



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

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

(11)



2-0002897

(51) A61K 31/00
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2022-00024

(22) 01/02/2019

(67) 1-2019-00657

(45) 25/05/2022 410

(43) 25/08/2020 389ASC

(73) Công ty Cổ phần Công nghệ mới Nhật Hải (VN)

Số 9 BT2, Bán đảo Linh Đàm, phường Hoàng Liệt, quận Hoàng Mai, thành phố Hà Nội

(72) Lưu Hải Minh (VN); Bùi Quốc Anh (VN).

(54) QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ HỆ VI NHŨ TƯƠNG NANO ASTAXANTHIN

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano astaxanthin, trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) chuẩn bị dung dịch astaxanthin; b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang gồm K140/ polyetylen glycol; c) tạo hỗn hợp đồng nhất; và d) tạo hệ vi nhũ tương nano astaxanthin.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực dược phẩm, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano astaxanthin.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Astaxanthin là một sắc tố thuộc họ xanthophyl và là một carotenoid với màu đỏ thẫm đặc trưng. Astaxanthin là một trong những sắc tố chính có trong các loại sinh vật biển như tảo, cá hồi, tôm càng, tôm hùm v.v.. Tuy vậy, các loài sinh vật này không thể tự tổng hợp ra hoạt chất astaxanthin mà thường được bổ sung thông qua chế độ ăn. Trong các công trình nghiên cứu, các nhà khoa học đã tìm ra loài vi tảo lục *Haematococcus Pluvialis* có khả năng tự tổng hợp được astaxanthin với hàm lượng cao nhất trong tự nhiên là khoảng 7% trọng lượng tảo khô. Các nghiên cứu in vitro đã chỉ ra rằng astaxanthin có tác dụng chống oxy hoá tuyệt vời và được cho là “vua của các hoạt chất oxy hoá”, cao hơn cả Vitamin E, Vitamin C hay các β -carotene như Lutein hay Zeaxanthin. Chính do khả năng chống oxy hoá nổi trội này, astaxanthin còn được biết là có tác dụng bảo vệ các loài sinh vật chống lại các loạt bệnh như tim mạch, ung thư và một số bệnh liên quan đến hệ thống miễn dịch. Trong khoảng 10 năm trở lại đây, astaxanthin tách từ vi tảo lục *Haematococcus pluvialis* đã được dùng như một nguồn thực phẩm bổ sung ở các nước Châu Âu, Châu Mỹ và Nhật Bản. Cùng với sự phát triển như vũ bão của khoa học công nghệ, nhiều nghiên cứu đã được tiến hành để khai thác những tác dụng tuyệt vời của astaxanthin trong việc cải thiện và nâng cao sức khoẻ khi sử dụng hàng ngày. Một số các tác dụng tuyệt vời của astaxanthin phải kể đến như:

Chống nguy cơ ung thư: tăng cường hệ thống miễn dịch, có khả năng trong phòng ngừa ung thư. Astaxanthin ức chế sản xuất interferon, tăng cường sức đề kháng và nó cũng có khả năng chống lại hoạt động của khối u.

Chống lão hoá da: astaxanthin có khả năng trung hoà các gốc tự do hình thành do tia UV gây kích ứng da, hình thành nám sạm, nếp nhăn và chảy xệ từ đó ngăn ngừa lão hoá da, duy trì độ căng mịn và độ sáng của làn da.

Tác dụng trên mắt: astaxanthin có thể dễ dàng thẩm thấu qua hàng rào máu mắt tác động trực tiếp lên các tế bào mắt. Từ đó tăng khả năng điều tiết của mắt, hỗ trợ điều trị suy giảm thị lực như khô mắt, mờ mắt, nhức mỏi mắt, ức chế gốc tự do lão hoá tế bào mắt, gây thoái hoá điểm vàng, đục thủy tinh thể.

Tác dụng trên não: astaxanthin có thể dễ dàng đi qua hàng rào máu não, ngăn chặn hiện tượng “Stress oxy hoá” huỷ hoại cấu trúc và chức năng tế bào thần kinh gây mệt mỏi, giảm khả năng tập trung, tư duy và ghi nhớ.

Về mặt hoá học, astaxanthin là một hợp chất có chứa nhiều nối đôi liên hợp, nhóm hydroxyl (OH) và nhóm xeton (C=O). Chính vì tồn tại các nối đôi liên hợp nên astaxanthin có tính chống oxy hoá tuyệt vời do có khả năng nhường electron và phản ứng với các gốc tự do và chuyển hoá nó thành các chất bền hơn và ngăn cản sự phát triển của các chuỗi phản ứng gốc tự do trong cơ thể sống. Do cấu trúc hoá học của astaxanthin nên hoạt chất này có tính ưa dầu nên khả năng tan trong nước bị hạn chế. Ngoài ra, do phân tử chứa nhiều nối đôi nên astaxanthin dễ bị phân huỷ khi có mặt của ánh sáng và oxy. Đặc biệt tốc độ hấp thụ astaxanthin trong hệ thống tiêu hoá của con người còn thấp. Chính vì các lý do trên nên sinh khả dụng của astaxanthin thấp dẫn đến khả năng điều trị bị hạn chế. Trong giải pháp hữu ích này, chúng tôi mô tả phương pháp điều chế hệ vi nhũ tương nano astaxanthin nhằm mục tiêu làm tăng khả năng tan trong nước, tăng độ ổn định và tăng tốc độ hấp thụ trong cơ thể để tăng cường sinh khả dụng của hoạt chất này.

Với mục tiêu làm tăng khả năng hoà tan trong nước, tăng độ ổn định và khả năng hấp thụ của cơ thể với hoạt chất astaxanthin, có rất nhiều các công trình đã được thực hiện nhằm tăng sinh khả dụng của astaxanthin. Một số công trình phải kể đến như sau:

Tác giả Affandi và cộng sự trong nghiên cứu “Development and stability evaluation of astaxanthin nanoemulsion” đã sử dụng phương pháp nhũ hoá để tạo ra hệ nhũ tương nano của astaxanthin. Tác giả cũng sử dụng các phương pháp đồng hoá áp suất cao với sự hỗ trợ của các chất hoạt động bề mặt, dầu và nước. Kết quả cho hệ vi nhũ tương với hàm lượng astaxanthin 2% với kích thước khoảng 100-200 nm. Tuy nhiên, hàm lượng hoạt chất astaxanthin vẫn thấp mà kích thước hạt vẫn lớn.

Tác giả Navideh Anarjan và cộng sự trong nghiên cứu “Preparation of astaxanthin nanodispersions using gelatin-based stabilizer systems” đã thành công trong việc chế tạo hệ phân tán nano astaxanthin sử dụng hỗn hợp chất hoạt động bề mặt. Trong đó, tác giả đã sử dụng kết hợp gelatin và sucroza oleat và thu được hệ phân tán nano astaxanthin với kích thước hạt nhỏ nhất vào khoảng 121 nm. Kích thước hạt vẫn to, khả năng hấp thụ và thẩm thấu vẫn bị hạn chế.

Tác giả Kim Dong Myung với sáng chế đã được công bố số WO2013002479A2 “Nanoemulsion composition and method to prepare the same” đã đưa ra phương pháp chế tạo hệ vi nhũ tương dầu nước của astaxanthin nhằm tăng độ ổn định nên tăng tốc độ hấp thụ vào da và cơ thể. Tuy nhiên, để thu được astaxanthin, các tác giả phải sử dụng phương pháp tách dùng CO₂ siêu tới hạn và phải áp dụng các điều kiện khắc nghiệt để thu được astaxanthin với hiệu suất cao.

Để khắc phục các nhược điểm trên, chúng tôi đề xuất quy trình chế tạo hệ vi nhũ tương nano astaxanthin đơn giản và hạt thu được có kích thước nhỏ dưới 100 nm.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là làm tăng tính sinh khả dụng của hoạt chất astaxanthin. Để đạt được mục đích này, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano astaxanthin. Quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị dung dịch astaxanthin bằng cách cho một lượng bột astaxanthin hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ là 2:100 (g/mL) bằng máy khuấy từ với tốc độ khuấy 500 vòng/phút trong thời gian 5 giờ ở nhiệt độ 80°C, thu được dung dịch astaxanthin;

b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang gồm K140/ polyetylen glycol bằng cách trộn hỗn hợp K140 và polyetylen glycol theo tỷ lệ 9:1 (g/g) được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ phòng;

c) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn dung dịch astaxanthin, hỗn hợp chất mang K140/polyetylen glycol và chất nhũ hóa tween 80 sao cho chất astaxanthin, K140 và

tween 80 trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ astaxanthin:K140:tween 80 là 2:90:5 (g/g/g) vào thiết bị tạo nhũ trong thời gian 5 giờ ở nhiệt độ phòng; và

d) tạo hệ vi nhũ tương nano astaxanthin bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước c ở nhiệt độ phòng, sau đó hỗn hợp được chạy trong thiết bị đồng hóa với tốc độ 5000 vòng/phút và lặp lại đồng hóa 3 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano astaxanthin.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano astaxanthin được trình bày một cách chi tiết dưới đây.

a) Chuẩn bị dung dịch astaxanthin bằng cách cho một lượng bột astaxanthin hòa tan trong dung môi ethanol theo tỷ lệ là 2:100 (g/mL) bằng máy khuấy từ với tốc độ khuấy 500 vòng/phút trong thời gian 5 giờ ở nhiệt độ 80°C, thu được dung dịch astaxanthin

Với mục đích tạo ra các hạt tiểu phân chứa astaxanthin có kích thước nano và ổn định, các tác giả đã sử dụng ethanol là dung môi có khả năng hòa tan astaxanthin cao, nên đã giúp tạo pha phân tán tốt hơn và tạo điều kiện để pha phân tán có thể kết hợp với hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol tốt hơn.

Ngoài ra, việc sử dụng dung môi ethanol 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 xác định được với tỷ lệ astaxanthin:dung môi ethanol là 2:100 (g/mL), thì astaxanthin đạt được độ hòa tan lớn nhất và tránh việc sử dụng dư thừa dung môi ethanol gây lãng phí nguyên liệu.

b) Chuẩn bị hỗn hợp chất mang gồm K140/ polyetylen glycol bằng cách trộn hỗn hợp K140 và polyetylen glycol theo tỷ lệ 9:1 (g/g) được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ phòng

Khi astaxanthin được đưa vào cơ thể qua đường miệng, astaxanthin thường bị phá hủy trong đường tiêu hóa, một phần được hấp thu vào máu thông qua quá trình tiêu hóa, còn lại đa số astaxanthin bị đào thải ra môi trường. Vì vậy, cần quy trình điều chế hệ nhũ

tương có các hạt tiểu phân chứa hoạt chất astaxanthin với kích thước nhỏ có màng bao sinh học, nên đạt được cấu trúc astaxanthin có độ ổn định cao, không kết dính và có độ hòa tan cao.

Hệ vi nhũ tương theo giải pháp hữu ích 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 chỉ ra rằng các quá trình vận chuyển thuốc được nâng cao hiệu quả nhờ những hệ dẫn thuốc có nguồn gốc từ các loại polyme như polyme thiên nhiên ưa nước, polyme tổng hợp kỵ nước, poly axit lactic, poly axit lactic-co-glycolic. Các chất mang polyme với hàm lượng tải được chất khá cao có thể đem đến nhiều thuận lợi về mặt dược động học như dược chất được giữ ổn định, có thể sử dụng điều trị trong thời gian dài bằng cách nhả chậm thuốc theo sự phân hủy polyme.

c) Tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn dung dịch astaxanthin, hỗn hợp chất mang K140/polyetylen glycol và chất nhũ hóa tween 80 sao cho chất astaxanthin, K140 và tween 80 trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ astaxanthin:K140:tween 80 là 2:90:5 (g/g/g) vào thiết bị tạo nhũ trong thời gian 5 giờ ở nhiệt độ phòng

Giá trị cụ thể của tỉ lệ các chất trong hỗn hợp chất mang cũng như các chất nhũ hóa lecithin và các điều kiện như tốc độ khuấy, nhiệt độ, thời gian là kết quả của các quá trình thử nghiệm thực tế nhằm tối ưu hóa quy trình này.

d) Tạo hệ vi nhũ tương nano astaxanthin bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước c ở nhiệt độ phòng, sau đó hỗn hợp được chạy trong thiết bị đồng hóa với tốc độ 5000 vòng/phút và lặp lại đồng hóa 3 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano astaxanthin.

Hỗn hợp thu được ở bước c có thể vẫn còn lẫn một lượng astaxanthin dư nhất định do bám trên thành thiết bị hoặc cánh khuấy mà không được hòa tan trong dung môi, lượng astaxanthin này có thể sa lắng sau khi để qua đêm và làm hỗn hợp trở nên không đồng nhất. Do đó, hỗn hợp thu được ở bước c cần được chạy trong thiết bị đồng hóa có áp

suất để giảm kích thước của các hạt này lại đồng thời làm hỗn hợp cuối cùng trở nên đồng nhất.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1: Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano astaxanthin

Chuẩn bị dung dịch astaxanthin trong dung môi etanol như sau: cho 2 g bột astaxanthin hoà tan trong 100 ml dung môi etanol gia nhiệt ở 80°C trên máy khuấy từ trong thời gian 5 giờ, tốc độ 500 vòng/phút thu được dung dịch astaxanthin;

Chuẩn bị hỗn hợp chất mang gồm K140/PEG bằng cách trộn 90 g K140 và 10 g PEG 800 được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ phòng;

Trộn dung dịch astaxanthin và 100 g hỗn hợp chất mang K140/PEG vào 5 g chất nhũ hoá tween 80 vào thiết bị tạo nhũ trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng.

Để qua đêm hỗn hợp đồng nhất ở nhiệt độ phòng, sau đó hỗn hợp được chạy trong thiết bị đồng hóa với tốc độ 5000 vòng/ phút và lặp lại đồng hóa 3 lần, thu được 107 g hệ vi nhũ tương nano astaxanthin.

Sau khi thu được sản phẩm ta tiến hành kiểm tra với các phương pháp phân tích hiện đại thì cho được kết quả như sau:

1. Kết quả phân tích hàm lượng

Hàm lượng của astaxanthin trong mẫu được đo bằng HPLC. Kết quả định lượng cho thấy hàm lượng astaxanthin trong mẫu phân tích đạt 1,23%

2. Kết quả chỉ tiêu hoá lý và vi sinh vật

Mẫu astaxanthin sau khi chế tạo được đi kiểm nghiệm các tiêu chuẩn về hóa lý và vi sinh vật. Kết quả kiểm nghiệm được thể hiện trong bảng dưới đây:

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp thử	Kết quả
1	Tổng số VSV hiếu khí	CFU/g	ISO 4833-1:2013	< 1 CFU/g

2	<i>Cl. perfringens</i>	CFU/g	TCVN 4991:2005	< 1 CFU/g
3	Coliforms	CFU/g	TCVN 6848:2007	< 1 CFU/g
4	<i>E.coli</i>	CFU/g	TCVN 7924-2:2008	< 1 CFU/g
5	Tổng số bào tử nấm mốc-men	CFU/g	TCVN 8257-2:2010	< 1 CFU/g
6	pH		H.HD.QT.070	9,38
8	Tỷ trọng	g/ml	H.HD.QT.084	1,04
9	Hàm lượng Cadimi	mg/kg	H.HD.QT.429 (ICP-MS)	<0,004
10	Hàm lượng Chì	mg/kg	H.HD.QT.429 (ICP-MS)	0,034

Kết quả cho thấy, mẫu astaxanthin chế tạo được đạt các chỉ tiêu về an toàn thực phẩm.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Đã chế tạo thành công hệ vi nhũ tương nano astaxanthin tan tốt trong nước, có chứa các tiểu phân nano astaxanthin kích thước nhỏ, hàm lượng astaxanthin là 1,23%, đáp ứng yêu cầu của quá trình vận chuyển các hạt tiểu phân astaxanthin tới đích mong muốn. Độ tan, độ ổn định và khả năng hấp thu của astaxanthin tăng khi hạt có kích thước nano.

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

Quy trình theo giải pháp hữu ích 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 astaxanthin, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị dung dịch astaxanthin bằng cách cho một lượng bột astaxanthin hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ là 2:100 (g/mL) bằng máy khuấy từ với tốc độ khuấy 500 vòng/phút trong thời gian 5 giờ ở nhiệt độ 80°C, thu được dung dịch astaxanthin;

b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang gồm K140/ polyetylen glycol bằng cách trộn hỗn hợp K140 và polyetylen glycol theo tỷ lệ 9:1 (g/g) được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ phòng;

c) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn dung dịch astaxanthin, hỗn hợp chất mang K140/polyetylen glycol và chất nhũ hóa tween 80 sao cho chất astaxanthin, K140 và tween 80 trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ astaxanthin:K140:tween 80 là 2:90:5 (g/g/g) vào thiết bị tạo nhũ trong thời gian 5 giờ ở nhiệt độ phòng; và

d) tạo hệ vi nhũ tương nano astaxanthin bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước c ở nhiệt độ phòng, sau đó hỗn hợp được chạy trong thiết bị đồng hóa với tốc độ 5000 vòng/phút và lặp lại đồng hóa 3 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano astaxanthin.