

NGHIÊN CỨU TẠO NANOCHITIN TỪ VỎ TÔM THẺ CHÂN TRẮNG THEO PHƯƠNG PHÁP THỦY PHÂN KẾT HỢP SIÊU ÂM HƯỚNG TỚI ỨNG DỤNG GIẢM MUỐI TRONG THỰC PHẨM

Nguyễn Thị Chà^{1,2,*}, Hồ Phú Hà¹, Nguyễn Tiến Thành¹, Đỗ Thị Yến¹

¹Trường Hóa và Khoa học Sự sống, Đại học Bách khoa Hà Nội.

²Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Kinh tế Kỹ thuật Công nghiệp

* Email: changuyenthi208@gmail.com

TÓM TẮT

Chitin từ vỏ tôm thẻ chân trắng là phụ phẩm thủy sản khó tan, nên ít được ứng dụng. Nanochitin là một đoạn mạch của chitin có kích thước nhỏ, phân bố tốt, vì vậy sử dụng nanochitin là hướng nghiên cứu hứa hẹn nhiều ứng dụng. Mục đích của nghiên cứu này là khảo sát và thử nghiệm các điều kiện thủy phân kết hợp với xử lý siêu âm, nhằm tạo ra sản phẩm có tiềm năng ứng dụng trong việc giảm hàm lượng muối khi chế biến thực phẩm. Nghiên cứu đã lựa chọn được phương án như sau: Chitin từ tôm thẻ chân trắng được thủy phân bằng dung dịch axit HCl 3,5 N ở nhiệt độ 90°C, tỷ lệ dung dịch axit/chitin 25/1, thời gian 150 phút. Sản phẩm sau thủy phân được làm sạch axit rồi siêu âm theo chế độ: Cường độ 86%, thời gian 36 phút, tỷ lệ dung môi/cơ chất là 68/1. Sau siêu âm, thu hồi nanochitin bằng phương pháp đông khô. Nanochitin thu được có kích thước trung bình 420 nm; độ hòa tan 67,62%, thế zeta 20,7 mV. Kết quả thế zeta của nanochitin giảm khi bổ sung dung dịch NaCl 0,03% đã chứng minh nanochitin có tương tác với ion Cl⁻. Sự tương tác này tạo ra khả năng tăng cảm nhận vị mặn cho dung dịch NaCl. Phương pháp đánh giá cảm quan cho thấy: Khi bổ sung nanochitin nồng độ 100 µg/ml đã làm tăng vị mặn cho dung dịch NaCl 0,65% ở mức khác nhau có nghĩa $\alpha = 5\%$. Kết quả này đã khẳng định tiềm năng ứng dụng nanochitin để giảm muối trong chế biến thực phẩm. Đồng thời mở ra hướng đóng góp quan trọng cho việc giảm muối trong khẩu phần ăn, giúp ngăn ngừa nguy cơ bệnh tim mạch cho người tiêu dùng.

Từ khóa: Nanochitin, hòa tan, siêu âm, đông khô, giảm mặn.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chitin là polysaccharide tồn tại rất nhiều trong tự nhiên chỉ sau cellulose. Chitin có nhiều trong vỏ tôm, cua, mai mực... Về mặt cấu trúc, chitin có dạng các “bó sợi”, gồm vùng tinh thể và vùng vô định hình xen lẫn nhau. Các vùng tinh thể bền, các vùng vô định hình kém bền và có thể hòa tan trong môi trường axit. Chitin có tính tương thích sinh học cao, có khả năng phân hủy sinh học, hấp phụ... Tuy nhiên, chitin không thể hòa tan hoặc phân tán trong nước nên khả năng ứng dụng rất hạn chế.

Nanochitin là một đoạn mạch của chitin, có hai dạng điển hình (dạng sợi, dạng tinh thể hình que),

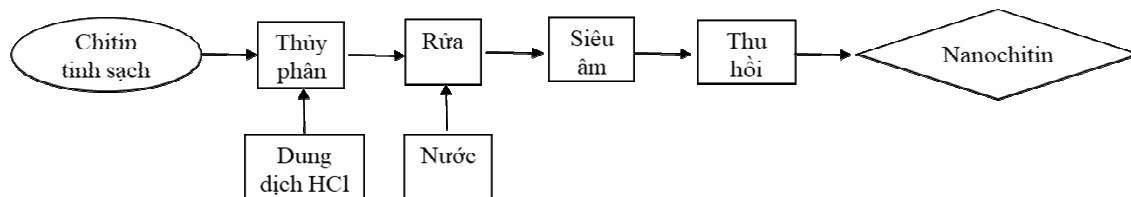
được tạo thành từ chitin. Với kích thước nanomet, nanochitin có những tính chất vượt trội so với chitin nguyên liệu như khả năng hòa tan cao, bề mặt mang điện tích. Những thay đổi này khiến nanochitin có nhiều ứng dụng hơn và được nhiều người quan tâm đến việc tạo ra nanochitin.

Nhiều phương pháp tạo nanochitin đã được quan tâm nghiên cứu: Phương pháp nghiền [1, 2], phương pháp đông hóa ở áp suất cao [3], oxy hóa trung gian [4, 5], phương pháp thủy phân [6, 7],...Tuy nhiên, các nghiên cứu đó phần lớn tập trung nghiên cứu kích thước của nanochitin, chưa nghiên cứu tác động của các yếu tố đến mức độ thủy phân, hiệu quả tạo nanochitin, chưa có sản

phẩm nanochitin được tạo ra từ chitin vỏ tôm thẻ chân trắng Việt Nam. Các tính chất của nanochitin như độ hòa tan, khả năng tương tác của nanochitin với ion trong dung dịch NaCl,...chưa được quan tâm nhiều, nên sẽ khó mở rộng ứng dụng [8].

Việt Nam có nguồn thủy hải sản thuộc loài giáp xác nhiều và phong phú. Công nghiệp chế biến và xuất khẩu thủy hải sản luôn kèm theo lượng lớn phụ phẩm có thành phần chính là chitin đang cần được chế biến, tận dụng. Hiện nay có rất ít nghiên cứu tạo nanochitin từ phế phẩm của các loài hải sản ở Việt Nam.

Nghiên cứu này là thử nghiệm các điều kiện thủy phân chitin bằng phương pháp axit kết hợp siêu âm để đưa ra chế độ phù hợp “cắt” nhỏ phân tử chitin đến kích thước cỡ nanomet, hướng tới ứng dụng giảm muối trong chế biến thực phẩm. Kết quả nghiên cứu có thể ứng dụng để tận dụng hiệu quả phế phẩm, góp phần nâng cao giá trị kinh tế cho thủy hải sản và giảm ô nhiễm môi trường.



Hình 1. Sơ đồ quy trình thí nghiệm tạo nanochitin.

+ *Khảo sát đơn yếu tố*

- Công đoạn thủy phân

Quá trình thủy phân khảo sát 4 yếu tố: Nhiệt độ, nồng độ HCl, thời gian thủy phân, tỷ lệ dung dịch axit/chitin. Trong đó, nhiệt độ khảo sát từ 60 - 100°C; nồng độ dung dịch HCl từ 1,5 - 4,5 N; thời gian thủy phân từ 30 - 210 phút; tỷ lệ dung dịch axit HCl /chitin từ 10 (10: 1) đến 40 (40: 1). Thời gian lắng của sản phẩm sau thủy phân là thông số dùng để đánh giá mức độ thủy phân. Sau mỗi lần khảo sát một thông số, giá trị cho thời gian lắng cao sẽ được chọn làm trị số cố định cho khảo sát thông số tiếp theo. Kết thúc quá trình, lựa chọn mẫu thủy phân, rửa sạch dung môi bằng nước cất để dùng làm nguyên liệu nghiên cứu công đoạn siêu âm.

- Công đoạn siêu âm

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chitin đã tinh sạch từ chitin vỏ tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) của Công ty Chế biến Thủy sản tại tỉnh Bình Thuận, có hàm lượng khoáng 0,42% và hàm lượng protein là 0,34%. Hóa chất sử dụng: Axit clohydric, natri carboxenat... thuộc loại tinh khiết dùng trong thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu tạo nanochitin

Nanochitin được tạo ra dựa theo quy trình tham khảo từ các nghiên cứu trước đây [6, 7, 9, 10] và thể hiện ở hình 1, chitin nguyên liệu nghiên thành bột có kích thước lọt rây 0,5 mm. Phối trộn bột với dung dịch xúc tác HCl theo tỷ lệ, nồng độ của mẫu thí nghiệm rồi thực hiện quá trình thủy phân. Sau khi thủy phân, rửa sạch mẫu và tiến hành siêu âm. Kết thúc siêu âm, mẫu được thu hồi bằng sấy đông khô. Trong quy trình này, tập trung nghiên cứu công đoạn thủy phân và siêu âm.

Quá trình siêu âm khảo sát 3 yếu tố: Cường độ siêu âm, thời gian siêu âm, tỷ lệ dung môi/cơ chất. Trong đó, cường độ siêu âm khảo sát từ 30 - 90% (cường độ siêu âm 100% tương ứng với công suất đầu ra 700 W); thời gian siêu âm từ 15 - 45 phút; tỷ lệ dung môi/cơ chất từ 20: 1 đến 80: 1. Kết thúc siêu âm, thu hồi sản phẩm bằng sấy đông khô. Phân tán sản phẩm trong nước cất theo tỷ lệ rồi xác định độ nhớt, độ hòa tan. Độ nhớt, độ hòa tan là 2 đại lượng đánh giá hiệu quả siêu âm. Kết quả khảo sát đơn yếu tố được dùng làm cơ sở để thực hiện quy hoạch thực nghiệm.

+ *Quy hoạch thực nghiệm và tối ưu công đoạn siêu âm*

Sử dụng quy hoạch bậc 2 mô hình Box-Behnken cho 3 yếu tố: Thời gian siêu âm (A), cường độ siêu âm (B), tỷ lệ dung môi/cơ chất (C).

Tối ưu chế độ siêu âm theo thuật toán "hàm mong đợi" được đưa ra bởi Derringer và Suich.

2.2.2. Nghiên cứu khả năng giảm muối của nanochitin

+ Nghiên cứu đánh giá tiềm năng tăng vị mặn của nanochitin

Để đánh giá tiềm năng tăng vị mặn của nanochitin, tiến hành chuẩn bị các dung dịch nanochitin ở nồng độ từ 50 - 250 µg/ml. Các mẫu này sẽ được bổ sung dung dịch NaCl và đo thế zeta của hỗn hợp dung dịch, mẫu đối chứng (chỉ có nanochitin). Sự chênh lệch thế zeta giữa mẫu đối chứng với mẫu chứa hỗn hợp dung dịch sẽ là cơ sở để đánh giá tiềm năng tăng vị mặn của nanochitin.

+ Nghiên cứu giảm muối trên dung dịch NaCl

- Dung dịch NaCl 0,65% được chuẩn bị. Mẫu đối chứng D₀ là dung dịch NaCl 0,65% (nồng độ nanochitin 0 µg/ml). Các mẫu thí nghiệm (D₁, D₂, D₃) là dung dịch NaCl 0,65% được bổ sung nanochitin nồng độ từ 100 - 200 µg/ml. Mẫu thí nghiệm và đối chứng được đánh giá vị mặn bằng cảm quan với phép thử so hàng. Từ kết quả phép thử sẽ xác định được nồng độ nanochitin có tác dụng tăng vị mặn cho dung dịch NaCl 0,65%.

2.3. Các phương pháp phân tích

- Xác định kích thước bằng phương pháp nhiễu xạ laser [11].

- Xác định độ nhớt bằng nhớt kế Ostwalt.

- Mô tả hình dạng nanochitin bằng sử dụng kính hiển vi điện tử phát xạ trường (FE-SEM) [12].

- Xác định độ hòa tan theo phương pháp của Naiu và cs (2020) [11].

- Xác định thế zeta bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động.

- Xác định thời gian lắng: Phần rắn để đo được phân tán bằng nước cất trong ống lắng. Hỗn hợp được để lắng tự nhiên ở nhiệt độ phòng và thời gian lắng được ghi lại sau khi hoàn thành quá trình [13].

- Đánh giá cảm quan bằng phép thử so hàng: Hội đồng gồm các chuyên gia phân tích thường xuyên đánh giá sản phẩm, được đào tạo để nâng cao khả năng nhận biết, phân biệt các tính chất

cảm quan của sản phẩm. Các thành viên hội đồng xếp hạng các mẫu theo thứ tự tăng dần của độ mặn: 1, 2, 3, 4 trong đó mẫu ít mặn nhất được xếp hạng là 1 và mẫu mặn nhất là 4. Kết quả xếp hạng được chuyển đổi thành điểm tương ứng dựa trên phương pháp của Fisher và Yates (1942): 1,03, 0,30, -0,30; -1,03. Sau đó, tiến hành phân tích phương sai, so sánh và đưa ra kết luận về mức độ mặn của các mẫu trong loạt mẫu thử [14].

- Phương pháp thống kê: Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu thí nghiệm được phân tích phương sai.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu tạo nanochitin

3.1.1. Ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến quá trình thủy phân và siêu âm chitin

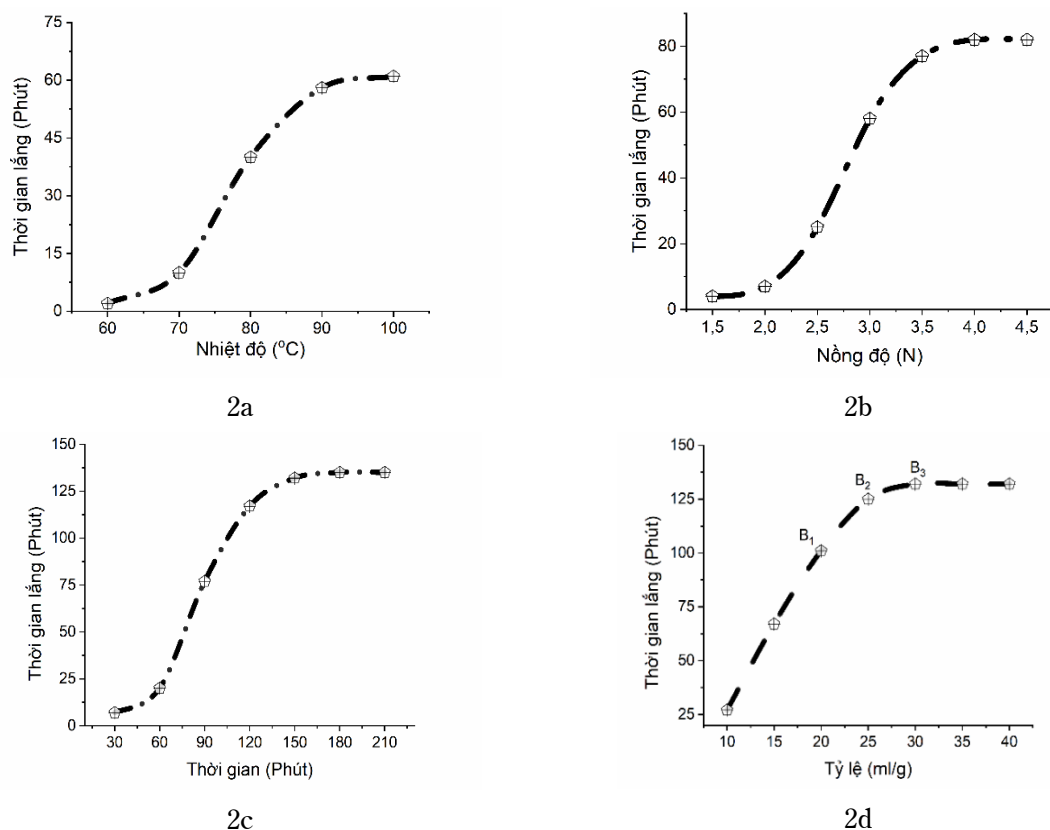
+ Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thủy phân

- Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian lắng của mẫu thủy phân cho thấy, trong khoảng giá trị khảo sát, thời gian lắng của mẫu tăng theo nhiệt độ thủy phân. Hiện tượng này xảy ra mạnh trong khoảng nhiệt độ từ 70 - 90°C. Sau đó, tiếp tục tăng nhiệt độ thì thời gian lắng của mẫu tăng rất ít (Hình 2a). Xét giá trị thời gian lắng, nghiên cứu lựa chọn nhiệt độ 90°C cho khảo sát tiếp theo.

- Nồng độ dung dịch axit HCl ảnh hưởng đến thời gian lắng của mẫu thủy phân

Trong khoảng nồng độ khảo sát (từ 1,5 - 4,5 N) khi nồng độ dung dịch axit tăng, theo đó thời gian lắng của mẫu thủy phân tăng. Quá trình này tăng mạnh trong khoảng nồng độ từ 2,0 - 3,5 N, tăng chậm lại trong khoảng 3,5 - 4 N, sau đó tăng không đáng kể khi nồng độ từ 4 - 4,5 N (Hình 2b). Vì vậy, nồng độ 3,5 N được lựa chọn cho khảo sát tiếp theo.

Kết quả mô tả trên đồ thị hình 2c cho thấy, thời gian lắng của mẫu tăng theo thời gian thủy phân. Hiện tượng này diễn ra mạnh trong khoảng thời gian từ 60 - 150 phút, đạt giá trị cao tại thời điểm thủy phân 150 phút. Sau đó, khi thời gian thủy phân từ 150 - 210 phút, thời gian lắng của mẫu tăng nhưng rất chậm. Căn cứ vào kết quả quá trình, nghiên cứu lựa chọn thời gian thủy phân là 150 phút cho các khảo sát tiếp theo.



Hình 2. Ảnh hưởng của các yếu tố thủy phân đến thời gian lắng mẫu thủy phân

a) Nhiệt độ; b) Nồng độ dung dịch HCl; c) Thời gian thủy phân; d) Tỷ lệ dung dịch axit/chitin

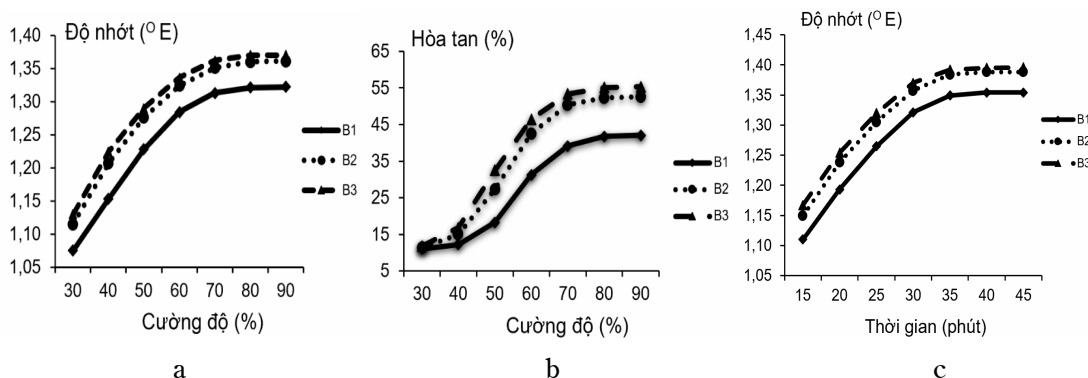
- Tỷ lệ dung dịch axit/chitin cũng ảnh hưởng đến thời gian lắng của mẫu thủy phân. Khi tỷ lệ dung dịch axit/chitin tăng từ 10: 1 đến 25: 1, thời gian lắng của mẫu tăng nhanh, đạt giá trị cao tại tỷ lệ 25: 1, sau đó thời gian lắng hầu như không tăng theo tỷ lệ nữa (Hình 2d).

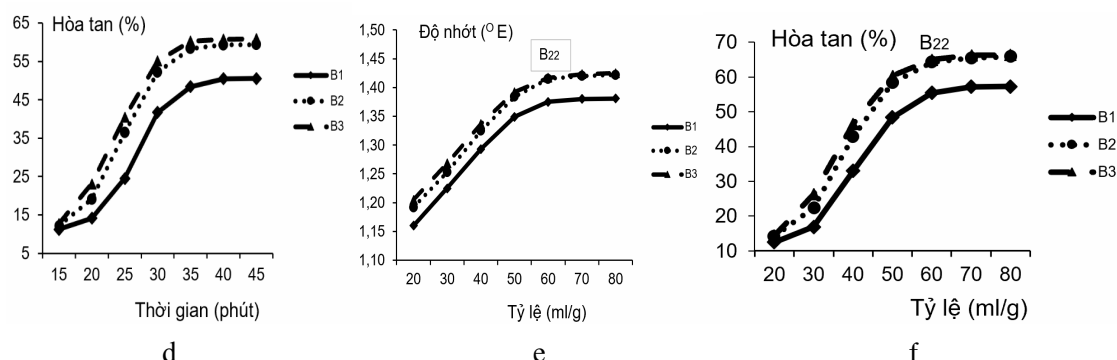
Từ kết quả khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thủy phân, nghiên cứu chọn 3 mẫu có giá trị thời gian lắng cao để khảo sát công đoạn siêu âm.

là các mẫu có nhiệt độ thủy phân, nồng độ HCl, thời gian thủy phân và tỷ lệ dung dịch axit/chitin lần lượt là mẫu B1 (90°C; 3,5 N, 150 phút, tỷ lệ 20: 1); mẫu B2 (90°C; 3,5 N, 150 phút, tỷ lệ 25: 1) và mẫu B3 (90°C; 3,5 N, 150 phút, tỷ lệ 30: 1).

+ Ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ đến công đoạn siêu âm

- Ảnh hưởng của cường độ siêu âm đến độ hòa tan, độ nhớt của sản phẩm.





Hình 3. Ảnh hưởng của các yếu tố siêu âm đến độ nhớt và độ hòa tan sản phẩm

(a-b). Cường độ siêu âm; (c-d). Thời gian; (e-f). Tỷ lệ dung môi/cơ chất

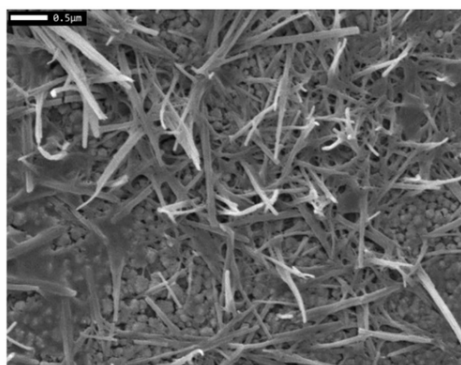
Kết quả mô tả trên đồ thị hình 3(a-b) cho thấy, trong khoảng giá trị nghiên cứu, độ hòa tan và độ nhớt của sản phẩm đều tăng theo cường độ siêu âm. Hiện tượng này xảy ra mạnh trong khoảng cường độ siêu âm từ 40 - 80%, sau đó chậm lại và gần như không tăng nữa. Căn cứ vào kết quả thực nghiệm, nghiên cứu lựa chọn cường độ siêu âm 80% cho nghiên cứu tiếp theo.

- Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến độ hòa tan, độ nhớt của sản phẩm.

Kết quả mô tả trên hình 3(c-d) cho thấy, trong khoảng giá trị khảo sát, độ hòa tan và độ nhớt của các mẫu tăng theo thời gian siêu âm. Hiện tượng tăng này diễn ra mạnh trong khoảng 15 - 35 phút, sau khoảng thời gian đó các đại lượng này tăng không đáng kể.

Căn cứ kết quả giá trị độ nhớt, độ hòa tan của các mẫu, nghiên cứu lựa chọn thời gian siêu âm là 35 phút cho các khảo sát tiếp theo.

- Ảnh hưởng tỷ lệ dung môi/cơ chất đến độ hòa tan, độ nhớt của sản phẩm



Hình 4. Ảnh FE-SEM nanochitin của mẫu B22, độ phóng đại 20.000 lần

Kết quả mô tả trên đồ thị hình 3(e-f) cho thấy, tỷ lệ dung môi/cơ chất tăng từ 20/1 đến 60/1, độ hòa tan, độ nhớt của các mẫu B1, B2, B3 tăng nhanh, đạt giá trị cao tại tỷ lệ 60/1. Sau đó tỷ lệ tăng thì độ nhớt, độ hòa tan tăng rất ít.

Kết quả khảo sát công đoạn siêu âm cho thấy, trong khoảng giá trị nghiên cứu, khi tăng các đại lượng cường độ siêu âm, thời gian, tỷ lệ dung môi/cơ chất.

Xét tính hiệu quả, nghiên cứu lựa chọn mẫu B2 có chế độ thủy phân và thời gian lắng là: 90°C; 3,5 N, 150 phút, tỷ lệ 25: 1; thời gian lắng là 125 phút. Trên loạt mẫu B2, chọn mẫu B₂₂ (1,416°E; 64,25%) có độ nhớt và độ hòa tan cao xác định một số đặc tính của sản phẩm. Kết quả như sau: Kích thước trung bình là 439 nm và hình dạng được mô tả ở hình 4.

Từ các đặc tính trên, cho thấy rằng sản phẩm tạo ra có dạng hình que, kích thước trong khoảng vật liệu nano. Vật liệu cũng có độ hòa tan cao (64,25%), phù hợp với mục tiêu giảm muối trong thực phẩm. Kết quả nghiên cứu có sự tương đồng với nhiều phát hiện đã từng công bố trước đây [7, 11]. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu có một số điểm tích cực hơn, đã xác định được rõ thông số của quá trình siêu âm (cường độ siêu âm, thời gian, tỷ lệ dung môi/cơ chất). Nghiên cứu cũng xác định được độ hòa tan, thế zeta của nanochitin sản phẩm. Những điểm này các nghiên cứu trước chưa công bố [10, 15].

Với phương pháp thủy phân kết hợp siêu âm, nghiên cứu cũng có được nhưng ưu thế nhất định. So với phương pháp đồng hóa áp suất cao [3],

nghiền cơ học [1, 2] thì phương pháp sử dụng thiết bị đơn giản, dễ vận hành. Sản phẩm tạo ra có kích thước nhỏ, độ hòa tan, thế zeta cao hơn. So với phương pháp oxy hóa trung gian [4, 5] thì hóa chất nghiền cứu sử dụng phổ biến, tiết kiệm chi phí và ít gây ô nhiễm hơn. Những điểm mới này cho thấy, kết quả nghiên cứu có tiềm năng ứng dụng vào thực tế.

3.1.2. Quy hoạch thực nghiệm và tối ưu hóa cho công đoạn siêu âm

Sử dụng quy hoạch Box-Behnken cho 3 yếu tố thời gian siêu âm (A), cường độ siêu âm (B) và tỷ lệ dung môi/cơ chất (C) với 17 thí nghiệm trong đó 5 thí nghiệm lặp tại tâm, hai hàm mục tiêu là độ nhớt Y_1 và độ hòa tan Y_2 . Kết quả được trình bày trong bảng 2.

Bảng 1. Giá trị mã hóa và thực nghiệm của các yếu tố thực nghiệm công đoạn siêu âm

Biến số	Ký hiệu	Đơn vị	Mức		
			Thấp -1	Trung bình 0	Cao 1
Thời gian siêu âm	A	phút	30	35	40
Cường độ siêu âm	B	%	70	80	90
Tỷ lệ dung môi/cơ chất	C	ml/g	50	60	70

Bảng 2. Ma trận thí nghiệm và kết quả công đoạn siêu âm

STT	Thời gian	Cường độ	Tỷ lệ	Độ nhớt	Độ hòa tan
1	35	80	60	1,418	64,35
2	35	70	70	1,410	62,91
3	35	70	50	1,376	56,00
4	30	80	70	1,386	58,96
5	40	80	50	1,388	59,30
6	35	90	50	1,385	58,66
7	35	80	60	1,416	64,27
8	35	80	60	1,416	64,25
9	40	70	60	1,410	62,90
10	35	90	70	1,423	66,11
11	40	90	60	1,422	65,70
12	30	70	60	1,373	55,30
13	35	80	60	1,417	64,30
14	30	80	50	1,358	52,20
15	40	80	70	1,430	67,00
16	35	80	60	1,415	64,18
17	30	90	60	1,383	58,24

Kết quả phân tích hồi quy cho hàm Y_1 , Y_2 .

Bảng 3. Kết quả phân tích hồi quy - Độ nhớt (Y_1)

Nguồn gốc	Phương sai	Chuẩn F	Giá trị P	
Mô hình	0,0008	951,13	< 0,0001	Thích hợp
A	0,0028	3279,09	< 0,0001	
B	0,0002	282,15	< 0,0001	
C	0,0025	2938,65	< 0,0001	
AB	1,000E-06	1,17	0,3160	
AC	0,0000	57,13	0,0001	
BC	4,000E-06	4,66	0,0677	

Nguồn gốc	Phương sai	Chuẩn F	Giá trị P	
A ²	0,0008	922,34	< 0,0001	
B ²	0,0001	159,90	< 0,0001	
C ²	0,0006	731,52	< 0,0001	
Không tương thích	3,333E-07	0,2665	0,8470	Không thích hợp

Bảng 4. Kết quả phân tích hồi quy - Độ hòa tan (Y₄)

Nguồn gốc	Phương sai	Chuẩn F	Giá trị P	
Mô hình	32,95	11733,31	< 0,0001	Thích hợp
A	113,99	40590,46	< 0,0001	
B	16,82	5989,24	< 0,0001	
C	103,84	36973,60	< 0,0001	
AB	0,0049	1,74	0,2281	
AC	0,2202	78,39	< 0,0001	
BC	0,0729	25,96	0,0014	
A ²	29,45	10487,41	< 0,0001	
B ²	5,00	1781,94	< 0,0001	
C ²	21,50	7656,37	< 0,0001	
Không tương thích	0,0013	0,3256	0,8082	Không thích hợp

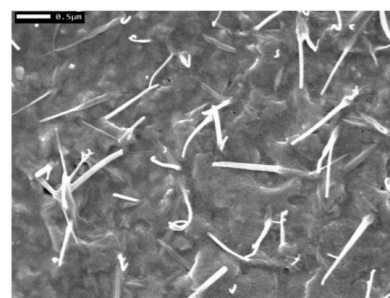
Kiểm tra sự có nghĩa của các hệ số và sự thích ứng của mô hình được tiến hành bằng phân tích hồi quy (Bảng 3, 4), giá trị F của 2 mô hình lần lượt là 951,13 (Y₁); 11733,31 (Y₂) cho thấy, mô hình hoàn toàn có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 99,99% (p < 0,0001).

Giá trị F cho sự không tương thích của mô hình Y₁ = 0,2665 (p = 0,8470); Y₂ = 0,3256 (p = 0,8082), thêm vào đó hệ số tương quan bội (R²) của 2 mô hình lần lượt là 0,9992; 0,9999 cho thấy mô hình mô phỏng đúng với thực nghiệm. Kết quả độ nhớt, độ hòa tan được biểu diễn bằng mô hình bậc 2 như sau:

$$Y_1 = 1,42 + 0,0187A + 0,0055B + 0,0177C + 0,0005AB + 0,0035AC + 0,001BC - 0,0137A^2 - 0,0057B^2 - 0,0112C^2 \quad (1)$$

$$Y_2 = 64,27 + 3,77A + 1,45B + 3,6C - 0,035AB + 0,2346AC + 0,135BC - 2,64A^2 - 1,09B^2 - 2,26C^2 \quad (2)$$

Tiến hành giải bài toán tối ưu bằng cách chấp mục tiêu theo thuật toán "hàm mong đợi". Tối ưu hóa bằng phần mềm Design - Expert 11.1 cho chế độ siêu âm được lựa chọn: Cường độ siêu âm 86%; thời gian 36 phút; tỷ lệ dung môi/cơ chất 68 ml/g. Phương án tối ưu đã được chứng minh bằng thực nghiệm.



Hình 5. Ảnh FE- SEM nanochitin của mẫu P, độ phóng đại 20.000 lần

Sản phẩm phương án tối ưu (ký hiệu mẫu P) được xác định hình dạng bằng ảnh FE-SEM (Hình 5) cho kết quả nanochitin có dạng hình que. Kích thước trung bình xác định theo phương pháp nhiễu xạ laser là 420 nm. Độ hòa tan 67,62%, thế zeta 20,7 mV (nồng độ 0,01%).

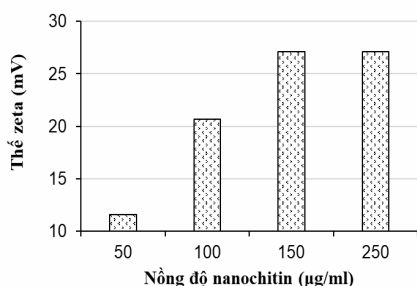
3.2. Nghiên cứu khả năng giảm muối của nanochitin

3.2.1. Xác định thế zeta của dung dịch nanochitin ở các nồng độ khác nhau

Các thí nghiệm xác định thế zeta của dung dịch nanochitin ở các nồng độ khác nhau được mô tả trên đồ thị hình 6a.

Kết quả mô tả trên đồ thị hình 6a cho thấy, trong khoảng giá trị nồng độ khảo sát, khi nồng độ

thấp, thế zeta rất nhỏ. Khi tăng nồng độ nanochitin thế zeta tăng lên. Từ nồng độ 100 - 250 $\mu\text{g/ml}$ zeta cao, tăng rất ít. Từ kết quả này, nghiên cứu chọn nồng độ 100 - 250 $\mu\text{g/ml}$ để nghiên cứu sự thay đổi thế zeta khi có mặt của NaCl trong dung dịch nanochitin.

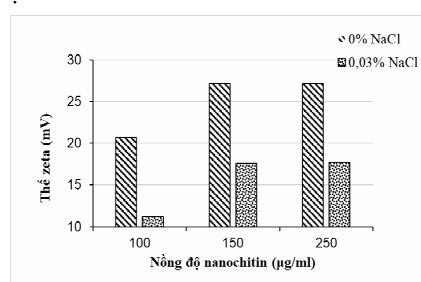


Hình 6a. Thế zeta của các dung dịch nanochitin ở nồng độ khác nhau

3.2.2. Xác định thế zeta của hỗn hợp dung dịch nanochitin và NaCl ở các nồng độ khác nhau

Để nghiên cứu sự thay đổi zeta khi thêm NaCl vào dung dịch nanochitin, các dung dịch nanochitin nguyên chất và dung dịch nanochitin có bổ sung NaCl được xác định thế zeta. Kết quả mô tả trên đồ thị hình 6b.

Kết quả mô tả ở hình 6b cho thấy, khi thêm NaCl vào dung dịch nanochitin, thế zeta của hỗn hợp giảm so với dung dịch nanochitin ban đầu. Điều này cho thấy, nanochitin có tương tác với ion Cl^- . Khi nanochitin tương tác với ion Cl^- sẽ khiến các ion Na^+ trong dung dịch trở nên linh động hơn, "tự do" hơn. Điều này sẽ khiến cơ hội để ion Na^+ tiếp xúc với cơ quan vị giác được nhiều hơn. Sự tương tác của Na^+ lại là tác động chính trong quá trình cảm nhận vị mặn của vị giác. Kết quả là nanochitin có khả năng tăng vị mặn cho dung dịch NaCl.



Hình 6b. Thế zeta của hỗn hợp nanochitin và dung dịch muối ở các nồng độ khác nhau

3.2.3. Xác định ngưỡng tăng cảm nhận vị mặn của nanochitin

Bảng 5. Thứ tự xếp hàng của các mẫu

Thành viên	Mẫu D ₀ (Dung dịch NaCl 0,65%)	Mẫu D ₁ (Dung dịch NaCl 0,65% + 100 $\mu\text{g/ml}$ nanochitin)	Mẫu D ₂ (Dung dịch NaCl 0,65% + 150 $\mu\text{g/ml}$ nanochitin)	Mẫu D ₃ (Dung dịch NaCl 0,65% + 200 $\mu\text{g/ml}$ nanochitin)
1	2	1	3	4
2	2	1	4	3
3	1	2	4	3
4	2	1	3	4
5	1	2	3	4
6	1	2	3	4
7	2	1	4	3
8	1	2	3	4
Tổng	12	12	27	29

Các mẫu thí nghiệm (D₁, D₂, D₃) là dung dịch NaCl có bổ sung nanochitin và mẫu đối chứng (D₀) được chuẩn bị. Đánh giá các mẫu theo mức độ mặn: Mẫu nhạt nhất xếp vị trí 1, mẫu mặn nhất xếp vị trí 4, kết quả được thể hiện ở bảng 5.

Kết quả bảng 5 cho thấy, mẫu D₀ và D₁ có giá trị nhỏ nhất, ngang nhau; mẫu D₂ lớn hơn và mẫu D₃ lớn nhất.

Để xác định độ mặn của các mẫu hơn kém nhau ở mức có nghĩa, cần tiến hành phân tích thống kê. Cụ thể, từ bảng thứ tự xếp hàng của các mẫu, chuyển đổi sang bảng điểm quy ước theo phương pháp của Fisher và Yates [14]: Vị trí số 1 là 1,03; vị trí số 2 là 0,30; vị trí số 3 là -0,30 và vị trí số 4 là -1,03. Tiến hành phân tích phương sai, kết quả được thể hiện trong bảng 6.

Bảng 6. Mức độ mặn của các mẫu

Mẫu	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃
Trung bình	0,66 ^a	0,66 ^a	-0,57 ^b	-0,76 ^b

Các mẫu có số mũ ký hiệu khác nhau biểu thị sự khác nhau có nghĩa ở mức $\alpha=5\%$

Bảng 6 mô tả mẫu D₀, D₁ giống nhau. Mẫu D₂, D₃ không khác nhau ở mức ý nghĩa $\alpha=5\%$. Kết quả này cho thấy, với dung dịch NaCl 0,65% khi bổ sung 100 $\mu\text{g/ml}$ nanochitin chưa thấy tác dụng tăng vị mặn. Tăng nồng độ nanochitin lên 150 $\mu\text{g/ml}$ thì xác định thấy rõ vị mặn tăng lên. Tiếp tục tăng nồng độ nanochitin đến 200 $\mu\text{g/ml}$ thì tác dụng tăng vị mặn cũng không hơn nồng độ 150 $\mu\text{g/ml}$. Điều này cho thấy, 150 $\mu\text{g/ml}$ là nồng độ phù hợp để sử dụng cho việc cải thiện vị mặn cho dung dịch NaCl. Phát hiện khả năng tăng cảm nhận vị mặn của nanochitin có sự tương đồng với một vài nghiên cứu đã công bố [8, 15, 16]. Tuy nhiên trong nghiên cứu khả năng tăng vị mặn được xác định tại nồng độ 0,65% NaCl, là nồng độ phổ biến trong thực phẩm. So với công bố của Jiang và cs (2017), Tsai và cs (2019) [8, 15], nghiên cứu tại nồng độ NaCl 0,3%, kết quả nghiên cứu này có ý nghĩa thực tiễn hơn, khả năng ứng dụng vào chế biến thực phẩm để giảm muối là cao hơn.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu khẳng định chitin tinh sạch từ vỏ tôm thẻ chân trắng có thể chuyển hóa thành nanochitin bằng phương pháp thủy phân kết hợp siêu âm. Sản phẩm thu được có kích thước nhỏ, độ hòa tan cao và khả năng tăng cảm nhận vị mặn khi bổ sung vào dung dịch muối, qua đó cho thấy tiềm năng ứng dụng trong việc giảm hàm lượng muối khi chế biến thực phẩm, phù hợp với mục đích nghiên cứu đã đề ra. Để hoàn thiện, mở rộng ứng dụng, các nghiên cứu tiếp theo nên tập trung đánh giá sâu hơn về tính an toàn, cơ chế tăng cảm nhận vị mặn, hiệu quả giảm muối trong các loại thực phẩm cụ thể, cũng như nghiên cứu thử nghiệm quy mô pilot và thương mại hóa sản phẩm nanochitin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ifuku S., Nogi M., Abe K., Yoshioka M., Morimoto M., Saimoto H., Yano H. (2009). Preparation of chitin nanofibers with a uniform width as α -chitin from crab shells. *Biomacromolecules*, 10(6), 1584 - 1588.
2. Ifuku S., Nomura R., Morimoto M., Saimoto H. (2011). Preparation of chitin nanofibers from mushrooms. *Materials*, 4(8), 1417 - 1425.
3. Salaberria A. M., Fernandes S. C., Diaz R. H., Labidi J. (2015). Processing of α -chitin nanofibers by dynamic high pressure homogenization: Characterization and antifungal activity against *A. niger*. *Carbohydrate Polymers*, 116, 286 - 291.
4. Fan Y., Saito T., Isogai A. (2009). TEMPO-mediated oxidation of β -chitin to prepare individual nanofibrils. *Carbohydrate Polymers*, 77(4), 832 - 838.
5. Jiang J., Ye W., Yu J., Fan Y., Ono Y., Saito T., Isogai A. (2018). Chitin nanocrystals prepared by oxidation of α -chitin using the O2/laccase/TEMPO system. *Carbohydrate Polymer*, 189, 178 - 183.
6. Gopalan Nair K., Dufresne A. (2003). Crab shell chitin whisker reinforced natural rubber nanocomposites. 1. Processing and swelling behavior. *Biomacromolecules*, 4(3), 657 - 665.
7. Lu Y., Weng L., Zhang L. (2004). Morphology and properties of soy protein isolate thermoplastics reinforced with chitin whiskers. *Biomacromolecules*, 5(3), 1046 - 1051.
8. Jiang W. J., Tsai M. L., Liu T. J. L. (2017). Chitin nanofiber as a promising candidate for improved salty taste. 75, 65 - 71.
9. Revol J. F., Marchessault R. (1993). In vitro chiral nematic ordering of chitin crystallites. *International Journal of Biological Macromolecules*, 15(6), 329 - 335.
10. Jung H. S., Kim M. H., Park W. H., Engineering (2019). Preparation and structural investigation of novel β -chitin nanocrystals from cuttlefish bone. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 5(4), 1744 - 1752.
11. Naiu A. S., Berhimpion S., Montolalu R. I., Kawung N. J., Suptijah P. (2020). The effect of HCl-

thermal pressure hydrolysis and high-speed destruction of chitin on particle size distribution and functional group of nano-chitin compound. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 8(1), 197 - 205.

12. Fan Y., Saito T., Isogai A. (2010). Individual chitin nano-whiskers prepared from partially deacetylated α -chitin by fibril surface cationization. *Carbohydrate Polymers*, 79(4), 1046 - 1051.

13. Bin N. (2004). *Các quá trình, thiết bị trong công nghệ hóa chất và thực phẩm*. Nxb Khoa học và Kỹ thuật. 1 - 317.

14. Hà Duyên Tư (2006). *Kỹ thuật phân tích cảm quan thực phẩm*. Nxb Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội. 1 - 144.

15. Tsai W. C., Wang S. T., Chang K. L. B., Tsai M. L. (2019). Enhancing saltiness perception using chitin nanomaterials. *Polymers*, 11(4), 719.

16. Somsak P., Sriwattana S., Prinyawiwatkul W., Technology (2021). Ultrasonic-assisted chitin nanoparticle and its application as saltiness enhancer. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(2), 608 - 617.

PRODUCTION OF NANOCHITIN FROM WHITELEG SHRIMP SHELLS VIA ACID HYDROLYSIS COMBINED WITH ULTRASONICATION FOR SALT REDUCTION APPLICATIONS IN FOOD

Nguyen Thi Cha^{1,2}, Ho Phu Ha¹, Nguyen Tien Thanh¹, Do Thi Yen¹

¹ *School of Biotechnology and Food Technology, Hanoi University of Science and Technology*

² *Faculty of Food Technology, University of Economics - Technology for Industries*

Abstract

Chitin sourced from white-leg shrimp shell waste presents low water solubility, restricting its incorporation into applied systems. However, transforming chitin into a nanoscale form enhances its dispersion behavior and functional performance, expanding its potential applications. This study focused on establishing conditions for acid-assisted hydrolysis coupled with ultrasonication to produce nanochitin to support sodium reduction in food systems. In the optimised procedure, shrimp shell chitin was hydrolyzed using 3.5 N HCl at 90°C with an acid-to-chitin ratio of 25: 1 (mL/g) for 150 minutes. The hydrolysate was then neutralized and subjected to ultrasonication at 86% amplitude for 36 minutes, applying a solvent-to-substrate ratio of 68:1. The final product was collected by freeze-drying. Characterization showed an average particle size of 420 nm, solubility of 67.62%, and a zeta potential of 20.7 mV. When 0.03% NaCl was introduced, a notable decrease in zeta potential was recorded, suggesting an interaction between nanochitin and chloride ions. This ionic association is believed to enhance saltiness perception. Sensory testing indicated that nanochitin at 100 μ g/mL significantly intensified the taste of salt in a 0.65% NaCl solution ($p < 0.05$). The findings underline nanochitin's potential role in reducing sodium levels in food without compromising flavor, contributing to healthier dietary strategies, and supporting cardiovascular health.

Keywords: *Nanochitin, solubility, ultrasound, freeze-drying, salt reduction.*

Ngày nhận bài: 15/5/2025

Ngày chuyển phản biện: 27/5/2025

Ngày thông qua phản biện: 12/6/2025

Ngày duyệt đăng: 30/6/2025