



(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)



2-0002950

(51)⁷ **A61K 9/107; A61K 9/127; B82Y 5/00; A61K 9/1075** (13) **Y**

(21) 2-2022-00097

(22) 07/01/2020

(67) 1-2020-00124

(45) 25/08/2022 413

(43) 27/04/2020 385ASC

(73) Công ty cổ phần Wakamono (VN)

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

(72) Lại Nam Hải (VN); Đặng Thị Hồng Ngọc (VN).

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

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT HỆ LIPOSOM NANO OMEGA 3

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất hệ liposom nano omega 3 bao gồm các bước: (i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho omega 3 hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng omega 3: 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 đến 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 liposom gồm lexitin và dầu ôliu với tỷ lệ 1:3 theo khối lượng được trộn trong bể ồn nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C để đảm bảo lexitin hòa tan hoàn toàn trong dầu, khuấy đều; (iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt hỗn hợp chất mang và pha phân tán đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 800 đến 1000 vòng/phút trong thời gian nằm trong khoảng từ 1 đến 2 giờ; sau đó cho casein vào hỗn hợp với tỷ lệ casein và hỗn hợp chất mang và pha phân tán là 1:10; (iv) làm lạnh hỗn hợp thu được đến 25°C và bơm hỗn hợp đã làm lạnh này bằng cách sử dụng vòi phun siêu ở tần số 60 Hz, có kích thước giọt nằm trong khoảng từ 10 đến 20 μm , công suất phun 10 ml/ phút, vào một thể tích nước cất nằm trong khoảng từ 1 đến 1,5 lít, với nhiệt độ nước cất ở 25°C, thu được hỗn hợp huyền phù liposom - dung dịch nước; (v) đồng hóa hỗn hợp huyền phù liposom - dung dịch nước bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao 30 Mpa để thu được hệ liposom nano omega 3 là hỗn hợp đồng nhất, ổn định, đảm bảo kích thước hạt <200nm.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất hệ liposom nano omega 3.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Omega 3 là một nhóm các axit béo chưa no có nhiều nối đôi, và nối đôi cần nhất ở vị trí cacbon thứ 3, mà cơ thể chúng ta không tự tổng hợp được, phải bổ sung thông qua thực phẩm. Axit béo omega 3 có nhiều trong các loại cá ở vùng biển lạnh và sâu như cá ngừ, cá hồi, cá thu...

Các axit béo chưa no nhiều nối đôi như axit linoleic (axit cis-9,12-octadecadienoic, C18:2) và axit alpha linolenic (axit cis-9,12,15-octadecatrienoic, C18:3) còn được phân loại là axit béo omega 6 và omega 3, có vai trò rất quan trọng trong dinh dưỡng động vật, nhất là ở người. Các axit béo omega 3 có chức năng quan trọng trong việc hình thành mô thần kinh và mắt, đáp ứng cho các hoạt động ổn định của hệ thống tim mạch và điều hòa hoạt động của hệ thống miễn dịch (Neuringer et al., 1988; Levinson et al., 1990). Axit béo omega 3 được sử dụng trong nhiều loại thực phẩm chức năng để đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng của hệ thống sinh học con người. Tuy nhiên, nó không ổn định trong quá trình xử lý và lưu trữ, không tan trong nước, có sinh khả dụng thấp nếu sử dụng thông thường, dễ bị biến tính. Nhũ tương nano có thể được sử dụng như hệ thống phân phối để tăng tính ổn định (Karthik, P. Et al., 2016). Có nhu cầu về quy trình sản xuất 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 omega 3 trong quá trình nano hóa. Nhũ tương nano thuận lợi cho sự hấp thụ trong ruột, nó dễ dàng phân tán trong môi trường chất lỏng. Hệ vi nhũ nano omega 3 giúp tăng hấp thu, đặc biệt là bệnh nhân ung thư, những người gặp vấn đề khi nuốt các dạng bào chế rắn. Đóng gói trong hạt nano và công thức như hệ thống O/W (là hệ dầu/nước, giọt dầu phân tán trong nước) giảm thiểu mùi tanh và vị không mong muốn của omega 3.

Tác giả Anitha Krishnan Nair và đồng sự trong Công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 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 dạng không ion và một dung môi dạng không ion để tăng khả năng hòa tan trong nước. Cụ thể patent Mỹ này đề cập về quá trình nano hóa curcumin và các dẫn xuất của curcumin, không áp dụng được cho các chất khác.

Trong Công bố đơn yêu cầu cấp patent Trung Quốc số CN106723052A đề cập đến một quy trình chuẩn bị nhũ tương nano dầu hạt lạnh giàu omega 3. Quy trình nói trên theo patent Trung Quốc này tạo ra các hạt tiểu phân có kích thước lớn khoảng 500nm.

Đã biết Công bố đơn đăng ký sáng chế Việt Nam số VN 63897 (đơn số 1-2019-00610) công bố ngày 25/06/2021 đã bộc lộ quy trình sản xuất hệ liposom chứa canabidiol (CBD) bao gồm các bước:

i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho CBD hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ 8:10, 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 bao gồm lexitin và dầu ôliu với tỷ lệ 1:3 theo khối lượng được trộn ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C;

iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, trong thời gian nằm trong khoảng từ 1 đến 2 giờ;

iv) làm lạnh hỗn hợp thu được đến 25°C và phun hỗn hợp vào nước cất bằng vòi phun siêu âm với kích thước giọt nằm trong khoảng từ 10 đến 20µm, thu được huyền phù liposom-dung dịch nước;

v) đồng hóa hỗn hợp huyền phù liposom-dung dịch nước bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao 30 Mpa để thu được hệ liposom với kích thước hạt < 200nm.

Quy trình bộc lộ trong Công bố đơn đăng ký sáng chế số VN 63897 là quy trình để sản xuất hệ liposom chứa canabidiol (CBD), quy trình này sử dụng hệ chất mang lexitin và dầu ôliu tương thích với đặc điểm của canabidiol (CBD) chất tinh dạng rắn, cấu trúc có các đầu thân dầu do đó với hệ chất mang lexitin và dầu ôliu đủ để tạo liên kết ái lực để mang canabidiol (CBD). Tuy nhiên đối với omega 3 là dạng dầu, cần một chất hệ này không đủ để tạo ái lực liên kết để tạo cấu trúc hạt bảo vệ hoạt chất omega 3, để hệ ổn định cần bổ sung chất mang khác, do vậy quy trình bộc lộ trong Công bố đơn đăng ký sáng chế số VN 63897 không phù hợp để áp dụng trong sản xuất hệ liposom chứa omega 3.

Cũng đã biết patent Mỹ số US5015483 B, công bố ngày 14/05/1991 đã bộc lộ liposom chứa omega 3 dầu cá, trong đó lớp kép lipid của liposom có thể được làm bằng lexitin. Patent Mỹ số US5015483 B cũng bộc lộ các cách điều chế liposom chứa omega 3 dầu cá:

Cách thứ nhất: Dầu cá mòi dầu (menhaden) đã được tinh chế và khử mùi có hàm lượng axit omega 3 cao được lựa chọn để hòa tan và mang bởi lớp kép lipid của liposom được tạo thành từ phospholipit không bão hòa. Liposom được điều chế bằng cách cho hòa tan 7,5g phosphatidylcholin đậu nành không bão hòa (được bán dưới tên thương mại là Infusol) trong 200ml clorofom loại thuốc thử (reagent grade) có chứa 3,0g dầu cá menhaden đã được tinh chế và khử mùi trong một bình cầu đáy tròn 1 lít ở nhiệt độ phòng. 66ml nước cất được thêm vào bình và trộn bằng thiết bị đồng hóa quy mô phòng thí nghiệm trong khoảng 2 phút cho đến khi hình thành sự phân tán. Sau đó, chất phân tán được đưa vào trong thiết bị cô quay ở khoảng 40-50°C, trong khoảng 40-60 phút trong điều kiện chân không để loại bỏ dung môi. Clorofom dư được loại bỏ bằng cách tẩy với nitơ trong khi lắc để phá vỡ các kết tụ. Các liposom xuất hiện dưới dạng gel nhớt màu nâu vàng. Gel tạo thành bao gồm khoảng 10% dầu cá, 25% phospholipit và 65% nước theo thể tích. Các liposom chứa khoảng 30% dầu cá menhaden được đóng gói tính theo trọng lượng của tổng số lipid, tương ứng với khoảng 10% tổng trọng lượng của liposom bao gồm cả nước còn sót lại xung quanh liposom.

Cách thứ hai: Chế phẩm liposom được tạo ra bằng cách sử dụng phosphatidylcholin hydro hóa được bán dưới tên thương mại là Phospholipon H-100. Phospholipon có nhiệt độ chuyển pha khoảng 55°C, cao hơn Infusol. Dung dịch 7,5g Phospholipon trong 200ml clorofom được trộn với 3,0g dầu cá menhaden tinh chế. 66ml nước cất và 0,68g glyxerol được thêm vào dung dịch, trong khi trộn bằng thiết bị đồng hóa quy mô phòng thí nghiệm. Chất phân tán được chuyển đến thiết bị bay hơi quay ở khoảng 60-63°C, trong điều kiện chân không để loại bỏ clorofom. Các liposom thu được chứa khoảng 30% dầu cá menhaden được đóng gói theo tổng trọng lượng của lipit có trong hệ. Điều này tương ứng với khoảng 10% trọng lượng của liposom bao gồm cả nước dư bám vào bề mặt bên ngoài của liposom. Các hạt lipit được phát hiện có đường kính thường nằm trong khoảng từ 0,2 đến 2μ, với một số lớn đến 20μ, được xác định bằng sự tán xạ ánh sáng laze. Các hạt nhỏ hơn được coi là liposom một lớp, trong khi các hạt lớn hơn, lớn hơn 1,0μ, được coi là liposom nhiều lớp.

Tài liệu của S.Panja và đồng tác giả “Effect of casein on pure lexitin liposome: Mixed biomacromolecular system for providing superior stabilization to hydrophobic molecules”, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, Vol. 180, p.298-305, công bố ngày 17/04/2019, đã bộc lộ việc bổ sung casein vào liposom lexitin làm giảm kích thước hạt, với quy trình này nhóm tác giả chỉ dừng ở bước khảo sát, không có thử nghiệm sử dụng cho omega 3, chưa đưa ra được quy trình thực hiện cụ thể cho chất và cho sản xuất. Sản phẩm tạo ra với mỗi thử nghiệm có kích thước khác nhau, từ 6nm đến hơn 500nm.

Tài liệu của Pedro J.Garcia - Moreno và đồng tác giả “Influence of casein – phospholipit combinations as emulsifier on the physical and oxidative stability of fish oil-in-water emulsions”, Journal of Argicultural and Food Chemistry, Vol. 62, p. 1142-1152, công bố ngày 17/01/2014, đã bộc lộ việc kết hợp casein và lexitin trong hệ nhũ tương dầu trong nước chứa omega 3 dầu cá làm tăng độ ổn định của nhũ tương, quy trình này đang khảo sát để tạo hệ nhũ với quy trình thử nghiệm sản phẩm thu được khi đo có kích thước hạt 450 nm, sự kết hợp của casein và phospholipit đã được sử dụng thì tạo giọt nhỏ hơn đường kính trung bình ở đỉnh từ 200 đến 400 nm. Sản phẩm quy trình tạo có kích thước

hạt lớn và hiện đang dừng ở bước khảo sát, chưa đưa ra được quy trình thực hiện cụ thể cho chất.

Các quy trình nói trên tạo ra các hạt tiểu phân theo phương pháp nhũ hóa micro và mixen (micelle), các hạt tiểu phân không đồng đều, đặc biệt tạo nano omega 3 theo công thức liposom có kích thước lớn hơn 200nm, nên hiệu quả hòa tan trong nước và hiệu quả sử dụng chưa cao. Quy trình tạo các hạt tiểu phân curcumin và dẫn xuất curcumin không thể áp dụng cho omega 3 vì sẽ làm mất hoạt tính omega 3.

Do đó có nhu cầu về quy trình sản xuất hệ liposom nano omega 3 có các hạt tiểu phân hệ liposom có kích thước nhỏ hơn 200nm, đồng đều, khả năng hòa tan tốt hơn trong nước và vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính omega 3 trong quá trình nano hóa.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất quy trình sản xuất hệ liposom nano omega 3 nhằm khắc phục các nhược điểm của quy trình đã biết nêu trên để tạo các hạt có kích thước nhỏ hơn 200nm, 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 omega 3, cụ thể là tăng khả năng hấp thu và tăng sinh khả dụng.

Để đạt được mục đích nêu trên, quy trình sản xuất hệ liposom nano omega 3 theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước:

chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho omega 3 hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng omega 3: 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 đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ;

chuẩn bị chất mang liposom gồm lexitin và dầu ôliu với tỷ lệ 1:3 theo khối lượng được trộn trong bể ổn nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C để làm lexitin hòa tan trong dầu, khuấy đều.

bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt hỗn hợp chất mang và pha phân tán đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 800 đến 1000 vòng/phút, từ 1 đến 2 giờ. Sau đó cho casein vào hỗn hợp theo tỷ lệ casein và hỗn hợp chất mang và pha phân tán là 1:10.

làm lạnh hỗn hợp thu được đến 25°C và bơm bằng cách sử dụng vòi phun siêu ở tần số 60 Hz, có kích thước giọt nằm trong khoảng từ 10 đến 20 μm , vào một thể tích nước cất nằm trong khoảng từ 1 đến 1,5 lít, với nhiệt độ nước cất ở 25°C, thu được hỗn hợp huyền phù liposom - dung dịch nước;

đồng hóa hỗn hợp huyền phù liposom - dung dịch nước bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao 30 Mpa để thu được hệ liposom nano omega 3.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa omega 3 đã biết và nano omega 3 thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích.

Hình 2 là ảnh phổ đo TEM kích thước hạt liposom nano omega 3 thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất hệ liposom nano omega 3 theo giải pháp hữu ích được thực hiện như sau:

(i) Bước thứ nhất: chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho omega 3 hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng omega 3: 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 đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ. Tác giả giải pháp hữu ích sử dụng etanol là dung môi có khả năng hòa tan tốt omega 3, 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 liposom dầu trong nước. Bằng các thử nghiệm, các tác giả giải pháp hữu ích xác định được với tỷ lệ omega 3: etanol là 8:10 (theo khối lượng) omega 3 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 omega 3 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 đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C thì pha phân tán omega 3 là tốt hơn và kết hợp với chất mang PEG tốt hơn.

(ii) Bước thứ hai: chuẩn bị chất mang liposom gồm lexitin và dầu ôliu với tỷ lệ 1:3 theo khối lượng được trộn trong bể ổn nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C để đảm bảo lexitin hòa tan hoàn toàn trong dầu, khuấy đều.

Khi sử dụng omega 3 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 sản xuất hạt tiêu phân chứa hoạt chất omega 3, 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 liposom nano omega 3 theo giải pháp hữu ích được sử dụng trong các ngành công nghiệp mỹ 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.

Chất hoạt động bề mặt được sử dụng nhằm tạo sự ổn định và đồng nhất cho hệ, ngăn cản sự keo tụ, kết dính của các chất trong hệ, ở đây các tác giả sử dụng lexitin (các phospholipit). Trong quy trình này các tác giả sử dụng lexitin từ đậu nành, an toàn cho người sử dụng và có giá thành hợp lý. Công thức phân tử của lexitin theo công bố của Willstatter năm 1918 gồm có axit glyxerophosphoric, axit béo và cholin, 3 thành phần này có thể ghép với nhau theo nhiều cách tạo nhiều loại lexitin. Hai phân tử axit béo hấp dẫn nhau nên chúng xếp trên cùng hướng, đầu của axit béo chứa gốc kỵ nước tạo nên phần kỵ nước của lexitin. Liên kết của C₂-C₃ ở gốc glyxerin có thể bị quay vặn đi một góc 180° làm cho nhóm P phân cực nằm về chiều ngược lại với chuỗi axit béo, hình thành đầu ưa nước của lexitin. Do cấu trúc đặc biệt đó mà phân tử lexitin vừa ưa nước vừa kỵ nước (ưa dầu). Đó là ưu điểm để ứng dụng lexitin tạo hệ liposom. Hệ liposom có thể nhốt các

hoạt chất hòa tan trong nước (ưa nước) trong khoang chứa nước bên trong và các hoạt chất không tan trong nước (kỵ nước) trong màng hai lớp của chúng. Đặc tính thứ hai làm cho có thể sử dụng liposom để tạo thành hạt nano omega 3 tương thích với nước. Sau nhiều thử nghiệm tác giả chọn được lexitin và dầu ôliu với tỷ lệ 1:3 theo khối lượng để tạo được hệ ổn định nhất.

(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 nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 800 đến 1000 vòng/phút từ 1 đến 2 giờ. Sau đó cho casein vào hỗn hợp với tỷ lệ casein và hỗn hợp chất mang và pha phân tán là 1:10.

Casein là các protein sữa chính có chức năng sinh học là vận chuyển canxi, protein và phát phát từ mẹ sang trẻ sơ sinh. Mục tiêu của các tác giả giải pháp hữu ích là khai thác các đặc tính tự lắp ráp tự nhiên của casein để bảo vệ và cung cấp chất dinh dưỡng quan trọng nhưng nhạy cảm này.

(iv) Bước thứ tư: Hỗn hợp thu được được làm lạnh đến 25°C và được bơm bằng cách sử dụng vòi phun siêu âm (Ultrasonic Atomizer Nozzle) ở tần số 60 Hz (kích thước giọt nằm trong khoảng từ 10 đến 20 μm , công suất phun 10 ml/phút), vào từ 1 đến 1,5 lít nước cất (nhiệt độ nước cất là 25°C) để thu được hỗn hợp huyền phù liposom - dung dịch nước

Hạt nano có xu hướng kết tụ, để phân tán hạt nano cần phải cung cấp đủ năng lượng để tách các lực liên kết. Sử dụng vòi phun siêu âm là một phương tiện hiệu quả trong việc phân tán hạt nano và giảm kích thước hạt nano, tạo ra các hạt có kích thước nhỏ hơn và kích thước đồng đều hơn. Sự phân tán và phá vỡ sự kết tụ của hạt nano là kết quả của hiện tượng xâm khí thực do sóng siêu âm. Khi siêu âm lan truyền vào trong dung môi, sẽ liên tục tạo ra các chu kỳ xen kẽ giữa áp suất cao và áp suất thấp, điều này tác động lên lực liên kết của hạt nano. Đồng thời, khi hàng loạt các bọt khí vỡ tung sẽ tạo ra một áp lực rất lớn tác động lên chùm hạt nano khiến chúng tách ra khỏi nhau dễ dàng.

(v) Bước thứ năm: đồng hóa hỗn hợp bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao (high pressure homogenizer) 30Mpa (300 bar) để thu được hệ liposom nano omega 3. Đồng hóa huyền phù nhằm làm giảm kích thước các hạt thuộc pha phân tán và phân bố đều chúng trong pha liên tục để hạn chế sự tách pha dưới tác dụng của trọng lực, đảm bảo độ đồng đều, ổn định của dung dịch, tăng tuổi thọ cho sản phẩm.

Trong bước thứ tư, việc sử dụng đánh sóng siêu âm (ultrasonic) giúp tác động lên các hạt nano, làm cho chúng không kết dính lại với nhau tuy nhiên cách làm này có nhược điểm là đầu ultrasonic bằng kim loại nên khi lên siêu âm ở cường độ cao có thể làm sản phẩm nhiễm titan. Để đảm bảo an toàn cho sản phẩm nhóm tác giả đã thử nghiệm và chọn ra tần số 60hz để phân tách hạt nano mà vẫn đảm bảo an toàn cho sản phẩm. Tuy nhiên ở tần số này, sản phẩm nano không duy trì độ ổn định hạt lâu dài, hạn sử dụng của sản phẩm ngắn. Để tăng tuổi thọ và độ ổn định, trong bước thứ năm nhóm tác giả tiến hành bơm dung dịch đã thu qua hệ thống đồng hóa áp lực cao (high pressure homogenizers) 30 Mpa (300 bar) để đảm bảo độ đồng đều, ổn định của dung dịch, tăng tuổi thọ cho sản phẩm.

Hệ liposom thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích có độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 7,5. Với giá trị độ pH này, các hạt tiểu phân tồn tại ổn định do trong môi trường trung tính này liên kết giữa omega 3 và vật liệu mang được giữ trong quá trình phân tán, trong khi hệ nano liposom có độ pH <7 thì liên kết này suy yếu dẫn đến hạt nano omega 3 sẽ bị phá hủy trong đường tiêu hóa.

Hệ liposom nano omega 3 thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích có HLB (hydrophilic lipophilic balance) nằm trong khoảng từ 13 đến 18 là hệ liposom thân nước. Hệ liposom này có các hạt tiểu phân chứa omega 3 thân nước, không kết dính, kích thước của của hầu hết các hạt ổn định nằm trong khoảng từ 10 đến 200 nm, nên có thể thâm nhập dễ dàng qua màng tế bào để phát huy hiệu quả và tăng độ hòa tan của omega 3 trong nước, từ đó làm tăng tính sinh khả dụng của chất.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ: Sản xuất 1000g hệ liposom nano omega 3

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho 80g omega 3 hòa tan trong 110g dung môi etanol bằng máy khuấy từ gia nhiệt KIA – Đức C-MAG HS 4/7/10 với tốc độ 400 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt đến nhiệt độ 50°C trong thời gian 6 giờ thu được 180g pha phân tán. (etanol bị bay hơi trong quá trình gia nhiệt)

Chuẩn bị chất mang liposom gồm 30g lexitin và 90g dầu ôliu được trộn trong bể ổn nhiệt Labtech LWB-106D, 1200 W, ở nhiệt độ 50°C để đảm bảo lexitin hòa tan hoàn toàn trong dầu ôliu, khuấy đều trong 30 phút thu được 120g dung dịch chất mang.

Bổ sung 120g chất mang vào 180g pha phân tán, tiếp tục gia nhiệt hỗn hợp chất mang và pha phân tán đến nhiệt độ 50°C, khuấy với tốc độ 900 vòng/phút trong thời gian 2 giờ. Sau đó cho 30g casein vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán.

Hỗn hợp thu được được làm lạnh đến 25°C và được bơm bằng cách sử dụng vòi phun siêu âm (máy Ultrasonic Atomizer Nozzle, 100W, 30Khz) ở tần số 60 Hz (vòi phun siêu âm có kích thước giọt nằm trong khoảng từ 10 đến 20 μm , công suất phun 10 ml/phút) vào 670g lít nước cất (ở 25°C), thu được 1000g hệ liposom - dung dịch nước.

Đồng hóa hỗn hợp bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao 30 Mpa. Thu được 1000ml hệ liposom nano omega 3 là hỗn hợp đồng nhất, ổn định, có kích thước hạt <200nm.

Bằng phương pháp đo phổ bằng UV-vis các tác giả giải pháp hữu ích đã nhận thấy là vị trí các peak của omega 3 nguyên liệu và hệ liposom nano omega 3 hoàn toàn trùng khớp. Điều này cho thấy hệ liposom thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính omega 3 trong quá trình nano hóa. Sử dụng phương pháp đo phổ bằng UV-Vis để định lượng hàm lượng omega 3 trong hệ liposom. Kết quả cho thấy nồng độ omega 3 trong hệ liposom nano omega 3 nằm trong khoảng 8 đến 10%.

Tiến hành đo kích thước hạt nano OMEGA 3 bằng kính hiển vi điện tử quét TEM (Kính hiển vi điện tử truyền qua - *transmission electron microscopy*, viết tắt: TEM) được

thể hiện theo Hình 2 cho thấy kích thước hạt dao động từ nằm trong khoảng từ 10 đến 200nm chiếm tỷ lệ hơn 90% trong dung dịch.

Kích thước hạt được đo bằng DLS: Các hạt lơ lửng trong một chất lỏng liên tục trải qua chuyển động ngẫu nhiên, và kích thước của các hạt trực tiếp ảnh hưởng đến tốc độ của chúng. Hạt nhỏ di chuyển nhanh hơn so với những hạt lớn hơn. Trong DLS, ánh sáng đi qua mẫu, và ánh sáng tán xạ được phát hiện và ghi nhận ở một góc độ nhất định.

Thế zeta hay điện thế động: điện thế giữa pha phân tán và môi trường phân tán.

Kích thước (nm, theo TEM)	Kích thước (nm, theo DLS)	Thế zeta (mV)	Độ ổn định (tháng)	Tính tan trong nước
10-200	10-200	-40	> 12	Tan tốt trong nước, sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 30 ngày

Từ kết quả trên thấy rằng, hệ liposom có các hạt tiểu phân có kích thước nhỏ hơn 200nm, có ổn định cao (>12 tháng), tan tốt trong nước và sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 30 ngày.

Theo Hình 1, là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa omega 3 đã biết và nano omega 3 thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích, trong đó bình A thể hiện omega 3 đã biết phân tán trong nước, bình B thể hiện nano omega 3 phân tán trong nước thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích. Nano omega 3 thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích phân tán hoàn toàn trong nước tạo dung dịch trong suốt, đồng nhất, trong khi omega 3 đã biết không tan trong nước, nổi trên bề mặt.

Theo Hình 2, là kết quả ảnh phổ đo TEM kích thước hạt nano omega 3 thu được bằng quy trình giải pháp hữu ích, ta thấy kích thước hạt trung bình <200nm.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất hệ liposom nano omega 3 theo giải pháp hữu ích đã thành công trong việc sản xuất hệ liposom có các hạt tiểu phân nano omega 3 có kích thước nhỏ hơn 200nm, đồng đều và khả năng hòa tan tốt trong nước mà vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính omega 3 trong quá trình nano hóa.

Các chất được sử dụng trong quy trình sản xuất nano omega 3 phân tán tốt trong nước có độ an toàn cao, không độc hại và ít tác dụng phụ, nên hệ liposom nano omega 3 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 sản xuất hệ liposom nano omega 3 bao gồm các bước:

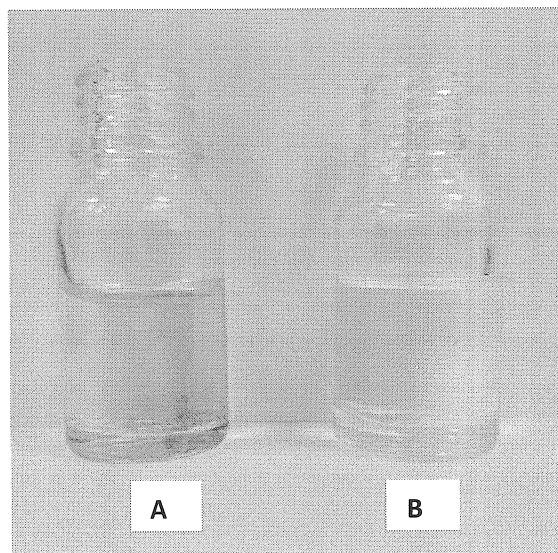
(i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho omega 3 hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng omega 3: dung môi etanol là 8:10 bằng máy khuấy có tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ;

(ii) chuẩn bị chất mang liposom gồm lexitin và dầu ôliu với tỷ lệ 1:3 theo khối lượng được trộn trong bể ổn nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C để làm lexitin hòa tan trong dầu, khuấy đều;

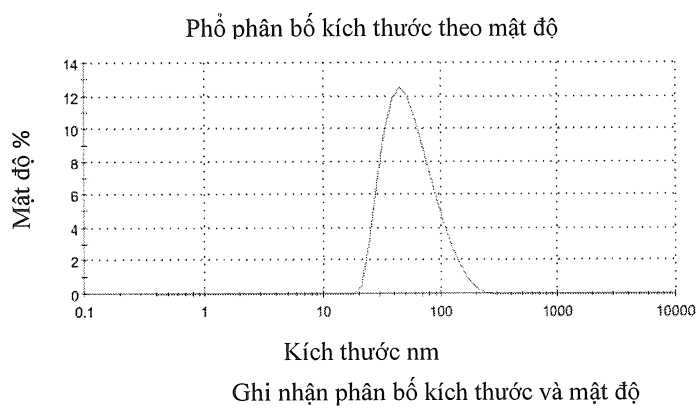
(iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt hỗn hợp chất mang và pha phân tán đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 800 đến 1000 vòng/phút trong thời gian nằm trong khoảng từ 1 đến 2 giờ; sau đó cho casein vào hỗn hợp với tỷ lệ casein và hỗn hợp chất mang và pha phân tán là 1:10;

(iv) làm lạnh hỗn hợp thu được đến 25°C và bơm bằng cách sử dụng vòi phun siêu ở tần số 60 Hz, có kích thước giọt nằm trong khoảng từ 10 đến 20 μm , vào một thể tích nước cất nằm trong khoảng từ 1 đến 1,5 lít, với nhiệt độ nước cất ở 25°C, thu được hỗn hợp huyền phù liposom - dung dịch nước;

(v) đồng hóa hỗn hợp huyền phù liposom - dung dịch nước bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao 30 Mpa để thu được hệ liposom nano omega 3.



Hình 1



Hình 2