

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN THỊ HẰNG

**NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO LỚP PHỦ NANOCOMPOZIT
TỪ CHITOSAN, RUTIN VÀ CYCLODEXTRIN ỨNG DỤNG
BẢO QUẢN HOA QUẢ NHIỆT ĐỚI**

LUẬN VĂN THẠC SĨ: HÓA HỮU CƠ

Hà Nội - 2022

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN THỊ HẰNG

**NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO LỚP PHỦ NANOCOMPOZIT
TỪ CHITOSAN, RUTIN VÀ CYCLODEXTRIN ỨNG DỤNG
BẢO QUẢN HOA QUẢ NHIỆT ĐỚI**

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 844 01 14

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỮU CƠ

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC: TS. PHẠM THỊ LAN

Hà Nội – 2022

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN.....	I
DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU VIẾT TẮT	III
DANH MỤC HÌNH ẢNH	IV
DANH MỤC BẢNG BIỂU	V
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. KHÁI QUÁT VỀ PHƯƠNG PHÁP BẢO QUẢN QUẢ NHIỆT ĐỐI	3
1.1.1. Một số phương pháp phổ biến bảo quản quả sau thu hoạch.....	3
1.1.2. Tổng quan về phương pháp dùng màng và lớp phủ bảo vệ.....	4
1.1.3. Màng phủ bảo quản trên cơ sở chitosan.....	10
1.2. CYCLODEXTRIN VÀ PHỨC HỢP THÀNH PHẦN LỒNG NHAU	11
1.2.1. Khái quát về cyclodextrin và phức hợp thành phần lồng nhau.....	11
1.2.2. Các phương pháp điều chế phức hợp cyclodextrin.....	12
1.2.3. Một số nghiên cứu về ứng dụng của β -cyclodextrin.....	13
1.3. CẤU TẠO, NGUỒN GỐC VÀ MỘT SỐ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA RUTIN	14
1.3.1. Cấu tạo và một số nguồn tự nhiên của rutin	14
1.3.2. Một số hoạt tính sinh học của rutin.....	15
1.4. GIỚI THIỆU VỀ CẤU TRÚC, TÍNH CHẤT VÀ CÁC NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CỦA VẬT LIỆU CHITOSAN COMPOSITE.....	17
1.4.1. Cấu trúc và một số tính chất cơ bản của chitosan.....	17
1.4.2. Tính chất của màng từ chitosan	17
1.4.3. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm vi sinh của chitosan.....	18
1.4.4. Phối trộn chitosan với một số thành phần khác	20
1.4.5. Bổ sung các chất độn tạo kích thước nano vào màng phủ chitosan	21
1.4.6. Ứng dụng của màng phủ nanocompozit từ chitosan.....	22
CHƯƠNG 2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	25
2.1. NGUYÊN LIỆU, HÓA CHẤT VÀ DỤNG CỤ	25

2.1.1.	Nguyên liệu	25
2.1.2.	Hóa chất.....	25
2.1.3.	Dụng cụ	25
2.2.	TỔNG HỢP PHỨC HỢP [RuT \subset HP β CD].....	26
2.1.	CHẾ TẠO HỖN HỢP LỎNG TẠO MÀNG PHỦ TỪ CHITOSAN VÀ PHỨC HỢP [RuT \subset HP β CD].....	26
2.2.	CÁC PHƯƠNG PHÁP ĐẶC TRƯNG VÀ PHÂN TÍCH.....	26
2.2.1.	Phương pháp phổ hồng ngoại (IR).....	26
2.2.2.	Phương pháp chụp ảnh hiển vi điện tử quét (SEM).....	28
2.3.	PHƯƠNG PHÁP HÓA TÍNH TOÁN XÁC ĐỊNH TƯƠNG TÁC TRONG PHỨC HỢP	30
2.4.	CÁC PHƯƠNG PHÁP ĐÁNH GIÁ CHỈ TIÊU CHẤT LƯỢNG CỦA QUẢ	32
2.4.1.	Phương pháp xác định độ hao hụt khối lượng	32
2.4.2.	Phương pháp xác định tỉ lệ thối hỏng	32
2.4.3.	Xác định màu sắc	32
2.4.4.	Xác định độ cứng của quả.....	33
2.4.5.	Phương pháp xác định hàm lượng vitamin C	33
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....		35
3.1.	Chế tạo phức hợp của rutin với hydroxypropyl- β -cyclodextrin	35
3.1.1.	Kết quả phân tích phổ hồng ngoại	35
3.1.2.	Nghiên cứu tương tác tạo phức giữa HP β CD với RuT bằng tính toán lý thuyết.....	36
3.1.3.	Xác định hoạt tính chống oxi hóa của phức hợp.....	41
3.2.	Xác định nồng độ dung dịch CS để chế tạo màng phủ bảo quản	41
3.2.1.	Sự biến đổi màu sắc và độ thối hỏng của quả.....	41
3.2.2.	Kết quả đo SEM.....	44
3.3.	Xác định hàm lượng phức [RuT \subset HP β CD] để tạo chế phẩm bảo quản	45
3.3.1.	Đánh giá sự biến đổi màu sắc và tỉ lệ thối hỏng	45

3.3.2. Kết quả chụp SEM bề mặt của lớp phủ	47
3.3.3. Kết quả đo sự tổn hao khối lượng	48
3.3.4. Kết quả đo màu sắc và độ cứng của quả	49
3.3.3. Xác định hàm lượng vitamin C	58
CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	60
4.1. KẾT LUẬN	60
4.2. ĐÓNG GÓP VÀ KIẾN NGHỊ	60
TÀI LIỆU THAM KHẢO	i

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan bản luận văn này là công trình nghiên cứu của cá nhân tôi dưới sự hướng dẫn khoa học của TS. Phạm Thị Lan. Các số liệu, tài liệu tham khảo được trích dẫn trong luận văn này là trung thực. Những kết quả nghiên cứu này không trùng với bất cứ công trình nào đã được công bố trước đó.

Tôi chịu trách nhiệm với lời cam đoan của mình.

Hà Nội, ngày 18 tháng 10 năm 2022

Tác giả

Nguyễn Thị Hằng

LỜI CẢM ƠN

Với lòng biết ơn sâu sắc, tôi chân thành gửi lời cảm ơn đến TS. Phạm Thị Lan, người thầy đã hướng dẫn, tạo điều kiện thuận lợi, hỗ trợ tôi trong suốt quá trình thực hiện luận văn.

Tôi xin trân trọng cảm ơn các thầy, cô giáo trong Khoa Hóa học, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã truyền đạt kiến thức, kinh nghiệm quý báu, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin gửi lời cảm ơn Nhiệm vụ khoa học và công nghệ theo Nghị định thư NĐT/BY/22/01 đã hỗ trợ kinh phí giúp tôi thực hiện đề tài luận văn này

Tôi xin cảm ơn các anh chị và các bạn sinh viên đang học tập và nghiên cứu tại Khoa hóa học, Học viện Khoa học và Công nghệ và Phòng Nghiên cứu Ứng dụng và Triển khai công nghệ, Viện Kỹ thuật nhiệt đới đã khích lệ, động viên, hỗ trợ tôi trong suốt quá trình thực hiện luận văn.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn Ban Giám đốc học viện Khoa học và Công nghệ đã tạo điều kiện cho tôi được học tập và nghiên cứu.

Cuối cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn tới gia đình, bạn bè đã động viên, quan tâm, khích lệ tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Hà Nội, tháng 10 năm 2022

Học viên

Nguyễn Thị Hằng

III

DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU VIẾT TẮT

1. Thuật ngữ

Ký hiệu	Tên đầy đủ
SEM	Scanning Electron Microscope (Phương pháp đo kính hiển vi điện tử quét)

2. Hóa chất

Ký hiệu	Tên
EtOH	Ancol etylic
CS	Chitosan
CS/[RuT ⊂ HPβCD]	Chế phẩm màng CS/[RuT ⊂ HPβCD]
CD	Cyclodextrin
α-CD	α- Cyclodextrin
β-CD	β- Cyclodextrin
γ-CD	γ- Cyclodextrin
CMC	carboxymethylxenlulozo
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
HPβCD	2-hydroxypropyl-β-xyclodextrin
[RuT ⊂ HPβCD]	Phức [RuT ⊂ HPβCD]
RuT	Rutin

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1. 1: Cấu trúc của β -cyclodextrin, bao gồm (a) cấu trúc phân tử và (b) mô phỏng cấu trúc dạng không gian	11
Hình 1. 2: Cấu trúc của rutin.....	15
Hình 1. 3: Cấu trúc của chitin và chitosan	17
Hình 2. 1: Sơ đồ nguyên lý của máy quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier ...	27
Hình 2. 2: Máy quang phổ hồng ngoại Nicolet iS10.	28
Hình 2. 3: Sơ đồ nguyên lý kính hiển vi điện tử quét (SEM).	29
Hình 2. 4: Cấu trúc phân tử HP β CD (nhìn từ trên xuống dưới, và nhìn bên sang) và phân tử rutin.....	30
Hình 3. 1: Phổ FT-IR của RuT (a), HP β CD (b) và phức [RuT \subset HP β CD] (c). ...	36
Hình 3. 2: Cấu hình tương tác ưu tiên của RuT và HP β CD trong nước.....	37
Hình 3. 3: Đồ thị biểu diễn mối tương quan giữa phần trăm bắt gốc tự do của DPPH với nồng độ của phức hợp [RuT \subset HP β CD]	41
Hình 3. 4: Hình chụp SEM của vỏ quả xoài (a) không phủ, (b) có lớp phủ CS 1,5%, (c) có lớp phủ CS 2%, (d) có lớp phủ CS 2,5%.....	44
Hình 3. 5: Ảnh SEM chụp bề mặt của các lớp phủ với hàm lượng a) CS2%; b) CS2%/phức 0,2%; c) CS2%/phức 0,5%; d) CS2%/phức 1,0%; e) CS2%/rutin 0,5%.....	48
Hình 3. 6: Tồn hao khối lượng của mẫu xoài đối chứng (CS2%) (M11, M12, M13) và có lớp màng phủ (CS2% /phức 0,5%) (M21, M22, M23).	49
Hình 3. 7: Biểu đồ biểu thị sự thay đổi màu sắc	58
Hình 3. 8: Biểu đồ biểu diễn sự thay đổi độ cứng của quả xoài	58
Hình 3. 9: Hàm lượng vitamin C của quả xoài khi có và không có lớp phủ CS2%/RuT-HP β CD 0,5%.	59

DANH MỤC BẢNG BIỂU

Bảng 3. 1: Năng lượng tương tác E_{int} giữa rutin và hydroxypropyl- β -cyclodextrin trong các môi trường chân không và nước.	36
Bảng 3. 2: Kết quả phân tích HOMO và LUMO của RuT và HP β CD trong chân không và nước.	38
Bảng 3. 3: Sự thay đổi màu sắc của xoài sau 13 ngày bảo quản với 4 công thức: mẫu không phủ, mẫu CS 1,5%, mẫu CS 2,0%; mẫu CS 2,5%.	43
Bảng 3. 4: Tỷ lệ thối hỏng (%) của quả xoài trong mẫu đối chứng, mẫu CS 1,5%;	44
Bảng 3. 5: Sự thay đổi màu sắc của xoài sau 18 ngày bảo quản tương ứng với 4 công thức CS 2%; CS 2%/phức 0,2%; CS 2%/phức 0,5%; CS 2%/phức 1%	45
Bảng 3. 6: Tỷ lệ thối hỏng (%) của xoài trong mẫu đối chứng (CS2%) và 3 chế phẩm màng CS 2%/phức 0,2%; CS 2%/phức 0,5%; CS 2% /phức 1%.....	47
Bảng 3. 7: Kết quả xác định màu sắc và độ cứng của các mẫu quả theo thời gian	50

MỞ ĐẦU

1. Lí do chọn đề tài

Việt Nam là một đất nước nông nghiệp, nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới, nóng ẩm, gió mùa có nhiều loại rau, củ quả theo mùa, nếu không bảo quản kịp thời sẽ dẫn đến tình trạng thâm, hư hỏng, ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm, không thể xuất khẩu bán ra thị trường nước ngoài. Nếu việc sử dụng màng bọc nilon hay màng bọc PE là những vật liệu mất cả thập kỉ, thế kỉ để phân hủy, đã và đang gây ra vấn đề ô nhiễm môi trường nghiêm trọng không những ở Việt Nam mà còn ở nhiều nước trên toàn thế giới. Chitosan là một polime được sử dụng để tạo lớp phủ bảo vệ các loại thực phẩm. Nếu sử dụng màng bọc chitosan dễ phân hủy, ta dễ dàng điều chỉnh độ ẩm, độ thoáng khí, lại an toàn và thân thiện với môi trường. Thời gian gần đây, việc kết hợp chitosan với một số hoạt chất để bảo quản thực phẩm đang được nghiên cứu, phát triển và ứng dụng rộng rãi.

Hiện nay, ở nước ta có rất nhiều loại nguyên liệu chiết xuất từ thảo dược có khả năng chống oxi hóa, kháng khuẩn, tuy nhiên số lượng hoạt chất được đưa vào màng bảo quản thực phẩm, rau quả còn hạn chế. Một số nghiên cứu mới chỉ dừng lại ở mức độ thử nghiệm hoặc thương mại ở quy mô nhỏ lẻ, đối tượng riêng rẽ. Đặc biệt việc sử dụng cyclodextrin (CD) để phân tán trong nền polyme sinh học nhằm tăng cường hoạt tính chống oxi hóa, kháng khuẩn cho thực phẩm ở Việt Nam chưa được quan tâm nghiên cứu. Do đó, đề tài này sẽ nghiên cứu chế tạo màng phủ dạng kép kết hợp polysaccarit chitosan được gia cường tính chất bởi oligosaccarit CD để khắc phục nhược điểm của polyme nền; đồng thời bổ sung rutin để tăng cường hoạt tính chống oxi hóa của màng định hướng ứng dụng bảo quản quả xoài. Đây là hướng nghiên cứu rất hấp dẫn, mới mẻ, đầy triển vọng và hứa hẹn có tính khả thi cao.

2. Mục đích nghiên cứu

- Tổng hợp thành công phức hợp của 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin với rutin.
- Chế tạo thành công chế phẩm bảo quản-dung dịch lỏng tạo màng phủ trên cơ sở chitosan phối hợp với phức hợp rutin/2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin để bảo quản quả xoài.

3. Khách thể và đối tượng nghiên cứu

Việt Nam là một đất nước có khí hậu, đất đai và các điều kiện thuận lợi để hoa quả phát triển tốt với nhiều chủng loại đa dạng và phong phú. Trong số đó, xoài là một loại quả chiếm sản lượng lớn tại Việt Nam và có giá trị kinh tế cao. Trong đề tài này, xoài được lựa chọn là đối tượng để thử nghiệm khả năng bảo quản của màng phủ CS/RuT/HP β CD.

Xoài là một loại quả giàu chất dinh dưỡng, trong 100 gam thịt quả chứa 59 kcal; 0,4 g lipid; 1mg natri; 168 mg kali; 11mg canxi; 1,6 g chất xơ; 0,8 gam protein; 1,082 IU vitamin C; 0,2 mg sắt; đặc biệt trong quả chín, hàm lượng đường là 14 g. Xoài chín là một thực phẩm tốt cho trí óc, giúp bộ não làm việc tốt hơn; bên cạnh đó, những nghiên cứu đã cho thấy con người sử dụng xoài chín đã tăng khả năng chống viêm, ngăn ngừa ung thư, phòng mạch vành, tăng sức đề kháng.

4. Phạm vi và nội dung nghiên cứu

- Tổng hợp phức hợp của 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin với rutin, từ đó xác định các đặc trưng, tính chất của phức hợp nói trên bằng các phương pháp phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR), phổ tử ngoại khả kiến (UV-Vis).

- Chế tạo dung dịch lỏng tạo màng phủ từ chitosan phối hợp với phức hợp rutin/2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin; xác định các đặc trưng, tính chất của màng phủ nói trên bằng các phương pháp UV-Vis, phương pháp phân tích hình thái cấu trúc SEM...

- Đánh giá khả năng chống oxy hóa cho quả xoài bằng màng phủ chitosan/rutin/2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin.

5. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

- Kết quả nghiên cứu của đề tài luận văn sẽ cung cấp các số liệu khoa học cập nhật về quy trình tổng hợp vật liệu composite dựa trên CS, RuT và HP β CD.

- Kết quả nghiên cứu của đề tài luận văn sẽ đóng góp thêm dữ liệu vào xu hướng nghiên cứu mới về màng bảo quản có nguồn gốc từ tự nhiên, thân thiện môi trường.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. KHÁI QUÁT VỀ PHƯƠNG PHÁP BẢO QUẢN QUẢ NHIỆT ĐỐI

1.1.1. Một số phương pháp phổ biến bảo quản quả sau thu hoạch

Quả sau thu hoạch không bảo quản tốt thường ảnh hưởng bởi những vi sinh vật, vi khuẩn, đẩy nhanh quá trình phân hủy. Quả chín quá nhanh làm giảm thời gian lưu trữ, giảm giá khi bán, nên việc tìm được cách bảo quản tốt sẽ mang lại giá trị kinh tế cao cho các loại quả này.

1.1.1.1. Công nghệ màng bán thấm

Nhờ vào nghiên cứu sinh học, các nhà khoa học đã tìm ra một phương pháp bảo quản quả an toàn, chất lượng- sử dụng màng bán thấm chitosan.

Đặc tính của màng bán thấm chitosan là giúp giảm tỷ lệ trao đổi oxi, từ đó làm chậm quá trình chín của quả. Công nghệ còn giúp điều chỉnh độ thoáng, độ ẩm không khí dễ dàng, hạn chế việc ngưng đọng nước và ngăn chặn môi trường nấm mốc phát triển. Ngoài ra, màng chitosan còn làm giảm sự hao hụt khối lượng, kìm hãm độ pH, hàm lượng axit và làm chậm quá trình thâm trái, nâng cao giá trị sản phẩm xuất khẩu. Vì chitosan là một chế phẩm sinh học nên thành phẩm màng chitosan đảm bảo được tiêu chuẩn an toàn về kim loại nặng, vi sinh vật gây bệnh và dư lượng thuốc bảo vệ thực vật. Với phương pháp này, xoài có thể được kéo dài tuổi thọ đến 40 ngày. Khoảng thời gian này giúp nhà xuất khẩu an tâm hơn về chất lượng và thời gian vận chuyển đường biển đến các thị trường nước ngoài.

1.1.1.2. Phương pháp xử lý nhiệt

Xử lý nhiệt là phương pháp dùng các loại nhiệt từ nước nóng, không khí nóng hoặc hơi nước nóng để xử lý rau quả, giúp làm giảm quá trình chín, mất nước, kéo dài thời gian tồn trữ. Phương pháp này được thực hiện bằng cách nhúng xoài trong dung dịch prochloraz có nhiệt độ 55°C trong 2 phút để xử lý nhiệt. Cách xử lý này giúp phòng trừ các bệnh sau thu hoạch trên quả, đặc biệt là diệt nấm colletotrichum gây bệnh thán thư và ngăn chặn thối nhũn. Sau đó, xoài được nhúng vào nước nóng nhiệt độ 52°C trong 5 phút, rồi để ở môi trường nhiệt độ bình thường, và được phun dung dịch 0,1% chloramizol sulfat. Cuối cùng, xoài được đưa vào nước có nhiệt độ bình thường trong 40 giây để ức chế

sự phát triển bệnh thối nhũn quả. Tuy nhiên, nhược điểm của phương pháp này là nhiệt độ cao trong quá trình xử lý sẽ dễ ảnh hưởng đến chất lượng bên trong của quả.

1.1.1.3. Kho lạnh bảo quản

Trong phương pháp này nhiệt độ thấp ($10^{\circ}\text{C} - 12^{\circ}\text{C}$) được áp dụng để làm ức chế quá trình sinh lý, sinh hoá xảy ra trong quả, cũng như bản thân các vi sinh vật. Đây là một trong các phương pháp bảo quản hiệu quả nhất được biết đến hiện nay, không làm quả bị chuyển màu, mềm thối, mất mùi vị thơm ngon đặc trưng. Kết hợp với việc duy trì độ ẩm khoảng 80 – 95% giúp tránh tình trạng mất nước nhanh, giảm bớt cường độ hô hấp và sản sinh khí etilen. Thời gian bảo quản của phương pháp này kéo dài trên 30 ngày, tỷ lệ hao hụt do dập nát 5–7%, có thể vận chuyển đi xa và xuất khẩu.

Đa số các doanh nghiệp sẽ tìm đến các dịch vụ cho thuê kho lạnh để đảm bảo quả được lưu trữ bằng các phương pháp chuyên nghiệp, đồng thời giảm bớt sức ép chi phí và nhân công so với tự bảo quản.

1.1.2. Tổng quan về phương pháp dùng màng và lớp phủ bảo vệ

Sự hiện diện của sáp trên bề mặt là cơ chế bảo vệ tự nhiên của quả chống lại sự mất nước và gây hại của côn trùng và các vi sinh gây bệnh. Quá trình rửa, vệ sinh bảo quản đã làm giảm lớp sáp này. Sự bao phủ bề mặt với sáp hay các chất kỵ nước đã được dùng từ rất lâu để cải thiện quá trình bảo quản và làm tăng thị hiếu của người tiêu dùng. Các dạng sáp bào chế thường dùng bao gồm các ancol béo mạch dài, nhựa tổng hợp, chitosan và các dẫn xuất khác của cacbohidrat là các chất tạo màng, cùng các chất trợ giúp tạo màng như nhũ hóa, chất thấm ướt. Các sáp thường dùng là sáp carnauba, shellac, candelilla, sáp ong, sáp paraffin và dầu thực vật. Màng bao được tạo ra bằng cách phun, tạo sương, hoặc nhúng trên bề mặt trái bằng không khí nóng hoặc lạnh.

Rất nhiều loại nguyên liệu có thể dùng để phối chế vật liệu tạo màng bao cho trái, như các loại màng polime sinh học hoặc tổng hợp,... Nói chung, tất cả các màng bao sử dụng phải thỏa mãn được các chỉ tiêu về an toàn thực phẩm như nắm rõ mục đích sử dụng, an toàn, không vượt quá liều lượng cho phép theo GMP.

1.1.2.1. *Vật liệu tạo màng bảo quản*

Chất tạo màng trên cơ sở polisaccarit: Polisaccarit là thành phần phổ biến nhất trong các màng bảo quản quả và cũng có nhiều công thức đã được thương mại hóa. Polisaccarit thể hiện tính chất ngăn cản khí rất hiệu quả, tuy chúng có tính ưa nước và cho hơi nước thâm nhập cao hơn so với các loại màng tạo thành từ chất dẻo tổng hợp. Tuy nhiên, nhờ tính chất chống ẩm và ngăn khí thẩm thấu, các màng polisaccarit bảo vệ chống sự mất nước và làm giảm quá trình hô hấp, làm chậm quá trình chín của quả và kéo dài thời gian bảo quản. Polisaccarit áp dụng để tạo màng có thể thu được từ thực vật (xenlulozo và các dẫn xuất của chúng, pectin, tinh bột...), dịch chiết rong biển (alginate, carrageenan) và vỏ các loài giáp xác (chitosan) và các chất nhầy. Xenlulozo là polime tự nhiên có nhiều nhất. Nó có dạng tinh thể, tạo sợi và không tan trong nước. Nhiều loại màng thương mại có chứa xenlulozo. Các dẫn xuất của xenlulozo như methylxenlulozo (MC), hydroxypropylmethylxenlulozo (HPMC) và carboxymethylxenlulozo ion (CMC) hầu hết tan trong nước, là các chất tìm thấy phổ biến trong các màng bảo quản quả, đặc biệt trong các sản phẩm thương mại, chúng giảm lượng oxy hấp thu mà không làm tăng lượng cacbon đioxit trong khí quyển, ngăn cản quá trình hô hấp yếm khí. Các dẫn xuất này có thể tạo màng rất tốt và cho hơi nước, khí xâm nhập với mức độ khác nhau.

Chitin-chitosan: là polime chứa liên kết β -1,4- của 2-acetamido-2-deoxy-D-glucan. Chitosan là sản phẩm deacetyl hóa một phần của chitin có tính chất tăng cường hệ bảo vệ của cây và ức chế sự phát triển của nấm bệnh. Polime chitosan methyl hóa cho sản phẩm chịu tác động của CO₂ gấp hai lần, làm cho quả lâu chín, nhưng có độ ngăn cản bay hơi nước thấp hơn màng lipid. Hoạt tính kháng khuẩn tăng lên với sự tăng điện tích (pH < 6) và độ tan của chitosan.

Lipit: Lipit bao gồm các loại hợp chất kỵ nước, thường là các este trung hòa của glycerol và các axit béo. Trong số các lipit thường được dùng có sáp là các este của ancol mạch dài và các axit béo. Do bản chất giòn, các lipit thường được tạo ma trận với các polisaccarit, tạo nên vật liệu kép, có thể thêm các polime ưa nước làm cho màng ngăn cản được sự bay hơi nước bề mặt rất hiệu quả, vì dầu không ngăn cản được sự bay hơi của khí và nước như sáp ở trạng thái rắn. Khi lớp phủ chứa đến 75% lipit rắn có hiệu quả bảo quản

quả rất tốt, nhưng dưới 25% sẽ có sự xâm nhập hay thoát chất (nước, khí) trên bề mặt quả.

Dầu: Dầu khoáng, dầu paraffin, dầu hạt nho, monoglyceride acetyl hóa, dầu thực vật (dầu đậu phộng, dầu bắp, dầu đậu nành) cũng được dùng riêng hay kết hợp với các thành phần khác để tạo màng bảo quản quả.

Sáp: Sáp paraffin, sáp ong, sáp carnauba, sáp polyethylene, từ lâu đã được dùng riêng hay kết hợp với các thành phần khác để bảo quản quả. Sáp được phun lên bề mặt quả dưới dạng nhũ tương.

1.1.2.2. Phương pháp phối chế màng bảo quản

Nhiều loại hợp chất khác nhau có thể được dùng để phối chế màng bảo quản quả. Polisaccarit, protein và lipit là các loại vật liệu tạo màng phổ biến, chúng có thể dùng riêng lẻ hay kết hợp. Những thành phần khác tuy lượng nhỏ nhưng rất cần thiết như chất hóa dẻo, chất nhũ hóa, chất hoạt động bề mặt để chế tạo và củng cố màng. Sự hiện diện phong phú của các loại màng bảo quản quả và tính chất của màng liên quan rất nhiều đến độ bay hơi nước, oxy, cacbon đioxit và lipit chuyển vào quả. Cấu trúc cơ học và ái lực của màng với vỏ quả là những yếu tố quan trọng cần khảo sát. Để chất lượng màng tạo thành là tốt nhất, cần thiết là màng phải gắn chặt lên vỏ. Mức độ gắn kết phụ thuộc vào thành phần hóa học, ái lực tĩnh điện giữa màng và bề mặt vỏ. Sự bám dính càng cao càng kéo dài thời gian bảo quản. Tuy vậy, khi màng áp dụng chúng phải tạo màng đồng nhất. Để cải thiện độ bám dính lớp màng cần các chất hoạt động bề mặt để tạo khả năng thấm ướt và kết dính.

❖ Màng sáp

Phương pháp cổ điển là dùng sáp để bao phủ quả nhằm mục đích ngăn cản sự mất nước làm cho quả không bị co ngót và hư hỏng, đôi khi các chất màu cũng được thêm vào làm cho màu sắc của quả trông hấp dẫn hơn.

Một loại sáp thương mại với công thức đặc biệt chứa 18% chất rắn với các phụ gia thực phẩm như: shellac (E904), polyethylene oxide (E914), chất điều chỉnh và dung môi (các axit béo, ammonium hydroxide, casein, dimethyl polysiloxane và nước khử ion). Sáu mươi gam mỗi muối (sodium carbonate và bicarbonate, potassium carbonate và bicarbonate, ammonium bicarbonate, và potassium sorbate) được hòa tan trong 1L dung dịch để được nồng độ sau cùng là 6% được sử dụng để bảo quản các loại cam ‘Comune Clementines’, ‘Tarocco’

và ‘Valencia Late’. Kết quả cho thấy rằng tỉ lệ mắc bệnh của quả rất thấp (nhỏ hơn 1%) và mô hình này khá hiệu quả và dễ áp dụng để bảo quản quả, không đòi hỏi thêm thiết bị [1].

❖ *Màng chitosan*

Sự thất thoát rất lớn về kinh tế đối với quả sau thu hoạch bởi các loại nấm trong suốt quá trình vận chuyển, lưu trữ, được giảm thiểu đáng kể bằng cách sử dụng thuốc trừ nấm tổng hợp. Tuy nhiên, sự quan tâm của cộng đồng về dư lượng thuốc bảo vệ thực vật trong thực phẩm và môi trường, do đó rất cần thiết để tìm ra các phương pháp khác an toàn hơn để kiểm soát quá trình hư hại của quả sau thu hoạch nhằm thay thế các loại thuốc trừ nấm tổng hợp. Chitin và dẫn xuất chitosan của nó là nguồn polime sinh học dồi dào, có khả năng tái sinh cao được ứng dụng rộng rãi trong bảo quản nhiều loại quả sau thu hoạch trong số đó có cam quýt. Do chitin và dẫn xuất chitosan của nó có hoạt tính kháng khuẩn rất lớn và có khả năng phân hủy sinh học. Chúng có hiệu quả ức chế các bệnh sau khi thu hoạch của quả do ức chế trực tiếp sự phát triển của bào tử nấm, sự kéo dài ống mầm, hệ sợi nấm và gián tiếp cảm ứng hệ enzym bảo vệ của quả. Oligochitosan cũng được khảo sát như là một loại vacxin thực vật, nhằm ngăn ngừa bệnh cho cây trồng và các sản phẩm nông nghiệp. Ảnh hưởng của chitosan trên bệnh mốc xanh và chất lượng của cam đã được tiến hành [2]. Theo đó, quả cam được làm xước rồi xử lý với chitosan ở các nồng độ khác nhau 24 giờ trước khi chủng nấm bệnh *Penicillium digitatum*. Kết quả cho thấy rằng, mốc xanh giảm đáng kể sau khi được xử lý với chitosan và hoạt tính của chitinase và glucanase được tăng cường trên quả cam được tạo màng bao chitosan. Nhìn chung, màng bao chitosan có ảnh hưởng lớn trên tính kháng nấm của nó chống lại các loại bệnh và tăng cường hệ sinh hóa bảo vệ trong các quả được tạo màng. Hơn nữa các phẩm chất của quả như độ chắc, màu sắc bề mặt, hàm lượng nước, chất rắn tan toàn bộ không bị ảnh hưởng bởi chitosan trong suốt quá trình bảo quản.

❖ *Màng kết hợp giữa chitosan và các polime khác*

Sự quan tâm nhiều của cộng đồng về các màng bảo quản quả có thể phân hủy sinh học và ăn được nhằm thay thế các loại sáp tổng hợp để giữ chất lượng của quả sau thu hoạch, một loại màng hai lớp có thể ăn được trên cơ sở polisaccarit là carboxymethylxenlulozo (CMC) và chitosan đã được phát triển để bảo quản

các loại quả khác nhau, cho thấy hiệu quả tương đương màng polyetilen thương mại [3]. Hơn nữa màng hai lớp CMC/chitosan còn làm tăng độ chắc của quả, tuy vậy không hiệu quả trên độ giảm khối lượng.

❖ **Màng kết hợp giữa chitosan và dịch chiết thực vật kháng nấm**

Một phương pháp bảo quản màng chitosan (1.5%) được thêm dịch chiết trái sung đảm bảo chất lượng của quả, có thể lưu trữ trong thời gian dài lên đến 120 ngày bảo quản lạnh so với đối chứng, có tốc độ phân hủy và mất khối lượng thấp, làm chậm quá trình chín và giữ được đặc tính cảm quan của quả tốt [4]. Quả có chất lượng cao hơn do bị ức chế trong quá trình hô hấp, giảm sự tích lũy của malondialdehyde, củng cố hoạt tính của enzym bảo vệ như: superoxide dismutase, peroxidase, chitinase và 1,3-glucanase.

Màng trên cơ sở chitosan kết hợp với dịch chiết riêng rẽ của cây sồi, hoa bia và táo nâu được đánh giá và so sánh tương quan giữa cấu trúc, tính chất hóa lý và tính chất kháng khuẩn, cho thấy màng kết hợp chitosan với dịch chiết của cây sồi hoặc hoa bia cho khả năng kháng khuẩn *Bacillus subtilis* như nhau [5].

Màng trên cơ sở chitosan kết hợp với các dịch chiết của hạt giống cải xoong, lá olive, vỏ lựu và vỏ quả đậu senna được phối chế và đánh giá tính chất kháng nấm gây mốc xanh trên quả cam [6]. Kết quả cho thấy tất cả các dịch chiết đều có khả năng kháng nấm; mạnh nhất là dịch chiết hạt cải xoong, thứ hai là dịch chiết vỏ lựu. Việc sử dụng riêng rẽ mỗi dịch chiết làm giảm đáng kể sự phát triển và khả năng sống sót của nấm. Sự kết hợp với chitosan của cả hai loại dịch chiết hạt cải xoong và vỏ lựu tạo màng bảo quản rất tốt cho quả, ngăn cản sự phát triển của mốc xanh sau 2 tuần lưu trữ.

Nhũ tương chitosan kết hợp CMC tạo màng phối hợp với nano bạc trong dịch chiết etanol của thảo dược có khả năng kháng khuẩn và kháng nấm như cây tầm bóp đã được triển khai bước đầu, kết quả cho thấy quả cam được tạo màng bảo quản thì còn tốt đến 30 ngày ở điều kiện phòng [7]. Những chỉ tiêu chất lượng như hàm lượng vitamin C, độ hao hụt khối lượng của quả đều ổn định, hơn nữa cảm quan màu sắc và độ cứng của quả không thay đổi đáng kể; ngược lại các mẫu xử lý không màng bao mau hư hỏng. Chitosan (2%) cũng được kết hợp với các chiết xuất tự nhiên của olive (4%), lá hương thảo (4%) và sả (3%) để tạo màng bảo quản cam vàng navel [7]. Quả được trữ lạnh 12 tuần ở 5°C trong 2 mùa liên tục và được đánh giá để xác định những biến

đổi chất lượng. Kết quả cho thấy tất cả các xử lý đều có giảm sự hao hụt khối lượng, làm chậm quá trình phân hủy, biến đổi khối lượng nước của trái, tổng lượng chất rắn tan, độ axit, carotene và vitamin C so với trái không xử lý, đặc biệt tốt với mẫu chứa dịch chiết hương thảo.

❖ *Màng kết hợp giữa chitosan và vi sinh*

Sự kết hợp giữa chitosan và *Pichia membranaefaciens* được sử dụng để kiểm soát bệnh thán thư trên quả cho thấy tỉ lệ nhiễm bệnh và tổn thương của quả giảm đáng kể [8]. Quá trình xử lý có thể giám sát các dạng oxy hoạt động để cảm ứng hệ thống bảo vệ màng tế bào khỏi bị hư hại, làm tăng hoạt tính của phenylalanine ammonialyase, tích lũy lignin, làm giảm hoạt tính của các enzym liên hệ với thành tế bào và giữ cho các hợp chất liên hệ với thành tế bào (pectin, xenlulozo: polygalacturonase, pectin methylestease, xellulase) giữ được tính toàn vẹn của tế bào vỏ quả để chống lại bệnh thán thư. Việc áp dụng nội bào tử *Bacillus subtilis* ABS- S14 một loại dịch chiết thô từ môi trường nuôi cấy kháng sinh lipopeptide vòng và chitosan cho thấy màng làm giảm đáng kể hư hao trái cam do bệnh mốc xanh gây ra bởi *Penicillium digitatum*. Nấm ký sinh *Verticillium lecanii* và chitosan đều có khả năng là làm giảm đáng kể hư hao quả do bệnh mốc xanh gây ra bởi *Penicillium digitatum* trong việc bảo quản cam.

❖ *Màng polime tổng hợp kết hợp với phụ gia kháng nấm cho phép (GRAS)*

Polime tổng hợp cũng được áp dụng rộng rãi trong việc tạo màng bảo vệ cam quýt sau thu hoạch chứa hydroxypropyl methylxenlulozo (HPMC) với lipit ăn được và các phụ gia thực phẩm GRAS với tính kháng nấm [9]. Công thức phối chế với nhũ tương bền chứa hàm lượng chất rắn (6–12%), lipit (sáp ong và shellac) tổng số (60%) thành phần kháng nấm (natri benzoate hoặc kali sorbate riêng rẽ hoặc trộn với natri propionate) (0.05 – 4.5%). Kết quả chứng tỏ màng có thể chống lại các loại mốc xanh trên vỏ cam trong 7 ngày lưu trữ ở 20⁰C và lên đến 60 ngày ở 5⁰C. Sự kết hợp giữa hydroxypropyl methylxenlulozo, sáp ong và các muối kháng nấm cho phép (GRAS) như: ammonium carbonate, potassium sorbate, potassium carbonate, sodium methylparaben, sodium ethylparaben, sodium benzoate và potassium silicate để bảo quản cam vàng valencia, với tỷ lệ tối ưu cho thấy sự nhiễm bệnh thán thư trên cam giảm rất nhiều (70%), các tính

chất hóa lý và cảm quan vẫn giữ tốt, tuy vậy màng không giữ được sự hao hụt khối lượng.

1.1.3. Màng phủ bảo quản trên cơ sở chitosan

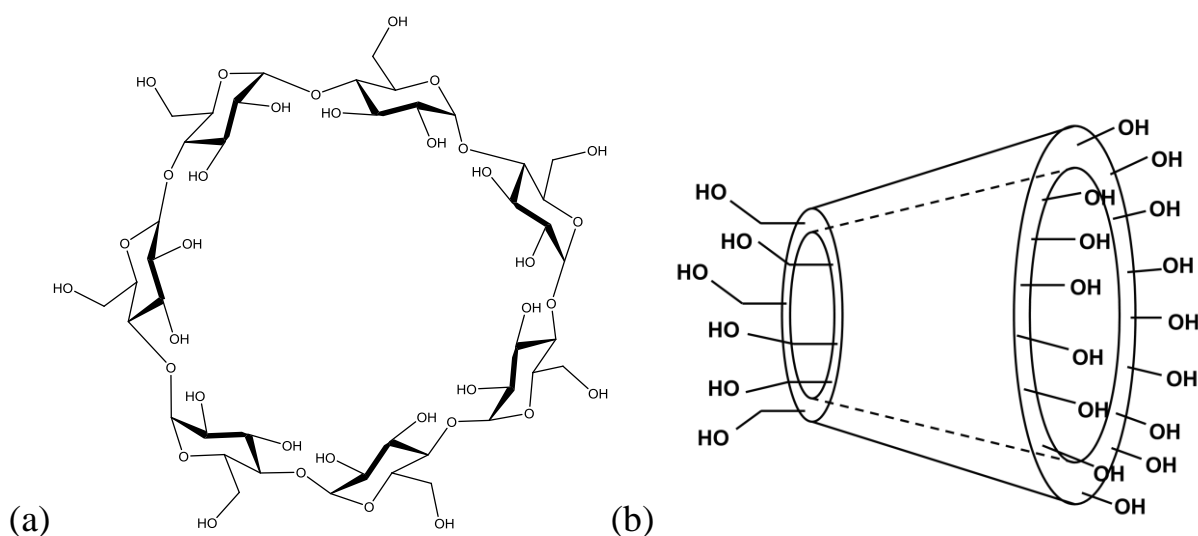
Nhóm tác giả Phạm Thị Hà Vân, Lê Sĩ Ngọc, Nguyễn Thị Thúy Liễu, Nguyễn Hoàng Thảo Ly đã chế tạo thành công dung dịch tạo màng chitosan kết hợp nano bạc để bảo quản thanh long ruột đỏ và hiệu quả tốt. Chất lượng thanh long khá ổn định và thời gian tồn trữ cao hơn so với nghiệm thức đối chứng. Dung dịch chứa 1% chitosan và 7,5 mM nano bạc phối trộn theo tỉ lệ 3:1 cho kết quả tốt nhất, thanh long tồn trữ được 19 ngày ở nhiệt độ thường ($26\pm 10^{\circ}\text{C}$) và 30 ngày ở nhiệt độ lạnh ($6\pm 1^{\circ}\text{C}$) [10]. Tác giả Bùi Xuân Vương đã công bố kết quả nghiên cứu tổng hợp vật liệu composite hydroxyapatite/chitosan, theo đó, kích thước hạt hydroxyapatite phân tán phụ thuộc vào hàm lượng chitosan trong thành phần composite tổng hợp. Khối lượng riêng và độ bền nén của các mẫu composite hydroxyapatite /chitosan cho các giá trị phụ thuộc cường độ ép tạo mẫu. Các giá trị này tăng theo cường độ ép tạo mẫu. Ngoài ra, khối lượng riêng và độ bền nén trong composite chứa nhiều chitosan có giá trị cao hơn [11]. Năm 2018, nhóm tác giả Lê Trần Tiên Châu đã tổng hợp thành công vật liệu nano bạc/chitosan composite có khả năng ức chế hai dòng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* và *Candida albicans* với giá trị MIC lần lượt là 5 và 10 ppm [12]. Cũng trong năm đó, nhóm tác giả Nguyễn Lê Đại Phúc đã tổng hợp vật liệu chitosan biến tính bằng cao chiết lá chè xanh. Kết quả cho thấy, vật liệu được tạo thành có hoạt tính kháng khuẩn trên cả hai dòng vi khuẩn Gram âm *E. coli* và Gram dương *S. aureus* [13]. Trong khi đó, nhóm tác giả của Đại học Nguyễn Tất Thành đã tổng hợp được màng kháng khuẩn dựa trên chitosan và chiết xuất trà không ở mức 1-3%, cải thiện đáng kể hoạt tính kháng khuẩn gây bệnh *Salmonella typhimurium* cũng như tăng độ cản sáng cho vật liệu, giúp cho việc bảo quản thực phẩm được hiệu quả hơn [14]. Cũng với hướng nghiên cứu này, một nhóm tác giả của Đại học Nguyễn Tất Thành đã chế tạo được màng kháng khuẩn chitosan kết hợp với chiết xuất lá bần ổi, cải thiện hoạt tính kháng khuẩn của màng chitosan thông qua khả năng ức chế hoàn toàn đối với hai loại vi khuẩn gây bệnh là *S. typhimurium* và *Pseudomonas aeruginosa* sau 24 giờ nuôi cấy [15]. Trong khi đó, nhóm tác giả của Đại học Công nghiệp Hà Nội đã nghiên cứu quá trình giải phóng quinin sulfate từ vật liệu tổ hợp polyacid

lactic/chitosan/quinin sulfate [16]. Kết quả cho thấy, với mẫu vật liệu polyacid lactic /chitosan mang hàm lượng quinin sulfate càng cao thì tốc độ giải phóng quinin sulfat càng chậm. Mẫu vật liệu tổ hợp polyacid lactic/chitosan mang 50% quinin sulfat có tốc độ giải phóng quinin sulfat nhỏ nhất. Trong môi trường pH bằng 7,4 tốc độ giải phóng quinin sulfat lớn hơn trong môi trường pH bằng 2,0.

1.2. CYCLODEXTRIN VÀ PHỨC HỢP THÀNH PHẦN LÔNG NHAU

1.2.1. *Khái quát về cyclodextrin và phức hợp thành phần lồng nhau*

Cyclodextrin là nhóm các hợp chất tự nhiên được tạo thành bởi quá trình biến đổi tinh bột do enzym. Phân tử cyclodextrin bao gồm sáu, bảy hoặc tám tiểu phân glucopyranose nối với nhau bằng liên kết α -(1 \rightarrow 4) glycoside tương ứng với α -, β - và γ -cyclodextrin. Chúng tạo thành hình dạng một khối hình nón cụt với rãnh rộng ở giữa gồm nhiều nhóm -OH rất ưa nước (Hình 1.1). Cấu trúc này cộng với một số tính chất đặc trưng cho phép cyclodextrin có khả năng bảo vệ khỏi oxy và ánh sáng.



Hình 1. 1: Cấu trúc của β -cyclodextrin, bao gồm (a) cấu trúc phân tử và (b) mô phỏng cấu trúc dạng không gian

Cyclodextrin có thể tan khá tốt trong nước. Cụ thể, α -, β - và γ -cyclodextrin có độ tan trong nước lần lượt là 145, 18,5 và 232 g/L. Bởi kém tan trong nước nhất trong ba loại cyclodextrin nên β -cyclodextrin thường được sử dụng làm chất mang cho một số loại thuốc. Các dẫn xuất của nó cũng được nghiên cứu với mục đích cải thiện hoặc làm giảm bớt khả năng hòa tan trong nước. Trong công

bổ vào năm 1997, Lemesle – Lamache đã điều chế ethyl- β -cyclodextrin nhằm làm giảm tính tan trong nước nhằm kéo dài quá trình giải phóng và sinh khả dụng của dược chất được hấp phụ khi sử dụng cyclodextrin làm chất mang [17]. Công bố này đã chỉ ra rằng, mức độ và vị trí của các nhóm thế ethyl có thể thay đổi đáng kể độ tan của cyclodextrin. Sự ethoxy hóa nhóm OH ở các vị trí C-2 có thể tạo ái lực mạnh hơn với nhóm OH ở C-3, từ đó làm giảm khả năng hòa tan của cyclodextrin.

1.2.2. Các phương pháp điều chế phức hợp cyclodextrin

Theo tổng hợp của Patil và cộng sự, để điều chế phức hợp cyclodextrin, có thể sử dụng các phương pháp sau [18]:

1.2.2.1. Phương pháp nhào trộn

Hỗn hợp rắn bao gồm chất cần phối trộn và cyclodextrin được trộn trong máy trộn hoặc cối, nghiền nhỏ sau đó rây để thu lấy kích thước mong muốn. Quá trình cần tiến hành trong phòng có điều khiển độ ẩm và nhiệt độ thích hợp.

1.2.2.2. Phương pháp đông kết tủa

Để tiến hành theo phương pháp đông kết tủa, dược chất cần được hòa tan trong dung dịch cyclodextrin. Hỗn hợp được khuấy ở tốc độ thích hợp và tránh ánh sáng. Kết tủa khi tạo thành sẽ được lọc dưới áp suất chân không và làm khô ở nhiệt độ phòng để tránh bị mất nước trong cấu trúc. Phương pháp này thích hợp cho quy mô phòng thí nghiệm nhưng không thích hợp cho công nghiệp bởi cần sử dụng nhiệt và dung môi hữu cơ, đồng thời hiệu suất tạo sản phẩm không cao.

1.2.2.3. Phương pháp kết tủa trung hòa

Phương pháp này dựa trên sự kết tủa của các hợp chất thành phần khi trung hòa, bao gồm cyclodextrin và dược chất hòa tan trong dung dịch kiềm. Khi sử dụng axit để trung hòa, kết tủa phức chất có thể xuất hiện và được tách ra rồi làm khô. Nhược điểm của phương pháp này là có thể gây phân hủy chất do pH của môi trường quá cao hoặc quá thấp.

1.2.2.4. Phương pháp sấy phun

Đây là phương pháp phổ biến trong công nghiệp dược, chuyên dùng để sấy thuốc, tránh nhiễm khuẩn, tránh độ ẩm. Hỗn hợp được đi qua một bộ phận

chuyên dụng với áp suất lớn để phun thành các giọt nhỏ, sau đó dùng dòng khí để tách âm. Phương pháp này thường cho hiệu quả hơn so với các phương pháp đã đề cập ở trên.

1.2.2.5. Phương pháp xay nghiền

Ở phương pháp này, dược chất và cyclodextrin được trộn đều trong khoảng thời gian xác định, đồng thời được nghiền nhỏ. Có thể tiến hành quá trình này trong máy nghiền bi, sau đó rây sản phẩm để thu lấy sản phẩm phù hợp. Ưu điểm của phương pháp là không sử dụng đến dung môi hữu cơ cũng như các hóa chất độc hại khác.

1.2.3. Một số nghiên cứu về ứng dụng của β -cyclodextrin

Ứng dụng phổ biến nhất của β -cyclodextrin là làm chất mang để giải phóng từ từ dược chất trong y học hoặc chất bảo vệ thực vật trong nông nghiệp. Sự thay đổi về khả năng hòa tan của các dẫn xuất cyclodextrin có thể làm tăng hoặc giảm đáng kể sinh khả dụng của thuốc. Sajeesh và cộng sự đã thử nghiệm khả năng giải phóng hormone của phức hợp chứa β -cyclodextrin với insulin [19]. Theo đó, các vi hạt composite của ethylene glycol dimethylacrylate, chitosan và polyethylene glycol, cùng với kali persulfate được bổ sung thêm methyl- β -cyclodextrin hấp phụ insulin trong đệm phosphate ở các nồng độ khác nhau được đưa vào cơ thể chuột thí nghiệm bị bệnh tiểu đường do streptozotocin. Kết quả cho thấy, phức hợp chứa insulin giúp kéo dài tác dụng của hormone so với khi sử dụng hormone trực tiếp hoặc sử dụng vi hạt không chứa insulin. β -cyclodextrin cũng được sử dụng để làm tăng hiệu quả đối với các chất kháng khuẩn. Usnic axit là một hợp chất có khả năng kháng khuẩn tốt, tuy nhiên, hạn chế lớn nhất của nó là độ hòa tan trong nước rất kém cũng như gây độc cho gan. Lira và cộng sự đã điều chế phức hợp β -cyclodextrin với usnic axit để đưa vào trong liposome nhằm đưa thuốc tới đích tác dụng. Kết quả cho thấy phức hợp này giải phóng usnic axit chậm hơn và do đó có thể giảm độc tính cấp cho gan hơn so với axit usnic tự do [20].

Ở Việt Nam, phức hợp β -cyclodextrin với các hoạt chất hoặc dược chất cũng bắt đầu được nghiên cứu trong vài năm trở lại đây. Năm 2017, nhóm tác giả Nguyễn Cao Hiền và cộng sự đã tổng hợp hệ nano hydroxypropyl- β -cyclodextrin/alginate làm vật liệu mang thuốc. Kết quả cho thấy, hệ nano mới được hình thành tương tác tĩnh điện giữa Ca^{2+} /alginate và hydroxypropyl- β -

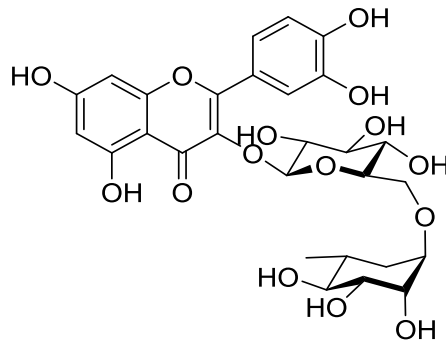
cyclodextrin có kích thước hạt nano thu được khá đồng đều trong khoảng 50 - 80 nm. Phức của thuốc trị sốt rét artesunate với vật liệu có hiệu suất mang đạt được 88% [21]. Năm 2018, nhóm tác giả tại Đại học Cần Thơ đã công bố nghiên cứu phức hợp curcumin với hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Theo đó, độ hòa tan của curcumin trong phức hợp curcumin - hydroxypropyl- β -cyclodextrin trong nước lần lượt cao gấp 159 với curcumin thô trong nước. Chuột được cho uống phức hợp curcumin - hydroxypropyl- β -cyclodextrin có nồng độ curcumin trong máu cao khoảng 5 lần so với chuột được uống curcumin thô ở thời điểm 8h sau khi uống. Nghiên cứu này cho thấy việc kết hợp curcumin với hydroxypropyl- β -cyclodextrin có thể làm tăng đáng kể sinh khả dụng của hoạt chất [22].

Có thể nói, tiềm năng ứng dụng của β -cyclodextrin là rất đáng ghi nhận. Tuy nhiên, vẫn còn ít những công trình công bố liên quan đến phức hợp β -cyclodextrin tại Việt Nam. Mặt khác, chưa có công bố nào ứng dụng phức hợp của β -cyclodextrin trong kỹ thuật bảo quản thực phẩm. Do đó, những kết quả trong luận văn này có thể đóng góp thêm thông tin khoa học cho việc mở rộng nghiên cứu và ứng dụng các phức hợp β -cyclodextrin tại Việt Nam.

1.3. CẤU TẠO, NGUỒN GỐC VÀ MỘT SỐ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA RUTIN

1.3.1. Cấu tạo và một số nguồn tự nhiên của rutin

Rutin có công thức phân tử là $C_{28}H_{32}O_{15}$, phân tử khối bằng 608,17. Đây là một flavonol glycoside tự nhiên, dạng bột màu vàng, tan khá hạn chế trong nước. Tại Việt Nam, rutin được biết tới như là hoạt chất chính trong hoa hòe, một loại thảo dược có tác dụng cầm máu, tăng cường độ bền vững của thành mạch máu. Cho tới nay, rutin đã được tìm thấy trong hơn 70 loài thực vật khác nhau, trong đó, ngoài hoa hòe thì tam giác mạch cũng được xem là nguồn rutin tự nhiên phổ biến tại nhiều quốc gia trên thế giới.



Hình 1. 2: Cấu trúc của rutin

Trong thực tế, rutin có thể được phân lập bằng nhiều phương pháp khác nhau như chiết Soxhlet, chiết bằng sóng siêu âm, chiết bằng vi sóng, chiết bằng enzym, hoặc chiết siêu tới hạn. Việc tinh chế rutin có thể được tiến hành bổ sung bằng các phương pháp như sắc ký cột, sắc ký điều chế hoặc kết tinh lại để làm tăng độ tinh khiết của hoạt chất.

1.3.2. Một số hoạt tính sinh học của rutin

1.3.2.1. Hoạt tính chống oxy hóa

Các flavonoids từ lâu đã được biết đến là những chất có hoạt tính quét gốc tự do, chống oxy hóa mạnh. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, rutin có khả năng trung hòa rất tốt các gốc tự do gây hại cho cơ thể như hydroxyl, superoxide, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,20-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic axit) (ABTS), lipid peroxide hoặc FRAP và CUPRAC [23].

1.3.2.2. Hoạt tính kháng vi sinh vật

Khả năng kháng khuẩn là một hoạt tính nổi bật của rutin. Các hoạt chất thường thể hiện khả năng kháng khuẩn thông qua ba cơ chế chính: phá hủy màng tế bào chất [24], ức chế tổng hợp DNA hoặc RNA [25], và ức chế các chất chuyển hóa năng lượng [26]. Theo nghiên cứu của Mazzeo và cộng sự, rutin thể hiện hoạt tính kháng khuẩn theo cơ chế biến đổi bậc của các protein liên quan đến cơ chế đáp ứng stress, làm rối loạn các quá trình chuyển hóa, hình thành carbohydrate, amino acid và protein cũng như gây rối loạn sự hình thành màng tế bào [27]. Hoạt tính kháng khuẩn của rutin lần đầu được nghiên cứu bởi Rym và cộng sự năm 1996 [28]. Vào năm 2013, Soni và cộng sự đã nghiên cứu về hoạt tính ức chế vi khuẩn *S. aureus*, *S. glurance* và *E. coli*, sử dụng phương pháp đục lỗ trên đĩa thạch. Kết quả cho thấy, rutin cho khả năng kháng khuẩn rất tốt trên các dòng vi khuẩn nói trên [29]. Một nghiên cứu khác cũng chỉ ra rằng,

sự có mặt của rutin có khả năng kích thích hoạt tính chống lại vi khuẩn gram âm *Salmonella enteritidis* của các flavonoids khác như quercetin, morin, galangin, kaempferol, myricetin hay fisetin [30]. Một nghiên cứu năm 2010 cũng chứng minh rằng, rutin thể hiện hoạt tính ức chế mạnh với một số dòng vi khuẩn, vi nấm, trong đó bao gồm cả vi khuẩn kháng thuốc thuộc loài *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. aureus* và *C. krusei* [31]. Một nghiên cứu khác vào năm 2013 cũng cho biết, rutin phân lập từ cây thuốc lá có khả năng ức chế nhiều dòng vi khuẩn (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. oxytoca*, *B. subtilis*), vi nấm (*C. albicans*), giun sán (*A. galli*, *P. phostuma*) và ấu trùng sâu bọ (*S. aegypti*) [32].

Bên cạnh khả năng kháng khuẩn và kháng nấm, khả năng kháng virus của rutin cũng được công bố bởi một số nhóm nghiên cứu. Theo đó, rutin cùng với quercetin có khả năng kháng virus gây bệnh herpes, virus hợp bào hô hấp, virus bại liệt và virus Sindbis theo cơ chế ức chế các polymerase của virus, đồng thời gắn kết lên các DNA của chúng [33].

1.3.2.3. Hoạt tính kháng viêm

Rutin có khả năng ức chế một số enzym liên quan đến quá trình viêm trong cơ thể sống. Rabiskova đã nghiên cứu khả năng kháng viêm ruột già của viên nén rutin được bao ngoài bằng chitosan trên chuột [34]. Kết quả cho thấy, viên nén chứa rutin có thể kích thích quá trình làm lành tổn thương ruột già ở liều 10 mg/kg ở chuột. Nghiên cứu này còn cho biết thêm rằng, rutin gây ra sự giảm đi của tỉ lệ khối lượng ruột già trên khối lượng cơ thể cũng như ức chế myeloperoxidase. Rutin cũng được chứng minh là có thể làm giảm biểu hiện stress oxi hóa gây ra bởi ROS và biểu hiện viêm ở chuột thông qua tác dụng trên các đích p38-MAPK, NFkB, COX-2, i-NOS and TNF- α , IL-6. Rutin còn có thể làm giảm tổn thương não và tăng cường chức năng của hệ thần kinh [35].

1.3.2.4. Hoạt tính chống dị ứng

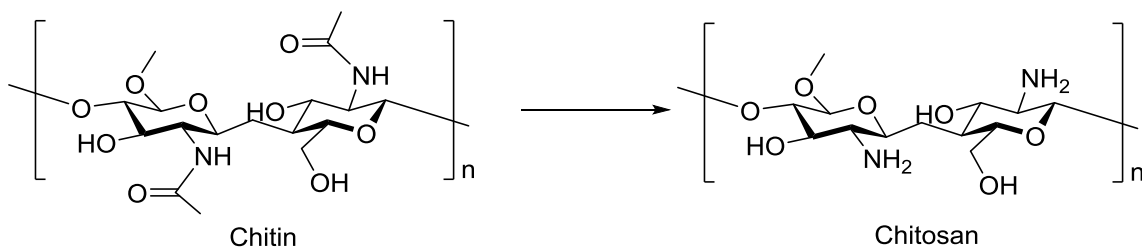
Nghiên cứu chứng minh rằng, rutin thể hiện khả năng chống dị ứng qua sự ảnh hưởng lên immunoglobulin E. Trong một công bố gần đây, Kim và cộng sự đã chứng minh rằng, rutin có khả năng chống lại chứng viêm mũi dị ứng qua cơ chế làm giảm ICAM-1 và MIP-2, đồng thời điều tiết yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu (VEGF). Bên cạnh đó, rutin cũng làm giảm lượng cytokine gây viêm và hoạt hóa caspase-1. Rutin cũng thể hiện khả năng điều tiết để làm giảm biểu hiện viêm da cơ địa cũng như viêm da tiếp xúc dị ứng. Rutin cũng làm nhẹ biểu

hiện trên ở tai của chuột thí nghiệm BALB/c bị bệnh viêm da tiếp xúc nhờ ức chế sự xâm nhập các tế bào mast lên vùng tai và ức chế histamin [36].

1.4. GIỚI THIỆU VỀ CẤU TRÚC, TÍNH CHẤT VÀ CÁC NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CỦA VẬT LIỆU CHITOSAN COMPOSITE

1.4.1. Cấu trúc và một số tính chất cơ bản của chitosan

Chitosan là một dẫn xuất của chitin, một polisaccarit phổ biến trong tự nhiên, được tìm thấy trong thành tế bào của nấm, thực vật hoặc trong vỏ của một số loài giáp xác. Chitin khi được biến đổi qua các quá trình khử khoáng, loại protein và deacetyl hóa sẽ tạo thành chitosan.



Hình 1. 3: Cấu trúc của chitin và chitosan

Về mặt hóa học, chitosan được tạo ra từ hai loại tiểu phân chính là D-glucosamine và N-acetyl-D-glucosamine được nối với nhau bởi liên kết 1,4-glycosidic. Hydroxyl bậc một, bậc hai và amino là ba nhóm chức điển hình xuất hiện trong phân tử chitosan, cho phép nó có khả năng biến đổi hóa học khá đa dạng và tạo ra nhiều tính chất lý-hóa quan trọng có thể kể đến như khả năng phân tán trong dung dịch axit hoặc làm đông đặc. Khối lượng phân tử và mức độ deacetyl hóa của chitosan sẽ ảnh hưởng đáng kể đến tính chất của nó.

1.4.2. Tính chất của màng từ chitosan

Màng chitosan được tạo thành từ nhiều quá trình axit hóa để gây ra những biến đổi về tính chất hóa lý và sinh học của vật liệu. Bởi tính chất dễ bị phân hủy tự nhiên nên các loại màng từ chitosan thân thiện với môi trường hơn so với một vài polime có tính chất lý hóa tương đồng như polyetilen. Mặt khác, bởi đặc tính kỵ nước nên vật liệu chitosan composite được sử dụng khá phổ biến để làm màng bọc chống hơi nước và bảo quản các loại thực phẩm. Tuy nhiên, tính chất này cũng đồng thời gây ra nhược điểm lớn khi sử dụng cho những trường hợp cần phải kiểm soát sự trao đổi độ ẩm.

Một vấn đề thường gặp khác của màng chitosan là kém linh hoạt và dễ gãy. Nguyên nhân của tính chất này là do các liên kết hydro nội phân tử hoặc liên phân tử trong cấu trúc và nhiệt độ dịch chuyển rắn lỏng cao, khoảng 203°C của chitosan. Để giải quyết vấn đề này và giữ cho tính chất của vật liệu ổn định trong suốt quá trình sử dụng cần bổ sung thêm các chất hóa dẻo ưa nước vào cấu trúc của vật liệu chitosan. Các chất dẻo hóa làm tăng độ linh hoạt của chuỗi phân tử chitosan, giảm lực liên kết liên phân tử, nhờ đó làm tăng tính linh hoạt của vật liệu. Những chất dẻo hóa thường được sử dụng để tăng tính linh hoạt của màng phủ chitosan bao gồm các polyols, axit béo, muối hydrate, các hợp chất citrate, polyethylene (PE), triacetine và nước.

Tính chất của một lớp màng chitosan có thể bị ảnh hưởng bởi phân tử khối hay mức độ deacetyl hóa của polime hoặc bởi các thông số quá trình tạo ra vật liệu như độ nhớt của dung dịch, nhiệt độ làm khô, các chất phụ gia như chất dẻo hóa, chất phân tán, hoặc chất liên kết. Nhìn chung, vật liệu được chế tạo từ polime có khối lượng phân tử càng cao sẽ được ưa chuộng hơn bởi liên kết bền chắc hơn giữa các chuỗi phân tử và bền vững hơn trong quá trình gia công. Trong khi đó, màng chitosan có mức độ deacetyl hóa cao hơn có thể làm tăng tính linh hoạt và bền vững hơn. Thời gian lưu trữ và nhiệt độ gia công cũng ảnh hưởng lớn tới tính chất của vật liệu chitosan. Độ bền cơ học và khả năng thấm thấu hơi nước của vật liệu chitosan tăng lên đáng kể theo thời gian lưu trữ và phân tử khối của chúng nhưng lại giảm khi gặp nhiệt độ cao. Các chất dẻo hóa sẽ giúp vật liệu chitosan dẻo dai hơn trong khi gia công.

1.4.3. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm vi sinh của chitosan

Chitosan và các dẫn xuất có khả năng chống lại các loài vi sinh vật, vi khuẩn, nấm men hoặc nấm mốc. Tuy nhiên cơ chế cụ thể của các hoạt tính này vẫn chưa được làm rõ.

Chitosan được hoạt hóa có thể linh hoạt hơn, do đó có thể đồng thời hoặc liên tục thể hiện hoạt tính chống khuẩn. Hoạt tính này có thể thay đổi tùy vào chủng loại vi sinh vật hoặc cấu trúc của chitosan bao gồm mật độ phân tử, khối lượng phân tử, mức độ deacetyl hóa, mức độ tạo phức, khả năng tan trong nước; cũng như các tính chất của môi trường như pH, nhiệt độ, thời gian tương tác.

Có ba cơ chế thường được dùng để giải thích hoạt tính chống khuẩn của chitosan. Cơ chế kháng khuẩn được nhiều nhà khoa học công nhận đó là

chitosan có thể tạo ra lực hút tĩnh điện với thành tế bào và gây phá vỡ lớp vỏ của vi sinh vật. Khi pH của môi trường thấp hơn chitosan, nhóm amino trong phân tử polime chuyển thành dạng NH_3^+ và gây ra lực hút tĩnh điện với các điện tích âm trên bề mặt vi khuẩn và phá vỡ lớp vỏ của chúng. Một cơ chế khác để giải thích cho hoạt tính kháng khuẩn là sự tạo thành phức kim loại. Trong trường hợp pH của môi trường cao hơn pKa, các ion kim loại có thể tạo phức thông qua liên kết bởi cặp điện tử tự do của nhóm amino trong phân tử chitosan. Phức này ngăn cản khả năng trao đổi chất và lấy dinh dưỡng từ môi trường của vi khuẩn và do đó tạo ra hoạt tính chống khuẩn. Cơ chế thứ ba về hoạt tính kháng khuẩn của chitosan là sự liên kết giữa chitosan với DNA của vi khuẩn để ức chế tổng hợp mRNA và protein. Các phân tử chitosan khi đó cần phải đi qua thành tế bào vi khuẩn, tạo ra nhiều liên kết peptidoglycan để từ đó, tiếp cận với hàng rào plasma. Li và cộng sự đã quan sát được, qua kính hiển vi laser, chuỗi oligomer chitosan trong tế bào vi khuẩn *E. coli* và gợi ý rằng chitosan có thể khóa phân chia DNA, cản trở sự hình thành RNA và protein, từ đó tạo ra hoạt tính chống khuẩn [37].

Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng, khả năng ức chế vi khuẩn gram âm và gram dương của chitosan là tương đối khác biệt. Vi khuẩn gram âm có lớp vỏ ngoài được tạo bởi nhiều lipo-polisaccarit chứa nhiều nhóm phosphate và pyrophosphate mang điện tích âm, gây ra liên kết với phân tử chitosan được hoạt hóa, do đó, dường như chitosan ức chế mạnh hơn với vi khuẩn gram âm hơn là gram dương [38]. Một công bố khác cũng chỉ ra rằng, chitosan ức chế *E. coli* gram âm mạnh hơn nhiều so với *S. aureus* theo cơ chế phá vỡ màng tế bào và giải phóng enzyme [39]. Benhabiles đã chứng minh chitosan thể hiện hoạt tính ức chế tốt trên cả các dòng vi khuẩn gram âm như *E. coli*, *Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae* và *Bacteroides fragilis* lẫn các dòng vi khuẩn gram dương như *S. aureus*, *Bacillus subtilis* và *Bacillus cereus* [40].

Trong khoảng hai thập niên trở lại đây, chitosan đã được nghiên cứu để phát triển thành các loại màng bọc bảo quản thực phẩm có khả năng phân hủy sinh học. Năm 2000, Ouattara đã phối trộn một số dẫn xuất chitosan với các loại carboxylic acid để tạo thành màng bọc bảo quản thịt, chống lại sự xâm nhập của hai dòng vi khuẩn *Lactobacillus sakei* và *Serratia liquefaciens* [41]. Năm 2006, nhóm nghiên cứu của Rhim đã phối trộn chitosan với nano bạc để tạo ra màng bọc thực phẩm chống khuẩn và thử nghiệm trên đĩa thạch đối với một số dòng vi

khuẩn *S. aureus*, *Salmonella typhimurium* và *E. coli* O157:H7 [42]. Kết quả cho thấy, sự phát triển của vi khuẩn giảm đáng kể trên các đĩa thạch được bảo vệ bởi chitosan-nano bạc. Khả năng kháng khuẩn và kháng nấm vi sinh của các dẫn xuất chitosan hoặc vật liệu phối trộn chitosan và các nguyên liệu vô cơ (như TiO_2 , nano bạc) hoặc hữu cơ (như tinh bột, tinh dầu, cao chiết từ lá trà) cũng đã được chứng minh, và có tác dụng trên nhiều dòng vi khuẩn như *E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus thuringiensis*, *Clostridium botulinum*, *Streptococcus mutans*, hay các dòng nấm vi sinh *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *Fusarium moniliforme*, *F. graminearum*... [43-46]. Cũng theo các công bố này, chitosan nên được phủ bên ngoài bề mặt thay vì phân tán vào cấu trúc mạng lưới của các polymer để tạo ra hoạt tính chống khuẩn hiệu quả nhất. Sự phối hợp giữa chitosan và các thành phần khác sẽ làm tăng khả năng bảo vệ thực phẩm của màng phủ.

1.4.4. Phối trộn chitosan với một số thành phần khác

1.4.4.1. Phối trộn chitosan với một số polime khác

Các tính chất lý hóa và hình thái của chitosan có thể thay đổi đáng kể khi được phối trộn với các polime khác. Đây cũng là một xu hướng được nghiên cứu khá nhiều trong những năm gần đây. Năm 2017 và 2019, các nhóm nghiên cứu của Ren và Gopi sự đã phối hợp chitosan với tinh bột để làm tăng độ bền chắc, tăng khả năng chịu lực kéo giãn nhờ sự tăng modul Young và khả năng thẩm thấu hơi nước của vật liệu [47, 48]. Huang và cộng sự cũng phối hợp sử dụng chitosan với xenlulozo nhằm tạo ra một composite trong suốt có độ bền cơ học cao [49]. Trong khi đó, Li và cộng sự đã làm tăng sức bền, khả năng cản sáng, độ ổn định nhiệt động và tính kỵ nước của vật liệu [50]. Cũng với mục đích làm tăng sức bền vật liệu, Gao và cộng sự đã phối trộn chitosan với pectin, nhờ đó cải thiện đáng kể khả năng chịu kéo giãn và thẩm thấu hơi nước của vật liệu. Trong khi đó, sự phối trộn của chitosan với caseinate lại làm giảm khả năng thẩm thấu hơi nước, tăng tính kỵ nước trong khi vẫn làm tăng khả năng chịu kéo giãn cho vật liệu.

1.4.4.2. Phối trộn chitosan với các sản phẩm thiên nhiên

Một xu hướng đột phá đang được nghiên cứu hiện nay là hấp phụ các sản phẩm từ tự nhiên lên cấu trúc của chitosan polime. Sự kết hợp giữa chitosan với các hoạt chất hay các hợp chất có nguồn gốc thiên nhiên chủ yếu làm gia tăng

các hoạt tính sinh học có lợi để ứng dụng cho quá trình bảo quản. Sự kết hợp giữa chitosan và các loại tinh dầu tự nhiên giúp tăng cường hoạt tính chống oxy hóa và chống khuẩn đáng kể, cũng như làm giảm tính thấm nước của vật liệu. Trong khi đó, sự kết hợp của chitosan với cao chiết từ một số loài thực vật thông dụng như gừng, hương thảo, xô thơm, trà xanh không chỉ làm tăng các hoạt tính kể trên mà còn làm tăng khả năng bền nhiệt, sức bền cũng như các tính chất lý hóa khác của vật liệu chitosan [51].

1.4.5. Bổ sung các chất độn tạo kích thước nano vào màng phủ chitosan

Các chất độn có kích thước nano (<100 nm) như nanoxenlulozo, đất sét nano (nanoclay), nano kim loại hoặc oxit kim loại thường được sử dụng để tăng cường các tính chất cơ học, vật lý, hóa học, nhiệt động của vật liệu chitosan nanocomposite. Lượng chất độn thường chiếm không quá 5% khối lượng của vật liệu. Tính chống thấm nước của vật liệu thường tăng lên đáng kể khi được pha thêm chất độn nano bởi chúng có thể lấp các lỗ mao quản trong cấu trúc vật liệu, khiến cho nước không thể thẩm thấu và khuếch tán. Mặt khác, cấu trúc chặt chẽ hơn cũng làm tăng độ bền cơ học của vật liệu.

Năm 2018, Wang và cộng sự đã chế tạo màng phủ nanocomposite từ chitosan epigallocatechin-3-gallate (ECG) và chất độn nanoxenlulozo từ vi khuẩn [52]. Theo đó, nanoxenlulozo từ vi khuẩn là một chất liên kết hiệu quả trong việc tăng cường tính bền nhiệt của vật liệu, trong khi liên kết liên phân tử giữa ECG và chitosan làm giảm khả năng tan trong nước của vật liệu. Việc bổ sung các sợi nanoxenlulozo vào cấu trúc polime của chitosan cũng góp phần làm tăng độ bền cơ học và tính bám dính của vật liệu. Nghiên cứu của Fernandes và cộng sự chỉ ra rằng, vật liệu nanocomposit chitosan có bổ sung sợi nanoxenlulozo có tính linh hoạt, độ bền cơ học và bền nhiệt tốt hơn so với vật liệu chitosan thông thường [53]. So với màng chitosan thông thường, vật liệu nanocomposite cho khả năng chống nước cao hơn đáng kể. Nghiên cứu cũng chứng minh rằng, độ bền cơ học của màng nanocomposite phụ thuộc nhiều vào hàm lượng nanoxenlulozo, theo đó, khi lượng chất độn ở mức 32% thì sức bền vật liệu và sự đàn hồi của vật liệu có thể tăng từ 12 đến 30 lần. Nano tinh thể xenlulozo cũng là một chất độn khác cho màng phủ chitosan. Khan và cộng sự đã nhận thấy rằng, hàm lượng từ 1 đến 10% của nano tinh thể xenlulozo có thể làm tăng đáng kể độ bền cơ học và khả năng chống thấm của màng chitosan.

Dehnad và cộng sự thì chỉ ra rằng, sự có mặt ở mức 1-2% nano tinh thể xenlulozo làm tăng đáng kể khả năng cả các dòng vi khuẩn gram dương lẫn gram âm so với màng phủ chitosan thông thường.

1.4.6. Ứng dụng của màng phủ nanocompozit trên cơ sở chitosan

Nanocompozit chitosan có nhiều ứng dụng, mà nổi bật trong đó là dùng để làm màng bọc chống khuẩn cho thực phẩm. Osheba đã so sánh hiệu quả bảo quản cá ở -18°C khi không bọc, khi sử dụng màng bọc chitosan với khi dùng các loại màng bọc thương mại thông thường [54]. Kết quả cho thấy, cá không bọc và sử dụng màng bọc thông thường giải phóng nitrogen, trimethylamine và thiobarbituric axit nhiều hơn rất đáng kể so với khi bọc trong nanocompozit chitosan. Cá được bọc với nanocompozit từ chitosan có thể bảo quản trong 6 tháng ở nhiệt độ đó trong khi cá không được bọc trong chitosan chỉ có thể bảo quản được trong 5 tháng. Trong khi đó, Pilon và cộng sự đã thử nghiệm ảnh hưởng về chất lượng, màu sắc, polyphenol oxidase và peroxidase tới quá trình bảo quản tảo bằng nanocompozit chitosan ở 5°C trong 10 ngày [55]. Kết quả cho thấy nanochitosan có khả năng bảo quản và chống khuẩn cho tảo hiệu quả hơn nhiều so với khi không sử dụng. Ceylan và cộng sự đã phát triển vật liệu màng chitosan kết hợp với thymol để bảo quản thực phẩm [56]. Tác giả chỉ ra rằng, sợi nano có thể chịu được nhiệt độ lên tới 150°C và giảm 60% lượng vi khuẩn.

Nhìn chung, nanocompozit chitosan là một vật liệu có nhiều tính chất lý tưởng để bảo quản, từ đó nâng cao chất lượng thực phẩm.

1.5. PHƯƠNG PHÁP TÍNH TOÁN BÁN THỰC NGHIỆM XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC CỦA PHỨC HỢP CỦA CYCLODEXTRIN

Phần lớn các tính toán được thực hiện theo phương pháp phiếm hàm mật độ (DFT) trong sự gần đúng gradient suy rộng (GGA), phiếm hàm tương quan trao đổi PBE. Phương pháp được tích hợp trong các phần mềm mã nguồn mở (QUANTUM, CP2K). Gần đây, trong quá trình cập nhật các kết quả nghiên cứu trên thế giới phương pháp tính toán bán thực nghiệm liên kết chặt dựa trên cơ sở hóa học lượng tử GFN2-xTB (viết tắt của “Geometries, Frequencies, and Noncovalent interactions – extended TightBinding”) được sử dụng cùng với thuật toán MTD (meta-dynamics) để xác định cực tiểu toàn phần của các cấu trúc nghiên cứu. Trong phương pháp này, trước hết, mô phỏng MTD bổ sung

các ma trận z được sử dụng để tạo ra các cấu trúc có thể có. Các cấu trúc có năng lượng thấp nhất thu được từ kết quả chạy MTD, sẽ được tối ưu hóa hoàn toàn bằng phương pháp GFN2-xTB. Độ chính xác cao của GFN2-xTB đã được chứng minh cho các hệ chất khác nhau trong các phép tính tối ưu hóa hình học cũng như trong tính toán tần số dao động và tương tác không hóa trị (bao gồm cả tương tác van der Waals). Các tham số trong GFN2-xTB được tối ưu hóa cho các nguyên tố lên tới $Z=86$ trong bảng hệ thống tuần hoàn. Thông thường, tối ưu hóa hình học và các tính toán năng lượng được thực hiện ở nhiệt độ electron 300K, ngưỡng cắt tích phân 0.25×10^2 , độ hội tụ là 0.1×10^{-5} Ha.

Để nghiên cứu cấu trúc electron của hệ vật liệu, thường tính toán và phân tích các thông số sau:

- Năng lượng ion hóa (IP) và ái lực electron (EA): IP và EA được tính theo công thức sau:

$$IP = E(M^{+1}) - E(M) \quad (1)$$

$$EA = E(M^{-1}) - E(M) \quad (2)$$

trong đó, $E(M^{+1})$, $E(M)$, $E(M^{-1})$ tương ứng là năng lượng của cation, phân tử trung hòa và anion ở cùng một trạng thái.

- Chỉ số electrophil toàn phần (Global Electrophilicity Indexes - GEI), đặc trưng cho tính acid Lewis của hệ vật liệu. GEI được xác định theo công thức:

$$GEI = (IP+EA)^2/8(IP-EA) \quad (3)$$

- Mật độ bị chiếm riêng phần (Fractional Occupation Density - FOD): FOD là một sơ đồ thể hiện mật độ electron tương tác mạnh (correlated electrons), hay nói cách khác, là các electron hoạt động hóa học mạnh, trong phân tử.

Như vậy, từ tổng quan tình hình nghiên cứu trong nước và ngoài nước, dễ thấy rằng phương pháp sử dụng lớp phủ an toàn trên cơ sở là các polyme có nguồn gốc thiên nhiên như chitosan, pectin, alginate... để bảo quản quả đã và đang nhận được sự quan tâm nghiên cứu rất lớn từ các nhà khoa học. Đặc biệt, việc bổ sung thêm các phụ gia chống oxy hóa, an toàn như rutin và

cyclodextrin vào các lớp phủ đem lại hiệu quả bảo quản tốt hơn so với các lớp phủ thông thường. Tuy nhiên, hướng nghiên cứu này vẫn chưa được nghiên cứu nhiều ở nước ta. Chính vì vậy, việc nghiên cứu và chế tạo lớp phủ an toàn trên cơ sở các polysaccharit thiên nhiên như chitosan/rutin kết hợp với β -cyclodextrin có hoạt tính chống oxi hóa ứng dụng bảo quản quả sau thu hoạch là hết sức cần thiết, khả thi, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn lớn.

CHƯƠNG 2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. NGUYÊN LIỆU, HÓA CHẤT VÀ DỤNG CỤ

2.1.1. Nguyên liệu

Xoài sau khi thu hoạch, được lựa chọn theo các tiêu chí sau:

- Kích thước các quả có sự tương đồng
- Vỏ xanh và láng
- Ưu tiên chọn nhiều quả vẫn còn cuống, quả không bị bệnh, không bị tổn thương vật lí.

2.1.2. Hóa chất

Chitosan 99% dạng bột, màu trắng là sản phẩm của Công ty cổ phần Đức Giang.

Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β CD) 99%, màu trắng, dạng bột được cung cấp bởi Sigma-Aldrich.

Rutin là dạng bột màu vàng, là sản phẩm dự án sản xuất thử nghiệm « Hoàn thiện quy trình công nghệ chiết, tách tinh chế rutin từ nụ hoa hòe đạt độ tinh khiết > 98% để phục vụ nhu cầu sản xuất và xuất khẩu" mã số 015/2014/HĐ-DACNHD (Bộ công thương) do Viện hóa học làm đơn vị chủ trì.

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl DPPH là chất rắn màu tím được cung cấp bởi Tokyo Chemical Industry.

Axit axetic

Còn tuyệt đối

2.1.3. Dụng cụ

- Bình định mức 500 mL.
- Cốc thủy tinh 50 ml, 100mL, 500 mL, 1000 mL.
- Công tơ hút nhựa, công tơ hút thủy tinh
- Cân phân tích Precisa XB 2200C với khả năng cân: 2200 gam, khả năng đọc được: 0,01 gam; cân phân tích Precisa XB 320 với mức cân 320 gam, khả năng đọc được: 0,0001 gam, cân phân tích Precisa XB 220A với khả năng cân là 200 gam, khả năng đọc được là 0,1 mg.
- Máy khuấy từ có gia nhiệt – C – MAG HS 7 – 00035812A0 của nhà sản xuất IKA là một dạng máy dùng để khuấy, hòa tan hay trộn các dung dịch, hóa chất... thường sử dụng nhiều nhất trong các phòng thí nghiệm.

- Máy khuấy cơ
- Thìa cân
- Đĩa cân
- Máy sấy
- Nhiệt kế thủy ngân

2.2. TỔNG HỢP PHỨC HỢP [RuT \subset HP β CD]

Phức hợp [RuT \subset HP β CD] được chế tạo theo phương pháp đồng kết tủa, dựa trên kết quả nghiên cứu của công bố [28]. Cách chế tạo như sau: dung dịch HP β CD được thêm vào các dung dịch chứa RuT, mỗi lần 10 mL và được khuấy bằng máy khuấy từ trong 24 giờ ở 25°C. Hỗn hợp dung dịch sau phản ứng được lưu giữ trong vòng 48 giờ ở 4°C để tạo kết tủa màu vàng mịn. Kết tủa được rửa nhiều lần với DMSO và được đem đi đông khô trong vòng 48 giờ.

2.1. CHẾ TẠO HỖN HỢP LỎNG TẠO MÀNG PHỦ TỪ CHITOSAN VÀ PHỨC HỢP [RuT \subset HP β CD]

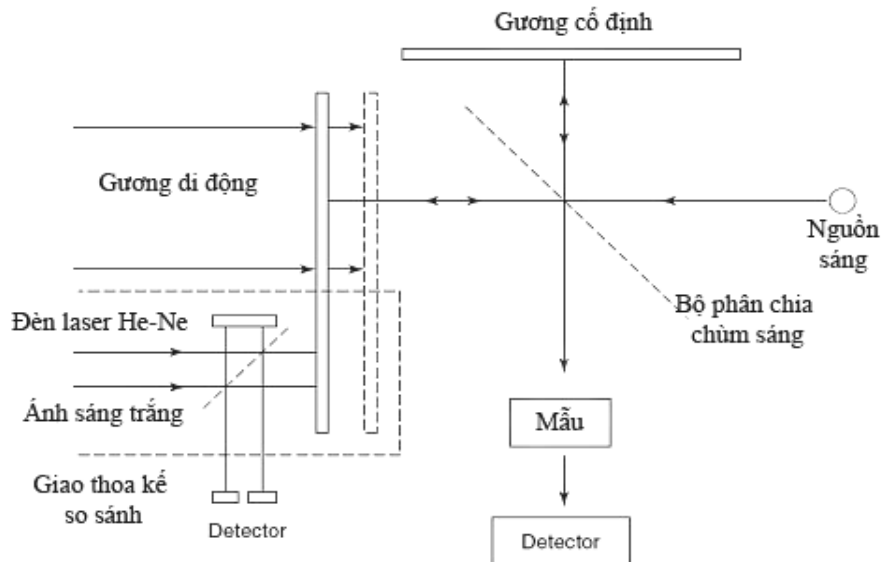
Lấy dung dịch CS 2% đặt lên máy khuấy từ gia nhiệt đến khi đạt 50°C (**). Cân khối lượng phức [RuT \subset HP β CD] tương ứng cho vào cốc và hòa tan bằng dung dịch axit acetic (*). Dùng công tơ hút nhỏ từ dd (*) vào dd (**), khuấy đều gia nhiệt tại 50°C trong vòng 30 phút cho đến khi chế phẩm đạt được độ đồng nhất.

2.2. CÁC PHƯƠNG PHÁP ĐẶC TRƯNG VÀ PHÂN TÍCH

2.2.1. Phương pháp phổ hồng ngoại (IR)

Phương pháp phổ hồng ngoại là phương pháp được dùng phổ biến trong hóa học, nó cung cấp thông tin về cấu trúc phân tử nhanh, không đòi hỏi các phương pháp tính toán phức tạp. Kỹ thuật này dựa trên hiệu ứng đơn giản là: các hợp chất hoá học có khả năng hấp thụ chọn lọc bức xạ hồng ngoại (2.500 – 20.000 nm). Khi bị kích thích bởi sóng điện từ có bước sóng xác định nằm trong vùng hồng ngoại, các phân tử của các hợp chất hóa học dao động (làm thay đổi moment lưỡng cực của phân tử) với nhiều vận tốc dao động và xuất hiện dải phổ hấp thụ gọi là phổ hấp thụ bức xạ hồng ngoại.

Các máy phổ hồng ngoại thế hệ mới được chế tạo theo kiểu biến đổi Fourier (Fourier Transform InfraRed viết tắt là FT-IR).



Hình 2. 1: Sơ đồ nguyên lý của máy quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier

Ở máy hồng ngoại biến đổi Fourier bộ đơn sắc được thay bằng bộ giao thoa (giao thoa kế) gồm bộ gương cố định, bộ gương di động và bộ phân chia chùm bức xạ. Bức xạ hồng ngoại sau khi qua giao thoa kế sẽ đi tới mẫu rồi đến detector. Detector ghi nhận sự biến đổi cường độ của bức xạ theo quãng đường d mà gương di động thực hiện rồi chuyển tín hiệu thành tín hiệu điện. Khi đó sẽ thu được tín hiệu dưới dạng hàm phụ thuộc của tín hiệu điện vào quãng đường, $E=f(d)$. Máy tính thực hiện phép biến đổi Fourier để chuyển hàm $F=f(d)$ thành cường độ bức xạ I theo nghịch đảo của quang đường $d(d^{-1})$. Vì d^{-1} chính là số sóng $\bar{\nu}$ do đó thực chất là ta có hàm sự phụ thuộc của cường độ bức xạ vào số sóng. Từ phổ hấp thụ hồng ngoại chúng ta có thể xác định các nhóm chức đặc trưng và các liên kết có trong phân tử hợp chất hoá học.

Trong luận văn này, các mẫu vật liệu được phân tích phổ hồng ngoại trên máy Nicolet iS10 của hãng Thermo Scientific - Mỹ tại Viện Kỹ thuật nhiệt đới – Viện Hàn lâm KHCNVN.



Hình 2. 2: Máy quang phổ hồng ngoại Nicolet iS10.

2.2.2. Phương pháp chụp ảnh hiển vi điện tử quét (SEM).

Phương pháp kính hiển vi điện tử quét phát xạ trường (Scanning Electron Microscope, viết tắt là SEM) được sử dụng để xác định hình thái bề mặt và kích thước hạt của các vật liệu đã chế tạo.

Nguyên tắc cơ bản của phương pháp SEM là dùng chùm điện tử để tạo ảnh của mẫu nghiên cứu, ảnh đó khi đến màn huỳnh quang có thể đạt độ phóng đại rất lớn từ hàng nghìn đến hàng chục nghìn lần.

Chùm điện tử được tạo ra từ catot qua hai tụ quang sẽ được hội tụ lên mẫu nghiên cứu. Chùm điện tử đập vào mẫu phát ra các điện tử phản xạ thứ cấp. Mỗi điện tử phát xạ này qua điện thế gia tốc vào phần thu và biến đổi thành tín hiệu sáng, chúng được khuếch đại đưa vào mạng lưới điều khiển tạo độ sáng trên màn hình.

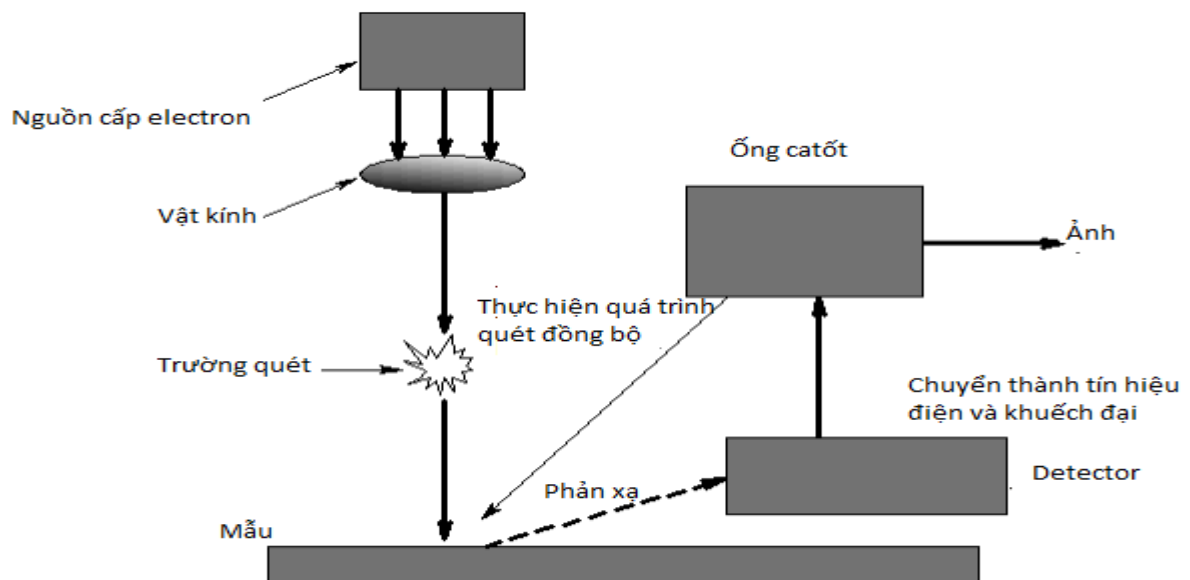
Mỗi điểm trên mẫu nghiên cứu cho một điểm trên màn hình. Độ sáng tối trên màn hình tùy thuộc lượng điện tử thứ cấp phát ra tới bộ thu, đồng thời còn phụ thuộc sự khuyết tật bề mặt của mẫu nghiên cứu. Đặc biệt do sự hội tụ các chùm tia nên có thể nghiên cứu cả phần bên trong của vật chất.

Ưu điểm của phương pháp SEM là có thể thu được những bức ảnh ba chiều rõ nét và không đòi hỏi phức tạp trong khâu chuẩn bị mẫu.

Trong luận văn này, hình thái bề mặt mẫu được khảo sát bằng thiết bị kính hiển vi điện tử quét SEM, JSM-6510 V, Jeol, Nhật Bản tại Viện Kỹ thuật nhiệt đới – Viện Hàn lâm KHCVN.

Cấu trúc mặt cắt ngang của các mẫu được khảo sát bằng thiết bị kính hiển vi điện tử quét SEM, JSM-6510 V, Jeol, Nhật Bản tại Viện kỹ thuật nhiệt đới – Viện Hàn lâm KHCVN.

Quy trình xử lý mẫu như sau: Vỏ quả xoài được tách ra khỏi quả, để khô tự nhiên, trước khi chụp ảnh SEM, được ngâm trong ni-tơ lỏng, sau đó được bẻ gãy để giữ được cấu trúc tự nhiên.

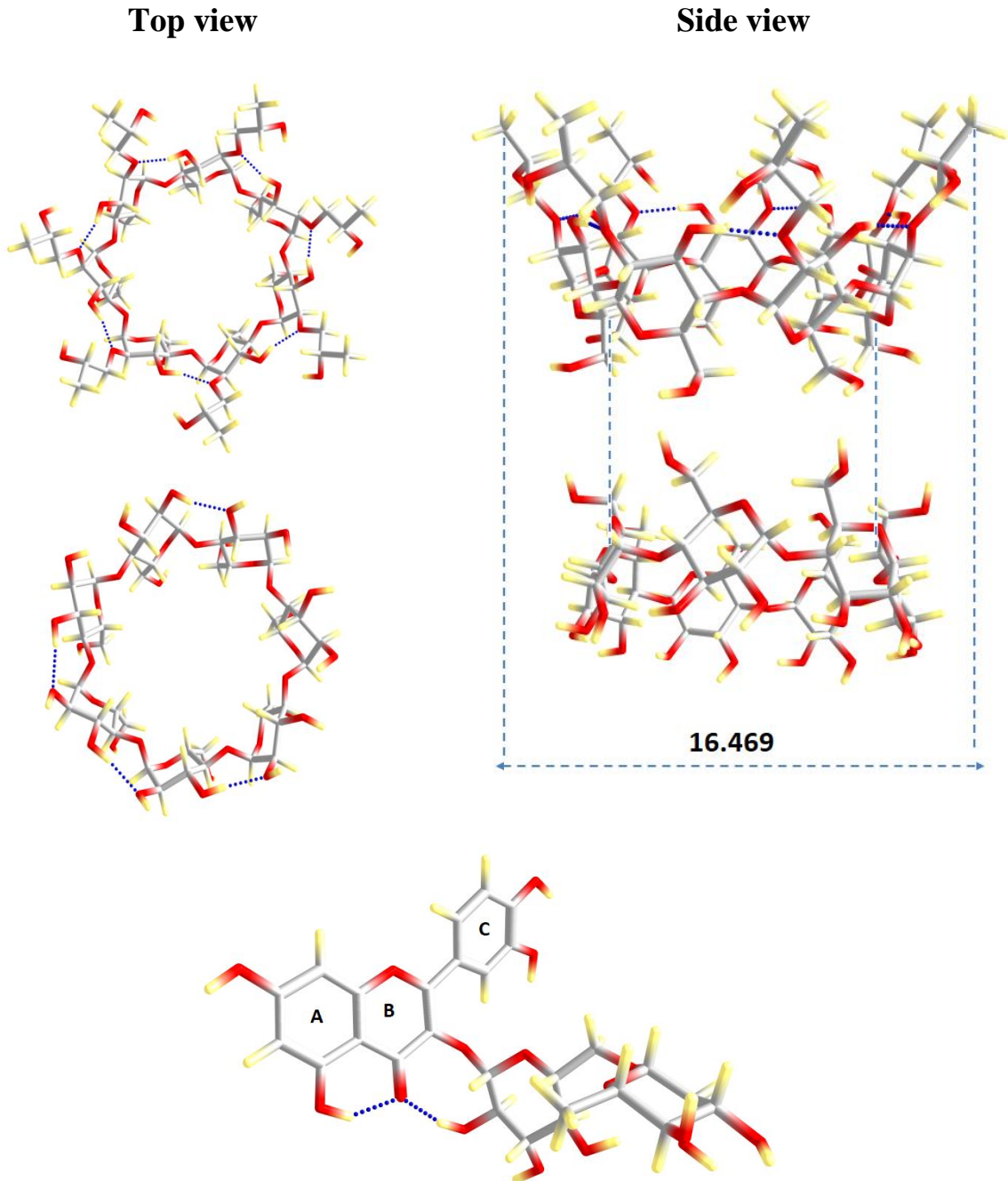


Hình 2. 3: Sơ đồ nguyên lý kính hiển vi điện tử quét (SEM).

2.3. PHƯƠNG PHÁP HÓA TÍNH TOÁN XÁC ĐỊNH TƯƠNG TÁC TRONG PHỨC HỢP

Các tính toán thực hiện trong chân không, và trong dung môi nước được tính thông qua mô hình ALPB.

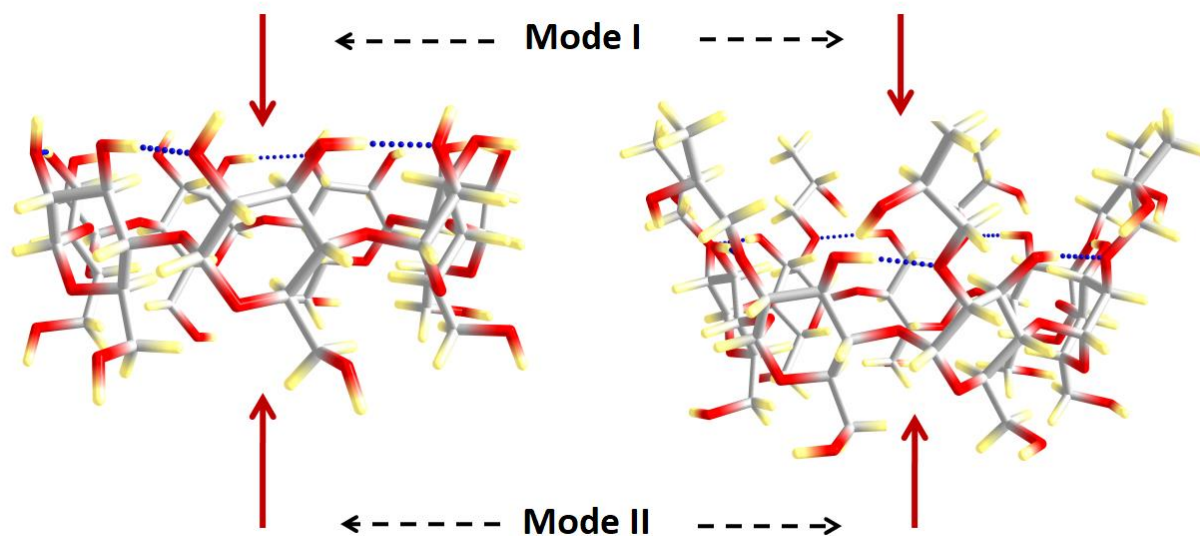
Mô hình:



Hình 2. 4: Cấu trúc phân tử HPβCD (nhìn từ trên xuống dưới, và nhìn bên sang) và phân tử rutin.

Các kết quả tối ưu hóa cấu trúc của HP β CD và rutin được thực hiện theo phương pháp GFN2-xTB.

Nghiên cứu các khả năng tương tác của rutin theo các đầu A hoặc C vào bên trong cấu trúc của HP β CD theo 2 hướng:



Phức kết hợp của HP β CD với RuT lần lượt được kí hiệu là IA, IC, IIA, IIC, trong đó A và C tương ứng với sự định hướng của rutin theo đầu A, C tương ứng; kí hiệu I, II chỉ vị trí tương đối của rutin đối với HP β CD theo các mode I, II tương ứng.

Giá trị năng lượng tương tác – interaction energy - E_{int} giữa rutin và CD, HP β CD được tính theo công thức:

$$E_{\text{int}} = E(\text{complex}) - E(\text{rutin}) - E(\text{CD/HP}\beta\text{CD})$$

Trong đó $E(\text{complex})$, $E(\text{rutin})$, $E(\text{CD/HP}\beta\text{CD})$ tương ứng là năng lượng của phức tạo thành, rutin, CD hoặc HP β CD tương ứng.

2.4. CÁC PHƯƠNG PHÁP ĐÁNH GIÁ CHỈ TIÊU CHẤT LƯỢNG CỦA QUẢ

2.4.1. Phương pháp xác định độ hao hụt khối lượng

Xoài được xác định khối lượng hằng ngày bằng cân phân tích với khả năng cân từ 0,50 đến 2200,00 gam, khả năng đọc được là 0,01 gam, sự chênh lệch về khối lượng giữa mỗi khoảng thời gian bảo quản chính được coi là độ hao hụt khối lượng. Phần trăm độ hao hụt khối lượng được tính bằng tỷ lệ phần trăm chênh lệch khối lượng. Các lần xác định khối lượng được lặp đi lặp lại ít nhất 3 lần.

$$\% \text{ Độ hao hụt khối lượng} = \frac{M_o - M_i}{M_o} \times 100$$

Trong đó:

M_o là khối lượng của quả ban đầu (gam)

M_i là khối lượng của quả sau từng ngày (gam)

2.4.2. Phương pháp xác định tỉ lệ thối hỏng

Tỉ lệ thối hỏng của xoài được tính như sau:

$$\text{Tỉ lệ thối hỏng (\%)} = \frac{A}{B} \cdot 100$$

Trong đó:

A là số quả hỏng

B là số quả theo dõi trong thời gian bảo quản

2.4.3. Xác định màu sắc

Xác định màu sắc bằng máy đo màu, dựa trên nguyên tắc phân tích ánh sáng với 3

yếu tố L^* , a^* , b^* :

L^* (Light): độ đậm nhạt của màu sắc, giá trị từ 0 → 100

a^* : dải màu từ xanh lá cây đến đỏ, giá trị từ -60 → +60

b^* : dải màu từ xanh nước biển đến vàng, giá trị từ -60 → +60

Cách tính ΔE

ΔE (tổng sai biệt màu sắc) được tính dựa trên các giá trị màu ΔL^* , Δa^* và Δb^* , tất cả những giá trị này biểu thị cho bản mô tả hoàn chỉnh bằng giá trị số của màu sắc trong hệ tọa độ vuông góc. Ý nghĩa của các giá trị trên như sau:

- ΔL^* thể hiện sai lệch về độ sáng giữa màu mẫu và màu chuẩn.

- Δa^* thể hiện sai lệch về sắc đỏ hoặc sắc xám giữa màu mẫu và màu chuẩn.
- Δb^* biểu thị sai lệch về sắc xanh và sắc vàng giữa màu mẫu và màu chuẩn.

Với các mức độ nêu trên, giá trị càng cao thì độ sai lệch trong khía cạnh đó càng lớn.

2.4.4. Xác định độ cứng của quả

Độ cứng của quả được xác định bằng máy đo độ cứng MARK-10 (Mỹ). Đơn vị đo: Newton (N). Độ cứng được xác định dựa trên nguyên lý đo độ lớn của lực cần tác dụng để đầu đo lún đến độ sâu nhất định (2,5 mm) của nguyên liệu.

Sử dụng bảng điều khiển cài đặt máy với độ lún xuống 2,5mm, lực quan sát theo đơn vị Newton. Mỗi quả đo ít nhất 3 vị trí xung quanh thân quả. Đọc giá trị đo trên máy theo đơn vị Newton.

2.4.5. Phương pháp xác định hàm lượng vitamin C

Xác định hàm lượng vitamin C trong xoài bằng phương pháp chuẩn độ iot theo TCVN 11168:2015.

➤ Chuẩn bị:

- Chuẩn bị dung dịch tinh bột 1%: Cho 0,497 gam tinh bột hòa tan vào 50ml nước cất (đun sôi), hòa tan, để nguội trước khi dùng
- Chuẩn bị dung dịch vitamin C chuẩn: Hòa tan 0,249 gam vitamin C chuẩn vào bình đong 100ml nước cất, hòa tan, định mức đến vạch (bình định mức 250ml)
- Chuẩn bị dung dịch H_2SO_4 3M: Cân 82ml (150g dd H_2SO_4 98%) pha vào bình 500ml, định mức đến vạch
- Chuẩn bị dung dịch iot: Hòa tan 4,992 gam KI; 0,267 gam KIO_3 trong 200ml nước cất; sau đó thêm 30ml H_2SO_4 3M, định mức đến vạch 500ml bằng nước cất.

➤ Chuẩn độ

- Chuẩn độ dung dịch vitamin C chuẩn: Hút 25ml dung dịch vitamin C chuẩn vào bình nón, thêm 10 giọt hồ tinh bột 1%, chuẩn độ bằng dung dịch iot vừa pha.

- Chuẩn độ vitamin C từ các dung dịch xoài: Hút 25ml dung dịch xoài vào bình nón, thêm 10 giọt hồ tinh bột 1%, chuẩn độ bằng dung dịch iot vừa pha (hoặc chuẩn độ bằng dung dịch iot đã pha loãng 10 lần từ dung dịch iot vừa pha)
- Lặp lại thí nghiệm ít nhất 3 lần và lấy giá trị trung bình. Hàm lượng vitamin C được xác định bằng công thức:

$$X = \frac{V \times V_1 \times 0,00088 \times 100}{V_2 \times m}$$

Trong đó:

X là hàm lượng vitamin C (mg/100g)

V là thể tích dung dịch iot 0,01N dùng để chuẩn độ (mL)

V_1 là thể tích mẫu thí nghiệm (mL)

V_2 là thể tích mẫu được lấy để chuẩn độ (mL)

0,00088 là số gam vitamin C tương ứng với 1mL dung dịch iot 0,01N

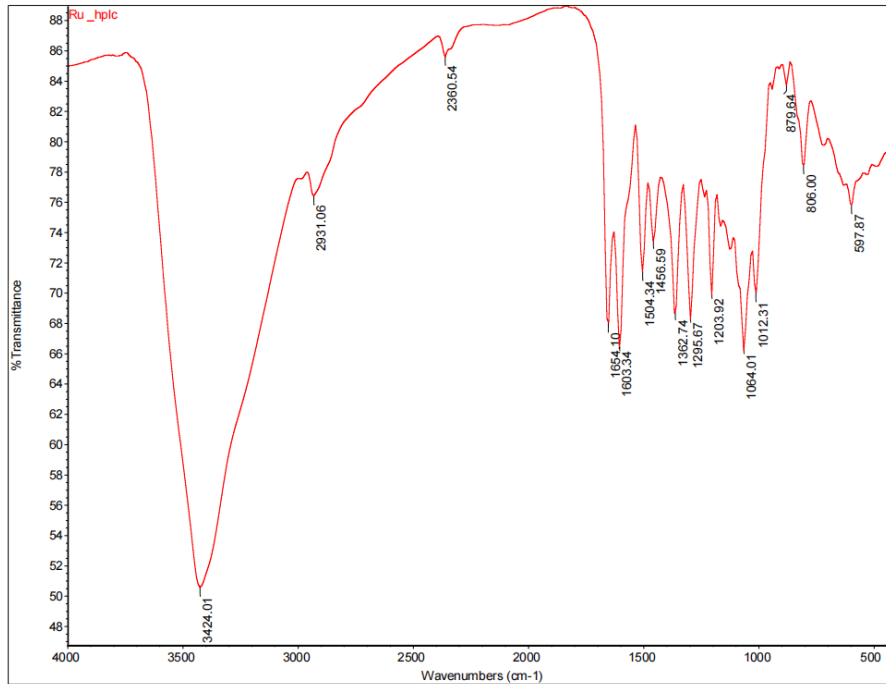
m là khối lượng mẫu đem xác định hàm lượng vitamin C (gam)

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

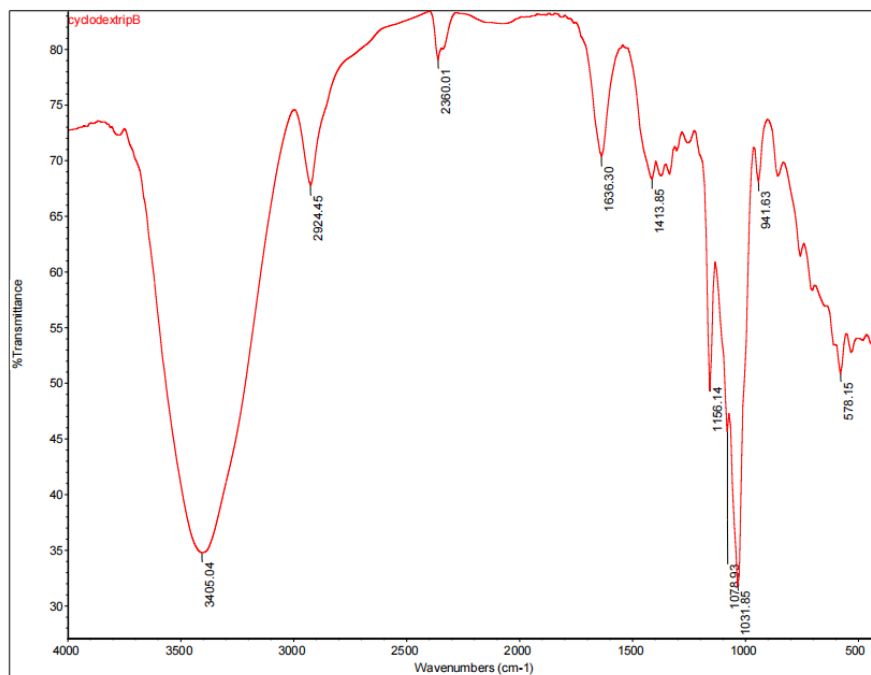
3.1. Chế tạo phức hợp của rutin với hydroxypropyl- β -cyclodextrin

3.1.1. Kết quả phân tích phổ hồng ngoại

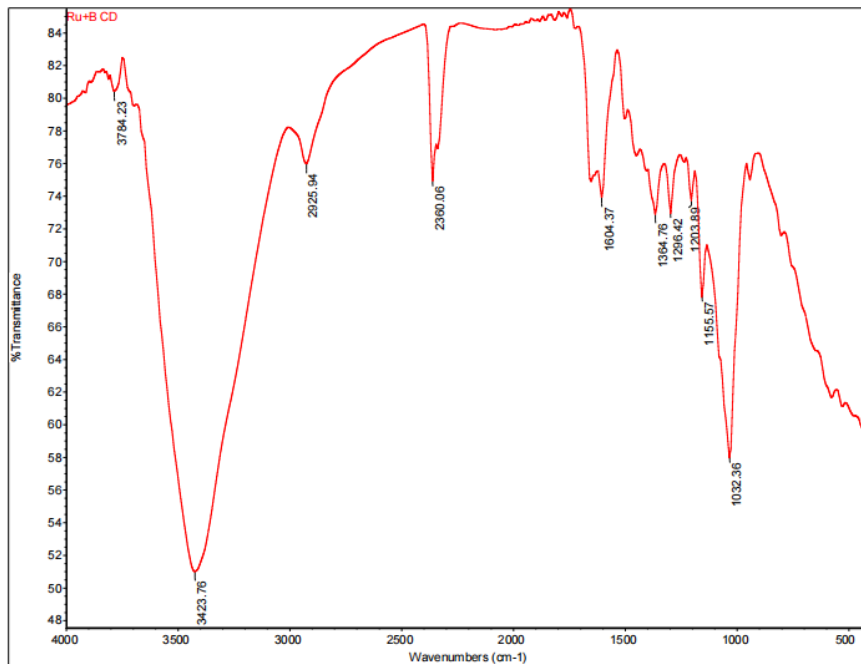
Kết quả phân tích phổ hồng ngoại của phức hợp và các thành phần phản ứng được thể hiện trên hình 3.1.



a)



b)



c)

[RuT ⊂ HPβCD]

Hình 3. 1: Phổ FT-IR của RuT (a), HPβCD (b) và phức (c).

Từ hình 3.1 có thể thấy, trong phổ hồng ngoại của phức hợp thể hiện các nhóm chức đặc trưng của cả RuT và HPβCD. Dải dao động hóa trị của liên kết O-H trong phức (3423 cm^{-1}) hẹp hơn so với dao động tương ứng trong HPβCD và rộng hơn trong rutin thuần chủng tỏ có sự hình thành phức hợp. Ta cũng quan sát thấy dao động hóa trị của liên kết C-H xuất hiện trong quang phổ của phức (2925 cm^{-1}). Sự khác biệt lớn nhất trong quang phổ của rutin thuần và phức hợp được thể hiện ở việc gần như biến mất hoặc suy giảm mạnh cường độ các pic đặc trưng, có thể coi là sự tương tác và che lẫn nhau của một số nhóm chức, cụ thể liên kết C-O-C ($1062, 1009, 1204\text{ cm}^{-1}$).

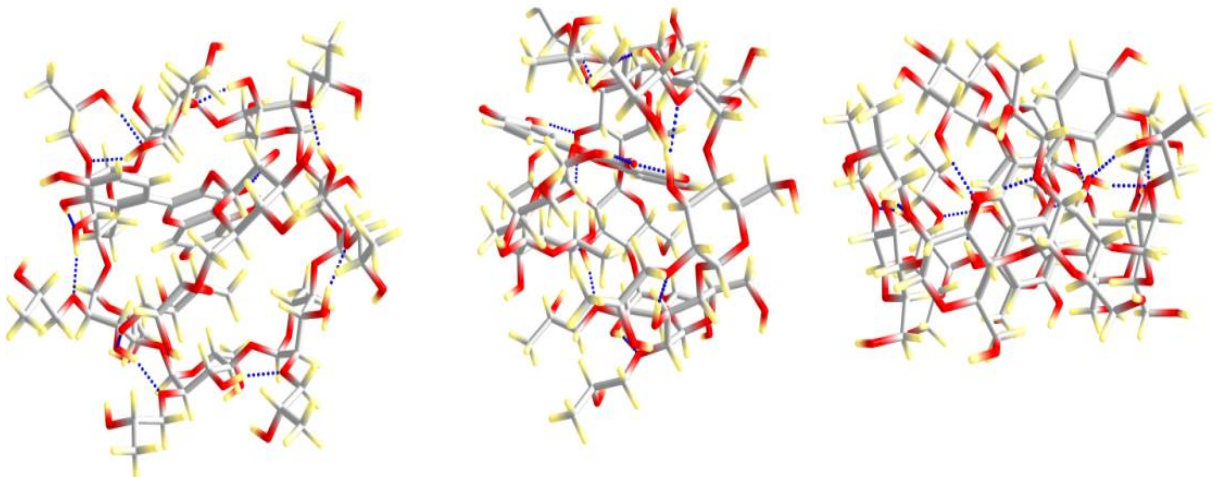
3.1.2. Nghiên cứu tương tác tạo phức giữa HPβCD với RuT bằng tính toán lý thuyết

Bản chất tương tác khi tạo phức của rutin và HPβCD được làm rõ thông qua các tính toán lý thuyết. Trong nghiên cứu này, các tính toán thực hiện trong chân không và trong dung môi nước được tính thông qua mô hình ALPB. Giá trị năng lượng tương tác càng âm, tương tác càng thuận lợi về mặt nhiệt động. Cần lưu ý rằng, giá trị năng lượng tính theo phương pháp GFN2-xTB đã tính tới năng lượng của các tương tác không cộng hóa trị: tương tác Van De waals, liên kết hidro... Kết quả tính toán được liệt kê trong bảng 3.1.

Bảng 3. 1: Năng lượng tương tác E_{int} giữa rutin và hydroxypropyl-β-cyclodextrin trong các môi trường chân không và nước.

Môi trường	Chế độ tương tác			
	IA	IC	IIA	IIC
Chân không	-236.37	-144.85	-152.08	-122.35
Nước	-130.01	-81.65	-81.67	-72.45

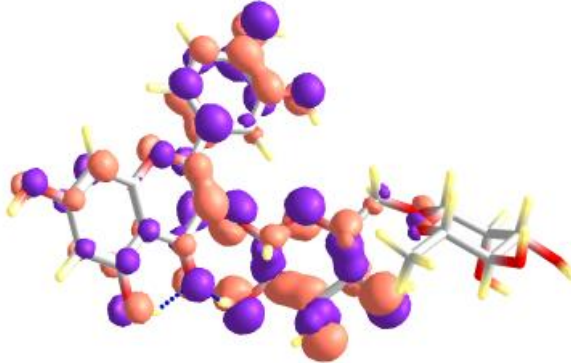
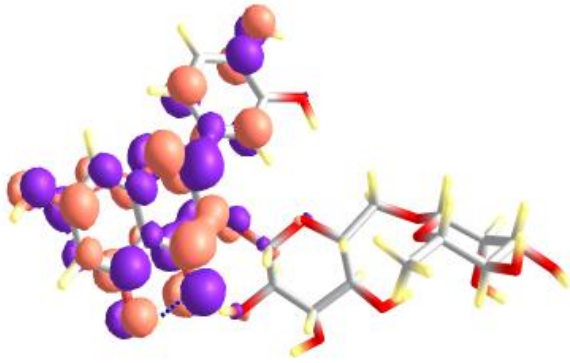
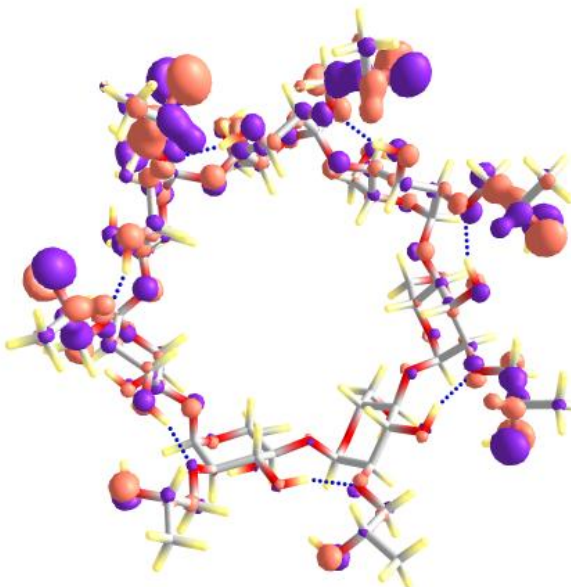
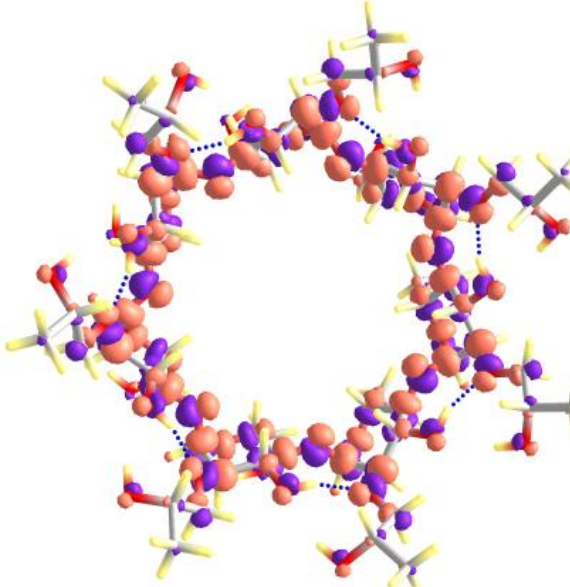
Dựa trên kết quả tính toán E_{int} từ bảng 3.1 có thể thấy rằng, sự có mặt của nhóm chức hydroxylpropyl đã làm ảnh hưởng đáng kể tới cấu trúc của phân tử β -cyclodextrin. Một phía của HP β CD được mở rộng đáng kể, tạo điều kiện cho phân tử rutin có thể “chui” vào trong khoang của HP β CD. Do đó, khi tương tác với HP β CD, rutin dễ dàng tương tác theo hướng mode I. Các cấu hình tương tác tối ưu của rutin với HP β CD trong chân không, trong dung môi nước đều tương ứng với sự định hướng rutin theo đầu A, về hướng mode I.

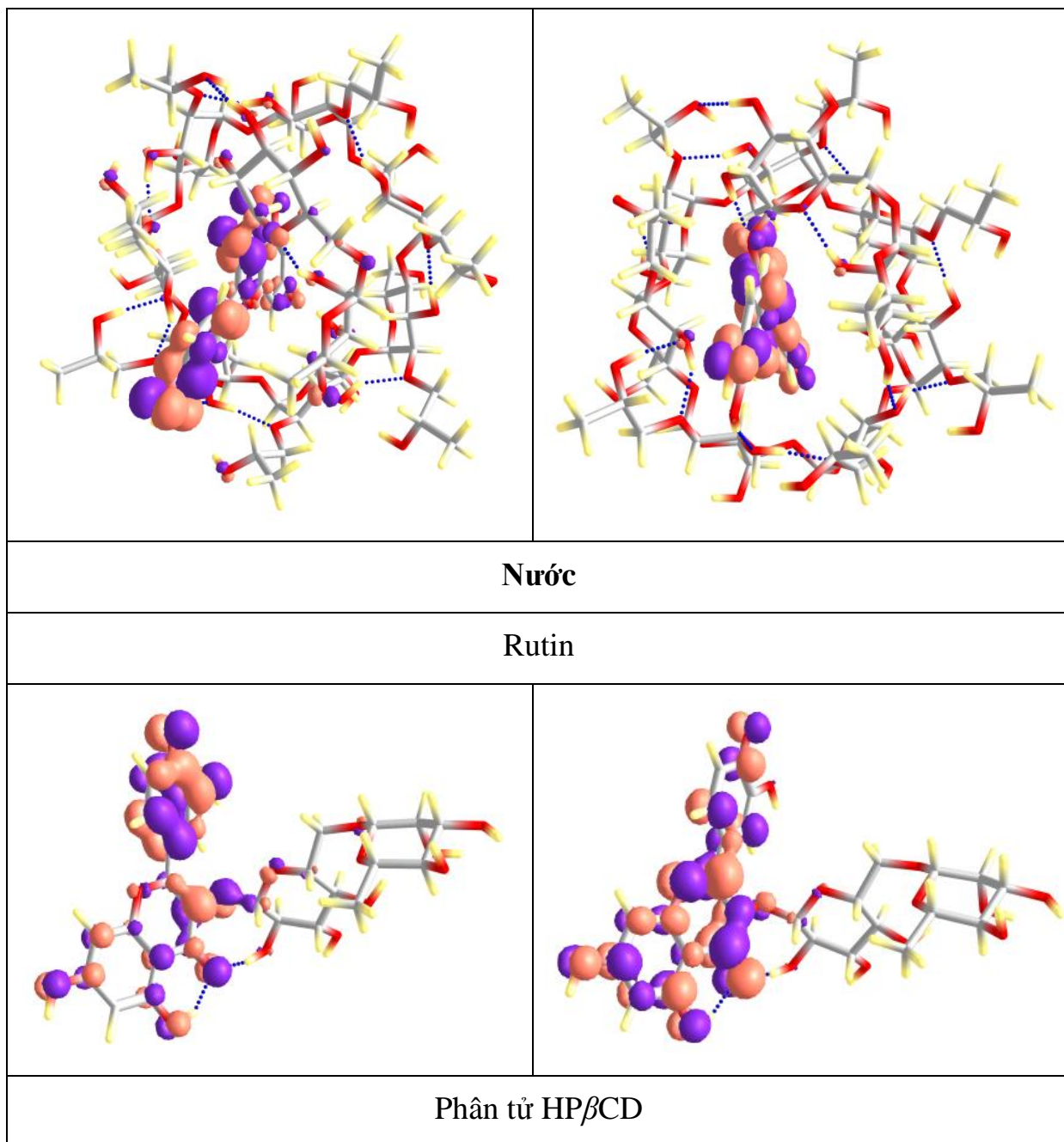


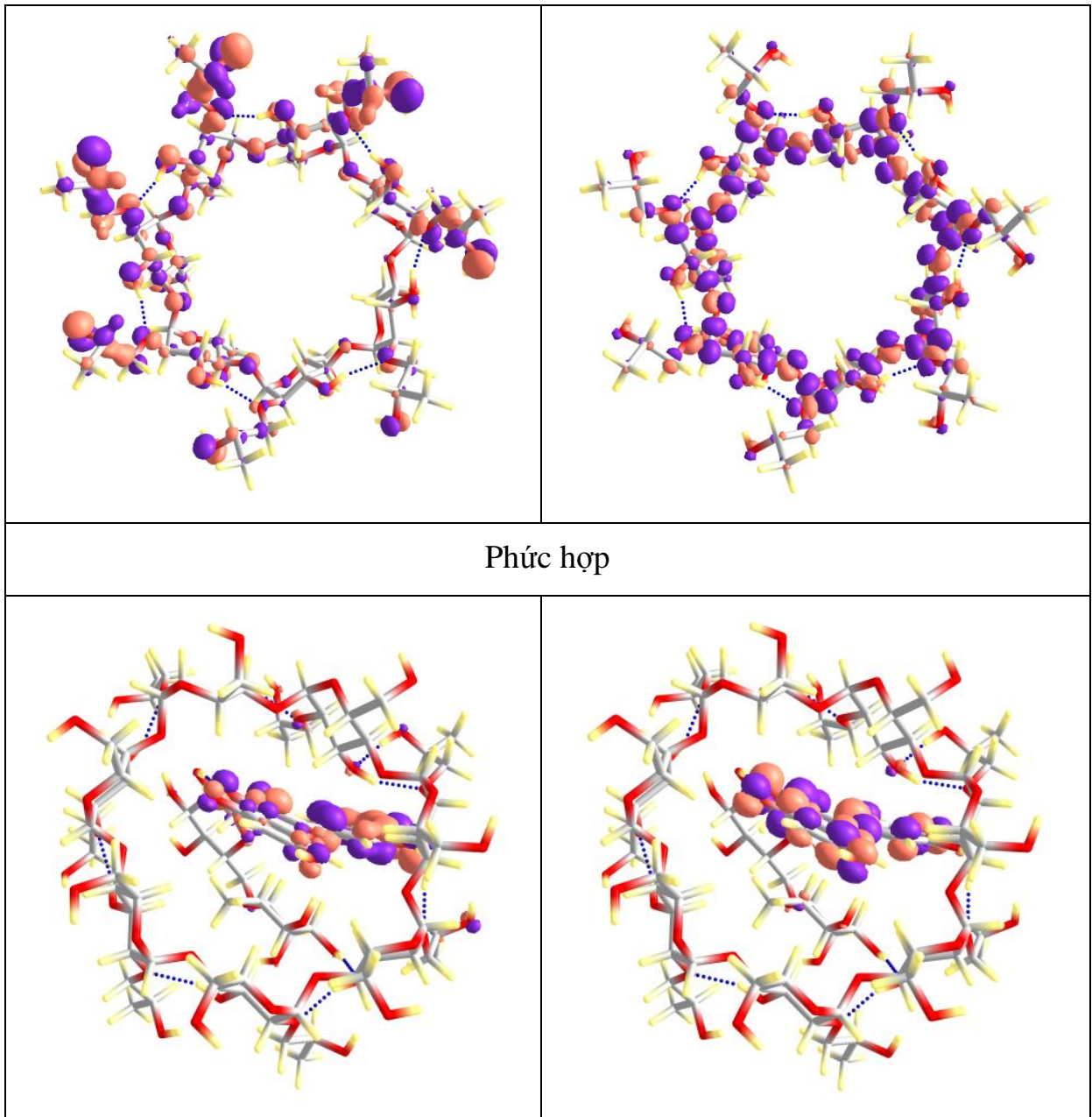
Hình 3. 2: Cấu hình tương tác ưu tiên của RuT và HP β CD trong nước.

Kết quả phân tích MO được liệt kê trong bảng 3.2.

Bảng 3. 2: Kết quả phân tích HOMO và LUMO của RuT và HP β CD trong chân không và nước.

HOMO	LUMO
Chân không	
Phân tử RuT	
	
Phân tử HP β CD	
	
Phức hợp	



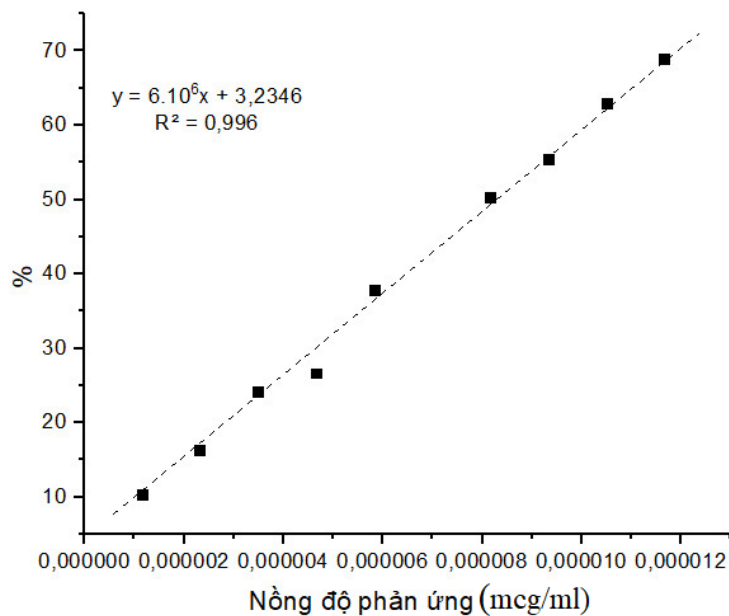


Kết quả cho thấy, HOMO và LUMO của các chất cô lập RuT và HP β CD không có sự thay đổi khi chuyển từ chân không sang dung dịch nước. Tuy nhiên, quan sát hình ảnh HOMO và LUMO của phức hợp bao [RuT \subset HP β CD] dễ dàng nhận thấy, có sự khác biệt rõ ràng trong hai môi trường chân không và nước. Trong chân không, đối với phức, HOMO phân bố chủ yếu tập trung trên phân tử chủ: ([HP β CD]), trong khi đó LUMO lại hoàn toàn tập trung trên phân tử khách. Tức là, đã có sự tương tác, từ đó, dẫn tới sự dịch chuyển electron khi tạo phức hợp bao. Tuy nhiên, trong môi trường nước, cả HOMO và LUMO của phức hợp đều do sự đóng góp chủ yếu của RuT. Như vậy, trong môi trường nước, tương tác giữa RuT và HP β CD đã giảm đi so với trong chân không. Điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả tính toán tổng điện tích (theo Mulliken) trên phân tử rutin trong các hệ phức hợp trong chân không và trong môi trường nước.

Đối với phức $[RuT \subset HP\beta CD]$, tổng điện tích trên phân tử RuT trong chân không và trong nước tương ứng là $-0.030e$ và $-0.025e$. Tức là, có sự giảm đáng kể sự dịch chuyển điện tích (charge transfer) từ phân tử “chủ” sang phân tử “khách”.

3.1.3. Xác định hoạt tính chống oxy hóa của phức hợp

Kết quả xác định mối tương quan giữa phần trăm bắt gốc tự do DPPH với nồng độ của phức hợp được thể hiện trên hình 3.3.



Hình 3. 3: Đồ thị biểu diễn mối tương quan giữa phần trăm bắt gốc tự do của DPPH với nồng độ của phức hợp $[RuT \subset HP\beta CD]$

Phần trăm bắt gốc tự do của DPPH (y) và nồng độ phức hợp $[RuT \subset HP\beta CD]$ (x) là một hàm tuyến tính được xác định theo công thức $y = 6.10^6 x + 3,2346$ với độ tin cậy là 99,6%.

Từ phương trình tương quan này, ta xác định được giá trị EC_{50} là giá trị nồng độ của phức hợp mà tại đó 50% gốc tự do của DPPH bị bắt giữ. Giá trị EC_{50} tính được là $7.794 \cdot 10^{-6} \mu g/l$. So sánh với nghiên cứu trước đó có thể thấy, hoạt tính chống oxy hóa của RuT sau khi được tạo phức với cyclodextrin vẫn được bảo toàn. .

3.2. Xác định nồng độ dung dịch CS để chế tạo màng phủ bảo quản

3.2.1. Sự biến đổi màu sắc và độ thoái hồng của quả















Nồng độ của dung dịch chitosan ảnh hưởng đến quá trình hô hấp, tốc độ chín, tốc độ sản sinh etylen, tốc độ thoát hơi nước của quả. Trong nghiên cứu này, xoài được nhúng vào các chế phẩm tạo màng có nồng độ chitosan là 1,5 và

2 và 2,5%. Các mẫu đối chứng không dùng các dung dịch bảo quản, để một cách tự nhiên cũng được quan sát đồng thời để so sánh. Các mẫu thí nghiệm được tiến hành vào cuối mùa xuân (tháng 3–4), trong điều kiện tự nhiên, có nhiệt độ và độ ẩm chênh lệch khá lớn giữa ban ngày và ban đêm và giữa các ngày với nhau. Nhiệt độ trung bình là $25 \pm 10^{\circ}\text{C}$ và độ ẩm tương đối là 80%. Trong quá trình chín, vỏ ngoài của xoài chuyển từ màu xanh sang màu vàng và nâu ở cuối quá trình chín.

Bảng 3.3 cho thấy sự thay đổi của vỏ xoài sau khi bảo quản trong khoảng 13 ngày. Qua đánh giá trực quan, có thể nhận thấy, xoài để ở ngoài không khí, không sử dụng màng phủ bảo vệ, sau 6 ngày đã bắt đầu xuất hiện những vết đốm màu đen và bị hỏng hoàn toàn ở ngày thứ 10.

Các mẫu quả được phủ bởi dung dịch chitosan cho thấy thời gian bảo quản tốt hơn. Các vết đốm đen bắt đầu xuất hiện trên các mẫu phủ bởi CS 1,5% và CS 2,5% ở ngày thứ 8 và bắt đầu bị thối hỏng hoàn toàn sau 10 ngày. Mẫu phủ dung dịch chitosan 2% cho kết quả tốt nhất, sau ngày thứ 10 mới bắt đầu xuất hiện đốm đen và chỉ bắt đầu bị thối hỏng sau 13 ngày.

Bảng 3. 3: Sự thay đổi màu sắc của xoài sau 13 ngày bảo quản với 4 công thức: mẫu không phủ, mẫu CS 1,5%, mẫu CS 2,0%; mẫu CS 2,5%.

Ngày	Mẫu đối chứng (mẫu không phủ)	Mẫu CS 1,5%	Mẫu CS 2,0%	Mẫu CS 2,5%
6				
8				
10				
13				

Tỉ lệ thối hỏng của xoài được tính như sau:

$$\text{Tỉ lệ thối hỏng (\%)} = \frac{A}{B} \cdot 100$$

Trong đó:

A là số quả hỏng

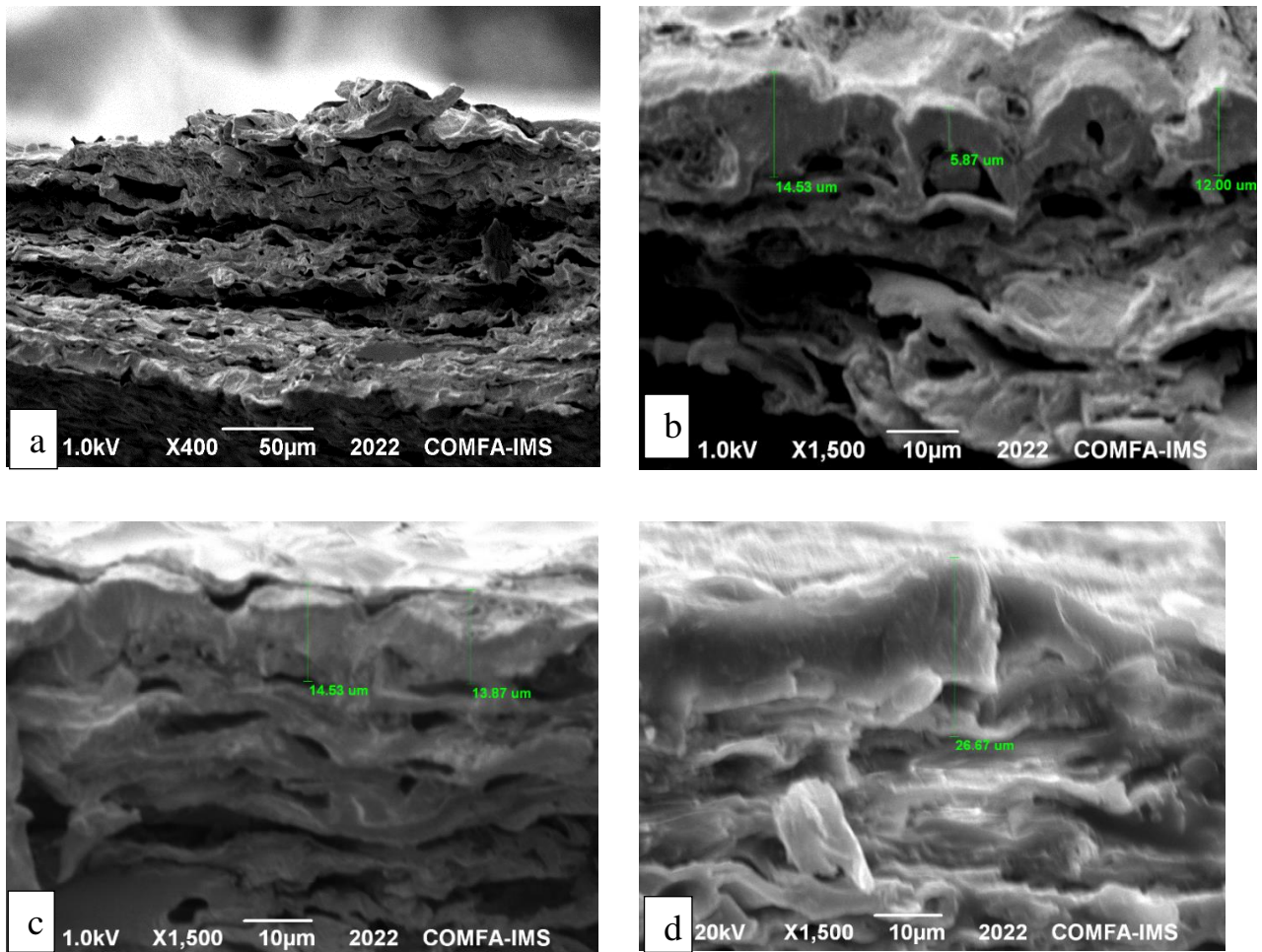
B là số quả theo dõi trong thời gian bảo quản

Tỉ lệ thối hỏng của của quả xoài trong mẫu đối chứng, mẫu CS 1,5%; mẫu CS 2%; mẫu CS 2,5% được thống kê và xác định như bảng 3.4.

Bảng 3. 4: Tỉ lệ thối hỏng (%) của quả xoài trong mẫu đối chứng, mẫu CS 1,5%; mẫu CS 2%; mẫu CS 2,5%.

Ngày	Mẫu đối chứng (mẫu không phủ)	Mẫu CS 1,5%	Mẫu CS 2,0%	Mẫu CS 2,5%
6	10	2	0	4
8	30	15	2	20
10	90	60	10	80
13	100	100	50	90

3.2.2. Kết quả đo SEM



Hình 3. 4: Hình chụp SEM của vỏ quả xoài (a) không phủ, (b) có lớp phủ CS 1,5%, (c) có lớp phủ CS 2%, (d) có lớp phủ CS 2,5%.

Ảnh chụp mặt cắt ngang của vỏ quả xoài khi được phủ bởi màng CS được thể hiện trên hình 3.4. Từ hình 3.4a có thể thấy hình thái bề mặt của vỏ quả xoài

trước khi phủ, tương đối thô ráp với các vết nứt, rãnh trên bề mặt ngoài. Khi được phủ bởi các dung dịch chitosan, vỏ quả mịn, nhẵn hơn, không có các phân đoạn trên bề mặt. Dung dịch chitosan 2% cho thấy độ dày của lớp phủ tương đối đồng đều (14 μm), trong khi dung dịch chitosan với nồng độ thấp hơn (1,5%) cho thấy sự khác biệt khá lớn của lớp phủ ở các vị trí khác nhau, có thể là do độ nhớt của dung dịch chưa đủ để tạo độ bám dính chắc chắn trên bề mặt quả. Cùng với hiệu quả bảo quản quả đã được chứng minh ở mục 3.2.1., dung dịch chitosan 2% được lựa chọn để chế tạo chế phẩm bảo quản trong các thí nghiệm tiếp theo.



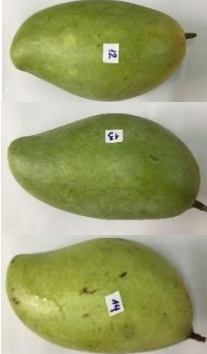
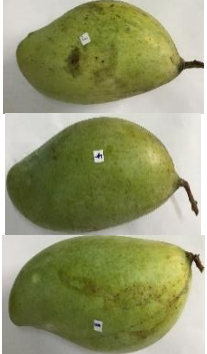


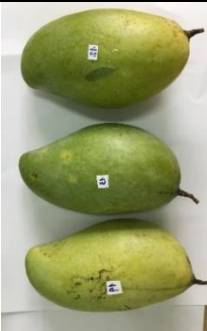

3.3. Xác định hàm lượng phức [RuT \subset HP β CD] để tạo chế phẩm bảo quản












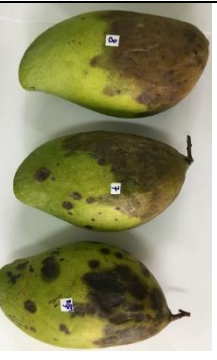



3.3.1. Đánh giá sự biến đổi màu sắc và tỉ lệ thối hỏng

Một số nghiên cứu đã chứng minh, dung dịch chitosan khi được bổ sung hoạt chất ở dạng phức hợp vào màng chitosan có tác dụng hiệp đồng, nâng cao được hiệu quả bảo quản [27].

Trong nghiên cứu này, phức hợp [RuT \subset HP β CD] được bổ sung vào dung dịch chitosan (2%) với hàm lượng ở các giá trị 0,2; 0,5; 1,0% khối lượng. Xoài được bảo quản trong điều kiện tự nhiên, có nhiệt độ trung bình 25 ± 10 °C và độ ẩm tương đối là 80%.

Bảng 3. 5: Sự thay đổi màu sắc của xoài sau 18 ngày bảo quản tương ứng với 4 công thức CS 2%; CS 2%/phức 0,2%; CS 2%/phức 0,5%; CS 2%/phức 1%

Ngày	Mẫu đối chứng (CS 2%)	CS 2%/phức 0,2%	CS 2%/phức 0,5%	CS 2% / phức 1%
0				
4				

11				
13				
15				
18				

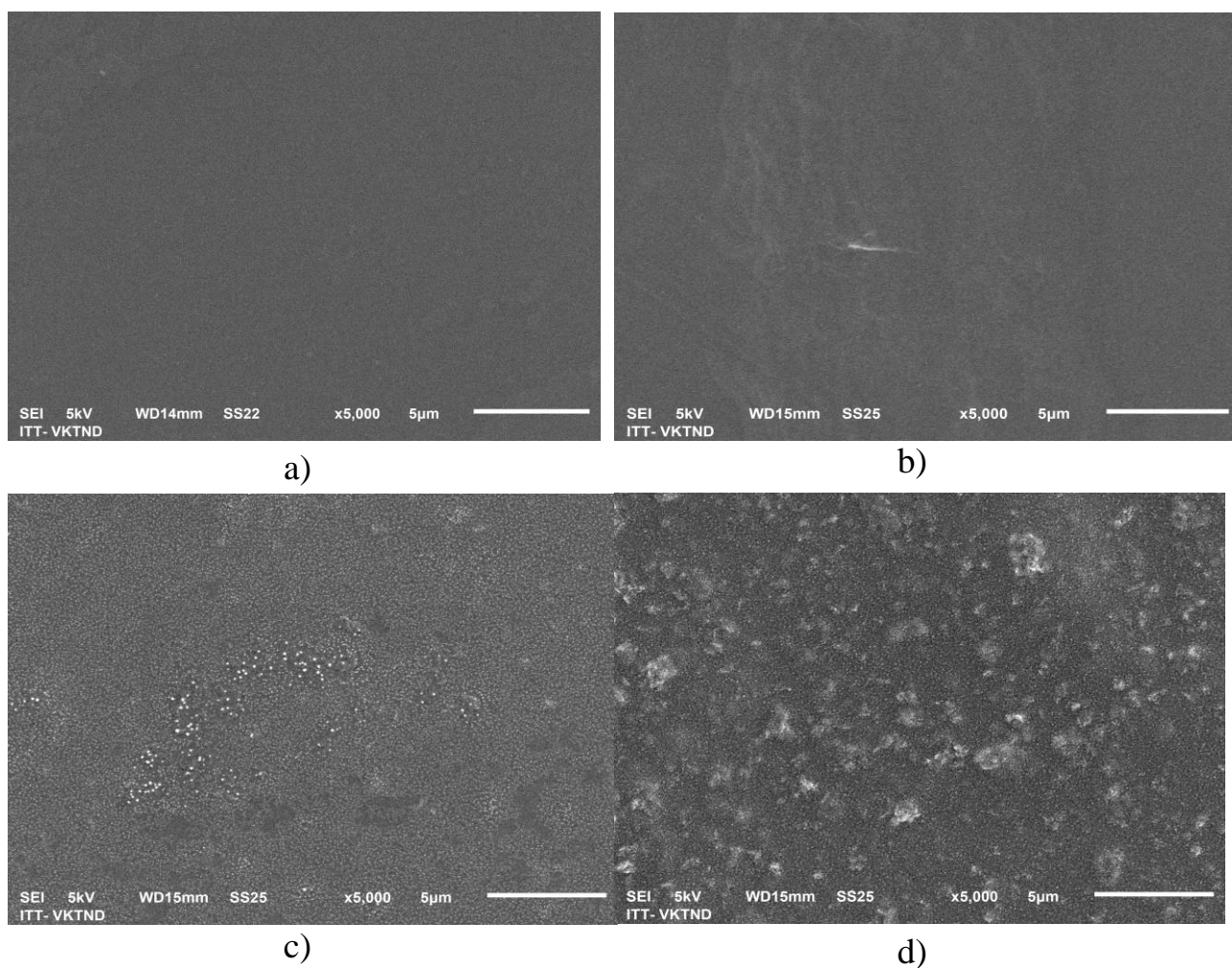
Bảng 3.5 cho thấy sự thay đổi của vỏ xoài sau khi bảo quản trong khoảng 18 ngày. Qua đánh giá trực quan, có thể nhận thấy, các mẫu quả được phủ bởi dung dịch chitosan khi được bổ sung các phức hợp của rutin-cyclodextrin có thời gian bảo quản tốt hơn hẳn so với các mẫu đối chứng (mẫu chitosan 2%). Các vết đốm đen bắt đầu xuất hiện trên các mẫu bắt đầu xuất hiện ở ngày thứ 11 và bị thối hỏng hoàn toàn sau 13 ngày. Mẫu phủ dung dịch chitosan 2%/ phức 0,5% cho kết quả tốt nhất so với các mẫu còn lại, sau ngày thứ 15 mới bắt đầu xuất hiện đốm đen và chỉ bị thối hỏng sau 18 ngày. Bảng 3.6 cho biết tỉ lệ thối hỏng (%) của xoài trong mẫu đối chứng (CS2%) và 3 chế phẩm màng CS 2%/phức 0,2%; CS 2%/phức 0,5%; CS 2%/phức 1%.

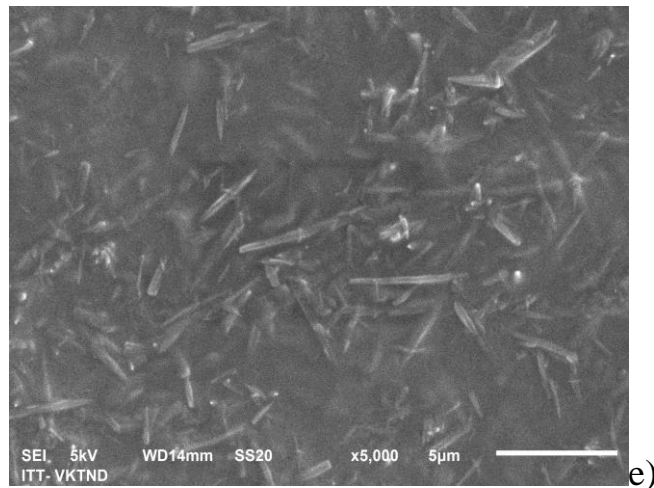
Bảng 3. 6: Tỷ lệ thối hỏng (%) của xoài trong mẫu đối chứng (CS2%) và 3 chế phẩm màng CS 2%/phức 0,2%; CS 2%/phức 0,5%; CS 2% /phức 1%.

Ngày	Mẫu đối chứng (CS2%)	CS 2%/phức 0,2%	CS 2%/phức 0,5%	CS 2% /phức 1%
0	0	0	0	0
4	5	2	0	10
11	20	10	0	15
13	70	15	10	20
15	100	60	20	65

Như vậy, dung dịch chứa 2% chitosan/0,5% phức cho kết quả tốt nhất, xoài được bảo quản trong 18 ngày ở nhiệt độ thường ($26,5 \pm 10^\circ\text{C}$), độ ẩm trung bình 75-86%. Hàm lượng phức 0,5% được lựa chọn trong các thí nghiệm tiếp theo.

3.3.2. Kết quả chụp SEM bề mặt của lớp phủ



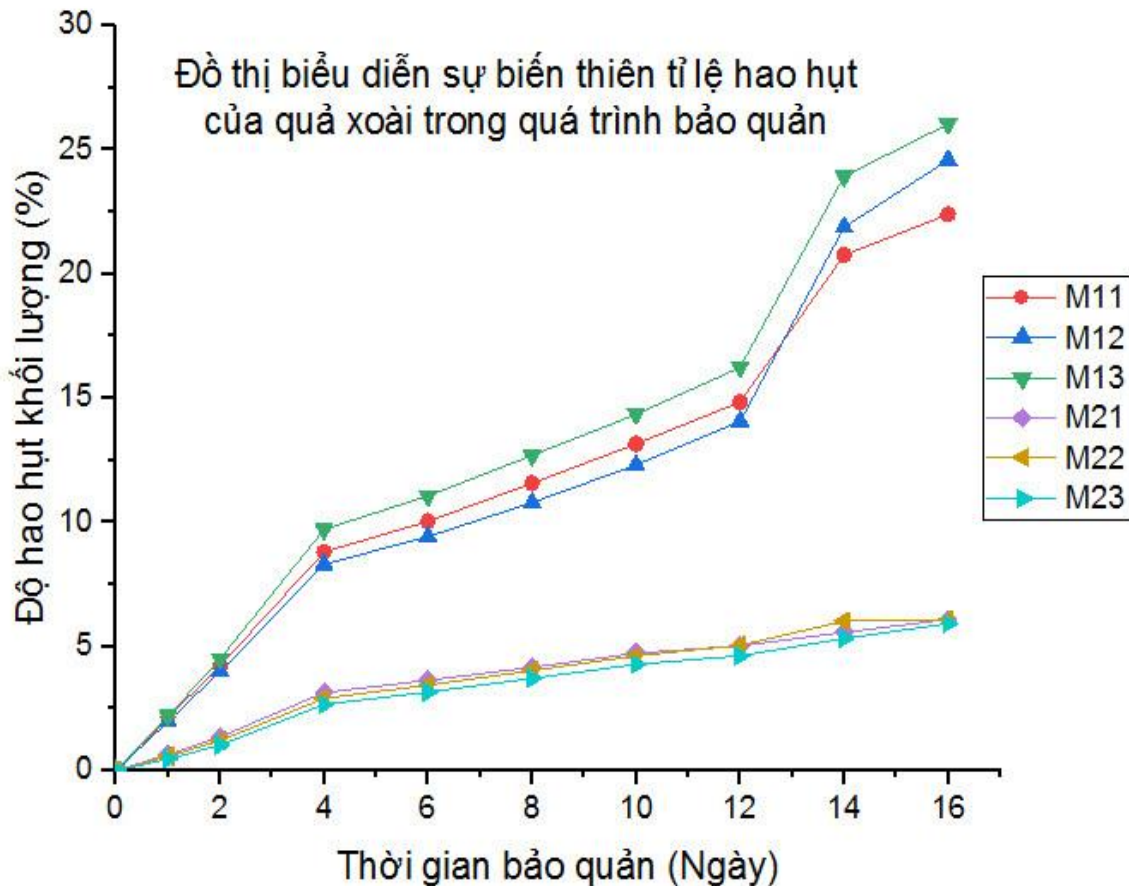


Hình 3. 5: Ảnh SEM chụp bề mặt của các lớp phủ với hàm lượng a) CS2%; b) CS2%/phức 0,2%; c) CS2%/phức 0,5%; d) CS2%/phức 1,0%; e) CS2%/rutin 0,5%.

Hình 3.5 thể hiện kết quả phân tích hình thái bề mặt của các lớp phủ có thành phần, hàm lượng của phức hợp khác nhau, lần lượt là 0; 0,2; 0,5; 1%. Có thể nhận thấy rằng, khi hàm lượng phức nhỏ (0,2%, hình b) bề mặt của lớp phủ khá tương đồng với lớp phủ chỉ chứa chitosan với cùng hàm lượng (hình a). Tuy nhiên, khi hàm lượng phức lớn (1,0%, hình c), sự phân tán của phức hợp trên bề mặt của lớp phủ không đồng đều và bị co cụm. Đối với nồng độ phức 0,5%, có thể thấy rõ sự phân bố các hạt khá đồng đều. Trong hình (e) ta cũng nhận rõ vai trò của cyclodextrin đối với quá trình chế tạo lớp phủ: RuT ở dạng tự do (hàm lượng 0,5%), khi được bổ sung vào dung dịch chitosan với cùng nồng độ (2%), RuT vẫn giữ nguyên dạng thanh nhỏ, mảnh, cản trở khá nhiều lên quá trình phân tán trong dung dịch. Ngược lại, sau khi tạo phức, RuT được phân tán trong CS đã chuyển về dạng hạt, giúp cho quá trình phân tán được đồng đều và dễ dàng hơn.

3.3.3. Kết quả đo sự tổn hao khối lượng

Tổn hao khối lượng là một trong những tiêu chuẩn quan trọng để đánh giá hiệu quả của lớp phủ cũng như chất lượng của quả xoài trong quá trình bảo quản. Mối tương quan giữa thời gian bảo quản và sự tổn hao khối lượng của các mẫu khác nhau khi được phủ với công thức có hàm lượng CS 2% và phức 0,5% được trình bày ở hình 12 (M21, M22, M23). Hình 3.6 cũng thể hiện mối tương quan này với các mẫu khi được phủ bởi công thức có hàm lượng CS 2% (M11, M12, M13).



Hình 3. 6: Tổn hao khối lượng của mẫu xoài đối chứng (CS2%) (M11, M12, M13) và có lớp màng phủ (CS2%/phức 0,5%) (M21, M22, M23).

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng việc giảm khối lượng là do tăng sự mất nước và hô hấp từ đó làm trái cây mềm và chín bằng các phản ứng trao đổi chất [29]. Lớp phủ trên quả xoài có thể đóng vai trò là rào cản chống lại sự xâm nhập của độ ẩm, CO₂ và O₂, do đó, làm giảm mất nước và quá trình hô hấp.

Có thể thấy rằng quả xoài khi được phủ bởi lớp màng CS/[RuT ⊂ HPβCD] đã giảm thiểu được sự hao hụt khối lượng so với các mẫu không được phủ qua các ngày khảo sát. Xoài được phủ với chế phẩm bị tổn hao khối lượng ít nhất khoảng 7%, trong khi khi để ngoài tự nhiên bị giảm đến 27%.

3.3.4. Kết quả đo màu sắc và độ cứng của quả

Màu sắc và độ cứng của quả khi được phủ bởi màng phủ có công thức CS2%/phức0,5% được khảo sát theo thời gian. Các mẫu quả phủ bởi chế phẩm có công thức CS2% cũng được phân tích đồng thời để đối chứng. Kết quả đo được thể hiện trong bảng 3.7.

Khi quả xoài dần chín, kết cấu và cấu trúc tế bào của vỏ thay đổi, độ cứng của quả giảm dần theo thời gian, màu sắc của vỏ quả biến đổi từ màu xanh, dần chuyển sang vàng và thâm đen khi bị hỏng. Do đó, độ cứng và màu sắc của vỏ

quả được coi là các chỉ tiêu khá quan trọng để đánh giá hiệu quả bảo vệ của lớp phủ. Nhìn vào bảng 3.7 có thể nhận thấy, các mẫu xoài khi được phủ bởi công thức CS2%/phức0,5% có độ cứng giảm ít hơn so với các mẫu xoài khi phủ bởi CS2%.

Trong đó, M11, M12, M13 là các mẫu quả được phủ bởi chế phẩm có công thức CS2%; các mẫu M21, M22, M23 là các mẫu quả được phủ bởi chế phẩm có công thức CS2%/phức0,5%.

Bảng 3. 7: Kết quả xác định màu sắc và độ cứng của các mẫu quả theo thời gian

Ngày thứ		Màu sắc			Độ cứng (N)
		L*	a*	b*	
0	M11	69.01	-5.68	50.18	5.45
		68.16	-6.05	52.92	5.60
		66.04	-5.45	51.99	4.15
		67.98	-5.76	52.11	5.90
		65.08	-5.59	50.76	5.95
	M12	62.68	-6.19	50.95	5.75
		66.68	-5.97	52.19	6.85
		62.07	-5.75	52.82	7.05
		67.61	-5.67	51.41	6.35
		66.10	-5.99	51.36	4.60
		65.14	-5.67	51.69	7.05
	M13	65.45	-5.26	52.73	8.15
		62.06	-5.43	50.01	7.00
		63.66	-5.11	52.80	7.25
		63.70	-5.73	51.13	8.80
	M21	60.41	-5.29	52.65	7.60
		61.07	-5.74	52.19	5.65
		62.27	-5.83	50.12	6.95
		63.44	-5.32	51.94	7.70
		63.18	-5.32	51.72	6.37

	M22	64.46	-5.75	50.64	6.10
		66.52	-5.80	52.84	5.75
		66.77	-5.71	51.33	6.75
		66.05	-5.71	52.54	7.65
		65.28	-5.17	50.07	7.76
	M23	67.38	-5.54	51.12	5.30
		64.45	-5.29	52.12	5.45
		63.84	-5.61	51.29	6.05
		67.82	-5.87	50.02	5.40
		67.00	-5.74	51.85	6.65
		68.09	-4.65	54.28	4.90
	M11	70.31	-5.11	55.78	4.55
		67.04	-4.65	55.05	4.60
		68.18	-4.14	54.97	4.75
		66.09	-4.58	55.81	4.70
	M12	63.11	-4.66	54.82	5.60
		67.87	-5.05	54.09	5.50
		68.47	-4.40	55.77	5.00
		65.49	-4.57	55.38	4.95
		62.40	-4.92	54.38	5.95
	M13	65.11	-4.54	54.02	6.45
		65.40	-4.46	55.74	5.75
		63.17	-4.74	54.35	6.40
		64.41	-4.81	55.55	6.25
		64.11	-4.27	55.92	7.00
	M21	70.41	-4.29	55.07	5.60
		70.01	-4.71	54.07	5.15
		71.90	-4.64	54.56	6.90
		72.51	-4.62	55.43	6.10
2					

		67.57	-5.19	55.19	6.40
	M22	63.99	-4.74	54.67	3.65
		63.88	-4.13	54.15	3.46
		63.72	-4.21	54.02	4.30
		63.71	-5.08	55.15	4.35
		64.66	-4.58	55.91	5.30
	M23	66.72	-4.46	55.74	5.35
		63.59	-5.03	54.17	4.95
		61.60	-4.16	55.95	4.60
		66.87	-4.96	55.77	5.70
		66.15	-4.94	55.87	4.30
4		67.92	-3.52	55.09	5.25
	M11	69.57	-3.90	54.13	6.65
		66.96	-4.20	54.58	6.00
		67.82	-3.61	55.22	6.55
		64.50	-3.97	54.15	6.35
	M12	71.82	-3.47	55.85	6.65
		77.38	-3.91	54.88	6.30
		79.05	-3.41	55.51	6.60
		75.83	-3.46	55.28	6.30
		73.17	-3.88	55.93	6.10
		74.77	-4.20	55.49	6.95
		75.49	-3.20	55.55	7.50
	M13	73.18	-3.10	54.86	6.95
		73.26	-3.98	55.39	7.30
		74.06	-4.01	55.72	7.00
	M21	70.82	-3.92	55.93	6.05
	71.40	-4.03	55.70	6.50	
	71.29	-3.52	55.07	6.55	

		71.04	-3.90	51.68	6.25
		76.85	-3.85	52.58	7.05
	M22	71.01	-3.85	55.05	5.65
		79.79	-3.71	55.93	6.50
		70.94	-3.64	54.99	5.75
		72.14	-4.10	55.52	5.20
		73.44	-3.83	55.28	5.25
	M23	75.92	-3.78	55.66	6.60
		72.61	-3.49	55.25	5.55
		70.29	-4.25	55.12	5.85
		75.65	-3.43	55.07	5.70
		75.03	-3.72	54.90	5.10
6		72.06	-2.14	56.12	1.45
	M11	75.64	-2.30	56.38	2.15
		74.92	-2.94	56.29	3.05
		74.07	-2.19	56.04	1.65
		76.19	-3.05	57.77	1.55
	M12	73.63	-2.24	56.05	3.15
		74.16	-2.66	56.25	2.65
		76.38	-2.21	57.52	2.90
		73.99	-3.18	56.18	1.90
		72.44	-2.45	56.12	2.60
	M13	76.27	-3.08	58.49	2.95
		73.85	-2.69	56.52	3.30
		74.25	-2.88	56.21	2.95
		77.05	-2.59	56.26	2.35
		77.55	-2.19	57.23	1.20
	M21	71.48	-2.57	56.06	2.65
	73.20	-3.01	55.88	2.05	

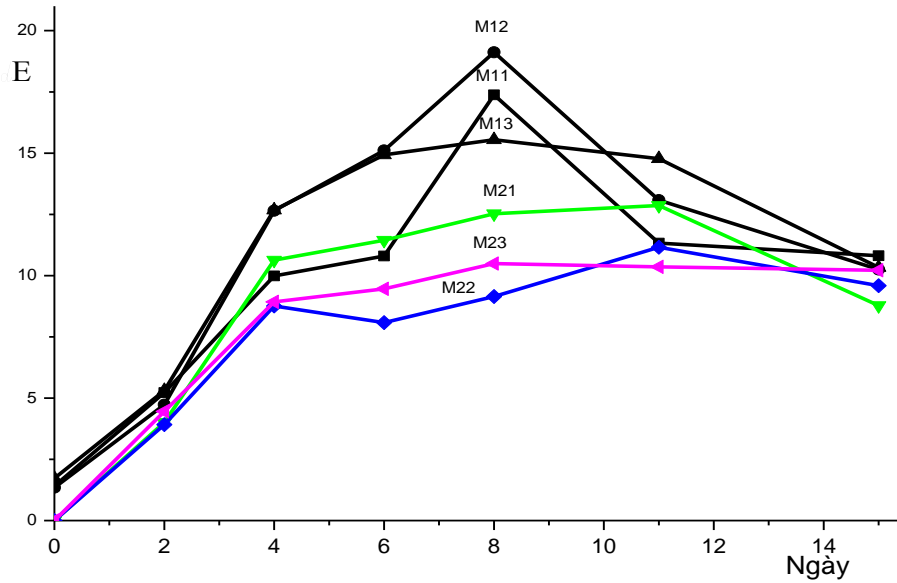
		70.59	-2.36	56.29	2.75
		70.22	-2.66	56.42	3.40
		75.65	-2.96	56.37	4.75
	M22	71.06	-3.06	56.07	1.90
		71.15	-2.34	57.23	1.20
		71.71	-2.85	56.17	2.40
		71.30	-2.17	56.21	2.85
		71.86	-2.10	56.35	2.70
	M23	73.74	-3.10	56.81	2.75
		71.84	-2.40	55.90	3.35
		72.01	-2.17	56.84	4.15
		73.44	-2.99	57.34	3.65
		74.33	-2.43	57.75	2.75
8		82.06	-2.41	58.12	3.05
	M11	81.64	-2.30	57.38	3.60
		80.92	-2.94	58.29	2.40
		82.07	-2.19	58.04	2.55
		81.19	-3.05	57.77	2.60
	M12	81.63	-2.24	58.05	3.00
		80.16	-2.66	58.25	3.01
		82.33	-2.21	57.52	3.25
		81.99	-3.18	58.18	2.20
		80.44	-2.45	58.12	2.25
	M13	76.27	-3.08	59.49	3.14
		73.85	-2.69	58.52	3.20
		74.25	-2.88	58.21	3.25
		77.05	-2.59	58.26	2.70
		77.55	-2.19	57.23	2.80
	M21	71.48	-2.57	58.60	3.40

		73.20	-3.01	58.88	3.35
		70.59	-2.36	58.29	4.40
		70.22	-2.66	58.42	3.15
		75.65	-2.96	58.37	3.70
	M22	71.06	-3.06	58.07	2.00
		71.15	-2.34	57.23	2.20
		71.71	-2.85	58.17	2.90
		71.30	-2.17	58.21	2.90
		71.86	-2.10	58.35	2.65
	M23	73.74	-3.10	58.81	3.90
		71.84	-2.40	57.90	3.40
		72.01	-2.17	58.84	3.10
		73.44	-2.99	58.34	2.80
		74.33	-2.43	58.75	3.55
		75.29	-1.20	58.05	1.80
	M11	72.21	-1.45	58.38	2.80
		73.22	-1.64	58.97	2.30
		74.20	-1.70	58.73	2.81
		70.13	-2.00	58.54	2.20
	M12	76.30	-1.25	58.45	2.00
		71.53	-1.67	58.32	2.50
		75.44	-1.85	59.07	2.40
		72.64	-1.79	58.53	2.80
		71.51	-1.53	58.93	2.50
	M13	77.18	-1.99	57.35	2.60
		75.67	-1.23	57.03	2.85
		75.61	-1.61	58.35	2.55
		71.71	-1.84	57.10	2.75
		74.29	-1.47	58.99	2.90
11					

	M21	71.91	-1.56	58.20	2.60
		72.68	-1.62	58.79	2.08
		70.28	-1.04	58.83	2.30
		71.75	-2.01	58.70	2.95
		74.67	-1.40	57.97	2.35
	M22	76.45	-1.38	58.27	1.55
		72.89	-1.42	58.71	1.75
		74.98	-1.78	58.48	2.20
		72.89	-1.43	57.80	1.80
		70.62	-1.44	58.56	1.90
	M23	73.22	-1.35	58.27	2.10
		70.64	-1.98	58.23	2.20
		73.04	-1.84	58.04	3.00
		72.41	-1.08	58.01	2.60
		73.32	-1.41	58.98	6.65
		63.31	-0.93	58.95	1.60
	M21	65.98	-0.06	58.09	2.00
		60.41	-0.97	58.09	2.20
		62.34	-0.82	58.62	2.22
		63.37	-0.68	58.02	1.75
	M22	68.51	-0.88	58.10	1.65
		62.64	-0.02	59.30	1.95
		64.18	-0.84	59.44	2.05
		63.17	-0.97	58.92	2.30
		60.10	-0.86	58.52	1.75
	M23	62.39	-0.10	59.03	1.85
		60.72	-0.99	58.47	2.25
		63.38	-0.84	58.30	3.30
		62.08	-0.17	58.66	3.35

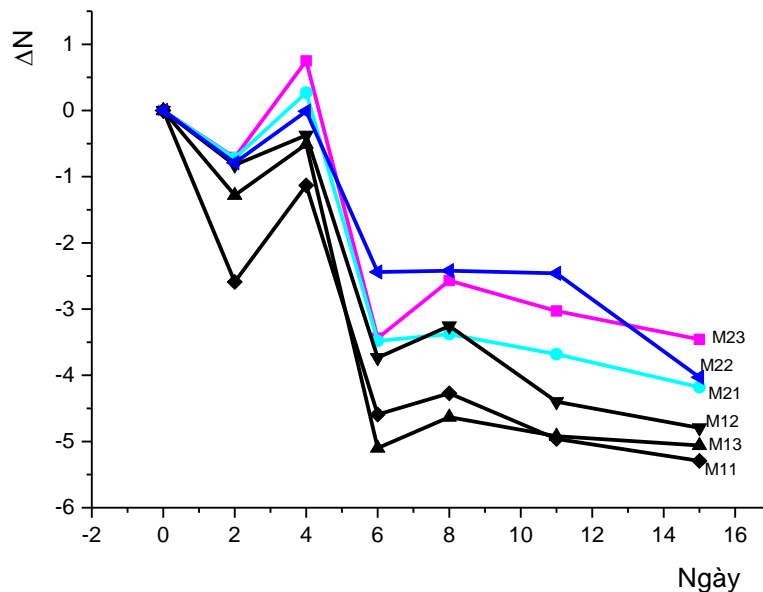
		63.25	-0.45	58.23	2.20
15		63.39	-0.66	58.93	1.50
	M21	66.33	-0.74	59.85	1.75
		60.42	-0.98	58.82	2.90
		62.98	-0.25	59.10	2.65
		62.44	-0.71	58.17	1.50
	M22	65.79	-0.13	59.63	1.20
		62.57	-0.48	58.21	1.25
		64.28	-0.98	59.84	1.40
		64.00	-0.98	58.85	1.90
		60.80	-0.23	59.90	1.80
	M23	61.80	-0.63	58.60	1.95
		61.86	-0.88	58.08	2.05
		60.34	-0.61	59.98	1.40
		60.63	-0.44	58.33	1.30
		62.04	-0.62	59.14	2.00

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$



Hình 3. 7: Biểu đồ biểu thị sự thay đổi màu sắc

$\Delta N = Ni - No$



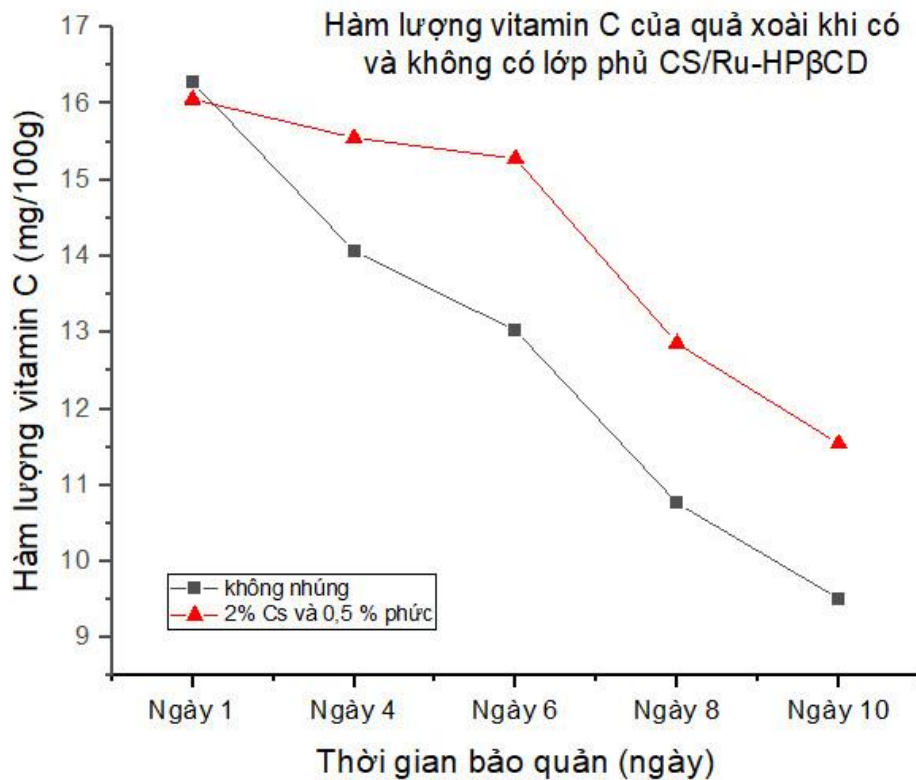
Hình 3. 8: Biểu đồ biểu diễn sự thay đổi độ cứng của quả xoài

3.3.3. Xác định hàm lượng vitamin C

Xoài được đánh giá là loại trái cây rất giàu vitamin C, góp phần hỗ trợ cơ thể hấp thụ canxi tốt hơn, giúp cho hệ xương mạnh chắc khỏe. Vitamin C có trong xoài giúp cơ thể “chiến đấu” chống lại viêm nhiễm, làm giảm đáng kể nguy cơ mắc phải các bệnh liên quan đến máu, giúp cơ thể hấp thụ sắt, làm cho

các mạch máu trong cơ thể lưu thông tốt, khỏe mạnh và do đó đàn hồi hơn. Bên cạnh đó vitamin C giúp cơ thể sản sinh ra các tế bào máu mới và góp phần phòng ngừa bệnh máu không đông.

Hình 3.7 thể hiện sự thay đổi hàm lượng vitamin C trong mẫu xoài khi được phủ bởi lớp phủ có hàm lượng CS2% và phức 0,5%, đối chứng với mẫu xoài khi không được phủ.



Hình 3. 9: Hàm lượng vitamin C của quả xoài khi có và không có lớp phủ CS2%/RuT-HP β CD 0,5%.

Trong quá trình chín, hàm lượng vitamin C trong quả xoài giảm dần. Có thể thấy rằng màng phủ bảo quản đã hạn chế đáng kể được sự suy giảm hàm lượng vitamin C trong quả xoài, tăng chất lượng và thời gian bảo quản hơn so với mẫu đối chứng.

CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. KẾT LUẬN

1. Đã tổng hợp thành công phức hợp bao [RuT \subset HP β CD] theo phương pháp đồng kết tủa.

2. Đã chế tạo thành công chế phẩm bảo quản-dung dịch lỏng che phủ được kết hợp từ chitosan với phức hợp bao của RuT và HP β CD, ứng dụng để bảo quản xoài sau thu hoạch. Chế phẩm có nồng độ dung dịch chitosan 2% được pha chế trong dung dịch axit axetic 1%, hàm lượng phức [RuT \subset HP β CD] 0,5%. Lớp phủ cho thấy đã cải thiện đáng kể về chất lượng và kéo dài thời gian bảo quản xoài so với mẫu đối chứng, 18 ngày ở nhiệt độ $25\pm 10^{\circ}\text{C}$, độ ẩm 75-86%.

Quả xoài được bảo quản với lớp phủ này có lớp vỏ tương đối mịn, quá trình chín được làm chậm lại đáng kể, các tính chất sinh hóa như màu sắc, tổn hao khối lượng, vitamin C của quả xoài được giữ lại lâu hơn trong thời gian bảo quản so với mẫu đối chứng.

4.2. ĐÓNG GÓP VÀ KIẾN NGHỊ

Đóng góp: Nghiên cứu và chế tạo thành công chế phẩm bảo quản bảo vệ trái xoài là composit thiên nhiên (chitosan và hoạt chất chứa rutin kết hợp HP β CD).

Kiến nghị: Từ những kết quả nghiên cứu được, chúng tôi đề xuất thử nghiệm khả năng bảo vệ một số quả, nông sản nhiệt đới khác của chế phẩm bảo quản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Thanh Phước, Nguyễn Thúy Vi, Tôn Nữ Liên Hương, “Các phương pháp tạo màng bảo quản trái cây họ cam quýt”, *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 57, 136-142, 2021.
2. El Guilli M, Hamza A, Clément C, Ibriz M, Ait Barka E, “Effectiveness of Postharvest Treatment with Chitosan to Control Citrus Green Mold”, *Agriculture*, 6 (2), 12, 2016.
3. Abdelgawad AM, Hudson SM, Rojas OJ, “Antimicrobial wound dressing nanofiber mats from multicomponent (chitosan/silver-NPs/polyvinyl alcohol) systems”, *Carbohydrate Polymers*, 100, 166-178, 2014.
4. Chen C, Cai N, Chen J, Peng X, Wan C, “Chitosan-Based Coating Enriched with Hairy Fig (*Ficus hirta* Vahl.) Fruit Extract for “Newhall” Navel Orange Preservation”, *Coatings*, 8 (12), 445, 2018.
5. Bajić M, Ročnik T, Oberlintner A, Scognamiglio F, Novak U, Likozar B, “Natural plant extracts as active components in chitosan-based films: A comparative study”, *Food Packaging and Shelf Life*, 21, 100365, 2019.
6. Tayel AA, Moussa SH, Salem MF, Mazrou KE, El-Tras WF, “Control of citrus molds using bioactive coatings incorporated with fungal chitosan/plant extracts composite”, *Coatings*, 96 (4), 1306-1312, 2016.
7. Mahmoud TSM, Yassin NMA, Shaaban FKM, “Influence of Postharvest Application with Chitosan and some Natural Plant Extracts on Storage Life and Quality Attributes of Navel Orange Fruits during Cold Storage “ *Middle East Journal of Agriculture Research* , 6 (2), 330-339, 2017.
8. Zhao Y, Deng L, Zhou Y, Yao S, Zeng K, “Chitosan and *Pichia membranaefaciens* control anthracnose by maintaining cell structural integrity of citrus fruit”, *Biological Control*, 124, 92-99, 2018.
9. Martínez-Blay V, Pérez-Gago MB, de la Fuente B, Carbó R, Palou L, “Edible Coatings Formulated with Antifungal GRAS Salts to Control Citrus Anthracnose Caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and Preserve Postharvest Fruit Quality”, *Coatings*, 10 (8), 730, 2020.
10. Phạm Thị Hà Vân, Nguyễn Thị Thúy Liễu, Lê Sĩ Ngọc, Nguyễn Hoàng Thảo Ly, “Nghiên cứu ứng dụng màng chitosan-nano bạc trong bảo quản nhằm nâng cao chất lượng thanh long sau thu hoạch”, *Tạp chí khoa học Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh*, 14 (3), 47-56, 2017.

11. Bùi Xuân Vương, “Tổng hợp và đặc trưng vật liệu composite hydroxyapatite/chitosan ứng dụng trong kỹ thuật y sinh”, *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 34 (1), 9-15, 2017.
12. Lê Trần Tiên Châu, Trần Thị Ngọc Lan, Bùi Hoàng Dũng, Trần Trung Hiếu, Lương Thị Mỹ Ngân, Lê Thị Thanh Loan, Nguyễn Thị Mỹ Lan, “Khảo sát khả năng kháng *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* của nano bạc – chitosan composite và nano bạc sinh tổng hợp từ dịch nuôi cấy *Saccharomyces cerevisiae*”, *Hội thảo khoa học Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên, ĐHQG-HCM*, TP Hồ Chí Minh, 2018.
13. Nguyễn Lê Đại Phúc, Nguyễn Trung Độ, Đào Thị Băng Tâm, Lưu Kiến Quốc, Hà Thúc Chí Nhân, “Ảnh hưởng của chitosan biến tính với cao chiết trà xanh lên khả năng bảo quản nông sản chuối”, *Hội thảo khoa học Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên, ĐHQG-HCM, TP Hồ Chí Minh*, 2018.
14. Nguyễn Thị Thương, Hoàng Ngọc Bích, “Nghiên cứu tổng hợp màng kháng khuẩn dựa trên chitosan và chiết xuất Trà không ứng dụng trong bao gói và bảo quản thực phẩm”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Nguyễn Tất Thành*, 4, 39-43, 2018.
15. Đào Thị Tô Uyên, Nguyễn Thị Thương, Hoàng Ngọc Bích, “Nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn của màng chitosan kết hợp với chiết xuất lá bần ổi”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Nguyễn Tất Thành*, 8, 48-51, 2019.
16. Hoàng Thanh Đức, Nguyễn Thị Thu Trang, Nguyễn Anh Tuấn, “Nghiên cứu quá trình giải phóng Quinin Sulfat từ vật liệu tổ hợp Polyaxit Lactic/Chitosan/Quinin Sulfat”, *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 35 (1), 1-9, 2019.
17. Lemesle-Lamache V, Wouessidjewe D, Ferrier D, Perly B, Duchene D, Taverna M, “Physicochemical Characterization of Different Batches of Ethylated β -Cyclodextrins”, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86 (9), 1051-1056, 1997.
18. Patil J, “Inclusion complex system; a novel technique to improve the solubility and bioavailability of poorly soluble drugs: A review”, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 2, 101-109, 2010.
19. Sajeesh S, Bouchemal K, Marsaud V, Vauthier C, Sharma CP, “Cyclodextrin complexed insulin encapsulated hydrogel microparticles: An oral delivery system for insulin”, *Journal of Controlled Release*, 147 (3), 377-384, 2010.

20. Lira MCB, Ferraz MS, da Silva DGVC, Cortes ME, Teixeira KI, Caetano NP, Sinisterra RD, Ponchel G, Santos-Magalhães NS, “Inclusion complex of usnic acid with β -cyclodextrin: characterization and nanoencapsulation into liposomes”, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 64 (3), 215-224, 2009.
21. Nguyễn Cao Hiền, Tan Văn Hâu, Lê Thị Thanh Vân, Võ Tuấn Quốc, “Tổng hợp hệ nano hydroxypropyl-betacyclodextrin/alginate làm vật liệu mang thuốc”, *Tạp chí Khoa học công nghệ và Thực phẩm*, 13 (1), 89-94, 2017.
22. Lưu Thái Danh, Trần Thị Ngọc Nữ, Bùi Thị Cẩm Hương, Đái Thị Xuân Trang, Dương Minh Viễn, Nguyễn Trọng Tuấn, “Nghiên cứu phức hợp của curcumin với hydroxypropyl- β -cyclodextrin có sinh khả dụng cao”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 55 (3B), 1-7, 2019.
23. Yang J, Guo J, Yuan J, “In vitro antioxidant properties of rutin”, *LWT - Food Science and Technology*, 41 (6), 1060-1066, 2008.
24. Tsuchiya H, Inuma M, “Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from *Sophora exigua*”, *Phytomedicine*, 7 (2), 161-165, 2000.
25. Plaper A, Golob M, Hafner I, Oblak M, Šolmajer T, Jerala R, “Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 306 (2), 530-536, 2003.
26. Haraguchi H, Tanimoto K, Tamura Y, Mizutani K, Kinoshita T, “Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*”, *Phytochemistry*, 48 (1), 125-129, 1998.
27. Mazzeo MF, Lippolis R, Sorrentino A, Liberti S, Fragnito F, Siciliano RA, “*Lactobacillus acidophilus*—Rutin Interplay Investigated by Proteomics”, *PLOS ONE*, 10 (11), e0142376, 2015.
28. Kyo-Hwan R, Seong-Kug E, Young-So K, Chong-Kil L, Seong-Sun H, “Antimicrobial Activity and Acute Toxicity of Natural Rutin”, *Korean Journal of Pharmacognosy*, 27 (4), 309-315, 1996.
29. Soni H, Malik J, Singhai AK, Sharma S, “Antimicrobial and Antiinflammatory Activity of the Hydrogels Containing Rutin Delivery”, *Asian Journal of Chemistry*, 25 (15), 8371-8373, 2013.
30. Arima H, Ashida H, Danno G-i, “Rutin-enhanced antibacterial activities of flavonoids against *Bacillus cereus* and *Salmonella enteritidis*”, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 66 (5), 1009-1014, 2002.

31. Orhan DD, Özçelik B, Özgen S, Ergun F, “Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of some flavonoids”, *Microbiological Research*, 165, 6, 496-504, 2010.
32. Dubey S, Ganeshpurkar A, Shrivastava A, Bansal D, Dubey N, “Rutin exerts antiulcer effect by inhibiting the gastric proton pump”, *Indian Journal of Pharmacology*, 45 (4), 415-417, 2013.
33. Selway JWT, “Antiviral activity of flavones and flavans”, *Progress in clinical and biological research*, 213, 521-536, 1986.
34. Rabišková M, Bautzová T, Gajdziok J, Dvořáčková K, Lamprecht A, Pellequer Y, Spilková J, “Coated chitosan pellets containing rutin intended for the treatment of inflammatory bowel disease: In vitro characteristics and in vivo evaluation”, *International Journal of Pharmaceutics*, 422 (1), 151-159, 2012.
35. Nafees S, Rashid S, Ali N, Hasan SK, Sultana S, “Rutin ameliorates cyclophosphamide induced oxidative stress and inflammation in Wistar rats: Role of NFκB/MAPK pathway”, *Chemico-Biological Interactions*, 231, 98-107, 2015.
36. Choi JK, Kim S-H, “Rutin suppresses atopic dermatitis and allergic contact dermatitis”, *Experimental Biology and Medicine*, 238 (4), 410-417, 2013.
37. Fei Liu X, Lin Guan Y, Zhi Yang D, Li Z, De Yao K, “Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan”, *Journal of Applied Polymer Science*, 79 (7), 1324-1335, 2001.
38. Goy RC, Britto Dd, Assis OBG, “A review of the antimicrobial activity of chitosan”, *Polímeros*, 19 (3), 241-247, 2009.
39. Chung Y-C, Chen C-Y, “Antibacterial characteristics and activity of acid-soluble chitosan”, *Bioresource Technology*, 99 (8), 2806-2814, 2008.
40. Benhabiles MS, Salah R, Lounici H, Drouiche N, Goosen MFA, Mameri N, “Antibacterial activity of chitin, chitosan and its oligomers prepared from shrimp shell waste”, *Food Hydrocolloids*, 29 (1), 48-56, 2012.
41. Ouattara B, Simard RE, Piette G, Bégin A, Holley RA, “Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan”, *International Journal of Food Microbiology*, 62 (1), 139-148, 2000.
42. Rhim J-W, Hong S-I, Park H-M, Ng PKW, “Preparation and Characterization of Chitosan-Based Nanocomposite Films with Antimicrobial

Activity”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (16), 5814-5822, 2006.

43. Zhang X, Xiao G, Wang Y, Zhao Y, Su H, Tan T, “Preparation of chitosan-TiO₂ composite film with efficient antimicrobial activities under visible light for food packaging applications”, *Carbohydrate Polymers*, 169, 101-107, 2017.

44. Kasai D, Chougale R, Masti S, Chalannavar R, Malabadi RB, Gani R, Gouripur G, “An Investigation into the Influence of Filler Piper nigrum Leaves Extract on Physicochemical and Antimicrobial Properties of Chitosan/Poly (Vinyl Alcohol) Blend Films”, *Journal of Polymers and the Environment*, 27 (3), 472-488, 2019.

45. Ashrafi A, Jokar M, Mohammadi Nafchi A, “Preparation and characterization of biocomposite film based on chitosan and kombucha tea as active food packaging”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 108, 444-454, 2018.

46. Sébastien F, Stéphane G, Copinet A, Coma V, “Novel biodegradable films made from chitosan and poly(lactic acid) with antifungal properties against mycotoxinogen strains”, *Carbohydrate Polymers*, 65 (2), 185-193, 2006.

47. Gopi S, Amalraj A, Jude S, Thomas S, Guo Q, “Bionanocomposite films based on potato, tapioca starch and chitosan reinforced with cellulose nanofiber isolated from turmeric spent”, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 96, 664-671, 2019.

48. Ren L, Yan X, Zhou J, Tong J, Su X, “Influence of chitosan concentration on mechanical and barrier properties of corn starch/chitosan films”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 1636-1643, 2017.

49. Huang X, Xie F, Xiong X, “Surface-modified microcrystalline cellulose for reinforcement of chitosan film”, *Carbohydrate Polymers*, 201, 367-373, 2018.

50. Li Z, Lin S, An S, Liu L, Hu Y, Wan L, “Preparation, characterization and anti-aflatoxigenic activity of chitosan packaging films incorporated with turmeric essential oil”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 131, 420-434, 2019.

51. Shahbazi Y, “The properties of chitosan and gelatin films incorporated with ethanolic red grape seed extract and Ziziphora clinopodioides essential oil as biodegradable materials for active food packaging”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 99, 746-753, 2017.

52. Wang X, Xie Y, Ge H, Chen L, Wang J, Zhang S, Guo Y, Li Z, Feng X, “Physical properties and antioxidant capacity of chitosan/epigallocatechin-3-gallate films reinforced with nano-bacterial cellulose”, *Carbohydrate Polymers*, 179, 207-220, 2018.
53. Fernandes SCM, Freire CSR, Silvestre AJD, Pascoal Neto C, Gandini A, Berglund LA, Salmén L, “Transparent chitosan films reinforced with a high content of nanofibrillated cellulose”, *Carbohydrate Polymers*, 81 (2), 394-401, 2010.
54. Osheba A, Sorour M, Abdou E, “Effect of Chitosan Nanoparticles as Active Coating on Chemical Quality and Oil Uptake of Fish Fingers”, *Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, 2, 01-14, 2013.
55. Pilon L, Spricigo PC, Miranda M, de Moura MR, Assis OBG, Mattoso LHC, Ferreira MD, “Chitosan nanoparticle coatings reduce microbial growth on fresh-cut apples while not affecting quality attributes”, *International Journal of Food Science & Technology*, 50 (2), 440-448, 2015.
56. Ceylan Z, Unal Sengor GF, Yilmaz MT, “Nanoencapsulation of liquid smoke/thymol combination in chitosan nanofibers to delay microbiological spoilage of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets”, *Journal of Food Engineering*, 229, 43-49, 2018.