

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN TÁCH CHIẾT VÀ BẢO QUẢN ASTAXANTHIN TỪ VỎ TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Penaeus vannamei* Boone, 1931)

CONDITIONS FOR EXTRACTION AND STORAGE OF ASTAXANTHIN FROM WHITE LEG SHRIMP (*Penaeus vannamei* Boone, 1931)

**Đặng Trung Thành^{1*}, Trần Văn Dũng²,
Lương Thị Hậu³, Trần Thị Hoàng Quyên¹**

¹Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang

²Viện Nuôi trồng Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang

³Trung tâm Thí nghiệm Thực hành, Trường Đại học Nha Trang

*Tác giả liên hệ: Đặng Trung Thành; Email: thanhtdt@ntu.edu.vn

Ngày nhận bài: 01/12/2022; Ngày phân biên thông qua: 26/12/2022; Ngày duyệt đăng: 28/12/2022

TÓM TẮT

Vỏ tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) là phụ phẩm của ngành chế biến thủy sản và cũng là nguồn nguyên liệu dồi dào chứa các carotenoids (astaxanthin) có tiềm năng ứng dụng cho các ngành thực phẩm, y dược, nuôi trồng thủy sản và một số ngành khác. Astaxanthin được tách chiết từ nguồn phụ phẩm trên bằng dung môi với sự hỗ trợ của sóng viba. Các điều kiện bảo quản chế phẩm astaxanthin sau tách chiết cũng được khảo sát (Astaxanthin hòa tan trong dầu đậu nành được bảo quản ở nhiệt độ phòng và nhiệt độ lạnh (0 – 4°C) với điều kiện tiếp xúc và không tiếp xúc với ánh sáng. Kết quả cho thấy điều kiện tách chiết astaxanthin từ vỏ tôm thẻ tươi (100 g) thích hợp với dung môi dầu đậu nành; tỉ lệ dung môi/nguyên liệu (3/1; ml/g); thời gian chiết với sự hỗ trợ của sóng viba là 2 phút; số lần chiết là 3 lần cho hàm lượng astaxanthin cao nhất 123,48 mg astaxanthin/kg; đạt hiệu suất chiết 87,51%. Sau thời gian bảo quản 6 tháng, hàm lượng astaxanthin còn lại 66,18% và hoạt tính chống oxy hóa (DDPH) đạt 51,22% trong điều kiện bảo quản ở nhiệt độ thấp và có che ánh sáng.

Từ khóa: astaxanthin, bảo quản, tách chiết, vỏ tôm thẻ chân trắng.

ABSTRACT

White leg shrimp (*Penaeus vannamei*) shell is a by-product of the seafood processing industry and is also a rich source of carotenoids (astaxanthin) with potential applications for the food, medicine, and aquaculture industries and several other industries. Astaxanthin was extracted from the by-products by solvent with the help of microwaves. The storage conditions for astaxanthin preparations after extraction were also investigated (astaxanthin dissolved in soybean oil was stored at room temperature and cold temperature (0 - 4°C) with the light and darkness conditions. The results showed that the extraction conditions for astaxanthin from fresh white leg shrimp shells (100 g) are suitable for soybean oil solvent; solvent/material ratio (3/1; ml/g); time extraction with the help of microwave is 2 minutes; the number of extractions is 3 times for the highest astaxanthin content of 123.48 mg astaxanthin/kg; extraction efficiency is 87.51%. After 6 months of storage, the remaining astaxanthin content was 66.18% and the antioxidant activity (DDPH) was still of 51.22% under the conditions of storage at low temperature and darkness.

Keywords: astaxanthin, extraction, preservation, whiteleg shrimp shell.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vỏ tôm thẻ là phụ phẩm của ngành chế biến thủy sản có chứa các thành phần có giá trị như protein, chitin và các carotenoids (chủ yếu là astaxanthin) có tiềm năng ứng dụng cho ngành thực phẩm, thực phẩm chức năng, y dược, nuôi trồng thủy sản và một số ngành khác [4, 24].

Theo số liệu thống kê, sản lượng giáp xác được chế biến trên thế giới cao và ngày càng gia tăng từ 5,03 – 7,28 triệu tấn/năm [18]. Lượng phụ phẩm từ quá trình chế biến tôm là rất lớn, chiếm khoảng 45 - 60% tùy thuộc và loại tôm và phương pháp chế biến [17]. Lượng phụ phẩm trên nếu không được tận dụng tốt không những

rất lãng phí mà còn có nguy cơ gây ô nhiễm môi trường cao. Astaxanthin (3,3-dihydroxy- β , β -carotene-4,4-dione), thuộc họ xanthophylls, là một carotenoid phổ biến được tìm thấy trong một số loại rong, tảo, động vật giáp xác, một số loài cá và chim, hoặc được sinh tổng hợp từ một số loài nấm với hàm lượng cao [8, 30].

Sắc tố astaxanthin tồn tại tự nhiên ở ba dạng (monoester, diester và astaxanthin tự do) và có báo cáo cho rằng nguồn astaxanthin tự nhiên trên bao gồm 95% phân tử được ester hóa [5]. Do có cấu tạo đặc biệt nên astaxanthin có hoạt tính chống oxy hóa cao hơn các chất chống oxy hóa tự nhiên khác như vitamin A, C, E [13, 19]. Ngoài ra, nó còn được chứng minh có khả năng tăng cường miễn dịch, chống stress, chống lại các bệnh do vi khuẩn và nấm gây ra và ứng dụng trong ngành thủy sản như cải thiện màu sắc và tăng sức đề kháng của các loài tôm, cá nuôi [11, 12, 28]. Astaxanthin là chất không phân cực, không hòa tan trong nước. Vì vậy, có thể dùng các dung môi không phân cực (hexane, etc, chloroform, dichloromethane,...) và những dung môi khác như acetone, methanol để hòa tan và tách astaxanthin ra khỏi nguyên liệu [15, 20]. Tuy nhiên, những dung môi trên thường đắt và có độc tính nên bị hạn chế sử dụng trong tách chiết các chất có hoạt tính sinh học và ứng dụng trong các lĩnh vực thực phẩm và y dược. Ethanol và dầu ăn là hai dung môi an toàn đối với con người và vật nuôi, giá thành vừa phải; có khả năng hòa tan tốt các carotenoids nên được sử dụng làm dung môi tách chiết astaxanthin. Cho đến nay, có nhiều phương pháp được sử dụng để tách các chất có hoạt tính sinh học nói chung và carotenoids nói riêng. Sử dụng sóng viba hỗ trợ tách chiết carotenoids có nhiều ưu điểm như thời gian chiết nhanh, hiệu quả tách chiết cao và ít ảnh hưởng đến hoạt tính của sản phẩm [2, 19].

Astaxanthin có hoạt tính sinh học cao nhưng cũng rất nhạy cảm với các tác nhân môi trường như nhiệt độ, ánh sáng và không khí. Chúng nhanh bị biến tính, giảm hoạt tính sinh học dưới tác động của môi trường nếu không được bảo quản tốt [13, 25]. Cho đến nay, ở nước ta vẫn chưa có nhiều báo cáo nghiên cứu tách

chiết astaxanthin với sự hỗ trợ của sóng viba và đánh giá đầy đủ về điều kiện bảo quản hoạt chất trên. Vì vậy, nghiên cứu điều kiện chiết với sự hỗ trợ của sóng viba và đánh giá ảnh hưởng của điều kiện bảo quản theo thời gian đến sự hao hụt hàm lượng và hoạt tính chống oxy hóa của astaxanthin có ý nghĩa đối với quá trình thu hồi và ứng dụng của astaxanthin trong nhiều lĩnh vực.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Vỏ tôm thẻ chân trắng tươi được thu mua từ công ty cổ phần Nha Trang Seafood (F17), được vận chuyển trong thùng xốp có đá lạnh về phòng thí nghiệm. Nguyên liệu được rửa sạch, loại bỏ tạp chất, để ráo nước, sau đó đem đi cấp đông và bảo quản đông ở nhiệt độ -20°C để sử dụng cho các thí nghiệm nghiên cứu. Dầu đậu nành (nhãn hiệu Simly) được mua tại siêu thị và các hóa chất sử dụng trong thí nghiệm đạt tiêu chuẩn phân tích (xuất xứ Trung Quốc) được sử dụng làm dung môi tách chiết astaxanthin.

2. Phương pháp nghiên cứu

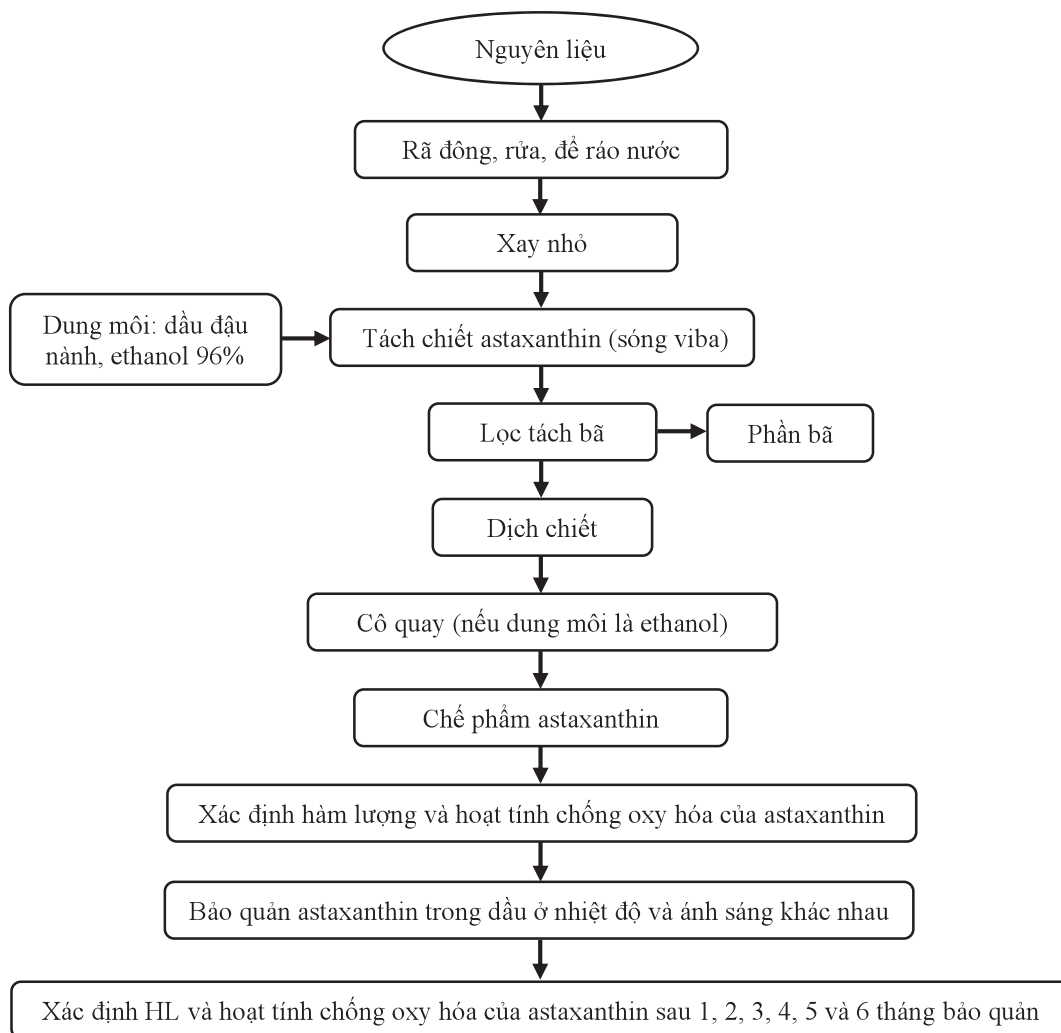
2.1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm tổng quát

2.2. Nghiên cứu các điều kiện tách chiết astaxanthin

Vỏ tôm được rã đông, rửa, để ráo nước và cân mẫu với khối lượng 100 (g). Nguyên liệu được cho vào cốc thủy tinh 500 ml. Dầu đậu nành và ethanol 96% là hai dung môi được sử dụng để chiết astaxanthin. Astaxanthin được chiết với các tỉ lệ dung môi/nguyên liệu khác nhau (ml/g): 1/1; 2/1; 3/1; 4/1 và 5/1). Thời gian xử lý sóng viba (thời gian chiết) được bố trí 60s; 90s; 120s; 150s và 180s với số lần chiết 2, 3 và 4 lần. Sau khi chiết xong, dịch chiết được xác định hàm lượng astaxanthin và hoạt tính chống oxy hóa.

2.3. Xác định điều kiện bảo quản của astaxanthin

Astaxanthin hòa tan trong dầu đậu nành được bảo quản ở nhiệt độ phòng, nhiệt độ lạnh ($0 - 4^{\circ}\text{C}$) trong điều kiện có và không tiếp xúc với ánh sáng. Sau các khoảng thời gian bảo quản 1 tháng, 2 tháng, 3 tháng, 4 tháng, 5 tháng và 6 tháng, dầu chứa astaxanthin được



Hình 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm tổng quát.

xác định hàm lượng và hoạt tính chống oxy hóa (DDPH). Qua đó, ảnh hưởng của điều kiện bảo quản theo thời gian đến sự hao hụt và hoạt tính chống oxy hóa của astaxanthin được đánh giá. Các điều kiện thí nghiệm (TN) như sau: TN1 (nhiệt độ phòng, có tiếp xúc ánh sáng), TN2 (nhiệt độ phòng, không tiếp xúc với ánh sáng), TN3 (nhiệt độ lạnh (0 - 4°C), có tiếp xúc ánh sáng) và TN4 (nhiệt độ lạnh (0 - 4°C), không tiếp xúc ánh sáng).

2.4. Phương pháp phân tích

2.4.1. Xác định hàm lượng astaxanthin

Hàm lượng astaxanthin trong dầu đậu nành được xác định theo phương pháp của Ramamoorthy và cộng sự (2010) và García-Romero và cộng sự (2014) [12, 22]. Hàm lượng

astaxanthin trong dầu được xác định trên thiết bị đo độ hấp thụ quang phổ UV-Vis (Biochrom Ltd, Cambridge, England) ở bước sóng 487 nm theo công thức dưới đây:

$$Y = \frac{A.V.D.10^4}{W.E} (\mu\text{g/g})$$

Trong đó: Y là hàm lượng astaxanthin thu được (µg/g); A là độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 487 nm; V là thể tích dịch chiết astaxanthin (ml); D là hệ số pha loãng; W là khối lượng mẫu vỏ tôm (g); E là hệ số sắc tố quang của dầu (Dung môi dầu đậu nành có hệ số E là 2.145).

2.4.2. Xác định hiệu suất chiết astaxanthin

Hiệu suất chiết của astaxanthin từ vỏ tôm được tính theo công thức sau:

$$\text{Hiệu suất chiết} = \frac{\text{Lượng astaxanthin chiết được}}{\text{Lượng astaxanthin trong vỏ tôm}} \times 100\%$$

Trong đó: Lượng astaxanthin chiết được sẽ được xác định theo công thức mục 2.4.1. Trong khi đó, lượng astaxanthin trong vỏ tôm được xác định theo phương pháp chiết bằng khuấy từ với dung môi là dầu ăn (tỉ lệ dung môi/nguyên liệu: 3/1; nhiệt độ 40 °C, tốc độ khuấy 300 vòng/phút, thời gian chiết 3h. Quá trình chiết được lặp lại cho đến khi astaxanthin được tách chiết triệt để khỏi vỏ tôm (lặp lại 6 lần).

2.4.3. Xác định hoạt tính chống oxy hóa (DDPH)

Hoạt tính chống oxy hóa (DDPH) của dầu astaxanthin được xác định thông qua hiệu quả quét gốc tự do DPPH, và được xác định trên phương pháp của Brand-Williams và cộng sự (1995) [3]. Hoạt tính chống oxy hóa được xác định trên thiết bị đo độ hấp thụ quang phổ UV-Vis. Các mẫu được đọc ở bước sóng 515 nm và kết quả được biểu thị dưới dạng phần trăm (%) so với mẫu đối chứng.

3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu trình bày trong báo cáo là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Kết quả được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và phần mềm xử lý số liệu SPSS 18.0 với giá trị của P < 0,05 được xem là có ý nghĩa về mặt thống kê.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Ảnh hưởng của loại dung môi đến hiệu quả chiết astaxanthin và hoạt tính chống oxy hóa (DDPH)

Kết quả thí nghiệm từ Bảng 1 cho thấy dung môi chiết là dầu đậu nành sẽ thu được lượng astaxanthin là 113,17 mg/kg (hiệu suất chiết đạt 71,27%), cao hơn rất nhiều so với astaxanthin được chiết bằng ethanol 96% là 56,15 mg/kg (hiệu suất chiết 35,35%). Kết quả thu được có thể giải thích như sau: astaxanthin là chất không phân cực, có khả năng hòa tan tốt trong ethanol và dầu ăn. Tuy nhiên, dầu ăn có độ phân cực thấp nên dễ dàng hòa tan astaxanthin trong vỏ tôm hơn. Trong quy trình ở trên, nguyên liệu được làm ráo nước trước khi chiết nên khả năng tiếp xúc giữa dầu và astaxanthin trở nên dễ dàng hơn vì vậy hiệu quả chiết cao hơn. Hoạt tính chống oxy hóa (khả năng quét

gốc DPPH) của astaxanthin cũng được đánh giá. Hoạt tính chống oxy hóa khi chiết bằng dầu ăn cao hơn ethanol (đạt 70,24% so với 50,76%).

Nghiên cứu tách chiết astaxanthin từ phụ phẩm thủy sản cũng được đề cập trong một số nghiên cứu trước đây. El-Bialy và cộng sự (2020) nhận thấy việc sử dụng các loại dầu ăn khác nhau (dầu dừa, dầu ngô, dầu mè, dầu hướng dương) kết hợp chiếu xạ để tách chiết astaxanthin từ vỏ tôm rằn (*Penaeus semisulcatus*) cho hàm lượng astaxanthin thấp (1,44 – 2,6 µg/g). Trong khi đó, hàm lượng astaxanthin cao nhất thu được khi sử dụng acetone đạt 32,89 µg/g. Hoạt tính chống oxy hóa (DPPH) cao nhất từ astaxanthin tách chiết bởi dầu mè (65,59%) [9]. Dầu hạt lanh được sử dụng để tách chiết astaxanthin (phương pháp khuấy từ) từ vỏ tôm he (*Litopenaeus setiferus*) với hàm lượng 4,83 mg/100 g nguyên liệu [21]. Hoạt tính chống oxy hóa của astaxanthin cao so với các chất đối chứng BHT và α-tocopherol [6, 26]. Các dung môi hữu cơ cũng cho thấy tiềm năng tách chiết astaxanthin từ phụ phẩm tôm. Hàm lượng astaxanthin đạt được cao nhất là 73,56 µg/g từ vỏ tôm Đại Tây Dương (*Pandalus borealis*) đã được xử lý nhiệt trước khi tách chiết và hỗn hợp dung môi hexane và isopropanol (3/2; v/v) [8]. Từ kết quả nghiên cứu hiện tại cho thấy dầu ăn có khả năng hòa tan và tách chiết cao hơn so với một số loại dung môi. Đồng thời, dầu ăn là một dung môi an toàn so với đa số các dung môi hữu cơ có độc tính. Vì vậy, dầu ăn được sử dụng làm dung môi cho các nghiên cứu tiếp theo.

2. Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi đến hiệu quả chiết astaxanthin và hoạt tính chống oxy hóa (DDPH)

Kết quả nghiên cứu (Bảng 1) cho thấy tỉ lệ dung môi/nguyên liệu (v/w) ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng astaxanthin tách chiết được từ vỏ tôm. Tỉ lệ dung môi/nguyên liệu (v/w) = 3/1 (ml/g) cho hàm lượng astaxanthin thu được cao nhất 123,71 mg/kg (hiệu suất chiết đạt 77,87%). Khi lượng dầu đậu nành

Bảng 1. Ảnh hưởng điều kiện chiết đến hiệu quả thu hồi astaxanthin và hoạt tính chống oxy hóa (khả năng kháng gốc tự do DDPH)

Dung môi	Dầu thực vật (*)					Ethanol 96%
HL Astaxanthin	113,17 ± 9,25 ^a					56,15 ± 6,13 ^b
Kháng gốc tự do DDPH	70,24 ± 4,21 ^a					50,76 ± 2,34 ^b
Tỉ lệ DM/NL (v/w)	1/1	2/1	3/1	4/1	5/1	
HL Astaxanthin	46,74 ± 3,67 ^a	74,98 ± 5,63 ^b	123,71 ± 7,11 ^c	57,06 ± 3,30 ^{da}	51,01 ± 3,07 ^a	
Kháng gốc tự do DDPH	46,52 ± 3,71 ^a	59,82 ± 2,32 ^b	71,28 ± 4,51 ^c	50,09 ± 2,89 ^a	49,72 ± 5,62 ^a	
Thời gian xử lý (giây)	60s	90s	120s	150s	180s	
HL Astaxanthin	64,83 ± 2,56 ^a	97,68 ± 4,36 ^b	131,36 ± 5,58 ^c	96,37 ± 5,72 ^b	78,43 ± 4,76 ^d	
Kháng gốc tự do DDPH	61,67 ± 3,86 ^a	70,79 ± 3,19 ^b	82,61 ± 2,38 ^c	63,65 ± 2,46 ^a	59,26 ± 3,10 ^a	
Số lần chiết	1	2	3	4		
HL Astaxanthin	36,54 ± 2,42 ^a	78,24 ± 3,45 ^b	126,73 ± 6,59 ^c	135,54 ± 5,78 ^c		
Kháng gốc tự do DDPH	31,68 ± 3,57 ^a	67,39 ± 4,62 ^b	80,59 ± 5,74 ^c	80,26 ± 4,43 ^c		

Ghi chú: (*) dầu thực vật là dung môi chiết sử dụng cho các thí nghiệm xác định các điều kiện chiết astaxanthin. Trong cùng hàng, các số liệu mang ký tự chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

sử dụng cho tách chiết tăng, hàm lượng astaxanthin thu được tăng. Khi lượng dầu ăn sử dụng để tách chiết thấp (tỉ lệ 1/1), lượng dầu không đủ để tách chiết hết lượng astaxanthin chứa trong nguyên liệu. Khi lượng dầu tăng đạt đến tỉ lệ 3/1 sẽ cho hàm lượng astaxanthin cao nhất. Tuy nhiên, tiếp tục tăng lượng dầu để tách chiết sẽ làm loãng astaxanthin trong dịch chiết. Vì vậy, hàm lượng astaxanthin trong dầu sẽ giảm. Hoạt tính chống oxy hóa cũng tăng khi hàm lượng astaxanthin tăng. Khả năng quét gốc tự do DPPH cao nhất của astaxanthin là 71,28% khi tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là 3/1 (v/w). Theo công bố từ các nghiên cứu trước, tỉ lệ dung môi (dầu ăn/nguyên liệu) được sử dụng để tách chiết là 4/1 (v/w) [9]. Trong khi các dung môi hữu cơ khác như ethanol, acetone, hexane, tỉ lệ dung môi cao hơn nhiều, dao động từ 5/1 – 10/1 [8, 14]. Từ kết quả nghiên cứu hiện tại cho thấy không có sự khác biệt nhiều về tỉ lệ dầu ăn/nguyên liệu so với các kết quả nghiên cứu trước. Như vậy, sử dụng nhiều dung môi sẽ không mang lại hiệu quả chiết cao hơn và chi phí cho dung môi sẽ tăng, gây lãng phí. Vì vậy, tỉ lệ dung môi dầu ăn/nguyên liệu 3/1 phù hợp để tách chiết astaxanthin hiệu quả cao nhất và tỉ lệ này được cố định để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

3. Ảnh hưởng của thời gian chiết đến hiệu quả chiết astaxanthin và hoạt tính chống oxy hóa (DDPH)

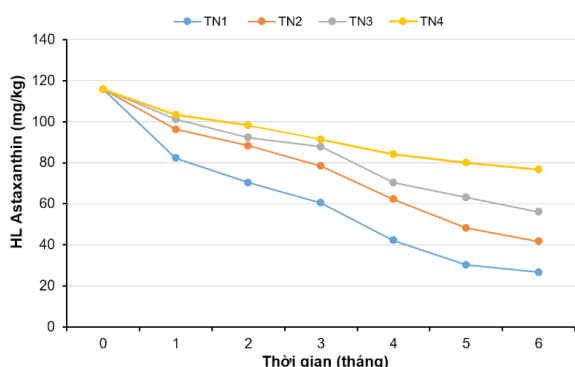
Kết quả nghiên cứu từ Bảng 1 cho thấy thời gian chiết có hỗ trợ bởi sóng viba ảnh hưởng rất lớn đến hàm lượng astaxanthin thu được. Với thời gian chiết ngắn (60s) hàm lượng astaxanthin thu được là 64,83 mg/kg (hiệu suất đạt 40,8%). Thời gian chiết tăng, hàm lượng astaxanthin tăng. Hàm lượng astaxanthin đạt cao nhất (131,36 mg/kg, hiệu suất đạt 82,69%) với thời gian vi sóng là 120s. Tuy vậy, tiếp tục tăng thời gian xử lý bằng sóng viba, hàm lượng astaxanthin giảm nhanh. Hàm lượng astaxanthin chỉ còn 78,43 mg/kg khi kéo dài thời gian vi sóng 180s. Nghiên cứu cho thấy sử dụng sóng viba hỗ trợ tách chiết astaxanthin rất hiệu quả với thời gian chiết rất ngắn (được tính bằng giây hoặc vài phút) trong khi đó các phương pháp chiết truyền thống như khuấy soxhlet có thể kéo dài nhiều giờ. Sóng viba tách động lên mẫu làm mẫu tăng nhiệt rất nhanh qua đó làm giảm độ nhớt của dịch chiết giúp quá trình tách chiết nhanh hơn. Nhiệt độ tăng, làm tăng chuyển động của các phân tử, tạo điều kiện thuận lợi cho các chất hòa tan dễ dàng trong dung môi. Đối với chiết astaxanthin từ vỏ tôm, nhiệt độ cao làm biến tính protein trong nguyên liệu, có thể làm cắt đứt liên kết

protein-astaxanthin, tách astaxanthin ra khỏi nguyên liệu. Tuy nhiên, khi thời gian xử lý sóng viba dài sẽ làm nhiệt độ tăng cao không kiểm soát, làm biến tính, mất hoạt tính astaxanthin. Kết quả nghiên cứu cho thấy với thời gian xử lý sóng viba là 120s là phù hợp để chiết astaxanthin từ vỏ tôm. Kết quả từ các công bố trước đây cho thấy chiết astaxanthin từ nấm *Haematococcus pluvialis* với sự hỗ trợ của sóng viba với thời gian 5 phút ở nhiệt độ 75°C đạt hiệu quả cao nhất 74,0%, cao hơn so với sử dụng sóng siêu âm và các phương pháp truyền thống [23]. Nunes và các cộng sự (2021) chỉ ra rằng, xử lý mẫu (giáp xác) bằng sóng viba trước khi chiết bằng chất lỏng siêu tới hạn sẽ cho hiệu quả chiết astaxanthin cao do sóng viba có tác dụng tăng nhiệt độ nhanh làm biến tính protein, cắt đứt các liên kết phức hợp protein-astaxanthin và phá vỡ cấu trúc nguyên liệu được minh họa qua chụp hình bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) [19]. Hiệu suất thu hồi của 2 phương pháp trên cao gấp 12 lần so với phương pháp chiết truyền thống (phương pháp soxhlet) cho thấy tiềm năng sử dụng sóng viba và chất lỏng siêu tới hạn trong tách chiết astaxanthin. Kết quả nghiên cứu của Irna và cộng sự (2018) cho thấy áp dụng chiết ở áp suất cao cũng cho hàm lượng astaxanthin tăng cao hơn so với phương pháp truyền thống [16]. Tuy nhiên, bên cạnh ưu điểm khi sử dụng sóng viba hỗ trợ tách chiết astaxanthin, thời gian chiết và công suất của lò vi sóng cao cũng làm tăng quá trình đồng phân hóa, làm thay đổi cấu trúc của

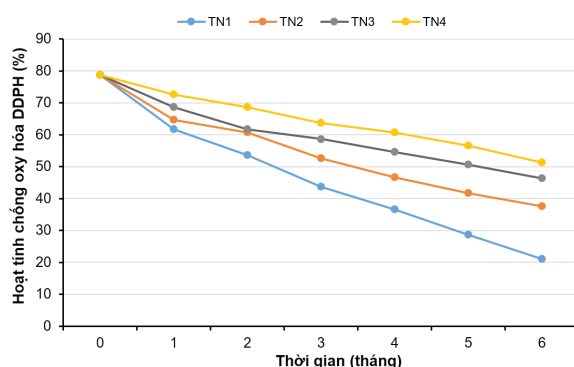
astaxanthin và ảnh hưởng đến tính chất và hoạt tính của astaxanthin [29]. Như vậy, thời gian xử lý vi sóng 120s là thích hợp để tách chiết astaxanthin từ vỏ tôm và giá trị này được cố định cho các nghiên cứu tiếp theo.

4. Ảnh hưởng số lần chiết đến hiệu quả chiết astaxanthin và hoạt tính chống oxy hóa (DDPH)

Kết quả nghiên cứu cho thấy số lần chiết tăng, lượng astaxanthin tăng (Bảng 1). Hàm lượng astaxanthin thu được cao và có tính kinh tế với số lần chiết là 3 (126,73 mg/kg, hiệu suất đạt 79,77%). Tuy nhiên, nếu quá trình chiết lặp lại tới lần thứ 4, lượng astaxanthin tăng không nhiều (135,54 mg/kg, hiệu suất đạt 85,32%) do hàm lượng astaxanthin còn lại trong nguyên liệu là rất ít, đồng thời lượng dung môi sử dụng tăng cũng như kéo dài thời gian chiết. Trong khi đó, nếu quá trình chiết lặp lại 2 lần, hàm lượng astaxanthin thấp (78,24 mg/kg, hiệu suất đạt 49,25%) và hàm lượng astaxanthin còn lại trong vỏ tôm vẫn còn nhiều, việc tách astaxanthin chưa triệt để. Có thể giải thích kết quả như sau: Vì nguyên liệu là vỏ tôm tươi, nước trong nguyên liệu còn nhiều làm giảm khả năng tiếp xúc giữa dầu ăn và nguyên liệu, hạn chế khả năng hòa tan của astaxanthin trong dầu nên giảm hiệu quả tách chiết astaxanthin. Đồng thời, cấu trúc của nguyên liệu chưa bị phá vỡ triệt để cũng như liên kết phức hợp giữa protein-astaxanthin-chitin chưa bị cắt đứt nhiều. Kết quả nghiên cứu cũng tương đồng với các nghiên cứu trước đây là số lần chiết được



Hình 2. Ảnh hưởng của điều kiện bảo quản (TN1, TN2, TN3, TN4) đến hàm lượng astaxanthin theo thời gian.



Hình 3. Ảnh hưởng của điều kiện bảo quản (TN1, TN2, TN3, TN4) đến hoạt tính chống oxy hóa của astaxanthin theo thời gian.

lặp lại 3 lần sẽ tách được triệt để astaxanthin trong nguyên liệu [7, 9].

5. Ảnh hưởng điều kiện bảo quản theo thời gian đến hàm lượng astaxanthin và hoạt tính chống oxy hóa (DDPH).

Kết quả nghiên cứu cho thấy các điều kiện bảo quản (thời gian, nhiệt độ và ánh sáng) ảnh hưởng rất lớn đến hàm lượng và hoạt tính chống oxy hóa của astaxanthin (Hình 2 và Hình 3). Mẫu được bảo quản trong hũ thủy tinh kín và bảo quản astaxanthin trong dầu ăn cho kết quả tốt sau thời gian 6 tháng. Astaxanthin được bảo quản tốt nhất ở điều kiện nhiệt độ thấp (4°C), được che kín (TN4) hàm lượng astaxanthin còn lại 66,18%, hoạt tính chống oxy hóa DDPH vẫn cao 51,22% sau 6 tháng. Trong khi đó, hàm lượng astaxanthin còn lại chỉ 23,1% và hoạt tính chống oxy hóa là 21,02% với mẫu bảo quản ở nhiệt độ phòng (25 °C) và không được che ánh sáng (TN1). Kết quả nghiên cứu cho thấy nhiệt độ và ánh sáng có ảnh hưởng rất lớn đến hàm lượng và hoạt tính của astaxanthin theo thời gian bảo quản.

Kết quả cũng tương đồng với một số nghiên cứu đã được công bố trước đây. Takeungwongtrakul và cộng sự (2016) nhận thấy sự biến tính của astaxanthin và sự oxy hóa dầu bị ảnh hưởng bởi các yếu tố oxy, ánh sáng và nhiệt độ [27]. Với thời gian khảo sát 0 – 4h, astaxanthin trong dầu lạnh bên ở nhiệt độ 30°C và 40°C, tuy nhiên astaxanthin bị biến tính và hàm lượng giảm có ý nghĩa khi nhiệt độ bảo quản tăng lên 50°C và 60°C [21]. Astaxanthin ảnh hưởng rất nhiều bởi điều kiện ánh sáng, nhiệt độ và thời gian bảo quản, với nhiệt độ 25°C, tiếp xúc với oxy và ánh sáng, astaxanthin bị oxy hóa 84% trong khi nhiệt độ 45°C lên tới 97%. Nếu không có oxy và bảo quản trong tối thì chỉ 1% astaxanthin bị oxy hóa [1]. Nghiên cứu bảo quản astaxanthin trong dầu hướng dương có bổ sung chất chống oxy hóa (0,01%

BHT và BHT) cũng hạn chế được quá trình oxy hóa sắc tố. Đồng thời bảo quản trong dầu tốt hơn so với bảo quản trong hệ chứa protein [1, 10].

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy với thời gian bảo quản dài (6 tháng), hàm lượng và hoạt tính chống oxy hóa của astaxanthin bị giảm dưới tác dụng của ánh sáng và nhiệt độ. Tuy nhiên, mức độ biến đổi có thể chấp nhận được và dầu thực vật là môi trường bảo quản astaxanthin tốt. Để tăng hiệu quả bảo quản và tránh tác động của môi trường đến hoạt tính, astaxanthin nên được bảo quản trong môi trường dầu thực vật có chất lượng tốt, đựng trong các hũ kín tránh tiếp xúc với oxy, loại bỏ hết oxy khỏi mẫu trước khi bảo quản và giữ trong môi trường đông lạnh.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Nghiên cứu đã đánh giá điều kiện tách chiết hiệu quả astaxanthin từ phụ phẩm tôm với sự hỗ trợ của sóng viba. Mẫu vỏ tôm tươi (100g) được tách chiết astaxanthin hiệu quả với điều kiện chiết dung môi là dầu ăn, tỉ lệ dung môi/nguyên liệu 3/1, thời gian chiết sử dụng sóng viba 120 s, và số lần chiết là 3 lần. Đồng thời, astaxanthin hòa tan trong dầu được bảo quản tốt trong thời gian 6 tháng với điều kiện nhiệt độ thấp và tránh ánh sáng (hàm lượng astaxanthin còn lại 66,18% và hoạt tính chống oxy hóa DDPH 51,22%). Kết quả nghiên cứu cung cấp những số liệu làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo để bảo quản hoạt chất astaxanthin tốt hơn.

Lời cảm ơn

Tập thể tác giả xin gửi lời cảm ơn đến Phòng Khoa học và Công nghệ, Trường Đại học Nha Trang đã cấp kinh phí cho đề tài nghiên cứu “Nghiên cứu điều kiện tách chiết và bảo quản astaxanthin từ phụ phẩm tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*)”. (TR2021-13-02).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Armenta, R.E. and Guerrero-Legarreta, I. (2009), “Stability studies on astaxanthin extracted from fermented shrimp byproducts”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(14): 6095-6100.

2. Arshadi, M., Attard, T.M., Lukasik, R.M., Brncic, M., da Costa Lopes, A.M., Finell, M., Herrero, M. (2016), “Pre-treatment and extraction techniques for recovery of added value compounds from wastes throughout the agri-food chain”, *Green Chemistry* 18(23): 6160-6204.
3. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C.L.W.T. (1995), “Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity”, *LWT-Food Science and Technology* 28: 25-30.
4. Bueno-Solano, C., López-Cervantes, J., Campas-Baypoli, O., Lauterio-García, R., Adan-Bante, N., and Sánchez-Machado, D. (2009), “Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products”, *Food Chemistry* 112(3): 671-675.
5. Capelli, B., Bagchi, D., and Cysewski, G.R. (2013), “Synthetic astaxanthin is significantly inferior to algal-based astaxanthin as an antioxidant and may not be suitable as a human nutraceutical supplement”, *J Nutrafoods* 12(4): 145-152.
6. Chintong, S., Phatvej, W., Rerk-Am, U., Waiprib, Y., and Klaypradit, W. (2019), “In vitro antioxidant, antityrosinase, and cytotoxic activities of astaxanthin from shrimp waste”, *Antioxidants* 8(5): 128.
7. Dalei, J., and Sahoo, D. (2015), “Extraction and characterization of astaxanthin from the crustacean shell waste from shrimp processing industries”, *International Journal Pharmaceutical Science and Research* 6: 2532–2537.
8. Dave, D., Liu, Y., Pohling, J., Trenholm, S., and Murphy, W. (2020), “Astaxanthin recovery from Atlantic shrimp (*Pandalus borealis*) processing materials”, *Bioresource Technology Reports* 11: 100535.
9. El-Bialy, H.A.A., and Abd El-Khalek, H.H. (2020), “A comparative study on astaxanthin recovery from shrimp wastes using lactic fermentation and green solvents: an applied model on minced Tilapia”, *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 13(1): 594-605.
10. Franco-Zavaleta, M.E., Jiménez-Pichardo, R., Tomasini-Campocoso, A., and Guerrero-Legarreta, I. (2010), “Astaxanthin extraction from shrimp wastes and its stability in 2 model systems”, *Journal of Food Science* 75(5): 394-399.
11. García-Chavarría, M., and Lara-Flores, M. (2013), “The use of carotenoid in aquaculture”, *Research Journal of Fisheries and Hydrobiology* 8(2): 38-49.
12. García-Romero, J., Ginés, R., Izquierdo, M.S., Haroun, R., Badilla, R., and Robaina, L. (2014), “Effect of dietary substitution of fish meal for marine crab and echinoderm meals on growth performance, ammonia excretion, skin colour, and flesh quality and oxidation of red porgy (*Pagrus pagrus*)”, *Aquaculture* 422: 239-248.
13. Guerin, M., Huntley, M. E., and Olaizola, M. (2003), “Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition”, *TRENDS in Biotechnology* 21(5): 210-216.
14. Hamdi, S. A., Ghonaim, G. M., El Sayed, R. R., Rodríguez-Couto, S., El-Ghany, A., and Mohamed, N. (2022), “Bioprocess of astaxanthin extraction from shrimp waste via the common microorganisms *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus acidophilus* in comparison to the chemical method”, *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-7.
15. Higuera-Ciapara, I., Felix-Valenzuela, L., and Goycoolea, F. (2006), “Astaxanthin: a review of its chemistry and applications”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46(2): 185-196.
16. Irna, C., Jaswir, I., Othman, R., and Jimat, D.N. (2018), “Comparison between high-pressure processing and chemical extraction: Astaxanthin yield from six species of shrimp carapace”, *Journal of Dietary Supplements* 15(6): 805-813.

17. Mao, X., Guo, N., Sun, J., and Xue, C. (2017), “Comprehensive utilization of shrimp waste based on biotechnological methods: A review”, *Journal of Cleaner Production* 143: 814-823.
18. Nirmal, N.P., Santivarangkna, C., Rajput, M.S., and Benjakul, S. (2020), “Trends in shrimp processing waste utilization: An industrial prospective”, *Trends in Food Science & Technology* 103: 20-35.
19. Nunes, A.N., Roda, A., Gouveia, L.F., Fernández, N., Bronze, M.R.R., and Matias, A.A. (2021), “Astaxanthin extraction from marine crustacean waste streams: An integrate approach between microwaves and supercritical fluids”, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 9(8): 3050-3059.
20. Prameela, K., Venkatesh, K., Immandi, S. B., Kasturi, A.P.K., Krishna, C.R., and Mohan, C.M. (2017), “Next generation nutraceutical from shrimp waste: The convergence of applications with extraction methods”, *Food Chemistry* 237: 121-132.
21. Pu, J., Bechtel, P.J., and Sathivel, S. (2010), “Extraction of shrimp astaxanthin with flaxseed oil: effects on lipid oxidation and astaxanthin degradation rates”, *Biosystems Engineering* 107(4): 364-371.
22. Ramamoorthy, K., Bhuvanewari, S., Sankar, G. and Sakkaravarthi. K. (2010), “Proximate composition and carotenoid content of natural carotenoid sources and its colour enhancement on marine ornamental fish *Amphiprion ocellaris* (Cuvier 1880)”, *World Journal of Fish and Marine Sciences* 2(6): 545-550.
23. Ruen-ngam, D., Shotipruk, A., and Pavasant, P. (2010), “Comparison of extraction methods for recovery of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*”, *Separation Science and Technology* 46(1): 64-70.
24. Sachindra, N., and Mahendrakar, N. (2005), “Process optimization for extraction of carotenoids from shrimp waste with vegetable oils”, *Bioresource Technology* 96(10): 1195-1200.
25. Shimidzu, N., Goto, M., and Miki, W. (1996), “Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms”, *Fisheries Science* 62(1): 134-137.
26. Sowmya, R., Sachindra, N.M. (2012), “Evaluation of antioxidant activity of carotenoid extract from shrimp processing by products by in vitro assays and in membrane model system”, *Food Chem.* 134: 308–314.
27. Takeungwongtrakul, S., and Benjakul, S. (2016), “Astaxanthin degradation and lipid oxidation of Pacific white shrimp oil: kinetics study and stability as affected by storage conditions”, *International Aquatic Research* 8(1): 15-27.
28. Yi, X., Shen, H., Li, J., Wei, Z., Shentu, J., Zhang, W., and Mai, K. (2018), “Effects of dietary vitamin E and astaxanthin on growth, skin colour and antioxidative capacity of large yellow croaker *Larimichthys crocea*”, *Aquaculture Nutrition* 24(1): 472-480.
29. Zhao, L., Zhao, G., Chen, F., Wang, Z., Wu, J., Hu, X. (2006), “Different effects of microwave and ultrasound on the stability of (All-E)-Astaxanthin”, *J. Agric. Food Chem.* 54(21): 8346 –8351.
30. Zuluaga, M., Gueguen, V., Letourneur, D., Pavon-Djavid, G. (2018), “Astaxanthin-antioxidant impact on excessive Reactive Oxygen Species generation induced by ischemia and reperfusion injury”, *Chemico-biological Interactions* 279: 145–158.