

NGHIÊN CỨU TẠO MÀNG VỎ BỌC CHITOSAN TỪ VỎ TÔM VÀ ỨNG DỤNG BẢO QUẢN THỦY SẢN

RESEARCHING THE PROCESS TO PRODUCE CHITOSAN MEMBRANE FROM SHRIMP SHELL
AND APPLYING CHITOSAN MEMBRANE IN COSERVATION OF FISHERIES

Bùi Văn Miên, Nguyễn Anh Trinh

Khoa Công nghệ Thực phẩm, Đại học Nông Lâm Tp. HCM

Tel: 08-8963340; 8974002, E-mail: buimien@yahoo.com

SUMMARY

Chitin that is a natural organic constituent has had high exchange value. The derivative of chitin is specially chitosan, which has had many applications on light industry, food, agriculture, medicine, and comestic... Makingsausaage casing; chitosan (3%) and 10% of mixed additives of PEG and EG (ratio1:1) are dissolved in a aqueous acetic acid solution, the acetic acid concentration of the solution is 1.5%. The solutions are used to make sausage casing for 35 minutes at 64 - 65°C. Conservation fisheries: chitosanis dissolved in an aqueous acetic acid solution at a concentration of 2%, the acetic acid concentration of the solution is 1.5%. The solution is used to cover the raw fish to reduce loss of weight during freezing from 2 to 3 times and the dried fish products to expand time of conservation.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Chitin là một polysaccharid có mặt trong thiên nhiên nhiều nhất chỉ sau cellulose. Nó có trong vỏ các loài giáp xác, màng tế bào nấm thuộc họ Zygomycetes, trong sinh khối nấm mốc, một vài loại tảo... Chitosan chính là sản phẩm biến tính của chitin. Việc nghiên cứu rộng rãi những bao bì có tính năng vừa sử dụng như thực phẩm vừa không ảnh hưởng đến môi trường từ Chitin có sẵn, có những đặc tính sinh học quý giá có ý nghĩa rất lớn.

Ở nước ta tôm đông lạnh chiếm sản lượng lớn nhất trong số các sản phẩm đông lạnh. Chính vì vậy vỏ tôm phế liệu là nguồn nguyên liệu tự nhiên dồi dào, rẻ tiền có sẵn quanh năm cho việc sản xuất chitin và chitosan ở nước ta. Nhờ vào những đặc tính sinh học quý giá chitosan được ứng dụng nhiều trong lĩnh vực y học, xử lý nước, công nghiệp nhuộm, giấy, mỹ phẩm, thực phẩm...

Việc bảo quản các loại thực phẩm tươi sống giàu đạm, dễ hư hỏng như thịt cá... Trong điều kiện khí hậu nóng ẩm của nước ta là một trong những vấn đề đã và đang được quan tâm của các nhà sản xuất, chế biến và của các nhà khoa học công nghệ.

MỤC TIÊU

- Nghiên cứu ứng dụng tạo màng chitosan làm vỏ bọc xúc xích
- Nghiên cứu tạo màng Chitizan bảo quản các sản phẩm thủy sản. Ở dạng tươi và khô

PHƯƠNG PHÁP

Phương tiện

Dụng cụ và thiết bị

Bình định mức, pipette, ống đong 500ml, bếp điện, nhiệt kế.

Máy sấy, tủ nung, tủ cấp đông Vestfrost, máy đo lực (PENETROMETTER), máy đo độ dày Mega – Check, dụng cụ tạo vỏ bọc.

Hóa chất

Acetic acid, Polyethylen Glycol (PEG), Ethylen Glycol (EG), Glycerin.

Nguyên liệu

Chitosan, cá nục tươi, cá khô lưỡi trâu, mực khô

Nội dung và phương pháp tiến hành

Xác định chất lượng chitosan: Xác định độ deacetyl hóa của chitosan. Xác định hàm lượng tro. Xác định ẩm độ: bằng phương pháp sấy khô. Xác định hàm lượng đạm tổng số bằng phương pháp Kjeldahl.

Thí nghiệm xác định chất phụ gia, tỷ lệ phụ gia sử dụng, Xác định thời gian tạo vỏ bọc

Bảo quản thủy sản bằng màng chitosan cho: cá nục ở dạng nguyên con và dạng fillet. Cá khô và mực khô.

Sử dụng máy đo PENETROMETER để đo lực phá vỡ màng

Sử dụng máy Mega – check để đo độ dày màng.

Phương pháp xử lý số liệu: bằng chương trình STATGRAPHIC 7.0.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Công nghệ sản xuất chitosan

Công nghệ sản xuất chitosan dựa trên nguyên tắc loại bỏ muối calcium, protein và các tạp chất khác trong vỏ tôm.

Sơ đồ:

Vỏ tôm → xử lý → vỏ tôm sạch → loại khoáng và tách protein → chitin → deacetyl hoá → chitosan

Nguyên liệu mà chúng tôi sử dụng là chitosan có các thông số kỹ thuật sau: màu: trắng ngà; không mùi; Độ deacetyl hóa: 87,2%; ẩm độ: 11,6%.

Tính chất của chitosan

Chitosan là một chất rắn, xốp, nhẹ, hình vảy, có thể xay nhỏ theo các kích cỡ khác nhau. Có màu trắng hay vàng nhạt, không mùi vị, không tan trong nước, dung dịch kiềm và acid đậm đặc nhưng tan trong acid loãng (pH 6-6,6) tạo dung dịch keo trong, có khả năng tạo màng tốt, nhiệt độ nóng chảy 309°C – 311°C. Trọng lượng phân tử trung bình: 10.000 - 500.000 dalton tùy loại.

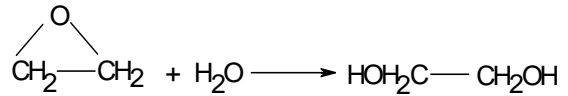
Chitosan là một polyamine nó được xem như một polymer cationic có khả năng cho các ion kim loại nặng bám chặt vào các bề mặt điện tích âm và tạo ra phức chất với kim loại và kết tủa; Nhờ vào những biến đổi của nhóm OH qua phân tử copolymer và khả năng tạo phản ứng của nhóm –NH₂. Trên mỗi mắt xích của phân tử chitosan có ba nhóm chức, các nhóm chức này có khả năng kết hợp với chất khác để tạo ra các dẫn xuất có lợi khác nhau của chitosan (O-acylchitosan, N-acetyl chitosan, N-phatylchitosan...).

Thí nghiệm, ứng dụng tạo màng chitosan

Thí nghiệm chọn phụ gia

- Các chất phụ gia: Để cải thiện chất lượng màng, người ta sử dụng thêm các chất phụ gia khác nhau nhưng có cùng bản chất hóa học. Thường các chất hoá dẻo được sử dụng nhằm làm tăng tính dẻo dai và đàn hồi của màng. Ví dụ như: ethylen glycol (EG), polyethylen glycol (PEG), glycerin...

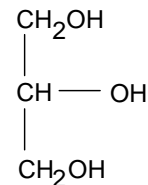
+ Ethylen Glycol (EG): công thức hóa học (HOH₂C – CH₂OH). Được tạo ra từ quá trình hydrat hóa ethylene oxide dưới tác động của nhiệt độ (200 – 300°C).



EG không màu, không mùi, ở dạng dung dịch, có vị ngọt, không độc, được sử dụng làm chất hóa dẻo, có khả năng hòa tan trong các dung môi hữu cơ và là chất trung gian trong các sản phẩm như keo, nhựa thông.

Polyethylen Glycol: không màu, không mùi và có vị ngọt, được tạo ra trong quá trình trùng ngưng ethylen glycol (HOH₂C – CH₂OH)_n. Đây là một trong những tác nhân tạo nhũ tốt, có khả năng giữ ẩm và duy trì độ nhớt.

Glycerin: công thức hóa học



Là chất không màu, không mùi, có vị ngọt và ở dạng lỏng. Glycerin tan trong nước và một số alcohol. Glycerin được sử dụng trong công nghiệp dược và thực phẩm; là một tác nhân giữ ẩm quan trọng. Nó được thêm vào nhằm làm cho sản phẩm không bị khô quá nhanh và tạo nhũ trong thực phẩm. Nó làm cho màng mềm dẻo và dễ sử dụng. Vì vậy tốc độ bốc hơi nước phải được điều chỉnh hợp lý bằng cách thay đổi nhiệt độ, tốc độ chuyển dịch và trao đổi không khí, thay đổi độ nhớt và nồng độ chitosan trong dung dịch, kể cả các chất phụ gia. Khi thay đổi các thông số này ta sẽ thu được màng có cấu trúc và tính chất khác nhau.

Pha dung dịch chitosan 3% trong dung dịch acetic acid 1,5%. Sau đó bổ sung chất phụ gia với tỷ lệ thích hợp (10%) và trộn đều. Để yên một lúc để loại bọt khí.

Lấy 50 g dung dịch trên quét lên ống inox (Ø = 25 mm) đã được làm nóng liên tục ở 64°C – 65°C. Để vỏ khô trong vòng 35 phút rồi tháo ra đem đo chỉ tiêu.

Bảng 1. Ảnh hưởng của phụ gia khác nhau

Phụ gia Chỉ tiêu	Glycerin	EG	PEG	PEG - EG	Không phụ gia
Lực(kG/cm ²)	1,80	5,47	3,60	6,86	1,66
Độ dày(μm)	104,1	46,2	59,2	52,6	129,1

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ phụ gia khác nhau

C% Chỉ tiêu	5	10	15	20	25
Lực phá vỡ (kG/cm ²)	5,81	6,76	2,91	2,78	2,38
Độ dày (μm)	45,2	52,6	60,4	72,0	79,3

Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian làm khô vỏ

Thời gian (phút) Chỉ tiêu	25	30	35	40	45
Lực phá vỡ (kG/cm ²)	5,11	5,58	6,84	5,26	5,16
Khối lượng (g)	2,39	1,92	1,88	1,62	1,26
Độ dày (μm)	75,8	55,7	52,6	47,5	36,0

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu 1 yếu tố hoàn toàn ngẫu nhiên và được lặp lại 3 lần cho một nghiệm thức.

Qua bảng 1 thấy rằng giữa các loại phụ gia sử dụng khác nhau cho một loại vỏ bọc có chất lượng và bề mặt khác nhau. Với hỗn hợp phụ gia PEG - EG, vỏ bọc tạo ra có lực phá vỡ lớn nhất (6,86 kG/cm²); kế đến là EG (5,47 kG/cm²) và thấp nhất là mẫu không sử dụng phụ gia (1,66 kG/cm²).

Vỏ bọc tạo ra có màu vàng ngà, dẻo, dai, tương đối chắc, không có mùi vị lạ, bề mặt láng và có thể dòn lại.

Xác định nồng độ phụ gia sử dụng

Với hỗn hợp phụ gia EG và PEG, ta tiến hành xác định nồng độ phụ gia.

Trộn phụ gia vào dung dịch chitosan 3% đã pha với các nồng độ khác nhau: 5%, 10%, 15%, 20%, 25% với hỗn hợp PEG - EG tỷ lệ 1:1.

Lấy 50 g dung dịch đã pha quét lên ống inox (Ø = 25 mm), nhiệt độ 64°C – 65°C và. Để vỏ khô trong vòng 35 phút rồi tháo ra đem đo chỉ tiêu.

Bảng 2 ta thấy ở nồng độ 10%, 35 phút là thời gian đủ để cung cấp năng lượng để hình thành các mối liên kết, đồng thời loại bỏ bớt nước giúp cho vỏ có độ khô thích hợp, dẻo và dai. Ở nồng độ phụ gia này lực phá vỡ là lớn nhất 6,76 kG/cm². Lực

phá vỡ giảm dần từ nồng độ 10% đến nồng độ 25% (6.76 kG/cm² đến 2.38 kG/cm²). Qua xử lý thống kê cho thấy sự khác biệt về mặt thống kê với $p < 0,05$ ở các mẫu: (5% và 10%, 15%, 20%, 25%); (10% và 15%, 20%, 25%); (15% và 20%).

Điều này cho thấy hỗn hợp EG + PEG liên kết với chitosan có khả năng giữ ẩm tốt. Đồng thời lúc này xảy ra quá trình giãn mạch từ từ, các liên kết được sắp xếp lại và hình thành liên kết mới glycol-chitosan; ngoài ra còn có liên kết gián tiếp thông qua phân tử nước tạo cầu nối hydro. Khi gia nhiệt sẽ không xảy ra hiện tượng mất nước đột ngột và cục bộ, giúp dung dịch phủ đều trên thành ống.

Kết quả cho thấy ở nồng độ phụ gia khác nhau vỏ tạo ra cũng có độ dày khác nhau, và sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê. Trắc nghiệm LSD cho thấy có sự khác biệt về độ dày đối với các nhóm: (5% và 15%, 20%, 25%); (10% và 20%, 25%); (15% và 20%) ở mức $p < 0,05$. Qua bảng 2 ta thấy nồng độ phụ gia càng cao thì độ dày của vỏ càng cao (từ 45,2 đến 79,3 μm)

Qua thí nghiệm cho ta thấy, với phụ gia PEG - EG 10% làm khô ở nhiệt độ 64°C – 65°C trong 35 phút là tốt nhất.

Xác định thời gian tạo vỏ bọc

Chọn phụ gia PEG - EG 10% so với dung dịch chitosan 3% đã pha. Tiến hành tạo vỏ bọc và theo dõi thời gian khô vỏ (Bảng 3).

Kết quả về xử lý thống kê:

Khối lượng theo từng thời gian là có ý nghĩa về mặt thống kê: (25 và 30, 35, 40, 45 phút); (30 và 40, 45 phút) với $p < 0,05$.

Độ dày theo từng thời gian là có ý nghĩa với $p < 0,05$: (25 và 30, 35, 40, 45 phút); (30 và 45 phút).

Giữa các thời gian (30 và 35, 40 phút); (35 và 40 phút) đối với chỉ tiêu độ dày là không có sự khác biệt.

Khi thời gian càng kéo dài ở cùng một nhiệt độ thì vỏ càng khô và mỏng do mất nước nhiều, các phân tử chitosan xích lại gần nhau dần thành một lớp đơn phân trở nên giòn dễ gãy. Lúc này các mối liên kết bị phá vỡ tạo những kết cấu không bền cục bộ, nước bốc hơi quá mức.

Ứng dụng vỏ bọc vào quá trình nhồi xúc xích

Vỏ bọc tạo ra được sử dụng để nhồi xúc xích chiều dài 460 mm, đường kính 25 mm, màu vàng ngà, không mùi vị, hơi đục. Tạo hỗn hợp để nhồi. Cho hỗn hợp nguyên liệu xúc xích vào máy nhồi quay tay và nhồi vào vỏ bọc.

Với áp lực của máy nhồi tay, vỏ bọc không bị nứt, có thể cột ở hai đầu. Vỏ bọc bám sát vào nguyên liệu bên trong tạo hình xúc xích.

Dem thanh trùng xúc xích ở nhiệt độ 80°C. Sau 20 phút thì vỏ chưa bị nứt. Tiếp tục thanh trùng, sau 25 phút thì vỏ bị nứt hoàn toàn.

Xúc xích sau khi nấu có hình dáng đẹp, bề mặt hơi nhăn nhưng thể hiện được một phần màu của nguyên liệu bên trong và không làm mất mùi đặc trưng của xúc xích.

Quy trình tạo màng vỏ bọc

Chitosan được nghiền nhỏ bằng máy nhằm mục đích làm gia tăng bề mặt tiếp xúc giữa chitosan và dung môi acetic acid. Lấy chitosan này đem pha dung dịch chitosan 3% trong dung dịch acetic acid 1,5% cho chitosan phân tán trong dung dịch acetic acid loãng. Khuấy đều rồi để yên dung dịch đã pha khoảng 5 phút để loại bớt bọt khí. Sau đó đem dung dịch quét đều lên ống inox ($\varnothing = 25\text{mm}$) đã được nâng nhiệt đến 64 -65^o (ống inox được nâng nhiệt bằng hơi nước nóng đun sôi). Để khô vỏ trong vòng 35 phút rồi tách vỏ. Lúc này ta được vỏ xúc xích bóng có màu vàng ngà, không mùi vị.

Ứng dụng trong bảo quản thủy sản

** Đối với cá tươi*

Cá mua về sau khi xử lý (lấy ruột, mang, để nguyên con hay fillet... rửa) và để thật ráo rồi đem cân. Nhúng cá đã xử lý vào dung dịch chitosan được pha sẵn ở các nồng độ: 0,5%; 1%; 1,5%; 2%; 2,5% và mẫu đối chứng. Để cá ráo trong tủ mát khoảng 10 phút giúp màng chitosan được định hình, sau đó đem cân lại. Đưa cá vào tủ cấp đông chậm ở nhiệt độ -25°C trong vòng 18 tiếng, lấy cá ra cân lại và xác định phần trăm hao hụt trọng lượng (Bảng 4, 5).

Bố trí thí nghiệm theo kiểu một yếu tố hoàn toàn ngẫu nhiên và được lặp lại 6 lần.

Cá là nguyên liệu có cơ lỏng lẻo, nhiều nước. Trong quá trình cấp đông chậm ($t^0 = - 25^{\circ}\text{C}$) sẽ xảy ra hiện tượng mất nước, làm cho trọng lượng của cá giảm. Do môi trường trong tủ cấp đông là không khí lạnh và khô, nước khuếch tán từ cơ thịt cá ra bề mặt của cá và từ bề mặt của cá ra môi trường bên ngoài. Để khắc phục hiện tượng này, việc sử dụng màng chitosan bao phủ bề mặt của cá là có hiệu quả.

Theo kết quả xử lý thống kê cho thấy sự khác biệt về phần trăm hao hụt trọng lượng cá cấp đông sau 18 giờ là có ý nghĩa về mặt thống kê. Ở nồng độ 0,5% và mẫu đối chứng ta thấy không có sự khác biệt; mẫu 0,5% và 1% cũng không có sự khác biệt về % hao hụt trọng lượng. Điều này cho thấy, với nồng độ chitosan thấp sẽ tạo màng kém, dẫn đến khả năng ngăn cản sự hao hụt trọng lượng giảm. So với mẫu đối chứng, mẫu 1%; 1,5%; 2%; 2,5% có sự khác biệt có ý nghĩa ở mức xác suất $p < 0,05$. Thí nghiệm cho thấy nồng độ chitosan ảnh hưởng đến hao hụt trọng lượng trong quá trình cấp đông và trung bình phần trăm hao hụt cao nhất là ở mẫu đối chứng (1,98%), thấp nhất là ở mẫu 2,5% (0,94%).

Sau khi cấp đông ta tiến hành rã đông để đánh giá mùi vị. Cho cá vào nước, nấu chín rồi tiến hành kiểm tra mùi vị. Chúng tôi nhận thấy, dung dịch chitosan không làm thay đổi mùi vị của sản phẩm.

** Đối với thủy sản khô*

Thực hiện thí nghiệm đối với cá khô lưỡi trâu và mực khô. Pha dung dịch chitosan 2% trong dung dịch acetic acid 1,5%. Nhúng cá và mực có ẩm độ khác nhau vào dung dịch được pha, làm khô bằng cách sấy ở nhiệt độ 30°C có quạt gió. Theo dõi thời gian bảo quản của cá và mực ở điều kiện nhiệt độ bình thường, không bao gói. Cứ 24 giờ theo dõi mẫu một lần. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên theo kiểu 2 yếu tố và được lặp lại 3 lần cho mỗi nghiệm thức.

Bảng 4. Hao hụt trọng lượng của cá nguyên con trong quá trình cấp đông (%)

C% Lặp lại	0	0,5	1	1,5	2	2,5
1	2,23	1,74	1,33	1,29	0,53	1,14
2	2,05	1,86	1,4	1,16	1,05	0,47
3	1,96	2,01	1,59	1,28	1,36	1,08
4	1,73	2,16	1,42	1,42	1,47	1,12
5	1,75	1,62	1,60	1,43	1,27	0,97
6	2,19	2,07	1,47	1,59	1,09	0,87
Trung bình	1,98	1,91	1,46	1,36	1,12	0,94

Bảng 5. Hao hụt trọng lượng của cá fillet trong quá trình cấp đông (%)

C% Lặp lại	0	0,5	1	1,5	2	2,5
1	4,05	2,04	1,96	2,04	1,07	1,50
2	3,37	2,08	2,04	2,02	1,05	1,53
3	3,50	2,45	2,16	1,73	1,61	1,32
4	3,82	2,55	2,07	1,90	1,57	1,24
5	3,80	2,32	2,15	1,93	1,74	1,54
6	3,65	2,36	2,18	2,02	1,93	1,66
Trung bình	3,69	2,30	2,09	1,94	1,49	1,46

Bảng 6. Ngày hư sớm nhất đối với cá khô và mực khô (ngày)

Ấm độ(%)	26 – 30		36 - 40		31 - 35		41 - 45	
Mẫu	A	B	A	B	A	B	A	B
Cá	83	-	11	23	17	28	8	17
Mực	85	-	12	30	12	22	8	19

A: Mẫu đối chứng; B: Mẫu phủ màng

* Cá khô

Qua bảng 6 ta thấy ở các mẫu đối chứng thời gian bảo quản ngắn hơn so với các mẫu xử lý bằng màng. Ta nhận thấy ẩm độ càng cao thời gian bảo quản càng ngắn. Cá ở ẩm độ 26-30% có màng bao phủ có thể bảo quản trên 130 ngày gấp 1,5 lần mẫu đối chứng (chỉ bảo quản được 83 ngày). Ở ẩm độ cao hơn 40-45% thời gian bảo quản đối với mẫu có xử lý là 17 ngày gấp 2 lần so với mẫu không xử lý.

* Đối với mực khô

- Đối với sản phẩm khô mực cũng cho kết quả tương tự khô cá: ẩm độ càng cao thời gian bảo quản càng rút ngắn và mẫu xử lý cho phép bảo quản được lâu hơn mẫu không xử lý. Nhưng tùy chất lượng cũng như bản chất của từng sản phẩm mà thời gian bảo quản khác nhau.

Ở ẩm độ 26-30% có xử lý màng bảo quản trên 130 ngày và ở ẩm độ 41-45% bảo quản được 19 ngày. Qua đó ta thấy việc xử lý màng cho sản phẩm khô là có hiệu quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

PHẠM ĐÌNH CƯỜNG và ĐỖ ĐÌNH RẰNG, 2000. *Xác định hàm lượng Chitin của vỏ một số loài thủy sản ở Việt Nam và chuyển hóa thành Glucosamine*. HH và CNHC, số 7: 26-30.

PHẠM HỮU ĐIỂN và cộng sự, 1997. *Nghiên cứu sử dụng Chitosan trong nông nghiệp và bảo quản thực phẩm*. Tạp chí Hóa học, 35(3): 75-78.

MAI XUÂN TỊNH, 2001. *Điều chế Chitin / Chitosan từ vỏ tôm phế thải*. HH & CNHC, 4(69):17-19.

LÊ NGỌC TÚ và cộng sự, 2001. *Hóa học thực phẩm*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.

AKIRA ITO, MAKOTO SATO, TOMOTOSHI ANMA, 1997. Permeability Of CO_2 Through Chitosan Membrane Swollen By Water Vapor In Feed Gas. *Die Angewandte Makromolekulare Chemie*, 248(4329): 85-94.

L.YANG.W.W.HSIAO.P.CHEN, 2002. *Chitosan – Cellulose Composite Membrane For Affinity Purification Of Biopolymers And Imunoabsorption*. *Journal Of Membrane Science*, 197(2002):185-197.