



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0003120

(51) **A23L 2/00**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2020-00449

(22) 10/09/2020

(45) 27/03/2023 420

(43) 25/11/2020 392A

(73) Công ty Cổ phần Thương mại và Dịch vụ Quốc tế Hengpokhan (VN)

Số nhà 17, đường Phạm Kinh Vỹ, phường Bến Thủy, thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An

(72) Nguyễn Hải Minh (VN); Trần Quốc Thành (VN).

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT NƯỚC UỐNG LÊN MEN TỪ CỦ RỄ CÂY MÚ TỪN
(ROUREA OLIGOPHLEBIA MERR. RADIX.)

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất nước uống lên men từ củ rễ cây Mú Tùn (*Rourea oligophlebia* Merr. Radix.) để bồi bổ sức khỏe, hỗ trợ tiêu hóa. Quy trình theo giải pháp hữu ích sử dụng vi sinh vật từ men vi sinh và sữa chua để lên men và chiết thành phần có lợi trong cây Mú Tùn tạo ra đồ uống lên men có màu sắc đẹp, có khả năng bồi bổ sức khỏe, tăng cường sinh lực. Dịch lên men từ củ rễ cây Mú Tùn có khả năng phối hợp được với nhiều loại dịch chiết thảo dược khác để tạo ra đồ uống tăng cường sức khỏe đáp ứng được đa dạng nhu cầu người tiêu dùng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực thực phẩm chức năng, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất nước uống lên men từ củ rễ cây Mú Tùn (*Rourea oligophlebia* Merr. Radix.) giúp bồi bổ sức khỏe, tăng cường sinh lực. Ngoài ra, giải pháp hữu ích còn đề cập đến nước uống lên men thu được từ quy trình theo giải pháp hữu ích.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Trong y học cổ truyền người Dao, cây Mú Tùn, còn được gọi là Cù Boong Nậu hay dây lửa ít gân, đã được sử dụng để chữa đau lưng, chấn thương (gãy xương), kháng sinh, cầm máu, xoa bóp, thuốc kích thích và tráng dương, có thể điều chế thành thuốc chữa sốt rét, bồi bổ và tăng cường sức khỏe. Đặc biệt cây Mú Tùn còn được biết đến như một loài giúp tăng cường sinh lý nam giới, bổ thận tráng dương. Với thành phần hóa học đa dạng và có giá trị cao, tác dụng của cây mú тұн giúp hỗ trợ điều trị các bệnh về sinh lý ở nam giới như yếu sinh lý, liệt dương, xuất tinh sớm, di mộng tinh, rối loạn cương dương, tăng cường sinh lực, bổ thận tráng dương, kích thích nhu cầu tình dục, giảm mệt mỏi và kéo dài thời gian quan hệ, tăng ham muốn ở cả nam lẫn nữ giới, tăng cường khả năng sinh sản và chữa bệnh hiếm muộn.

Tuy nhiên, từ trước tới nay việc chế biến củ Mú Tùn chỉ dừng lại ở việc ngâm rượu, bằng cách thu hái và ngâm với rượu trong khoảng từ 90 - 100 ngày thì sử dụng. Rượu ngâm củ Mú Tùn có màu đỏ đẹp mắt và vị hơi chát. Tuy nhiên, theo khuyến cáo, mỗi ngày chỉ uống từ 1 đến 3 ly rượu nhỏ, tốt nhất là khoảng 65ml cho mỗi lần uống và kiên trì sử dụng ít nhất 1 tuần sẽ đạt hiệu quả cao và không nên dùng quá 2 tháng vì gây hại cho thận. Bảo quản bình rượu ở nơi khô ráo, thoáng mát và nhiệt độ thích hợp nhất khoảng 25 độ C. Đồng thời, tránh nơi ẩm mốc, bụi bặm và ánh nắng trực tiếp của mặt trời. Thông thường nên dùng dưới 50 gram một ngày trong hai tuần rồi lại nghỉ.

Một cách dùng khác là sắc nước uống, dùng khoảng 30g thân rễ khô hoặc 50g thân rễ tươi rửa sạch sắc với 1,5 lít nước sắc đến khi còn khoảng 1 lít nước, chắt ra bát và uống thay nước hàng ngày. Bên cạnh đó, có thể kết hợp cùng sam cau, sâm đất sẽ mang đến hương vị thơm ngon, mà còn tăng hiệu quả điều trị bệnh.

Theo kinh nghiệm của người Dao, củ Mú Tùn có vị hơi chát và tính bình, không được sử dụng quá liều lượng chỉ định vì có thể gây ra tác dụng phụ ảnh hưởng đến sức khỏe và tổn hại sinh lực, không sử dụng cho những thanh niên dưới 20 tuổi.

Đã có một số nghiên cứu cho thấy thành phần hóa học củ cây Cù Boong Nậu có 30 hợp chất được xác định chiếm 91,7% tổng lượng tinh dầu. Trong đó các hoạt chất tốt cho sức khỏe như nerolidol, neral, 3- β -myrcen, 4- spathoulenol có tác dụng kháng viêm, giảm đau, phòng chống viêm loét dạ dày, an thần, giãn cơ, chống oxy hóa. Các thành phần này còn có tác dụng tăng tuần hoàn máu giúp phục hồi sức khỏe cho phụ nữ. Ngoài công dụng chính của cây mú tùn là giúp tăng cường sinh lý nam giới, hỗ trợ điều trị liệt dương, còn được dùng để bổ trợ nâng cao sinh lý cho cả nam giới và nữ giới.

Một số công bố về nghiên cứu sơ bộ thành phần hóa học của rễ cây Mú Tùn cho thấy sự có mặt của các nhóm chất flavonoid, coumarin, anthranoid, phytosteroid, chất béo, đường khử, axit hữu cơ và axit amin. Ngoài ra, từ cao ethanol 80% chiết từ rễ cây Mú Tùn, có 5 hợp chất đã được phân lập gồm: β -sitosterol, coumarin, 4',5,7-trimethoxyflavon, daucosterol và chrysophanol là những chất có tác dụng sinh học mạnh đặc biệt là khả năng chống viêm, giảm đau, chống oxy hóa, khống chế đường máu, bảo vệ gan, tác dụng lên thận, gan, tế bào ung thư, giảm huyết áp, tác động lên thần kinh trung ương, kháng sinh, kháng khuẩn, nấm, kích thích tình dục. Các hợp chất như friedanol có tác dụng hạ sốt, giảm đau, kích thích tình dục.

Tuy nhiên, trong các nghiên cứu cũng đã chỉ ra rằng, loại rễ củ này có spathoulenol ($C_{15}H_{24}O$) có thể gây tổn thương thận, liều lượng 50mg/kg thể trọng không có ảnh hưởng đối với người, khi sử dụng dưới nồng độ cho phép không gây ngộ độc cho cơ thể. Nhưng khi sử dụng với nồng độ cao thì lại gây tổn hại thận. Hợp chất này được chiết ra dễ dàng khi ngâm củ Mú Tùn với rượu, do đó đây là một tác dụng phụ tiềm ẩn khi sử dụng củ rễ cây Mú Tùn với rượu.

Việc sử dụng các lợi khuẩn, ví dụ như sữa chua hoặc các lợi khuẩn có khả năng tạo ra axit lactic có lợi cho hệ tiêu hóa. Đặc biệt các nghiên cứu cho thấy, khi sử dụng các lợi khuẩn sinh axit lactic, chúng không chỉ có tác dụng hỗ trợ tiêu hóa mà còn ức chế, kìm hãm tốt vi sinh vật gây hại có trong hệ tiêu hóa.

Hiện sản phẩm mật ong lên men đang được ưa thích do khả năng giảm căng thẳng mệt mỏi, có lợi cho đường tiêu hóa. Việc kết hợp giữa mật ong với vi sinh vật

sản sinh axit lactic cho phép bảo vệ, tăng cường được hệ tiêu hóa, cải thiện sức khỏe. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu ứng dụng mật ong lên men kết hợp vi sinh vật lợi khuẩn kết hợp với thảo dược giúp để tạo ra sản phẩm tăng cường sức khỏe. Việc tìm ra giải pháp kết hợp giữa mật ong, lợi khuẩn và thảo dược vẫn chưa được đề cập. Ngoài ra, cần hạn chế tác dụng phụ của rễ củ cây Mú Tùn, nên cần có một phương pháp cải tiến nhằm chế biến, sản xuất ra loại đồ uống không gây độc, bồi bổ sức khỏe, tăng cường sinh lực và dễ sử dụng.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Giải pháp hữu ích nhằm giải quyết các vấn đề nêu trên, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất nước uống lên men từ củ rễ cây Mú Tùn (*Rourea oligophlebia* Merr. Radix.) và nước uống lên men thu được từ quy trình theo giải pháp để tăng cường sức khỏe. Giải pháp hữu ích nhằm cung cấp quy trình sản xuất và một loại nước uống lên men có khả năng bồi bổ sức khỏe, tăng cường sinh lực, đáp ứng nhu cầu đa dạng cho người tiêu dùng. Trên cơ sở lên men bởi vi sinh vật trong điều kiện môi trường mật ong được điều chỉnh pH thấp, giải pháp cho phép thu được sản phẩm dịch lên men có khả năng phối trộn với nhiều loại dịch chiết từ thảo dược khác để phát triển nước uống bồi bổ sức khỏe, tăng cường sinh lực cho người sử dụng.

Quy trình sản xuất nước uống lên men từ củ rễ cây Mú Tùn (*Rourea oligophlebia* Merr. Radix.) theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước:

a) chuẩn bị nguyên liệu bằng cách thu hái củ rễ tươi của cây Mú Tùn (*Rourea oligophlebia* Merr. Radix.), chẻ đôi, thái lát mỏng và phơi trong bóng râm đến khi hàm ẩm khoảng 10%, thu được nguyên liệu củ rễ cây Mú Tùn khô;

b) chuẩn bị mật ong lên men bằng cách bổ sung 5% dấm táo vào mật ong và trộn đều, sữa chua lên men được bổ sung 10% men vi sinh được chọn từ nhóm bao gồm *Bacillus clausii*, *Lactobacillus sporogene*, *Lactobacillus acidophilus*, *Sacchromyces cerevisiae* và trộn đều rồi bổ sung tỷ lệ 10% vào mật ong đã được phối trộn với dấm táo, tiến hành khuấy trộn đều để lên men trong khoảng từ 6 đến 12 giờ ở khoảng từ 20 đến 25°C thu được mật ong lên men;

c) lên men nguyên liệu củ Mú Tùn bằng cách chuyển nguyên liệu củ Mú Tùn khô vào bình lên men, tiếp đó bổ sung lượng mật ong lên men theo tỷ lệ 1/10 (trọng

lượng/thể tích), và giữ trong điều kiện nhiệt độ khoảng từ 20 đến 25°C trong thời gian 30 ngày để lên men nguyên liệu của Mú Tùn; và

d) thu nước uống lên men bằng cách lọc thu dịch lên men nguyên liệu củ rễ cây Mú Tùn, tiếp đó phối trộn với dịch chiết từ thảo dược theo tỷ lệ từ 20 đến 80% theo thể tích, sau khi tiệt trùng bằng siêu âm, gia nhiệt đến 121°C trong 5 phút rồi làm nguội thu được nước uống lên men từ củ rễ cây Mú Tùn.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó dịch chiết từ thảo dược được chọn từ nhóm bao gồm sâm Puxalaileng (*Panax vietnamensis* var.), nhân sâm (*Panax ginseng*), đảng sâm (*Codonopsis* spp.), sâm cau (*Curculigo orchoides*), sâm đất (*Boerhaavia diffusa*), sâm Bồ Chính (*Hibiscus sagittifolius*), sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*), đương quy (*Angelica sinensis*), sâm quy đá (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels), tam thất (*Panax pseudoginseng*), nấm ngọc cẩu (*Cynomorium songaricum* Rupr), nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*), nấm lim xanh (*Ganoderma lucidum* Karst), đông trùng hạ thảo (*Ophiocordyceps sinensis*), ba kích (*Gynochthodes officinalis*), dâm dương hoắc (*Epimedium macranthum*), chuối hột (*Musa balbisiana*), hà thủ ô (*Fallopia multiflora*), đinh lăng (*Polyscias fruticosa*), cây mật gấu (*Vernonia amygdalina*), rễ cây mật nhân (*Eurycoma longifolia*), rễ cây chùm ngây (*Moringa oleifera*) hoặc hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó nước uống lên men thu được theo quy trình theo giải pháp còn được pha với nước và theo tỷ lệ từ 10 đến 15% thể tích thu được nước uống giải khát.

Theo khía cạnh thứ hai, giải pháp hữu ích đề cập đến nước uống lên men từ củ rễ cây Mú Tùn (*Rourea oligophlebia* Merr. Radix.) thu được từ quy trình theo giải pháp hữu ích, trong đó nước uống này dùng để bồi bổ sức khỏe, tăng cường sinh lực. Nước uống này có độ Brix nằm trong khoảng từ 4 đến 15%, màu đỏ sáng, có vị ngọt.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích được mô tả chi tiết với các phương án thực hiện cụ thể, tuy nhiên, các phương án thực hiện cụ thể này chỉ nhằm minh họa để hiểu rõ bản chất của giải pháp hữu ích chứ không nhằm giới hạn phạm vi yêu cầu bảo hộ của giải pháp hữu ích.

Củ rễ cây Mú Tùn là phần thân rễ thu được từ cây Mú Tùn, cây Mú Tùn còn có tên gọi là Cù Boong Nậu hay còn gọi là dây lửa ít gân có tên khoa học là *Rourea oligophlebia* Merr. Radix. thuộc họ dây khế (Connaraceae). Cây Mú Tùn dài từ 6 đến 20m. Cành non có nhiều lông mềm từ 0,5 đến 1mm, lá kép, có từ 7 đến 19 lá phụ phiến xoan, mọc gần đối, dài từ 4 đến 10 cm, rộng từ 2 đến 5 cm, chóp lá tà, mũi lõm, đáy bất xứng. Mặt dưới có nhiều lông, gân phụ từ 3 đến 4 cặp. Hoa mọc ở nách lá, cụm hoa cao từ 2 đến 7cm, cây ít hoa. Cây Mú Tùn thường mọc ở các nơi rừng sâu, vùng núi hoặc kẽ núi đá cao và tập trung nhiều nhất ở các tỉnh phía Bắc của Việt Nam. Cây Mú Tùn được thu hái quanh năm, bộ phận sử dụng là rễ của cây được sử dụng làm thuốc. Trong y học cổ truyền, rễ cây Mú Tùn được đào về, rửa sạch, chẻ hoặc thái thành lát mỏng. Người dân tộc Dao ở miền tây Nghệ An sử dụng rễ cây ngâm rượu để chữa đau lưng, điều trị gãy xương, cầm máu, thuốc kích thích và tráng dương, giảm mệt mỏi, kéo dài quan hệ, tăng ham muốn cả ở nam giới và nữ giới, chữa hiếm muộn. Mặc dù vậy, rễ cây Mú Tùn thường chỉ được ngâm rượu để tăng cường sức khỏe nam giới, tăng tuần hoàn máu. Cây Mú Tùn có vị chát, tính bình, Tuy nhiên, những nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng, trong cây Mú Tùn có lượng Spathoulenol có khả năng gây tổn thương thận.

Thành phần sử dụng để sản xuất nước uống lên men từ rễ cây Mú Tùn (*Rourea oligophlebia* Merr. Radix.) theo giải pháp hữu ích là củ rễ cây Mú Tùn. Củ rễ cây được khai thác, tốt nhất được sử dụng ở dạng củ tươi, tránh gây dập nát vỏ củ, giảm chất lượng nguyên liệu.

Các nguyên liệu khác như mật ong, sữa chua, dấm táo là những thành phần nguyên liệu có bán trên thị trường. Các chủng men vi sinh, ví dụ *Bacillus clausii*, *Lactobacillus sporogene*, *Lactobacillus acidophilus*, *Sacchromyces cerevisiae* là những chủng được lựa chọn theo khả năng sinh trưởng của chúng trong điều kiện pH thấp, khoảng pH=5 và trong điều kiện nồng độ đường cao. Các chủng này có thể phân lập hoặc mua được trên thị trường ở dưới dạng các chế phẩm vi sinh thương mại.

Quy trình sản xuất nước uống lên men từ củ rễ cây Mú Tùn (*Rourea oligophlebia* Merr. Radix.) bao gồm các bước: a) chuẩn bị nguyên liệu; b) chuẩn bị mật ong lên men; c) lên men nguyên liệu của Mú Tùn; và d) thu nước uống lên men.

Trong bước chuẩn bị nguyên liệu, tiến hành thu hái củ rễ tươi của cây Mú Tùn (*Rourea oligophlebia* Merr. Radix.). Củ rễ của cây có màu đỏ, phần lớp thịt mềm và phần lõi cứng. Thành phần các hoạt chất chứng minh chủ yếu nằm ở phần lớp thịt mềm. Sau khi thu hái, rửa sạch. Tiến hành chẻ đôi và thái thành lát mỏng. Quá trình này tránh làm dập nát phần thịt của thân rễ cây. Tiếp đó phơi trong bóng râm đến khi hàm ẩm khoảng 10%. Quá trình này nhằm giúp bảo quản được nguyên liệu và giữ được thành phần tinh dầu có trong củ rễ cây Mú Tùn. Sau khi phơi, thu được nguyên liệu khô, thơm mùi đặc trưng.

Để lên men, vi khuẩn lên men, sử dụng mật ong và vi sinh vật lợi khuẩn. Mật ong được sử dụng đóng vai trò chất bảo quản và chất điều chỉnh môi trường lên men. Trong mật ong chứa đường, chất kháng sinh giúp ngăn chặn sự tạp nhiễm từ bên ngoài. Mật ong cũng có tác dụng kìm hãm sự phát triển của vi sinh vật được sử dụng giúp quá trình lên men, làm giảm tốc độ lên men, khiến quá trình lên men xảy ra trong thời gian đủ dài để có thể vừa lên men, vừa chiết xuất được thành phần mong muốn có trong rễ cây nguyên liệu.

Theo đó, trong bước chuẩn bị mật ong lên men, tiến hành bổ sung 5% dấm táo vào mật ong và trộn đều. Việc sử dụng dấm táo nhằm hạ pH của về pH= 5, giúp thuận lợi cho quá trình lên men. Ngoài ra, khi sử dụng dấm táo, một lượng nước và axit axetic có trong dấm táo sẽ tạo môi trường cho vi sinh vật phát triển về sau. Quá trình này nhằm thu được một phức hệ giúp tăng cường sự thẩm thấu của mật ong vào trong nguyên liệu.

Cần lưu ý rằng, có thể sử dụng dấm gạo hoặc dấm ăn bất kỳ, tuy nhiên, bằng thực nghiệm, các tác giả thấy rằng, khi sử dụng dấm táo, sản phẩm thu được có mùi thơm tốt hơn, điều này có thể do dấm táo sẽ tạo ra phức hệ mùi tốt, thơm hơn khi sử dụng các loại dấm khác.

Để lên men, tiến hành sử dụng sữa chua lên men làm thành phần vi sinh để lên men nguyên liệu. Thực tế, quá trình lên men nguyên liệu ở đây không thực sự xảy ra mà quá trình lên men thực hiện bởi vi khuẩn có trong sữa chua và các chủng vi sinh có trong men vi sinh bổ sung. Quá trình lên men sữa bởi vi sinh vật tạo ra môi trường ưu sinh với các thành phần, ví dụ, axit lactic và các chất trung gian trong quá trình lên men sẽ giúp cho việc chiết xuất củ rễ cây Mú Tùn được hiệu quả. Theo đó, sữa chua

được bổ sung 10% men vi sinh để tăng cường khả năng phát triển. Các chủng vi sinh được sử dụng để lên men được chọn từ nhóm bao gồm *Bacillus clausii*, *Lactobacillus sporogene*, *Lactobacillus acidophilus*, *Sacchromyces cerevisiae*. Các chủng này có thể sử dụng ở dạng bào tử hoặc ở dạng hoạt động và ở dạng bột hoặc ở dạng chế phẩm tùy ý, nhưng tốt hơn là ở dạng bột. Tiến hành trộn đều men vi sinh với sữa chua nhằm kích thích vi sinh vật phát triển. Tiếp đó bổ sung tỷ lệ 10% vào mật ong đã được phối trộn với dấm táo thu được ở trên. Tiến hành khuấy trộn đều để lên men trong khoảng từ 6 đến 12 giờ ở khoảng từ 20 đến 25°C thu được mật ong lên men.

Quá trình lên men mật ong trước khi lên men nguyên liệu nhằm tạo bước đầu phân cắt và giảm sức căng bề mặt của mật ong. Các vi sinh vật bổ sung sẽ phân cắt, và một phần, sẽ tồn tại ở dạng bị kim hãm, từ đó giải phóng các phân tử phân cắt mạch ngắn, cho phép tạo ra mùi và cho phép mật ong thẩm thấu có hiệu quả vào trong nguyên liệu.

Trong bước lên men nguyên liệu củ Mú Tồn, tiến hành chuyển nguyên liệu củ Mú Tồn khô vào bình lên men. Tiếp đó, bổ sung lượng mật ong lên men theo tỷ lệ 1/10 (trọng lượng/thể tích), và giữ trong điều kiện nhiệt độ khoảng từ 20 đến 25°C. Thời gian lên men 30 ngày để lên men nguyên liệu củ Mú Tồn. Quá trình này, dưới tác dụng của vi sinh vật có trong mật ong lên men, chúng giảm sức căng bề mặt của mật ong, cùng với pH = 5, việc chiết nguyên liệu sẽ được thực hiện hiệu quả hơn.

Cần lưu ý rằng, theo quy trình thông thường, quá trình ngâm chiết bằng dung môi, ví dụ etanol, thì theo kinh nghiệm dân gian, thường được khuyến cáo ngâm ít nhất 3 tháng, tốt hơn nữa là 1 năm. Quá trình này ban đầu sẽ chiết triệt để các thành phần có trong thân rễ cây Mú Tồn, khi đó, nếu sử dụng, sẽ gây ra tác dụng phụ, cụ thể là gây hại thận. Tuy nhiên, sau khi hạ thổ, quá trình này nhằm ổn nhiệt cho bình ngâm thì sẽ xảy ra giai đoạn phân giải các chất có kích thước phân tử lớn, giúp trong dần dịch ngâm. Khi này sử dụng sẽ giảm thiểu được tác dụng phụ.

Giải pháp nhằm thúc đẩy quá trình này, cụ thể các hợp chất phân tử lớn được vi sinh vật thúc đẩy tiến trình phân cắt, đồng thời dưới tác dụng của môi trường axit, một lượng chất thơm sẽ kết hợp, tạo ra mùi thơm. Điều này có lợi là rút ngắn được thời gian chiết, đồng thời phân giải lượng lớn các thành phần gây tác dụng phụ.

Theo đó, việc bổ sung vi sinh vật, cụ thể là sử dụng trực tiếp sữa chua lên men làm môi trường dẫn và bổ sung vi sinh vật được chọn từ nhóm bao gồm *Bacillus clausii*, *Lactobacillus sporogene*, *Lactobacillus acidophilus*, *Sacchromyces cerevisiae* giúp quá trình chiết nhanh chóng, có hiệu quả vượt trội, có khả năng thu được dịch lên men đáp ứng yêu cầu sử dụng trong thực phẩm.

Trong bước thu nước uống lên men, tiến hành lọc thu dịch lên men nguyên liệu củ rễ cây Mú Tùn. Các phương pháp lọc là các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể thực hiện được bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Sau khi thu được dịch lên men nguyên liệu, có thể lọc để loại tạp chất rồi phối trộn với dịch chiết từ thảo dược theo tỷ lệ từ 20 đến 80% theo thể tích. Thành phần dịch chiết từ thảo dược được chọn từ nhóm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sâm Puxalaileng (*Panax vietnamensis* var.), nhân sâm (*Panax ginseng*), đảng sâm (*Codonopsis* spp.), sâm cau (*Curculigo orchoides*), sâm đất (*Boerhaavia diffusa*), sâm Bồ Chính (*Hibicus sagittifolius*), sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*), đương quy (*Angelica sinensis*), sâm quy đá (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels), tam thất (*Panax pseudoginseng*), nấm ngọc cẩu (*Cynomorium songaricum* Rupr), nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*), nấm lim xanh (*Ganoderma lucidum* Karst), đông trùng hạ thảo (*Ophiocordyceps sinensis*), ba kích (*Gynochthodes officinalis*), sâm dương hoắc (*Epimedium macranthum*), chuối hột (*Musa balbisiana*), hà thủ ô (*Fallopia multiflora*), đinh lăng (*Polyscias fruticosa*), cây mật gấu (*Vernonia amygdalina*), rễ cây mật nhân (*Eurycoma longifolia*), rễ cây chùm ngây (*Moringa oleifera*) hoặc hỗn hợp của chúng.

Các dịch chiết thảo dược này có thể chiết bằng phương pháp ngâm chiết hoặc phương pháp lên men theo giải pháp hữu ích hoặc bằng phương pháp chiết bằng nhiệt, tùy ý. Dịch chiết thảo dược này nhằm phối hợp với dịch chiết từ thân rễ cây Mú Tùn để tạo ra nước uống phối hợp nhằm tăng cường sức khỏe.

Sau khi phối trộn, bán thành phẩm được tiệt trùng bằng siêu âm, gia nhiệt đến 120°C trong 5 phút để bất hoạt vi sinh vật. Sau khi làm nguội, thu được nước uống lên men từ củ rễ cây Mú Tùn.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó nước uống lên men thu được theo quy trình theo giải pháp còn được pha với nước và theo tỷ lệ từ 10 đến 15% thể tích thu được nước uống giải khát.

Theo khía cạnh thứ hai, giải pháp hữu ích đề cập đến nước uống lên men từ củ rễ cây Mú Tùn (*Rourea oligophlebia* Merr. Radix.) thu được từ quy trình theo giải pháp hữu ích, trong đó nước uống này dùng để bồi bổ sức khỏe, tăng cường sinh lực. Nước uống này có độ Brix nằm trong khoảng từ 10 đến 15%, màu đỏ sáng, có vị ngọt.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1. Sản xuất nước uống từ củ rễ cây Mú Tùn

Củ rễ cây Mú Tùn (*Rourea oligophlebia* Merr. Radix.) được thu hái, rửa sạch, chẻ đôi và thái mỏng. Sau đó phơi trong bóng râm đến khô. Cân lấy 10kg nguyên liệu khô.

Mật ong được bổ sung 5% dấm táo, trộn đều đến khi đồng nhất. Sữa chua được bổ sung 10% chế phẩm vi sinh chứa *Bacillus clausii*, sau đó trộn đều đến khi thu được dạng dịch sệt. Tiếp đó lấy 5 lít dịch dạng sệt này bổ sung với 45 lít mật ong và trộn đều. Phần dịch này được để lên men trong 12 giờ thu được 50 lít mật ong lên men.

Chuyển 5kg củ rễ cây Mú Tùn vào trong bình ngâm, bổ sung 50 lít mật ong lên men. Tiến hành ngâm ủ trong điều kiện nhiệt độ khoảng 25°C. Quá trình ngâm ủ tiến hành hớt bọt và xả khí thoát ra. Thời gian ngâm ủ trong 30 ngày.

Sau khi lên men, dịch lên men được lọc bỏ bã, thu được 50 lít dịch bán thành phẩm. Dịch chiết lên men bán thành phẩm này được ký hiệu là (MT). Phần dịch bán thành phẩm này được phối trộn với các dịch chiết khác nhau để tạo các nước uống khác nhau.

MT1: Lấy 6 lít MT bổ sung với 4 lít rượu ngâm từ sâm Ngọc Linh tạo ra 10 lít đồ uống từ củ rễ Mú Tùn lên men chứa cồn.

MT2: Lấy 6 lít MT bổ sung với 4 lít rượu ngâm ba kích tạo ra 10 lít đồ uống từ củ rễ Mú Tùn lên men chứa cồn.

MT3: Lấy 6 lít MT bổ sung với 4 lít nước chiết xuất nấm linh chi tạo ra 10 lít đồ uống từ củ rễ Mú Tùn lên men không chứa cồn.

MT4: Lấy 6 lít MT bổ sung 4 lít nước chiết tam thất tạo ra 10 lít đồ uống từ củ rễ Mú Tùn lên men không chứa cồn.

Sau khi phối trộn, từng chế phẩm trên được tiệt trùng bằng siêu âm và gia nhiệt đến 121°C trong 5 phút rồi làm nguội thu được nước uống lên men từ củ rễ cây Mú Tùn màu từ đỏ đến đỏ thẫm, trong, không có cặn.

Ví dụ 2. Đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của dịch chiết lên men từ cây Mú Tùn

Chế phẩm thử nghiệm:

Chế phẩm thử nghiệm là dịch chiết lên men bán thành phẩm (MT) thu được từ Ví dụ 1. Liều thử nghiệm được áp dụng cho thỏ với lượng từ 240 mg/kg đến 3600mg/kg thể trọng theo từng lô thử nghiệm.

Động vật thử nghiệm:

Động vật được dùng để đánh giá là thỏ trắng, chia ngẫu nhiên thành các lô, không phân biệt giống, đạt tiêu chuẩn thử nghiệm, cân nặng mỗi con tại thời điểm bắt đầu thử nghiệm là 2,2-2,5 kg, mỗi con nhốt riêng một chuồng

Động vật thử nghiệm được ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho thỏ, nước sạch đun sôi để nguội uống tự do. Hàng ngày theo dõi ghi chép diễn biến kết quả thử nghiệm.

Thử nghiệm độc tính cấp và xác định liều chết 50% (LD₅₀)

Trước khi tiến hành thử nghiệm, cho thỏ nhịn ăn qua đêm. Thỏ được chia ngẫu nhiên thành các lô khác nhau (06 lô), mỗi lô 5 con.

Dịch chiết MT thu được từ Ví dụ 1 được pha loãng với nước cất với nồng độ khác nhau để có thể tích cho mỗi lần uống 2 mL/100g thỏ, 3 lần trong 24 giờ, mỗi lần cách nhau ít nhất 2 giờ. Cho thỏ uống thuốc thử với liều tăng dần. Tìm liều cao nhất không gây chết thỏ (0 %), liều thấp nhất gây chết thỏ hoàn toàn (100 %) và các liều trung gian.

Theo dõi tình trạng chung của thỏ, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, v/v.) và số lượng thỏ chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau khi cho thỏ uống lần cuối. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD₅₀ của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng chung của thỏ (hoạt động, ăn uống, bài tiết, v/v.) ở mỗi lô cho đến hết 7 ngày sau khi uống thuốc.

Tiến hành phẫu tích quan sát tình trạng các tạng ngay sau khi có thỏ chết (nếu có) để xác định nguyên nhân gây độc. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2: Độc tính cấp theo đường uống của hỗn hợp trên thỏ

Lô chuột	Số thỏ thử nghiệm	Liều sử dụng (tỷ lệ MT/nước)	Thể tích cho uống	Số thỏ sống/chết sau 72 giờ
Lô 1	10	24,0 (0,4:1)	2 mL/100g x 3 lần	5/0
Lô 2	10	48,0 (0,8:1)	2 mL/100g x 3 lần	5/0
Lô 3	10	72,0 (1,2:1)	2 mL/100g x 3 lần	5/0
Lô 4	10	96,0 (1,6:1)	2 mL/100g x 3 lần	5/0
Lô 5	10	120,0 (2:1)	2 mL/100g x 3 lần	5/0
Lô 6	10	360,0 (6:1)	2 mL/100g x 3 lần	5/0

Kết quả cho thấy ngay cả với liều cao nhất là 3600mg/kg thể trọng mà không thấy xuất hiện bất kỳ triệu chứng bất thường trong 72 giờ sau khi uống và trong suốt 7 ngày sau uống thuốc. Điều này chứng tỏ dịch chiết an toàn khi đánh giá độc tính cấp theo đường uống, khoảng an toàn của dịch chiết rộng.

Kết luận: Chưa tìm thấy LD₅₀ của hỗn hợp dịch chiết MT thử nghiệm theo đường uống trên thỏ. Với mức liều cao nhất cho thỏ uống trong 24 giờ là 3600mg/kg thể trọng, gấp 75 lần liều dự kiến có tác dụng, không xuất hiện độc tính cấp.

Thử nghiệm độc tính bán trường diễn:

Để đánh giá độc tính bán trường diễn, thử nghiệm được tiến hành với 30 con thỏ trắng, được chia ngẫu nhiên thành 3 lô, mỗi lô 10 con, mỗi con nhốt riêng một chuồng. Thử nghiệm được tiến hành trong 8 tuần.

- ĐC: uống nước lọc 30 ml/kg/ngày vào buổi sáng.
- TN1: uống MT với lượng 6 ml/kg/ngày (liều có tác dụng tương đương liều dùng trên người, tính theo hệ số 3) vào buổi sáng.
- TN2: uống MT với lượng 18 ml /kg/ngày (gấp 3 lần TN1) vào buổi sáng.

Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm đánh giá chức năng tạo máu thông qua số lượng hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu. Đánh giá chức năng gan thông qua định lượng một số enzym và chất chuyển hoá trong máu: ALT, AST, bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần. Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng creatinin huyết thanh.

Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống mẫu thử, sau 4 tuần và sau 8 tuần uống mẫu thử.

Sau 8 tuần uống mẫu thử, thỏ được mổ để quan sát đại thể toàn bộ các cơ quan. Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, thận của 30% số thỏ ở mỗi lô.

Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn.

Thỏ được theo dõi hàng ngày về tình trạng chung gồm hoạt động, ăn uống, tình trạng lông, da, niêm mạc, chất tiết. Các thỏ ở cả lô chứng và các lô dùng dịch chiết đều hoạt động bình thường. Thỏ lông mượt, da niêm mạc bình thường, ăn uống bình thường, phân khô thành khuôn. Không thấy biểu hiện gì đặc biệt ở cả 3 lô thỏ trong suốt thời gian nghiên cứu. Ảnh hưởng của MT thử nghiệm lên thỏ được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3: Ảnh hưởng của chế phẩm thử nghiệm đối với cân nặng thỏ

Thời gian	ĐC		TN1		TN2		p (t- test Student)
	Trọng lượng (kg)	% tăng trọng lượng	Trọng lượng (kg)	% tăng trọng lượng	Trọng lượng (kg)	% tăng trọng lượng	
Trước khi uống	1,90 ± 0,16		1,88 ± 0,17		1,84 ± 0,12		> 0,05
Sau 4 tuần uống	2,31 ± 0,14	22,17 ± 10,63	2,34 ± 0,22	24,90 ± 7,08	2,28 ± 0,17	24,41 ± 8,50	> 0,05
p (trước - sau)	< 0,05		< 0,05		< 0,05		
Sau 8 tuần uống	2,51 ± 0,12	37,19 ± 7,08	2,59 ± 0,23	38,25 ± 5,82	2,54 ± 0,16	38,70 ± 9,18	> 0,05
p (trước - sau)	< 0,05		< 0,05		< 0,05		

So sánh giữa các thời điểm sau so với trước thấy cân nặng của thỏ ở cả ba lô nghiên cứu đều tăng, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Cân nặng của thỏ ở lô uống bột chiết với cân nặng của thỏ ở lô chứng tại tất cả các thời điểm đo không thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy lượng dịch chiết với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên sự phát triển cân nặng của thỏ.

Các kết quả đánh giá theo dõi số lượng hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu, chức năng gan (ALT, AST, bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol

toàn phần), chức năng thận (creatinin huyết thanh) đều không thấy có sự bất thường liên quan đến chức năng sinh lý của thử nghiệm.

Kết luận: Không thấy có độc tính bán trường diễn ảnh hưởng đến thử nghiệm liên quan đến các thay đổi chức năng tạo máu, chức năng gan, chức năng thận, hình thái đại thể các cơ quan và cấu trúc vi thể gan, thận của thử. Tất cả các chỉ số theo dõi đều nằm trong giới hạn bình thường, không có sự khác biệt rõ rệt so với lô chứng. Điều đó chứng tỏ chế phẩm thử nghiệm an toàn với thử nghiệm.

Ví dụ 3. Thử nghiệm tác dụng tăng cường sinh lực, bồi bổ sức khỏe

Các mẫu thử nghiệm được sử dụng là mẫu MT1-MT4 như nêu trong Ví dụ 1 ở dạng chế phẩm uống chứa cồn dùng cho nam giới (MT1-MT2) và không chứa cồn dùng cho nữ (MT3-MT4).

Để đánh giá khả năng bồi bổ sức khỏe, tăng cường sinh lực, tiến hành thử nghiệm với 20 người tình nguyện trưởng thành, có gia đình, thể trọng trung bình từ 50-60kg có triệu chứng mệt mỏi, khô miệng, chán ăn, da khô. chia làm 4 nhóm. Mỗi nhóm 5 người được sử dụng các mẫu nước uống khác nhau. Lượng sử dụng theo nhóm, chia làm nhiều lần. Các điều kiện sinh hoạt không thay đổi. Thời gian tiến hành trong 8 tuần, trong đó:

Nhóm 1, 2, đối tượng thử nghiệm là nam giới, sử dụng mẫu MT1, MT2 ở dạng rượu ngâm bồi bổ sức khỏe, ngày 2 lần, mỗi lần 50ml, sử dụng trước khi ăn. Nhóm 2, 3 đối tượng thử nghiệm là nữ, sử dụng mẫu MT3 và MT4, ngày 2 lần, mỗi lần 50 ml pha loãng với nước uống vào buổi sáng và buổi tối.

Đánh giá về mùi vị của sản phẩm cho thấy, sản phẩm có vị ngọt, hơi chua, mùi thơm nhẹ. Không có vị chát như so với mẫu ngâm thông thường.

Kết quả cho thấy đối với cả bốn mẫu, không có người nào có biểu hiện mệt mỏi, các triệu chứng da khô, tóc rối, môi khô đều không còn, cả bốn nhóm thử nghiệm đều khỏe mạnh, tăng ham muốn. Các triệu chứng đau lưng, mỏi gối, mỏi mệt được loại bỏ hoàn toàn. Người thử nghiệm ăn ngủ tốt, khả năng tập trung được cải thiện.

Các triệu chứng liên quan về bài tiết, các triệu chứng ngộ độc liên quan đến việc sử dụng mẫu MT1-MT4 đều không quan sát được, không có các triệu chứng liên quan đến đường tiêu hóa.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình theo giải pháp hữu ích cho phép sản xuất nước uống lên men từ củ rễ cây Mú Tùn (*Rourea oligophlebia* Merr. Radix.) giúp tăng cường sinh lực, cải thiện sức khỏe. Bằng việc kết hợp kinh nghiệm dân gian với kỹ thuật lên men hiện đại, quy trình theo giải pháp hữu ích dễ thực hiện, có thể áp dụng để lên men tạo ra sản phẩm đồ uống lên men có màu sắc đẹp, có khả năng bồi bổ sức khỏe, tăng cường sinh lực. Quy trình cho phép loại bỏ được hạn chế của sản phẩm thu được bằng cách ngâm chiết củ rễ cây Mú Tùn theo cách truyền thống.

Quy trình theo giải pháp hữu ích đơn giản, tiết kiệm và dễ thực hiện, bằng cách sử dụng vi sinh vật lên men trong môi trường axit cùng mật ong, quy trình vừa cho phép lên men thu sản phẩm một cách hiệu quả.

Quy trình cho phép phát triển một loại đồ uống thay thế các loại đồ uống có ga, đặc biệt hữu ích trong việc bồi bổ sức khỏe, an toàn cho người sử dụng. Quy trình cũng cho phép mở rộng ứng dụng củ rễ cây Mú Tùn, giúp phát triển vùng nguyên liệu theo hướng bền vững và tạo ra được các loại đồ uống chức năng đáp ứng nhu cầu người tiêu dùng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất nước uống lên men từ củ rễ cây Mú Tùn (*Rourea oligophlebia* Merr. Radix.), trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị nguyên liệu bằng cách thu hái củ rễ tươi của cây Mú Tùn (*Rourea oligophlebia* Merr. Radix.), chẻ đôi, thái lát mỏng và phơi trong bóng râm đến khi hàm ẩm khoảng 10%, thu được nguyên liệu củ rễ cây Mú Tùn khô;

b) chuẩn bị mật ong lên men bằng cách bổ sung 5% dấm táo vào mật ong và trộn đều, sữa chua lên men được bổ sung 10% men vi sinh được chọn từ nhóm bao gồm *Bacillus clausii*, *Lactobacillus sporogene*, *Lactobacillus acidophilus*, *Sacchromyces cerevisiae* và trộn đều rồi bổ sung tỷ lệ 10% vào mật ong đã được phối trộn với dấm táo, tiến hành khuấy trộn đều để lên men trong khoảng từ 6 đến 12 giờ ở khoảng từ 20 đến 25°C thu được mật ong lên men;

c) lên men nguyên liệu củ Mú Tùn bằng cách chuyển nguyên liệu củ Mú Tùn khô vào bình lên men, tiếp đó bổ sung lượng mật ong lên men theo tỷ lệ 1/10 (trọng lượng/thể tích), và giữ trong điều kiện nhiệt độ khoảng từ 20 đến 25°C trong thời gian 30 ngày để lên men nguyên liệu của Mú Tùn; và

d) thu nước uống lên men bằng cách lọc thu dịch lên men nguyên liệu củ rễ cây Mú Tùn, tiếp đó phối trộn với dịch chiết từ thảo dược theo tỷ lệ từ 20 đến 80% theo thể tích, sau khi tiệt trùng bằng siêu âm, gia nhiệt đến 120°C trong 5 phút rồi làm nguội thu được nước uống lên men từ củ rễ cây Mú Tùn.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó dịch chiết từ thảo dược được chọn từ nhóm bao gồm sâm Puxalaileng (*Panax vietnamensis* var.), nhân sâm (*Panax ginseng*), đảng sâm (*Codonopsis* spp.), sâm cau (*Curculigo orchioides*), sâm đất (*Boerhaavia diffusa*), sâm Bồ Chính (*Hibicus sagittifolius*), sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*), đương quy (*Angelica sinensis*), sâm quy đá (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels), tam thất (*Panax pseudoginseng*), nấm ngọc cẩu (*Cynomorium songaricum* Rupr), nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*), nấm lim xanh (*Ganoderma lucidum* Karst), đông trùng hạ thảo (*Ophiocordyceps sinensis*), ba kích (*Gynochthodes officinalis*), dâm dương hoắc (*Epimedium macranthum*), chuối hột (*Musa balbisiana*), hà thủ ô (*Fallopia multiflora*), đinh lăng (*Polyscias fruticosa*), cây mật gấu (*Vernonia amygdalina*), rễ cây mật nhân (*Eurycoma longifolia*), rễ cây chùm ngây (*Moringa oleifera*) hoặc hỗn hợp của chúng.