry*, *24*(3), 1141-1151. https://doi.org/10.1039/D1GC03140F.

Priatni, S., Kosasih, W., Risdian, C., Primadona, I., Ratnaningrum, D., & Wahyujati, D. A., Arief, D. Z. (2025). Deproteinization process of chitin from dried shrimp shells *(Litopenaeus vannamei)* using papain and nanochitin characteristics. *Applied Food Biotechnology*, *12*(1), 1–10. https://doi.org/10.22037/afb.v12i1.46187

Rai, S., Pokhrel, P., Udash, P., Chemjong, M., Bhattarai, N., Thuanthong, A., & Nirmal, N. (2025). Chitin and chitosan from shellfish waste and their applications in agriculture and biotechnology industries. *Critical Reviews in Biotechnology*, *45*(7), 1508–1526. https://doi.org/10.1080/07388551.2025.2473576.

Rehman, H. U., Cord-Landwehr, S., Shapaval, V., Dzurendova, S., Kohler, A., Moerschbacher, B. M., & Zimmermann, B. (2023). High-throughput vibrational spectroscopy methods for determination of degree of acetylation for chitin and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, *302*, 120428. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120428

Roja, J., Madrigal, J., & Ortiz, J. (2015). Effect of acid hydrolysis on tableting properties of chitin obtained from shrimp heads. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, *14*(7), 1137–1144. https://doi.org/10.4314/tjpr.v14i7.3

Roskoski, R. J. (2015). Michaelis-Menten kinetics. In Reference Module in Biomedical Sciences. *Elsevier*. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.05143-6

Singleton, V. L., Orthofer, R. & Raventos, R. M. L. (1999). Analysis of total phenol and other oxydation substrates and antioxydants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol.*, 299, 152–78. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1

Synowiecki, J., & Al-Khateeb, N. A. (2003). Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *43*(2), 145–171. https://doi.org/10.1080/10408690390826473

Trung, T. S., & Phượng, P. T. Đ. (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*, (3), 48 – 52.

Thiết, N. V., & Tú, Đ. N. (2007). Nghiên cứu tách chiết chitin từ đầu – vỏ tôm bằng các phương pháp sinh học – Sử dụng bromelain trong dịch ép vỏ dứa. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, *45*(3), 51–58.

Thủy, L. T. M., & Thơm, N. V. (2020). Nghiên cứu chiết xuất glucosamine hydrochloride từ vỏ tôm sú (*Penaeus monodon*). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, *56*(Số chuyên đề: Thủy sản), 231–239. https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2020.059

Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources: Structure, Properties and Applications. *Marine Drugs*, *13*(3), 1133–1174. https://doi.org/10.3390/md13031133

Yuan, Y., Chesnutt, B. M., Haggard, W. O., & Bumgardner, J. D. (2011). Deacetylation of

chitosan: Material characterization and in vitro evaluation via albumin adsorption and pre-osteoblastic cell cultures. *Materials*, *4*(8), 1399–1416. https://doi.org/10.3390/ma4081399

Zhang, N., Zhou, Y., Ali, A., Wang, T., Wang, X., & Sun, X. (2024). Effect of molasses addition on the fermentation quality and microbial community during mixed microstorage of seed pumpkin peel residue and sunflower stalks. *Fermentation*, *10*(6), 314. https://doi.org/10.3390/fermentation10060314.