

CHIẾT XUẤT LIPID VÀ ASTAXANTHIN TỪ VỎ TÔM SÚ (*Penaeus monodon*) BẰNG DUNG MÔI EUTECTIC SÂU VÀ ETHANOL

Trần Chí Hải¹, Phan Văn Mẫn², Lê Thị Hồng Ánh^{1*}

¹Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

²Khoa Du lịch, Trường Cao đẳng Kỹ thuật Công nghệ Bà Rịa-Vũng Tàu

*Email: anhlth@huit.edu.vn

Ngày nhận bài: 02/01/2025; Ngày chấp nhận đăng: 24/02/2025

TÓM TẮT

Vỏ tôm sú *Penaeus monodon* thường được loại bỏ trong quá trình chế biến tôm. Đây là một loại phụ phẩm chiếm tỷ lệ lớn trong ngành công nghiệp chế biến thủy sản, đặc biệt là tôm sú - một loài tôm được nuôi phổ biến ở Việt Nam. Vỏ tôm sú chứa lipid và astaxanthin. Tuy nhiên, việc chiết xuất lipid và astaxanthin từ vỏ tôm rất khó khăn do cấu trúc thành tế bào cứng và phức tạp. Nghiên cứu này đã khảo sát việc sử dụng hệ dung môi eutectic sâu (Deep eutectic solvent (DES)) để trích ly lipid và astaxanthin từ vỏ tôm sú. Dung môi DES, chứa choline chloride (ChCl) và acid citric (CA) đã được thử nghiệm và so sánh hiệu quả trích ly lipid và astaxanthin với các dung môi truyền thống (hexane và ethanol). Kết quả cho thấy hiệu quả trích ly dầu và astaxanthin từ DES thấp hơn so với dung môi truyền thống, nhưng khi thêm ethanol vào DES làm đồng dung môi, hiệu suất chiết xuất đã được cải thiện đáng kể. Khi kết hợp ChCl/CA với 45% ethanol đã đạt được nồng độ lipid cao nhất (5,71g/100g) và astaxanthin (34,15µg/g), cao hơn so với ethanol (5,12g/100g và 31,56µg/g) và hexane (5,62g/100g và 33,47µg/g). Các chiết xuất từ tôm giàu acid béo không bão hòa đa (như acid linoleic, α -linolenic, EPA và DHA) và astaxanthin với khả năng chống oxy hóa mạnh

Từ khóa: *Penaeus monodon*, vỏ tôm, dung môi eutectic sâu, astaxanthin, acid béo, hoạt tính chống oxy hóa.

1. MỞ ĐẦU

Ngành chế biến tôm đóng vai trò quan trọng trong nền kinh tế Việt Nam, với sản lượng tôm nước lợ năm 2022 đạt khoảng 1.080,6 nghìn tấn, bao gồm 271,4 nghìn tấn tôm sú và 743,5 nghìn tấn tôm thẻ chân trắng [1, 2]. Tuy nhiên, quá trình chế biến tôm đã tạo ra một lượng lớn phụ phẩm như đầu và vỏ tôm. Mặc dù những phụ phẩm này không được sử dụng trực tiếp trong chế biến thực phẩm, chúng lại là nguồn chứa nhiều dưỡng chất quý giá, bao gồm protein, lipid, khoáng chất và các hợp chất sinh học như chitin và astaxanthin (AXT). Hiện nay, phần lớn phụ phẩm này được tận dụng làm thức ăn chăn nuôi hoặc chế biến thành nguyên liệu hỗ trợ nuôi trồng thủy sản [1]. Đặc biệt, lipid – một sản phẩm có giá trị từ phụ phẩm – rất giàu các acid béo không bão hòa đa (Polyunsaturated fatty acid (PUFA)) như Eicosapentaenoic acid (EPA) và Docosahexaenoic acid (DHA), cùng với astaxanthin, một hợp chất có đặc tính chống oxy hóa và chống viêm mạnh [3 - 5]. Những lợi ích sức khỏe vượt trội của các hợp chất này khiến việc tận dụng phụ phẩm để thu hồi lipid và astaxanthin trở thành một hướng đi đầy tiềm năng, không chỉ trong ngành thực phẩm và dược phẩm mà còn góp phần giảm thiểu tác động môi trường.

Phương pháp chiết xuất Soxhlet hoặc ngâm thấm thấu sử dụng dung môi hữu cơ là một phương pháp được sử dụng phổ biến vì hiệu quả trích ly của dung môi khá cao [6]. Tuy nhiên, dung môi hữu cơ dễ cháy, nổ và có độc tính, đặc biệt khi trích ly ở nhiệt độ cao và thời gian trích ly dài [6]. Ngày nay nhiều phương pháp trích ly được đề xuất để rút ngắn thời gian trích ly và tăng hiệu quả trích như trích ly bằng CO₂ siêu tới hạn hoặc có enzyme hỗ trợ [7, 8]. Tuy nhiên các phương pháp này đòi hỏi thiết bị chuyên dụng đắt đỏ [7] và thường tốn kém hơn so với các phương pháp truyền thống [8]. Để giải quyết những vấn đề này, dung môi eutectic sâu (deep eutectic solvent (DES)) đã xuất hiện như một lựa chọn thay thế, giúp nâng cao hiệu quả chiết xuất các hợp chất có hoạt tính sinh học [9, 10]. DES thường được hình thành bằng cách kết hợp chất nhận liên kết hydro (hydrogen bond acceptor (HBA)) như muối amoni hoặc phospho với chất cho liên kết hydro (hydrogen bond donor (HBD)) như amide, amine,

alcohol, hoặc acid carboxylic [9, 10]. Các nghiên cứu gần đây đã sử dụng DES để chiết xuất lipid và astaxanthin, kết quả cho thấy DES có khả năng phá vỡ thành tế bào (cellulose, chitin và protein) làm tăng đáng kể hiệu suất chiết xuất so với các dung môi truyền thống [4, 11]. Tuy nhiên, DES khó bay hơi gây khó khăn trong việc thu hồi và tái sử dụng cả lipid và dung môi [4]. Do đó để tăng hiệu quả trích ly, Santos và cộng sự đã sử dụng ethanol kết hợp DES làm dung môi trích ly và hiệu suất trích ly astaxanthin từ vỏ tôm tăng 43,1% so trích ly bằng cồn thông thường [4]. Mặc dù DES đã cho thấy tiềm năng đáng kể, vẫn chưa có nhiều nghiên cứu tập trung vào việc sử dụng kết hợp DES với ethanol để chiết xuất đồng thời cả lipid và astaxanthin từ vỏ giáp xác. Các nghiên cứu trước đây chỉ tiến hành chiết xuất riêng lẻ astaxanthin hoặc lipid. Vì vậy, nghiên cứu này khảo sát ảnh hưởng của DES kết hợp với ethanol đến hiệu quả chiết xuất lipid và astaxanthin từ vỏ tôm sú (*Penaeus monodon*) và đánh giá đặc tính chống oxy hóa.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vỏ tôm sú (*Penaeus monodon*) được cung cấp bởi Công ty Minh Phú, Cà Mau, Việt Nam. Phụ phẩm này được rửa sạch bằng nước và sấy khô ở 60°C trong tủ sấy chân không (Tecnal, Piracicaba, Brazil) đến độ ẩm dưới 10%. Sau khi sấy, vỏ tôm được nghiền thành bột mịn và rây qua rây kích thước 125 µm, phần qua rây được bảo quản trong túi nhựa. Các hóa chất được sử dụng trong thí nghiệm như ethanol (99,9%), acid hydrochloric (99%), và natri hydroxide (>95%) được mua từ Synth (São Paulo, Brazil). Trong khi đó, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) (98%), 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) (>98%), choline chloride (>99%), astaxanthin (99,5%) và acid citric (99,5%) được cung cấp bởi Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Trích ly astaxanthin và lipid bằng dung môi DES

Dung môi DES có chứa choline chloride (ChCl) và acid citric (CA) với các tỷ lệ mol khác nhau (1:1, 1:2 và 1:3) được tạo thành bằng cách đun nóng hỗn hợp ở 60 °C. Sau đó, nước được thêm vào hỗn hợp (5-25% v/v) và khuấy đều cho đến khi tạo thành dung dịch trong suốt rồi để yên trong 24 giờ trước khi sử dụng. Để trích ly astaxanthin và lipid từ vỏ tôm, 10 gram bột vỏ tôm qua rây được cho vào bình tam giác có chứa 200 mL DES. Các bình được lắc và ủ ở 60 °C trong 240 phút [3]. Hỗn hợp sau đó được ly tâm ở 6.000 vòng/phút trong 5 phút. Phần bã được rửa hai lần bằng nước cất và sấy khô ở 100 °C trước khi phân tích SEM và FTIR. Trong khi đó, để xác định hàm lượng lipid có trong dịch DES đã trích ly được, 200 mL n-hexane được thêm vào phần dịch trích và khuấy trong 1 giờ. Sau đó, hỗn hợp được ly tâm ở 6.000 vòng/phút trong 10 phút. Phần nổi lên trên được thu nhận bằng cách gạn có chứa lipid, astaxanthin và hexane. Dung môi hexane sau đó được bay hơi trong thiết bị cô quay chân không (Buchi Rotavapor R-200, Essen, Đức) ở áp suất 450 – 550 mmHg ở nhiệt độ 40 °C để thu nhận hỗn hợp lipid giàu astaxanthin. Hàm lượng lipid được tính dựa vào khối lượng lipid chiết xuất (g) so với khối lượng nguyên liệu thô (g). Các thí nghiệm đối chứng được thực hiện với ethanol tuyệt đối hoặc n – hexane.

2.2.2. Trích ly astaxanthin và lipid bằng ethanol kết hợp với DES

DES được tạo thành bởi ChCl và CA ở tỉ lệ mol phù hợp được lựa chọn từ thí nghiệm ở trên được tiến hành bổ sung ethanol với các tỉ lệ khác nhau (5, 25, 45 và 65% v/v) để tạo thành hỗn hợp DES/ethanol. Sau đó, quá trình trích ly astaxanthin và lipid bằng ethanol kết hợp DES, các thí nghiệm đối chứng cũng được tiến hành tương tự như thí nghiệm trích ly astaxanthin và lipid bằng dung môi DES bên trên.

2.2.3. Xác định hàm lượng astaxanthin

Hàm lượng astaxanthin được phân tích bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) với đầu dò SPD-10AV và cột Shimpack CLC-ODS (M) C18 [12]. Pha động, bao gồm dichloromethane, acetonitrile và methanol với tỷ lệ 80:15:5, tốc độ dòng 1.0 mL/phút, đo độ hấp thụ ở 450 nm. Đường chuẩn astaxanthin được thiết lập với các nồng độ từ 0,05 đến 30 µg/mL. Mẫu được lọc qua màng lọc 0,22 µm trước khi phân tích.

2.2.4. Xác định chỉ số hóa lý và thành phần acid béo của dầu

Các chỉ số hóa lý của lipid được xác định theo American Oil Chemists' Society (AOCS) với chỉ số acid (phương pháp Te 1a - 64) [13], chỉ số peroxide (phương pháp Cb 8d - 90) [14] và chỉ số anisidine và oxi hóa tổng số (phương pháp Cd 18-90) [15]. Thành phần acid béo được phân tích bằng GC-FID (Agilent 7890C, UK) theo phương pháp của Phan và cộng sự [16].

2.2.5. Đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa

Trong nghiên cứu này, khả năng kháng oxy hóa của chiết xuất từ phế phẩm tôm được đánh giá qua ba phương pháp: ABTS, DPPH, và khử sắt (FRAP). Hoạt tính ABTS được xác định theo phương pháp của Trần và cộng sự [17]. Hoạt tính DPPH được xác định theo phương pháp của Engeda Dessalegn và cộng sự [18]. Hoạt tính FRAP thực hiện dựa trên phản ứng của $K_3Fe(CN)_6$ với chất kháng oxy hóa để tạo phức $K_4Fe(CN)_6$, tiếp tục phản ứng với $FeCl_3$ tạo $KFe[Fe(CN)_6]$. Phương pháp này được mô tả bởi Jones và cộng sự [19].

2.2.6. Đánh giá hình thái bề mặt và cấu trúc của vật liệu

Hình thái bề mặt của bột vỏ tôm, trước và sau khi xử lý, được quan sát bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM). Mẫu được xử lý và mạ bằng một lớp vàng mỏng và sau đó chụp ảnh bằng kính hiển vi điện tử XL 30 ESEM FEG ở điện áp 15 kV với độ phóng đại 7.000 lần.

Phân tích FTIR được thực hiện bằng máy quang phổ Nicolet 6700 của hãng Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, Hoa Kỳ. Máy được cài đặt 32 lần quét với độ phân giải 4 cm^{-1} , phạm vi quang phổ dùng để phân tích cấu trúc phân tử của các hợp chất nằm trong khoảng từ 4000 đến 500 cm^{-1} .

2.2.7. Phương pháp xử lý số liệu

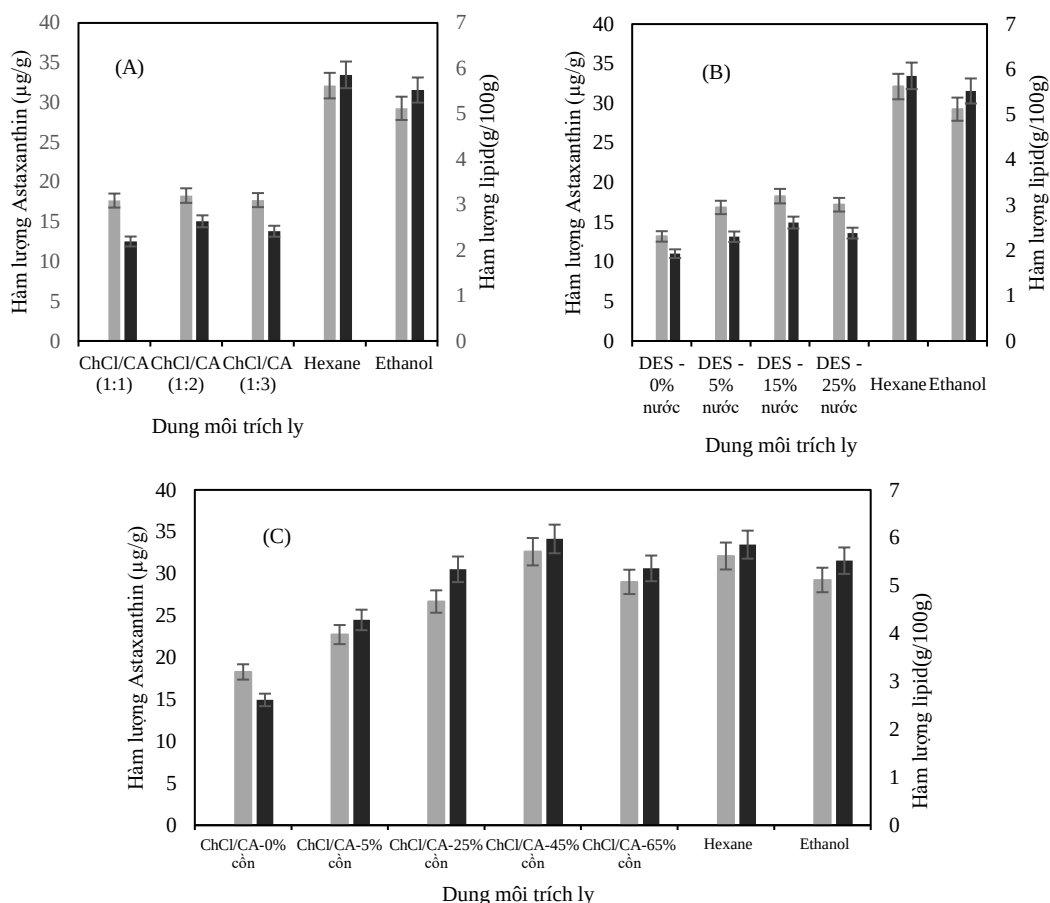
Phân tích thống kê trong thiết kế thí nghiệm được thực hiện bằng phần mềm SPSS phiên bản 25. Tất cả các phép đo được thực hiện ba lần và được xử lý thống kê với mức ý nghĩa $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ acid citric trong DES và lượng nước bổ sung đến hiệu quả trích ly lipid và astaxanthin

Nghiên cứu đánh giá hiệu quả trích ly lipid và astaxanthin (AXT) từ bột vỏ tôm bằng dung môi DES (ChCl/CA), hexane và ethanol. Kết quả cho thấy hexane cho hiệu quả cao nhất ($5,62\text{ g}/100\text{ g}$ lipid và $33,47\text{ }\mu\text{g AXT/g}$), tiếp theo là ethanol ($5,12\text{ g}/100\text{ g}$ lipid và $37,56\text{ }\mu\text{g AXT/g}$). Kết quả tương đồng với nghiên cứu của Xie và cộng sự trên *Euphausia superba* [20]. Trong khi đó, khi sử dụng dung môi DES, hàm lượng lipid và AXT dao động từ $2,31$ - $3,20\text{ g}/100\text{ g}$ và $11,02$ - $15,05\text{ }\mu\text{g/g}$ tùy thuộc tỷ lệ ChCl/CA và lượng nước.

Kết quả Hình 1A-B cho thấy khi tăng hàm lượng CA trong dung dịch DES (ChCl/CA), hiệu suất thu hồi lipid và AXT từ vỏ tôm tăng cao và có sự khác biệt có ý nghĩa so với các mẫu ở các tỷ lệ còn lại ($p < 0,05$). Hàm lượng lipid và AXT đạt cao nhất là $3,2\text{ g}/100\text{ g}$ và $15,05\text{ }\mu\text{g/g}$ tại ChCl/CA (1:2). Điều này có thể giải thích là do CA trong DES đã thúc đẩy quá trình khử khoáng giúp làm mềm vỏ tôm cải thiện hiệu suất trích ly. Tuy nhiên, khi tăng tỷ lệ CA từ 1:2 đến 1:3, hiệu suất trích ly giảm đáng kể ($p < 0,05$). Nguyên nhân có thể là do độ nhớt của dung môi cao làm cản trở truyền nhiệt và thâm nhập vào tế bào, tương tự với kết quả của Trần và cộng sự [21]. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy hàm lượng nước trong dung môi DES ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả trích ly lipid và AXT. Khi tỷ lệ CA cố định, hiệu suất trích ly tăng có sự khác biệt đáng kể ($p < 0,05$) khi hàm lượng nước trong DES tăng từ 5% lên 15%. Việc thêm nước giúp giảm độ nhớt và cải thiện truyền nhiệt, phù hợp với nghiên cứu của Mária Vilková [22]. Tuy nhiên, khi hàm lượng nước bổ sung đạt 25%, hiệu suất giảm khoảng 1,2 lần. Nguyên nhân có thể là hàm lượng nước tăng làm mất cân bằng ion H^+ và suy yếu tương tác hydro, ảnh hưởng đến khả năng hòa tan các hợp chất sinh học [21]. Vì vậy, hàm lượng nước 15% được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, lượng lipid và AXT trích ly bằng DES thấp hơn so với hexane và ethanol, cho thấy DES kém hiệu quả hơn trong việc thẩm thấu vào tế bào vỏ tôm. Các nghiên cứu trước đã chỉ ra rằng kết hợp DES với hexane hoặc tetrahydrofuran có thể cải thiện hiệu quả chiết xuất lipid và kết hợp với ethanol cho AXT. Sự kết hợp đồng dung môi giúp thay đổi độ hòa tan, cải thiện truyền nhiệt và nâng cao hiệu suất [11, 23]. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào về việc sử dụng ChCl/CA kết hợp ethanol để chiết xuất lipid và AXT. Do đó, lựa chọn DES (ChCl/CA) kết hợp ethanol, một dung môi hữu cơ xanh, là cần thiết để cân bằng hiệu quả chiết xuất và tiêu chí an toàn.



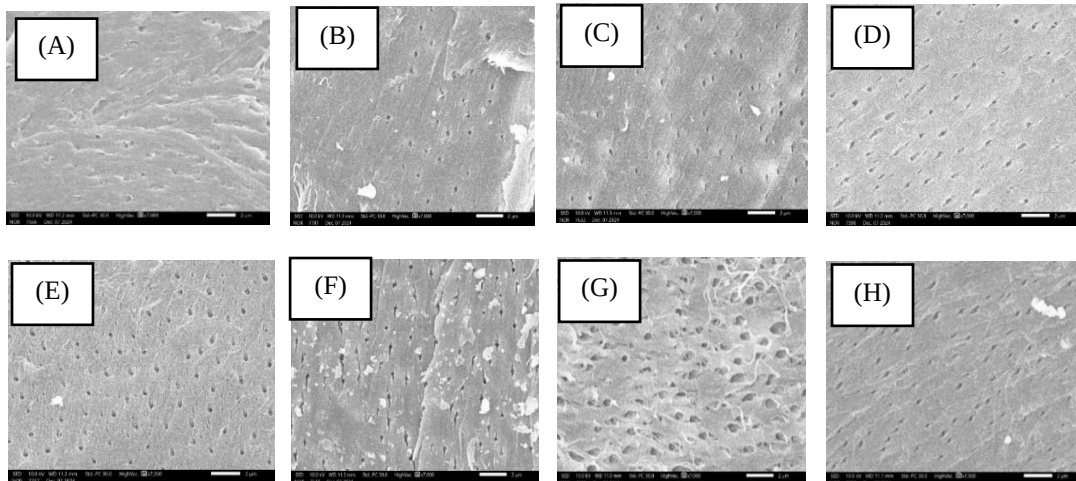
Hình 1. Ảnh hưởng của (A) tỷ lệ acid citric (CA) trong dung môi DES (Ch/CA); (B) hàm lượng nước trong dung môi DES; (C) hàm lượng cồn bổ sung vào DES làm đồng dung môi đến hiệu suất trích ly dầu và astaxanthin từ vỏ tôm (■: Hàm lượng Astaxanthin (μg/g), ■: hàm lượng dầu (g/100g))

3.2. Ảnh hưởng của DES kết hợp ethanol đến hiệu quả trích ly lipid và AXT

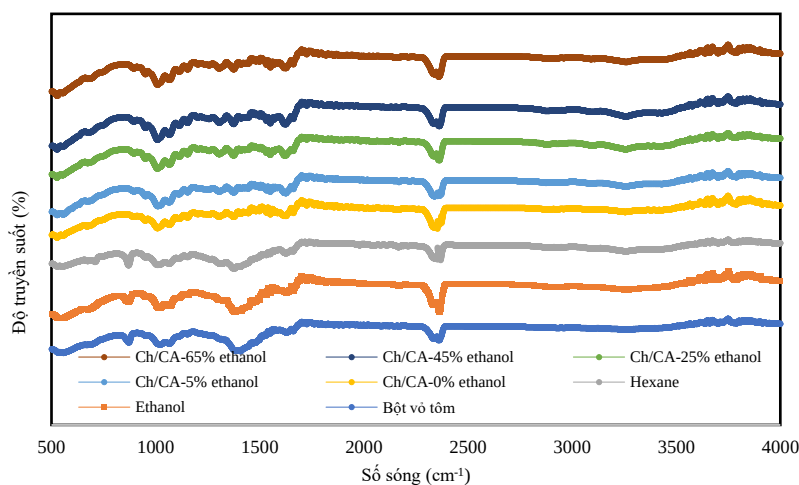
Nghiên cứu được thực hiện để đánh giá hiệu quả của quá trình trích ly lipid và AXT từ bột vỏ tôm bằng cách sử dụng đồng dung môi ChCl/CA kết hợp với ethanol so với các dung môi hữu cơ truyền thống (hexane và ethanol). Kết quả ở Hình 1C cho thấy dung môi DES (ChCl/CA) không chứa ethanol có hiệu suất thấp (3,20 g lipid/100g, 14,95 μg AXT/g), nhưng khi bổ sung ethanol (5–65%), hiệu suất tăng đáng kể ($p < 0,05$). Tỷ lệ cao nhất đạt 5,71 g lipid/100 g và 34,15 μg AXT/g với hỗn hợp chứa 45% ethanol, cao hơn hexane 1,1 lần và ethanol 1,15 lần. Sự khác biệt trong hiệu suất trích ly lipid và AXT trong nghiên cứu này có thể do ChCl/CA phá vỡ thành tế bào, giúp ethanol thâm nhập tốt hơn cho quá trình chiết xuất, như được hỗ trợ bởi kết quả SEM (Hình 2) và FTIR (Hình 3).

Kết quả SEM ở Hình 2A cho thấy vỏ tôm chưa xử lý có bề mặt trơn bóng, ít vi lỗ, trong khi vỏ tôm xử lý bằng ethanol và hexane có xuất hiện vi lỗ nhưng không nhiều (Hình 2B-C). Sử dụng dung môi ChCl/AC kết hợp ethanol làm bề mặt tế bào vỏ tôm thay đổi đáng kể, xuất hiện nhiều vi lỗ và một số bị vỡ (Hình 2D-H). Kết quả cho thấy việc xử lý bột tôm bằng ChCl-AC dẫn đến sự xói mòn tăng trên bề mặt tôm, tương tự các báo cáo của Wang và cộng sự [24], Trần và cộng sự [21]. Tuy nhiên, việc kết hợp ethanol (45-65%) trong ChCl/AC cao làm giảm tính ổn định của dung môi DES dẫn đến giảm sự hư hại của bề mặt tế bào vỏ tôm (Hình 2H). Kết quả là hiệu suất chiết xuất các hợp chất như AXT và lipid có thể bị giảm. Phân tích FTIR (Hình 3) cho thấy các đỉnh hấp thụ của bã vỏ tôm thay đổi tùy thuộc vào dung môi chiết xuất được sử dụng. Đỉnh hấp thụ tại 874 cm^{-1} trong nguyên liệu bột vỏ tôm giảm nhẹ khi chiết xuất bằng hexane và ethanol, và giảm đáng kể khi chiết xuất bằng Ch-AC kết hợp ethanol, đặc biệt ở hàm lượng ethanol từ 25 đến 45%. Sự giảm này có thể liên quan đến việc loại bỏ các muối khoáng như CaCO_3 khỏi tế bào tôm, như đã được đề cập trong các nghiên cứu trước đây [21, 24].

Hơn nữa, các đỉnh hấp thụ mạnh giữa $1331\text{--}1550\text{ cm}^{-1}$ xuất hiện trong bã tôm được xử lý bằng ChCl/AC kết hợp ethanol hoặc ethanol, cho thấy sự loại bỏ thành công protein khỏi tế bào tôm. Wang và cộng sự đã nhận mạnh rằng sự hiện diện của H^+ tự do trong DES có AC đóng vai trò quan trọng trong việc khử khoáng và phá vỡ liên kết chitin, giúp tăng hiệu suất tách chiết [24]. Tuy nhiên, sự có mặt của acid citric trong DES có thể làm giảm pH của dung dịch chiết, ảnh hưởng đến độ ổn định của astaxanthin và hiệu suất tách chiết [4]. Bên cạnh đó, sự hiện diện của lipid có thể dẫn đến hiện tượng phân lớp hoặc tạo nhũ tương, gây khó khăn trong quá trình chiết xuất và tinh sạch AXT [23]. Mặc dù vai trò của acid citric trong DES đã được ghi nhận trong việc hỗ trợ phá vỡ cấu trúc tế bào, tác động cụ thể của nó cũng như DES đối với hiệu suất trích ly lipid và AXT từ vỏ tôm vẫn chưa được nghiên cứu và đánh giá toàn diện.



Hình 2. Ảnh chụp SEM ($\times 7000$) của mẫu vỏ tôm nguyên liệu (A) và các mẫu vỏ tôm đã được xử lý với ethanol (B), hexan (C), DES với hỗn hợp ethanol có tỷ lệ 0, 5, 25, 45 và 65% (D-H)



Hình 3. Phổ FTIR của mẫu vỏ tôm nguyên liệu và các mẫu vỏ tôm đã được xử lý với hexan, ethanol và DES với các tỷ lệ ethanol khác nhau (0-65%)

3.3. Chỉ tiêu lý hóa và thành phần acid béo trong chế phẩm giàu lipid từ vỏ tôm

Chỉ số acid (AV), chỉ số peroxyde (PV) và chỉ số anisidine là các chỉ số quan trọng đánh giá chất lượng của các sản phẩm dầu mỡ. PV và anisidine lần lượt đo mức độ oxy hóa sơ cấp và thứ cấp của chất béo, là cơ sở để xác định chỉ số oxy hóa tổng số ToTox (chỉ số oxy hóa tổng số = $2 \times$ chỉ số peroxyde + $1 \times$ chỉ số anisidine); trong khi AV chỉ ra sự phân hủy chất béo do quá trình thủy phân, dẫn đến dầu bị ôi. Giá trị AV dao động từ 0,90 đến 0,92 mg KOH/g, giá trị peroxyde nằm trong khoảng từ 0,58 đến 0,61 meq O_2/kg , chỉ số anisidine dao động từ 4,28 đến 4,36 meq/kg và chỉ số oxy hóa tổng số từ 5,44 đến

5,70 meq/kg như trình bày trong Bảng 1. Theo tiêu chuẩn quốc gia TCVN 13020:2020 [25], các giá trị này đều nằm trong giới hạn cho phép dầu dùng trong thực phẩm. Một số nghiên cứu trước đây báo cáo rằng sản phẩm lipid từ tôm có giá trị peroxyde và acid thấp là nhờ sự có mặt của AXT, một chất chống oxy hóa mạnh [3, 6]. Các tác giả này cũng cho rằng sản phẩm lipid từ tôm rất giàu acid béo không bão hòa đa (PUFAs), là một thành phần bổ sung có giá trị cho chế độ ăn uống lành mạnh.

Bảng 1. Chi tiêu lý hóa và khả năng kháng oxy hóa của các chế phẩm lipid từ vỏ tôm được chiết xuất bằng hexan, ethanol và ethanol kết hợp ChCl/CA.

Dung môi	Nồng độ ethanol (%)	Chỉ số acid (mg KOH/g)	Chỉ số peroxide (meq O ₂ /kg)	Chỉ số anisidine (meq/kg)	Chỉ số oxy hóa tổng số (meq/kg)	ABTS (%)	DPPH (%)	FRAP (μmolFe ²⁺ /g)
Choline chloride-acid citric (ChCl/CA)	0	0,89±0,03	0,60±0,01	4,31±0,15	5,51±0,17	77,97 ^c ±1,34	72,14 ^c ±1,90	1256,92 ^d ±1,94
	5	0,89±0,02	0,63±0,02	4,32±0,21	5,58±0,25	83,32 ^b ±2,04	74,30 ^b ±0,95	1556,81 ^c ±2,02
	25	0,90±0,01	0,63±0,02	4,33±0,18	5,59±0,14	87,32 ^b ±2,04	75,35 ^b ±0,95	1689,15 ^b ±1,78
	45	0,92±0,02	0,66±0,01	4,35±0,26	5,67±0,24	90,24 ^a ±2,15	83,19 ^a ±1,41	1896,90 ^a ±2,03
	65	0,93±0,02	0,67±0,01	4,36±0,24	5,70±0,26	89,45 ^a ±1,66	80,15 ^a ±1,40	1609,94 ^b ±1,69
Hexane	-	0,83±0,02	0,58±0,03	4,28±0,18	5,44±0,16	89,07 ^a ±1,34	80,11 ^a ±1,92	1694,21 ^b ±1,98
Ethanol	-	0,90±0,02	0,63±0,02	4,29±0,16	5,55±0,12	90,22 ^a ±1,04	82,35 ^a ±1,05	1848,31 ^a ±1,75

Trong mỗi cột, các chữ cái thường khác nhau đi kèm với các giá trị cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$.

Thành phần acid béo của chế phẩm giàu lipid từ tôm được chiết xuất bằng ChCl/CA kết hợp ethanol (0-65%) hoặc dung môi hữu cơ (ethanol và hexane) được thể hiện trong Bảng 2. Các acid béo chính được tìm thấy là acid linoleic, palmitic, stearic, và oleic và cùng với lượng nhỏ acid α -linolenic (ALA), acid cis-11,14-eicosadienoic và acid cis-8,11,14-eicosatrienoic. Kết quả cũng cho thấy khi sử dụng các dung môi khác nhau không làm thay đổi loại acid béo có mặt trong chế phẩm giàu lipid từ vỏ tôm *Penaeus monodon*, nhưng lại ảnh hưởng đến hàm lượng của chúng. Chế phẩm chiết xuất bằng DES-ethanol hoặc ethanol có hàm lượng acid béo không bão hòa đơn (MUFAs; 15,32 đến 17,76%) và acid béo không bão hòa đa (PUFAs; 53,09 đến 55,10%) cao hơn so với chế phẩm chiết xuất bằng hexane (MUFAs: 15,32% và PUFAs: 52,28%) và ethanol (MUFAs: 16,36% và PUFAs: 53,46%).

Bảng 2. Thành phần acid béo (%) của các chế phẩm lipid từ tôm được chiết xuất bằng hexan, ethanol và ethanol kết hợp ChCl/CA

Thành phần acid béo	Hexane	Ethanol	ChCl/CA-0% ethanol	ChCl/CA-5% ethanol	ChCl/CA-25% ethanol	ChCl/CA-45% ethanol	ChCl/CA-65% ethanol
Palmitic acid	18,90 ^a ±0,22	17,69 ^a ±0,20	17,92 ^a ±0,28	17,70 ^a ±0,20	17,75 ^a ±0,25	16,11 ^b ±0,30	16,09 ^b ±0,30
Stearic acid	13,52 ^a ±0,14	12,49 ^a ±0,16	13,58 ^a ±0,29	12,55 ^a ±0,21	12,47 ^a ±0,15	11,01 ^{ab} ±0,24	11,51 ^{ab} ±0,21
Oleic acid	15,30 ^b ±0,50	16,36 ^{ab} ±0,64	15,32 ^{ab} ±0,19	16,20 ^{ab} ±0,50	16,19 ^{ab} ±0,30	17,76 ^a ±0,55	17,20 ^a ±0,43
Linoleic acid	21,60 ^a ±0,30	22,50 ^{ab} ±0,41	21,55 ^{ab} ±0,30	22,51 ^{ab} ±0,57	22,56 ^{ab} ±0,40	23,37 ^a ±0,40	23,48 ^a ±0,30
α -Linolenic acid (ALA)	1,82 ^b ±0,01	2,00 ^a ±0,04	2,05 ^a ±0,03	2,06 ^a ±0,03	2,08 ^a ±0,04	2,15 ^a ±0,03	2,22 ^a ±0,02
Cis-11,14-Eicosadienoic acid	2,70±0,01	2,70±0,02	2,81±0,03	2,73±0,02	2,70±0,04	2,77±0,03	2,70±0,04
cis-8,11, 14-Eicosatrienoic acid	5,42±0,05	5,50±0,05	5,53±0,04	5,60±0,04	5,49±0,03	5,74±0,06	5,60±0,05
cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic (EPA)	10,8±0,02	10,70±0,03	11,60±0,10	10,62±0,02	10,75±0,07	10,75±0,06	10,83±0,11
cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid (DHA)	9,92±0,04	10,06±0,4	9,55±0,06	10,03±0,03	10,01±0,08	10,25±0,03	10,30±0,06

Trong mỗi hàng, các chữ cái thường khác nhau đi kèm với các giá trị cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$.

Ngoài ra, lượng acid eicosapentaenoic (EPA) (10,70-10,80%) và acid docosahexaenoic (DHA) (9,91-10,30%) cũng được phát hiện trong chế phẩm giàu lipid từ vỏ tôm *Penaeus monodon* trích ly bằng DES-ethanol, tương đồng với giá trị EPA và DHA trong chế phẩm giàu lipid được chiết xuất từ tôm *P. borealis* và tôm đỏ chấm [6]. Các acid béo không bão hòa có lợi ích cho sức khỏe như giảm nguy cơ bệnh tim mạch và cải thiện sức khỏe não bộ và tim mạch [6]. Do đó, việc sử dụng dung môi ChCl/AC

kết hợp ethanol đã có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất chiết xuất các acid béo không bão hòa từ tôm *Penaeus monodon*.

3.4. Đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của chế phẩm giàu lipid từ vỏ tôm

Trong nghiên cứu này, khả năng kháng oxy hóa của dịch trích ly từ vỏ tôm bằng các dung môi khác nhau (DES chứa ethanol, hexane và ethanol) đã được đánh giá và so sánh thông qua khả năng bắt gốc tự do (ABTS và DPPH) và khả năng khử sắt (FRAP). Kết quả trong Bảng 1 cho thấy dung môi DES kết hợp với ethanol cho khả năng bắt gốc tự do ABTS cao nhất, đạt 90,24%, theo sau là ethanol với 90,22%. Ngược lại, DES (ChCl/CA) không bổ sung ethanol có khả năng bắt gốc tự do thấp hơn, chỉ đạt 77,97%. Thử nghiệm DPPH cũng cho kết quả tương tự, trong đó dịch chiết bằng DES kết hợp với ethanol và dịch chiết bằng ethanol đều cho thấy hoạt tính chống oxy hóa mạnh, với tỷ lệ bắt gốc tự do lần lượt là 83,19% và 82,25%, vượt trội so với DES không chứa ethanol (72,14%). Kết quả thử nghiệm FRAP cũng tương tự kết quả của ABTS và DPPH: DES chứa 45% ethanol và dung môi ethanol đơn thuần đạt giá trị FRAP cao nhất, lần lượt là 1896,90 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ và 1848,31 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$. Trong khi đó, DES không chứa ethanol có giá trị FRAP thấp hơn nhiều, chỉ đạt 1256,92 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$. Những kết quả này khẳng định mối tương quan tích cực giữa hàm lượng AXT và hoạt tính chống oxy hóa, đồng thời chứng minh hiệu quả vượt trội của phương pháp chiết xuất bằng DES (ChCl/CA) có chứa ethanol. Nhìn chung, sự kết hợp chiết xuất giữa DES và ethanol là một phương pháp hiệu quả và thân thiện với môi trường hơn để thu hồi AXT và lipid từ vỏ tôm, so với các phương pháp chiết xuất truyền thống sử dụng dung môi ethanol hoặc hexane.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã sử dụng dung môi DES tạo thành từ choline chloride và acid citric với các tỷ lệ mol ChCl/CA và lượng nước bổ sung khác nhau để chiết xuất lipid và astaxanthin từ vỏ tôm. Kết quả cho thấy dung môi ChCl/CA ở tỷ lệ mol 1:2 và hàm lượng nước 15% là phương pháp hiệu quả nhất trong các DES đã thử nghiệm. Tuy nhiên, hiệu quả chiết xuất của ChCl/CA vẫn thấp hơn so với các dung môi truyền thống như ethanol và hexane. Việc bổ sung ethanol làm đồng dung môi đã cải thiện đáng kể hiệu suất chiết xuất lipid và astaxanthin so với khi chỉ dùng hexane hoặc ethanol. Đặc biệt, khi kết hợp ChCl/CA và ethanol với hàm lượng ethanol 45% trong DES, nồng độ lipid và AXT thu được đạt mức cao nhất (5,71 g/100 g và 34,15 $\mu\text{g/g}$), sau đó hexane (5,62 g/100 g và 33,47 $\mu\text{g/g}$) và ethanol (5,12 g/100 g và 31,56 $\mu\text{g/g}$). Các dịch trích ly từ vỏ tôm có đặc tính vượt trội với giá trị peroxide, anisidine và acid thấp, đồng thời chứa hàm lượng cao các acid béo không bão hòa đa như linoleic, α -linoleic, eicosapentaenoic acid (EPA) và docosahexaenoic acid (DHA). Ngoài ra, chiết xuất từ vỏ tôm còn có khả năng chống oxy hóa mạnh mẽ. Kết quả nghiên cứu này khẳng định tiềm năng của DES trong việc trích ly lipid và AXT từ phụ phẩm tôm, mang lại các hợp chất giá trị có thể ứng dụng trong ngành thực phẩm và dược phẩm.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Bộ Công Thương theo hợp đồng số 038.2023.ĐT.BO/HĐKHNCN ngày 31/08/2023.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyen T.T., Vo H. T., Kopp S. W. - Trade-offs between economic and environmental efficiencies in shrimp farming: implications for sustainable agricultural restructuring in the Vietnamese Mekong Delta. *Environment, Development and Sustainability* **26** (2024) 6677–6701. <https://doi.org/10.1007/s10668-023-02982-y>.
2. Nguyen V. C., Schwabe J., Hassler M. - White shrimp production systems in central vietnam: Status and sustainability issues. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries* **25** (2021) 111–122. <https://doi.org/10.21608/ejabf.2021.145791>.
3. Rodrigues L. A., Pereira C. V., Leonardo I. C., Fernández N., Gaspar F. B., Silva J. M., Reis R. L., Duarte A. R. C., Paiva A., Matias A. A. - Terpene-based natural deep eutectic systems as efficient solvents to recover astaxanthin from brown crab shell residues. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* **8** (2020) 2246–2259. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b06283>.
4. Dos Santos C. A., Padilha C. E. A., Damasceno K. S. F. S. C., Leite P. I. P., De Araújo A. C. J., Freitas P. R., Vieira E. A., Cordeiro A. M. T. M., De Sousa Jr. F. C., De Assis C. F. - Astaxanthin recovery from shrimp residue by solvent ethanol extraction using choline chloride: Glycerol deep

- eutectic solvent as adjuvant. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **32** (2021) 1030–1039. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20210005>.
5. Šimat V., Rathod N. B., Čagalj M., Hamed I., Mekinić I. G. - Astaxanthin from crustaceans and their byproducts: A bioactive metabolite candidate for therapeutic application. *Marine Drugs* **20** (2022) 206. <https://doi.org/10.3390/md20030206>.
 6. Scurria A., Tixier A. F., Lino C., Pagliaro M., D'Agostino F., Avellone G., Chemat F., Ciriminna R. - High yields of shrimp oil rich in Omega-3 and natural astaxanthin from shrimp waste. *ACS Omega* **5** (2020) 17500–17505. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01978>.
 7. Ahmadkelayeh S., Hawboldt K. - Extraction of lipids and astaxanthin from crustacean by-products: A review on supercritical CO₂ extraction. *Trends in Food Science and Technology* **103** (2020) 94 – 108. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.016>.
 8. Ambati R. R., Moi P. S., Ravi S., Aswathanarayana R. G. - Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications - A review. *Marine Drugs* **12** (2014) 128 – 152. <https://doi.org/10.3390/md12010128>.
 9. Lu W., Alam M. A., Pan Y., Wu J., Wang Z., Yuan Z. - A new approach of microalgal biomass pretreatment using deep eutectic solvents for enhanced lipid recovery for biodiesel production. *Bioresource Technology* **218** (2016) 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.120>.
 10. Bashir I., Dar A. H., Dash K. K., Pandey V. K., Fayaz U., Shams R., Srivastava S., Singh R. - Deep eutectic solvents for extraction of functional components from plant-based products: A promising approach. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* **33** (2023) 101102. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101102>.
 11. Bin Zou T., Jia Q., Li H. W., Wang C. X., Wu H. F. - Response surface methodology for ultrasound-assisted extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Marine Drugs* **11** (2013) 1644–1655. <https://doi.org/10.3390/md11051644>.
 12. Hu J., Lu W., Lv M., Wang Y., Ding R., Wang L. - Extraction and purification of astaxanthin from shrimp shells and the effects of different treatments on its content. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **29** (2019) 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.11.004>.
 13. AOCS Official Method Te 1a-64 - Acid value. AOCS Press, Champaign, USA (2009).
 14. AOCS Official Method Cd 8b-90 - Peroxide value. AOCS Press, Champaign, USA (2009).
 15. AOCS Official Method Cd 18-90 - p-Anisidine Value. AOCS Press, Champaign, USA (2009).
 16. Phan V. M., Junyusen T., Liplap P., Junyusen P. - Effects of ultrasonication and thermal cooking pretreatments on the extractability and quality of cold press extracted rice bran oil. *Journal of Food Process Engineering* **42** 2019. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12975>.
 17. Tran C. H., Vu T. T. H., Le N. H., Phan V. M. - Microwave-assisted extraction of polysaccharides from the *Abelmoschus sagittifolius*: Optimization, structure, and bioactivity. *Journal of Food Processing and Preservation* **2024** (2024) 862451. <https://doi.org/10.1155/2024/8862451>.
 18. Dessalegn E., Bultosa G., Haki G. D., Chen F., Rupasinghe H. P. V. - Antioxidant and cytotoxicity to liver cancer HepG2 cells in vitro of Korarima (*Aframomum corrorima* (Braun) P.C.M. Jansen) seed extracts. *International Journal of Food Properties* **25** (2022) 1–10. <https://doi.org/10.1080/10942912.2021.2019268>
 19. Jones A., Acquaviva A., Suktham T., Dennis G. R., Shalliker R. A., Soliven A. - Total antioxidant capacity with peak specificity via reaction flow chromatography and the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Analytical Methods* **13** (2020) 608–616. <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01675-5>.
 20. Xie D., Jin J., Sun J., Liang L., Wang X., Zhang W., Wang X., Jin Q. - Comparison of solvents for extraction of krill oil from krill meal: Lipid yield, phospholipids content, fatty acids composition and minor components. *Food Chemistry* **233** (2017) 434–441. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.138>.
 21. Tran C. H., Nguyen T. D., Quach L. A. T., Huynh L. T. N., Nguyen D. T. T., Nguyen T. T., Duy N. Q., Le T. H. A., Phan V. M. - Extraction of chitin from giant tiger prawn (*Penaeus monodon*)

- shrimp shell using deep eutectic solvents and citric acid. Applied Science and Engineering Progress **1** (2024). <https://doi.org/10.14416/j.asep.2023.10.006>.
22. Vilková M., Płotka-Wasyłka J., Andruch V. - The role of water in deep eutectic solvent-base extraction. Journal of Molecular Liquids **34** (2020) 112747. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112747>.
23. Hayyan A., Samyudia A. V., Hashim M. A., Hizaddin H. F., Ali E., Hadj-Kali M. K., Aldeehani A. K., Alkandari K. H., Etigany H. T., Alajmi F. D. H., Alhumaydhi F. A., Aljohani A. S. M., Zulkifli M.Y., Halilu A., Yeow A. T. H. - Application of deep eutectic solvent as novel co-solvent for oil extraction from flaxseed using sonoenergy. Industrial Crops and Products **176** (2022) 114242. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114242>.
24. Wang J., Teng C., Yan L. - Applications of deep eutectic solvents in the extraction, dissolution, and functional materials of chitin: Research progress and prospects. Royal Society of Chemistry **2** (2022). <https://doi.org/10.1039/d1gc04340d>.
25. Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia - TCVN 13020:2020 Dầu cá. Bộ Khoa học và Công nghệ (2020).

ABSTRACT

EXTRACTION OF LIPID AND ASTAXANTHIN FROM BLACK TIGER SHRIMP SHELLS (*Penaeus monodon*) USING DEEP EUTECTIC SOLVENT AND ETHANOL

Tran Chi Hai¹, Phan Van Man², Le Thi Hong Anh^{1*}

¹Faculty of Food Science and Technology,

Ho Chi Minh City University of Industry and Trade, Vietnam

²Faculty of Tourism, Ba Ria–Vung Tau College of Technology, Vietnam

*Email: anhth@huit.edu.vn

The shells of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) are often discarded during processing, yet they constitute a significant byproduct in the seafood industry, especially in countries such as Vietnam. These shells are rich in valuable bioactive compounds, including lipids and astaxanthin, but their rigid and complex cell wall structure presents challenges for extraction. This study examined the potential of a deep eutectic solvent (DES) system, composed of choline chloride (ChCl) and citric acid (CA), for extracting lipids and astaxanthin from the shrimp shells. While DES demonstrated lower extraction efficiency for both lipid and astaxanthin compared to traditional solvents such as hexane and ethanol, the efficiency improved significantly when ethanol was used as a co-solvent. The combination of ChCl/CA with 45% ethanol achieved the highest lipid (5.71 g/100 g) and astaxanthin concentration (34.15 µg/g), outperforming ethanol alone (5.12 g/100 g and 31.56 µg/g) and hexane (5.62 g/100 g and 33.47 µg/g). The resulting extracts were rich in polyunsaturated fatty acids, including linoleic acid, α-linolenic acid, EPA, and DHA, as well as astaxanthin, exhibiting potent antioxidant properties. These results indicate that the DES system, particularly with the addition of ethanol, is a promising and efficient alternative for extracting valuable bioactive compounds from shrimp shells.

Keywords: *Penaeus monodon*, shrimp shell, deep eutectic solvent, astaxanthin, fatty acid, antioxidant activity.