



(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)** (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



2-0004094

(51) **A23B 7/00; A23B 7/154; A23B 7/16; A23B** (13) **Y**
2021.01 7/10

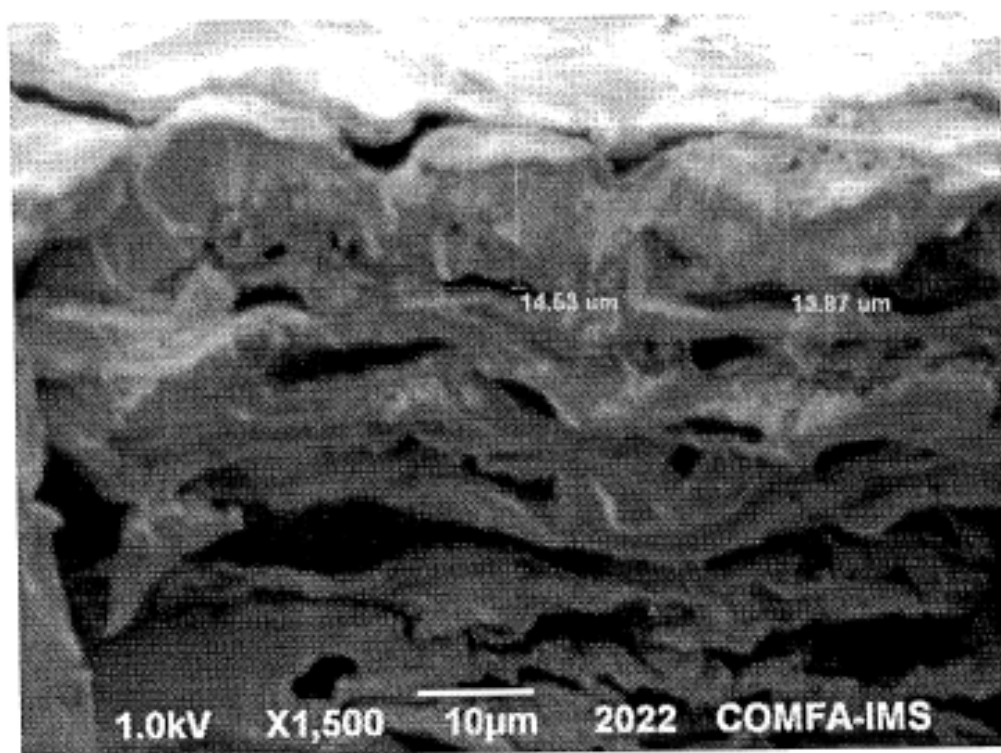
(21) 2-2022-00421 (22) 04/10/2022
(45) 26/05/2025 446 (43) 26/12/2022 417A
(73) Viện Kỹ thuật nhiệt đới - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VN)
Nhà A13, số 18, Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, thành phố Hà
Nội
(72) Phạm Thị Lan (VN); Nguyễn Thúy Chinh (VN); Lê Thị Mỹ Hạnh (VN); Vũ Xuân
Minh (VN); Thái Hoàng (VN); Trần Đại Lâm (VN).

(54) **PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT CHẾ PHẨM TẠO MÀNG SINH HỌC ĐỂ BẢO
QUẢN NÔNG SẢN VÀ CHẾ PHẨM ĐƯỢC SẢN XUẤT THEO PHƯƠNG PHÁP
NÀY**

(21) 2-2022-00421

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp sản xuất chế phẩm tạo màng sinh học để bảo quản nông sản, trong đó phương pháp này đặc trưng ở chỗ cho phép phối kết hợp giữa phức hợp nano của rutin với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin và chitosan tạo nên chế phẩm có độ đồng đều cao. Chế phẩm tạo màng sinh học thu được từ phương pháp theo giải pháp hữu ích cho phép dễ dàng tạo màng mỏng trên bề mặt, có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn nhưng vẫn cho phép trao đổi khí, thích hợp ứng dụng để bảo quản nông sản.

HÌNH 1



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến chế phẩm tạo màng sinh học có khả năng chống oxy hóa, kháng khuẩn, trong đó, thành phần chính của chế phẩm này là chitosan là một polyme thiên nhiên, thân thiện với môi trường được kết hợp với nano rutin ở dạng phức hợp với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Chế phẩm này có thể dùng để tạo màng phủ bảo quản trái cây nhiệt đới sau thu hoạch. Đồng thời, giải pháp hữu ích cũng đề cập đến phương pháp sản xuất chế phẩm này.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Trong những năm gần đây, vấn đề an toàn thực phẩm luôn nhận được sự quan tâm rất lớn của toàn xã hội. Việc sử dụng hóa chất để bảo quản có thể giúp thực phẩm giữ được độ tươi lâu hơn. Tuy nhiên, nếu sử dụng phụ gia không đúng quy định có thể gây ngộ độc cấp tính nếu liều lượng dùng quá giới hạn cho phép nhiều lần; gây ngộ độc mãn tính nếu dùng với thời gian kéo dài, liên tục; có nguy cơ hình thành khối u, ung thư, đột biến gen. Do đó, việc nghiên cứu chế tạo các loại vật liệu bao gói thực phẩm là hết sức cần thiết và cấp bách. Phần lớn các màng bọc thực phẩm truyền thống được sản xuất từ nhựa polyetylen, polypropylen, polystylen, polyvinyl clorua, tuy nhiên, các vật liệu polyme nhân tạo này có một số hạn chế nhất định. Chúng chỉ đóng vai trò như hàng rào thụ động để hạn chế các tác động bất lợi của môi trường lên thực phẩm. Hơn nữa, thời gian phân hủy kéo dài, khó xử lý, lại gây ô nhiễm môi trường và có hại đến sức khỏe của con người. Vì vậy, nghiên cứu chế tạo màng bọc thực phẩm có nguồn gốc thiên nhiên, dễ dàng bị phân hủy bởi các tác nhân sinh học nhằm khắc phục những nhược điểm của màng polyme nhân tạo là rất cần thiết. Trong số đó, nhóm polysaccarit có nguồn gốc thiên nhiên, điển hình như chitosan đang chứng tỏ là nhóm vật liệu đầy tiềm năng trong ngành bảo quản thực phẩm.

Công bố đơn sáng chế Mỹ số US20170013850A1 đề cập đến dung dịch chitosan và axit ascorbic sử dụng để kéo dài thời hạn sử dụng cho các loại trái cây hoặc rau ăn trực tiếp và các bước tiến hành bảo quản trái cây hoặc rau sử dụng dung dịch này. Sáng chế cũng đề cập đến dung dịch có hoạt tính kháng khuẩn và có khả

năng ngăn chặn quá trình hóa nâu enzym xảy ra trên trái cây hoặc rau ăn trực tiếp do sự oxy hóa của các hợp chất phenolic. Nồng độ chitosan trong dung dịch thích hợp nhất là 1%, nồng độ axit ascorbic trong dung dịch thích hợp là 1% hoặc 5%. Quá trình sử dụng dung dịch này để bảo quản trái cây hoặc rau gồm các bước: (i) chuẩn bị trái cây hoặc rau ăn trực tiếp bằng cách rửa, tách vỏ, gọt vỏ, cắt hoặc bỏ hạt; (ii) ngâm trái cây hoặc rau ở bước (i) vào dung dịch chitosan và axit ascorbic trong khoảng 10 phút; (iii) đóng gói trái cây hoặc rau sau khi loại bỏ chất lỏng còn dư và bảo quản ở 5°C hoặc 4°C.

Công bố đơn sáng chế quốc tế số WO2018042311A1 đề cập đến dẫn xuất của chitosan với nhóm amin được đính với các chuỗi được lựa chọn từ formaldehit, succinic anhydrit, glucozơ, galactozơ, axit salixylic, axit linoleic, axit oleic, axit gallic. Dẫn xuất chitosan có độ đề axetyl hóa 60-99%, pH = 7-12, khối lượng phân tử 100000-300000 Da. Dẫn xuất chitosan này được sử dụng để cải thiện sự phát triển của diện tích bề mặt lá, cải thiện tỷ lệ nảy mầm cho hạt, tăng hàm lượng diệp lục, ức chế hoạt động của vi khuẩn, nấm mốc, vi rút.

Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US6995137B2 đề cập đến màng tự nhiên tan trong nước có thành phần gồm chitosan, rong biển, gama-globulin, axit cholic, astaxanthin, rutin, lecithin, Inula helenium L., xenlulozơ, collagen và phương pháp tạo màng này. Tuy nhiên, sáng chế chưa đề cập đến nano rutin ở dạng phức hợp với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin.

Maria vargas và Chelo gonzález-martínez (Những sáng chế gần đây về ứng dụng trong thực phẩm của chitosan và dẫn xuất của nó, 2010, DOI: 10.2174/1876142911002020121) đã đề cập đến dung dịch chitosan có thể ức chế dự phát triển hoặc lây lan của 106 vi sinh vật gây bệnh hoặc gây hư hỏng cho rau như *Pichia*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Saccharomyces*, *Candida*, 108 *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Shizosaccharomyces*, *Torulopsis*, *E. coli*, *E. coli* 0157:H7, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, và *Bacillus*.

Bùi Thị Khánh Linh và Hà Thúc Chí Nhân (Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh) đã biến tính chitosan với dịch chiết polyphenol từ

lá trà xanh có khả năng diệt nấm hại dâu tây, cà rốt, đậu và có tác dụng tốt trong bảo quản các loại rau quả có vỏ cứng bên ngoài.

Nguyễn Văn Lợi (Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội) đã chế tạo màng saponin kết hợp với chitosan và axit axetic để bảo quản cam Cao Phong.

Xiuxiu Sun và cộng sự (Tính chất kháng khuẩn và tính chất cơ học của màng chitosan chứa phức hợp β -cyclodextrin bao tinh dầu, Tạp chí Hóa học thực phẩm và nông nghiệp, 2014, tập 62, trang 8914-8918) đã chế tạo màng bọc từ chitosan kết hợp với β -cyclodextrin và một số hoạt chất như carvacrol có trong tinh dầu cỏ xạ hương, transcinamaldehyde trong tinh dầu quế và eugenol trong đinh hương. Việc bổ sung phức hợp β -cyclodextrin/tinh dầu đã làm tăng lên rõ rệt hoạt tính kháng khuẩn của màng chitosan chống lại bốn chủng vi khuẩn phổ biến *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* và *Listeria monocytogenes*, đồng thời, độ bền kéo của màng chitosan cũng được cải thiện đáng kể khi kết hợp với phức hợp có hàm lượng 0,75%. Tuy nhiên, công trình này chưa đề cập đến việc kết hợp chitosan với nano rutin ở dạng phức hợp bao với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin.

L. Higuera và cộng sự (trong bài báo Bao gói kháng khuẩn cho phi lê gà trên cơ sở sự giải phóng carvacrol từ màng chitosan/xyclodextrin, Tạp chí quốc tế về vi sinh thực phẩm, 2014, tập 188, trang 53-59) đã trình bày kết quả nghiên cứu sử dụng các hoạt chất ở dạng phức bao với β -cyclodextrin giúp cho chúng được phân tán một cách đồng nhất trong màng và được giải phóng một cách từ từ, kéo dài thời gian bảo quản thịt gà phi lê. Tuy nhiên, công trình này chưa đề cập đến việc kết hợp chitosan với nano rutin ở dạng phức hợp bao với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin.

Trước nhu cầu bảo quản nông sản sau thu hoạch, đặc biệt là các sản phẩm trái cây tươi khi vào chính vụ có thời gian thu hoạch ngắn, việc bảo quản không tốt dễ dẫn đến hỏng, phải loại bỏ, gây thiệt hại về kinh tế. Ngoài ra, các kỹ thuật bảo quản như sử dụng kho lạnh cần đầu tư lớn, tốn diện tích và chi phí vận hành nên không hiệu quả. Các kỹ thuật sử dụng dung dịch khử trùng như chất kháng sinh bị cấm và không được khuyến khích. Mặc dù đã có một số kỹ thuật sử dụng màng bao, như sử dụng màng bao polyme hoặc các thành phần có khả năng tạo màng như các tiền polyme, nhưng

các màng bao này có bất lợi hoặc là cần nhân công bao gói hoặc là khó kiểm soát, và do đó chỉ thích hợp để ứng dụng trong những nông trại hoặc nhà máy lớn, có đủ tiềm lực kinh tế, kỹ thuật đầu tư trang thiết bị. Việc ứng dụng công nghệ nano trong bảo quản nông sản chưa được tập trung phát triển và thương mại hóa.

Do đó, vẫn cần phát triển các loại chế phẩm giúp bảo quản nông sản, cụ thể là trái cây, ứng dụng chitosan kết hợp với nano rutin ở dạng phức hợp với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin cho phép tạo màng sinh học trực tiếp trên bề mặt trái cây, giúp kéo dài thời hạn sử dụng của trái cây, duy trì trái cây tươi lâu và giảm sự suy giảm khối lượng của trái cây. Chế phẩm tạo màng sinh học có chứa chitosan kết hợp với nano rutin ở dạng phức hợp với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin có giá thành phù hợp với người nông dân, dễ dàng ứng dụng, không độc hại, có khả năng chống oxy hóa, kháng khuẩn và ổn định, có thể dễ dàng ứng dụng để giúp nông dân bảo quản, kéo dài chất lượng nông sản sau khi thu hoạch.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Giải pháp hữu ích nhằm giải quyết các vấn đề nêu trên, bằng cách kết hợp chitosan với nano rutin ở dạng phức hợp bao với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, trong đó chitosan được hòa tan trong dung dịch axit axetic loãng. Giải pháp hữu ích đã phát triển được chế phẩm có khả năng kháng khuẩn, chống oxy hóa và có khả năng bảo quản trái cây, kéo dài thời gian bảo quản và giữ được chất lượng của trái cây.

Theo đó, mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất được phương pháp sản xuất chế phẩm tạo màng sinh học để bảo quản trái cây và chế phẩm tạo màng sinh học thu được từ phương pháp này.

Theo khía cạnh thứ nhất, giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp sản xuất chế phẩm tạo màng sinh học để bảo quản nông sản, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

- a) Chuẩn bị nguyên liệu bằng cách thu nhận các thành phần chitosan, rutin, β -cyclodextrin, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, polyetylen glycol, axit axetic 99,9%, nước cất theo tỷ lệ % khối lượng sau:

Chitosan

1,5-2,5

Rutin	0,125-0,875
β -xyclodextrin	0,25-1,75
2-hydroxypropyl- β -xyclodextrin	0,075-0,525
Polyetylen glycol	0,05-0,35
Axit axetic 99,9%	1
Nước cất	93-97

- b) Chế tạo phức hợp nano của rutin với β -xyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -xyclodextrin ([Rut- β CD], [Rut-HP β CD]) với sự có mặt của polyetylen glycol, trong đó tỉ lệ khối lượng của rutin: β -xyclodextrin: 2-hydroxypropyl- β -xyclodextrin: polyetylen glycol theo tương ứng là 2,5: 5: 1,5: 1;
- c) Chuẩn bị dung dịch chitosan bằng cách hòa tan chitosan trong dung dịch nước cất có chứa axit axetic (tỷ lệ khối lượng nước cất/axit axetic 99,9 % là 95/1);
- d) Cho phức hợp nano ([Rut- β CD], [Rut-HP β CD]) ở bước b) vào thùng chứa dung dịch chitosan đã chuẩn bị ở bước c) rồi khuấy liên tục kết hợp rung siêu âm ở nhiệt độ 65°C trong 2 giờ để thu được chế phẩm tạo màng sinh học dạng dung dịch đồng nhất.

Theo khía cạnh thứ hai, giải pháp hữu ích đề cập đến chế phẩm tạo màng sinh học được sản xuất bằng phương pháp theo khía cạnh thứ nhất, trong đó chế phẩm này bao gồm các thành phần theo tỷ lệ % khối lượng sau:

Chitosan	1,5-2,5
Phức hợp nano của rutin với β -xyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -xyclodextrin ([Rut-HP β CD]) và PEG	0,5-3,5
Axit axetic	1
Nước cất	93-97

Ngoài ra, theo khía cạnh thứ ba, giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp bảo quản trái cây bằng chế phẩm tạo màng sinh học theo giải pháp hữu ích, trong đó phương pháp này bao gồm các bước làm sạch bề mặt nông sản, nhúng nông sản cần bảo quản vào chế phẩm trong 30 giây, và vớt ra để khô tự nhiên tạo màng sinh học trên bề mặt nông sản ở nhiệt độ phòng.

Theo các phương án ưu tiên, nông sản được bảo quản là trái cây tươi được chọn từ nhóm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, xoài, bơ, chuối, cam, nhãn, vải, nho, đu đủ, chanh, chanh leo, quýt, dứa, lê, táo, kiwi, thanh long, dứa leo, dứa hấu, cà chua.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là ảnh hiển vi điện tử quét phát xạ trường (FESEM) của mẫu màng sinh học theo một phương án thực hiện của giải pháp hữu ích. Đây là hình ảnh mặt cắt ngang vỏ quả xoài khi được nhúng trong chế phẩm và tạo màng phủ bảo quản với độ dày trung bình khoảng 14 μm .

Hình 2 là ảnh hiển vi điện tử quét phát xạ trường (FESEM) của mẫu màng sinh học theo một phương án thực hiện của giải pháp hữu ích. Đây là hình ảnh mặt cắt ngang vỏ quả bơ khi được nhúng trong chế phẩm và tạo màng phủ bảo quản với độ dày trung bình khoảng 23 μm .

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích được mô tả chi tiết với các phương án và các ví dụ thực hiện cụ thể, tuy nhiên, các phương án và các ví dụ này chỉ nhằm làm rõ bản chất của giải pháp hữu ích chứ không nhằm mục đích hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của giải pháp hữu ích.

Giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp sản xuất chế phẩm bảo quản quả sau thu hoạch, cụ thể gồm các bước: a) chuẩn bị nguyên liệu; b) chế tạo phức hợp nano của rutin với β -xylodextrin và 2-hydroxypropyl- β -xylodextrin; c) chuẩn bị dung dịch chitosan; d) thu chế phẩm tạo màng sinh học.

Trong bước (a) chuẩn bị nguyên liệu, các thành phần bao gồm chitosan, rutin, β -xylodextrin, 2-hydroxypropyl- β -xylodextrin, polyetylen glycol, axit axetic được sử dụng là các sản phẩm thương mại có sẵn trên thị trường. Tốt nhất chitosan thu được từ vỏ động vật giáp xác, rutin được chiết tách từ các loài thực vật bậc cao (như hoa hòe).

Chitosan có bản chất là polysaccarit mạch thẳng được cấu tạo từ các D-glucosamine (đơn vị đã được deaxetyl hóa) và N-axetyl-D-Glucosamin (đơn vị chứa nhóm axetyl) liên kết tại vị trí β -(1-4). Chitosan được sản xuất từ quá trình xử lý vỏ các loài giáp xác (ví dụ vỏ tôm, cua) với dung dịch kiềm NaOH. Chitosan được sử dụng theo giải pháp hữu ích đóng vai trò tạo cấu trúc cho màng sinh học thu được.

Lượng chitosan được sử dụng để sản xuất chế phẩm tạo màng sinh học theo giải pháp hữu ích nằm trong khoảng từ 1,5 đến 2,5% theo khối lượng của chế phẩm. Nếu lượng chitosan nhỏ hơn 1,5 %, độ nhớt của dung dịch không đủ lớn để có thể tạo thành màng sinh học bám trên bề mặt quả sau khi nhúng, hoặc nếu có tạo thành màng thì độ dày của lớp màng không đồng đều. Ngược lại, nếu lượng chitosan lớn hơn 2,5%, độ dày của lớp màng quá lớn, cản trở khả năng trao đổi oxy và hơi nước của quả với môi trường bên ngoài, làm ảnh hưởng đến chất lượng của quả và mất tác dụng bảo quản.

Các thành phần rutin, polyetylen glycol, β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin được sử dụng trong giải pháp hữu ích này để tạo nano rutin ở dạng phức hợp nano với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Phức hợp nano này đóng vai trò là chất diệt khuẩn và chất chống oxy hóa cho chế phẩm. Với kích thước nano, phức hợp nano rutin kết hợp với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin có độ tan trong dung dịch, khả năng kháng khuẩn, chống oxy hóa tốt hơn nhiều so với rutin ở dạng thuần (dạng không kết hợp với β -cyclodextrin, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin). Trong giải pháp hữu ích này, β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin được sử dụng đồng thời để chế tạo hỗn hợp phức nano với rutin để giảm giá thành của sản phẩm so với khi chỉ sử dụng một mình 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin mà vẫn đảm bảo được chất lượng của sản phẩm.

Axit axetic được sử dụng theo giải pháp hữu ích đóng vai trò là dung môi dùng để hòa tan chitosan. Axit axetic sử dụng là dung dịch có nồng độ 99,9 %, được kết hợp với nước cất để giúp hòa tan chitosan và giảm pH của chế phẩm, giúp chế phẩm có pH axit, hỗ trợ cho tác dụng kháng khuẩn của chế phẩm tạo màng sinh học theo giải pháp hữu ích đồng thời giúp màng sinh học thu được mềm dẻo hơn.

Theo đó, các thành phần chitosan, rutin, β -cyclodextrin, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, polyetylen glycol, axit axetic, nước cất theo tỷ lệ % khối lượng sau:

Chitosan	1,5-2,5
Rutin	0,125-0,875
β -cyclodextrin	0,25-1,75
2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin	0,075-0,525
Polyetylen glycol	0,05-0,35
Axit axetic 99,9 %	1
Nước cất	93-97

Trong bước (b) chế tạo phức hợp nano của rutin với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, lượng phức hợp nano được sử dụng trong giải pháp hữu ích nằm trong khoảng 0,5 % đến 3,5 % theo khối lượng của chế phẩm. Nếu lượng phức hợp nano nhỏ hơn 0,5% thì hiệu quả kháng khuẩn, chống oxi hóa của màng sinh học thấp; ngược lại, khi hàm lượng phức hợp nano cao hơn 3,5% thì độ phân tán của phức hợp trong dung dịch chitosan kém, ảnh hưởng đến chất lượng của màng sinh học trên quả sau khi tạo thành và gia tăng chi phí sản xuất. Theo một phương án ưu tiên, phức hợp nano rutin kết hợp với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin được chế tạo với tỉ lệ khối lượng của rutin : β -cyclodextrin : 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin : polyetylen glycol là 2,5: 5: 1,5: 1. Theo một phương án được ưu tiên khác, phức hợp nano này được chế tạo theo các bước: (i) rutin, β -cyclodextrin, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin và polyetylen glycol được hòa tan trong dung dịch nước: cồn tuyệt đối (tỉ lệ khối lượng nước: cồn tuyệt đối là 50:50) trong các bình phản ứng riêng biệt cho đến khi các chất này tan hoàn toàn; (ii) nhỏ từ từ các dung dịch rutin và dung dịch polyetylen glycol vào dung dịch chứa 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin cho đến hết và khuấy liên tục trong 6 giờ ở nhiệt độ 65°C, trong quá trình khuấy từ thì kết hợp với rung siêu âm; (iii) để nguội dung dịch thu được trong điều kiện thường; (iv) lọc dung dịch bằng màng lọc có đường kính lỗ xốp 0,45 μm để thu được sản phẩm phức hợp nano; (v) sản phẩm được đem đi sấy chân không ở 60°C trong 48 giờ thu được sản phẩm dạng bột; (vi) sản phẩm được nghiền để thu được phức hợp nano rutin kết hợp β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, polyetylen glycol được sử dụng trong giải pháp hữu ích có khối lượng phân tử 6000 đvC.

Trong bước (c) chuẩn bị dung dịch chitosan, tiến hành hòa tan chitosan trong dung dịch nước cất có chứa axit axetic (tỷ lệ khối lượng nước cất/axit axetic 99,9 % là 95/1). Quá trình này nhằm chitosan được hòa tan hòa toàn thành dung dịch đồng nhất.

Trong bước thu chế phẩm tạo màng sinh học, quá trình thêm phức hợp nano vào thùng chứa dung dịch chitosan cần khuấy liên tục, kết hợp rung siêu âm tại nhiệt độ 65°C trong 2 giờ để đảm bảo phức hợp được phân tán tốt, không bị vón cục để thu được dung dịch đồng nhất.

Theo khía cạnh thứ hai, giải pháp hữu ích đề cập đến chế phẩm tạo màng sinh học được sản xuất bằng phương pháp theo khía cạnh thứ nhất, trong đó chế phẩm này bao gồm các thành phần theo tỷ lệ % khối lượng sau:

Chitosan	1,5-2,5
Phức hợp nano của rutin với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin ([Rut-HP β CD]) và polyetylen glycol	0,5-3,5
Axit axetic	1
Nước cất	93-97

Chế phẩm tạo màng sinh học theo giải pháp hữu ích cho phép tạo lớp màng mỏng trên bề mặt vật phủ bằng cách nhúng và để khô tự nhiên trong điều kiện môi trường. Chế phẩm khô nhanh, tạo ra màng sinh học trên cơ sở mạng cấu trúc chitosan với phức hợp nano của rutin với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin phân tán đồng đều. Chế phẩm có khả năng tương thích sinh học, kháng khuẩn, chống oxy hóa và giảm được tốc độ trao đổi chất của sản phẩm nông sản, thích hợp để bảo quản nông sản, đặc biệt là các loại quả, ví dụ, nhưng không chỉ giới hạn ở, chuối, cam, nhãn, vải, nho, xoài, đu đủ, chanh, chanh leo, quýt, dứa, lê, táo, kiwi, thanh long, dưa leo, dưa hấu, bơ, cà chua.

Theo khía cạnh thứ ba, giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp bảo quản trái cây bằng chế phẩm tạo màng sinh học theo giải pháp hữu ích, trong đó phương pháp này bao gồm các bước làm sạch bề mặt nông sản, nhúng nông sản cần bảo quản vào chế phẩm trong 30 giây, và vớt ra để khô tự nhiên tạo màng sinh học trên bề mặt nông sản ở nhiệt độ phòng.

Theo các phương án ưu tiên, nông sản được bảo quản là trái cây tươi được chọn từ nhóm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, xoài, bơ, chuối, cam, nhãn, vải, nho, đu đủ, chanh, chanh leo, quýt, dứa, lê, táo, kiwi, thanh long, dưa leo, dưa hấu, cà chua.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích sẽ được mô tả một cách chi tiết hơn nữa thông qua các ví dụ cụ thể minh họa cho giải pháp hữu ích. Tuy nhiên, giải pháp hữu ích không bị giới hạn ở các ví dụ này.

Ví dụ 1. Chế tạo phức hợp nano của rutin với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin

Phức hợp nano của rutin với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin được chế tạo với tỉ lệ khối lượng của rutin: β -cyclodextrin:2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin:polyetylen glycol (có khối lượng phân tử 6000 đvC hay gọi tắt là polyetylen glycol 6000) là 2,5:5:1,5:1. Đầu tiên, cân chính xác khối lượng của rutin (25 g), β -cyclodextrin (50g), 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (15g) và polyetylen glycol 6000 (10g) theo đúng tỉ lệ trên. Tiếp theo, rutin, β -cyclodextrin, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin và polyetylen glycol được hòa tan trong 100g dung dịch nước: cồn tuyệt đối (tỉ lệ khối lượng nước: cồn tuyệt đối là 50:50) trong các bình phản ứng riêng biệt cho đến khi các chất này tan hoàn toàn. Sau đó, nhỏ từ từ các dung dịch rutin và dung dịch polyetylen glycol vào dung dịch chứa 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin cho đến hết và khuấy hỗn hợp liên tục trên máy khuấy từ trong 6 giờ ở nhiệt độ 65°C, trong quá trình khuấy từ thì kết hợp với rung siêu âm. Để nguội dung dịch thu được trong điều kiện thường trước khi lọc dung dịch bằng màng lọc xốp 0,45 μ m để thu được sản phẩm phức hợp nano. Cuối cùng, sản phẩm được đem đi sấy chân không ở 60°C trong 48 giờ thu được sản phẩm dạng bột và sản phẩm được nghiền bằng cối mã não thu được phức hợp nano rutin kết hợp với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin.

Bảng 1 trình bày độ tan và hoạt tính chống oxi hóa của phức hợp nano của rutin với β -cyclodextrin, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin so với rutin thuần (không tạo phức hợp nano với cyclodextrin). Có thể thấy, khi kết hợp với β -cyclodextrin và hydroxypropyl- β -cyclodextrin với sự có mặt của PEG 6000 để tạo thành phức hợp nano, độ tan của rutin được cải thiện 6 lần, hoạt tính chống oxi hóa cao hơn so với rutin thuần.

Bảng 1. Độ tan và khả năng kháng khuẩn, chống oxi hóa của phức hợp nano của rutin với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin

Tính chất	Rutin thuần	Phức hợp nano của rutin với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin
Cấu trúc, kích thước hạt	Dạng thanh nhỏ hoặc	Dạng hình cầu, đường kính 40-

(nm)	mảnh	60 nm
Độ tan ở 25 ⁰ C (mg/l)	15,6	92,2
Hoạt tính chống oxi hóa IC50 (µg/ml)	8,31	7,27

Ví dụ 2. Sản xuất chế phẩm tạo màng sinh học có khả năng kháng khuẩn, chống oxi hóa

Hòa tan ba mẫu, mỗi mẫu bao gồm 20 g chitosan trong 950 g dung dịch nước cất có bổ sung 10 g axit axetic 99,9%, chuyển lên thiết bị khuấy từ và khuấy liên tục ở nhiệt độ phòng đến khi chitosan tan hoàn toàn, thu được dung dịch chitosan đồng nhất. Tiếp đó bổ sung từ từ 20 g phức hợp nano của rutin với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (được chế tạo ở ví dụ 1) vào dung dịch chitosan. Trong quá trình bổ sung phức hợp nano của rutin, hỗn hợp được khuấy liên tục ở nhiệt độ 65⁰C. Tiếp tục khuấy hỗn hợp liên tục kết hợp rung siêu âm ở nhiệt độ 65⁰C trong 2 giờ để đảm bảo phức hợp được phân tán đồng đều, không bị vón cục. Sau khi khuấy trộn đều trong 2 giờ thu được ba dung dịch chế phẩm tạo màng sinh học (mẫu C1, C2 và C3) dạng lỏng, chứa phức hợp nano của rutin phân tán đồng nhất.

Ví dụ 3. Đánh giá về khả năng bảo quản nông sản

Để đánh giá khả năng bảo quản nông sản, mẫu thử nghiệm bao gồm xoài được rửa sạch bằng nước máy, sau đó được tráng lại bằng nước cất và để khô tự nhiên. Sau đó, xoài được nhúng trực tiếp vào từng mẫu chế phẩm C1, C2 và C3 thu được từ Ví dụ 2, giữ trong vòng 30 giây. Sau khi nhúng, mẫu được vớt ra, để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng và theo dõi sự thay đổi đặc tính sinh hóa của quả theo thời gian.

Ví dụ 4. Đánh giá đặc trưng, tính chất của màng sinh học trên quả xoài

Các màng sinh học trên quả xoài ở Ví dụ 4 được xác định đặc trưng và tính chất. Kết quả được thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 3. Đặc trưng, tính chất của màng sinh học được tạo ra từ chế phẩm trên quả xoài

STT	Đặc trưng, tính chất	Theo giải pháp hữu ích
1.	Độ dày	13-40 µm
2.	Hoạt tính chống oxi hóa	IC ₅₀ = 6,3 x 10 ⁻⁴ g/ml
3.	Hoạt tính kháng khuẩn (TCVN 4884: 2001): <i>Tổng vi sinh vật</i> (1,0 x 10 ⁶	Không phát hiện

	CFU/ml)	
4.	Thời gian bảo quản	Tăng 20% so với mẫu đối chứng
5.	Độ tổn hao khối lượng	Giảm 20% so với mẫu đối chứng khi không sử dụng chế phẩm

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Phương pháp theo giải pháp hữu ích cho phép phân tán tốt phức hợp nano của rutin với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin trong chitosan. Phương pháp này đơn giản, dễ thực hiện, kết hợp được chitosan với phức hợp nano của rutin với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin cho phép kháng cả vi khuẩn gram âm, gram dương và nấm. Ngoài ra, phương pháp này cho phép tạo chế phẩm có khả năng tạo màng nhanh chóng, ổn định, đảm bảo được độ xốp, thoáng khí, nhưng cũng hạn chế được sự trao đổi chất của sản phẩm nông sản tươi, giúp bảo quản nông sản sau thu hoạch hiệu quả. Thời gian bảo quản kéo dài hiệu quả đối với thử nghiệm trong bảo quản xoài tăng 20 % so với mẫu đối chứng.

Chế phẩm tạo màng sinh học theo giải pháp hữu ích khô nhanh, dễ dàng tạo được lớp màng trên bề mặt nông sản. Các thành phần tạo chế phẩm có nguồn gốc hữu cơ nên không gây độc, đáp ứng được yêu cầu về vệ sinh an toàn thực phẩm, cho phép bảo quản nông sản tươi. Bằng cách nhúng và để khô tự nhiên trong điều kiện môi trường, chế phẩm cho phép tạo màng nhanh, thuận lợi cho quá trình xử lý. Ngoài ra, chế phẩm có khả năng tương thích sinh học, kháng khuẩn và chống oxy hóa, giảm được tốc độ trao đổi chất của sản phẩm nông sản, thích hợp để bảo quản nông sản.

Chế phẩm chứa các thành phần cụ thể theo giải pháp hữu ích là hoàn toàn mới và có khả năng bảo quản trái cây sau thu hoạch. Hiện nay, tại Việt Nam chưa có bất kỳ công trình khoa học/nghiên cứu và giải pháp hữu ích nào bộc lộ chế phẩm chứa các thành phần cụ thể theo giải pháp hữu ích.

Chế phẩm và phương pháp tạo ra chế phẩm này còn phù hợp với điều kiện chế tạo ở trong nước, có thể áp dụng ở quy mô bán công nghiệp và công nghiệp trong sản xuất chế phẩm bảo quản nông sản tại Việt Nam.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp sản xuất chế phẩm tạo màng sinh học để bảo quản nông sản, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

- a) chuẩn bị nguyên liệu bằng cách thu nhận các thành phần chitosan, rutin, β -cyclodextrin, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, polyetylen glycol, axit axetic 99,9 %, nước cất theo tỷ lệ % khối lượng sau:

Chitosan	1,5-2,5
Rutin	0,125-0,875
β -cyclodextrin	0,25-1,75
2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin	0,075-0,525
Polyetylen glycol (PEG)	0,05-0,35
Axit axetic 99,9 %	1
Nước cất	93-97

- b) chế tạo phức hợp nano của rutin với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin với sự có mặt của polyetylen glycol, trong đó tỉ lệ khối lượng của rutin: β -cyclodextrin: 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin: polyetylen glycol theo tương ứng là 2,5: 5: 1,5: 1;
- c) chuẩn bị dung dịch chitosan bằng cách hòa tan chitosan trong dung dịch nước cất có chứa axit axetic (tỷ lệ khối lượng nước cất/axit axetic 99,9 % là 95/1);
- d) cho phức hợp nano của rutin ở bước b) vào thùng chứa dung dịch chitosan đã chuẩn bị ở bước c) rồi khuấy liên tục kết hợp rung siêu âm ở nhiệt độ 65°C trong 2 giờ để thu được chế phẩm tạo màng sinh học dạng dung dịch đồng nhất.

2. Phương pháp sản xuất chế phẩm tạo màng sinh học theo điểm 1, trong đó phức hợp nano tại bước (b) được chế tạo theo quy trình bao gồm các bước:

- (i) rutin, β -cyclodextrin, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin và polyetylen glycol được hòa tan trong dung dịch nước: cồn tuyệt đối (tỷ lệ khối lượng nước: cồn tuyệt đối là 50:50) trong các bình phản ứng riêng biệt cho đến khi các chất này tan hoàn toàn;

(ii) nhỏ từ từ các dung dịch rutin và dung dịch polyetylen glycol vào dung dịch chứa 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin cho đến hết và khuấy liên tục trong 6 giờ ở nhiệt độ 65°C, trong quá trình khuấy từ thì kết hợp với rung siêu âm;

(iii) để nguội dung dịch thu được trong điều kiện thường;

(iv) lọc dung dịch bằng màng lọc có đường kính lỗ xốp 0,45 μm để thu được sản phẩm phức hợp nano;

(v) sản phẩm được đem đi sấy chân không ở 60°C trong 48 giờ thu được sản phẩm dạng bột; và

(vi) sản phẩm được nghiền để thu được phức hợp nano rutin kết hợp β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin.

3. Chế phẩm tạo màng sinh học được sản xuất bằng phương pháp theo điểm 1, trong đó chế phẩm này bao gồm các thành phần theo tỷ lệ % khối lượng sau:

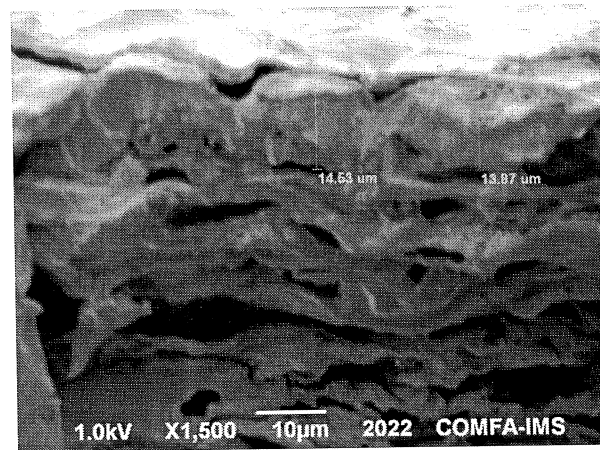
Chitosan	1,5-2,5%
Phức hợp nano của rutin với β -cyclodextrin và 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin ([Rut-HP β CD]) và polyetylen glycol	0,5-3,5%
Axit axetic 99,9%	1%
Nước cất	93-97%

4. Chế phẩm theo điểm 3, trong đó phức hợp nano của rutin với 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin có kích thước 40-60 nm.

5. Chế phẩm theo điểm 3 hoặc điểm 4, trong đó độ tan của phức hợp nano của rutin ở 25°C là 92,2 mg/l.

6. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 5, trong đó tỉ lệ khối lượng của rutin: β -cyclodextrin: 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin: polyetylen glycol trong phức hợp nano theo tương ứng là 2,5: 5: 1,5: 1.

7. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 6, trong đó polyetylen glycol có khối lượng phân tử 6000 đvc.
8. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 7, trong đó chitosan được hòa tan trong dung dịch nước cất có chứa axit axetic 99,9 % với tỷ lệ khối lượng nước cất : axit axetic 99,9 % là 95 : 1.
9. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 8, trong đó rutin được chiết tách từ hoa hòe.
10. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 9, trong đó quá trình bổ sung phức hợp nano của rutin vào thùng chứa dung dịch chitosan cần khuấy liên tục, kết hợp rung siêu âm tại nhiệt độ 65°C trong 2 giờ.

HÌNH 1**HÌNH 2**