



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

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

(11)



1-0030386

(51)⁷ A61K 9/107; A61K 31/00; A61K 9/00

(13) B

(21) 1-2019-02308

(22) 04/05/2019

(45) 25/12/2021 405

(43) 25/07/2019 376A

(73) Công ty cổ phần Wakamono (VN)

95 Trần Trọng Cung, phường Tân Thuận Đông, quận 7, thành phố Hồ Chí Minh

(72) Đặng Thị Hồng Ngọc (VN).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ PADEMARK (PADEMARK CO.,LTD.)

(54) QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ HỆ VI NHỮ TƯƠNG NANO LYCOPEN

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano lycopene bao gồm các bước: (i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho lycopene hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng lycopene: thể tích dung môi etanol là 8:10 bằng máy khuấy có tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ; (ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 80°C, khuấy đều; (iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút; (iv) nhũ hóa bằng cách: khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung Acrysol K-140 vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu được ở bước (iii) theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút, ở nhiệt độ khoảng 100°C, trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 3 đến 5 giờ, khi đạt độ trong suốt thì dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ cho đến khi nhiệt độ còn trong khoảng từ 40 đến 60°C; tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút; (v) lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano lycopene.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Lycopene là một sắc tố caroten và carotenoid màu đỏ tươi là một hóa chất thực vật được tìm thấy trong nhiều loại rau quả có màu đỏ như gấc, cà chua, dưa hấu, đu đủ, ổi đỏ, bưởi đỏ, nhưng không có trong dâu tây hay anh đào. Mặc dù lycopene về mặt hóa học là một loại caroten, nhưng nó không có hoạt tính của vitamin A. Thực phẩm không có màu đỏ cũng có thể chứa lycopene, chẳng hạn như các loại đỗ, đậu.

Lycopene là một tetraterpen và được tổ hợp từ 8 khối isopren chỉ bao gồm cacbon và hydro. Nó không hòa tan trong nước. Mười một liên kết đôi tiếp hợp của lycopene tạo ra màu đỏ đậm và hoạt tính chống oxy hóa cho nó. Nhờ có màu nóng và không độc nên lycopene là một màu thực phẩm (E160d) hữu dụng và nó cũng được phê chuẩn cho phép sử dụng tại nhiều quốc gia, trong đó có Hoa Kỳ, Australia và New Zealand và EU. Các phân tử lycopene là một chuỗi mở của carotenoid chưa bão hòa với 40 cacbon có công thức phân tử là $C_{40}H_{56}$ có khối lượng phân tử của 536 Da và là một trong những carotenoid tổng hợp bởi thực vật và vi sinh vật quang hợp. Lycopene có 13 liên kết đôi, trong đó có 11 liên kết đôi liên hợp, chính vì vậy nó hoạt động như một chất chống lại các tác nhân oxy hóa như tia UV.

Tuy nhiên, các liên kết không bão hòa trong cấu trúc phân tử của nó làm cho lycopene dễ bị oxy hóa, nhạy cảm với ánh sáng và nhiệt.

Do đó cải thiện khả năng hấp thu, tăng sinh khả dụng của chất này là rất cần thiết. Áp dụng công nghệ nano là một ứng dụng công nghệ mới để tạo hệ dẫn thuốc và tăng sinh khả dụng của chất. Với kích thước hạt dưới 100nm, sẽ tăng khả năng hấp thu và khả năng lưu giữ. Lycopene được gói trong hệ dẫn thuốc nano, kích thước hạt nhỏ hơn 100nm giúp vận chuyển chất đến đích một cách chọn lọc, hiệu quả và tiết kiệm được chất. Ở nước ta, công nghệ nano trong y sinh học vẫn còn mới, chưa có nhiều ứng dụng nhưng đã

thu hút rất nhiều sự quan tâm nghiên cứu. Các nghiên cứu phổ biến nhất hiện nay là về ứng dụng của nano curumin và các hệ vận chuyển thuốc đến tế bào đích, chưa có nghiên cứu về chế tạo nano lycopene. Sử dụng các hạt nano để mang thuốc và nhả thuốc là hướng mới để điều trị bệnh đặc biệt là bệnh động kinh và ung thư trong tương lai.

Tác giả Anitha Krishnan Nair và đồng sự trong patent US 2011/0229532 A1 đã đề cập quy trình điều chế hệ vi nhũ tương của hợp chất thuộc nhóm polyphenol thân dầu bằng cách sử dụng siêu âm với chất hoạt động bề mặt không ion và một dung môi dạng không ion để tăng khả năng hòa tan trong nước.

Đã biết công bố đơn yêu cầu cấp patent Trung Quốc số CN101991175 A công bố ngày 30/3/2011 đã mô tả quy trình điều chế vi nhũ tương lycopene có kích thước tiểu phân từ 5 đến 50nm, bao gồm các: bước trộn lycopene vào dầu ăn được nóng để tạo huyền phù dầu chứa lycopene; sau đó huyền phù dầu này được trộn với các thành phần khác để tạo ra chế phẩm vi nhũ tương trong suốt hoặc bán trong suốt hoặc bán trong suốt có màu đỏ. Bước trộn với các thành phần khác này có thể là một trong các bước sau: trộn chất hoạt động bề mặt với đồng chất hoạt động bề mặt để thu được hỗn hợp, hỗn hợp này được trộn với huyền phù dầu chứa lycopene, cuối cùng trộn với nước; hoặc trộn chất hoạt động bề mặt với đồng chất hoạt động bề mặt, sau đó trộn với cuối cùng trộn với huyền phù dầu chứa lycopene. Trong đó, chất hoạt động bề mặt có thể là hợp chất thuộc họ Tween, đồng chất hoạt động bề mặt có thể là etanol, dầu ăn được có thể là dầu ngô, dầu dừa.

Cụ thể, các chất hoạt động bề mặt là có thể là thuộc họ Tween (Tween 20, Tween 40, Tween 60, Tween 65, Tween 80, Tween 85), Span (Span 20, Span 40, Span 60, Span 80), họ sucroza (sucroza laurat, sucroza myristat, sucroza palmitat, sucroza stearat), họ Triton (Triton100, Triton114, Triton165, Triton405), họ polyoxyetylen lauryl ete (Brij) (Brij52, Brij56, Brij58, Brij78), một trong lecithin hoặc hợp chất của nó.

Chất đồng hoạt động bề mặt có thể là là một trong số n-propanol, n-butanol, 1,2-propanediol, 1,3-propanediol, etanol, glyxerin, isopropanol, v.v. hoặc hợp chất của chúng.

Dầu ăn được có thể là dầu ngô, dầu lạc, dầu đậu nành, dầu hướng dương, dầu hạt cải dầu, dầu cám gạo, dầu hạt hoa rum, triglycerit có độ dài chuỗi chất béo trung bình (C8 ~ C18), một trong số etyl oleat hoặc hợp chất của nó.

Tuy nhiên việc sử dụng dầu ăn như dầu ngô, dầu dừa đi kèm theo các vấn đề sau, dầu là hỗn hợp nhiều chất, điểm khói không cao khoảng 177 độ C, trong quá trình xử lý có gia nhiệt cao nhiều lần, việc lặp lại quá trình gia nhiệt sẽ làm dầu biến đổi sinh ra những chất có hại cho sức khỏe như các chất thuộc nhóm aldehyt.

Công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US2016/0089320 A công bố ngày 31/5/2016 đã mô tả phương pháp sản xuất nano nhũ tương chứa thành phần tan trong lipid bao gồm các bước: a) trộn thành phần tan trong lipid (có thể là lycopene) và đồng dung môi tan trong lipid (là các terpenoit tự nhiên) để thu được dung dịch lipid, b) trộn chất nhũ hóa (là saponin) với dung môi tan trong nước (có thể là etanol) để thu được dung dịch nước; c) trộn dung dịch lipid và dung dịch nước với nhau, đồng nhất ở áp suất cao để tạo ra nano nhũ tương chứa thành phần tan trong nước. Nano nhũ tương theo tài liệu này có cỡ hạt từ 50-600nm). Quy trình này tạo kích thước hạt có độ dao động lớn từ 50-600nm, terpenoid là nhóm hợp chất tự nhiên mà phân tử của nó được cấu trúc bởi một hoặc nhiều đơn vị isoprene và có chung một gốc sinh tổng hợp, terpenoid được hình từ các Acetyl CoA, và hiện tượng đồng phân trong terpenoid rất phổ biến, hầu hết có cấu trúc vòng và vì vòng cyclohexan thường là dạng ghế nên có thể có cấu hình khác nhau tùy thuộc vào các nhóm thế ở quanh vòng. Do đó việc sử dụng terpenoid ở đâu sẽ dẫn đến rất nhiều biến đổi và cấu trúc hoá học khác nhau của sản phẩm tạo thành, dẫn đến việc cấu trúc hạt có sự chênh lệch lớn, không đồng nhất.

Có nhu cầu về quy trình điều chế hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân có kích thước nhỏ hơn 100nm, đồng đều, khả năng hòa tan tốt hơn trong nước và vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính lycopene trong quá trình nano hóa.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano lycopene tạo các hạt có kích thước nhỏ hơn 100nm, đồng đều, có khả năng hòa tan trong nước mà hoạt tính và cấu trúc không đổi giúp làm tăng hiệu quả sử dụng của hoạt chất lycopene, cụ thể là tăng khả năng hấp thu và tăng sinh khả dụng.

Để đạt được mục đích nêu trên, quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano lycopene theo sáng chế bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho lycopene hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng lycopene: thể tích dung môi etanol là 8:10 bằng máy khuấy có tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ;

(ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 80°C, khuấy đều;

(iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút;

(iv) nhũ hóa bằng cách: khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung Acrysol K-140 (dầu thầu dầu được hydro hóa - PEG 40) có công thức là C₆₃H₁₂₂O₁₅ vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu được ở bước (iii) theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút, ở nhiệt độ khoảng 100°C, trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 3 đến 5 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành bằng cách cho hòa tan vào nước và đo độ trong suốt, nếu không đạt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ cho đến khi nhiệt độ còn trong khoảng từ 40 đến 60°C; tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/ phút;

(v) lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa lycopene 90% đã biết và nano lycopene thu được bằng quy trình theo sáng chế.

Hình 2 là ảnh phổ đo TEM kích thước hạt nano lycopene thu được bằng quy trình sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano lycopene được thực hiện như sau:

(i) Bước thứ nhất: chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho lycopene hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng lycopene: thể tích dung môi etanol là 8:10 bằng máy khuấy có tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ. Tác giả sáng chế sử dụng etanol là dung môi có khả năng hòa tan tốt lycopene, giúp tạo pha phân tán tốt hơn và tạo điều kiện để pha phân tán có thể kết hợp với chất mang PEG tốt hơn. Việc sử dụng dung môi etanol có gốc hydroxyl (OH-) tạo liên kết với nước, nên có tác dụng ổn định cấu trúc hệ vi nhũ tương dầu trong nước. Bằng các thử nghiệm, các tác giả sáng chế xác định được với tỷ lệ lycopene: etanol là 8:10 (khối lượng: thể tích) lycopene đạt được độ hòa tan lớn nhất và tránh dư thừa dung môi etanol gây lãng phí. Việc sử dụng khuấy và gia nhiệt để tạo lycopene phân tán tốt hơn, khi tác giả thử nghiệm với nhiều điều kiện khuấy và nhiệt độ khác nhau cho thấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C thì pha phân tán lycopene là tốt hơn và kết hợp với chất mang PEG tốt hơn.

(ii) Bước thứ hai: chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng, đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, khuấy đều.

Khi sử dụng lycopene thường bị phá hủy trong đường tiêu hóa, một phần được hấp thu vào máu, còn lại đa số bị đào thải. Vì vậy cần quy trình điều chế hạt tiểu phân chứa hoạt chất lycopene, với kích thước nhỏ có màng bao sinh học, cấu trúc có độ ổn định, không kết dính và độ hòa tan cao. Bởi vì hệ vi nhũ theo sáng chế được sử dụng trong các ngành công nghiệp thực phẩm và dược phẩm, nên các chất được lựa chọn sử dụng phải có độ an toàn cao, không có độc tính và ít tác dụng phụ.

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng các quá trình vận chuyển thuốc có thể được nâng cao hiệu quả nhờ những hệ dẫn thuốc có nguồn gốc từ các loại polyme: polyme thiên nhiên ưa nước như protein (gelatin, albumin), polysaccharit (alginat, dextran, chitosan), polyme tổng hợp kỵ nước như polyeste (poly (ϵ -capprolacton), poly axit lactic, poly axit

lactic-co-glycolic. Các chất mang polyme với hàm lượng tải dược chất khá cao có thể đem tới nhiều thuận lợi về mặt dược động học như dược chất được giữ ổn định, có thể sử dụng để điều trị trong thời gian dài bằng quá trình nhả chậm thuốc theo sự phân hủy polyme, sự phân bố sinh học của dược chất, tính hướng đích, tính thấm qua màng tế bào,... có thể được điều khiển bằng các tính chất hóa lý của polyme.

(iii) Bước thứ ba: bổ sung chất mang vào pha phân tán (theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng), tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến 100°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút.

(iv) Bước thứ tư: nhũ hóa bằng cách: khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung ACRY SOL K-140 vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu được ở bước thứ 3 theo tỷ lệ 40:60 khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút, ở nhiệt độ khoảng 100°C trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 3 đến 5 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành bằng cách cho hòa tan vào nước và đo độ trong suốt, nếu không đạt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ cho đến khi nhiệt độ còn nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C.

Bằng các nghiên cứu lý thuyết và thực nghiệm, các tác giả sáng chế nhận thấy rằng để điều chế nano lycopene tan tốt trong nước, thì hệ nhũ tương này ở dạng nhũ tương dầu trong nước. Việc lựa chọn chất nhũ hóa để tăng tính bền của hệ vi nhũ tương dựa vào đặc điểm của hệ vi nhũ tương (dạng hệ vi nhũ tương dầu trong nước, dạng hệ vi nhũ tương nước trong dầu,...). Vì vậy, các tác giả sáng chế đã lựa chọn chất nhũ hóa là Acrysol K-140 bởi vì Acrysol K-140 là chất thân nước, không có độc tính và độ an toàn cao. Các tác giả sáng chế đã phải tiến hành rất nhiều thử nghiệm để xác định được là với tỷ lệ PEG: Acrysol K-140 thì hình thành các mạch polyme bền vững.

Do chất nhũ hóa Acrysol K-140 là phân tử có 2 phần riêng biệt, phần thân dầu và phần thân nước, nên có khả năng tạo liên kết với lycopene và hỗn hợp chất mang. Phần thân dầu của Acrysol K-140 tạo liên kết với lycopene và phần thân nước của Acrysol K-140 tạo liên kết với phần thân nước của hỗn hợp chất mang PEG, nên đã tạo ra các hạt tiểu phân nano lycopene và với cấu trúc này bảo vệ tốt hoạt tính lycopene.

Tạo hệ vi nhũ tương nano lycopene bằng cách thực hiện kết hợp khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 600 vòng/phút trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 3 đến 5 giờ, sau đó tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/ phút.

Hệ vi nhũ tương thu được bằng quy trình theo sáng chế có độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 7,4. Với giá trị độ pH này, các hạt tiểu phân tồn tại ổn định do trong môi trường trung tính này liên kết giữa lycopene và vật liệu mang được giữ trong quá trình phân tán, trong khi hệ vi nhũ có độ pH <7 thì liên kết này suy yếu dẫn đến hạt nano lycopene sẽ bị phá hủy trong đường tiêu hóa.

Hệ vi nhũ tương nano lycopene thu được bằng quy trình theo sáng chế có HLB (hydrophilic lipophilic balance - là độ cân bằng ưa kị nước có giá trị từ 0 đến 40) nằm trong khoảng từ 13 đến 18 là hệ vi nhũ tương thân nước. Hệ vi nhũ tương này có các hạt tiểu phân chứa lycopene thân nước, không kết dính, kích thước của các hạt ổn định nằm trong khoảng từ 05 đến 30nm, nên có thể thâm nhập dễ dàng qua màng tế bào để phát huy hiệu quả và tăng độ hòa tan của lycopene trong nước, từ đó làm tăng tính sinh khả dụng của chất.

(v) Bước thứ năm: lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói để loại bỏ các lượng dư các chất và đảm bảo độ đồng đều, ổn định của dung dịch.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Điều chế 100 ml hệ vi nhũ tương nano lycopene

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho 6g lycopene hòa tan trong 7,5 ml dung môi etanol 96° bằng máy khuấy có tốc độ 400 vòng/phút, kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 6 giờ để tạo thành dung dịch đồng nhất.

Chuẩn bị chất mang: 52,5ml PEG dạng lỏng, được gia nhiệt đến 70°C, khuấy đều.

Bổ sung 52,5ml chất mang vào pha phân tán đã chuẩn bị ở trên, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến 70°C khuấy với tốc độ 600 vòng/phút. Thu được 60ml tương đương 60g hỗn hợp chất mang và pha phân tán.

Sau đó, bổ sung 40g Acrysol K-140 vào 60g hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu được ở trên, tiếp tục khuấy ở tốc độ 700 vòng/phút, trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian trong 5 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành bằng cách cho hòa tan vào nước và đo độ trong suốt, nếu không đạt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ cho đến khi nhiệt độ còn 50°C; tiến hành nhũ toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ 800 vòng/phút.

Trước khi chiết rót, sản phẩm được bơm qua hệ thống lọc nano mục đích loại bỏ lượng lycopene dư không tạo thành hạt tiểu phân, thu được hệ vi nhũ tương nano lycopene phân tán tốt trong nước.

Bằng phương pháp đo phổ bằng UV-vis các tác giả sáng chế đã nhận thấy là vị trí các peak của lycopene nguyên liệu và hệ vi nhũ tương nano lycopene hoàn toàn trùng khớp. Điều này cho thấy hệ vi nhũ tương thu được bằng quy trình theo sáng chế vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính lycopene trong quá trình nano hóa. Sử dụng phương pháp đo phổ bằng UV-Vis để định lượng hàm lượng lycopene trong hệ vi nhũ. Kết quả cho thấy nồng độ lycopene trong hệ vi nhũ tương nano lycopene khoảng 10%.

Tiến hành đo kích thước hạt nano lycopene bằng kính hiển vi điện tử quét TEM cho thấy kích thước hạt dao động nằm trong khoảng từ 05 đến 30nm.

Kích thước (nm, theo TEM)	Kích thước (nm, theo DLS)	Thế zeta (mV)	Độ ổn định (tháng)	Tính tan trong nước
05-30	05-30	-40	> 12	Tan tốt trong nước, sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 7 ngày

Từ kết quả trên thấy rằng, việc sử dụng chất mang PEG với Acrysol K-140, thu được hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân có kích thước nhỏ (05 – 30 nm), có độ ổn định cao (>12 tháng), tan tốt trong nước và sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 7 ngày.

Bảng dưới đây thể hiện các số liệu đo bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động (Dynamic Light Scattering - DLS):

		Đường kính (nm)	Mật độ %	Chiều rộng (nm)
Kích thước hạt trung bình (d.nm): 11,50	Đỉnh phổ 1	11,64	100,0	2,082
Pdl: 0,083	Đỉnh phổ 2	0,00	0,00	0,00
Khả năng chặn: 0,938	Đỉnh phổ 3	0,00	0,00	0,00
Kết quả đánh giá: tốt				

Theo Hình 1, là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa lycopene 90% đã biết và nano lycopene thu được bằng quy trình theo sáng chế, trong đó bình A thể hiện lycopene 90% phân tán trong nước đã biết, bình B thể hiện nano lycopene phân tán trong nước thu được bằng quy trình theo sáng chế:

Hình ảnh cho thấy lycopene 90% đã biết không tan trong nước, tạo hạt lơ lửng trong nước, dung dịch đục, để thêm một thời gian đóng lại dưới đáy bình.

Nano lycopene thu được bằng quy trình theo sáng chế phân tán hoàn toàn trong nước tạo dung dịch trong suốt, đồng nhất.

Theo Hình 2, là kết quả ảnh phổ đo TEM kích thước hạt nano lycopene thu được bằng quy trình sáng chế, ta thấy hạt có sự đồng đều về kích thước, dao động trong khoảng 5 đến 30nm (Hình 2) với mật độ cao đạt 100%.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Quy trình điều chế hệ nano lycopene theo sáng chế đã thành công trong việc điều chế hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân nano lycopene có kích thước nhỏ, nằm trong khoảng từ 05 đến 30nm, đồng đều và khả năng hòa tan tốt trong nước mà vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính lycopene trong quá trình nano hóa.

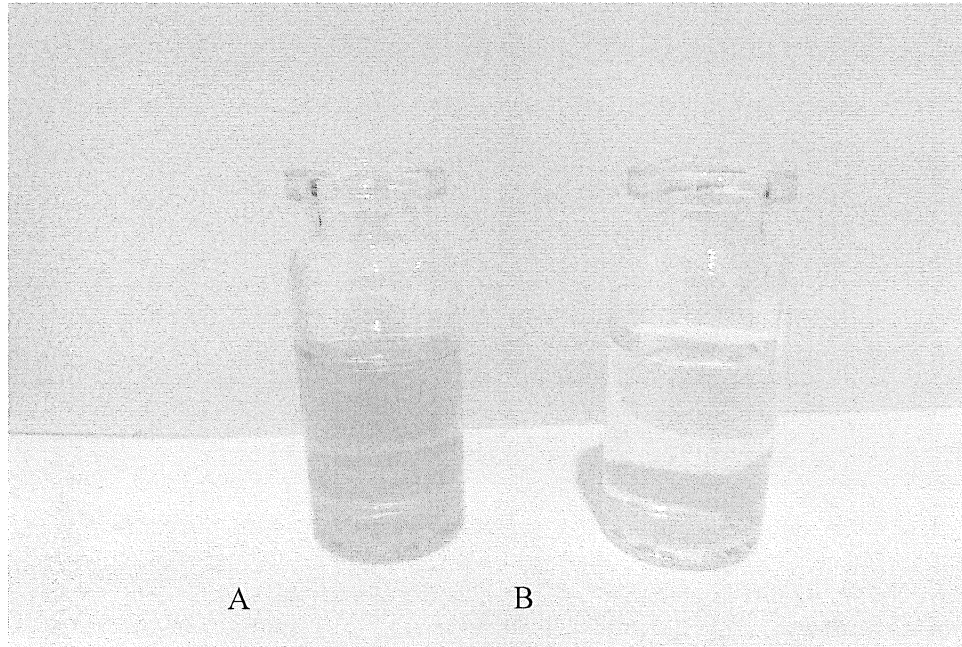
Các chất được sử dụng trong quy trình điều chế nano lycopene phân tán tốt trong nước có độ an toàn cao, không độc hại và ít tác dụng phụ, nên hệ vi nhũ tương nano lycopene thu được từ quy trình theo sáng chế có độ an toàn cao khi sử dụng.

Quy trình theo sáng chế đơn giản, dễ thực hiện và phù hợp với các điều kiện thực tế hiện nay của nước ta.

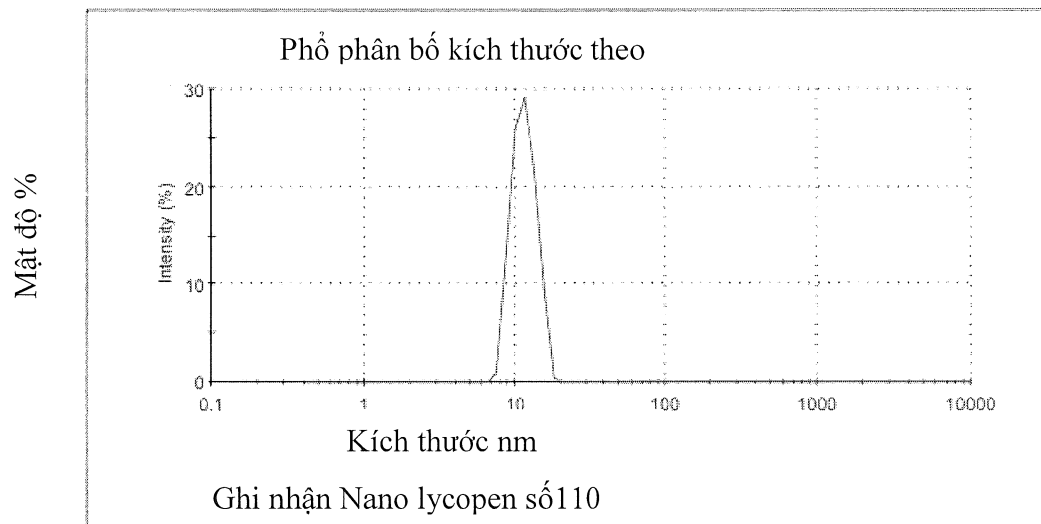
Yêu cầu bảo hộ

1. Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano lycopene bao gồm các bước:

- (i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho lycopene hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng lycopene: thể tích dung môi etanol là 8:10 bằng máy khuấy có tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ;
- (ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 80°C, khuấy đều;
- (iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút;
- (iv) nhũ hóa bằng cách: khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung Acrysol K-140 (dầu thầu dầu được hydro hóa - PEG 40) vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu được ở bước (iii) theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút, ở nhiệt độ khoảng 100°C, trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 3 đến 5 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành bằng cách cho hòa tan vào nước và đo độ trong suốt, nếu không đạt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ cho đến khi nhiệt độ còn trong khoảng từ 40 đến 60°C; tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút;
- (v) lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói.



Hình 1



Hình 2