

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Ngô Trung Tín

**NGHIÊN CỨU TẠO MÀNG SINH HỌC
POLYSACCHARIDE ĐƯỢC CHIẾT XUẤT TỪ
XƯƠNG RỒNG (*OPUNTIA DILLENII*) VÀ
KHẢO SÁT MỘT SỐ ĐẶC TÍNH CỦA CHÚNG**

LUẬN VĂN THẠC SĨ HOÁ HỮU CƠ

Thành phố Hồ Chí Minh - 2023

NGÔ TRUNG TÍN

HÓA HỮU CƠ

NĂM 2023

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



Ngô Trung Tín

**NGHIÊN CỨU TẠO MÀNG SINH HỌC
POLYSACCHARIDE ĐƯỢC CHIẾT XUẤT TỪ
XƯƠNG RỒNG (*OPUNTIA DILLENII*) VÀ
KHẢO SÁT MỘT SỐ ĐẶC TÍNH CỦA CHÚNG**

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

**LUẬN VĂN THẠC SĨ
NGÀNH HOÁ HỮU CƠ**

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. TS. Nguyễn Hà Thanh

2. PGS.TS. Hoàng Thị Kim Dung

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "thanh", with a horizontal line underneath.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Kim Dung", with a horizontal line underneath.

Thành phố Hồ Chí Minh – 2023

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên, tôi xin gửi lời cảm ơn đến Quý Thầy Cô của Học Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tận tình giảng dạy, truyền đạt kiến thức quý báu trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

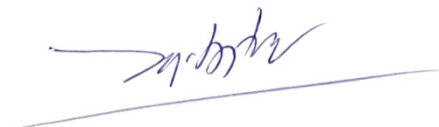
Tôi xin gửi lời cảm ơn đến các anh/chị phòng Hóa hữu cơ Polymer - Viện Công nghệ Hóa học đã hỗ trợ phòng thí nghiệm, máy móc, dụng cụ thí nghiệm và hóa chất cần thiết.

Tôi cũng chân thành gửi lời cảm ơn đến **Cô TS. Nguyễn Hà Thanh, Cô PGS.TS. Hoàng Thị Kim Dung** đã tận tình hướng dẫn, góp ý sửa chữa, bổ sung nhiều kiến thức quý giá để tôi hoàn thành luận văn thạc sỹ.

Cuối cùng, tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc đến cha, mẹ, những người thân luôn bên cạnh động viên, thúc đẩy và hỗ trợ tôi về mặt tinh thần, để tôi có thể hoàn thành nghiên cứu này.

Do sự hạn chế về thời gian, kiến thức chuyên môn cũng như kinh nghiệm thực tế, luận văn này không thể nào tránh khỏi những thiếu sót. Rất mong sự đóng góp ý kiến từ quý Thầy/Cô, anh chị và bạn bè để báo cáo được hoàn thiện hơn.

Trân trọng,



Ngô Trung Tín

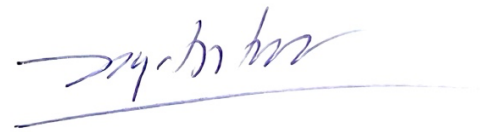
LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi và được sự hướng dẫn khoa học của TS. Nguyễn Hà Thanh, và PGS.TS Hoàng Thị Kim Dung. Các nội dung nghiên cứu, kết quả trong đề tài này là trung thực và chưa công bố dưới bất kỳ hình thức nào trước đây. Những số liệu trong các bảng biểu phục vụ cho việc phân tích, nhận xét, đánh giá được chính tác giả thu thập từ các nguồn khác nhau có ghi rõ trong phần tài liệu tham khảo.

Ngoài ra, trong luận văn còn sử dụng một số nhận xét, đánh giá cũng như số liệu của các tác giả khác, cơ quan tổ chức khác đều có trích dẫn và chú thích nguồn gốc.

TP. Hồ Chí Minh, ngày 10 tháng 10 năm 2023

Học viên thực hiện luận văn



Ngô Trung Tín

TÓM TẮT

Đề tài “Nghiên cứu tạo màng sinh học polysaccharide được chiết xuất từ xương rồng (*Opuntia dillenii*) và khảo sát một số đặc tính của chúng” được tiến hành nhằm tạo được màng sinh học polysaccharide chiết xuất từ xương rồng (*Opuntia dillenii*) có phối trộn với một số phụ gia và xác định được một số đặc tính của nó.

Đề tài được thực hiện tại Viện Công nghệ Hóa học, Học viện Khoa học và Công nghệ từ tháng 7/2021 đến tháng 9/2023. Kết quả thu được sau:

Đã xác định được sự ảnh hưởng của thời gian, nhiệt độ, tỷ lệ dung môi, nguyên liệu, pH đến quá trình chiết polysaccharide từ bột xương rồng khô. Theo đó thời gian chiết tối ưu khi chiết là 2 giờ. Nhiệt độ chiết tối ưu khi chiết là 70°C. Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi tối ưu khi chiết là 1/15 (g/mL). Độ pH tối ưu khi chiết là pH bằng 3. Khi chiết polysaccharide từ bột khô xương rồng trong 2 giờ tại nhiệt độ 70°C và với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/15 (g/mL) thì hàm lượng polysaccharide thu được tối đa là 17,6%. Sau khi tinh chế loại protein thì hàm lượng polysaccharide thu được là 7,9%.

Đã xác định một số tính chất của polysaccharide chiết từ xương rồng *O. dillenii*: Hàm lượng đường tổng trung bình khoảng 475,54 (mg/g) và hàm lượng đường khử khoảng 16,54 (mg/g). Nghiên cứu bằng quang phổ HPAEC-PAD cho thấy sự hiện diện của arabinose, fucose, galactose, glucose, rhaminose, xylose,... Phân tích bằng sắc kí lọc gel thì trọng lượng phân tử trung bình của polysaccharide khoảng 14.095 – 136.192 Da cho thấy phù hợp với trọng lượng phân tử của Pectin. Sự khác biệt về điều kiện trồng trọt, cũng như độ tuổi của cây và mùa thu hoạch, sẽ ảnh hưởng rất lớn đến hàm lượng đường của polysaccharid. Đồng thời, các thiết bị và phương pháp chiết xuất khác nhau không chỉ ảnh hưởng đến hàm lượng đường mà còn ảnh hưởng đến cấu trúc của polysaccharide.

Đã khảo sát và tìm ra được tỷ lệ phối trộn thích hợp giữa pectin và các polymer đồng tạo màng, cụ thể là chitosan với tỷ lệ PT/CTS là 1:4. Đã tạo màng phối trộn giữa PT/CTS với PVA với P₂ (CTS/PT : PVA 2:1) cho kết quả tốt nhất về cảm quan: độ trong suốt, màu sắc, dẻo dai, linh hoạt. Khả năng tạo màng khi có bổ sung các phụ gia khác các oxit kim loại: SiO₂, ZnO và các muối acetat kim loại (CH₃COO)₂Zn, (CH₃COO)₂Ca, (CH₃COO)₂Cu cho kết quả màng trong, dẻo dai, đàn hồi tốt nhất, đáp ứng đầy đủ tiêu chí về cảm quan là P₂ ZnO 0,05% và P₂ ZnAc 0,1%

Màng polymer sinh học có khả năng phân hủy khi thử nghiệm sơ bộ trong môi trường đất, và khi thử nghiệm đặt màng trong các điều kiện vi khuẩn *Bacillus* sp. và nấm *Fusarium proliferatum* cho thấy không có ảnh hưởng đáng kể đến sự giảm khối lượng của màng. Trong nghiên cứu này, theo đánh giá cảm quan, màng P₃ (COS/PT) có độ bền thấp nhất, dễ vỡ khi tiếp xúc với môi trường thí nghiệm.

Kết quả nghiên cứu trên có thể đặt nền tảng cơ bản cho hướng phát triển trong tương lai về màng polysaccharide sinh học với nhiều tiềm năng trong ứng dụng trong bảo quản, bảo quản thực phẩm, y sinh... góp phần nâng cao giá trị kinh tế cho loài xương rồng *Opuntia Dillenii* và góp phần bảo vệ môi trường.

MỤC LỤC

	TRANG
Lời cảm ơn	i
Lời cam đoan	ii
Tóm tắt	iii
MỤC LỤC	v
DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT	ix
DANH SÁCH BẢNG	x
DANH SÁCH HÌNH	xi
DANH SÁCH KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM	xiii
1. MỞ ĐẦU	1
Chương 1: TỔNG QUAN	3
1.1. Tổng quan về <i>Oputina dillenii</i>	3
1.1.1. Vị trí phân loại, phân bố và hình thái	3
1.1.2. Thành phần hóa học của <i>O. dillenii</i>	4
1.1.3. Ứng dụng của <i>O. dillenii</i>	7
1.2. Tổng quan về Polysaccharide trong <i>O. dillenii</i>	7
1.2.1. Tổng quan về Polysaccharide	7
1.2.2. Thành phần của Polysaccharide trong cây xương rồng <i>O. dillenii</i>	9
1.2.2.1. Chất nhầy trong <i>O. dilleni</i>	9
1.2.2.2. Pectin trong <i>O. dillenii</i>	10
1.2.3. Hoạt tính sinh học và ứng dụng của Polysaccharide	11
1.3. Tình hình nghiên cứu tạo màng sinh học Polysaccharide chiết xuất từ xương rồng <i>O. dilleni</i> trên thế giới và tại Việt Nam	12
1.3.1. Màng phân hủy sinh học	12
1.3.2. Tình hình nghiên cứu màng phân hủy sinh học	13
1.3.2.1. Nghiên cứu trên thế giới	13
1.3.2.2. Nghiên cứu tại Việt Nam	13
1.3.3. Tổng quan về nghiên cứu tạo màng từ Polysachride chiết xuất từ xương rồng và đặc tính của chúng	14
1.3.3.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới	14
1.3.3.2. Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam	16

Chương 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	18
2.1. Nội dung nghiên cứu	18
2.2. Vật liệu, dụng cụ và hóa chất thí nghiệm	18
2.3. Phương pháp nghiên cứu	18
2.3.1. Tách chiết và tinh chế polysaccharide từ xương rồng <i>O. dillenii</i>	18
2.3.2. Khảo sát một số yếu tố đến quá trình chiết như thời gian, nhiệt độ, tỉ lệ dung môi: nguyên liệu, pH	19
2.3.2.1 Khảo sát thời gian chiết xuất polysaccharide	19
2.3.2.2 Khảo sát nhiệt độ chiết xuất polysaccharide	19
2.3.2.3 Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi trong quá trình chiết xuất polysaccharide	20
2.3.2.4 Khảo sát pH chiết xuất polysaccharide	20
2.3.3. Xác định một số tính chất của polysaccharide chiết từ xương rồng <i>O. dillenii</i> như: các thành phần đường đơn, hàm lượng đường khử, hàm lượng đường tổng, độ trương nở	20
2.3.3.1 Phương pháp thủy phân tạo monosaccharide	20
2.3.3.2 Phương pháp xác định hàm lượng đường tổng và đường khử	21
2.3.3.3 Phương pháp xác định trọng lượng phân tử của polysaccharide	21
2.3.3.4 Độ trương nở của polysaccharide	21
2.3.4. Nghiên cứu khả năng tạo màng polysaccharide chiết xuất từ xương rồng và màng phối trộn với một số hợp chất khác	21
2.3.4.1. Nghiên cứu khả năng tạo màng polysaccharide chiết xuất từ xương rồng	21
2.3.4.2. Nghiên cứu khả năng tạo màng polysaccharide chiết xuất từ xương rồng phối trộn với một số hợp chất khác	22
a. Tạo màng pectin, chitosan (PT/CTS)	23
b. Tạo màng pectin, chitosan và PVA	24
c. Tạo màng pectin, chitosan, PVA và oxit	24
d. Tạo màng pectin, chitosan, PVA và các muối acetat kim loại	25
2.3.5. Khảo sát một số đặc tính của màng như độ dày màng, độ trương nở trong nước, độ ẩm, độ bền trong dung môi, độ tan trong nước, khả năng phân hủy sinh học, khả năng kháng khuẩn	26

2.3.5.1. Xác định độ dày màng	26
2.3.5.2. Xác định độ ẩm của màng	26
2.3.5.3. Khảo sát độ bền của màng trong các dung môi khác	26
2.3.5.4. Khảo sát độ tan và độ trương nở của màng trong nước	27
2.3.5.5. Khảo sát khả năng kháng khuẩn và phân hủy của màng	27
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ - THẢO LUẬN	30
3.1. Khảo sát một số yếu tố đến quá trình chiết như thời gian, nhiệt độ, tỉ lệ dung môi: nguyên liệu, pH	30
3.1.1. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian trong quá trình chiết xuất polysaccharide	30
3.1.2. Khảo sát nhiệt độ chiết polysaccharide	31
3.1.3. Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi trong quá trình chiết xuất	32
3.1.4. Khảo sát ảnh hưởng của pH trong quá trình chiết polysaccharide	33
3.1.5. Chiết tách và tinh chế polysaccharide	34
3.2. Xác định một số tính chất của polysaccharide chiết từ xương rồng <i>O. dillenii</i> như: các thành phần đường đơn, hàm lượng đường khử, hàm lượng đường tổng, độ trương nở	35
3.2.1. Xác định đường đơn bằng đơn bằng hệ thống sắc ký trao đổi ion hiệu năng cao HPAEC-PAD	35
3.2.2 Hàm lượng đường khử và đường tổng	37
3.2.3 Xác định trọng lượng phân tử của polysaccharide	38
3.2.4 Độ trương nở trong nước	39
3.3. Nghiên cứu khả năng tạo màng polysaccharide chiết xuất từ xương rồng và màng phối trộn với một số hợp chất khác	40
3.3.1 Tạo màng pectin, chitosan (PT/CTS)	40
3.3.2 Tạo màng pectin, chitosan và PVA	42
3.3.3 Tạo màng pectin, chitosan, PVA và oxit	44
3.3.4 Tạo màng pectin, chitosan, PVA và muối acetat kim loại	46
3.4. Khảo sát một số đặc tính của màng như độ dày màng, độ trương nở trong nước, độ ẩm, độ bền trong dung môi, độ tan trong nước, khả năng phân hủy sinh học, khả năng kháng khuẩn	50

3.4.1. Xác định độ dày màng	50
3.4.2. Xác định độ ẩm của màng	50
3.4.3. Khảo sát độ bền của màng trong dung môi khác	52
3.4.4. Xác định độ trương nở và độ tan của màng trong nước	52
3.4.4.1 Xác định độ trương nở của màng trong nước	52
3.4.4.2 Xác định độ tan của màng trong nước	54
3.4.5. Khả năng phân hủy tự nhiên trong môi trường đất và phân hủy của màng dưới tác động của vi khuẩn và nấm	55
3.4.5.1. Khả năng phân hủy tự nhiên trong môi trường đất của màng	55
3.4.5.2. Khả năng phân hủy của màng dưới tác động của vi khuẩn và nấm	57
CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	61
4.1. Kết luận	61
4.2. Kiến nghị	62
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO	63

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

STT	Từ viết tắt	Ý nghĩa
1	CMC	Carboxymethyl cellulose
2	COS	Oligochitosan, Chitooligosaccharide
3	CTS	Chitosan
4	ELSD	Evaporative Light Scattering Detector
5	HDP	High density Polymer
6	HPAEC-PAD	Hệ thống sắc ký trao đổi ion hiệu năng cao
7	Môi trường PDA	Môi trường Potato Dextrose Agar
8	Môi trường LB	Môi trường Luria Bertani
9	PE	Polyethylen
10	PET	Polyethylene Terephthalate
11	PT	Pectin
12	PP	Polypropylene
13	PVA	Poly vinylalcohol
14	PVC	Polyvinylchloride
15	UV	Tia cực tím

DANH SÁCH BẢNG

	TRANG
Bảng 2.1. Ký hiệu, tỷ lệ phối trộn và chất hóa dẻo tạo màng PT/CTS	23
Bảng 2.2. Ký hiệu, tỷ lệ phối trộn tạo màng pectin, chitosan và PVA	24
Bảng 2.3. Ký hiệu, tỉ lệ phối trộn với oxit kim loại tạo màng	24
Bảng 2.4. Ký hiệu, tỉ lệ phối trộn và muối acetat kim loại tạo màng	25
Bảng 2.5. Danh sách mẫu màng polymer sinh học	28
Bảng 3.1. Kết quả khảo sát thời gian chiết polysaccharide	31
Bảng 3.2. Kết quả khảo sát nhiệt độ chiết polysaccharide	32
Bảng 3.3. Kết quả khảo sát tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết polysaccharide	33
Bảng 3.4. Kết quả khảo sát pH chiết xuất polysaccharide pectin	34
Bảng 3.5. Kết quả thành phần các loại đường đơn trong mẫu polysaccharide từ xương rỗng	36
Bảng 3.6. Kết quả hàm lượng đường có trong 100 mL bình định mức	37
Bảng 3.7. Kết quả hàm lượng đường có trong mẫu ban đầu	37
Bảng 3.8. Kết quả hàm lượng đường tổng có trong 1g tủa	37
Bảng 3.9. Kết quả hàm lượng đường có trong 100 mL bình định mức	37
Bảng 3.10. Kết quả hàm lượng đường có trong 2,28g cao ethanol	37
Bảng 3.11. Kết quả hàm lượng đường khử có trong 1g bột xương rỗng khô	37
Bảng 3.12. Kết quả độ trương nở của chất nhầy trong nước	39
Bảng 3.13. Kết quả độ trương nở của chất nhầy trong các pH	39
Bảng 3.14. Kết quả tạo màng pectin, chitosan	41
Bảng 3.15. Kết quả tạo màng pectin, chitosan và PVA	42
Bảng 3.16. Kết quả tạo màng pectin, chitosan, PVA và oxit kim loại	45
Bảng 3.17. Kết quả tạo màng pectin, chitosan, PVA và muối acetat kim loại	47
Bảng 3.18. Khối lượng màng polymer sinh học trước và sau thí nghiệm	59

DANH SÁCH HÌNH

	TRANG
Hình 1.1. Xương rồng <i>Opuntia dillenii</i>	3
Hình 1.2. Cấu trúc polysaccharide	8
Hình 1.3 Cấu trúc homopolysaccharide	8
Hình 1.4. Cấu trúc heteropolysaccharide	8
Hình 1.5. Cấu tạo của pectin	10
Hình 2.1 Quy trình tạo màng polysaccharide từ xương rồng <i>O. dillenii</i>	22
Hình 2.1. Sắc ký đồ xác định thành phần đường đơn của mẫu xương rồng	35
Hình 2.2. Thành phần các loại đường đơn trong mẫu xương rồng được xác định bằng phân tích HPAEC-PAD	36
Hình 2.3. Kết quả GPC xác định trọng lượng phân tử của polysaccharide	39
Hình 2.4. Sắc ký đồ GPC xác định trọng lượng phân tử của polysaccharide	39
Hình 2.5. Màng PT/CTS 1:4	41
Hình 2.6. Màng PT/CTS đồ được với tỷ lệ 2:3	41
Hình 2.7. Màng kết hợp PT/CTS của Chetouani và cs. tỷ lệ 2:3	42
Hình 2.8. Công thức đề xuất liên kết được tạo thành giữa chitosan, pectin, PVA	43
Hình 2.9. Màng PT/CTS (4:1) và PVA (P ₃)	43
Hình 2.10. Màng PT/CTS (3:2) và PVA trong dung dịch acid lactic 2%	43
Hình 2.11. Hình ảnh thể hiện tương tác giữa silica và PVA	44
Hình 2.12. Bản quét XPS thể hiện sự liên kết giữa PVA và silica	44
Hình 2.13. Biểu đồ độ dày trung bình của màng phối trộn oxit(mm)	50
Hình 2.14. Biểu đồ độ dày trung bình của màng phối trộn muối acetat kim loại(mm)	50
Hình 2.15. Biểu đồ độ ẩm trong màng phối trộn oxit	51
Hình 2.16. Biểu đồ độ ẩm trong màng phối trộn muối acetat kim loại	51
Hình 2.17. Thử nghiệm khảo sát độ bền của màng P ₁ ZnAc 0,05% trong các loại dung môi	52
Hình 2.18. Thử nghiệm khảo sát độ bền của màng P ₁ ZnAc 0,05% trong các loại dung môi	52
Hình 2.19. Thử nghiệm khảo sát độ trương nở của màng P ₁ ZnAc 0,05%	53
Hình 2.20. Biểu đồ độ trương nở của màng phối trộn oxit trong nước	53

Hình 2.21. Biểu đồ độ trương nở của màng phối trộn muối acetat trong nước	53
Hình 2.22. Khảo sát độ tan của P ₁ ZnAc 0,05% màng trong nước	54
Hình 2.23. Biểu đồ độ tan của màng phối trộn oxit trong nước	54
Hình 2.24. Biểu đồ độ tan của màng phối trộn muối acetat trong nước	54
Hình 2.25. Khảo sát khả năng phân hủy của màng	55
Hình 2.26. Hình mẫu sau 14 ngày các màng được lấy ra khỏi đất	56
Hình 3.27. Mẫu màng polymer trên môi trường có vi khuẩn <i>Bacillus</i> sp.	57
Hình 3.28. Mẫu màng polymer trên môi trường có vi khuẩn <i>Bacillus</i> sp. sau 1 tuần thí nghiệm	58
Hình 3.29. Mẫu màng polymer trên môi trường có vi khuẩn <i>Bacillus</i> sp. sau 2 tuần thí nghiệm	58
Hình 3.30. Mẫu màng polymer trên môi trường có nấm <i>Fusarium</i> sp. sau 2 tuần thí nghiệm	60

DANH SÁCH KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM

	TRANG
Phiếu kết quả thử nghiệm	69

1. MỞ ĐẦU

Cùng với sự phát triển của khoa học công nghệ, công nghệ vật liệu tổng hợp tạo ra các loại màng nhựa như Polyethylene (PE), Polyvinyl chloride (PVC), Polypropylene (PP), Polystyrene (PS),... để sử dụng trong việc bảo quản thực phẩm. Ưu điểm các loại màng này là có thể bảo quản thực phẩm tươi lâu, ngăn chặn được tác nhân gây hư hỏng từ môi trường, giá thành hợp lý và dễ dàng sản xuất với số lượng lớn. Tuy nhiên, chúng cũng có một số hạn chế nhất định như làm ảnh hưởng chất lượng của thực phẩm, thời gian để phân hủy chúng kéo dài, khó xử lý, gây ô nhiễm môi trường và có hại sức khỏe của con người.

Để khắc phục hạn chế nói trên và hướng đến phát triển “vật liệu xanh”, “thân thiện” hơn với môi trường, các nhà nghiên cứu đang hướng đến nghiên cứu các loại màng có nguồn gốc tự nhiên, vừa có khả năng bảo quản được thực phẩm vừa duy trì chất lượng thực phẩm trong quá trình bảo quản do làm chậm quá trình oxy hóa, ngăn ngừa sự phát triển của vi khuẩn, làm giảm trao đổi khí... và điều quan trọng là không gây ảnh hưởng tới sức khỏe con người, dễ dàng phân hủy trong môi trường. Một trong số những vật liệu có thể đáp ứng cho các ưu điểm đề cập ở trên có thể kể đến các polysaccharide tự nhiên.

Ở vùng Duyên hải miền Trung nước ta, nơi có khí hậu khắc nghiệt, xương rồng là một loại cây phổ biến, chứa nhiều polysaccharide nhưng lại chưa được khai thác sử dụng. Việc nghiên cứu sử dụng xương rồng làm nguồn nguyên liệu cho việc tạo màng sinh học vừa góp phần chống ô nhiễm môi trường, vừa tận dụng tiềm năng của loài cây này, góp phần làm phong phú, đa dạng sản xuất. Hiện nay, trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu tạo màng sinh học từ các chất được chiết xuất từ nhiều loài xương rồng khác nhau và được phối trộn với các thành phần khác nhau tùy vào lĩnh vực ứng dụng [1-4]. Tuy nhiên, tại Việt Nam vẫn chưa có nhiều nghiên cứu tạo màng sinh học từ xương rồng cũng như khảo sát đặc tính màng được tạo thành, ngoại trừ một số nghiên cứu thành phần pectin có trong xương rồng để ứng dụng trong việc tạo màng sinh học đã được thực hiện và công bố [5,6]. Vì vậy, đề tài “Nghiên cứu tạo màng sinh học polysaccharide được chiết xuất từ xương rồng (*Opuntia dillenii*) và khảo sát một số đặc tính của chúng” đã được tiến hành.

Mục tiêu nghiên cứu: tạo được màng sinh học polysaccharide chiết xuất từ xương rồng (*Opuntia dillenii*) có phối trộn với một số phụ gia và xác định được một số đặc tính của chúng.

Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

- Kết quả nghiên cứu của đề tài là cơ sở để định hướng nghiên cứu tạo màng sinh học ứng dụng trong bảo quản thực phẩm, tăng cường khả năng kháng khuẩn khi bao gói, giúp tăng thời hạn bảo quản của sản phẩm dài hơn, nâng cao chất lượng của sản phẩm.

- Giảm ô nhiễm môi trường do rác thải có nguồn gốc là các loại bao bì nhựa tổng hợp...

- Tận dụng được một nguồn nguyên liệu sẵn có trong tự nhiên và hiện đang ít được khai thác.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về cây xương rồng *Opuntia dillenii*

1.1.1. Vị trí phân loại, hình thái và phân bố [7]

Phân loại:

Theo tổ chức quốc tế nghiên cứu về thực vật mọng nước hay ICSG, họ xương rồng bao gồm 125 đến 130 chi, 1400 đến 1500 loài, thuộc 4 phân họ và 9 tông. Loài xương rồng tại Việt Nam có tên khoa học *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl.) Haw. Tên khoa học đồng nghĩa là *Cactus dillenii* Ker-Gawl., *Opuntia stricta* (Haw.).var. *dillenii* (Ker-Gawl.) L.Benson. Loài xương rồng này thuộc giới Plantae, ngành Magnoliophyta, lớp Magnoliopsida, bộ Caryophyllales, họ Cactaceae, chi *Opuntia* Mill và loài *Opuntia dillenii* (Ker Gawl.).

Hình thái:

Ở Việt Nam, loài *O. dillenii* còn có tên gọi khác phổ biến là Vợt gai do phiến lá có hình dạng như cây vợt cùng với nhiều gai đặc trưng trên mặt lá. Cây trưởng thành đạt chiều cao từ 1 – 1,8 m, lóng dài 15,2 cm. Thân và cành có màu xanh lục, có dạng phiến ovan, dẹt giống hình lá nên gọi là cành dạng lá. Cây phát triển từ một thân chính, sau đó mọc ra hai nhánh nhỏ, có vài trường hợp mọc ra nhiều nhánh hơn nhưng rất ít. Thân cây mọng nước và dự trữ rất nhiều nước do lá biến đổi thành gai, hạn chế tối đa sự thất thoát hơi nước. Các lá tập hợp thành các nhóm gai, được gọi là cuống lá, có đường kính khoảng 2 cm, trên mỗi lóng có khoảng 35 cuống lá.



Hình 1.1. Xương rồng *Opuntia dillenii* tại Ninh Thuận
(a) cây xương rồng, (b): quả xương rồng

Hoa xương rồng có màu vàng, lưỡng tính, mọc theo chu kỳ, đơn tính có đường kính từ 5-6 cm với 4 lá đài, màu xanh lục, chiều dài 1,7 cm, đài hoa rộng 1,8 cm. Tròng hoa có 12 cánh, đều, màu vàng, dài 3,2 cm, rộng 1,5 cm. Nhị hoa đa sợi, vô hạn

(khoảng 300 đến 450 nhị hoa), đa dạng, chiều dài không bằng nhau từ 8 đến 13 mm. Nhụy có 8 đầu thùy, mỗi thùy dài khoảng 6 mm. Trên mỗi lông có khoảng 15 hoa, mỗi hoa mọc từ nách lá, khi rụng để lại vết sẹo ở gốc. Mùa ra hoa bắt đầu từ tuần thứ hai của tháng 5 đến giữa tháng 8, cao điểm nhất là tuần thứ ba tháng 5 đến tuần đầu tháng 6.

Quả xương rồng màu hoa hồng hoặc tím, rất nhầy, có nhiều thịt, hình pyriform, lõm ở đỉnh, dài khoảng 6,1 cm, đường kính khoảng 3,1 cm và trọng lượng khoảng 24,92 g. Mỗi quả chứa khoảng 125 hạt hình dấu phẩy, có đường kính từ 4-5 mm, trọng lượng mỗi hạt khoảng 23 mg và thể tích 25 μ L. Mùa kết quả bắt đầu từ khoảng tháng 11 đến tháng 2, nhưng một số quả vẫn còn trên cây cho đến tháng 4.

Phân bố: Cây xương rồng phân bố lan rộng khắp Trung và Nam Mỹ, Úc và Nam Phi, bao gồm cả Địa Trung Hải. Tuy nhiên nó có nguồn gốc ban đầu là từ miền Tây Nam nước Mỹ và miền Bắc Mexico. Cây xương rồng thường được tìm thấy trên các sườn đồi ở những khu vực nắng khô hạn. Cây xương rồng là một loại cây bụi mọng nước mọc trong môi trường khắc nghiệt và khô hạn như sa mạc và sườn đồi. Cây có khả năng sinh trưởng tốt ở độ cao từ 0-2400 mét và có khả năng chịu nhiệt độ cao đến 50 °C. Ở nước ta, cây xương rồng mọc nhiều nơi, đặc biệt mọc nhiều ở miền Trung.

1.1.2. Thành phần hóa học của *O. dillenii*

Opuntia spp. có giá trị dinh dưỡng cao do chứa hàm lượng cao các khoáng chất, protein, chất xơ và hợp chất hóa thực vật của chúng [8].

1.1.2.1. Tổng hàm lượng phenolic và flavonoid trong *Opuntia* spp.

Các hợp chất phenolic: Các hợp chất phenol có nhiều hoạt tính sinh học tốt và là chất chống oxy hóa. Tổng hàm lượng các hợp chất phenolic có trong *Opuntia* spp. thay đổi theo giai đoạn trưởng thành, mùa thu hoạch, điều kiện môi trường, xử lý sau thu hoạch và loài xương rồng. Theo kết quả các nghiên cứu, quả của loài *O. ficus-indica* chứa 218 mg GAE/100 g FW (Fruit weight), *O. undulata* chứa 164,6 mg GAE/100 g FW, *O. megacantha* chứa 130 mg GAE/100 g FW, *O. streptacantha* chứa 120 mg GAE/100 g FW và *O. dinellii* chứa 117 mg GAE/ 100 g FW. Hàm lượng flavonoid của mỗi loài được mô tả khác nhau đáng kể nằm trong khoảng từ 9,8 đến 50,24 mg QE/100 g FW. Màu sắc của trái cây phụ thuộc vào tổng hàm lượng các hợp chất phenolic. Hàm lượng phenolic của hoa và vỏ được xác định cao hơn của trái cây

(khoảng 45,7 g/100 g FW), vì vậy hoa và vỏ thường được sử dụng để thu thập các hợp chất sinh học có đặc tính chống oxy hóa [8].

Cấu trúc phenolic có trong *Opuntia* rất phức tạp, kaempferol, quercetin, isorhamnetin, và isorhamnetin glucoside được xác định là các hợp chất phổ biến nhất hiện diện trong họ *Opuntia* từ các loài hoang dã và trồng trọt. Đặc biệt, kaempferol 3-O-arabinofuranoside chỉ có trong *O. streptacantha*, quercetin 3-O-rhamnosyl- (1-2) - [rhamnosyl- (1-6)] - glucoside chỉ có trong *O. ficus-indica cladodes*, và isorhamnetin-3-O-rutinoside chỉ có trong nước ép và vỏ từ *O. dillenii* [8].

Betalains: Betalain là các dị vòng có hai hoặc ba nguyên tử nitơ tồn tại trong tự nhiên, chúng thường được sinh tổng hợp từ tiền chất có trong tự nhiên là axit betalamic. Đến nay, khoảng 55 cấu trúc betalain đã được xác định, bao gồm betaxanthins vàng cam và betacyanins đỏ tím. Betalain có hoạt tính chống oxy hóa cao gấp 3-4 lần so với catechin, axit ascorbic, rutin và cao hơn gấp đôi so với lê, táo, cà chua, chuối, nho trắng, bưởi hồng, nho đỏ và cam. Theo các nghiên cứu, hàm lượng các betalain khác nhau trong trái xương rồng phụ thuộc vào loài, giống cây trồng và vùng địa lý. Các betacyanin có trong trái *Opuntia* bao gồm betanidin, betanin, isobetanin, isobetanidin, neobetanin, phyllocactin, và gomphrenin I. Các liên kết của axit betalamic với một số axit amin hiện diện trong trái, tương ứng với miraxanthine II (axit aspartic), indicaxanthin (proline), vulgaxantin I (glutamine), vulgaxantin II (axit glutamic), vulgaxantin III (asparagin), vulgaxantin IV (leucine), portulacaxanthin I (tyrosine), portulacaxanthin III (lysine), γ -aminobutyric axit-betaxanthin, serine-betaxanthin, valine-betaxanthin, isoleucine-betaxanthin, isoproline-betaxanthin, phenylalanine-betaxanthin, histidine-betaxanthin, phenethylaminebetaxanthin và muscaaurin. Trái xương rồng được sử dụng như một nguồn betalain rất được quan tâm vì chúng có hương vị, có giá trị dinh dưỡng tốt hơn so với củ dền đỏ [8].

1.1.2.2. Vitamin

Các vitamin chính trong *Opuntia* spp. bao gồm vitamin E, vitamin C, vitamin K và tocopherols. Hàm lượng vitamin phụ thuộc vào giống cây trồng. *O. ficus-indica*, nguồn gốc từ Ý có giá trị dao động từ 30–36 mg Vit C/100 g FW trong trái, *O. ficus-indica* và *O. lindheimeri* (da tím), *O. streptacantha* (da đỏ), *O. undulata* và *O. dinellii* từ Texas, có giá trị dao động từ 12,1 đến 81,5 mg Vit C/100 g, trong khi ở các giống *O. dillenii* và *O. ficusindica* từ Tenerife, hàm lượng dao động tương ứng từ 17 đến 29,7 mg/100 g. Thông thường, hàm lượng carotenoid cao nhất trong trái có vỏ vàng

(23,7 mg/g FW) và axit ascorbic cao nhất có trong các loại trái cây có vỏ đỏ (815 mg/g FW). Các nghiên cứu cho thấy các hợp chất khác có trong *Opuntia* có thể thể hiện đặc tính chống oxy hóa, tuy nhiên các báo cáo đều cho thấy rằng polyphenol, betalain và vitamin là những hợp chất chính quyết định đến các đặc tính sinh học của chúng [8].

1.1.2.3 Polysaccharide

Polysaccharide bao gồm hai dạng là chất xơ không hòa tan và chất xơ hòa tan. Chất xơ không hòa tan là các thành phần không thể thiếu trong cấu trúc của thực vật như thành tế bào bao gồm cellulose, hemicellulose và lignin không hòa tan trong nước. Các chất xơ hòa tan được tạo thành từ các polysaccharide phi cấu trúc như pectin, nhựa cây và chất nhầy.

Các thành phần xơ như chất nhầy và pectin bao gồm các carbohydrate/polysaccharide phức tạp với các monome đường của arabinose, galactose, rhamnose và axit galacturonic.

Nghiên cứu của Goycoolea và các cộng sự đã chỉ ra rằng pectin là một heteropolysaccharide có hàm lượng cao các monome acid galacturonic được liên kết bởi các liên kết α - (1 \rightarrow 4). Ngoài ra còn có sự hiện diện của một số loại đường acetyl hóa hoặc ester hóa với các nhóm methyl [9].

1.1.2.4. Các hợp chất khác.

Các nghiên cứu cho thấy trong xương rồng còn có các hợp chất khác gồm alkaloid, steroid, chất khoáng (Ca, P, Fe, K, Mg, Mn, Zn, Na, Cu) và các acid béo (Linoleic, palmitic, stearic acid) [10, 11].

1.1.2.5. Các nghiên cứu về thành phần hóa học của *O. dillenii* tại Việt Nam

Theo Huỳnh Hữu Đông (2014), hàm lượng chất khô chiếm 6,81 ÷ 7,21%, hàm lượng nước tự do chiếm 51,84 ÷ 60,07%; hàm lượng nước tự liên kết 32,10 ÷ 39,29%; và pH từ 4,3 ÷ 5,0; hàm lượng khoáng tổng thay đổi trong khoảng 20,01 ÷ 21,88%, hàm lượng nitrogen tổng chiếm 0,321 ÷ 0,654 mg% cao nhất trong giai đoạn trưởng thành, hàm lượng lipid 1,03 ÷ 2,03% và cao nhất ở thân non; hàm lượng protein tự do dao động trong khoảng 0,415 ÷ 0,867mg%; hàm lượng cellulose khoảng 14,1 ÷ 17,46%, hàm lượng roten đạt từ 18,15 ÷ 20,06g/100g mẫu và không chênh lệch nhiều giữa các giai đoạn sinh trưởng. Hàm lượng vitamin C đạt 121,3 ÷ 195,7mg/100g mẫu, gấp 4 lần nha đam và chứa đầy đủ lượng amino axit cần thiết cho cơ thể cùng 5% chất chống oxy hóa flavonoid. Đặc biệt hàm lượng chất xơ chiếm khoảng 48.5% được tìm thấy trong rễ, cành, hoa, quả và gai của cây [12].

1.1.3. Ứng dụng của xương rồng

Rất nhiều các quốc gia trên thế giới sử dụng xương rồng để làm thực phẩm (phần non mềm của thân thường được dùng làm rau trong món salad, quả xương rồng được tiêu thụ dưới dạng trái cây tươi) như Mexico, Ý, Chile, Nam Phi và Hoa Kỳ [8]. Nghiên cứu của González-Stuart và Rivera (2019) cho thấy xương rồng là loại cây làm thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao. Quả xương rồng có chứa khoảng 85% nước, 15% đường, 0,3% tro và ít hơn 1% protein. Trong thịt quả có chứa nhiều khoáng chất, acid amine (alanin, arginin và asparagin), các vitamin quan trọng bao gồm vitamin C (ascorbic acid), E, K và beta-carotenes. Vì vậy có thể sử dụng quả xương rồng làm thực phẩm [14].

Ngoài ra, flavonoid, chất chống oxy hóa hiệu quả cũng là một thành phần quan trọng khác của loại quả này. Các sắc tố betalain chịu trách nhiệm cho màu sắc của trái cây và cũng có đặc tính chống oxy hóa. Theo Wu (2019), polysaccharide trong *O. dillenii* có hoạt tính kháng khuẩn và chống oxy hóa và có thể tạo thành lớp phủ bán thấm ngăn chặn quá trình hóa nâu, sự phát triển của vi sinh vật và tốc độ hô hấp, đồng thời ức chế sự giảm trọng lượng và hình thành đường tổng trong quá trình bảo quản ở 5°C do đó người ta đã tạo ra lớp phủ ăn được dựa trên ODP để kéo dài thời gian bảo quản khoai tây tươi mới cắt [13].

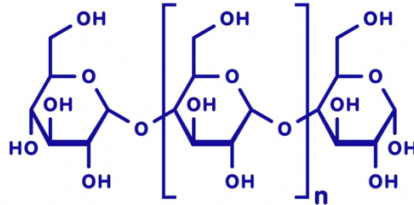
Hơn nữa, *O. dillenii* còn được ứng dụng nhiều trong lĩnh vực như y học, y sinh, mỹ phẩm... Thịt quả xương rồng có tác dụng chữa lành vết thương, vết loét, hỗ trợ điều trị các bệnh về đường tiêu hóa, tiểu đường và xơ vữa động mạch. Nhiều nghiên cứu đã xác nhận hiệu quả của xương rồng trong việc hỗ trợ điều trị tăng đường huyết và tăng cholesterol trong máu. Trong thịt quả có chứa nhiều chất chống oxy hóa, kích thích tuyến tụy tiết ra insulin, chất xơ làm giảm mức độ LDL cholesterol trong máu. Xương rồng còn có tác dụng trong việc hỗ trợ giảm cân, ảnh hưởng tích cực đến các yếu tố gây nguy cơ về các bệnh tim mạch. Hạt của xương rồng có chứa dầu giàu axit béo không bão hòa, có đặc tính chống viêm và chống oxy hóa. Thành phần Preparami® ER được chiết từ cây có đặc tính chống oxy hóa, làm dịu vết viêm da và côn trùng cắn [8], [14].

1.2. Tổng quan về polysaccharide trong *O. dillenii*

1.2.1. Tổng quan về polysaccharide

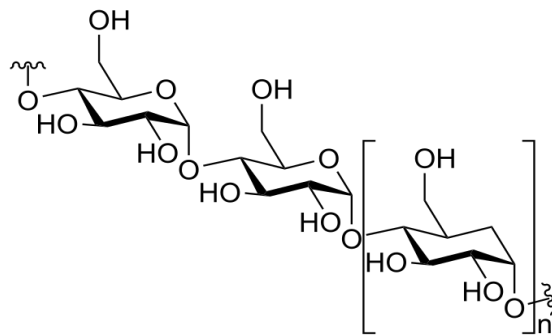
Polysaccharide (còn được gọi là glycans) là một carbohydrate cao phân tử được tạo thành từ nhiều monosaccharide nối với nhau bằng cầu nối glycoside (Hình 1.2). Số

lượng đường đơn trong polysaccharide rất lớn từ 100-100000 đơn vị. Polysaccharide có thể được phân loại theo đặc điểm phân tử của chúng (loại, số lượng, liên kết và trình tự của monosaccharide); đặc tính hóa lý (độ hòa tan trong nước, độ nhớt, khả năng hoạt động bề mặt); chức năng dinh dưỡng (tiêu hóa hoặc không tiêu hóa) [15].

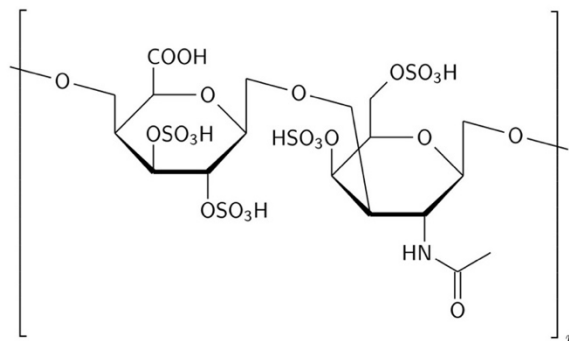


Hình 1.2. Cấu trúc polysaccharide

Polysaccharide được phân loại thành hai nhóm chính bao gồm homopolysaccharide và heteropolysaccharide. Homopolysaccharide chứa một loại monosaccharide lặp lại trong chuỗi chẳng hạn như tinh bột, cellulose và glycogen được hình thành từ chỉ glucose (Hình 1.3). Trong khi đó, heteropolysaccharide được tạo thành từ hai hoặc nhiều monosaccharide cấu thành (Hình 1.4). Nhóm này có cấu trúc phức tạp, tùy theo thành phần của đường mà người ta còn chia thành nhiều nhóm nhỏ như pectin, hemicellulose, chất nhầy và gums,...



Hình 1.3 Cấu trúc homopolysaccharide [17]



Polysulfated glycosaminoglysan

Hình 1.4. Cấu trúc heteropolysaccharide [18]

Tùy thuộc vào loại monosaccharide nào được kết nối và loại cacbon nào trong các monosaccharide liên kết với nhau mà polysaccharide có nhiều dạng khác nhau. Chuỗi monosaccharide thẳng được gọi là polysaccharide tuyến tính, trong khi chuỗi có nhánh và xoắn được gọi là polysaccharide phân nhánh [15].

Theo Ramesh và các cộng sự (2003), polysaccharide có các loại phân tử chính như: pectin, celluloses, hemicelluloses, lipopolysaccharide, gums (chất nhầy), proteoglycan, tinh bột, chitin...

Sự khác biệt về cấu trúc của polysaccharide tạo nên sự khác biệt về tính chất vật lý cũng như tính chất hóa học của chúng. Các polysaccharide có các tính chất hóa học đặc trưng như sau: chúng không có vị ngọt, chứa nhiều chất không tan trong nước, không tạo thành tinh thể khi hút ẩm, đặc và không thấm thấu bên trong các tế bào và có thể được chiết xuất để tạo thành bột trắng [19].

1.2.2. Thành phần của polysaccharide trong cây xương rồng *O. dillenii*

Pectin và chất nhầy (mucilage) là hai loại polysaccharide có trọng lượng phân tử cao hòa tan trong nước được tìm thấy trong xương rồng *O. dillenii*. Pectin và chất nhầy thuộc nhóm heteropolysaccharide và có cấu trúc phức tạp hơn so với nhóm homopolysaccharide vì chúng có hai hay nhiều thành phần đường đơn liên kết với nhau và vị trí liên kết của chúng đa dạng hơn. Các loại đường đơn thông thường cấu thành nên chất nhầy và pectin là glucose, mannose, galactose và arabinose hoặc các dẫn xuất uronic của chúng như acid glucuronic, acid manuronic và acid galacturonic,... [9].

1.2.2.1 Chất nhầy trong *O. dillenii*

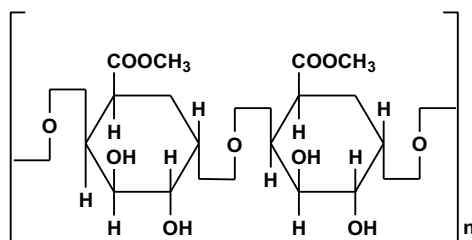
Chất nhầy là chất lỏng có độ nhớt đặc trưng được tiết ra bởi trái và vỏ của xương rồng. Nó không tạo gel khi có canxi, có độ pH trung tính, hàm lượng tro, độ ẩm thấp và có tính chất trương nở. Chất nhầy chiết xuất từ nhánh cây của *O. dillenii* trong môi trường nước có hiệu suất là 6,2% thu được đường trung tính bao gồm arabinose (38,80%), galactose (33,00%), rhamnose (15,70%), xyloza (5,10%) và glucose (5,10%) [20].

Chất nhầy từ *O. dillenii* có hoạt tính ức chế lipase, tăng tiết mỡ, đau dạ dày, kinh nguyệt không đều, đau đầu và tiểu không kiểm soát. Ngoài ra, chất nhầy còn hỗ trợ giảm béo bằng cách liên kết với chất béo trong chế độ ăn uống, giảm sự hấp thu

acid béo và cuối cùng làm giảm trọng lượng cơ thể. Do đó, có nhiều tiềm năng ứng dụng chất nhầy trong lĩnh vực chế phẩm thực phẩm và dược phẩm [20].

1.2.2.2 Pectin trong *O. dillenii*

Pectin (Hình 1.5) là một heteropolysaccharide dạng mạch thẳng, là một polymer của các polygalacturonic acid và các methyl ester của chúng. Pectin có công thức phân tử là $(C_6H_{10}O_7)_n$, phân tử lượng trung bình $M_{Pectin} = (194.319)_n$, khoảng 50000 – 150000 đvC và thành phần nguyên tố $C\% = 37,11$; $H\% = 5,16$; $O\% = 57,73$. Pectin được cấu tạo từ các phân tử acid D-galacturonic liên kết với nhau bằng liên kết α -1,4-glucoside. Chiều dài của các chuỗi polygalacturonic acid trong pectin có thể thay đổi từ vài đơn vị cho đến hàng trăm đơn vị polygalacturonic acid. Pectin ở dạng bột vô định hình có màu xám trắng, tan trong nước, formamic và trong glycerin nóng và không hòa tan trong ethanol, isopropanol, acetone nên có thể dùng các dung môi này để tủa pectin.



Hình 1.5. Cấu tạo của pectin

Hàm lượng pectin được tìm thấy khác nhau trong các loài *O. dillenii* khác nhau và dao động trong phạm vi tương đối rộng từ 0,13% đến 2,64% vật liệu khô và 1,00% đến 23,87% vật liệu ướt [9]. Pectin được cấu tạo từ liên kết α - (1-4) của D-galacturonic acid.

Phần lớn các nhóm acid được ester hóa với các nhóm methoxy trong dạng tự nhiên của chúng. Còn nhóm rhamnose ít khi xuất hiện trong chuỗi Galacturonic acid cơ bản vì nó phá vỡ tính ổn định của cấu trúc polysaccharide, đưa chuỗi xoắn vào chuỗi tuyến tính, thúc đẩy quá trình gel hóa và ngăn ngừa kết tủa. Pectin cũng có các nhánh từ chuỗi tuyến tính chứa các loại đường trung tính khác như xylose, galactose và arabinose [21, 22].

Tính chất hóa lý của pectin và chất nhầy khác nhau do lượng polygalacturonic acid mạch thẳng và các thành phần hóa học của chúng khác nhau, đặc biệt là các tính chất cơ bản trong việc ứng dụng polysaccharide xương rồng trong nhiều lĩnh vực khác nhau. Pectin được dùng làm thuốc cầm máu đường ruột; làm các tác nhân nhũ hóa khi

kết hợp với gums Arabic và được dùng sản xuất bánh kẹo, mứt,...[21, 22]. Trong môi trường acid, pectin có thể tạo thành gel nước có độ nhớt đặc biệt. Do đó, cơ chế tạo gel đặc biệt này được sử dụng để tạo màng sinh học. Do khả năng phân hủy sinh học tốt, tính tương hợp sinh học cao, có thể ăn được và các đặc tính hóa lý linh hoạt như gel hóa, tính thấm khí chọn lọc nên pectin là một nền polymer rất thích hợp để tạo màng sinh học. Vì vậy, polysaccharide pectin được chiết từ *Opuntia dillenii* được chọn làm nền polymer sinh học cho đề tài nghiên cứu này.

1.2.3 Hoạt tính sinh học và ứng dụng của polysaccharide

Polysaccharide có các tính chất hóa – lý quan trọng, được ứng dụng khá rộng rãi trong nhiều lĩnh vực của cuộc sống. Theo thống kê, có ít nhất 30 loại polysaccharide đang được tiến hành các thử nghiệm lâm sàng liên quan đến chống ung thư, chống vi rút, điều trị bệnh tiểu đường,... trên thế giới [23].

a. Hoạt động chống ung thư

Phần lớn các polysaccharide không có tác động trực tiếp lên các tế bào khối u, nhưng chúng thúc đẩy hệ thống miễn dịch của cơ thể bằng cách thúc đẩy sự sinh trưởng và sinh sản của ba loại tế bào gồm có tế bào tiêu diệt tự nhiên, đại thực bào và lympho. Đồng thời kích hoạt các hệ thống nội mô mới trên mạng lưới nội chất, thúc đẩy sự sản sinh ra các loại cytokine khác nhau và cuối cùng là ức chế sự phát triển của các tế bào khối u hoặc khiến các tế bào khối u này tự chết. Cho đến nay, có rất nhiều các polysaccharide có hoạt tính chống ung thư đã được tìm thấy như α -glucans có cấu trúc phẳng và ba chiều khác nhau, polysaccharide pectic và polysaccharide trong rong biển [23].

b. Tác dụng hạ đường huyết

Khác với monosaccharide và oligosaccharide làm tăng đường trong máu, nhiều polysaccharide không những không làm tăng mà trái lại, chúng có thể làm giảm lượng đường trong máu. Do đó, polysaccharide được xem sẽ là một nhóm thuốc hạ đường huyết mới. Một số nghiên cứu cho thấy rằng mặc dù một số polysaccharide không làm tăng bài tiết insulin trong cơ thể, nhưng chúng có thể cải thiện đáng kể hoạt động của glucokinase, hexokinase và glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) trong gan và cũng làm giảm mức độ chất béo trung tính và cholesterol trong huyết tương [23].

c. Sử dụng polysaccharide làm chất trung gian tổng hợp nên nano bạc giúp phân hủy thuốc nhuộm Rhodamine B trong nước

Polysaccharide được chiết xuất từ cây xương rồng có chuỗi polymer chứa có nhiều chức năng hóa học khác nhau chạy dọc theo chuỗi polyme. Các chiết xuất này ổn định trong các dung môi hữu cơ thông thường và có ái lực cao với các ion kim loại như Ag^+ . Sự tương tác giữa các nhóm chức từ polysaccharide và các hạt nano thường xảy ra bởi các hiệu ứng tĩnh điện và các tương tác không cộng hóa trị. Do đó, chiết xuất polysaccharide từ nhánh cây sẽ là chất nền lý tưởng cho quá trình tổng hợp nano bạc đơn lẻ. [24]

Nghiên cứu này chứng minh rằng tổng hợp nano bạc với chất trung gian là polysaccharide có thể là một chất phân hủy thuốc nhuộm Rhodamine B rất hiệu quả. Ngoài ra, sự tương tác của thuốc nhuộm Rhodamine B với polysaccharide-nano bạc có thể ngăn chặn thuốc nhuộm bị rửa trôi nên giảm thiểu được độc tính của thuốc nhuộm trong nước [24].

d. Các tác dụng khác

Tsujita và các cộng sự (2007) đã chứng minh rằng một loại polysaccharide cơ bản có khả năng ngăn chặn sự hấp thụ chất béo từ ruột non bằng cách ức chế hoạt động của lipase tụy, giúp đạt được mục tiêu giảm cân [25]. Ngoài ra, polysaccharide cũng có tác dụng chống oxy hóa, hạ huyết áp, thúc đẩy tăng trưởng tóc, giảm cholesterol, điều trị ho, tăng cường mật độ xương, chống loét...

Bên cạnh các hoạt tính sinh học nêu trên, các hoạt tính mới của polysaccharide vẫn đang được tiếp tục nghiên cứu.

1.3. Tình hình nghiên cứu tạo màng sinh học polysaccharide pectin chiết xuất từ xương rồng *O. dilleni* trên thế giới và tại Việt Nam

1.3.1 Màng phân hủy sinh học

Màng polymer phân hủy sinh học là loại màng polymer có khả năng phân hủy thành các phân tử đơn giản như CO_2 , H_2O , CH_4 và sinh khối. Các tác nhân, chẳng hạn như vi sinh vật (vi khuẩn và nấm), nhiệt độ, độ ẩm và ánh sáng, có thể làm phá vỡ màng polymer phân hủy sinh học.

Màng thực phẩm từ polymer sinh học phải đáp ứng các yêu cầu cơ bản sau: không chứa độc tố; an toàn đối với sức khỏe con người; có tính bền vững về mặt hóa học, hóa lý và vi sinh vật, có hiệu quả cản trao đổi chất và độ bền cơ học cao; và có chất lượng cảm quan tốt.

Màng polymer phân hủy sinh học có thể được phân loại dựa trên nguyên liệu cấu thành ra các loại như sau: polylactic acid (PLA), polyhydroxyalkanoates (PHA), chitosan, agar, alginate, carrageenan, collagen và gelatin [26].

1.3.2 Tình hình nghiên cứu màng phân hủy sinh học

1.3.2.1 Nghiên cứu trên thế giới

Đã có nhiều nghiên cứu đã được công bố về tạo màng sinh học từ các vật liệu khác nhau như Xu và các cộng sự (2005) đã nghiên cứu kết hợp giữa chitosan và tinh bột để tạo màng kết hợp phân hủy sinh học. Màng tinh bột có tính giòn, khi bổ sung chitosan giúp màng tăng độ bền kéo và độ giãn dài đứt, đồng thời làm giảm tốc độ truyền hơi nước của màng. Bên cạnh đó, quá trình hồ hóa tinh bột đã ngăn chặn chitosan kết tinh trong dung dịch màng [27].

Su và các cộng sự (2010) đã tiến hành nghiên cứu tạo màng từ carboxymethyl cellulose (CMC) và protein đậu nành. Nghiên cứu này tạo ra các thành phần polymer có tính tương tích sinh học cao. Sự bổ sung CMC vào màng giúp tăng độ bền kéo và giảm độ nhạy nước. Ngoài ra sự bổ sung Glycerol cũng giúp làm giảm độ kết tinh của hỗn hợp tạo màng. Loại màng này thích hợp để bảo quản các loại dược phẩm và thực phẩm có độ ẩm thấp [28].

Dou và các cộng sự (2018) đã tiến hành nghiên cứu tạo ra màng kết hợp từ gelatin, sodium alginate và polyphenol từ trà xanh. Nghiên cứu này cho thấy bổ sung tea phenol đóng vai trò như một chất liên kết ngang, làm tăng tính chất cơ lý và là một chất chống oxy hóa hiệu quả. Loại màng này có tiềm năng lớn trong việc tạo ra bao bì phân hủy sinh học, thân thiện với môi trường và kháng khuẩn, giúp kéo dài thời hạn sử dụng của thực phẩm [29].

1.3.2.2 Nghiên cứu tại Việt Nam

Năm 2008, Lê Thị Minh Thủy đã nghiên cứu phối trộn chitosan-gelatin làm màng bảo quản phi lê cá ngừ đại dương. Hỗn hợp chitosan và gelatin được phối trộn ở các tỉ lệ khác nhau, sau đó dùng các màng này để bao gói bảo quản phi lê cá ngừ và bảo quản ở nhiệt độ lạnh. Kết quả cho thấy màng có tỷ lệ phối trộn chitosan/gelatin là 60/40 và chitosan/gelatin/natri benzoate 60/40/0,1% là tối ưu về sức căng và độ ẩm, có khả năng kháng khuẩn và hạn chế sự hình thành histamin trong quá trình bảo quản phi lê cá ngừ đại dương [30].

Năm 2012, Hồ Sơn Lâm và Nguyễn Thị Thu Thảo đã thực hiện nghiên cứu về tổng hợp polymer phân hủy sinh học Vinapol có thể được sử dụng trong nông nghiệp.

Khi được sử dụng, Vinapol, một dạng polymer nền có dạng khối trụ hoặc viên cầu, chỉ cần hòa tan trong nước ấm từ 70 đến 80°C để tạo thành dạng theo khuôn. Kết quả nghiên cứu cho thấy polymer này có khả năng phân hủy trong đất trong khoảng thời gian từ 45 đến 60 ngày, phụ thuộc vào thành phần và tỷ lệ nguyên liệu. Độ bền và độ hấp thụ nước của polymer Vinapol tốt và phụ thuộc vào các thành phần nguyên liệu chính và thành phần chất phụ gia của nó [31].

Năm 2017, Nguyễn Thị Đan Huyền và các cộng sự đã thực hiện nghiên cứu tạo màng sinh học từ gum arabic và dịch chiết vi khuẩn *Pseudomonas* 199B nhằm kháng nấm *Asperillus flavus* T1 trong bảo quản hạt ngô giống. Kết quả nghiên cứu cho thấy dịch chiết vi khuẩn *P. putida* ức chế tốt sự phát triển của nấm mốc *A. flavus* gây bệnh mốc đen trên giống ngô nếp nù NK66 (ngô lai), tỷ lệ nảy mầm của hạt giống ngô đạt 97,91 % sau 30 ngày bảo quản với tỷ lệ nhiễm mốc thấp (20 %) [32].

Năm 2019, Lâm Thị Ni Na đã thực hiện nghiên cứu tạo màng polymer phân hủy sinh học bằng cách kết hợp giữa chitosan và poly vinyl alcohol (PVA). Kết quả nghiên cứu cho thấy với hàm lượng acid acetic và glutaraldehyde (GA) lần lượt là 3,5/100 và 1/100 về khối lượng so với PVA, nhiệt độ đóng rắn là 90°C, thời gian là 7 giờ là điều kiện tốt nhất cho quá trình đóng rắn của màng PVA. Bổ sung thêm chitosan và GA để tạo thêm các liên kết ngang trong màng, cải thiện độ tan trong nước của PVA và tăng khả năng kháng khuẩn của màng [33].

Năm 2020, Dương Thế Hy cũng đã thực hiện nghiên cứu tạo màng phân hủy sinh học trên cơ sở kết hợp giữa chitosan và polyvinyl alcohol [34].

1.3.3 Tổng quan về nghiên cứu tạo màng từ polysaccharide pectin chiết xuất từ xương rồng và đặc tính của chúng

1.3.3.1 Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Năm 2010, Espino-Díaz và các cộng sự đã nghiên cứu và công bố rằng chất nhầy của xương rồng *Opuntia ficus-indica* (L.) có thể được sử dụng để tạo ra màng sinh học. Thành phần của màng bao gồm chất nhầy xương rồng, glycerol và nước cất với tỷ lệ 2:1:50 và được khảo sát ở các điều kiện pH là 4, 5, 6, 7 và 8, đồng thời trong quá trình tạo màng, canxi cũng được bổ sung. Kết quả thí nghiệm cho thấy chất nhầy xương rồng có khả năng tạo màng ở pH từ 4 đến 8. Tuy nhiên màng tạo thành cứng và dễ vỡ nên trong quá trình tạo màng chất hóa dẻo được thêm vào để cải thiện tính chất cơ học của chúng. Màng có cường lực cao nhất ở pH 5, 6 và 7. Cường độ của màng giảm đi khi bổ sung canxi. Ở pH 4, màng có bổ sung canxi có cường lực mạnh nhất là

0,55 MPa. Màng có tính chất ngăn hơi nước tốt nhất và cường lực tốt nhất khi ở điều kiện pH tự nhiên và không bổ sung canxi [1].

Năm 2014, Lira-Vargas và các cộng sự đã nghiên cứu thành công màng sinh học được chiết xuất từ xương rồng và trộn với gelatin và sáp ong cùng với chất hóa dẻo glycerol và chất nhũ hóa Tween 80 ở các tỷ lệ khác nhau. Kết quả cho thấy việc bổ sung gelatin không ảnh hưởng đến độ dày và độ trong suốt của màng nhưng lại làm tăng độ bền kéo và khả năng thấm hơi nước của màng, và cũng làm giảm khả năng thấm khí của màng. Tuy nhiên, sáp ong lại giúp độ dày màng mỏng hơn, làm tăng độ bền kéo và khả năng thấm hơi nước của màng, tuy nhiên lại làm giảm khả năng thấm khí và thấm nước của màng. Đã có một số nghiên cứu về loại màng này với mục đích bảo quản thực phẩm nông nghiệp [2].

Năm 2017, Treviño-Garza và các cộng sự đã nghiên cứu cách tạo ra màng bảo quản trái dứa bằng cách sử dụng polysaccharide xương rồng có bổ sung chitosan. Trái dứa được ngâm vào dung dịch polysaccharide xương rồng 4% trước khi được ngâm vào dung dịch chitosan 1,5%. Sau đó, trái dứa được bảo quản ở nhiệt độ 4°C trong 18 ngày. Tiến hành so sánh các mẫu được bảo quản từ các dung dịch polysaccharide được chiết xuất từ các loài thực vật khác, chẳng hạn như pullulan, nha đam và hạt lanh. Sau 18 ngày bảo quản, mẫu được phủ bằng dung dịch chứa polysaccharide chitosan và xương rồng có độ giảm trọng thấp nhất. Điều này là do chất nhầy xương rồng có khả năng hình thành liên kết ngang, tăng khả năng giữ nước cho mẫu dứa. Giá trị pH của mẫu được bao phủ bởi dung dịch polysaccharide xương rồng và chitosan cao hơn (3,75–3,76), dẫn đến sự giảm lượng citric acid trong trái cây. Mẫu cũng không ngăn chặn được sự mất mát của hàm lượng ascorbic acid trong trái. Nhìn chung, tất cả các dung dịch bảo quản đều giúp duy trì chất lượng và các đặc tính của trái cây, chẳng hạn như màu sắc, mùi vị, kết cấu và các dấu hiệu phân rã [3].

Năm 2019, Olicón-Hernández và các cộng sự đã nghiên cứu tạo màng polysaccharide được trộn từ chiết xuất xương rồng, chitosan và gelatin. Sau đó, Khả năng kháng khuẩn kháng nấm của màng được đánh giá theo sự phối trộn các tỉ lệ khác nhau của hỗn hợp dịch chiết xương rồng, chitosan, gelatin và glycerol. Từ đó, kết luận được rằng màng có 20% dịch chiết xương rồng, 10% gelatin, 3% glycerol và 0.2% chitosan đạt được độ bền, độ đàn hồi và độ đồng nhất tốt nhất. Ngoài ra, khi thử nghiệm bảo quản trái cà chua trong 30 ngày, màng cũng có khả năng kháng nấm và kháng khuẩn. Do đó, màng từ polysaccharide của xương rồng có bổ sung chitosan và

gelatin được sử dụng để bảo quản thực phẩm. Màng này bảo vệ thực phẩm khỏi vi sinh vật và nấm bên ngoài, làm tăng thời gian bảo quản và không gây hại cho người tiêu dùng [4].

Năm 2020, Scognamiglio và các cộng sự đã nghiên cứu tạo màng từ chất nhầy xương rồng kết hợp với tinh bột nhựa nhiệt dẻo. Để tạo thành màng, chất nhầy cô đặc được chiết từ xương rồng được trộn với tinh bột và glycerol. Trong quá trình khảo sát, chất nhầy cô đặc từ xương rồng đã được sử dụng để tạo ra màng tinh bột nhiệt dẻo có độ bền cao, độ trong suốt cao và độ dày mỏng nhất là 0,139 mm. Màng được sử dụng để sản xuất nhựa sinh học, thay thế cho nhựa có nguồn gốc từ dầu mỏ [35].

1.3.3.2 Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam

Tại Việt Nam, một số nghiên cứu về thành phần pectin có thể được sử dụng để tạo màng sinh học đã được công bố như Ngô Thị Minh Phương và Trần Thị Xô (2016) đã nghiên cứu cách tạo màng pectin bằng cách chiết xuất vỏ chuối có bổ sung alginate. Dung dịch pectin 3% và dung dịch alginate 3% được trộn với nhau với tỷ lệ 1:1, sau đó mẫu quả mận được nhúng vào các dung dịch trên và sau đó được nhúng tiếp vào CaCl_2 bảo quản ở 28°C. Màng pectin: alginate với tỷ lệ 1:1 có độ bền và độ kéo căng cao nhất của alginate, còn bề dày và độ thấm khí của màng thuộc mức trung bình của pectin so với các tỷ lệ khác. Đồng thời, quả mận sau khi được bao bằng màng pectin - alginate có màu sắc tươi sáng và bóng hơn so với quả không bao màng, làm tăng giá trị cảm quan của quả. Màng pectin - alginate có thể bảo quản quả mận đến 16 ngày trong thùng xốp và ở nhiệt độ bảo quản 28°C [5].

Năm 2016, Ngô Thị Minh Phương đã tiến hành nghiên cứu về cách sử dụng pectin tạo màng để bảo quản xoài và gừng. Pectin được chiết xuất từ lá sương sâm và vỏ bưởi được trộn với carbonmethyl cellulose (CMC). Sau đó, để bảo quản, các mẫu thử xoài và gừng được nhúng vào dung dịch. Màng kết hợp giữa pectin và CMC được tạo ra thành công với các đặc điểm cảm quan tốt như trong suốt, nhẵn mịn, không vết nứt và không có bọt khí. Màng chứa pectin và CMC với tỷ lệ 1:1 là tốt nhất để bảo quản xoài và gừng. Đối với bảo quản xoài, xoài vẫn giữ được tình trạng cảm quan tốt và giảm trọng lượng rất ít sau 18 ngày được bảo quản. Còn đối với bảo quản gừng, gừng vẫn đảm bảo được tươi và trạng thái cảm quan tốt sau 20 ngày được bảo quản [36].

Năm 2018, Ngô Thị Minh Phương và các cộng sự đã nghiên cứu tạo màng pectin được chiết từ lá sương sâm có bổ sung thêm CMC và tinh dầu sả. Dung dịch tạo

màng gồm dung dịch pectin 2%, dung dịch CMC 2% và tinh dầu sả 0,5% và 1%. Nghiên cứu cho thấy rằng hàm lượng CMC trong dung dịch tạo màng làm tăng độ dày của màng, độ bền đứt và độ giãn dài của màng, đồng thời tăng khả năng kỵ nước của màng. Việc bổ sung tinh dầu sả giúp tăng khả năng kháng các vi khuẩn như *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae* và *Aspergillus niger*. Nghiên cứu cho thấy hàm lượng tinh dầu càng tăng, đường kính vòng kháng khuẩn càng tăng, cho nên sử dụng màng này phù hợp với mục đích bảo quản thực phẩm [6].

Tuy nhiên cho đến nay tại Việt Nam vẫn chưa có nhiều nghiên cứu tạo màng sinh học polysaccharide chiết xuất từ xương rồng cũng như đánh giá đặc tính của loại màng này.

CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Chiết tách và tinh chế polysaccharide từ xương rồng *O. dillenii*
- Khảo sát một số yếu tố đến quá trình chiết như thời gian, nhiệt độ, tỉ lệ dung môi, nguyên liệu, pH
- Xác định một số tính chất của polysaccharide chiết từ xương rồng *O. dillenii* như hàm lượng đường khử, hàm lượng đường tổng, độ trương nở, các thành phần đường đơn
- Nghiên cứu khả năng tạo màng polysaccharide chiết xuất từ xương rồng *O. dillenii* và màng phối trộn với một số hợp chất khác
- Khảo sát một số đặc tính của màng polysaccharide chiết xuất từ xương rồng *O. dillenii* như độ dày màng, độ trương nở trong nước, độ ẩm, độ bền trong dung môi, độ tan trong nước, khả năng phân hủy sinh học, khả năng kháng khuẩn.

2.2. Vật liệu, dụng cụ và hóa chất thí nghiệm

Vật liệu: Xương rồng *O. dillenii* được thu thập tại tỉnh Bình Thuận, Việt Nam. Lựa chọn những lá xanh, không bị nấm mốc, thối hỏng, dập nát, cắt bỏ gai, rửa sạch để loại bỏ các tạp chất còn bám trên nhánh cây sau đó cắt nhỏ xương rồng. Tiến hành sấy xương rồng ở nhiệt độ 60°C đến khi khối lượng không thay đổi. Sau đó tiến hành xay nhuyễn chúng thành bột xương rồng.

Hóa chất: acetone, acid chlohydric, chloroform, đồng (II) sulfate, ethanol, ethyl acetate, kali sulfate, natri hydroxit, n-butanol, canxi chlorua, n-hexan, ethanol absolute, chitosan, polyvinyl alcohol, sorbitol, glycerol, citric acid, acetic acid, chlohydric acid, sodium hydroxide ...tinh khiết phân tích của Xilong (Trung Quốc) và Việt Nam.

Dụng cụ: bình cầu, cốc thủy tinh, bình tam giác (bình erlen), ống nghiệm, pipet các loại...

Thiết bị: tủ sấy, máy cô quay chân không, máy ly tâm, bếp khuấy từ có gia nhiệt, máy xay, cân kỹ thuật độ chính xác 0,01 và cân phân tích độ chính xác 0,0001mg...

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Tách chiết và tinh chế polysaccharide từ xương rồng *O. dillenii* [9, 23]

Bột xương rồng khô được ngâm trong nước với tỷ lệ 1:15 (g/mL). Sau 01 giờ

ngâm, hỗn hợp được đem đi đun tại 80°C (thực hiện quá trình chiết polysaccharide hai lần trong nước). Sau đó, hỗn hợp được ly tâm với tốc độ 4000 vòng/phút trong 20 phút. Phần bã sẽ lắng xuống đáy và sau đó thu phần dịch nổi bên trên. Dịch nổi H₂O được cô quay bằng thiết bị cô quay chân không sao cho thể tích sau khi cô quay còn lại một phần ba so với ban đầu. Cho ethanol 96° vào dịch sau cô quay theo tỉ lệ 4:1 (mL/mL) sau đó đem ly tâm hỗn hợp tựa này trong vòng 10 phút với tốc độ 4000 vòng/phút, tiến hành thu kết tủa ở đáy ống ly tâm. Rửa phần kết tủa bằng ethanol (2 lần) sau đó rửa lại bằng acetone. Đem kết tủa được sấy trong tủ sấy ở nhiệt độ 45°C, phần tủa sau khi sấy được gọi là polysaccharide thô.

Polysaccharide thô được hòa tan trong nước cất và sau đó đem đi lọc bỏ phần cặn không tan. Tiến hành khử protein trong mẫu thu được theo mô tả của phương pháp Sevag là dùng hỗn hợp CHCl₃ : n-BuOH. Sau khi ly tâm, thu phần dịch nổi bên trên, phần dịch nổi được rửa lại bằng ethanol theo tỷ lệ 1:4 (mL/mL). Sau đó đem rửa tủa bằng ethanol và acetone, sau đó đem tủa này đi sấy trong tủ sấy để tạo ra polysaccharide tinh. Quy trình trên được lặp lại cho đến khi không còn protein giữa mặt phân cách giữa hai pha.

2.3.2. Khảo sát một số yếu tố đến quá trình chiết như thời gian, nhiệt độ, tỉ lệ dung môi: nguyên liệu, pH [9, 23, 43, 44]

2.3.2.1 Khảo sát thời gian chiết xuất polysaccharide

Tiến hành khảo sát thời gian chiết xuất polysaccharide trong khoảng thời gian 30 phút, 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ và 4 giờ. Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi được cố định là 1:15 (g/mL) và nhiệt độ chiết xuất là 80 °C. Quá trình chiết tách được thực hiện trong bình cầu 100 mL với lượng mẫu là 1 g bột xương rồng.

Hàm lượng polysaccharide thô thu được được tính theo công thức:

$$\% \text{ polysaccharide thô} = \frac{\text{khối lượng polysaccharides thu được}}{\text{khối lượng nguyên liệu ban đầu}} \times 100$$

2.3.2.2 Khảo sát nhiệt độ chiết xuất polysaccharide

Tiến hành khảo sát nhiệt độ chiết xuất polysaccharide tại các nhiệt độ sau: nhiệt độ phòng, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C và 90°C, cố định thời gian là 2 giờ và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi cũng được cố định là 1:15 (g/mL). Quá trình chiết tách được thực hiện trong bình cầu 100 mL với lượng mẫu là 1 g bột xương rồng.

Hàm lượng polysaccharide thô thu được được tính theo công thức như ở phần 2.3.2.1.

2.3.2.3 Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi trong quá trình chiết xuất polysaccharide

Tiến hành khảo sát tỉ lệ nguyên liệu/dung môi ở các giá trị tỉ lệ cụ thể sau: 1/5, 1/10, 1/15, 1/20 và 1/30 để tìm ra được tỉ lệ nguyên liệu/dung môi thích hợp cho quá trình chiết tách polysaccharide. Các thông số cố định trong quá trình chiết tách gồm thời gian, nhiệt độ đã được xác định ở phần 2.3.2.1 và 2.3.2.2.

Hàm lượng polysaccharide thô thu được cũng được tính theo công thức như ở phần 2.3.2.1.

2.3.2.4 Khảo sát pH chiết xuất polysaccharide

Tiến hành khảo sát pH tại các pH bằng chlohydric acid như sau: 1, 2, 3, 4, 5, 6 để tìm ra pH thích hợp cho quá trình chiết xuất polysaccharide. Các thông số cố định trong quá trình chiết tách gồm thời gian, nhiệt độ, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi đã được xác định ở phần 2.3.2.1, 2.3.2.2 và 2.3.2.3.

Hàm lượng polysaccharide thô thu được cũng được tính theo công thức như phần 2.3.2.1.

2.3.3. Xác định một số tính chất của polysaccharide chiết từ xương rồng *O. dillenii* như: các thành phần đường đơn, hàm lượng đường khử, hàm lượng đường tổng, độ trương nở

2.3.3.1 Phương pháp thủy phân tạo monosaccharide

Phương pháp được tham khảo từ nghiên cứu của Dai và cộng sự (2010) [57] với một vài thay đổi như sau.

Cho 1 mL dung dịch HCl 4M vào 5 mL dung dịch polysaccharide (800 mg/l). Sau đó, mẫu được thủy phân trong 3 giờ ở nhiệt độ 100°C. Kết thúc thủy phân, mẫu được trung hòa bằng một lượng tối thiểu Na₂CO₃ bão hòa. Sau đó mẫu được định mức đến 100 mL đạt nồng độ 40 mg/l.

Mẫu polysaccharide sau thủy phân được lọc qua màng lọc 0.22 µm và được phân tích bằng hệ thống sắc ký trao đổi ion hiệu năng cao HPAEC-PAD Dionex™ ICS 3000 được trang bị điện cực vàng dùng một lần, cột phân tích (3,0 × 150) mm CarboPac PA 20 (Dionex), với dung môi rửa giải A (NaOH 0.1 M) và B (NaOH 0.1 M + NaOAc 0.1 M). Chế độ rửa giải đẳng dòng (0.2 mL/phút) tại nhiệt độ 30°C cho tất cả các mẫu. Thể tích mẫu nạp cột là 25 µL. Dữ liệu được ghi và xử lý bằng phần mềm Chromeleon ver 6.8. để xác định thành phần các đường đơn monosaccharide.

2.3.3.2 Phương pháp xác định hàm lượng đường tổng và đường khử [55]

Polysaccharide sau khi thủy phân được tiến hành khử tạp chất bằng cách cho thêm 5 mL dung dịch Carrer I và thêm tiếp vào 5 mL dung dịch Carrer II, lắc kỹ và để lắng 5 phút. Tiến hành lọc chất lỏng vào bình định mức 100 mL, thêm nước đến vạch mức của bình, lắc kỹ thu được dung dịch thử.

Cho 25ml dung dịch Luff-Schoorl vào bình erlen có dung tích 250 ml, thêm vào đó 25 ml dung dịch thử. Đặt bình bằng một nút cao su có gắn ống sinh hàn để hồi lưu. Đặt erlen lên bếp điện đun cho sôi. Thời gian đun cho đến lúc bắt đầu sôi 2 phút là tốt nhất. Khi dung dịch bắt đầu sôi thì nâng erlen cách bếp điện 5-8 cm. Giữ cho sôi trong đúng 10 phút. Lấy ra làm nguội nhanh.

Cho vào erlen này 25 ml dung dịch H₂SO₄ 3M và ngay sau đó cho vào 10 ml dung dịch KI 30%. Chuẩn độ bằng dung dịch natri thiosulfat cho đến khi xuất hiện màu vàng sẫm sau đó thêm chỉ thị hồ tinh bột và chuẩn độ đến điểm kết thúc.

2.3.3.3 Phương pháp xác định trọng lượng phân tử của polysaccharide

Trọng lượng phân tử trung bình của polysaccharide được xác định bằng sắc ký lọc gel. GPC được thực hiện trên Hệ thống phân tích GPC-SEC Agilent 1100 (Trung tâm nghiên cứu thử nghiệm Hóa dược, Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) sử dụng cột Shodex OHPax KB-804, dung môi: H₂O, tốc độ dòng 1mL/phút, đầu dò ELSD, khí N₂: 1,8mL/phút; nhiệt độ: 70°C, độ gain 600, thể tích tiêm mẫu: 10uL.

2.3.3.4 Độ trương nở của polysaccharide [20]

Khả năng trương nở của polysaccharide được đánh giá bằng cách ngâm 0,01g bột polysaccharide vào 5 mL nước cất tạo chất nhày. Sau khi chất nhày polysaccharide lắng xuống, lấy hết nước ra và đem cân khối lượng chất nhày này. Tính được độ trương nở của chất nhày polysaccharide trong nước bằng cách so sánh với khối lượng polysaccharide ban đầu.

2.3.4. Nghiên cứu khả năng tạo màng polysaccharide chiết xuất từ xương rồng và màng phối trộn với một số hợp chất khác

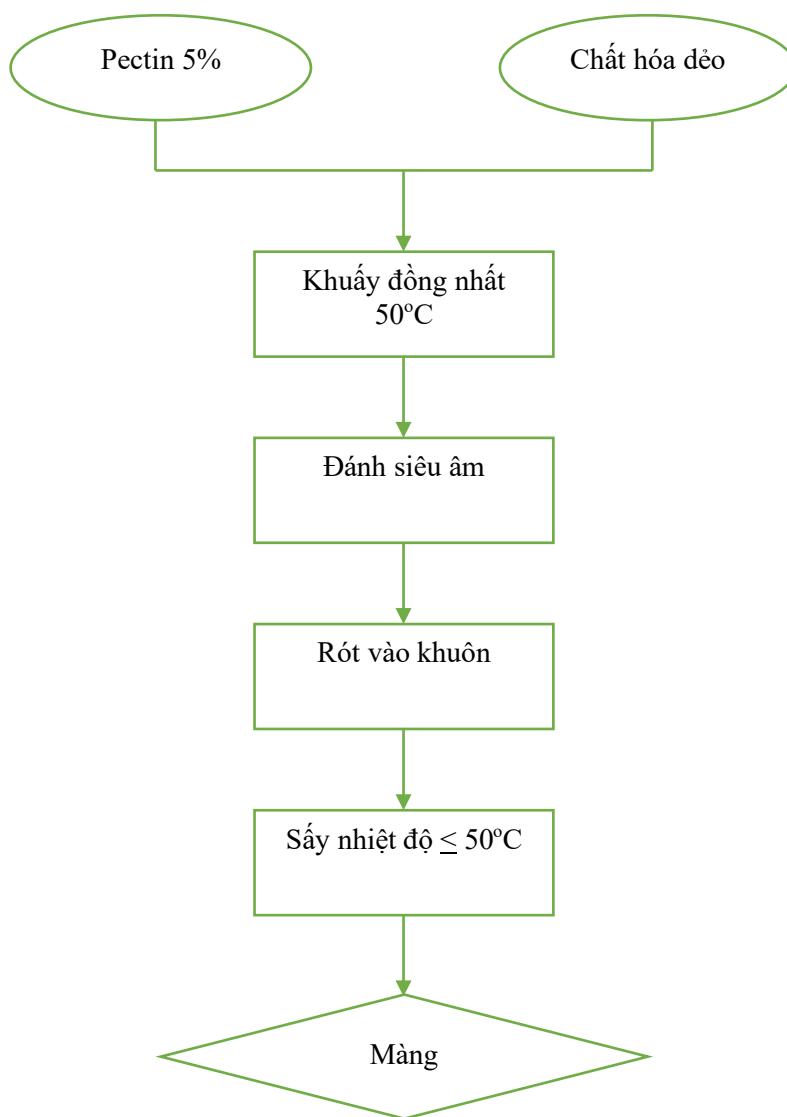
2.3.4.1. Nghiên cứu khả năng tạo màng polysaccharide chiết xuất từ xương rồng

Phương pháp tạo màng polysaccharide hay có thể gọi là màng Pectin từ xương rồng *Opuntia dillenii* và chất hóa dẻo được tiến hành theo Espino và các cộng sự (2010) như sau:

Pha trộn dung dịch Pectin 5% từ xương rồng *O. dillenii* và chất hóa dẻo 2% (chất hóa dẻo có thể sử dụng là Sorbitol hoặc Glycerol) bằng cách khuấy trộn cho đến khi hỗn hợp đồng nhất, ta thu được dung dịch màng Pectin.

Để tránh hiện tượng bọt khí gây ảnh hưởng đến chất lượng màng, dùng máy siêu âm đánh hết bọt khí trong lòng dung dịch. Sau đó, rót dung dịch tạo màng theo từng tỉ lệ vào khuôn PE có diện tích 22x14.5x7 cm sao cho dung dịch tráng đều trên khuôn.

Tiến hành cho khuôn chứa dung dịch tạo màng vào tủ sấy, sấy ở nhiệt độ 50°C cho đến khi dung dịch khô hoàn toàn và ta thu được màng mỏng pectin trên khuôn [1].



Hình 2.1 Quy trình tạo màng polysaccharide từ xương rồng *O. dillenii*

2.3.4.2. Nghiên cứu khả năng tạo màng polysaccharide chiết xuất từ xương rồng phối trộn với một số hợp chất khác

a. Tạo màng pectin, chitosan (PT/CTS)

Chitosan là một polysaccharide không độc hại có thể được sử dụng trong thực phẩm vì nó có khả năng tạo màng có độ bền cơ học cao, dễ phân hủy sinh học, không hút ẩm và kỵ nước [48]. Vì vậy, nhược điểm của pectin, một polysaccharide tan trong nước, được khắc phục bằng cách thêm chitosan. Các chất hóa dẻo thường được sử dụng trong thực phẩm và thường được sử dụng trong nghiên cứu về tạo màng polymer sinh học. Việc thêm các chất hóa dẻo vào cấu trúc màng là vô cùng quan trọng vì chúng làm tăng độ mềm dẻo và tính linh hoạt của nó. Hai loại chất hóa dẻo phổ biến nhất, được biết đến rộng rãi là glycerol và sorbitol. Cả hai chất hóa dẻo này đều là polyol, trong phân tử có nhiều nhóm hydroxyl. Trong khi glycerol có ba nhóm hydroxyl và trong sorbitol có sáu nhóm hydroxyl, các nhóm hydroxyl này rất ưa nước. Với ba nhóm hydroxyl, glycerol linh hoạt hơn sorbitol trong chuỗi cao phân tử, kích thích không gian nội phân tử nhỏ hơn và có khả năng liên kết tốt hơn với các polymer tạo màng khác, dẫn đến giảm thẩm hơi nước qua màng. Sorbitol hoạt động tốt hơn khi so sánh với các tính chất vật lý khác, chẳng hạn như độ bền, sức căng và độ dày màng [48]. Tuy nhiên, sử dụng chất hóa dẻo nào tùy vào mục đích sử dụng, trong nghiên cứu này glycerol được sử dụng vì nó giúp hạn chế thẩm hơi nước qua màng.

Quy trình tạo màng từ pectin từ xương rồng *Opuntia Dillenii* được thực hiện theo Chetouani và các cộng sự (2017) [37] và Velickova và các cộng sự (2017) [38].

Phối trộn hỗn hợp rắn gồm pectin và chitosan theo tỷ lệ 1:4, 2:3, 3:2 và 4:1 với chất hóa dẻo glycerol trong dung dịch acetic acid 1% ở 80°C, khuấy trộn cho đến khi hỗn hợp đồng nhất. Sau đó, hỗn hợp thu được được đem đi ly tâm để loại bỏ phần chất rắn không tan.

Tiến hành rót dung dịch tạo màng theo từng tỉ lệ vào từng khuôn đĩa petri đường kính 8,5cm sao cho dung dịch tráng đều trên đĩa. Để các khuôn đĩa petri chứa dung dịch tạo màng này ở nhiệt độ phòng trong 24 – 36 giờ, ta thu được màng mỏng pectin.

Bảng 2.1. Ký hiệu, tỷ lệ phối trộn và chất hóa dẻo tạo màng PT/CTS

Ký hiệu mẫu	Tỷ lệ phối trộn Pectin : Chitosan	Chất hóa dẻo
PT/CTS 1:4	1:4	Glycerol
PT/CTS 2:3	2:3	Glycerol
PT/CTS 3:2	3:2	Glycerol
PT/CTS 4:1	4:1	Glycerol

b. Tạo màng pectin, chitosan và PVA

Quy trình tạo màng từ pectin từ xương rồng *Opuntia Dillenii* được thực hiện theo Chetouani và các cộng sự (2017) [37].

Phối trộn dung dịch PT/CTS và PVA 3% theo tỷ lệ 1:2, 2:1 và 1:1, khuấy trộn đến khi hỗn hợp đồng nhất, dùng máy siêu âm loại bọt khí có trong dung dịch nhằm tránh hiện tượng bọt khí gây ảnh hưởng đến chất lượng thành phẩm.

Tiến hành rót dung dịch tạo màng theo từng tỉ lệ vào từng khuôn đĩa petri đường kính 8,5cm sao cho dung dịch tráng đều trên khuôn. Để các khuôn đĩa petri chứa dung dịch tạo màng này ở nhiệt độ phòng trong 24 – 36 giờ, ta thu được màng mỏng pectin.

Bảng 2.2. Ký hiệu mẫu, tỷ lệ phối trộn tạo màng pectin, chitosan và PVA

Ký hiệu mẫu	Tỷ lệ phối trộn PT/CTS : PVA
P ₁	1:1
P ₂	2:1
P ₃	1:2

c. Tạo màng pectin, chitosan, PVA và oxit

Phối trộn dung dịch PT/CTS và PVA 3% theo tỷ lệ 1:2, 2:1 và 1:1.

Bổ sung thêm oxit SiO₂/ZnO vào hỗn hợp trên theo 4 mức tỷ lệ 0,05%, 0,1%, 0,3% khối lượng/thể tích. Khuấy trộn đến khi hỗn hợp đồng nhất, dùng máy siêu âm loại bọt khí có trong dung dịch nhằm tránh hiện tượng bọt khí gây ảnh hưởng đến chất lượng thành phẩm.

Tiến hành rót dung dịch tạo màng theo từng tỉ lệ vào từng khuôn đĩa petri đường kính 8,5cm sao cho dung dịch tráng đều trên khuôn. Để các khuôn đĩa petri chứa dung dịch tạo màng này ở nhiệt độ phòng trong 24 – 36 giờ, ta thu được màng mỏng pectin.

Bảng 2.3. Ký hiệu mẫu, tỉ lệ phối trộn với oxit kim loại tạo màng

Ký hiệu mẫu	Tỉ lệ phối trộn PT/CTS : PVA	Oxit
P ₁ SiO ₂ 0.05 %	1:1	SiO ₂
P ₁ SiO ₂ 0.1 %	1:1	SiO ₂
P ₁ SiO ₂ 0.3 %	1:1	SiO ₂
P ₂ SiO ₂ 0.05 %	2:1	SiO ₂
P ₂ SiO ₂ 0.1 %	2:1	SiO ₂
P ₂ SiO ₂ 0.3 %	2:1	SiO ₂

P ₃ SiO ₂ 0.05 %	1:2	SiO ₂
P ₃ SiO ₂ 0.1 %	1:2	SiO ₂
P ₃ SiO ₂ 0.3 %	1:2	SiO ₂
P ₁ ZnO 0.05 %	1:1	ZnO
P ₁ ZnO 0.1 %	1:1	ZnO
P ₁ ZnO 0.3 %	1:1	ZnO
P ₂ ZnO 0.05 %	2:1	ZnO
P ₂ ZnO 0.1 %	2:1	ZnO
P ₂ ZnO 0.3 %	2:1	ZnO
P ₃ ZnO 0.05 %	1:2	ZnO
P ₃ ZnO 0.1 %	1:2	ZnO
P ₃ ZnO 0.3 %	1:2	ZnO

d. Tạo màng pectin, chitosan, PVA và các muối acetat kim loại:

Phối trộn dung dịch PT/CTS và PVA 3% theo tỷ lệ 1:2, 2:1 và 1:1.

Bổ sung thêm Muối acetat kim loại ZnAc, CuAc, CaAc lần lượt vào hỗn hợp trên theo các tỷ lệ 0,05%, 0,1%, 0,3% khối lượng/thể tích. Khuấy trộn đến khi hỗn hợp đồng nhất, dùng máy siêu âm loại bọt khí có trong dung dịch nhằm tránh hiện tượng bọt khí gây ảnh hưởng đến chất lượng thành phẩm.

Tiến hành rót dung dịch tạo màng theo từng tỉ lệ vào từng khuôn đĩa petri đường kính 8,5cm sao cho dung dịch tráng đều trên khuôn. Để các khuôn đĩa petri chứa dung dịch tạo màng này ở nhiệt độ phòng trong 24 – 36 giờ, ta thu được màng mỏng pectin.

Bảng 2.4. Ký hiệu mẫu, tỉ lệ phối trộn và muối acetat kim loại tạo màng

Ký hiệu mẫu	Tỉ lệ phối trộn PT/CTS : PVA	Muối acetat kim loại
P ₁ ZnAc 0,05 %	1:1	ZnAc
P ₁ ZnAc 0,1 %	1:1	ZnAc
P ₁ ZnAc 0,3 %	1:1	ZnAc
P ₂ ZnAc 0,05 %	2:1	ZnAc
P ₂ ZnAc 0,1 %	2:1	ZnAc
P ₂ ZnAc 0,3 %	2:1	ZnAc
P ₃ ZnAc 0,05 %	1:2	ZnAc
P ₃ ZnAc 0,1 %	1:2	ZnAc
P ₃ ZnAc 0,3 %	1:2	ZnAc
P ₁ CuAc 0,05 %	1:1	CuAc
P ₁ CuAc 0,1 %	1:1	CuAc
P ₁ CuAc 0,3 %	1:1	CuAc

P ₂ CuAc 0,05 %	2:1	CuAc
P ₂ CuAc 0,1 %	2:1	CuAc
P ₂ CuAc 0,3 %	2:1	CuAc
P ₃ CuAc 0,05 %	1:2	CuAc
P ₃ CuAc 0,1 %	1:2	CuAc
P ₃ CuAc 0,3 %	1:2	CuAc
P ₁ CaAc 0,05 %	1:1	CaAc
P ₁ CaAc 0,1 %	1:1	CaAc
P ₁ CaAc 0,3 %	1:1	CaAc
P ₂ CaAc 0,05 %	2:1	CaAc
P ₂ CaAc 0,1 %	2:1	CaAc
P ₂ CaAc 0,3 %	2:1	CaAc
P ₃ CaAc 0,05 %	1:2	CaAc
P ₃ CaAc 0,1 %	1:2	CaAc
P ₃ CaAc 0,3 %	1:2	CaAc

2.3.5. Khảo sát một số đặc tính của màng như độ dày màng, độ trương nở trong nước, độ ẩm, độ bền trong dung môi, độ tan trong nước, khả năng phân hủy sinh học, khả năng kháng khuẩn

2.3.5.1. Xác định độ dày màng

Độ dày màng được xác định bằng thiết bị đo Mitutoyo (Model PCM49 137, No.2046S, Japan). Tiến hành đo độ dày màng ở 5 vị trí khác nhau ở mỗi màng. Lặp lại thí nghiệm 3 lần, sau đó lấy kết quả trung bình [39].

2.3.5.2. Xác định độ ẩm của màng

Màng được cắt thành mẫu hình vuông có kích thước 5x5 (cm) ở 3 vị trí khác nhau của màng. Sau đó cho mẫu cắt vào đĩa petri và cho vào tủ sấy sấy ở 105°C cho đến khối lượng không đổi. Độ ẩm của màng được tính theo công thức sau:

$$MC = \frac{m_i}{m_f} \times 100$$

Trong đó: m_i là khối lượng ban đầu và m_f là khối lượng cuối của màng [40].

2.3.5.3. Khảo sát độ bền của màng trong các dung môi khác nhau

Màng được cắt thành mẫu hình vuông 5x5 (cm) và cho vào sấy khô bằng tủ sấy sấy ở 60°C – 70°C cho đến khối lượng không đổi, cân khối lượng ban đầu (Wđ). Sau đó đặt màng vào cốc chứa 20ml dung môi gồm nước, dầu ăn, clorofom, hexan, cồn,

methanol. Lắc đều trong 24 giờ ở nhiệt độ 25°C. Sau đó, lấy màng ra thấm khô và quan sát.

2.3.5.4. Khảo sát độ trương nở và độ tan của màng trong nước

Khả năng thấm hút và giữ nước còn có thể gọi là khả năng trương nở của màng. Cắt các mẫu màng có kích thước 5x5 (cm), cân khối lượng ban đầu (W_d) và đặt trong 30 mL nước cất ở nhiệt độ phòng trong những khoảng thời gian cụ thể 10, 20, 30, 40, 50, 60 phút. Sau đó lấy ra, thấm khô và cân khối lượng (W_s). Độ trương nở (X,%) được xác định theo công thức: [41]

Độ trương của màng (R_s) được tính theo công thức sau

$$X (\%) = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100$$

Khả năng tan vào nước còn gọi là độ tan của màng. Cắt các mẫu màng kích thước 5x5 (cm) và sấy khô đến khối lượng không đổi ở 60°C trong thiết bị sấy chân không, cân khối lượng ban đầu (W_d). Sau đó đặt màng vào cốc chứa 30ml nước cất, lắc đều trong 24 giờ ở nhiệt độ 25°C. Màng sau đó được sấy khô trong cùng điều kiện, cân khối lượng (W_s). Độ tan của màng (Y, %) được xác định theo công thức sau: [41]

$$Y (\%) = \frac{W_d - W_s}{W_s} \times 100$$

2.3.5.5. Khảo sát khả năng kháng khuẩn và phân hủy của màng sinh học

Khảo sát khả năng phân hủy màng được thực hiện theo Bajer và các cộng sự (2020). Hai loại vi sinh vật được cấy vào màng (kích thước là 1x1 cm) là *Bacillus* sp. và *Fusarium* sp. (đây là hai chủng có khả năng cao trong việc sản xuất các enzym thủy phân) [42].

Chủng vi khuẩn *Bacillus* sp. và nấm *Fusarium proliferatum* được cung cấp bởi phòng Vi sinh - Viện Sinh học nhiệt đới.

Dụng cụ và thiết bị

Dụng cụ: Đĩa petri, bình tam giác (250 mL và 500 mL), bình thủy tinh (7 x 11 cm), đĩa petri 90 mm, dao mổ, kẹp gấp, đèn cồn.

Thiết bị: Tủ cấy vô trùng (Telstar, Tây Ban Nha), máy đo quang phổ (Hitachi, Nhật Bản), tủ ủ, máy ly tâm (Rotanta 46R, Đức), nồi khử trùng, tủ sấy, cân, máy đo pH, nhiệt kế, máy vortex.

Môi trường và hóa chất:

Môi trường nuôi cấy LB lỏng: tryptone 10 g, cao nấm men 5 g, NaCl 5 g, nước cất vừa đủ 1 lít.

Môi trường nuôi cấy PDA: 200 g khoai tây, 20 g dextrose, 20 g agar, nước cất vừa đủ 1 lít.

Phương pháp nghiên cứu

Chuẩn bị mẫu

Màng polymer sinh học được cắt thành các miếng hình vuông có kích thước 40 mm x 40 mm. Các mẫu được khử trùng dưới ánh sáng UV trong 90 giây cho mỗi mặt.

Số lượng mẫu: 14 mẫu

Bảng 2.5. Danh sách mẫu màng polymer sinh học

STT	Tên mẫu
1	P1 ZnO 0,05
2	P2 ZnO 0,05
3	P3 ZnO 0,05
4	P1 ZnAc 0,05
5	P2 ZnAc 0,05
6	P3 ZnAc 0,05
7	P2 CuAc 0,05
8	P3 CuAc 0,05
9	P1 (COS/PT)
10	P2 (COS/PT)
11	P3 (COS/PT)
12	P1 (CTS/PT)
13	P2 (CTS/PT)
14	P3 (CTS/PT)

Phương pháp bố trí thí nghiệm

- Ảnh hưởng của vi khuẩn *Bacillus sp.* đến màng polymer sinh học

Mỗi đơn vị thí nghiệm được bố trí trong đĩa petri đường kính 90 mm với chiều cao môi trường LB là 5 mm. Môi trường thí nghiệm được khử trùng ở 121⁰C, 1 atm trong 20 phút. Mỗi mẫu màng được đặt vào hai đĩa petri: một đĩa petri có môi trường thí nghiệm đã được khử trùng và một đĩa petri có môi trường thí nghiệm đã được khử

trùng cùng với 0,1 mL dịch vi khuẩn *Bacillus sp.* Thí nghiệm được lặp lại ba lần. Sau đó, đĩa được đặt trong tủ ủ ở nhiệt độ $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Theo dõi sau tuần đầu tiên và tuần thứ hai, sau đó, tiến hành ghi nhận các chỉ tiêu đánh giá.

Chỉ tiêu đánh giá:

Sự phát triển của vi khuẩn: Được ước tính trên thang điểm từ 0 (không nhìn thấy chiều cao dưới kính hiển vi) đến 5 (phát triển mạnh, vi khuẩn phát triển quá mức lắng đọng trên toàn bộ bề mặt mẫu).

Khối lượng mẫu: Đĩa petri chứa mẫu được khử trùng bằng tia UV trong 15 phút, sau đó được làm sạch khỏi thạch và vi khuẩn *Bacillus sp.* bằng cách sử dụng dao mổ và gạc. Các mẫu sau đó được để trong bình hút ẩm qua đêm và sấy.

- Ảnh hưởng của nấm *Fusarium sp* đến màng polymer sinh học

Mỗi đơn vị thí nghiệm được bố trí trong đĩa petri đường kính 90 mm với chiều cao môi trường PDA là 5 mm. Môi trường thí nghiệm được khử trùng ở 121°C , 1 atm trong 20 phút. Mỗi mẫu màng được đặt vào hai đĩa petri: một đĩa petri có môi trường thí nghiệm đã được khử trùng và một đĩa petri có môi trường thí nghiệm đã được khử trùng cùng với tơ nấm *Fusarium proliferatum*. Thí nghiệm được lặp lại ba lần. Sau đó, đĩa được đặt trong tủ ủ, nhiệt độ $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Theo dõi sau tuần đầu tiên và tuần thứ hai, sau đó, tiến hành ghi nhận các chỉ tiêu đánh giá.

Chỉ tiêu đánh giá:

Sự phát triển của nấm: Được ước tính trên thang điểm từ 0 (không nhìn thấy chiều cao dưới kính hiển vi) đến 5 (phát triển mạnh, nấm *Fusarium proliferatum* phát triển quá mức lắng đọng trên toàn bộ bề mặt mẫu).

Khối lượng mẫu: Đĩa petri chứa mẫu được khử trùng bằng tia UV trong 15 phút, sau đó được làm sạch khỏi thạch và nấm bằng cách sử dụng dao mổ và gạc. Các mẫu sau đó được để trong bình hút ẩm qua đêm và sấy.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ - THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát một số yếu tố đến quá trình chiết như thời gian, nhiệt độ, tỉ lệ dung môi: nguyên liệu, pH

3.1.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian trong quá trình chiết xuất polysaccharide

Thực hiện chiết tách polysaccharide trong các khoảng thời gian: 30 phút, 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ với tỉ lệ nguyên liệu/dung môi được cố định là 1:15 (g/mL) và ở nhiệt độ chiết 80 °C đã thu được kết quả như sau:

Bảng 3.1. Kết quả khảo sát thời gian chiết polysaccharide

Thời gian (giờ)	Khối lượng bột xương rồng (g)	Khối lượng polysaccharide thô (g)	Hiệu suất chiết polysaccharide (%)	Giá trị hiệu suất trung bình (%)	Sai số ngẫu nhiên
0,5	1,01	0,12	11,9	11,3	11,3 ± 1,8
	1,00	0,10	10,0		
	1,01	0,12	11,9		
1	1,00	0,13	13,0	13,5	13,5 ± 0,8
	1,01	0,14	13,9		
	1,02	0,14	13,7		
2	1,01	0,18	17,8	17,5	17,5 ± 0,7
	1,00	0,17	17,0		
	1,02	0,18	17,6		
3	1,01	0,09	8,9	9,6	9,6 ± 1,9
	1,00	0,09	9,0		
	1,01	0,11	10,9		
4	1,01	0,07	6,9	7,6	7,6 ± 1,0
	1,00	0,08	8,0		
	1,01	0,08	7,9		

Kết quả Bảng 3.1 cho thấy thời gian chiết xuất ảnh hưởng nhiều đến hiệu suất chiết. Nếu thời gian chiết xuất ngắn, lượng polysaccharide được chiết tách ra không cao, còn khi thời gian chiết quá lâu, sẽ dẫn đến các thành phần polysaccharide bị thủy

phân làm cho hàm lượng polysaccharide thu được giảm. Khi thời gian chiết tăng từ 0,5 đến 2 giờ thì hàm lượng polysaccharide tăng cao từ 11,3% đến 17,5%. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng thời gian chiết từ 2 giờ đến 4 giờ thì hàm lượng polysaccharide được chiết tách ra giảm rõ rệt từ 17,5% xuống còn 7,6%. Như vậy, theo kết quả khảo sát thời gian chiết thì điều kiện chiết tốt nhất là tại 2 giờ. Điều này phù hợp với các công bố trước đó về thời gian chiết xuất polysaccharide [25].

3.1.2. Kết quả khảo sát nhiệt độ chiết polysaccharide

Thực hiện chiết tách polysaccharide trong khoảng thời gian được cố định là 02 giờ với tỉ lệ nguyên liệu/dung môi được cố định là 1:15 (g/mL) và ở nhiệt độ chiết là nhiệt độ phòng (30 °C), 40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C 80 °C đã thu được kết quả như được trình bày Bảng 3.2.

Bảng 3.2. Kết quả khảo sát nhiệt độ chiết polysaccharide

Nhiệt độ (°C)	Khối lượng bột xương rỗng (g)	Khối lượng polysaccharide thô (g)	Hiệu suất chiết polysaccharide (%)	Giá trị hiệu suất trung bình (%)	Sai số ngẫu nhiên
Nhiệt độ phòng (30)	1,00	0,05	5,00	5,3	5,3 ± 1,0
	1,00	0,05	5,00		
	1,00	0,06	6,00		
40	1,01	0,05	4,9	5,7	5,7 ± 1,0
	1,02	0,06	5,9		
	1,02	0,06	5,9		
50	1,01	0,08	7,9	9,6	9,6 ± 2,6
	1,01	0,10	9,9		
	1,01	0,11	10,9		
60	1,02	0,11	10,8	12,6	12,6 ± 2,7
	1,00	0,13	13,0		
	1,01	0,14	13,9		
70	1,00	0,14	14,0	13,6	13,6 ± 1,0
	1,01	0,14	13,9		
	1,01	0,13	12,9		
80	1,01	0,12	11,9	13,0	13,0 ± 1,8
	1,00	0,14	14,0		

	1,00	0,13	13,0		
90	1,01	0,10	9,9	10,3	10,3 ± 0,9
	1,01	0,11	10,9		
	1,00	0,10	10,0		

Kết quả ở Bảng 3.2 cho thấy hàm lượng polysaccharide thu được sau quá trình chiết xuất bị ảnh hưởng của nhiệt độ của quá trình chiết. Hiệu suất chiết tăng từ 5,3% lên đến 13,6% khi nhiệt độ tăng từ nhiệt độ phòng lên đến 70°C tức là tăng thêm 8,3%. Tuy nhiên khi nhiệt độ tăng từ 70°C đến 90°C thì hiệu suất thu được của polysaccharide giảm từ 13,6% xuống 10,3%. Nhiệt độ tăng làm hệ số khuếch tán tăng do đó lượng chất khuếch tán cũng tăng. Hơn nữa khi nhiệt độ tăng thì độ nhớt của dung môi sẽ giảm, điều này tạo điều kiện thích hợp cho quá trình tách chiết polysaccharide. Nhưng nếu nhiệt độ tăng quá cao thì polysaccharide sẽ bị trương nở, và độ nhớt của nó sẽ tăng lên gây khó khăn trong quá trình chiết xuất. Vì vậy, tại nhiệt độ 70°C thì cấu trúc tế bào bị phá vỡ nhiều nhất, tại nhiệt độ này thu được lượng polysaccharide nhiều nhất. Kết quả khảo sát thực nghiệm phù hợp với nghiên cứu trước đó [43].

3.1.3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi trong quá trình chiết xuất polysaccharide

Ngoài chịu ảnh hưởng bởi các thông số như thời gian chiết và nhiệt độ chiết thì hiệu suất chiết còn bị ảnh hưởng bởi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi.

Thực hiện chiết tách polysaccharide trong khoảng thời gian được cố định là 02 giờ với nhiệt độ chiết là nhiệt độ 70 °C, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi ở 1/5, 1/10, 1/15, 1/20, 1/30 (mg/L) đã thu được kết quả như được trình bày Bảng 3.3.

Bảng 3.3. Kết quả khảo sát tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết polysaccharide

Tỉ lệ nguyên liệu/dung môi (g/mL)	Khối lượng bột xương rồng (g)	Khối lượng polysaccharide thô (g)	Hiệu suất chiết polysaccharide (%)	Giá trị hiệu suất trung bình (%)	Sai số ngẫu nhiên
1/5	1,01	0,04	3,9	3,3	3,3 ± 0,9
	1,00	0,03	3,0		
	0,99	0,03	3,0		

1/10	1,02	0,11	10,8	10,3	10,33 ± 0,8
	1,00	0,10	10,0		
	1,00	0,10	10,0		
1/15	1,01	0,14	13,9	15,0	15,0 ± 1,8
	1,00	0,15	15,0		
	1,00	0,16	16,0		
1/20	1,01	0,14	13,9	14,6	14,7 ± 1,0
	1,00	0,15	15,00		
	1,00	0,15	15,00		
1/30	1,01	0,14	13,9	14,0	14,0 ± 1,7
	1,00	0,13	13,00		
	1,00	0,15	15,00		

Bảng 3.3 cho thấy tỷ lệ nguyên liệu/dung môi có ảnh hưởng rất lớn đối với hiệu suất chiết xuất polysaccharide. Kết quả chỉ ra rằng khi lượng dung môi tăng theo tỷ lệ 1/5 đến 1/15 (g/mL) thì hiệu suất chiết tăng rõ rệt từ 3,3% lên 15,0%. Tuy nhiên, khi lượng dung môi tăng theo tỷ lệ nguyên liệu/dung môi từ 1/15 đến 1/30 thì hiệu suất chiết tách polysaccharide không biến đổi nhiều từ 15% xuống 14%. Lượng dung môi càng cao thì càng giúp gia tăng sự khuếch tán của polysaccharide từ nguyên liệu qua dung môi là nước. Tuy vậy, lượng dung môi cao sẽ làm hao tổn dung môi và khó khăn trong quá trình tinh chế về sau do đó không có hiệu quả kinh tế. Kết quả xác định tỷ lệ nguyên liệu/dung môi bằng 1/15 là phù hợp nhất.

3.1.4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của pH trong quá trình chiết xuất polysaccharide

Thực hiện chiết tách polysaccharide trong khoảng thời gian được cố định là 02 giờ, ở nhiệt độ chiết là nhiệt độ 70 °C, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi ở 1/15 (mg/L) và pH chiết xuất polysaccharide tại các pH bằng chlohydric acid là 1, 2, 3, 4, 5, 6. đã thu được kết quả như được trình bày Bảng 3.4.

Bảng 3.4. Kết quả khảo sát pH chiết xuất polysaccharide

pH	Khối lượng bột xương rỗng (g)	Khối lượng polysaccharide thô (g)	Hiệu suất chiết polysaccharide (%)	Giá trị hiệu suất trung bình (%)	Sai số ngẫu nhiên
1	1,01	0,12	11,9	11,3	11,3 ± 1,8

	1,00	0,10	10,0		
	1,01	0,12	11,9		
2	1,00	0,13	13,00	13,5	13,67 ± 0,8
	1,01	0,14	13,9		
	1,02	0,14	13,7		
3	1,00	0,15	18,0	17,6	17,7 ± 1,2
	1,01	0,17	16,8		
	1,00	0,18	18,0		
4	1,00	0,09	9,0	9,0	9,0 ± 0,0
	1,01	0,09	9,0		
	1,00	0,09	9,0		
5	1,00	0,07	7,0	7,7	7,7 ± 1,0
	1,00	0,08	8,0		
	1,00	0,08	8,0		
6	1,00	0,11	11,00	11,00	11,00 ± 1.7

Kết quả Bảng 3.4 cho thấy hiệu suất chiết polysaccharide cao nằm trong vùng pH acid với pH = 3, giống với kết quả nghiên cứu của Joye và các cộng sự [44]. Trong môi trường acid các liên kết của polysaccharide trong thành tế bào dễ bị phá vỡ do đó polysaccharide được chiết tách ra dễ dàng. Thể hiện là tại pH bằng 3 hiệu suất chiết tách polysaccharide thu được là cao nhất (17,6%) và tại các pH thấp hơn (pH bằng 1 và 2) thì các chuỗi liên kết trong chuỗi polygalacturonic acid có thể bị cắt đứt mạch dẫn đến giảm hiệu suất, hiệu suất thu được lần lượt là 11,3% và 13,5%.

3.1.5. Kết quả chiết tách và tinh chế polysaccharide

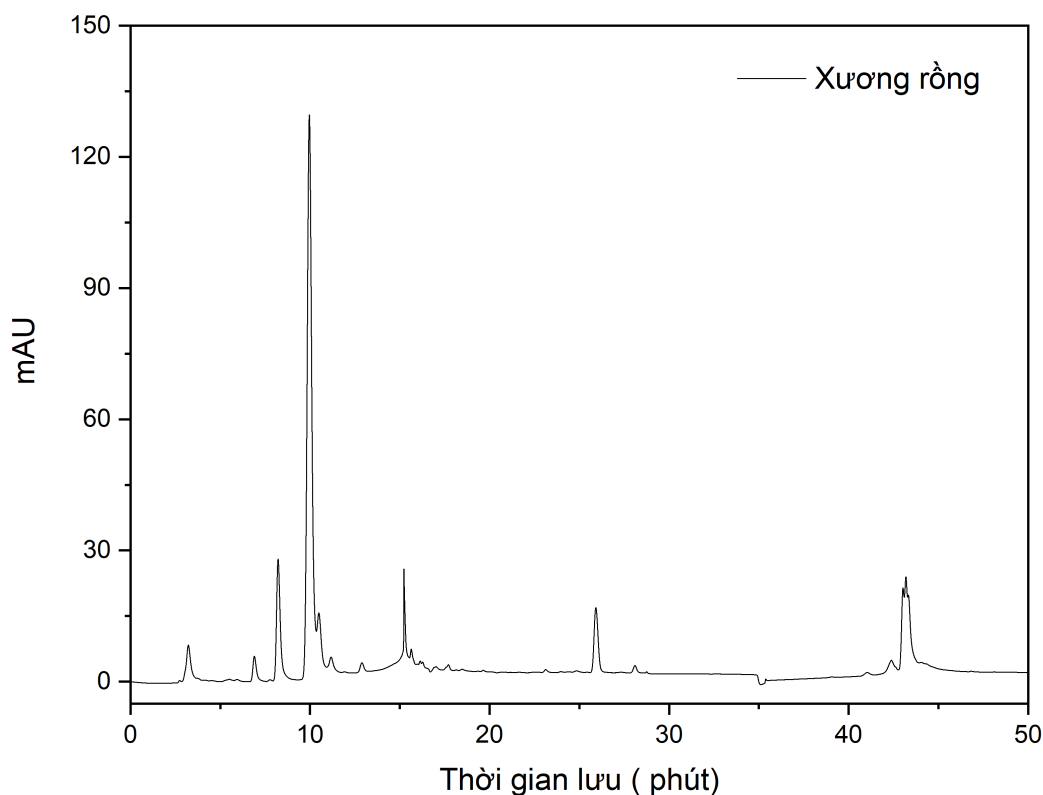
Kết quả Bảng 3.1, 3.2, 3.3 và 3.4 cho thấy hàm lượng polysaccharide thu được cao nhất (17,7%) khi polysaccharide được chiết xuất trong môi trường nước nóng tại nhiệt độ 70°C, trong thời gian chiết là 2 giờ với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/15 (g/mL). Hàm lượng polysaccharide của cây xương rồng *Opuntia dillenii* được công bố của tác giả Kalegowda và các cộng sự (2017) cho thấy rằng chiết xuất polysaccharide từ nhánh cây tươi thì hiệu suất thu được là 6,2% [20]. Ngoài ra hàm lượng polysaccharide được chiết xuất từ ruột quả của xương rồng *Opuntia dillenii* khi chiết tách bằng nước nóng đạt được 13,36 ± 0,71% theo nghiên cứu của Yu-Lu Han và các cộng sự (2016) [45]. Tuy nhiên, các loại xương rồng khác như *O. cochenillifera*, hiệu suất polysaccharide thu được khi sử dụng nguyên liệu khô là 20-30% tùy theo nhiệt độ

chiết xuất [46]. Có thể giải thích rằng sự khác biệt về loài, bộ phận tách chiết và nguyên liệu chiết ban đầu gây ra sự khác biệt về hiệu suất chiết polysaccharide trong cây xương rồng. Đồng thời, hàm lượng polysaccharide có trong cây bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như điều kiện khí hậu sinh trưởng, độ tuổi của xương rồng, thời gian thu hoạch và điều kiện chăm sóc. Ngoài ra, điều kiện và phương pháp kỹ thuật chiết tách cũng đóng một phần quan trọng vào kết quả này.

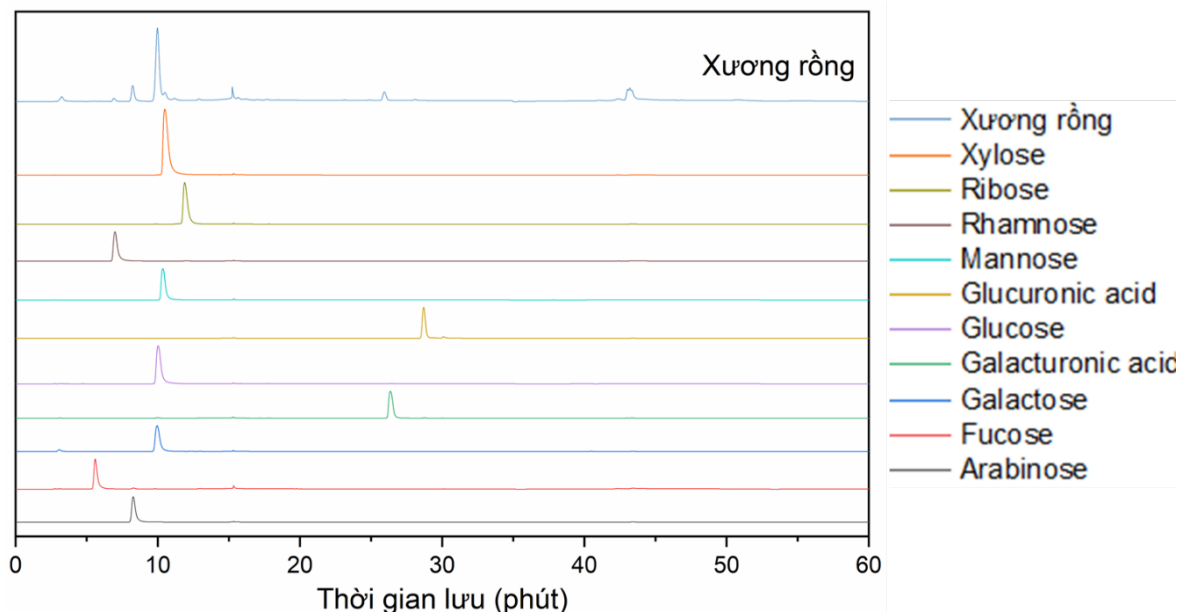
Quá trình tinh chế polysaccharide bằng cách loại bỏ protein theo phương pháp của Sevag cũng thu được hàm lượng polysaccharide là 7,9%. Lượng polysaccharide còn lại thu được sau khi loại bỏ protein là gần một phần hai so với lúc đầu vì trong quá trình loại bỏ protein thì quá trình hòa tan của các polysaccharide có trọng lượng phân tử thấp trong nước nóng đã dẫn đến sự hao hụt này. Điều này xảy ra vì polysaccharide có trọng lượng phân tử thấp dễ dàng hòa tan vào trong nước.

3.2. Xác định một số tính chất của polysaccharide chiết từ xương rồng *O. dillenii* như: các thành phần đường đơn, hàm lượng đường khử, hàm lượng đường tổng, độ trương nở

3.2.1. Kết quả xác định đường đơn bằng hệ thống sắc ký trao đổi ion hiệu năng cao HPAEC-PAD



Hình 3.1. Sắc ký đồ xác định thành phần đường đơn của mẫu xương rồng



Hình 3.2. Thành phần các loại đường đơn trong mẫu xương rồng được xác định bằng phân tích HPAEC-PAD. Đường được định danh dựa vào việc so sánh thời gian lưu của peak so với peak đường chuẩn.

Bảng 3.5. Kết quả thành phần các loại đường đơn trong mẫu polysaccharide xương rồng

STT	Thành phần	Thời gian lưu	Diện tích	Phần trăm, %
1	-	3,2084	2,66414	3,25
2	Fucose	5,927	0,13965	0,17
3	Rhamnose	6,8905	1,35082	1,65
4	Arabinose	8,2557	7,28897	8,90
5	Galactose + glucose	9,93204	39,41857	48,14
6	Xylose	10,5009	5,02755	6,14
7	-	15,2049	4,68399	5,72
8	Galacturonic acid	25,9861	6,28212	7,67
9	Glucuronic acid	28,0913	1,26197	1,54
10	-	43,1992	13,75822	16,80
Tổng			81,87600	

Kết quả phân tích thành phần đường đơn như hình 3.1 và bảng 3.5 cho thấy có 8 loại đường đơn được tìm thấy trong mẫu polysaccharide xương rồng; ngoài ra, còn có 3 loại đường chưa được xác định do không có chất chuẩn đối chiếu. Trong đó, galactose và glucose chiếm hàm lượng đáng kể (>45 %), trong khi đó galacturonic acid được xem là thành phần đường chính chỉ chiếm 7,67 %. Glucose này có thể có

nguồn gốc từ các non-pectic polysaccharide hoặc là phần còn lại của đường hòa tan chưa được loại bỏ hoàn toàn trong quy trình làm sạch mẫu ban đầu [58]

3.2.2 Kết quả hàm lượng đường khử và đường tổng có trong polysaccharide

Sau khi tiến hành xác định hàm lượng đường tổng có trong polysaccharide, thu được bảng kết quả sau:

a. Hàm lượng đường tổng

Bảng 3.6. Kết quả hàm lượng đường có trong 100 mL bình định mức

Glucosa (mg)	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4
	7,11	7,11	7,20	7,11

Bảng 3.7. Kết quả hàm lượng đường có trong mẫu ban đầu

Glucosa (mg)	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4
	71,11	71,11	72,00	71,11

Bảng 3.8. Kết quả hàm lượng đường tổng có trong 1g tủa

Glucosa (mg)	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4
	474,06	474,065	480,00	474,06
Trung bình	$\bar{x} = 475,54$ (mg)			

b. Hàm lượng đường khử

- Xác định hàm lượng đường khử trong polysaccharide

Theo phương pháp Luff-Schoorl, kết quả cho thấy không phát hiện được hàm lượng đường khử.

- Xác định hàm lượng đường khử trong dịch chiết ethanol

Bảng 3.9. Kết quả hàm lượng đường có trong 100 mL bình định mức

Glucosa (mg)	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4
	7,46	7,20	7,46	7,33

Bảng 3.10. Kết quả hàm lượng đường có trong 2,28g cao ethanol

Glucosa (mg)	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4
	334,43	315,789	334,43	321,49

Bảng 3.11. Kết quả hàm lượng đường khử có trong 1g bột xương rồng khô

Glucoza (mg)	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4
	16,94	16,00	16,94	16,29
Trung bình	$\bar{x} = 16,54$ (mg/g)			

Hàm lượng đường tổng có trong 1g tủa được xác định theo phương pháp chuẩn độ Luff-Schoorl được thể hiện trong Bảng 3.8. Kết quả trên cho thấy hàm lượng đường tổng trung bình đạt được 475,54 (mg/g) tức là hiệu suất thủy phân đường tổng có trong tủa đạt được khoảng 47,55 %. Kết quả trên cũng cho thấy khả năng thủy phân polysaccharide vẫn chưa đạt được hiệu suất cao nhất.

Hàm lượng đường khử được xác định không có trong polysaccharide. Điều này có thể được giải thích bởi vì đường khử đã bị loại bỏ trong quá trình chiết xuất polysaccharide đi qua nhiều bước.

Vì vậy, khi tiến hành xác định hàm lượng đường khử có trong cao chiết Ethanol từ bột xương rồng khô, ta có hàm lượng đường khử trong cao chiết này đạt được $16,54 \pm 0,76$ (mg/g) (Bảng 3.11). Khi so sánh với công bố của tác giả Võ Thị Mai Hương và các cộng sự về hàm lượng đường khử có trong loài xương rồng chiếm từ 0,213 đến 0,990 g/100g [16], thì hàm lượng đường khử vẫn nằm trong khoảng được công bố. Hàm lượng đường khác nhau phụ thuộc vào độ tuổi của cây xương rồng (non, già), bộ phận tiến hành xác định (ruột hay vỏ). Ngoài ra, hàm lượng đường còn phụ thuộc vào thời gian thu hoạch, điều kiện khí hậu sinh trưởng và kỹ thuật tách chiết và phương pháp xác định hàm lượng đường.

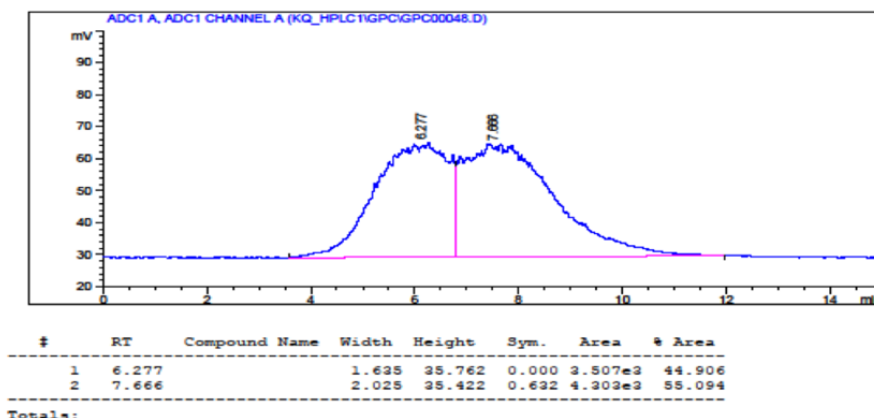
3.2.3 Kết quả xác định trọng lượng phân tử của polysaccharide

Trọng lượng phân tử polysaccharide được xác định bằng phương pháp GPC cho kết quả là 14.095 – 136.192 Da. Kết quả này cho thấy khối lượng phân tử trung bình khá nhỏ hơn so với nghiên cứu của Kalegowda ($1,9 \times 10^3$ kDa) [20]. Tuy nhiên, kết quả này vẫn nằm trong phạm vi trọng lượng phân tử được công bố của Espino- Días là từ $2,4 \times 10^4$ đến $4,3 \times 10^6$ (Da) [1] do hàm lượng của từng loại đường có trong polysaccharide khác nhau, sự khác biệt về điều kiện sinh sống, chăm sóc, thời gian thu hoạch cũng có thể ảnh hưởng đến sự thay đổi trọng lượng phân tử của polysaccharide thu được. Và với trọng lượng phân tử nhỏ, mẫu polysaccharide đã được tinh chế nên có thể xác định polysaccharide trong xương rồng *O. dillenii* là pectin.

TT	Tên mẫu	Kết quả MW (Da)	
1.	PXR	Peak 1	136,192
		Peak 2	14,095

PXR: Polysaccharide Xương Rồng

Hình 3.3: Kết quả GPC xác định trọng lượng phân tử của polysaccharide xương rồng



Hình 3.4: Sắc ký đồ GPC xác định trọng lượng phân tử của polysaccharide

3.2.4 Kết quả độ trương nở của polysaccharide trong nước

Độ trương nở của polysaccharide trong nước được thể hiện ở Bảng 3.18.

Bảng 3.12. Kết quả độ trương nở của polysaccharide trong nước

	Lần 1	Lần 2	Lần 3
Khối lượng mẫu (g)	0,0132	0,0119	0,0123
Khối lượng sau trương nở (g)	0,1373	0,1201	0,1439
Độ trương nở (lần)	10,40151515	10,092436975	11,6918699
Trung bình	$\bar{x} = 10.72860734$ (lần)		

Kết quả ở Bảng 3.12 cho thấy độ trương nở của polysaccharide trong nước trung bình là 10,73 lần. Độ trương nở của polysaccharide là khá thấp khi so sánh với kết quả nghiên cứu của Kalegowda và các cộng sự là 20% [20].

Bảng 3.13. Kết quả độ trương nở của polysaccharide trong các pH

pH		Lần 1	Lần 2	Lần 3
1	Khối lượng mẫu (g)	0,0158	0,0192	0,0103
	Khối lượng sau trương nở (g)	0,0663	0,0747	0,0657
	Độ trương nở (lần)	4,1962025316	3,890625	6,3786407767
	Trung bình	$\bar{x} = 4,821822769$ (lần)		

3	Khối lượng mẫu (g)	0,0130	0,0116	0,0110
	Khối lượng sau trương nở (g)	0,1304	0,1050	0,0917
	Độ trương nở (lần)	10,03076923	9,051724138	8,336363636
	Trung bình	$\bar{x} = 9.139619001$ (lần)		
5	Khối lượng mẫu (g)	0,0126	0,0106	0,0103
	Khối lượng sau trương nở (g)	0,0988	0,1041	0,0954
	Độ trương nở (lần)	7,841269841	9,820754717	9,262135922
	Trung bình	$\bar{x} = 8.97472016$ (lần)		
9	Khối lượng mẫu (g)	0,0128	0,0165	0,0176
	Khối lượng sau trương nở (g)	0,1283	0,1522	0,173
	Độ trương nở (lần)	10,0234375	9,224242424	9,829545455
	Trung bình	$\bar{x} = 9.69240846$ (lần)		
11	Khối lượng mẫu (g)	0,0150	0,0124	0,0147
	Khối lượng sau trương nở (g)	0,1154	0,0957	0,0864
	Độ trương nở (lần)	7,693333333	7,717741935	5,87755102
	Trung bình	$\bar{x} = 7.096208763$ (lần)		
13	Khối lượng mẫu (g)	0,0124	0,0134	0,0140
	Khối lượng sau trương nở (g)	0,1008	0,0979	0,0867
	Độ trương nở (lần)	8,129032258	7,305970149	6,192857143
	Trung bình	$\bar{x} = 7.209286517$ (lần)		

Kết quả Bảng 3.13 nhận thấy độ trương nở của polysaccharide gần như giữ nguyên giá trị khi ở các pH 5 và 9 so với độ trương nở trong nước. Tuy nhiên nó sẽ không trương nở tốt khi pH quá cao (pH=11 và 13) và khi pH quá thấp (pH = 1). Điều này có thể được giải thích là vì polysaccharide bị cắt mạch và bị phá hủy cấu trúc trong môi trường acid và kiềm mạnh.

3.3. Nghiên cứu khả năng tạo màng polysaccharide (pectin) chiết xuất từ xương rồng và màng phối trộn với một số hợp chất khác

3.3.1. Tạo màng pectin, chitosan (PT/CTS):

Kết quả tạo màng từ pectin phối hợp với chitosan được thể hiện ở Bảng 3.14 dưới đây:

Bảng 3.14. Kết quả tạo màng pectin, chitosan

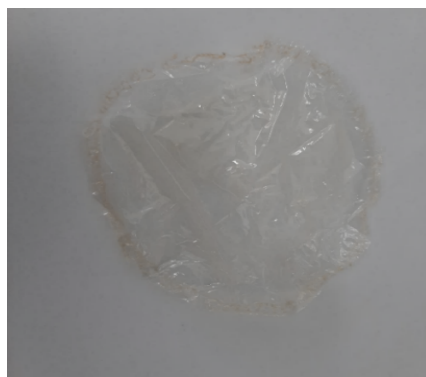
Ký hiệu mẫu	Tỉ lệ phối trộn Pectin : Chitosan	Chất hóa dẻo	Kết quả
PT/CTS 1:4	1:4	Glycerol	Tạo màng tốt, khả năng đàn hồi tốt hơn các tỷ lệ còn lại, trong suốt, ít ánh vàng hơn, không hút ẩm (Hình 3.5)
PT/CTS 2:3	2:3	Glycerol	Tạo màng tốt, độ đàn hồi tốt, ít ánh vàng, trong suốt, không hút ẩm (Hình 3.6)
PT/CTS 3:2	3:2	Glycerol	Tạo màng khó tách, màu vàng nhạt, không đục, không hút ẩm, dễ rách.
PT/CTS 4:1	4:1	Glycerol	Tạo màng khó tách, màu vàng, không đục, độ đàn hồi kém, không bị hút ẩm, giòn.

Kết quả ở bảng 3.14 cho thấy màng có tỷ lệ pectin càng cao màng có độ dính và khó tách, về cảm quan cũng kém hơn.

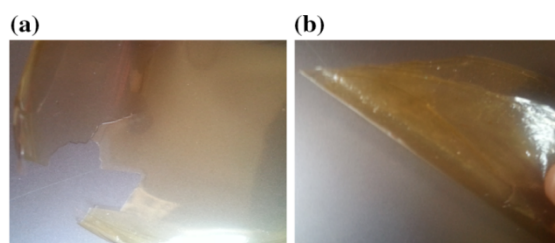
Ở tỷ lệ PT/CTS 1:4 màng pectin có những đặc điểm hơn những tỷ lệ khác về mặt cảm quan (màu sắc, độ trong suốt,...) và độ đàn hồi. Do vậy, chọn màng với tỷ lệ này để tiến hành cho những khảo sát tiếp theo.



Hình 3.5. Màng PT/CTS 1:4



Hình 3.6. Màng PT/CTS 2:3



Hình 3.7. Màng kết hợp PT/CTS của Chetouani và các cộng sự tỷ lệ 2:3 [37]
(a) chitosan hòa tan trong HCl 0,1N, (b) CTS/PT hòa tan trong acid *lactic* 2%

So sánh kết quả tạo màng dựa trên hai hình 3.6 và 3.7 có thể thấy, ở cùng tỷ lệ 2:3, màng PT/CTS trong nghiên cứu này có màu sắc và cảm quan tốt hơn. Hiện nay, có 3 loại acid được sử dụng để hòa tan chitosan gồm: lactic acid, citric acid và acetic acid. Một nghiên cứu vào năm 2020 của Elodie Melro và các cộng sự đã đưa ra rằng, hòa tan chitosan trong acetic acid mang lại nhiều đặc điểm ưu việt hơn so với 2 loại acid còn lại: tính chất cơ học khi tạo màng tốt hơn, màng tạo được mỏng nhưng đàn hồi và dẻo hơn, độ trương nở trong nước cũng ít hơn và chitosan rắn hòa tan trong acetic acid tốt hơn [50].

3.3.2. Tạo màng pectin, chitosan và PVA:

Poly vinyl alcohol (PVA) là chất keo tổng hợp đầu tiên được phát triển bởi Haehnel và Hermann năm 1924. PVA là một polymer tổng hợp ưa nước có cấu trúc zigzag bán tinh thể, phẳng và có các đặc điểm cơ học tốt. PVA có độ ổn định hóa học và nhiệt độ. PVA không độc và có khả năng tương thích sinh học, và do tính phân cực cao nên PVA có thể hòa tan tốt trong nước. Màng phân hủy sinh học có thể được sản xuất bằng PVA [51, 54].

Kết quả tạo màng pectin, chitosan và PVA được trình bày ở Bảng 3.21.

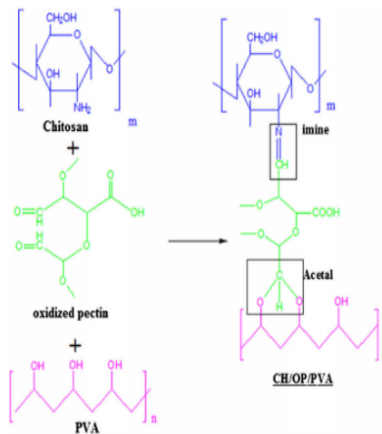
Kết quả ở Bảng 3.15 cho thấy màng P₃ tốt nhất về độ trong suốt, mềm dẻo và đàn hồi, nhưng về độ dày thì lại dày hơn các màng còn lại. Tỷ lệ PVA phối trộn càng cao thu được màng có độ linh hoạt và mềm dẻo càng tốt nhưng độ dày màng thì càng tăng [51]. Màng P₂ cho kết quả về độ dày mỏng hơn 2 loại còn lại.

Bảng 3.15. Kết quả tạo màng pectin, chitosan và PVA

Ký hiệu mẫu	Tỷ lệ phối trộn CTS/PT : PVA	Kết quả
P ₁	1:1	Tạo màng tốt, có khả năng đàn hồi, không hút ẩm, ít ánh vàng, trong suốt
P ₂	2:1	Tạo màng, độ đàn hồi kém nhất, không

		hút ẩm, ánh vàng đục
P ₃	1:2	Tạo màng tốt, khả năng đàn hồi tốt, không hút ẩm, trong suốt ít ánh vàng nhất

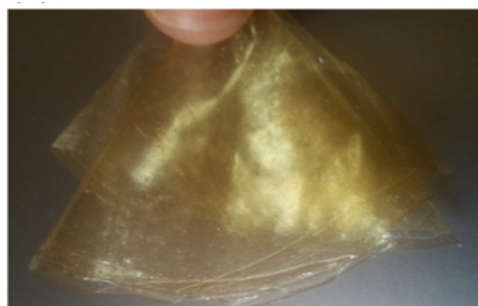
Do có tính dẻo dai nên khi thêm một lượng PVA vào phối trộn, PVA giúp màng tăng độ dẻo dai, đàn hồi, có thể gấp lại được. So sánh với hình 3.7 từ nghiên cứu của Chetouani và các cộng sự, màng được đổ trong báo cáo này ở hình 3.9 vẫn cho kết quả tốt hơn về màu sắc.



Hình 3.8. Công thức đề xuất liên kết được tạo thành giữa chitosan, pectin, PVA [38]



Hình 3.9. Màng CTS/PT (4:1) và PVA (P₃)

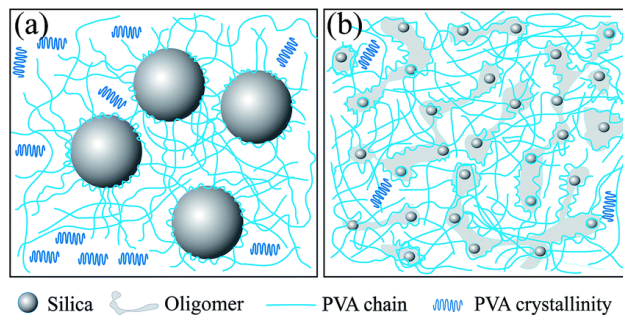


Hình 3.10. Màng CTS/PT (3:2) và PVA trong dung dịch acid lactic 2% [38]

3.3.3. Tạo màng pectin, chitosan, PVA và oxit:

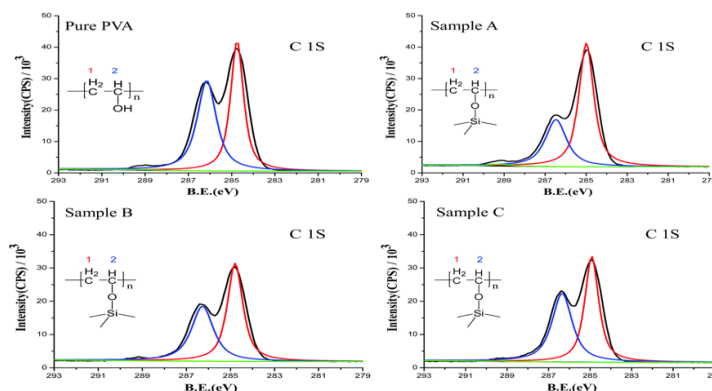
Thời gian gần đây, SiO₂ được sử dụng phổ biến để phối trộn với các loại polymer để tăng cường khả năng ổn định nhiệt, chống bức xạ và các tính chất cơ học khác.

Ngoài ra, các nghiên cứu cũng đã chứng minh rằng SiO₂ và PVA có thể liên kết với nhau để tạo ra một vật liệu tổng hợp composite khắc phục được nhược điểm không ưa nước của PVA. Sự tương tác giữa các phân tử PVA và SiO₂ được chứng minh rằng có sự suy yếu của đỉnh C-OH và sự hình thành của đỉnh Si-O-C trong kết quả XPS [53].



Hình 3.11. Hình ảnh thể hiện tương tác giữa silica và PVA [53]

Bên cạnh SiO₂, ZnO cũng đã được quan tâm từ lâu với những đặc tính nổi bật: xúc tác quang tốt, độ ổn định cao và đặc tính kháng khuẩn tốt, không gây độc. Cả ZnO và chitosan đều có hoạt tính kháng khuẩn tốt, nên việc kết hợp này giúp màng tạo ra có khả năng kháng khuẩn cao. Do mang điện tích dương, chitosan và ZnO có thể liên kết với bề mặt tế bào tích điện âm bằng cách sử dụng liên kết tĩnh điện. Việc kết hợp các ion kim loại hoặc polymer cation vào chitosan để thúc đẩy tương tác ion với các thành phần tích điện âm của màng tế bào vi khuẩn gần đây cũng rất được quan tâm [23].



Hình 3.12. Bản quét XPS thể hiện sự liên kết giữa PVA và silica [53]

Bảng 3.16. Kết quả tạo màng pectin, chitosan, PVA và oxit kim loại

Ký hiệu mẫu	Tỉ lệ phối trộn PT/CTS : PVA	Oxit	Kết quả
P ₁ SiO ₂ 0,05 %	1:1	SiO ₂	Đàn hồi tốt, mỏng, trong suốt, không nhót, không dính, bề mặt láng
P ₁ SiO ₂ 0,1 %	1:1	SiO ₂	SiO ₂ không phân tán hết, bị lắng, ít đàn hồi
P ₁ SiO ₂ 0,3 %	1:1	SiO ₂	SiO ₂ không phân tán hết, bị lắng, dày, ít đàn hồi
P ₂ SiO ₂ 0,05 %	2:1	SiO ₂	Đàn hồi tốt, mỏng, không dính
P ₂ SiO ₂ 0,1 %	2:1	SiO ₂	SiO ₂ không phân tán hết, bị lắng, ít đàn hồi
P ₂ SiO ₂ 0,3 %	2:1	SiO ₂	SiO ₂ không phân tán hết, bị lắng, ít đàn hồi
P ₃ SiO ₂ 0,05 %	1:2	SiO ₂	Co giãn tốt, đàn hồi tốt, màng mỏng
P ₃ SiO ₂ 0,1 %	1:2	SiO ₂	SiO ₂ không phân tán hết, bị lắng, ít đàn hồi
P ₃ SiO ₂ 0,3 %	1:2	SiO ₂	SiO ₂ không phân tán hết, bị lắng, ít đàn hồi
P ₁ ZnO 0,05 %	1:1	ZnO	Màng mỏng, mềm dẻo, không bị dính với nhau, không nhót, bề mặt láng mịn, không đục
P ₁ ZnO 0,1 %	1:1	ZnO	Bề mặt láng mịn, không dính, đàn hồi tốt, mỏng, không đục
P ₁ ZnO 0,3 %	1:1	ZnO	Màng không đục, không dính, đàn hồi tốt, không nhót, mỏng, bề mặt láng mịn
P ₂ ZnO 0,05 %	2:1	ZnO	Màng không đục, có ít ánh vàng, không dính, đàn hồi tốt, không nhót, mỏng, bề mặt láng mịn
P ₂ ZnO 0,1 %	2:1	ZnO	Màng không đục, có ít ánh vàng không dính, đàn hồi tốt, không nhót, mỏng, bề mặt láng mịn
P ₂ ZnO 0,3 %	2:1	ZnO	Màng không đục, không dính, đàn hồi không tốt, cứng, không

			nhớt, mỏng, bề mặt hơi nhám
P ₃ ZnO 0,05 %	1:2	ZnO	Màng không đục, không dính, độ đàn hồi tốt, không nhớt, mỏng
P ₃ ZnO 0,1 %	1:2	ZnO	Màng không đục, không dính, độ đàn hồi tốt, không nhớt, dày hơn 2 màng còn lại trong nhóm
P ₃ ZnO 0,3 %	1:2	ZnO	Màng không đục, không dính, độ đàn hồi tốt, không nhớt, mỏng

Kết quả tạo màng pectin, chitosan, PVA và oxit được thể hiện trong Bảng 3.22. Màng pectin với tỷ lệ 0,3%, 0,1% SiO₂ bị lắng trong thời gian chờ màng khô. Đối với ZnO 0,3% và 0,1% cho kết quả không phân tán hết khi phối trộn dung dịch.

Khi quan sát trực tiếp các màng, dựa trên cảm quan khi có thể thấy các màng P₁ZnO 0,05%, P₂ZnO 0,05% và P₃ZnO 0,05%; P₁SiO₂ 0,05%, P₂SiO₂ 0,05% và P₃SiO₂ 0,05% có kết quả tốt nhất: chất rắn phân tán hết trong dung dịch, không bị lắng lại trong thời gian tạo màng. Các màng ZnO có tính đồng đều tốt hơn, không có sự chênh lệch quá lớn giữa các nhóm và khó phân biệt bằng mắt.

Có thể nói rằng với nồng độ 0,05%, cả SiO₂ và ZnO đã được tạo được liên kết với các polymer tạo màng. Điều này làm cho cấu trúc màng ổn định hơn và không có hiện tượng sa lắng. Còn với các nồng độ còn lại, có thể do lượng chất rắn lớn, dung dịch đến ngưỡng bão hòa không thể tạo ra bất kỳ liên kết bổ sung nào nên khi khuấy đều, các hạt rắn không được phân tán đều trong dung dịch và chúng sẽ lắng lại sau khi đổ màng.

3.3.4. Tạo màng pectin, chitosan, PVA và muối acetat kim loại:

Từ kết quả của mục trước, có khả năng cao là chất rắn sẽ không phân tán hết hoặc lắng lại nếu kích thước hạt vẫn còn quá lớn so với khoảng trống giữa các liên kết trong phân tử polymer tạo màng. Để ngăn chặn điều này, tiếp tục khảo sát với các muối acetat dễ hòa tan với mục tiêu mong muốn là giảm kích thước của các ion, cho phép chúng dễ dàng xen vào các liên kết giữa các polymer và thực hiện quá trình tạo màng, điều này giúp tăng thêm hoạt tính của màng sinh học [52].

Các muối acetat của kim loại đồng, canxi và kẽm cũng được khảo sát trong nghiên cứu. Kết quả tạo màng pectin, chitosan, PVA và muối acetat kim loại được thể hiện trong Bảng 3.23.

Bảng 3.17. Kết quả tạo màng pectin, chitosan, PVA và muối acetat kim loại

Ký hiệu mẫu	Tỉ lệ phối trộn CTS/PT : PVA	Muối acetat kim loại	Kết quả
P ₁ ZnAc 0,05 %	1:1	ZnAc	Mềm dẻo, không đục, dễ dính với nhau, không nhớt, đàn hồi tốt, ánh vàng, mỏng
P ₁ ZnAc 0,1 %	1:1	ZnAc	Mềm dẻo, không đục, dễ dính với nhau, không nhớt, đàn hồi tốt, ánh vàng
P ₁ ZnAc 0,3 %	1:1	ZnAc	Mỏng, mềm dẻo, đàn hồi tốt, không đục, không nhớt, dễ dính lại với nhau, ánh vàng
P ₂ ZnAc 0,05 %	2:1	ZnAc	Mềm dẻo, mỏng, không đục, ánh vàng, đàn hồi tốt, dễ dính với nhau, không nhớt
P ₂ ZnAc 0,1 %	2:1	ZnAc	Mềm dẻo, mỏng, không đục, ánh vàng, không nhớt, dễ dính lại với nhau, đàn hồi tốt
P ₂ ZnAc 0,3 %	2:1	ZnAc	Mềm dẻo, đàn hồi tốt, mỏng, không nhớt, dễ dính lại với nhau, ánh vàng, không đục
P ₃ ZnAc 0,05 %	1:2	ZnAc	Mềm dẻo, đàn hồi tốt, mỏng, không nhớt, dễ dính lại với nhau, ánh vàng, không đục
P ₃ ZnAc 0,1 %	1:2	ZnAc	Mềm dẻo, đàn hồi tốt, mỏng, không nhớt, dễ dính lại với nhau, ánh vàng, không đục
P ₃ ZnAc 0,3 %	1:2	ZnAc	Mềm dẻo, đàn hồi tốt, mỏng, không nhớt, dễ dính lại với nhau, ánh vàng, không đục
P ₁ CuAc 0,05 %	1:1	CuAc	Không dính, dẻo dai, độ đàn hồi tốt, màu xanh đặc trưng của muối đồng, pha ít màu vàng, đục, dày hơn 2 loại cùng nhóm, có bọt khí
P ₁ CuAc 0,1 %	1:1	CuAc	Không nhớt, dễ dính với nhau, màu xanh đặc trưng, không đục, dẻo dai, độ đàn hồi tốt, mỏng, có bọt khí

P ₁ CuAc 0,3 %	1:1	CuAc	Không đục, màu xanh đặc trưng, dẻo dai, không nhót, bề mặt không láng, đàn hồi kém, màng dày, có bọt khí
P ₂ CuAc 0,05 %	2:1	CuAc	Màng không nhót, dễ dính lại với nhau, ít ánh xanh, ánh vàng, độ đàn hồi tốt, dẻo dai, có bọt khí
P ₂ CuAc 0,1 %	2:1	CuAc	Màu xanh ánh vàng, không dính, không nhót, đàn hồi tốt, dẻo dai, có bọt khí
P ₂ CuAc 0,3 %	2:1	CuAc	Màu xanh đặc trưng của muối đồng, bề mặt không mịn, dẻo dai, đàn hồi kém, có bọt khí, mềm. màng dày hơn
P ₃ CuAc 0,05 %	1:2	CuAc	Ít ánh xanh, ánh vàng, không đục, mỏng, không dính, không nhót, đàn hồi tốt, mềm dẻo, có bọt khí
P ₃ CuAc 0,1 %	1:2	CuAc	Màng mỏng, mềm, đàn hồi ít, màu xanh, ít ánh vàng, có bọt khí, không đục, không dính
P ₃ CuAc 0,3 %	1:2	CuAc	Màng dày, bề mặt không mịn, đàn hồi kém, màu xanh, không đục, không nhót, có bọt khí
P ₁ CaAc 0,05 %	1:1	CaAc	Màu vàng, không đục, đàn hồi tốt, dẻo dai, không nhót, không dính với nhau
P ₁ CaAc 0,1 %	1:1	CaAc	Màu vàng, không đục, đàn hồi tốt, dẻo dai, không nhót, không dính
P ₁ CaAc 0,3 %	1:1	CaAc	Màu vàng, không đục, dẻo dai, không nhót, đàn hồi tốt, không dính
P ₂ CaAc 0,05 %	2:1	CaAc	Không dính, dẻo dai, không nhót, độ đàn hồi tốt, không đục, ánh vàng, màng dày hơn 2 màng trong nhóm
P ₂ CaAc 0,1 %	2:1	CaAc	Không dính, dẻo dai, không nhót, độ đàn hồi tốt, không đục, ánh vàng, mỏng
P ₂ CaAc	2:1	CaAc	Không dính, dẻo dai, không nhót,

0,3 %			độ đàn hồi tốt, không đục, ánh vàng, mỏng
P ₃ CaAc 0,05 %	1:2	CaAc	Không dính, dẻo dai, không nhót, độ đàn hồi tốt, không đục, ánh vàng, màng dày hơn 2 màng trong nhóm
P ₃ CaAc 0,1 %	1:2	CaAc	Không dính, không nhót, mỏng, độ đàn hồi tốt, không đục, ánh vàng
P ₃ CaAc 0,3 %	1:2	CaAc	Không dính, dẻo dai, không nhót, độ đàn hồi tốt, không đục, ánh vàng

Các màng có tỷ lệ CuAc 0,3% đều cho màng có bề mặt không mịn, và có hạt lắng lại do lượng CuAc không hòa tan hết. Khi phối trộn, có sự tạo bọt khí nhiều hơn trong dung dịch những màng CuAc 0,3%.

Các màng phối trộn CuAc có màu xanh đặc trưng của muối đồng, màu sắc của màng thay đổi từ nhạt đến đậm khi nồng độ tăng dần. Các màng được thêm CaAc cho màu có nhiều ánh vàng hơn các màng được thêm ZnAc. Tùy thuộc vào mục đích ứng dụng mà có lựa chọn phù hợp, ví dụ khi muốn tạo lớp phủ trái cây bằng dung dịch, thì với nồng độ rất nhỏ nên màu sắc không ảnh hưởng. Ngược lại, CaAc không phải lựa chọn tối ưu khi ứng dụng làm màng thực phẩm khi màu sắc của màng không đáp ứng yêu cầu.

Khi quan sát trực tiếp các màng, có thể thấy rằng các màng phối trộn với CaAc có độ dày cao nhất, sau đó lần lượt là CuAc rồi đến ZnAc. Khi phối trộn với muối kẽm acetat tạo ra các màng có độ chênh lệch về độ dày thấp nhất. Tùy thuộc vào tỷ lệ phối trộn, CaAc và CuAc tạo ra các màng có độ dày mỏng khác nhau, có thể được nhìn thấy rõ ràng trên thực quan sự khác nhau này.

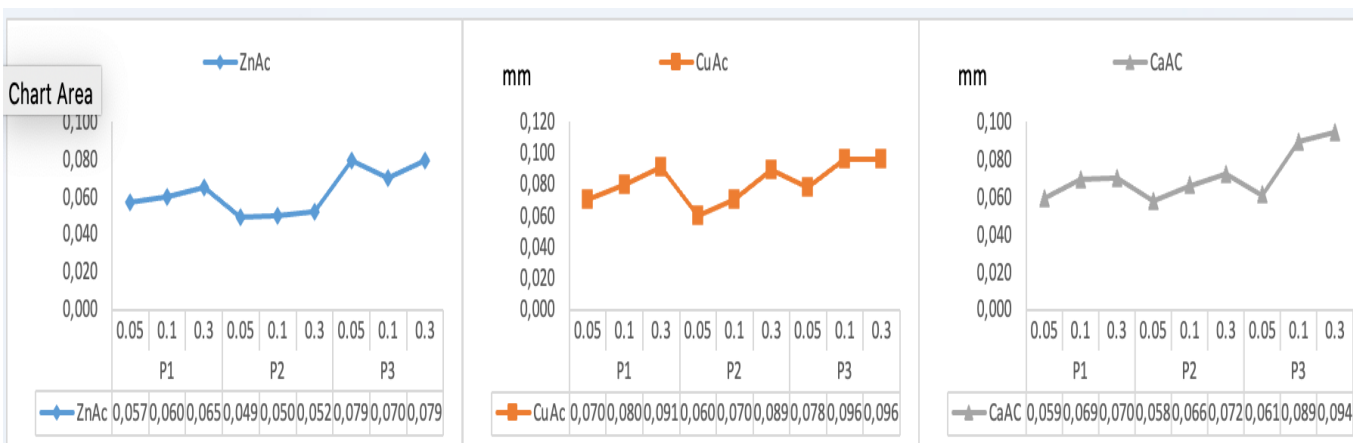
Kết quả cho thấy rằng ở nồng độ 0,1%, các màng được tạo ra cho độ dày mỏng hơn, màu sắc tốt hơn, tính mềm dẻo và tính đàn hồi tốt. So sánh các màng P₁, P₂, P₃ và các muối acetat thì màng P₂ ZnAc được đánh giá tốt nhất dựa trên độ dày và màu sắc như đã nêu ở phần trước.

3.4. Khảo sát một số đặc tính của màng như độ dày màng, độ trương nở trong nước, độ ẩm, độ bền trong dung môi, độ tan trong nước, khả năng phân hủy sinh học, khả năng kháng khuẩn

3.4.1. Xác định độ dày màng



Hình 3.13. Độ dày trung bình của màng phối trộn oxit (mm)



Hình 3.14. Độ dày trung bình của màng phối trộn muối acetat kim loại (mm)

Kết quả ở Hình 3.13 và 3.14 cho thấy màng phối trộn với oxit kim loại cho độ dày ổn định với các tỷ lệ P₁, P₂, P₃. Và màng phối trộn với ZnO cho độ dày ổn định nhất.

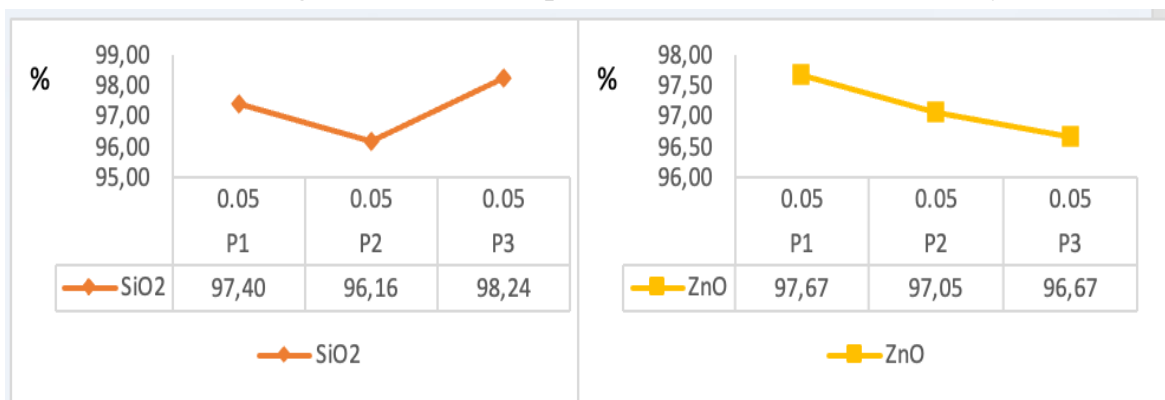
Đối với màng phối trộn với các muối acetat thì mỏng nhất là màng ở tỷ lệ P₂ và màng dày nhất ở tỷ lệ P₃. Trong đó màng dày nhất là P₃CuAc 0,3%, P₃CaAc 0,3% và P₃ZnAc 0,3%, mỏng nhất là P₂CuAc 0,058%, P₂CaAc 0,060% và P₂ZnAc 0,049%.

Sự khác nhau về độ dày của các màng có liên quan đến cấu tạo và bản chất liên kết giữa các phân tử. Màng P₂ mỏng nhất có thể được giải thích do sự hình thành nhiều liên kết giữa nhóm -NH₃⁺ của chitosan và nhóm -COOH của pectin và nhóm -OH của PVA tạo nên một mạng lưới liên kết không gian bền chặt và gọn hơn. Cấu trúc giả thuyết của màng như mô tả ở hình 3.2.

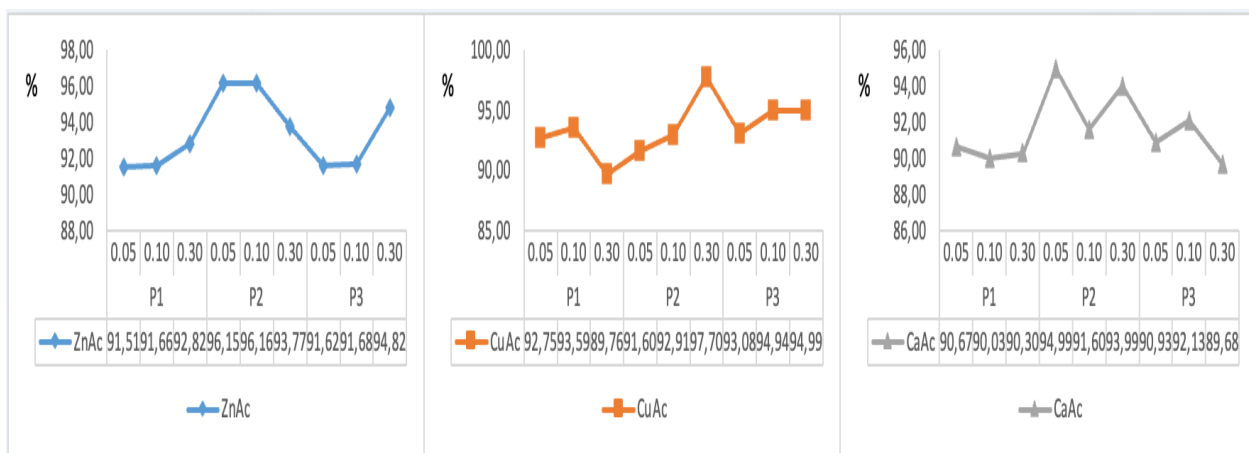
Kết quả thu được cho thấy, hàm lượng PVA càng cao thì tạo ra màng có độ dày càng cao. Ngoài ra, khi xét trong cùng một tỷ lệ P_1/ P_2 hoặc P_3 tương ứng với các tỷ lệ 0,05%, 0,1% và 0,3% thì độ dày của màng tăng khi cho vào thêm lượng chất rắn [39].

3.4.2. Xác định độ ẩm của màng

Độ ẩm của màng được thể hiện qua Hình 3.15 và 3.16 dưới đây:



Hình 3.15 Độ ẩm trong màng phối trộn oxit



Hình 3.16. Độ ẩm trong màng phối trộn muối acetat kim loại

Đối với các mẫu phối trộn với 03 loại muối thì hàm lượng ẩm trong các mẫu P_2 là cao nhất so với P_1 và P_3 , rất khó có thể so sánh giữa P_1 và P_3 , vì giá trị thể hiện gần bằng nhau. Ngược lại, với các mẫu phối trộn với oxit kim loại, mẫu P_2 cho hàm lượng ẩm cao nhất. Hàm lượng ẩm trong các màng P_2 ZnAc 0,1%, P_2 CuAc 0,3% và P_2 CaAc 0,05% là cao nhất lần lượt là: 96,15%, 97,70% và 94,99%,

Tóm lại, các màng hỗn hợp có chứa lượng ẩm đều rất cao nên khả năng chúng rất khó để hút ẩm ngược lại từ môi trường. Tính chất này có thể liên quan đến bản chất các chất tạo màng và liên kết được tạo ra trong quá trình tạo màng. Kết quả này cung cấp thêm nhiều dữ liệu trong việc lựa chọn màng tốt nhất, phù hợp nhất phục vụ nhu cầu [39].

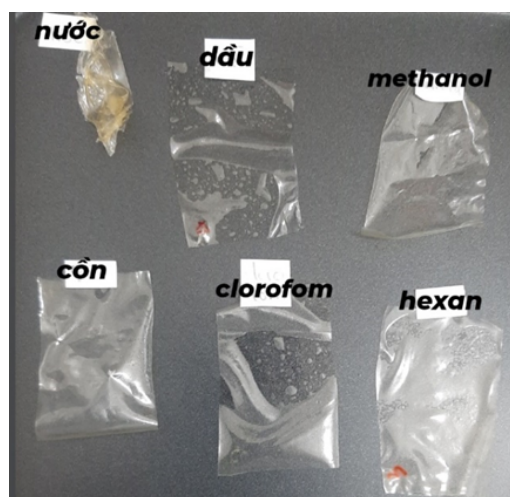
3.4.3. Khảo sát độ bền của màng trong các loại dung môi khác nhau:



Hình 3.17 Thử nghiệm khảo sát độ bền của màng P_1ZnAc 0,05% trong các loại dung môi

Kết quả ở Hình 3.17 và 3.18 cho thấy, đối với các dung môi hữu cơ thử nghiệm màng pectin được nghiên cứu bền. Riêng với dung môi là nước, màng trương nở gấp nhiều lần so với hình dạng ban đầu.

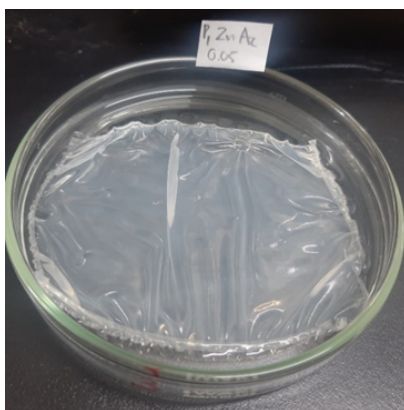
Màng pectin nghiên cứu có tiềm năng lớn trong ứng dụng phủ bảo quản trái cây vì chúng dễ dàng được rửa trôi với nước. Độ bền trong các dung môi của màng là do đặc tính đặc biệt của PVA đó là PVA tan tốt trong nước nhưng lại rất bền trong dầu, mỡ và các dung môi hữu cơ.



Hình 3.18. Thử nghiệm khảo sát độ bền của màng P_1ZnAc 0,05% trong các loại dung môi

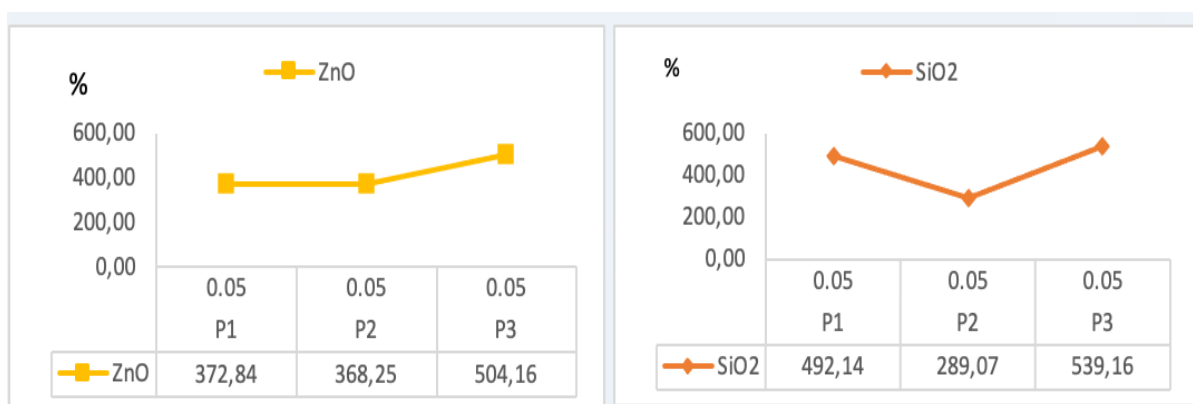
3.4.4. Xác định độ trương nở và độ tan của màng trong nước:

3.4.4.1 Xác định độ trương nở của màng trong nước

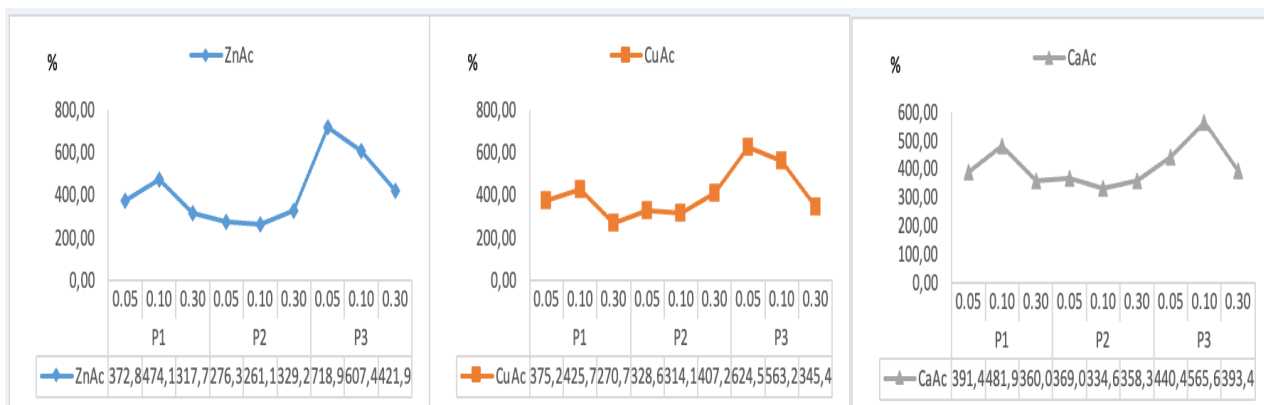


Hình 3.19. Thử nghiệm khảo sát độ trương nở của màng P₁ZnAc 0,05%

Khả năng trương nở trong nước được thể hiện qua Hình 3.20 và 3.21.



Hình 3.20. Độ trương nở của màng phối trộn oxit trong nước



Hình 3.21. Độ trương nở của màng phối trộn muối acetat trong nước

Hình 3.20 và 3.21 cho kết quả là các màng phối trộn muối acetat và oxit thì màng tỷ lệ P₂ ít trương nở trong nước nhất, màng P₃ trương nở trong nước nhiều nhất. Có thể dễ dàng nhận biết khi P₃ được phối trộn nhiều PVA nhất – mà PVA là polymer tan tốt trong nước. Ngược lại, P₂ có tỷ lệ PVA thấp nhất và lượng chitosan là cao nhất nên khả năng trương nở và tan cũng ít hơn so với hai tỷ lệ còn lại. Khả năng trương nở và tan trong

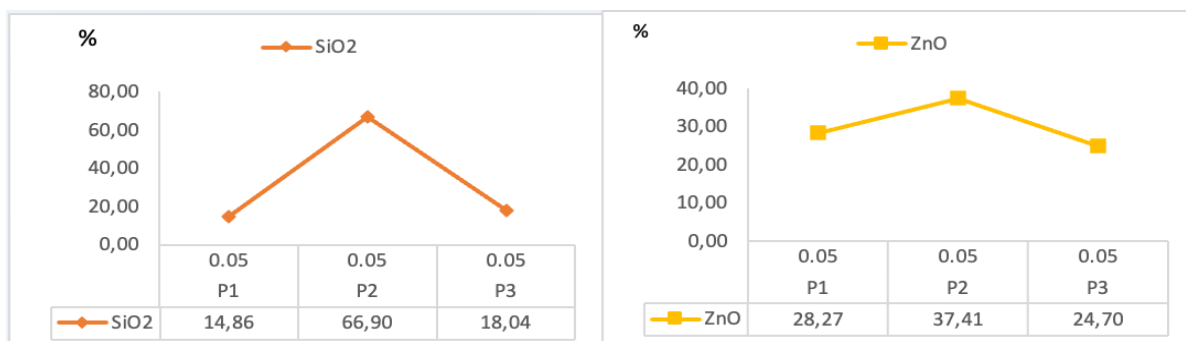
nước giảm là kết quả của việc giảm số lượng các nhóm ưa nước như –OH và –COOH của pectin và nhóm –OH của PVA. Kết quả ở phần trước cũng cho thấy độ dày của các màng P₂ là mỏng nhất.

3.4.4.2. Xác định độ tan của màng trong nước

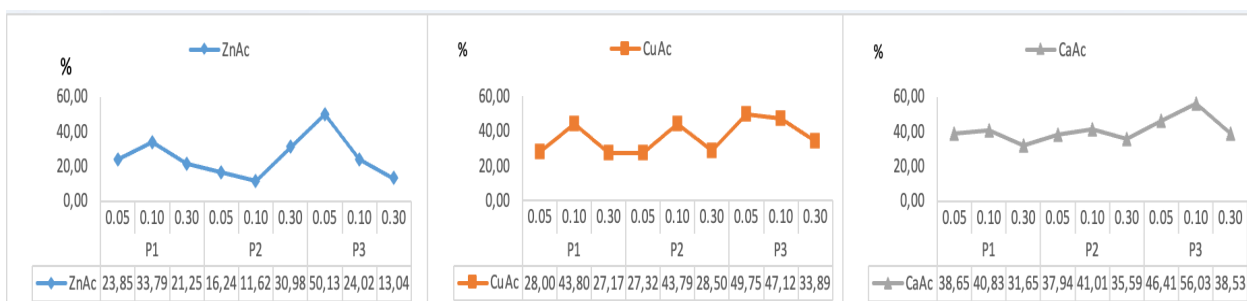


Hình 3.22. Khảo sát độ tan của P₁ZnAc 0,05% màng trong nước

Khả năng hòa tan của các màng pectin được thể hiện qua Hình 3.23 và 3.24.



Hình 3.23. Độ tan của màng phối trộn oxit trong nước



Hình 3.24. Độ tan của màng phối trộn muối acetat trong nước

Hình 3.23 và 3.24 cho kết quả là độ tan của các màng P₂ là ít nhất, nổi bật nhất là màng P₂ SiO₂ 0,05% chỉ hòa tan 3,78% và P₂ ZnAc 0,1% chỉ hòa tan 11,62%. Ngoài

những lý do đã giải thích ở mục trên, thì việc cho thêm SiO_2 và ZnAc với tỷ lệ phù hợp đã tạo ra kết quả tốt.

Điều này có thể giải thích là do SiO_2 có khả năng tạo liên kết hóa học với các polymer, do đó các liên kết này giúp kiểm soát và cải thiện những hạn chế của các polymer như tính ổn định trong cấu trúc, tính chất cơ lý,...[52].

Ngoài ra, với tỷ lệ P_2 ZnAc 0,1%, các ion Zn^{2+} tạo được liên kết với các polymer tạo màng, tạo ra nhiều liên kết trong phân tử, do đó làm giảm khả năng trương nở và độ tan trong nước của màng pectin đã được nghiên cứu [53]. Bên cạnh đó P_2 ZnO 0,05% cũng có kết quả rất đáng mong đợi và có độ tan 16,99%.

3.4.5. Khả năng phân hủy tự nhiên trong môi trường đất và phân hủy của màng dưới tác động của vi khuẩn của màng

3.4.5.1 Khả năng phân hủy tự nhiên trong môi trường đất

Khả năng phân hủy của màng trong môi trường đất được thể hiện ở Hình 3.25 và 3.26.

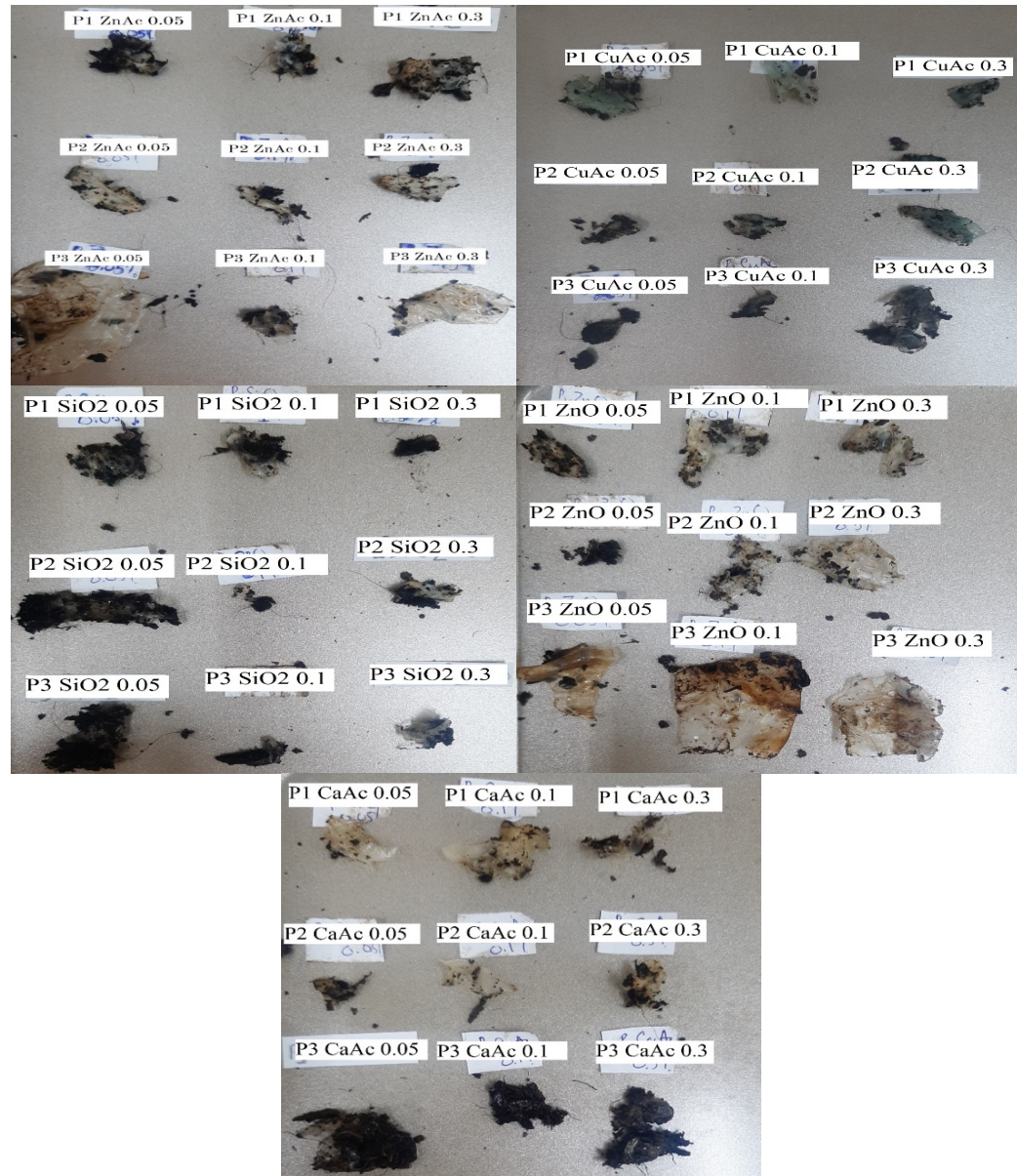


Hình 3.25. Khảo sát khả năng phân hủy của màng

Kết quả cho thấy sau 14 ngày màng P_2 có tốc độ phân hủy rất nhanh. Các mẫu có nồng độ rắn 0,1% phân hủy nhanh hơn tất cả các nồng độ khác. Hai màng P_3 ZnAc 0,05% và P_3 ZnO 0,1% là hai màng phân hủy chậm nhất và có hình dạng không thay đổi nhiều so với hình dạng ban đầu của chúng.

Chitosan và pectin được biết đến là các polymer sinh học, được ứng dụng rộng rãi nhờ vào các đặc tính nổi bật như tính tương thích sinh học cao, phân hủy sinh học tốt và không độc [54]. Tốc độ phân hủy của các màng P_2 nhanh hơn nhiều so với các màng P_1 và P_3 . Nguyên do là ngoài những tác nhân bên ngoài thì còn do trong màng P_2 có tỷ lệ của PT/CTS trong cấu trúc màng nhiều hơn so với P_1 và P_3 . Các màng trương nở khi chôn vào đất và các màng bắt đầu phân hủy dưới tác động của các vi sinh vật môi trường.

PVA với nhiều đặc tính nổi trội như tan tốt trong nước, tương thích sinh học cao, không độc với người, phân hủy sinh học. Tuy nhiên, PVA thuộc nhóm polymer vinyl được tổng hợp ra, nên khả năng phân hủy sinh học tự nhiên dựa vào môi trường và các vi sinh vật thường chậm hơn các polymer có nguồn gốc sinh học. Trong nghiên cứu của Chiellini và các cộng sự (2002), có đề cập đến khả năng phân hủy của PVA trong đất còn nhiều vấn đề cần được nghiên cứu thêm [56].

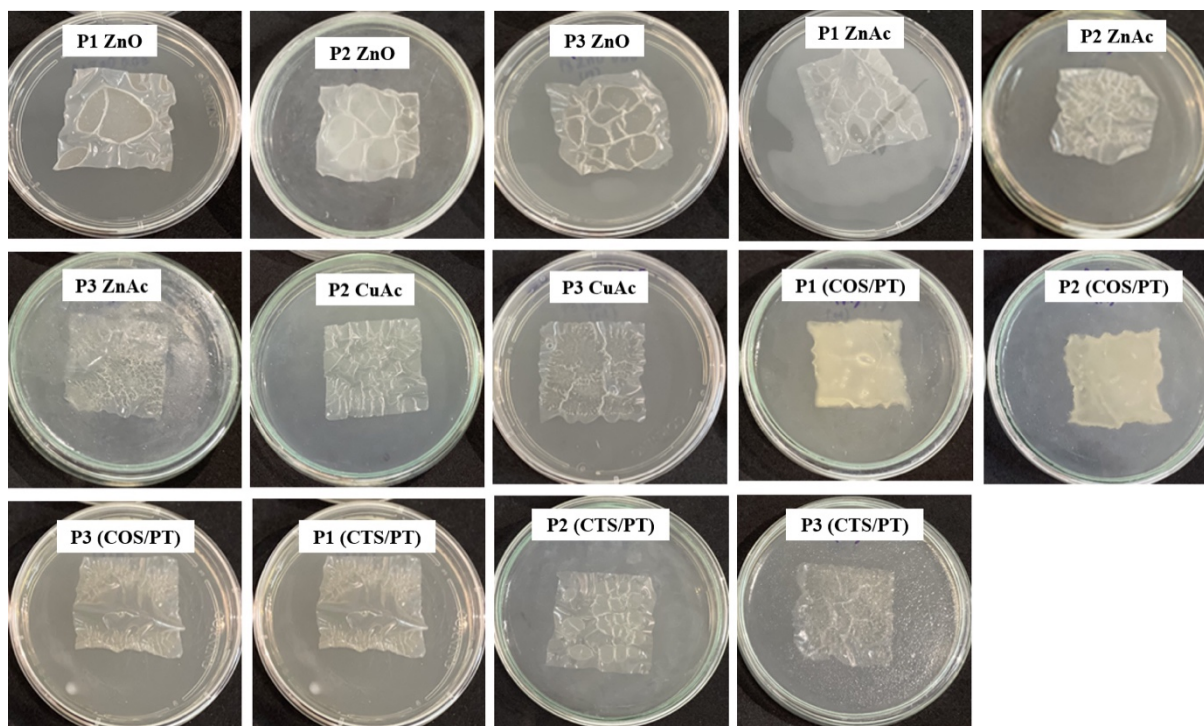


Hình 3.26. Sau 14 ngày các màng được lấy ra khỏi đất

3.4.5.2. Khả năng phân hủy của màng dưới tác động của vi khuẩn và nấm

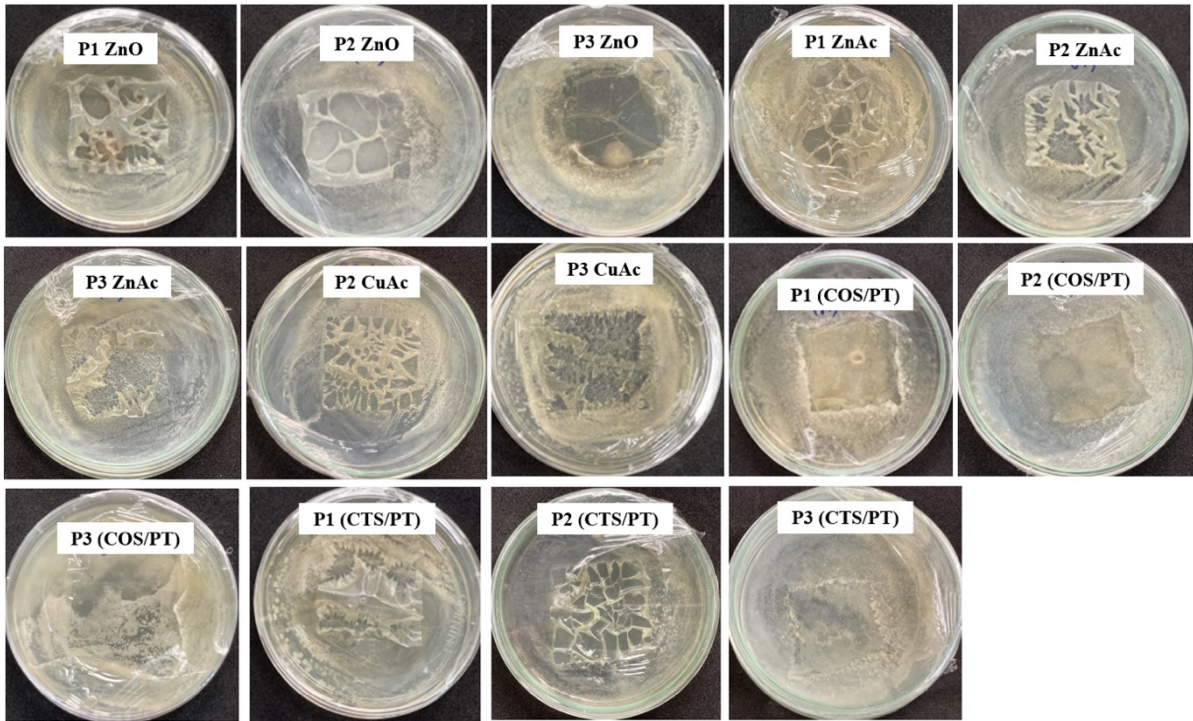
a. Sự phát triển của vi khuẩn *Bacillus sp.*

Để đánh giá ảnh hưởng của vi khuẩn *Bacillus sp.* đến màng polymer sinh học, thí nghiệm được tiến hành bằng cách đặt các mẫu màng polymer sinh học vào môi trường thí nghiệm LB lỏng có chứa vi khuẩn, sau đó đặt các đĩa petri được ủ tại nhiệt độ $24 \pm 1^\circ\text{C}$ (Hình 3.27).



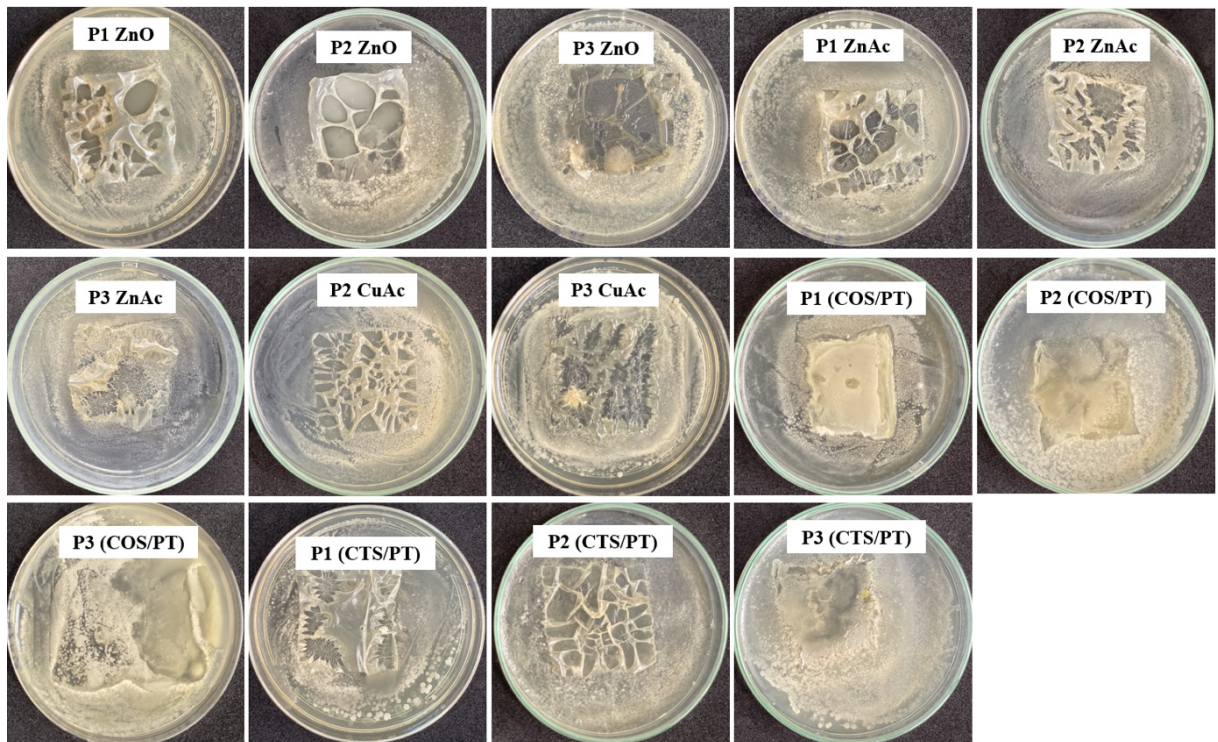
Hình 3.27. Mẫu màng polymer trên môi trường có vi khuẩn *Bacillus sp.*

Trong 14 mẫu màng thí nghiệm, sau một tuần vi khuẩn đã phủ lên mặt màng một cách đáng kể, hơn 50% diện tích (Hình 3.28).



Hình 3.28. Mẫu màng polymer trên môi trường có vi khuẩn *Bacillus* sp. sau 01 tuần thí nghiệm

Sau hai tuần, vi khuẩn đã phủ toàn bộ lên bề mặt 14 mẫu màng thử nghiệm (Hình 3.29).



Hình 3.29. Mẫu màng polymer trên môi trường có vi khuẩn *Bacillus* sp. sau 02 tuần thí nghiệm

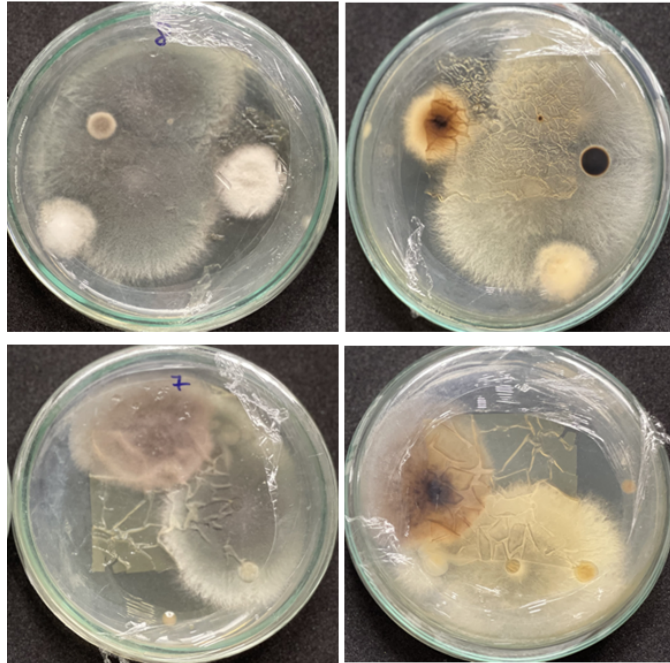
b. Sự thay đổi khối lượng của màng polymer

Để đánh giá được sự thay đổi khối lượng thì màng polymer sinh học sau hai tuần thí nghiệm được khử trùng bằng tia UV trong 15 phút, sau đó được làm sạch khỏi thạch và vi khuẩn. Các mẫu sau đó được để trong bình hút ẩm qua đêm và sấy. Kết quả sau khi sấy cho thấy khối lượng suy giảm không đáng kể, riêng mẫu P3 (COS/PT) khối lượng giảm tương đối nhiều hơn so với các mẫu khác. (Bảng 3.24).

Bảng 3.18. Khối lượng màng polymer sinh học trước và sau thí nghiệm

STT	Tên mẫu	Khối lượng trước thí nghiệm (g)	Khối lượng sau thí nghiệm (g)
1	P1 ZnO 0,05	0,13	0,12
2	P2 ZnO 0,05	0,11	0,10
3	P3 ZnO 0,05	0,12	0,10
4	P1 ZnAc 0,05	0,1	0,09
5	P2 ZnAc 0,05	0,15	0,13
6	P3 ZnAc 0,05	0,15	0,12
7	P2 CuAc 0,05	0,11	0,10
8	P3 CuAc 0,05	0,14	0,11
9	P1 (COS/PT)	0,14	0,13
10	P2 (COS/PT)	0,12	0,11
11	P3 (COS/PT)	0,14	0,10
12	P1 (CTS/PT)	0,13	0,12
13	P2 (CTS/PT)	0,12	0,11
14	P3 (CTS/PT)	0,15	0,13

b. Ảnh hưởng của nấm *Fusarium sp.* đến màng polymer sinh học



Hình 3.30. Mẫu màng polymer trên môi trường có nấm *Fusarium sp.* sau hai tuần thí nghiệm

Tương tự như thí nghiệm đối với vi khuẩn *Bacillus sp.*, sau hai tuần nấm *Fusarium sp.* phát triển toàn bộ bề mặt đĩa petri và màng polymer sinh học. Khối lượng màng polymer cũng thay đổi không đáng kể trước và sau thí nghiệm.

Kết quả thí nghiệm cho thấy, vật liệu không có khả năng kháng khuẩn trên 2 loại *Bacillus sp.* và *Fusarium sp.* thử nghiệm và các mẫu thử nghiệm cũng không bị phân hủy bởi 2 loại vi khuẩn này, trái ngược lại với kết quả quan sát trong môi trường đất khi các mẫu thử nghiệm có sự thay đổi đáng kể về kích thước, điều này có thể do các chủng này là chủng thuận, chưa phải là chủng phù hợp trong môi trường đất, cần phải tiếp tục nghiên cứu, phân lập các chủng vi sinh vật trong môi trường đất và thử nghiệm trên các màng để có kết luận chính xác hơn.

CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận:

“Nghiên cứu tạo màng sinh học polysaccharide được chiết xuất từ xương rồng (*Opuntia dillenii*) và khảo sát một số đặc tính của chúng” đã thu được các kết quả như sau:

Đã xác định được sự ảnh hưởng của thời gian, nhiệt độ, tỷ lệ dung môi: nguyên liệu, pH đến quá trình chiết. Khi chiết polysaccharide từ bột khô xương rồng trong 2 giờ tại nhiệt độ 70°C, pH=3 và với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/15 (g/mL) thì hàm lượng polysaccharide thu được tối đa là 17,6%. Sau khi loại protein thì hàm lượng polysaccharide thu được là 7,9%.

Đã xác định một số tính chất của polysaccharide chiết từ xương rồng *O. dillenii*: Hàm lượng đường tổng trung bình trong polysaccharide từ xương rồng là 475,54 (mg/g) và hàm lượng đường khử trung bình trong polysaccharide xương rồng thô là 16,54 (mg/g). Nghiên cứu quang phổ HPAEC-PAD cho thấy sự hiện diện của fucose, rhamnose, arabinose, galactose, glucose, xylose, galacturonic acid, glucuronic acid. Phân tích bằng thiết bị phân tích sắc kí lọc gel (GPC) thì trọng lượng phân tử của polysaccharide trong xương rồng khoảng từ 14.095 – 129.681 Da. Kết quả này cho phép xác định polysaccharide trong xương rồng là Pectin.

Đã khảo sát và tìm ra được tỷ lệ phối trộn thích hợp giữa pectin và các polymer đồng tạo màng, cụ thể là chitosan với tỷ lệ PT/CTS là 1:4. Đã tạo màng phối trộn giữa PT/CTS với PVA, kết quả chỉ rằng P₂ (CTS/PT : PVA 2:1) cho kết quả tốt nhất về cảm quan: độ trong suốt, màu sắc, dẻo dai, linh hoạt. Khả năng tạo màng khi có bổ sung các phụ gia khác các oxit kim loại SiO₂, ZnO và các muối acetat kim loại (CH₃COO)₂Zn, (CH₃COO)₂Ca, (CH₃COO)₂Cu cho kết quả màng trong, dẻo dai, đàn hồi tốt nhất, đáp ứng đầy đủ tiêu chí về cảm quan là P₂ ZnO 0,05% và P₂ ZnAc 0,1%.

Đã xác định các tính chất vật lý của các màng đã phối trộn, cho kết quả với tỷ lệ P₂ của các oxit và muối acetat đạt kết quả tốt nhất: ít tan, ít trương nở trong nước nhất, độ ẩm cao dễ bảo quản, mỏng nhất so với các màng hỗn hợp khác. Dựa trên những tiêu chí về cảm quan thì P₂ ZnO 0,05% và P₂ ZnAc 0,1% cho kết quả tốt nhất.

Màng polymer sinh học có khả năng phân hủy khi thử nghiệm sơ bộ trong môi trường đất, khi đặt trong các điều kiện vi khuẩn *Bacillus* sp. và nấm *Fusarium proliferatum* không có ảnh hưởng đáng kể đến sự giảm khối lượng của màng. Trong

nghiên cứu này, theo đánh giá cảm quan, màng P₃ (COS/PT) có độ bền thấp nhất, dễ vỡ khi tiếp xúc với môi trường thí nghiệm.

4.2. Kiến nghị:

Nghiên cứu thêm về khả năng phân hủy sinh học của màng.

Nghiên cứu cải thiện cơ tính của màng, cũng như là khả năng chống thấm nước, hút ẩm của màng. Mở ra nhiều hướng đi mới trong việc bảo quản thực phẩm và sản xuất bao bì.

Nghiên cứu ứng dụng màng bảo quản các thực phẩm.

Sử dụng các polymer như CMC hoặc sáp ong, nano chitosan để thay thế cho PVA tạo ra các màng với tính chất cơ lý, vật lý và sinh học đa dạng phục vụ cho nhiều ứng dụng khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Espino-Díaz, M., De Jesús Ornelas-Paz, J., Martínez-Téllez, M. A., Santillán, C., Barbosa-Cánovas, G.V., Zamudio-Flores, P.B., & Olivas, G.I. (2010) *Development and characterization of edible films based on mucilage of Opuntia ficus-indica (L.)*, Journal of food science, 75(6), E347-E352.
- [2] Lira-Vargas, A. A., Corrales-Garcia, J. J. E., Valle-Guadarrama, S., Peña-Valdivia, C.B., & Trejo-Marquez, M. A, (2014) *Biopolymerric films based on cactus (Opuntia ficus-indica) mucilage incorporated with gelatin and beeswax*, J. Prof. Assoc. Cactus 16, 51-70.
- [3] Treviño-Garza, M. Z., García, S., Heredia, N., Alanís-Guzmán, M. G., & Arévalo-Niño, K. (2017) *Layer-by-layer edible coatings based on mucilages, pullulan and chitosan and its effect on quality and preservation of fresh-cut pineapple (Ananas comosus)*, Postharvest Biology and Technology, 128: 63-75.
- [4] Olicón-Hernández, D. R., Acosta-Sánchez, Á., Monterrubio-López, R., & Guerra-Sánchez, G. (2019) *Chitosan and Opuntia ficus-indica mucilage as the base of a polymerric edible film for the protection of tomatoes against Rhizopus stolonifer*. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 22(1): 1-9.
- [5] Ngô Thị Minh Phương, Trần Thị Xô (2016) *Optimization of pectin extraction from yanang leaves and making Pectin – Alginate films*. Journal of Science and Technology, The University of Danang, Việt Nam.
- [6] Ngô Thị Minh Phương, Nguyễn Thanh Hội, Trần Thị Xô (2018) *Some properties of films based on Pectin – Carbonxymethyl Cellulose immobilized lemongrass essential oil*. Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật – Đại học Đà Nẵng, Trường Đại học Bách khoa – Đại học Đà Nẵng, Việt Nam.
- [7] Parmar; C. and Kaushal M. K. (1982) *Opuntia dillenii*. Wild Fruits, 54-57.
- [8] del Socorro Santos Díaz M., Barba de la Rosa A.P.B, Héliès-Toussaint C., Guéraud F., Nègre-Salvayre A. (2017) *Review Article Opuntia spp.: Characterization and Benefits in Chronic Diseases*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity: 1-17

- [9] Goycoolea, F. M. and Cárdenas, A. (2003) "Pectins from *Opuntia* spp.: a short review". *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 5(1): 17-29.
- [10] Ghazi, Z., Ramdani, R., Fauconnier, M.L., El Mahi, B. & Cheikh, R. (2013) *Fatty acids sterols and vitamin e composition of seed oil of Opuntia ficus indica and Opuntia dillenii from morocco*. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(6): 967-972.
- [11] Medina, E.M. Díaz, Rodríguez, EM Rodríguez, and Romero & C Díaz (2007) "Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica* fruits". *Food chemistry*, 103(1), pp, 38-45.
- [12] Huỳnh Hữu Đông (2014) Thành phần hóa sinh học của cây xương rồng gai ở Bình Thuận, *Tạp chí Khoa học công nghệ & thực phẩm*,(3): 27-33.
- [13] Wu, S. (2019) *Extending shelf-life of fresh-cut potato with cactus Opuntia dillenii polysaccharide-based edible coatings*, *International Journal of Biological macromolecules*, 130: 640-644.
- [14] González-Stuart, A. E., & Rivera, J. O. (2019) *Nutritional and therapeutic applications of prickly pear cacti*. *Bioactive food as dietary interventions for diabetes* (pp, 349-360), Academic Press.
- [15] Xie, J.H., Jin, M.L., Morris, G.A., Zha, X.Q., Chen, H.Q., Yi, Y., Li, J.E., Wang, Z.J., Gao, J., Nie, S.P., Shang, P. & Xie, M.Y (2016). *Advances on bioactive polysaccharides from medicinal plants*. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(sup1), S60-S84.
- [16] Rees, D. (1969) *Structure, conformation, and mechanism in the formation of polysaccharide gels and networks*. *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry*, 24: 267-332,
- [17] <https://en.wikipedia.org/wiki/Polysaccharide#Structure>
- [18] https://en.wikipedia.org/wiki/Polysulfated_glycosaminoglycan
- [19] Ramesh, H.P. and Tharanathan, R.N. (2003) *Carbohydrates—the renewable raw materials of high biotechnological value*. *Critical reviews in biotechnology*, 23(2): 149-173.

- [20] Kalegowda, P., Chauhan, A. S., & Urs, S. M. N. (2017) *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw cladode mucilage: Physico-chemical, rheological and functional behavior. *Carbohydrate polymers*, 157: 1057-1064.
- [21] Karawya, M.S., Wassel, G., Baghdadi, H. & Ammar, N. (1980) *Mucilages and pectins of Opuntia, Tamarindus and Cydonia*. *Planta Medica*, 40(S 1): 68-75.
- [22] Lefsih, K., Giacomazza, D., Dahmoune, F., Mangiona, R.M., Bulone, D., Lugi, P., Biagio, S., Pasantiono, R., Costa, M.A., Guarasi, V. & Madani, K. (2017) *Pectin from Opuntia ficus indica: Optimization of microwave-assisted extraction and preliminary characterization*. *Food chemistry*, 221: 91-99.
- [23] Shi, L. (2016) *Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review*. *International journal of biological macromolecules*, 92: 37-48.
- [24] Onditi, M., Bosire, G., Changamu, E. & Ngile, C. (2019) *Degradation of Rhodamine B Dye by Cactus Polysaccharide-Synthesized Silver Nanoparticles Monitored by Fluorescence Excitation-Emission Matrix (FEEM) Spectroscopy*, *Starch-Stärke*, 71(5-6): 1800127.
- [25] Tsujita, T., Takaichi, H., Takaku, T., Sawai, T., Yoshida, N. & Hiraki, J. (2007) *Inhibition of lipase activities by basic polysaccharide*. *Journal of lipid research*, 48(2): 358-365.
- [26] Đỗ, T. P. (2011) *Bước đầu nghiên cứu chế tạo vật liệu nhựa dễ phân hủy sinh học dùng để sản xuất bao bì*, Doctoral dissertation, Đại học Dân lập Hải Phòng,
- [27] Xu, Y.X., Kim, K.M., Hanna, M.A., & Nag, D. (2005) *Chitosan–starch composite film: preparation and characterization*. *Industrial crops and Products*, 21(2): 185-192.
- [28] Su, J.F., Huang, Z., Yuan, X.Y., Wang, X.Y., & Li, M. (2010) *Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions*. *Carbohydrate Polymers*, 79(1): 145-153.
- [29] Dou, L., Li, B., Zhang, K., Chu, X., & Hou, H. (2018) *Physical properties and antioxidant activity of gelatin-sodium alginate edible films with tea polyphenols*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 118: 1377-1383.

- [30] Thủy, L.T.M. (2008) *Nghiên cứu phối trộn chitosan-gelatin làm màng bao thực phẩm bao gói bảo quản phi lê cá ngừ đại dương*. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ.
- [31] Hồ Sơn Lâm, Nguyễn Thị Thu Thảo (2012) *Nghiên cứu tổng hợp Polymerr phân hủy sinh học Vinapol ứng dụng trong nông nghiệp*, STINFO, số 1&2.
- [32] Huyền, N.T.Đ., Hà, T.T.T., Cường, N.C., & Trang, N.H. (2017) *Nghiên cứu sử dụng màng bao sinh học từ dịch chiết vi khuẩn Pseudomonas putida 199B đến kháng nấm Aspergillus flavus T1 trong quá trình bảo quản hạt giống ngô*. Hue University Journal of Science: Agriculture and Rural Development, 126(3C): 101-112.
- [33] Thị Ni Na Lâm (2019) *Nghiên cứu chế tạo màng polymer trên cơ sở chitosan và poly (vinyl alcohol)*, Trường Đại học Bách khoa-Đại học Đà Nẵng,
- [34] Dương Thế Hy (2020) *Chế tạo và xác định đặc tính màng phân hủy sinh học trên cơ sở poly vinyl alcohol và chitosan*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Đà Nẵng, 18
- [35] Scognamiglio, F., Gattia, D.M., Roselli, G., Persia, F., De Angelis, U., & Santulli, C. (2020) *Thermoplastic Starch (TPS) Films Added with Mucilage from Opuntia Ficus Indica: Mechanical, Microstructural and Thermal Characterization*. Materials, 13(4): 1000.
- [36] Ngô Thị Minh Phương (2016) *Nghiên cứu thu nhận, biến tính Pectin từ các nguồn thực vật tại khu vực miền Trung – Tây Nguyên và ứng dụng tạo màng bao bảo quản xoài, gừng*, Đề tài khoa học và công nghệ cấp Đại học Đà Nẵng, Đại học Đà Nẵng, Việt Nam.
- [37] Chetouani, A., Elkolli M., Bounekhel, M., Benachour, D. (2017) *Chitosan/oxidized pectin/PVA blend film: mechanical and biological properties*. Polymer Bulletin. 74 (10): 4297-4310.
- [38] Velickova, E., Winkelhausen E., Kuzmanova, S., Vitor D. Alves, Moldão-Martins, M., (2013) *Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (Fragaria ananassa cv Camarosa) under commercial storage conditions*, LWT - Food Science and Technology, 52 (2): 80-92.

- [39] Ngô Thị Minh Phương, Trần Thị Ngọc Linh, Phạm Việt Tý (2016) "*Nghiên cứu thu nhận, biến tính Pectin từ các nguồn thực vật tại khu vực miền Trung-Tây Nguyên và ứng dụng tạo màng bảo quản xoài, gừng*".
- [40] Farhan, A. & Mohd Hani, N. (2017) *Characterization of edible packaging films based on semi-refined kappa-carrageenan plasticized with glycerol and sorbitol*, Food Hydrocolloids 64: 48-58.
- [41] Bierhalz, A.C.K. & da Silva, M. A. (2012) "*Natamycin release from alginate/pectin films for food packaging applications*", Journal of Food Engineering 110 (1): 18-25.
- [42] Bajer D., Janczak K. & Bajer K. (2020) *Novel Starch/Chitosan/Aloe Vera Composites as Promising Biopackaging Materials*, Journal of Polymers and the Environment, 28: 1021–1039.
- [43] Tang, Zhonghai, et al., (2011) *Optimization of the technology of extracting water-soluble polysaccharides from Morus alba L, leaves*. African Journal of Biotechnology, 10(59): 12684-12690.
- [44] Joye, D.D. & Luzio, G.A. (2000) *Process for selective extraction of pectins from plant material by differential pH*. Carbohydrate Polymers, 43(4): 337-342.
- [45] Han, Yu-Lu, et al., (2016) *Extraction optimization by response surface methodology of mucilage polysaccharide from the peel of Opuntia dillenii haw, fruits and their physicochemical properties* Carbohydrate polymers, 151: 381-391.
- [46] Monrroy, Mariel, et al., (2017) *Extraction and physicochemical characterization of mucilage from Opuntia cochenillifera (L.) Miller*. Journal of Chemistry
- [47] Bangyekan, C., Aht-ong, D., Srikulkit, K. (2006) *Preparation and Properties Evaluation of Chitosan Coated Cassava Starch Film*. Carbohydrate Polymers. 63: 61-71.
- [48] de Moura C.M., de Moura, J.M., dos Santos J.P., da Costa Kosinski R., Dotto, G.L., de Almeida Pinto L.A. (2012), *Evaluation of mechanical properties and water vapor permeability in chitosan biofilms using sorbitol and glycerol*, Macromolecular Symposia, Wiley Online Library, pp. 240-245.
- [49] Rhodes, C.J. (2018) *Plastic Pollution and Potential Solutions*, Science Progress, 101 (3): 207-260.

- [50] Melro, E., Antunes, F.E., da Silva, G.J., Cruz, I., Ramos, P.E., Carvalho, F., & Alves, L. (2020) *Chitosan Films in Food Applications. Tuning Film Properties by Changing Acidic Dissolution Conditions*. *Polymers (Basel)*, 13 (1).
- [51] Hallensleben, M. (2000) *"Polyvinyl Compounds, Others"*.
- [52] Pingan, H., Mengjun, J., Yanyan, Z., Ling, H. (2017) *A silica/PVA adhesive hybrid material with high transparency, thermostability and mechanical strength*. *RSC Advances*, 7 (5): 2450-2459.
- [53] Gutha, Y., Pathak, J.L., Zhang, W.Y., Zhang & Jiao X. (2017) *Antibacterial and wound healing properties of chitosan/poly(vinyl alcohol)/zinc oxide beads (CS/PVA/ZnO)*. *Int J Biol Macromol.*, 103: 234-241.
- [54] Hoagland, P.D. & Parris, N. (1996) *Chitosan/pectin laminated films*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44 (7):1915-1919.
- [55] Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 10327:2014 về Thức ăn chăn nuôi - *Xác định hàm lượng đường bằng phương pháp Luff-Schoorl*
- [56] Chiellini, E., Corti, A., D'Antone, S. & Solaro, R. (2003) *Biodegradation of poly(vinyl alcohol) based materials*. *Progress in Polymer Science*, 28 (6): 963-1014.
- [57] J. Dai et al., (2010) *Sugar compositional determination of polysaccharides from Dunaliella salina by modified RP-HPLC method of precolumn derivatization with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone*. *Carbohydrate polymers*, vol. 82, no. 3, pp. 629-635.
- [58] A. De Roeck, D. N. Sila, T. Duvetter, A. Van Loey, and M. Hendrickx (2008) *Effect of high pressure/high temperature processing on cell wall pectic substances in relation to firmness of carrot tissue*. *Food Chemistry*, vol. 107, no. 3, pp. 1225-1235.

PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM

1. Tên khách hàng : Trung Tín
2. Địa chỉ :
3. Số lượng mẫu : 01
4. Ngày nhận mẫu : 10/04/2023
5. Kết quả thử nghiệm :

TT	Tên mẫu		Kết quả MW (Da)
1.	PXR	Peak 1	136,192
		Peak 2	14,095

Tp.HCM, ngày 12 tháng 04 năm 2023

QUẢN LÝ KỸ THUẬT

Phùng Văn Trung

1. Kết quả thử nghiệm chỉ có giá trị trên mẫu gửi, tên mẫu ghi theo yêu cầu của khách hàng
2. Mẫu được lưu 7 ngày kể từ ngày trả kết quả
3. Phiếu kết quả này không được trích sao nếu chưa có sự đồng ý bằng văn bản của Trung tâm Nghiên cứu Thử nghiệm Hóa dược.

BM 5.10/02

Lần ban hành: 3.1'

Trang 1 / 2



VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

VIỆN KHOA HỌC VẬT LIỆU ỨNG DỤNG

Trung tâm Nghiên cứu Thử nghiệm Hóa dược

Số 1B, TL 29, phường Thanh Lộc, quận 12, Tp. Hồ Chí Minh

Tel: 0907 070 939 0907 099 114

E-mail: contact@natpro.com.vn Website: <http://natpro.com.vn>

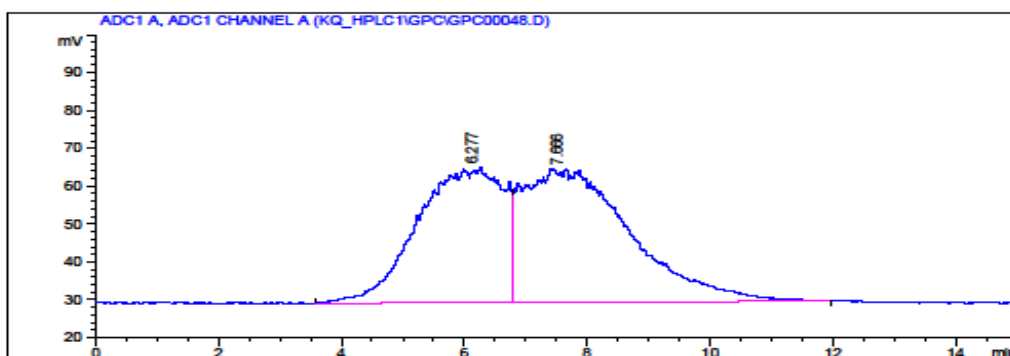
Data File name: C:\HPCHEM\1\DATA\KQ_HPLC1\GPC\GPC00048.D



CENTER FOR RESEARCH TESTING PHARMACEUTICAL CHEMISTRY
1B - TL29 Str., Dist. 12, Ho Chi Minh City, Viet Nam
Tel: (84) 0907 070 939 and (84) 0907 099 114
E-mail: contact@natpro.com.vn Website: www.natpro.com.vn

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Sample name: FXR
Comment:



#	RT	Compound Name	Width	Height	Sym.	Area	% Area
1	6.277		1.635	35.762	0.000	3.507e3	44.906
2	7.666		2.025	35.422	0.632	4.303e3	55.094

Totals:

created on: 12/04/2023

Page 1 of 1

- Kết quả thử nghiệm chỉ có giá trị trên mẫu gửi, tên mẫu ghi theo yêu cầu của khách hàng
- Mẫu được lưu 7 ngày kể từ ngày trả kết quả
- Phiếu kết quả này không được trích sao nếu chưa có sự đồng ý bằng văn bản của Trung tâm Nghiên cứu Thử nghiệm Hóa dược.

BM 5.10/02
Lần ban hành: 3.1
Trang 2 / 2