



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

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

(11)



1-0033586

(51)^{2020.01} A61K 9/10; A61K 8/04; A61K 8/06

(13) B

(21) 1-2020-01311

(22) 06/03/2020

(45) 25/10/2022 415

(43) 25/06/2020 387ASC

(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 CẢI TIẾN SẢN XUẤT HỆ VI NHŨ NANO RESVERATROL

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano resveratrol bao gồm các bước: (i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho resveratrol gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C; (ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt Capryol 90 và lexithin với tỉ lệ là 5:1 theo khối lượng đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, sử dụng hệ thống cô quay chân không, sau đó làm lạnh đến 30°C tiến hành đánh sóng siêu âm trong vòng 30 phút, sau đó tiến hành khuấy từ gia nhiệt ở 60 đến 100°C trong vòng 30 phút, rồi thu dung dịch cho vào hệ thống cô quay chân không tiếp tục khuấy ở 100°C; (iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 3:1 theo khối lượng, tiếp tục giữ nhiệt độ pha phân tán nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút trong môi trường hút chân không; sau đó bắn toàn bộ dung dịch qua hệ thống máy đồng nhất áp suất cao (high pressure homogenizer) được tích hợp đầu phun phân tán; (iv) bổ sung Tween 80 và Tween 60 vào hỗn hợp ở bước (iii) theo tỷ lệ 3:1:1 theo khối lượng, tiếp tục giữ nhiệt độ pha phân tán nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút trong môi trường hút chân không; làm lạnh hỗn hợp thu đến 25°C, sử dụng máy đồng nhất siêu âm để đồng nhất dung dịch. Để đạt có kích thước nhỏ hơn 100nm, đánh sóng siêu âm từ 30 đến 60 phút.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano resveratrol.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Resveratrol là thành phần có nhiều trong ít nhất khoảng 70 loại thực vật, bao gồm nho (rượu nho), đậu phộng (đậu phộng là loại thức ăn hằng ngày có chứa hàm lượng resveratrol lớn, còn gọi là “quả trường sinh”), dứa, dâu... Resveratrol có kết cấu dạng vòng gồm nhiều hydroxy, những hydroxy có thể thông qua phương thức oxy hóa để phát huy chức năng chống oxy hóa, khả năng chống oxy hóa còn mạnh hơn vitamin C, E, và glutathione.

Resveratrol không chỉ giúp giảm mỡ máu, trị chứng cao huyết áp mà còn có thể ức chế sự đông tụ khác thường của tiểu cầu (chống tắc động mạch), làm rộng mạch máu, cải thiện vi tuần hoàn; giúp đề phòng bệnh động mạch vành, xơ cứng động mạch, giúp mạch máu não hồi phục thông suốt, tăng thời gian làm việc của não; tăng cường hệ miễn dịch, kháng khuẩn, kháng nhiễm virus, tác dụng kháng viêm và chống dị ứng...

Resveratrol được hấp thu tốt sau khi uống, và có hoạt tính cao trong cơ thể, nhưng nó có khả năng sinh khả dụng thấp. Nó được chuyển hóa nhanh, và do đó hàm lượng resveratrol chưa được phân huỷ trong máu thấp. Nó được phát hiện chủ yếu là chất chuyển hóa trong máu và nước tiểu, hoạt tính sinh học của những chất chuyển hóa này vẫn chưa được biết. Nó hòa tan chất béo, và được tìm thấy dưới dạng một dạng liên kết glucoza hoặc glucosit, được gọi là piceid. Resveratrol được hấp thu tốt sau khi uống, và có hoạt tính cao trong cơ thể, nhưng nó có khả năng sinh khả dụng thấp. Nó được chuyển hóa nhanh, và do đó hàm lượng resveratrol chưa được phân huỷ trong máu thấp. 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 nm, sẽ tăng khả năng hấp thu và khả năng lưu giữ. Resveratrol được gói trong hệ dẫn thuốc nano, độ lớn của hạt nhỏ, nhờ khả năng lưu trữ các hệ dẫn nano 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 resveratrol. Sử dụng các hạt nano để mang thuốc và nhả thuốc là hướng mới để điều trị bệnh đặc biệt là bệnh 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 dạng không ion và một dung môi dạng không ion để tăng khả năng hòa tan trong nước.

Các quy trình nói trên chủ yếu tạo ra các hạt tiểu phân có kích thước lớn hơn 100nm trở lên, nên hiệu quả phân tán trong nước chưa cao, thời gian ổn định ngắn, không đáp ứng được nếu cho vào sản phẩm thực tế, các nghiên cứu ở mô hình thí nghiệm, sử dụng dụng cụ thiết bị và các bước phức tạp khó áp dụng quy mô công nghiệp và không thể điều chỉnh tạo được kích thước hạt mong muốn để áp dụng cho từng dòng sản phẩm, đặt biệt hàm lượng chất resveratrol được dẫn trong hệ thấp, dưới 20% và có sử dụng PEG, do đó chưa đáp ứng được nhu cầu sử dụng.

Do đó, nhu cầu về quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương tạo các hạt tiểu phân, tạo hạt có kích thước theo mong muốn của nhà sản xuất, nhỏ hơn 100nm và tỉ lệ cao hàm lượng trên 20%, không sử dụng PEG tổng hợp trong quy trình đảm bảo an toàn và có thể khuyến cáo tự nhiên cho sản phẩm, tạo các hạt đồng đều, thời gian ổn định của hạt lâu trong vòng hai năm, khả năng phân tán tốt hơn trong nước và ổn định trong hệ nước lâu dài vẫn giữ được cấu trúc ổn định, hoạt tính của các hoạt chất và các hạt vi nhũ tạo ra phải ổn định trong quy trình sản xuất công nghiệp, có khả năng ứng dụng cao cả trong thực phẩm, dược và mỹ phẩm.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano resveratrol tạo các hạt có kích thước đồng đều, có khả năng hòa tan và ổn định lâu dài trong nước mà hoạt tính và cấu trúc không đổi giúp làm tăng hiệu quả sử dụng của hoạt chất resveratrol, cụ thể là tăng khả năng hấp thu và tăng sinh khả dụng, có thể ứng dụng trong quy mô công nghiệp; đặc biệt, tạo ra hệ nano resveratrol không sử dụng nhóm PEG tổng hợp trong quy trình đảm bảo an toàn và có thể khuyến cáo tự nhiên cho sản phẩm, tạo các hạt đồng đều nhỏ hơn 100nm chứa hàm lượng cao từ 20-25%, thời gian ổn định của hạt lâu trong vòng hai năm, khả năng phân tán tốt hơn trong nước và ổn định trong hệ nước lâu dài vẫn giữ được cấu trúc ổn định resveratrol.

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

(i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho resveratrol gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C;

(ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt Capryol 90 (Propylen Glycol Monocaprylat) và lexithin với tỉ lệ là 5:1 theo khối lượng đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, sử dụng hệ thống cô quay chân không, sau đó làm lạnh đến 30°C rồi tiến hành đánh sóng siêu âm trong vòng 30 phút; sau đó tiến hành khuấy từ 300 đến 500 vòng/phút kết hợp gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C trong vòng 30 phút bằng máy khuấy từ và gia nhiệt, rồi thu dung dịch cho vào hệ thống cô quay chân không tiếp tục khuấy ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 30 đến 60 phút.

(iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 3:1 tính theo khối lượng, tiếp tục giữ nhiệt độ hỗn hợp chất mang và pha phân tán nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút trong môi trường hút chân không trong thời gian nằm trong khoảng từ 60 đến 90 phút; sau đó bắn toàn bộ dung dịch qua hệ thống máy đồng nhất áp suất cao được tích hợp đầu phun phân tán;

(iv) bổ sung sinopol 85 USP (Tween 80) và Tween 60 vào hỗn hợp thu được ở bước (iii) theo với tỷ lệ Tween 80 : Tween 60 : hỗn hợp thu được ở bước (iii) là 3:1:1 theo khối lượng, tiếp tục giữ nhiệt độ hỗn hợp chất mang, pha phân tán và Tween nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút trong môi trường hút chân không trong thời gian nằm trong khoảng từ 30 đến 60 phút;

(v) làm lạnh hỗn hợp thu được ở bước (iv) đến 25°C, sử dụng máy đồng nhất siêu âm công suất đánh sóng siêu âm từ 30 đến 60 phút để đồng nhất dung dịch, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành được bằng cách hòa tan vào nước và đo độ trong, nếu không đạt độ trong suốt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng; sau đó, tiến hành nhũ hóa trong thiết bị tạo nhũ ở tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút trong thời gian nằm trong khoảng từ 60 đến 90 phút.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa resveratrol 95% (A); nano resveratrol thu được bằng quy trình theo sáng chế (B)

Hình 2 là ảnh kết quả phổ đo TEM kích thước hạt nano resveratrol thu được bằng quy trình theo sáng chế với kích thước lớn hơn 100nm.

Mô tả chi tiết sáng chế

Quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano resveratrol theo sáng chế được thực hiện như sau:

(i) Bước thứ nhất: chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho resveratrol gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C. Việc gia nhiệt tạo điều kiện để pha phân tán có thể kết hợp với chất mang tốt hơn.

(ii) Bước thứ hai: chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt Capryol 90 (propylen glycol monocaprylat) và lexithin với tỉ lệ là 5:1 theo khối lượng đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, sử dụng hệ thống cô quay chân không, sau đó làm lạnh đến 30°C rồi tiến hành đánh sóng siêu âm trong vòng 30 phút. Sau đó tiến hành khuấy từ 300 đến 500 vòng/phút kết hợp gia nhiệt ở 60 đến 100°C trong vòng 30 phút bằng máy khuấy từ gia nhiệt, rồi thu dung dịch cho vào hệ thống cô quay chân không tiếp tục khuấy ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 30 đến 60 phút.

Khi sử dụng, resveratrol dễ bị biến tính do ánh sáng, nhiệt độ, thường bị phá hủy trong đường tiêu hóa. Vì vậy cần quy trình sản xuất hạt tiểu phân chứa hoạt chất resveratrol, 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. Propylen glycol monocaprylat là một hỗn hợp của monoeste propylen glycol và dieste của axit béo bao gồm chủ yếu là axit caprylic. Hàm lượng monoeste và dieste khác nhau đối với hai loại propylen glycol monocaprylat (Type I và Type II), chất này được công nhận an toàn. Đặc tính là chất mang hòa tan chuyên dụng cho thuốc tiêm, dung dịch (Dược và Thú y), tác nhân điều chỉnh ổn định độ nhớt, tạo dịch vi nhũ tương, nó giúp nhũ hóa và tạo hệ vi nhũ tương tốt giúp tăng hấp thu. Tuy nhiên chất này nếu dùng trên da liều cao sẽ gây kích ứng. Do đó để tạo hệ vi nhũ ổn định và an toàn cho người dùng, sản phẩm có thể sử dụng được trên da và cả đường uống, theo khảo sát chúng tôi kết hợp giữa propylen glycol monocaprylat và lexithin tỉ lệ khối lượng 5:1. Lexithin là một chất phụ gia thực phẩm rất phổ biến và được châu Âu công nhận là an toàn với sức khỏe con người. Lexithin có bản chất là một loại phospholipit, thành phần có trong mỗi tế bào của cơ thể con người. Công thức hóa học của lexithin cho thấy lexithin là chất béo, tuy nhiên thành phần cấu tạo nên phân tử lexithin lại có thể hòa tan trong nước. Điều này giúp lexithin nhũ tương hóa resveratrol, giúp chúng phân tán trong nước.

(iii) Bước thứ ba: bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 3:1 theo khối lượng, tiếp tục giữ nhiệt độ hỗn hợp chất mang và pha phân tán nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút trong môi trường hút chân không trong thời gian nằm trong khoảng từ 60 đến 90 phút; sau đó bắn toàn bộ dung dịch qua hệ thống máy đồng nhất áp suất cao (high pressure homogenizer) được tích hợp đầu phun phân tán.

Sự kết hợp của chất mang lúc này là hỗn hợp Capryol 90 (propylen glycol monocaprylat) và lexithin với các bước xử lý chuyên biệt giúp đạt hiệu quả tiếp xúc và bao gói pha phân tán tối ưu nhất. Sử dụng hệ thống máy đồng nhất áp suất cao (high pressure homogenizer) được các tác giả tích hợp đầu phun phân tán giúp tăng hiệu quả bao gói đồng thời cải thiện độ bền của màng bao sinh học, các đầu ưa dầu được tiếp xúc hoàn toàn và tạo liên kết tối ưu. Nhóm tác giả đã nghiên cứu tạo đầu phun phân tán để tích hợp với máy để không chỉ dùng đồng nhất áp suất cao để tạo hạt mà còn giúp các hạt này phân tán ngay sau khi hình thành tránh hiện tượng các hạt bị dính nhập lại với nhau trước khi được bổ sung với các chất giúp dẫn hệ ở bước tiếp theo. Điều này rất quan trọng để tăng sự ổn định của hệ nano, giúp tăng hiệu suất và thời gian ổn định của hệ.

(iv) Bước thứ tư: bổ sung sinopol 85 USP (Tween 80) và Tween 60 vào hỗn hợp thu được ở bước (iii) với tỷ lệ Tween 80 : Tween 60 : hỗn hợp thu được ở bước (iii) là 3:1:1 theo khối lượng, tiếp tục giữ nhiệt độ hỗn hợp chất mang, pha phân tán và Tween nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút trong môi trường hút chân không trong thời gian nằm trong khoảng từ 30 đến 60 phút;

Bằng các nghiên cứu lý thuyết và thực nghiệm, các tác giả sáng chế nhận thấy rằng để điều chế nano resveratrol 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

Tween kết hợp giữa Tween 80 (có chỉ số cân bằng ưa nước – ưa béo viết tắt là HLB bằng 15) và Tween 60 (HLB bằng 14.5), bởi vì Tween là chất thân nước, không có độc tính và độ an toàn cao.

Do chất nhũ hóa Tween là phân tử có 2 phần riêng biệt, phần thân dầu và phần thân nước, nên có khả năng tạo liên kết với dầu và hỗn hợp chất mang. Phần thân dầu của Tween tạo liên kết với dầu thực vật và phần thân nước của Tween tạo liên kết với phần thân nước của hỗn hợp chất mang Capryol 90 (propylen glycol monocaprylat) và lecithin, nên đã tạo ra các hạt tiểu phân nano resveratrol và với cấu trúc này bảo vệ tốt hoạt tính resveratrol.

(v) Bước thứ tư: Hỗn hợp thu được được làm lạnh đến 25°C, sử dụng máy đồng nhất siêu âm (Ultrasonic homogenizer) để đồng nhất dung dịch. Để đạt có kích thước nhỏ hơn 100nm đánh sóng siêu âm từ 30 đến 60 phút. Kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành được bằng cách hòa tan vào nước và đo độ trong, nếu không đạt độ trong suốt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng. Sau đó, tiến hành nhũ hóa trong thiết bị tạo nhũ ở tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút trong thời gian nằm trong khoảng từ 60 đến 90 phút.

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 máy đồng nhất 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. Từ các thử nghiệm tác giả xác định các mốc thời gian đánh sóng siêu âm giúp tạo cấu trúc hạt theo nhu cầu của sản phẩm.

Bằng các nghiên cứu lý thuyết và thực nghiệm, các tác giả sáng chế nhận thấy rằng để sản xuất nano resveratrol tan tốt trong nước, thì hệ vi 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,...).

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 resveratrol 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 resveratrol sẽ bị phá hủy trong đường tiêu hóa.

Hệ vi nhũ tương nano resveratrol thu được bằng quy trình theo sáng chế có chỉ số cân bằng ưa nước – ưa béo viết tắt là HLB, 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 resveratrol thân nước, không kết dính, kích thước của các hạt đồng đều ổn định, nên có thể tăng độ hòa tan trong nước, từ đó làm tăng khả năng ứng dụng vào nhiều loại sản phẩm khác nhau.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ: Sản xuất 200 ml hệ vi nhũ tương nano resveratrol

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho 10g resveratrol khuấy tốc độ 400 vòng/phút, kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C.

Tạo chất mang: 25g Capryol 90 (Propylen Glycol Monocaprylat) và 5g lexithin tỉ lệ khối lượng 5:1 được gia nhiệt đến 60°C. Bổ sung 30g chất mang vào 10g pha phân tán đã chuẩn bị ở trên, tiếp tục gia nhiệt hỗn hợp chất mang và pha phân tán đến 60°C, khuấy với tốc độ 600 vòng/phút, trong môi trường chân không trong thời gian 60 phút. Bổ sung sinopol 85 USP (Tween 80) và Tween 60 vào hỗn hợp ở bước (iii) theo tỷ lệ 3:1:1 theo khối lượng tương ứng 120g sinopol 85 USP: 40g Tween 60: 40g hỗn hợp chất mang và pha phân tán ở trên, tiếp tục giữ nhiệt độ hỗn hợp pha phân tán nằm trong khoảng từ 60

đến 100°C, khuấy với tốc 600 vòng/phút trong môi trường hút chân không trong thời gian 40 phút; thu được 200g hỗn hợp.

Hỗn hợp thu được được làm lạnh đến 25°C, sử dụng máy đồng nhất siêu âm (Ultrasonic homogenizer) công suất 200-400W để đồng nhất dung dịch. Thời gian đánh sóng siêu âm sẽ tác động đến kích thước hạt, để đạt hạt có kích thước từ 100 đến 500nm đánh sóng siêu âm từ 10 đến 20 phút; để đạt có kích thước nhỏ hơn 100nm đánh sóng siêu âm từ 30 đến 60 phút.

Kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành được bằng cách hòa tan vào nước và đo độ trong, nếu không đạt độ trong suốt 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. Ở nhiệt độ 50°C thực hiện nhũ hóa ở tốc độ 500 vòng/phút, trong 60 phút.

Trước khi chiết rót, thu 200g hệ vi nhũ tương nano resveratrol 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 pick của resveratrol nguyên liệu và hệ vi nhũ tương nano resveratrol 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 resveratrol trong quá trình nano hóa. Sử dụng phương pháp đo phổ bằng UV-Vis để định lượng hàm lượng resveratrol trong hệ vi nhũ. Kết quả cho thấy nồng độ resveratrol trong hệ vi nhũ tương nano resveratrol nằm trong khoảng từ 20% đến 25%.

Tiến hành đo kích thước hạt nano resveratrol 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 10nm đến 50nm chiếm tỉ lệ gần như tối đa 100% 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.

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

Nano resveratrol với nghiệm thức để đạt kích thước hạt nhỏ hơn 100nm		Đường kính (nm)	Mật độ %	Chiều rộng (nm)
Kích thước hạt trung bình (d.nm): 36,60	Đỉnh phổ 1	35,56	96,90	4,032
Pdl: 0.136	Đỉnh phổ 2	4418	3,3	912,0
Khả năng chặn: 0,939	Đỉnh phổ 3	0,00	0,00	0,00
Kết quả đánh giá: tốt				

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
10-50	10-50	-40	> 24	tan tốt trong nước, sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 60 ngày

Từ kết quả trên thấy rằng, việc sử dụng chất mang Capryol 90 (Propylen Glycol Monocaprylat) và lexithin kết hợp với Tween, thu được hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu

phân có kích thước nhỏ (từ 10nm đến 50 nm), có ổn định cao (>24 tháng), tan tốt trong nước và sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 60 ngày.

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

Theo Hình 2, là kết quả ảnh phổ đo TEM kích thước hạt nano resveratrol thu được bằng quy trình sáng chế, ta thấy kích thước hạt trung bình dao động trong khoảng 10-50nm.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano resveratrol theo sáng chế đã thành công trong việc sản xuất hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân nano resveratrol có kích thước nhỏ, từ 10 đến 50nm, đồng đều và khả năng hòa tan tốt trong nước mà vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính resveratrol trong quá trình nano hóa.

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

(i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho resveratrol gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C;

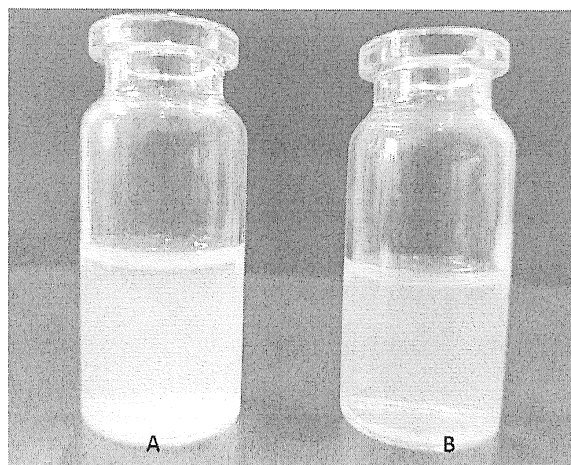
(ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt Capryol 90 (Propylen Glycol Monocaprylat) và lexithin với tỉ lệ là 5:1 theo khối lượng đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, sử dụng hệ thống cô quay chân không, sau đó làm lạnh đến 30°C rồi tiến hành đánh sóng siêu âm trong vòng 30 phút; sau đó tiến hành khuấy từ 300 đến 500 vòng/phút kết hợp gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C trong vòng 30 phút bằng máy khuấy từ và gia nhiệt, rồi thu dung dịch cho vào hệ thống cô quay chân không tiếp tục khuấy ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 30 đến 60 phút.

(iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 3:1 theo khối lượng, tiếp tục giữ nhiệt độ hỗn hợp chất mang và pha phân tán nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút trong thời gian nằm trong khoảng từ 60 đến 90 phút trong môi trường hút chân không; sau đó bắn toàn bộ dung dịch qua hệ thống máy đồng nhất áp suất cao được tích hợp đầu phun phân tán;

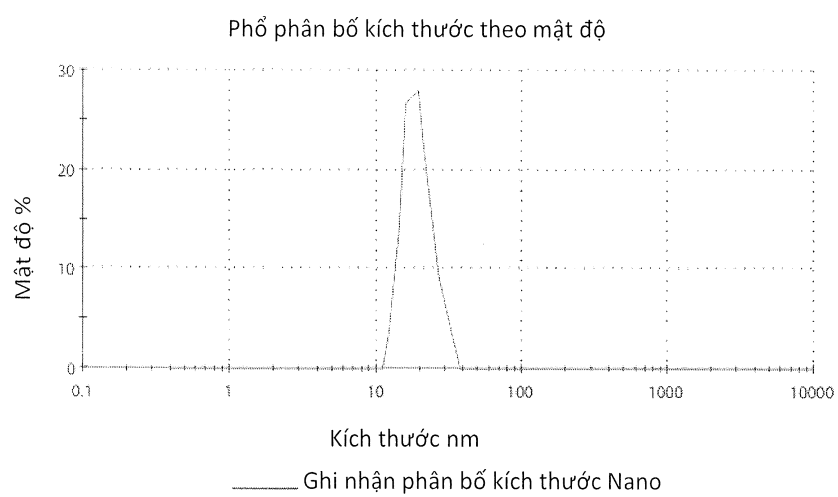
(iv) bổ sung sinopol 85 USP (Tween 80) và Tween 60 vào hỗn hợp thu được ở bước (iii) theo với tỷ lệ Tween 80 : Tween 60 : hỗn hợp thu được ở bước (iii) là 3:1:1 theo khối lượng, tiếp tục giữ nhiệt độ pha phân tán nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút trong môi trường hút chân không trong thời gian nằm trong khoảng từ 30 đến 60 phút;

(v) làm lạnh hỗn hợp thu được ở bước (iv) đến 25°C, sử dụng máy đồng nhất siêu âm công suất đánh sóng siêu âm từ 30 đến 60 phút để đồng nhất dung dịch, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành được bằng cách hòa tan vào nước và đo độ trong, nếu không đạt độ trong suốt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng; sau đó, tiến hành nhũ hóa trong thiết bị tạo nhũ

ở tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút trong thời gian nằm trong khoảng từ 60 đến 90 phút.



Hình 1



Hình 2