

SỞ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO HẢI PHÒNG

---o0o---

**CUỘC THI KHOA HỌC KỸ THUẬT CẤP THÀNH PHỐ
DÀNH CHO HỌC SINH TRUNG HỌC NĂM HỌC 2026-2027**

**Tên dự án: Nâng cao hiệu suất thu hồi Astaxanthin
từ phế liệu cua và thử hoạt tính trong thực nghiệm**

Lĩnh vực dự thi: Sinh học ứng dụng

Loại dự án: Dự án khoa học ☒ Lĩnh vực kỹ thuật ☐

MÃ DỰ ÁN:.....

VỊ TRÍ:.....

Hải Phòng, tháng 10 năm 2026

MỤC LỤC

	Trang
A. Lí do chọn đề tài	2
B. Câu hỏi nghiên cứu, vấn đề nghiên cứu và giả thuyết khoa học	2
1. Câu hỏi nghiên cứu	2
2. Vấn đề nghiên cứu	3
3. Giả thuyết khoa học	3
4. Những điểm mới và tính sáng tạo của đề tài	3
C. Thiết kế và phương pháp nghiên cứu	3
D. Tiến hành nghiên cứu	4
1. Tiến trình nghiên cứu	4
2. Kết quả nghiên cứu	4
2.1. <i>Tách chiết astaxanthin từ phế liệu cua</i>	4
2.2. <i>Thử nghiệm hoạt tính của astaxanthin được tách chiết từ phế liệu cua</i>	8
3. Kết luận khoa học và khuyến nghị	10
E. Tài liệu tham khảo	10

A. Lí do chọn đề tài

Astaxanthin là một loại carotenoid có màu đỏ thẫm. Astaxanthin có nhiều hoạt tính sinh học quý giá như: khả năng chống oxy hóa mạnh, ngăn ngừa sự lão hóa, ức chế sự phát triển của tế bào ung thư và tạo màu sắc cho thịt, trứng của vật nuôi (Goodwin, 1994). Ngày nay, astaxanthin được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực của y dược và chăn nuôi (điển hình là tạo màu sắc cho thịt cá hồi vân và màu sắc của cá cảnh). Tuy nhiên, astaxanthin thương mại có giá thành cao (sản phẩm thương mại Carophyll Pink hiện có trên thị trường chứa 10% astaxanthin có giá dao động trên dưới 15 triệu đồng/kg).

Việt Nam là một trong những quốc gia hàng đầu thế giới về nuôi trồng, chế biến và xuất khẩu thịt cua. Hàng năm sản lượng cua của nước ta từ đánh bắt và nuôi trồng đạt khoảng trên 100.000 tấn (Tổng Cục Thống kê, 2024). Trong quá trình chế biến các dạng sản phẩm từ cua, phần vỏ cua (khung xương ngoài) bị loại bỏ dưới dạng phế liệu. Trung bình, phần vỏ cua chiếm trên 50% tổng khối lượng nguyên liệu cua ban đầu (Meyers, 2010). Với tỉ lệ này, mỗi năm nước ta có khoảng hơn 50.000 tấn phế liệu từ việc chế biến cua (Nguyễn Hữu Dũng, 2023). Với một lượng lớn phế liệu từ ngành công nghiệp chế biến các sản phẩm từ cua phục vụ nhu cầu trong nước và xuất khẩu, nếu không được xử lý và tận dụng, sẽ gây lãng phí lớn và gây ô nhiễm môi trường. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, phế liệu từ cua có chứa nhiều hợp chất có giá trị. Ngoài protein, chitosan và khoáng thì phế liệu từ cua còn chứa một lượng khá lớn astaxanthin (Synowiecki và cộng sự, 2000; Trung và cộng sự, 2012). Tuy nhiên, trong thực tế hiện nay, phế liệu cua chỉ chủ yếu được tận dụng để tách chiết và sản xuất chitosan và bổ sung vào thức ăn chăn nuôi như một nguồn cung cấp khoáng, vì thế, làm lãng phí một lượng astaxanthin quý giá từ loại phế liệu này (Trang Trung Sỹ và cộng sự, 2009; 2010).

Do đặc tính tan trong lipid của astaxanthin nên gần đây, một số nghiên cứu đã sử dụng dung môi hữu cơ là lipid để tách chiết astaxanthin từ phế liệu của động vật thủy sản (Chen và cộng sự, 2002; Hoàng Thị Huệ An, 2004) và dầu thực vật (điển hình là dầu hướng dương) được xem là phù hợp để tách chiết (Kang và cộng sự, 2008; Nguyễn Thị Ngọc Hoài, 2021). Tuy nhiên, hiệu quả tách chiết astaxanthin từ phế liệu cua là không cao khi chỉ sử dụng dung môi tách chiết là lipid (Nguyễn Thị Ngọc Hoài, 2021). Astaxanthin trong cua được liên kết với protein tạo phức màu xanh đen. Phức hợp astaxanthin-protein trong cua khá bền và ổn định, được hình thành từ các xoắn ngẫu nhiên và có dạng cấu hình phiên β (Shahidi và cộng sự, 1998; Higuera và cộng sự, 2008). Đặc điểm này của astaxanthin trong cua đưa đến ý tưởng sử dụng kết hợp giữa enzyme thủy phân protein và dung môi hòa tan astaxanthin thì có thể nâng cao được hiệu quả tách chiết astaxanthin từ phế liệu cua. Bên cạnh đó, việc thử nghiệm hoạt tính của astaxanthin sau khi tách chiết và so sánh hoạt tính sinh học của sản phẩm tách chiết với astaxanthin thương mại cũng là việc làm cần thiết.

Vì những lí do trên, chúng em tiến hành nghiên cứu đề tài ***“Nâng cao hiệu suất thu hồi astaxanthin từ phế liệu cua và thử hoạt tính trong thực nghiệm”*** thông qua việc kết hợp thủy phân protein, sau đó tách chiết astaxanthin bằng dầu thực vật để đạt hiệu suất thu hồi cao, cung cấp nguồn astaxanthin có hoạt tính sinh học tốt với giá thành rẻ để sử dụng trong y dược và chăn nuôi.

B. Câu hỏi nghiên cứu, vấn đề nghiên cứu và giả thuyết khoa học

1. Câu hỏi nghiên cứu

Câu hỏi nghiên cứu đặt ra là: (1) Liệu kết hợp việc xử lý vỏ cua bằng enzyme thủy phân protein trước khi tách chiết astaxanthin bằng dầu thực vật có làm tăng hiệu suất tách chiết? (2) Với tỉ lệ dung môi dầu thực vật và phế liệu cua như thế nào, điều kiện nhiệt độ tách chiết ra sao để hiệu suất tách chiết là cao nhất? (3) Liệu astaxanthin được tách chiết từ phế liệu cua bằng quy trình nghiên cứu này có thể hiện được hoạt tính sinh học như astaxanthin thương mại để định hướng sử dụng trong thực tế không?

2. Vấn đề nghiên cứu

*** Mục đích nghiên cứu:**

(1) Nâng cao hiệu quả tách chiết astaxanthin thông qua việc xử lý phế liệu cua bằng protease hoạt tính mạnh (Alcalase) và dầu hướng dương.

(2) Đánh giá hoạt tính sinh học điển hình của astaxanthin đã được tách chiết.

*** Nội dung nghiên cứu:**

- **Nội dung 1:** Thủy phân phế liệu cua bằng Alcalase và tiến hành tách chiết astaxanthin bằng dầu hướng dương.

- **Nội dung 2:** Đánh giá hoạt tính sinh học điển hình của astaxanthin đã được tách chiết trong thực nghiệm thông qua việc so sánh với astaxanthin thương mại về khả năng chống oxy hóa và tạo màu sắc cho cá koi.

3. Giả thuyết khoa học

Astaxanthin trong cua tồn tại ở dạng liên kết với protein nên khó tách chiết khi chỉ sử dụng dầu thực vật, do vậy, nếu sử dụng enzyme thủy phân protein động vật có hoạt tính mạnh là Alcalase thì có thể nâng cao hiệu suất tách chiết hợp chất này từ phế liệu cua.

4. Những điểm mới và tính sáng tạo của đề tài

- Kết hợp sử dụng enzyme thủy phân protein động vật có hoạt tính mạnh và dầu hướng dương để tách chiết astaxanthin từ phế liệu cua giúp đạt hiệu suất tách chiết cao.
- Nghiên cứu và đề xuất được quy trình tách chiết astaxanthin hiệu quả từ phế liệu cua: tiết kiệm dung môi, rút ngắn thời gian và giảm nhiệt độ tách chiết, góp phần giảm chi phí của quá trình tách chiết.
- Tách chiết được astaxanthin trong phế liệu cua có hoạt tính chống oxy hóa và tạo màu sắc cho cá koi tương tự như astaxanthin thương mại.
- Tận dụng nguồn phế liệu từ cua để tạo nguồn astaxanthin có chất lượng nhưng chi phí thấp để sử dụng trong y dược học và trong chăn nuôi, góp phần giảm ô nhiễm môi trường.

C. Thiết kế và phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thiết kế một cách khoa học, đảm bảo đồng đều giữa các lô thí nghiệm, ngoại trừ yếu tố thí nghiệm. Các phương pháp nghiên cứu được sử dụng là các phương pháp chuẩn cho lĩnh vực nghiên cứu và đáng tin cậy.

- **Chuẩn bị phế liệu cua:** Vỏ cua tươi được thu mua tại Xưởng chế biến cua xuất khẩu, thuộc Công ty Cổ phần Chế biến Thủy sản Xuất khẩu Hạ Long, TP. Hải Phòng.

- **Phương pháp phân tích xác định hàm lượng astaxanthin trong phế liệu cua và trong chế phẩm tách chiết:** Được thực hiện theo phương pháp chuẩn của Calo và cộng sự, 1995.

- **Phương pháp thủy phân protein trong phế liệu cua bằng Alcalase:** Được thực hiện theo phương pháp thủy phân protein động vật bằng Alcalase của Liaset và cộng sự, 2002.

- **Phương pháp tách chiết astaxanthin trong phế liệu cua bằng dầu hướng dương:** Được thực hiện theo phương pháp của Kang và cộng sự, 2008.

- *Hiệu suất thu hồi astaxanthin*: Được tính dựa trên tỉ lệ phần trăm astaxanthin được tách chiết so với lượng astaxanthin tổng số có trong phế liệu của theo công thức của Holanda và cộng sự, 2006.
- *Phương pháp thử hoạt tính chống oxy hóa*: Được xác định thông qua thử nghiệm hoạt tính quét gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) theo phương pháp của Blois, 1958.
- *Thử nghiệm và so sánh việc tạo màu sắc cho cá koi*: Tỷ lệ bổ sung astaxanthin vào thức ăn cho cá koi và thời gian nuôi dựa theo nghiên cứu của Lalita và cộng sự, 2022.
- *Phương pháp xử lý số liệu*: Các số liệu thô thu được được xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS 16.0. Các số liệu được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn. So sánh hai giá trị trung bình được thực hiện bằng kiểm định T-test với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

D. Tiến hành nghiên cứu

1. Tiến trình nghiên cứu

- Thời gian thực hiện đề tài: từ tháng 06/2026 – 11/2026.
- Địa điểm nghiên cứu: Các nghiên cứu thực nghiệm được tiến hành tại các Phòng thí nghiệm của Trường Đại học Sư phạm Hà Nội và Trung tâm Công nghệ Sinh học, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản I.

Nghiên cứu được hoàn thành theo đúng tiến trình nghiên cứu đã được trình bày trong đề cương

2. Kết quả nghiên cứu

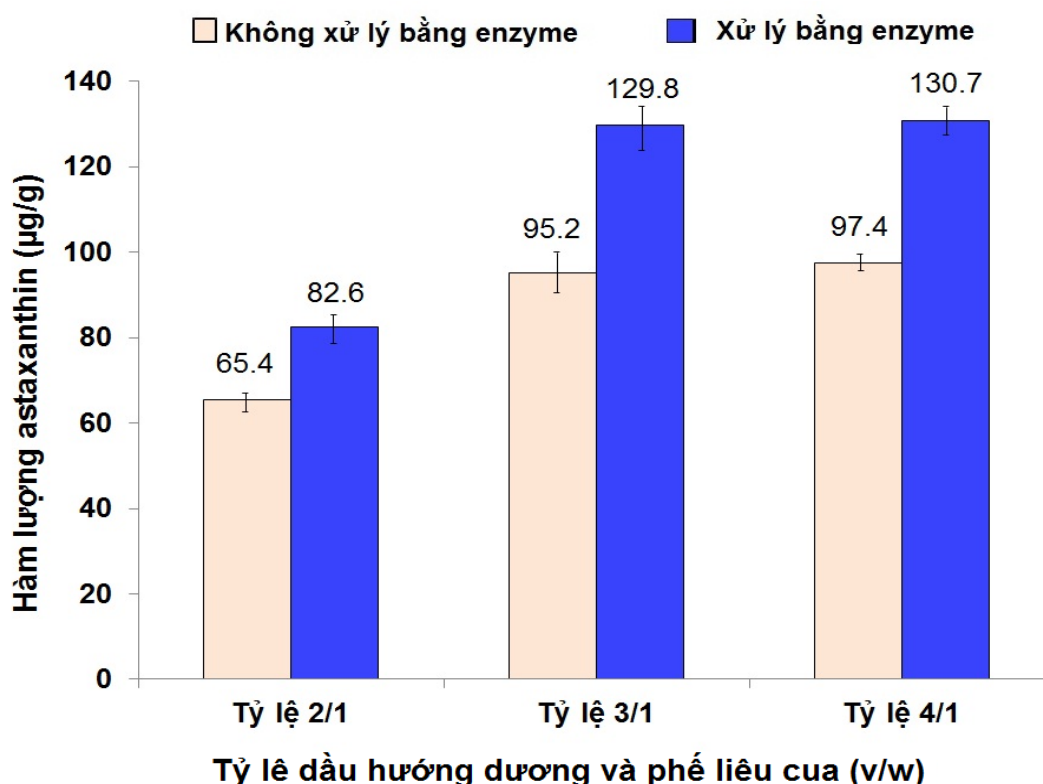
2.1. Tách chiết astaxanthin từ phế liệu của

2.1.1. Tỷ lệ dung môi và phế liệu của

Sau khi phế liệu của được thủy phân với enzyme Alcalase, các điều kiện tách chiết như: tỷ lệ dầu hướng dương/phế liệu của, thời gian tách chiết và nhiệt độ tách chiết sẽ được nghiên cứu nhằm tìm ra các điều kiện tách chiết phù hợp để đạt hiệu suất cao nhất nhưng đảm bảo tiết kiệm dung môi và thời gian tách chiết.

Tỷ lệ dầu hướng dương và phế liệu của đã xử lý enzyme được thử nghiệm đầu tiên. Kết quả được trình bày ở Hình 2.1. Kết quả cho thấy, với tất cả các tỷ lệ dung môi/phế liệu của khác nhau, hiệu quả tách chiết astaxanthin ở nhóm nguyên liệu được xử lý bằng Alcalase đều cao hơn so với nguyên liệu không được xử lý enzyme và sự khác biệt này là có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Điều này chứng minh rằng, khi xử lý phế liệu của bằng enzyme Alcalase, hiệu quả tách chiết astaxanthin đã tăng lên đáng kể.

Một số nghiên cứu chỉ ra rằng, astaxanthin tan tốt nhất ở nhiệt độ 60 °C. Mặt khác, tỷ lệ dầu thực vật/phụ phẩm thủy sản (trong đó có vỏ cua) là 4/1 và thời gian tách chiết là 2h (Goodwin, 1994; Shahidi và cộng sự, 1998; Chen và cộng sự, 2002; Ranga và cộng sự, 2007; Kang và cộng sự, 2008; Nguyễn Thị Ngọc Hoài, 2021). Vì thế, trong nghiên cứu này, chúng em tham khảo các quy trình tách chiết và sử dụng điều kiện là 60°C, với thời gian chiết là 2h. Tuy nhiên, kết quả ở Hình 2.1 cho thấy, hàm lượng astaxanthin được tách chiết từ phế liệu của sau khi đã được xử lý enzyme thủy phân protein là tương đương ở tỷ lệ 3/1 và 4/1. Điều này có nghĩa, khi phế liệu của đã được xử lý enzyme Alcalase thì lượng dung môi sử dụng để tách chiết astaxanthin giảm đi và chỉ cần tỷ lệ 3/1 là đạt hiệu suất chiết tương đương với tỷ lệ 4/1 sử dụng trong nhiều nghiên cứu trước đây. Kết quả này có ý nghĩa rất lớn trong việc giảm chi phí về dung môi khi sử dụng để tách chiết astaxanthin trong phế liệu của, khi chỉ cần sử dụng tỷ lệ dầu hướng dương/phế liệu của đã xử lý enzyme là 3/1 (v/w).



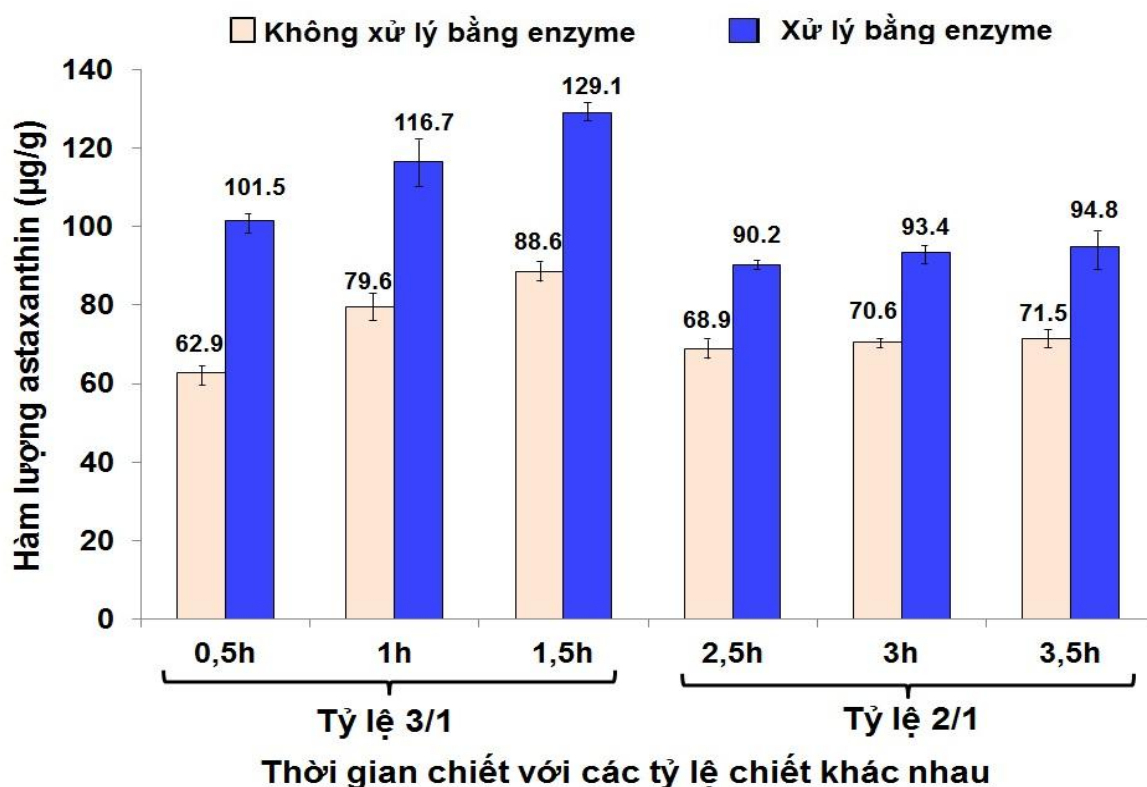
Hình 2.1. Hàm lượng astaxanthin thu được với các tỷ lệ dầu hương dương và phế liệu cua khác nhau

(Biểu đồ được tạo bởi phần mềm microsoft excel và do học sinh tự thực hiện)

Hàm lượng astaxanthin trong phế liệu cua sử dụng trong nghiên cứu này là 141,2 µg/g vật chất khô (hàm lượng astaxanthin tổng số trong mẫu vỏ cua nghiên cứu). Trong khi đó, hàm lượng astaxanthin thu được khi tách chiết có xử lý bằng Alcalase đạt khoảng 130 µg/g vật chất khô. Như vậy, lượng astaxanthin đã được tách chiết từ phế liệu cua đạt khoảng 92%. Trong khi đó, nếu không sử dụng enzyme để thủy phân protein, tỷ lệ astaxanthin tách chiết được chỉ đạt khoảng 69% (97 µg/g vật chất khô). Kết quả này cho thấy, việc xử lý phế liệu cua bằng Alcalase đã làm tăng rõ rệt hiệu suất tách chiết astaxanthin trong phế liệu cua. Astaxanthin trong cua được liên kết với protein tạo phức màu xanh đen. Phức hợp astaxanthin-protein trong cua khá bền và ổn định, được hình thành từ các xoắn ngẫu nhiên và có dạng cấu hình phiên β (Shahidi và cộng sự, 1998; Higuera và cộng sự, 2008). Mặt khác, enzyme Alcalase có hoạt tính khá mạnh, vì thế việc tăng hiệu suất tách chiết astaxanthin từ phế liệu cua trong nghiên cứu này là do sự thủy phân protein bằng enzyme này, từ đó làm tăng giải phóng astaxanthin vào dung môi tách chiết và làm tăng hiệu suất tách chiết.

2.1.2. Thời gian tách chiết

Sau khi có kết quả về tỷ lệ dung môi/phế liệu cua (Hình 2.1), chúng em tiếp tục tìm hiểu thời gian tách chiết phù hợp nhằm đạt mục tiêu chung là tiết kiệm dung môi sử dụng, qua đó giảm chi phí của việc tách chiết và tiết kiệm thời gian tách chiết. Kết quả ở Hình 2.1 gợi ý rằng, với tỷ lệ dung môi 2/1 thì việc kéo dài thời gian tách chiết lớn hơn 2h và với tỷ lệ dung môi 3/1 thì việc rút ngắn thời gian tách chiết nhỏ hơn 2h có thể sẽ thu được kết quả khả quan với hàm lượng astaxanthin được tách chiết cao. Vì thế, chúng em sử dụng hai tỷ lệ tách chiết này với các thời gian chiết khác nhau nhằm đạt được mục đích chung đã trình bày ở trên.



Hình 2.2. Hàm lượng astaxanthin thu được với thời gian tách chiết và tỷ lệ chiết khác nhau

(Biểu đồ được tạo bởi phần mềm microsoft excel và do học sinh tự thực hiện)

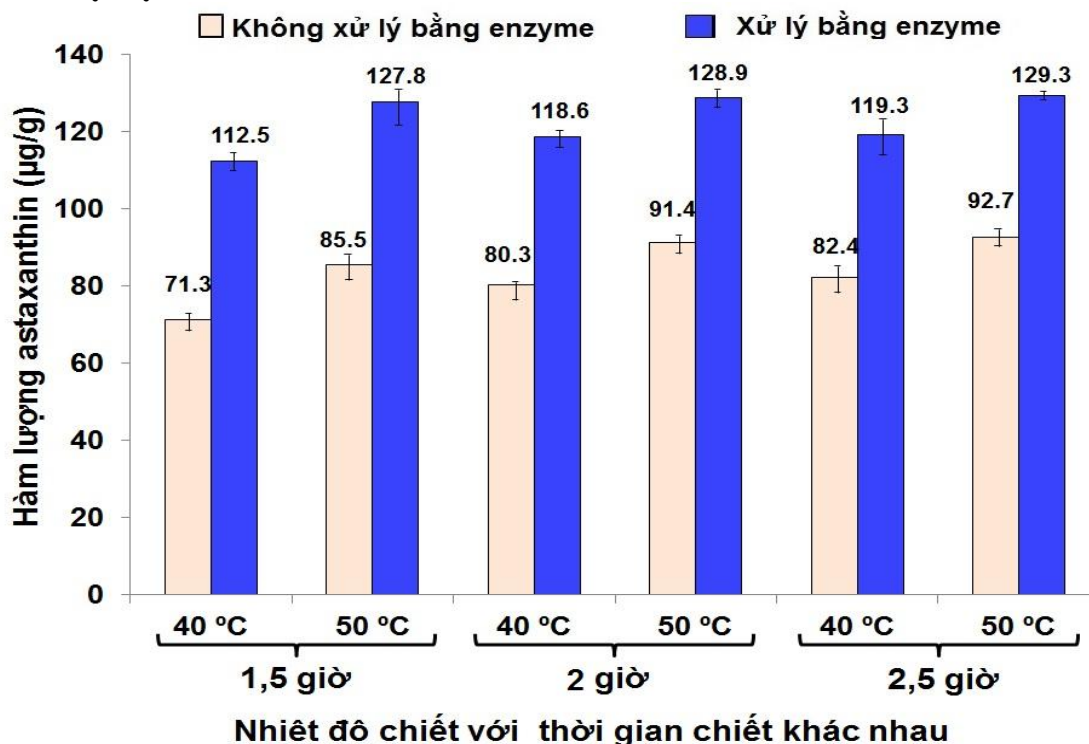
Kết quả về thời gian tách chiết với các tỷ lệ dung môi khác nhau được thể hiện ở Hình 2.2. Kết quả cho thấy, với tỷ lệ dung môi/phế liệu của là 2/1 (v/w), việc tăng thời gian tách chiết không làm tăng đáng kể lượng astaxanthin được thu hồi, khi lượng astaxanthin của phế liệu của đã xử lý enzyme chỉ dao động trong khoảng 90,2 – 94,8 µg/g vật chất khô. Mặt khác, sự khác biệt giữa các thời gian tách chiết khác nhau là không khác nhau có ý nghĩa thống kê. Điều này chứng tỏ, với tỷ lệ dung môi/phế liệu của là 2/1, hàm lượng astaxanthin được tách từ phế liệu của không tăng sau 2,5 giờ tách chiết và tỷ lệ dung môi/phế liệu của là 2/1 không phù hợp để việc tách chiết astaxanthin đạt hiệu suất cao. Mặt khác, kết quả này cũng góp phần chứng minh rằng, tỷ lệ dung môi/phế liệu của sau khi đã xử lý phù hợp là 3/1.

Với tỷ lệ dung môi/phế liệu của là 3/1, lượng astaxanthin thu được sau 0,5h và 1h tách chiết đạt 101,5 và 116,7 µg/g vật chất khô, thấp hơn đáng kể so với khi tách chiết trong 1,5h (129,1 µg/g vật chất khô) ($P < 0,05$). Điều này cho thấy, với tỷ lệ tách chiết là 3/1, thời gian tách chiết là 0,5h hoặc 1h là không phù hợp. Trong khi đó, với thời gian tách chiết là 1,5h, hàm lượng astaxanthin thu được tương đương với khi tách chiết trong 2h (Hình 2.1 và Hình 2.2). Như vậy, việc xử lý phế liệu của với enzyme Alcalase đã rút ngắn được thời gian tách chiết, từ 2h xuống 1,5h mà vẫn đạt hiệu suất tách chiết cao tương đương. Mặt khác, hàm lượng astaxanthin được tách chiết từ phế liệu của đã qua xử lý enzyme so với phế liệu của chưa qua xử lý enzyme trong Hình 2.2 một lần nữa chứng minh hiệu quả của việc xử lý enzyme trong việc nâng cao hiệu suất tách chiết astaxanthin.

Như đã trình bày ở trên, astaxanthin trong của được liên kết với protein. Vì thế, việc thủy phân protein bằng enzyme Alcalase có hoạt tính mạnh đã giúp cắt các liên kết của protein với astaxanthin và làm tăng tốc độ giải phóng astaxanthin khi được

chiết với dầu hướng dương. Đây có lẽ là nguyên nhân chính giúp rút ngắn thời gian tách chiết astaxanthin từ phế liệu cua trong nghiên cứu của chúng tôi. Việc giảm tỷ lệ dung môi và thời gian tách chiết (tỷ lệ 3/1 và thời gian chiết 1,5h) có ý nghĩa lớn trong việc giảm chi phí của quá trình tách chiết astaxanthin từ phế liệu cua, góp phần giảm giá thành của astaxanthin khi cung cấp ra thị trường.

2.1.3. Nhiệt độ tách chiết



Hình 2.3. Hiệu suất thu hồi astaxanthin với nhiệt độ tách chiết khác nhau
(Biểu đồ được tạo bởi phần mềm microsoft excel và do học sinh tự thực hiện)

Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng, astaxanthin là chất dễ bị oxy hóa và không bền với nhiệt. Chính vì thế, hầu hết các nghiên cứu đều áp dụng nhiệt độ tách chiết astaxanthin giới hạn là 60 °C. Trong nghiên cứu này của chúng em, dù đã tìm được là điều kiện tách chiết (tỷ lệ dung môi/phế liệu cua và thời gian tách chiết) đạt hiệu quả cao ở 60 °C, tuy nhiên, nếu giảm được nhiệt độ tách chiết thấp hơn nữa thì có thể sẽ giảm bớt nguy cơ mất astaxanthin do nhiệt độ cao và làm tăng lượng astaxanthin thu được. Mặt khác, việc giảm nhiệt độ tách chiết cũng góp phần giảm chi phí về năng lượng. Trong thí nghiệm này, dựa vào các kết quả đã đạt được về tỷ lệ tách chiết và nhiệt độ tách chiết, chúng em sử dụng tỷ lệ tách chiết là 3/1 và nhiệt độ tách chiết nhỏ hơn 60 °C đã thực hiện ở các thí nghiệm trước. Việc xác định các mốc thời gian tách chiết được dựa theo nguyên tắc: nhiệt độ tách chiết càng thấp thì càng cần nhiều thời gian tách chiết nhằm thu được lượng astaxanthin lớn nhất.

Kết quả tách chiết astaxanthin trong các điều kiện nhiệt độ và thời gian chiết khác nhau được thể hiện ở Hình 3.3. Kết quả cho thấy, ở tất cả các thời gian chiết khác nhau, lượng astaxanthin thu được khi tách chiết ở nhiệt độ 40 °C đều thấp hơn đáng kể so với khi tách chiết ở nhiệt độ 50 °C ($P < 0,05$). Điều này chứng tỏ, nhiệt độ tách chiết là 40°C là không phù hợp với việc tách chiết astaxanthin từ phế liệu cua. Trong khi đó, ở nhiệt độ 50°C, hàm lượng astaxanthin được tách chiết hầu như không tăng khi tăng thời gian tách chiết từ 1,5h lên 2,5h (Hình 2.3) và lượng astaxanthin được tách chiết ở 50°C là tương đương so với khi tách chiết ở nhiệt độ 60 °C trong điều kiện 1,5h (Hình 2.2) và 2h (Hình 2.1). Như vậy, có thể kết luận rằng, nhiệt độ tách chiết phù hợp với

phế liệu cua đã qua xử lý với enzyme Alcalase trong nghiên cứu này của chúng em là 50°C. Việc giảm nhiệt độ tách chiết xuống mức này tuy không giúp tăng lượng astaxanthin thu được nhưng đã góp phần giảm chi phí về năng lượng trong quá trình tách chiết.

Từ các kết quả trong các thử nghiệm về các điều kiện khác nhau nhằm tách chiết astaxanthin đạt hiệu quả cao nhất, chúng em nhận thấy rằng: Phế liệu cua sau khi được xử lý bằng enzyme Alcalase nên được tách chiết với dầu hướng dương theo tỷ lệ 3/1 (v/w) trong thời gian 1,5 giờ và ở 50°C. Lượng astaxanthin được tách chiết đạt khoảng 128 µg/g vật chất khô, chiếm khoảng 90% tổng lượng astaxanthin trong phế liệu cua, trong khi hiệu suất tách chiết astaxanthin khi không xử lý phế liệu cua với enzyme chỉ đạt khoảng 60-70% astaxanthin tổng số. Ngoài việc nâng cao hiệu quả tách chiết astaxanthin, khi xử lý phế liệu cua bằng enzyme còn giúp giảm tỷ lệ dung môi/phế liệu cua xuống còn 3/1, giảm thời gian tách chiết xuống còn 1,5 giờ và giảm nhiệt độ tách chiết xuống còn 50°C. Những cải tiến này vừa giúp tăng hiệu suất tách chiết, vừa giảm chi phí trong quá trình tách chiết, góp phần giảm giá thành astaxanthin.

2.2. Thử nghiệm hoạt tính của astaxanthin được tách chiết từ phế liệu cua

Việc tách chiết một hợp chất trong tự nhiên bằng các quy trình khác nhau với điều kiện tách chiết khác nhau có thể làm thay đổi đặc tính của hợp chất đó. Vì thế, trong nghiên cứu này, chúng em tiến hành kiểm tra một số hoạt tính điển hình của astaxanthin được tách chiết theo quy trình mà chúng em đã nghiên cứu.

2.2.1. Hoạt tính chống oxy hóa

Gốc tự do trong cơ thể được tạo ra do stress, mệt mỏi, ô nhiễm môi trường, dược phẩm, tia bức xạ mặt trời, thực phẩm có chất màu tổng hợp. Gốc tự do tích tụ trong cơ thể sẽ gây hại cho cơ thể như gây ra các bệnh nguy hiểm, phá hủy collagen, làm mất tình đàn hồi của da dẫn đến da bị chảy sệ, lão hóa nhanh và ung thư. DPPH (2,2 diphenyl - 1 - picrylhydrazyl) là một gốc tự do có màu tím đậm, có cực đại hấp thụ tại bước sóng 517nm. Những chất có hoạt tính chống oxy hóa sẽ trung hòa gốc tự do DPPH bằng cách cho hydrogen biến nó trở thành 2,2 diphenyl - 1 - picrylhydrazine, qua đó làm giảm độ hấp thụ tại bước sóng cực đại và làm chuyển màu của DPPH từ màu tím sang màu vàng nhạt.

Bảng 2.1. Nồng độ quét 50% gốc tự do DPPH của astaxanthin được tách chiết từ phế liệu cua và astaxanthin thương mại (giá trị IC₅₀)

Nguồn astaxanthin	Giá trị IC₅₀ (µg/ml)
Astaxanthin tách chiết từ phế liệu cua	38,2 ± 1,8
Astaxanthin thương mại	36,7 ± 1,5

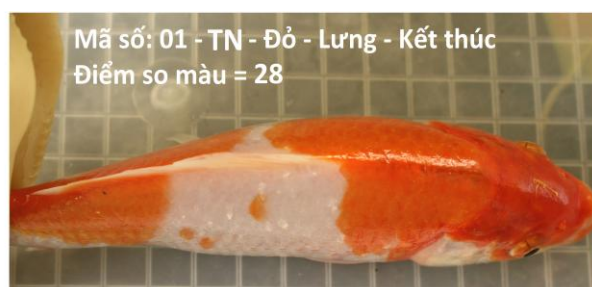
Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng, astaxanthin có khả năng chống oxy hóa khá tốt (Martin, 1999; Higuera và cộng sự, 2006; Ranga và cộng sự, 2007). Tác dụng này đã và đang được ứng dụng ngày càng nhiều trong Y – Dược học. Hoạt tính quét gốc tự do của astaxanthin tách chiết từ phế liệu cua trong nghiên cứu được đánh giá thông qua giá trị IC₅₀. Kết quả ở Bảng 2.1 cho thấy, astaxanthin tách chiết từ phế liệu cua có giá trị IC₅₀ là 38,2 µg/ml trong khi giá trị IC₅₀ của astaxanthin thương mại là 36,7 µg/ml. Khi phân tích thống kê cho thấy, không có sự khác nhau có ý nghĩa giữa hai giá trị IC₅₀ này ($P > 0,05$). Điều này chứng tỏ, astaxanthin tách chiết từ phế liệu cua thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tương đương so với astaxanthin thương mại.

2.2.2. Hoạt tính tạo màu sắc cho cá koi

Trong chăn nuôi, astaxanthin cũng được sử dụng rộng rãi như một chất tạo màu cho sản phẩm, phổ biến nhất là tạo màu sắc cho cá cảnh hoặc tạo màu sắc cho thịt cá hồi (Shaidi và cộng sự, 1998; Nguyễn Việt Nam và cộng sự, 2012). Trong nghiên cứu này, chúng em sử dụng astaxanthin đã tách chiết từ phế liệu cua để tạo màu cho cá koi dòng Kohaku (đỏ - trắng) và so sánh hiệu quả với astaxanthin thương mại.

Bảng 2.2. Điểm màu của mảng màu đỏ trên thân của cá koi thí nghiệm

Nguồn astaxanthin	Mức điểm so màu									Trung bình
	Cá 1	Cá 2	Cá 3	Cá 4	Cá 5	Cá 6	Cá 7	Cá 8	Cá 9	
Astaxanthin thương mại	23	24	23	26	23	27	26	24	27	24,8
Astaxanthin tách chiết	28	26	24	25	23	25	24	27	26	25,3



Đối chứng
(astaxanthin thương mại)

Thí nghiệm
(astaxanthin tách chiết)

Hình 2.4. Màu sắc của các mảng màu đỏ trên thân của cá koi thí nghiệm
(Ảnh học sinh tự chụp)

Bảng 2.2 và Hình 2.4 thể hiện kết quả so sánh màu sắc của các mảng màu đỏ trên thân của cá thí nghiệm sau 4 tuần nuôi bằng thức ăn được bổ sung astaxanthin tách chiết từ phế liệu cua (nhóm thí nghiệm) và thức ăn được bổ sung astaxanthin thương mại (nhóm đối chứng) với hàm lượng tương đương nhau là 80 mg/kg thức ăn. Kết quả cho thấy, màu sắc vị trí trung tâm của các mảng màu đỏ lớn nhất trên thân của cá koi đạt 25,3 điểm màu ở nhóm ăn astaxanthin tách chiết và đạt 24,8 điểm màu đối với cá koi ở nhóm đối chứng. Mặc dù nhóm ăn astaxanthin tách chiết có xu hướng thể hiện màu sắc đậm hơn nhóm đối chứng, tuy nhiên, sự sai khác là không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Điều này chứng tỏ, astaxanthin được tách chiết từ vỏ cua trong

nghiên cứu này thể hiện vai trò tạo màu sắc cho cá koi tương đương so với astaxanthin thương mại.

Kết quả khả quan về hoạt tính tạo màu sắc cho cá koi trong nghiên cứu của astaxanthin được tách chiết từ phế liệu cua có ý nghĩa rất quan trọng trong chăn nuôi. Kết quả thử nghiệm trên cơ thể động vật như cá koi mở ra hướng sử dụng astaxanthin được tách chiết từ phế liệu cua theo quy trình như trong nghiên cứu và sử dụng cho việc tạo màu sắc cho sản phẩm chăn nuôi khác, như tạo màu sắc cho thịt cá hồi vân, tạo màu sắc cho trứng của gia cầm, v.v.

3. Kết luận khoa học và khuyến nghị

3.1. Kết luận

Từ các kết quả thu được trong nghiên cứu, chúng em đưa ra một số kết luận như sau:

- Kết hợp thủy phân phế liệu cua bằng enzyme Alcalase, sau đó sử dụng dầu hướng dương đã giúp hiệu suất tách chiết astaxanthin từ phế liệu cua tăng lên rõ rệt so với sử dụng đơn lẻ dầu hướng dương, đạt 90% lượng astaxanthin tổng số.
- Kết hợp thủy phân phế liệu cua bằng enzyme Alcalase, sau đó sử dụng dầu hướng dương đã tiết kiệm dung môi, rút ngắn thời gian tách chiết và giảm nhiệt độ tách chiết, góp phần giảm chi phí. Điều kiện thích hợp để tách chiết astaxanthin từ phế liệu cua sau khi xử lý bằng Alcalase là: tỷ lệ dung môi/phế liệu cua là 3/1 (v/w), thời gian tách chiết là 1,5h và nhiệt độ tách chiết là 50°C.
- Astaxanthin được tách chiết từ phế liệu cua thể hiện hoạt tính chống oxy hóa và tạo màu sắc cho cá koi tương đương so với astaxanthin thương mại.

3.2. Khuyến nghị

- Tiếp tục nghiên cứu nhằm tiết kiệm tối đa dung môi, thời gian và nhiệt độ tách chiết astaxanthin từ phế liệu cua và các loại phế liệu có astaxanthin khác.
- Nghiên cứu áp dụng quy trình tách chiết được nghiên cứu vào thực tiễn để tạo nguồn astaxanthin rẻ từ phế liệu cua.
- Thử nghiệm vai trò của astaxanthin tách chiết từ phế liệu cua trên nhiều đối tượng khác, từ đó sử dụng trong thực tiễn y dược và trong chăn nuôi.

E. Tài liệu tham khảo

1. Blois M.S. - Antioxidant determination by the use of a stable free radical - Nature, 181: 1199 – 1200 - 1958
2. Calo P. và cộng sự - Analysis of Astaxanthin and Other Carotenoids from Several *Phaffia-Rhodomyces* Mutants - Journal of Agricultural and Food Chemistry 43(5): 1396-1399 – 1995
3. Chen M. and Meyers P. - Extraction of Astaxanthin pigment from crawfish waste using a soy oil process - Journal of Food Science, 47: 892-896 - 2002
4. Goodwin T.W - The Biochemistry of Carotenoids, 2nd ed - Chapman & Hall, London, 64-96 - 1994
5. Higuera I., Valenzuela L. and Goycoolea M. - Astaxanthin: a review of its chemistry and applications - Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 46(2): 185-196 - 2006
6. Hoàng Thị Huệ An - *Nghiên cứu chiết xuất Astaxanthin từ phế liệu vỏ tôm* - Tạp chí Khoa học - Công nghệ thủy sản, 2004 98(1): 51 – 54 - 2004
7. Holanda H.D. and Netto F.M. - Recovery of components from shrimp processing waste by enzymatic hydrolysis - Journal of Food Science 71: 298-303 - 2006
8. Kang, D. and Sim J. - Direct extraction of Astaxanthin from *Haematococcus* culture using vegetable oils - Biotechnol Lett, 30(3): 441-444 - 2008

9. Lalita A., Lili W. and Pratiwy M. - The Effect of Differences in the Addition of Astaxanthin and Several Sources of Natural β -carotene in Increasing Color Intensity of Koi Fish (*Cyprinus carpio* L.) - Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research, 18(2): 38 – 47 - 2022
10. Liaset B, Nortvedt R., Lied E. and Espe M. - Studies on the nitrogen recovery in enzymic hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) frames by Protamex™ protease - Process Biochemistry 37: 1263-1269 – 2002
11. Martin H.D. - Anti and pro-oxidant properties of carotenoids - J. Prakt. Chem, 341: 302-308 - 1999
12. Meyers S.P. - Developments in world aquaculture, feed formulations, and role of carotenoids - Pure Applied Chemistry, 116, 1069-1076 - 2010
13. Miki W. - Biological Functions and Activities of Animal Carotenoids - Pure Appl Chem, 63(1): 141-146 - 1991
14. Shahidi F., Metusalach va J.A. Brown - Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture - Crit Rev Food Sci Nutr, 38(1): 1-67 – 1998
15. Nguyễn Hữu Dụng - Tận dụng phế liệu cua, Dự án cải thiện chất lượng và xuất khẩu thủy sản SEAQID - Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội - 2023
16. Nguyễn Thị Ngọc Hoài - Nghiên cứu trích ly astaxanthin từ phế liệu vỏ cua biển (*scylla paramamosain*) bằng dầu hướng dương - Chuyên san Phát triển Khoa học và Công nghệ số, 7: 40-46 - 2021
17. Nguyễn Việt Nam - Hiện Trạng và tiềm năng phát triển cá nước lạnh Việt Nam - Báo cáo tham luận tại Hội Thảo phát triển nuôi trồng thủy sản nước lạnh Việt Nam, 20/2012 – 2012
18. Ranga Rao AR, S.R. and Ravishankar GA - Stabilization of Astaxanthin in edible oils and its use as an antioxidant - J Sci Food Agr, 87(6): 957965 - 2007
19. Shahidi F. and Botan J. - Seafood: Chemistry, Processing Technology and Quality – Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality, 322 - 1999
20. Synowiecki and Al-Khateeb - The recovery of protein hydrosate during enzymatic isolation of Chitin from shrimp Crangon crangon processing discards - Food Chemistry, 68 (2), 147-152 – 2000
21. Tanaka T. - Chemoprevention of rat oral carcinogenesis by naturally occurring xanthophylls, Astaxanthin and canthaxanthin - Cancer Res, 55(18): 4059-4064 - 1995
22. Tổng Cục Thống kê - Niên giám thống kê Việt Nam - NXB Thống kê, Hà Nội - 2024
23. Trang Sĩ Trung, Phạm Thị Đan Phượng, Nguyễn Công Minh, và Ngô Thanh Linh - Kết hợp ử xi lô bằng axit formic để nâng cao hiệu quả qui trình sản xuất chitin từ phế liệu cua - Tạp chí Khoa học Công nghệ Thủy sản, 4, 31 – 38 - 2009
24. Trang Sĩ Trung, Nguyễn Anh Tuấn, Trần Thị Luyến và Nguyễn Thị Hằng Phương - Chitin-chitosan từ phế liệu thủy sản và ứng dụng - NXB Nông Nghiệp, Tp. Hồ Chí Minh - 2010
25. Trung T.S. and Phuong, P.T.D. - Bioactive compounds from by-products of shrimp processing industry in Vietnam - Journal of Food and Drug Analysis, 20 (1): 194-197 - 2012
26. Zagalsky P.F. and E.E. Eliopoulos. - Findlay, The lobster carapace carotenoprotein, alpha-crustacyanin. A possible role for tryptophan in the bathochromic spectral shift of protein-bound Astaxanthin - Biochem J, 274 (1): 79-83 – 1991

27. Stevens C. H., Croft D. P., Paull G. C. and Tyler C. R. - Stress and welfare in ornamental fishes: what can be learned from ? - J of Fish Biology, 49(2): 409 – 428 – 2017.