

NGHIÊN CỨU TÁCH CHIẾT CHITIN TỪ ĐÀU - VỎ TÔM BẰNG CÁC PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC

I - SỬ DỤNG BROMELAIN TRONG DỊCH ÉP VỎ DỪA

NGUYỄN VĂN THIẾT, ĐỖ NGỌC TÚ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hàng năm các nhà máy chế biến thủy hải sản của nước ta thải ra một lượng phế liệu giáp xác khá lớn, khoảng 70000 tấn [15]. Nguồn phế thải thủy sản này chủ yếu được sử dụng làm thức ăn gia súc hay thải ra môi trường gây ô nhiễm, chỉ một phần nhỏ được sử dụng để sản xuất ra chitin, vì vậy nghiên cứu công nghệ tạo ra các sản phẩm hữu ích từ nguồn phế liệu này là một vấn đề không chỉ có ý nghĩa lý luận, mà còn có ý nghĩa thực tiễn rất thiết thực.

Một trong các sản phẩm đó là chitin và dẫn xuất của nó là chitosan. Hiện nay chitin/chitosan và các sản phẩm nhận được từ chitin/chitosan được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực đời sống như y-dược học, nông nghiệp, bảo vệ môi trường... [7, 8, 14, 15], đặc biệt ngày nay trong y-dược học chitin/chitosan được coi là polymer dược phẩm. ở nước ta chitosan đã được ứng dụng rộng rãi để điều trị bệnh bóng [12]. Trong thời gian gần đây Viện Các chế phẩm sinh học Nha Trang đã sản xuất thành công chế phẩm chống béo phì từ chitin [13]. Hiện nay nhóm nghiên cứu của chúng tôi ở Viện Công nghệ sinh học đang thực hiện đề tài khoa học về nghiên cứu sản xuất glucosamine từ vỏ tôm để điều trị bệnh viêm khớp, và thu nhận chitin từ vỏ tôm là bước tạo nguyên liệu ban đầu cho sản xuất glucosamine.

Chitin là polysaccharide đứng thứ 2 về lượng trong tự nhiên, chỉ sau cellulose [5, 6, 7, 10]. Ngoài ngành Chân khớp ra, chitin có mặt ở nhiều nhóm sinh vật khác như tảo cát, nấm men, nấm, động vật nguyên sinh, giun tròn và các động vật không xương sống khác [2, 5, 7]. Cũng giống như cellulose, chitin có chức năng cấu trúc ở tất cả các cơ thể mà nó có mặt, nó là thành phần chính của khung xương ngoài ở ngành Chân khớp và thành tế bào nấm [3, 4, 7]. Hiện nay chitin được tách chiết từ vỏ giáp xác chủ yếu là bằng các phương pháp hoá học [1, 5, 9, 15], trong thời gian gần đây các phương pháp sinh học đã bắt đầu được nghiên cứu sử dụng trong sản xuất chitin [1]. Trong công trình này sẽ trình bày kết quả nghiên cứu thu nhận chitin từ phế liệu đầu vỏ tôm bằng phương pháp công nghệ enzyme.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu

Phụ phẩm đầu và vỏ tôm (khô) mua ở huyện Giao Thủy tỉnh Nam Định. Phụ phẩm sau khi mua về được sấy lại cho khô ròn ở nhiệt độ 40°C rồi nghiền nhỏ thành bột làm nguồn nguyên liệu để thu nhận chitin. Vỏ dứa – nguồn enzyme bromelain, được thu ở chợ.

2. Hoá chất

NaOH, HCl và axit oxalic của Trung Quốc, KMnO₄ của Việt Nam, mark công nghiệp.

3. Các phương pháp nghiên cứu

a. Nhận chế phẩm proteinase bromelain từ bã dứa

Vỏ dứa sau khi thu ở chợ về được nghiền nhỏ trong máy xay sinh tố, sau đó chiết proteinase bromelain bằng nước máy từ 2 đến 3 lần (theo tỉ lệ là khoảng 1,5 ÷ 2 lít nước / 1 kg vỏ dứa), lọc dịch chiết qua 1 lần vải phin lọc, dịch chiết các lần gộp lại làm nguồn enzym.

b. Phương pháp hoá học tách chiết chitin từ đầu - vỏ tôm

Quy trình hoá học tách chiết và làm sạch chitin được tiến hành theo phương pháp hoá học thông thường đã áp dụng từ trước tới nay trong nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới cũng như ở Việt Nam để thu nhận chitin từ vỏ tôm, gồm 3 công đoạn chính là loại khoáng, loại protein và khử màu [2, 5, 11].

c. Phương pháp enzym tách chiết chitin từ đầu - vỏ tôm

Theo phương pháp này bột đầu - vỏ tôm khô đầu tiên được rửa bằng nước máy để loại bớt thịt tôm, sau đó xử lí với dịch ép bã dứa cho đến khi hết khoáng thì xử lí tiếp với NaOH để loại hết protein liên kết và khử màu như ở phương pháp hoá học. Chi tiết về phương pháp này xem phần “Kết quả nghiên cứu”.

Thí nghiệm tách chiết chitin (theo cả 2 phương pháp) được tiến hành ở 3 quy mô với khối lượng bột đầu - vỏ tôm tương ứng là 100 g và 500 g và 2 kg/mẫu (mỗi quy mô với 3 mẫu song song).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Như đã đề cập tới ở trên, hiện nay có hai nhóm phương pháp sản xuất chitin từ vỏ giáp xác đó là các phương pháp hoá học [1, 5, 9, 15] và các phương pháp sinh học [1], trong đó phương pháp hoá học tách chiết chitin là phương pháp đã có từ rất lâu và ngày nay vẫn là phương pháp chính được áp dụng trong sản xuất polyme sinh học này, còn phương pháp sinh học mới được nghiên cứu áp dụng trong thời gian gần đây với mục đích thay thế phương pháp hoá học truyền thống tiêu hao nhiều hoá chất và gây ô nhiễm môi trường. Hai nhóm phương pháp này giống nhau ở điểm là chúng đều được thực hiện theo 3 công đoạn chính đó là: loại khoáng, loại protein, loại các chất màu, tuy trình tự các công đoạn có thể phụ thuộc vào từng phương pháp cụ thể. Điểm khác nhau căn bản của 2 nhóm phương pháp này là ở cách loại protein: Trong các phương pháp sinh học protein bị loại trong những điều kiện rất “mềm” nhờ sử dụng hoạt tính proteolytic (phân huỷ protein) của các enzyme thuộc nhóm proteinase, còn trong các phương pháp hoá học protein bị loại bằng axit và kiềm.

1. Kết quả tách chiết chitin bằng phương pháp hoá học

Các công đoạn của phương pháp hoá học tách chiết và tinh chế chitin được thực hiện theo trình tự sau:

Bước 1: Xử lí nguyên liệu với axit

Cho một lượng thích hợp dung dịch axit HCl 2,74 N vào nguyên liệu đã được rửa sơ bộ bằng nước máy để loại bớt thịt, ngâm trong 1 giờ sau đó rửa cạn bằng nước máy đến pH trung tính; lặp lại việc xử lí như vậy 2 lần nữa (đến khi cho axit vào không thấy sủi bọt khí nữa là được). Bước xử lí này loại được hết các chất khoáng và một phần đáng kể protein trong vỏ tôm.

Bước 2: Xử lí với kiềm

Ngâm sản phẩm thu được từ bước 2 với dung dịch NaOH 4% ở nhiệt độ phòng trong một thời gian ngắn (15 – 30 phút, có thể ngâm qua đêm), sau đó đun sôi 1 giờ rồi rửa sạch bằng nước máy đến pH trung tính. Việc xử lý kiềm này được lặp lại thêm 2 lần nữa. Trong công đoạn này tất cả các protein cấu trúc của vỏ tôm đều bị loại, sản phẩm thu được là chế phẩm chitin thô còn chứa các chất màu.

Bước 3: Loại bỏ các chất màu

Các chất màu trong chế phẩm chitin thô được tẩy đầu tiên bằng xử lý với dung dịch KMnO_4 (thuốc tím) nồng độ 0,1% (ngâm trong 15 phút sau đó rửa sạch bằng nước máy) và với dung dịch axit oxalic ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$) nồng độ 1%: ngâm từ 1 đến 2 giờ cho đến khi sản phẩm có màu trắng thì lấy ra rửa sạch bằng nước máy, phơi khô (hoặc sấy ở nhiệt độ dưới 50°C) sẽ thu được chế phẩm chitin sạch.

Chúng tôi đã tiến hành tách chiết và tinh chế chitin từ bột đầu-vỏ tôm theo quy trình trên ở 2 quy mô thí nghiệm với khối lượng mẫu là 100 g và 500 g. Ngoài ra chitin còn được tách từ một mẫu vỏ tôm sạch (rửa hết phần thịt bám trên vỏ) bằng phương pháp này. Toàn bộ quá trình tách chiết được tiến hành trong 1 ngày. Chế phẩm chitin thu được được sấy hoặc phơi khô đến trọng lượng không đổi để tính hiệu suất thu hồi chitin. Tiêu hao hoá chất (axit, xút và chất tẩy màu) và hiệu suất thu hồi chitin trong các thí nghiệm ở cả 2 quy mô 100 g và 500 g nguyên liệu/mẫu và của thí nghiệm với 21 g vỏ tôm sạch được tóm tắt trong bảng 1.

Bảng 1. Tiêu hao hoá chất và hiệu suất thu hồi chitin khi tách chiết bằng phương pháp hoá học (giá trị trung bình của 3 thí nghiệm ở mỗi quy mô tách chiết và của mẫu vỏ tôm sạch)

Chỉ tiêu, thông số	Quy mô thí nghiệm		Mẫu 21 g vỏ tôm sạch (được loại hết thịt)
	100 g nguyên liệu/mẫu	500 g nguyên liệu/mẫu	
HCl 2,74 N	430 ml (44,2 g)	2000 ml (205,5 g)	42 ml (4,32 g)
NaOH 4%	925 ml (37,0 g)	3000 ml (120,0 g)	126 ml (5,04 g)
KMnO_4 0,1%	10 ml (10 mg)	50 ml (50 mg)	2,5 ml (2,5 mg)
$\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$ 1%	10 ml (100 mg)	50ml (500mg)	2,5 ml (25 mg)
Chitin	7,5 g	37,0 g	6,0 g
Hiệu suất	7,5%	7,4%	28,6%

Các kết quả bảng 1 cho thấy: Lượng chitin trung bình thu được từ 100 g nguyên liệu bột đầu - vỏ tôm sấy khô bằng phương pháp hoá học là khoảng $7,4 \div 7,5$ g. Kết quả này thấp hơn rất nhiều so với các số liệu của các tác giả khác đã công bố đối với phương pháp hoá học: Theo các tài liệu đã công bố trước đây mà chúng tôi có được thì hiệu suất của quá trình tách chitin bằng phương pháp hoá học là ~30 g chitin/100 g vỏ tôm [11; 14]. Sở dĩ có sự chênh lệch lớn như vậy có lẽ là do nguyên liệu (đầu - vỏ tôm) mà chúng tôi sử dụng để tách chitin có chứa rất nhiều thịt. Kết quả tách chitin từ mẫu nguyên liệu vỏ tôm sạch bằng phương pháp hoá học mà chúng tôi tiến hành, cho hiệu suất thu hồi chitin là 28,6% (thu được 6 g chitin từ 21 g vỏ tôm sạch) – một giá trị tương đương với giá trị của các tác giả khác như đã nêu trên. Như vậy, hiệu suất thu hồi chitin phụ thuộc vào mẫu nguyên liệu đó chứa nhiều hay ít protein.

2. Kết quả tách chiết chitin nhờ sử dụng enzym bromelain

Như chúng ta đã biết trong quả dứa có rất nhiều bromelain - enzym thủy phân protein, đồng thời còn có nhiều axit hữu cơ (nước dứa và dịch ép bã dứa rất chua). Hai tính chất này của quả dứa rất thích hợp cho việc sử dụng dịch ép bã dứa để loại bỏ cả protein và các chất khoáng trong quy trình thu nhận chitin từ vỏ tôm.

Quy trình thu nhận chitin bằng phương pháp enzyme sử dụng dịch ép vỏ dứa đã được thực hiện ở 3 quy mô với 100 g, 500 g và 2 kg nguyên liệu đầu - vỏ tôm/mẫu thí nghiệm. Kết quả các thí nghiệm sơ bộ cho thấy cứ 100 g nguyên liệu ban đầu được xử lý với 300 ml dịch ép bã dứa là thích hợp. Quá trình xử lý với dịch ép vỏ dứa được tiến hành cho đến khi toàn bộ lượng khoáng trong nguyên liệu đã bị loại bỏ hết (thử với dung dịch HCl 1,2 N nếu không thấy sủi bọt là được), sau đó lượng protein liên kết còn lại trong nguyên liệu được loại bỏ tiếp bằng dung dịch NaOH 2% hoặc 1%. Toàn bộ thời gian thực hiện quy trình thu nhận chitin bằng phương pháp công nghệ enzym kéo dài khoảng 8 ngày.

Quy trình tách chiết chitin nhờ sử dụng bromelain được tiến hành theo sơ đồ sau: 100 g nguyên liệu → rửa loại bỏ thịt → hoà cặn vào 300 ml dịch chiết enzym (nước ép bã dứa), 1 ngày thay dịch enzym 2 lần (sáng và chiều), xử lý như vậy trong thời gian 6 ÷ 7 ngày → rửa sạch thu cặn → xử lý 2 lần với dung dịch NaOH 2% (hoặc 1%) ở 90°C trong 45 phút → tẩy màu bằng thuốc tím và axit oxalic → sấy (hay phơi) khô thu sản phẩm. Quy trình này hoàn toàn không cần tới axit HCl để loại khoáng, vì trong dịch ép bã dứa có chứa rất nhiều axit hữu cơ có tác dụng loại khoáng rất tốt.

Theo quy trình trên chúng tôi đã tiến hành 2 đợt thí nghiệm ở các quy mô 100 g và 500 g nguyên liệu/mẫu, mỗi đợt với 3 mẫu song song, với quy mô 2 kg nguyên liệu/mẫu - cũng tiến hành 2 đợt thí nghiệm, nhưng mỗi lần chỉ có 1 mẫu. Các mẫu nguyên liệu được sử dụng trong các thí nghiệm này cũng giống như trong các thí nghiệm với phương pháp hoá học, trừ mẫu nguyên liệu của đợt II ở quy mô 100 g/mẫu đã bị loại bỏ ra đa số các mảnh vỏ tôm to sạch thịt và nguyên liệu của 2 thí nghiệm ở quy mô 2 kg nguyên liệu/mẫu cũng bị loại bỏ một phần các mảnh vỏ tôm to. Tổng kết kết quả tất cả các thí nghiệm ở cả 3 quy mô theo mức độ tiêu hao hoá chất và hiệu suất thu hồi chitin được tóm tắt trong bảng 2.

Bảng 2. Tiêu hao hoá chất và hiệu suất thu hồi chitin khi tách chiết bằng phương pháp enzym sử dụng bromelain từ vỏ dứa (giá trị trung bình của 3 thí nghiệm ở mỗi quy mô tách chiết và của mẫu vỏ tôm sạch)

Chỉ tiêu, thông số	100 g nguyên liệu/mẫu		500 g nguyên liệu/mẫu		2 kg nguyên liệu/mẫu ⁽²⁾
	Đợt I	Đợt II ⁽¹⁾	Đợt I	Đợt II	
HCl 1,2 N	0	0	0	0	0
NaOH 2%	200 ml (4 g)		800 ml (16 g)		
NaOH 1%		500 ml (5 g)		2300 ml (23 g)	7000 ml (70 g)
KMnO ₄ 0,1%	10 ml (10 mg)	10 ml (10 mg)	50 ml (50 mg)	100 ml (0,1 g)	300 ml (0,3 g)
C ₂ H ₂ O ₄ 1%	10 ml (0,1 g)	10 ml (0,1 g)	50 ml (0,5 g)	200 ml (2 g)	1000 ml (10 g)
Chitin	10,5 g	3,6 g	50,7 g	53 g	141 g
Hiệu suất	10,5%	3,6%	10,14%	10,6%	7,05%

Mẫu nguyên liệu trong các thí nghiệm này đã bị loại bỏ đa số (1) hoặc một phần (2) các mảnh vỏ tôm to dính ít thịt tôm.

Trong quy trình này có thể sử dụng dung dịch NaOH 1% thay cho dung dịch 2% mà kết quả vẫn đạt yêu cầu như khi sử dụng dung dịch xút 2%, trong trường hợp sử dụng dung dịch NaOH 1% để loại bỏ các protein liên kết bền vững thì lượng xút và các chất tẩy màu tiêu tốn nhiều hơn so với khi sử dụng dung dịch NaOH 2% (bảng 2), đặc biệt là không cần sử dụng dung dịch xút nồng độ 4%. Điều này mang lại lợi thế cho quy trình enzym dưới góc độ thiết bị. Trong quy trình này thậm chí không cần sử dụng tới HCl - một thành phần không thể thiếu trong tách chiết chitin bằng phương pháp hoá học.

Việc xử lý bột vỏ tôm với dịch ép bã dứa không chỉ loại được phần lớn lượng protein của vỏ tôm, mà còn loại được hết các chất khoáng (chủ yếu là Ca) trong vỏ tôm; vì dịch ép bã dứa chứa rất nhiều axit hữu cơ có khả năng phản ứng với các chất khoáng trong vỏ tôm. Đây là một ưu điểm rất lớn của phương pháp sử dụng dịch ép bã (vỏ) dứa để thu nhận chitin.

Từ kết quả bảng 2 ta thấy hiệu suất thu hồi chitin của phương pháp enzym là khoảng trên 10% một chút đối với cả 2 quy mô thí nghiệm là 100 g và 500 g nguyên liệu/mẫu, còn khi nguyên liệu chứa nhiều protein hơn (vì đã bị loại bỏ bớt các mảnh vỏ tôm to và sạch) thì hiệu suất thu hồi chitin cũng giảm: Mẫu nguyên liệu của đợt thí nghiệm thứ 2 ở quy mô 100 g/mẫu đã bị loại phần lớn các vỏ tôm to, cho nên hiệu suất thu hồi chitin của đợt thí nghiệm thứ hai này chỉ đạt 3,6% so với 10,5% của đợt thí nghiệm thứ nhất (tiến hành với mẫu nguyên liệu không bị loại bớt các mảnh vỏ tôm to và sạch); tương tự, mẫu nguyên liệu đầu - vỏ tôm được sử dụng trong thí nghiệm ở quy mô 2 kg/mẫu cũng bị loại một phần các mảnh vỏ tôm to và sạch, cho nên hiệu suất thu hồi chitin trong thí nghiệm này cũng chỉ đạt 7,05%.

3. So sánh kết quả thu nhận chitin bằng 2 phương pháp hoá học và enzym

Bảng 3. So sánh một số thông số của 2 phương pháp hoá học và enzym tách chiết chitin từ đầu - vỏ tôm (tính cho 100 g nguyên liệu)

TT	Chỉ tiêu, thông số	Phương pháp hoá học	Phương pháp enzym
1	Hiệu suất thu hồi chitin	7,45 %	10,4 %
2	Chất lượng chitin (màu)	màu trắng đục, hơi vàng	màu trắng đẹp
3	Tiêu hao hoá chất - Dịch ép vỏ dứa - HCl - NaOH - KMnO ₄ - Axit oxalic	0 42,84g 24 ÷ 37 g (*) 10 mg 100 mg	4,5 lit 0 4,22 g 10 mg 100 mg
4	Thời gian thực hiện quy trình	1 ngày	7 - 8 ngày

(*) Đối với phương pháp hoá học lượng xút tiêu tốn dường như giảm khi tăng quy mô tách chiết: 37 g và 24 g NaOH tương ứng cho quy mô tách chiết là 100 g và 500 g nguyên liệu.

Sau khi nhận được các chế phẩm chitin bằng 2 phương pháp hoá học và enzym, chúng tôi đã tiến hành so sánh kết quả thu nhận chitin từ đầu - vỏ tôm phế liệu bằng 2 phương pháp này theo các chỉ tiêu về tiêu hao hoá chất, hiệu suất thu hồi và chất lượng của chế phẩm chitin nhận

được, chi phí thời gian để thực hiện quy trình tách chiết và mức độ gây ô nhiễm môi trường. Các thông số khác như chi phí điện nước và công lao động chưa được tính đến vì quy trình mới chỉ được thực hiện ở quy mô trong phòng thí nghiệm (100 g và 500 g nguyên liệu/1 mẫu tách chiết). Chất lượng của chế phẩm chitin bước đầu được đánh giá theo màu sắc của chitin nhận được theo mỗi phương pháp. Kết quả so sánh các chỉ tiêu này cho cả 2 quy mô thí nghiệm là 100 g và 500 g nguyên liệu/1 mẫu của 2 phương pháp được tóm tắt trong bảng 3.

Kết quả bảng 3 cho thấy phương pháp enzyme có nhiều ưu điểm so với phương pháp hoá học thông thường. *Thứ nhất*, hiệu suất thu hồi chitin bằng phương pháp enzym cao hơn so với phương pháp hoá học: tương ứng là khoảng 7,45% và 10,4%; chất lượng chế phẩm chitin nhận được bằng phương pháp enzym cũng tốt hơn (màu trắng đẹp) so với chất lượng của chế phẩm chitin nhận được bằng phương pháp hoá học (màu trắng đục, hơi vàng). *Thứ hai*, tiêu hao hoá chất chủ yếu là (HCl và NaOH) cho tách chiết chitin bằng phương pháp enzym ít hơn rất nhiều so với phương pháp hoá học: Phương pháp enzym sử dụng nguồn proteinase là dịch ép vỏ dừa hoàn toàn không cần đến HCl – thành phần quan trọng hàng đầu không thể thiếu trong phương pháp hoá học để loại bỏ hoàn toàn các chất khoáng và một phần đáng kể protein, ngoài ra lượng xút tiêu tốn còn giảm đi nhiều lần (từ $24 \div 37$ g giảm xuống còn 4,2 g NaOH/100 g nguyên liệu). Hơn nữa, theo phương pháp hoá học để loại hết protein phải sử dụng dung dịch NaOH 4%, nhưng theo phương pháp enzyme chỉ cần sử dụng dung dịch NaOH 2% hoặc 1% cũng được. Lượng chất tẩy màu tiêu tốn cho 2 phương pháp là gần như nhau. Ngoài ra, việc giảm nồng độ dung dịch NaOH được sử dụng để loại protein từ 4% xuống 2% - 1% và không cần HCl để loại khoáng còn mang lại lợi thế quan trọng cho phương pháp enzym dưới góc độ thiết bị, điều này có ý nghĩa kinh tế đáng kể đối với các quy trình công nghệ khi được triển khai để tạo ra chế phẩm thương mại.

Hạn chế duy nhất của phương pháp enzyme so với phương pháp hoá học trong thu nhận chitin là thông số thời gian: quy trình tách chiết chitin theo phương pháp enzym được thực hiện trong 7 - 8 ngày, còn theo phương pháp hoá học chỉ mất 1 ngày. Tuy nhiên, nếu đánh giá theo mức độ gây ô nhiễm môi trường bởi chất thải của các phương pháp gây ra thì phương pháp enzyme ít gây ô nhiễm môi trường so với phương pháp hoá học, điều này dễ thấy từ lượng hoá chất tiêu tốn trong mỗi phương pháp, vì mức độ gây ô nhiễm môi trường có thể nói là tỉ lệ thuận với lượng hoá chất được sử dụng trong mỗi phương pháp để tách chiết và làm sạch chitin.

Từ các kết quả nhận được trên đây có thể rút ra kết luận.

IV. KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu tìm được quy trình thu nhận chitin từ đầu - vỏ tôm phế liệu bằng phương pháp enzym sử dụng dịch ép vỏ dừa phế thải chứa proteinase bromelain và giàu các axit hữu cơ, có tác dụng loại một cách hiệu quả các chất khoáng và protein trong nguyên đầu - vỏ tôm.

Phương pháp chế biến sinh học sử dụng dịch ép vỏ dừa để thu nhận chitin từ đầu - vỏ tôm phế liệu có nhiều ưu điểm so với phương pháp hoá học thông thường: không cần axit để loại khoáng, tiêu tốn ít xút cho loại protein, hiệu quả thu hồi chitin cao hơn mà chất lượng chế phẩm chitin nhận được lại tốt hơn và ít gây ô nhiễm môi trường hơn.

Nhược điểm duy nhất của phương pháp sinh học sử dụng bromelain trong dịch ép vỏ dừa là mất nhiều thời gian thực hiện quy trình hơn so với phương pháp hoá học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. P. Beaney, J. Lizardi-Mendoza, M. Healy - Comparison of chitins produced by chemical and bioprocessing methods. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **80** (2) (2005) 145-150.
2. J. S. Brimacombe, J. M. Webber - Mucopolysaccharides: Chemical structure, distribution and Isolation **6** (1964) 18-42.
3. C. E. Bulawa, B. C. Osmond - Chitin synthase I and Chitin synthase II are not required for Chitin synthesis in vivo in *Saccharomyces cerevisiae*, *PNAS USA* **87** (1990) 7424-7428.
4. M. J. Karanda, P. W. Robbins - Chitinase is required for cell separation during growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *JBC* **266** (1991) 19758-19767.
5. Ágostó Í. Á., Águstó A. É., Águstó Á. A., Águstó A. Á., Águstó O. C., Águstó B. Á. (1967). Águstó Águstó. Águstó Águstó "Águstó", *Mocòðà*, 672 Águstó. [Kochetkov N.K., Bochkov A.Ph., Dmitriev B.A., Usov A.I., Chigiov O.S., Shybaev B.I. (1967). *Carbonhydrates Chemistry*. Publishinh House "Chemistry", Moscow. 672 pp.].
6. A. L. Lehninger – *Biochemistry*, Worth Publishers, Inc., New York, 1977.
7. R. A. A. Muzzarelli - Chitin, 1977, pp. 155-181.
8. F. Nanjo, R. Katsumi, K. Sakai - Enzymatic method for determination of the degree of deacetylation of chitosan. *Analytical Biochemistry* **193** (1991) 164-167.
9. S. A. Pinelli, G. A. R. Toledo, B. I. R. Esquerre, S. A. R. Luviano, and C. I. Higuera - Methods for extracting chitin from shrim shell waste. *Arch. Latioam. Nutr.* **48** (1) (1998) 58-61.
10. G. Rechards - *Biochemistry of Insects* (Rockstein M., Ed.), Academic Press, 1978.
11. Mai Xuân Tịnh - Điều chế chitin/chitosan từ vỏ tôm phế thải, *Tạp chí Hoá học và Công nghệ hữu cơ* **69** (4) (2001) 17-19.
12. Cấy ghép da tự thân cho các bệnh nhân bỏng - <http://www.vtv.vn/vi-vn/suckhoe/2005/2/39521.vtv>.
13. Chữa béo phì và điều trị thoái hoá khớp - <http://www.baokhanhhoa.com.vn/Chinhtri-Xahoi/2005/05/80099/>
14. Đưa công nghệ sản xuất chitin và chitosan vào phục vụ đời sống. <http://www.baocantho.com.vn/vietnam/trongnuoc/9862/>
15. Trần Thị Luyến- Tiềm năng phát triển công nghệ sản xuất chitosan và các sản phẩm công nghiệp từ vỏ tôm cua phế liệu thủy sản. www.lamdong.gov.vn/KyyeuHNMD/Congnghiep/Chitosan.htm.

SUMMARY

STUDYING BIOPROCESSING PROCEDURES FOR PREPARATION OF CHITIN FROM SHRIMP SHELLS.

1 – USING BROMELAIN IN THE EXTRACTS OF PINEAPPLES WASTE

The procedure based on using proteolytic activity of bromelain extracted from pine-apple waste was successfully used for isolation of chitin from shrimp shells. The enzyme-processing method included steps: (1) treating shrimp shells with the extracts from pine-apple waste (for removal of proteins and minerals), (2) further removal of the tightly bind protein by boiling with