



(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)



2-0003267

(51) **B82Y 30/00**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2020-00565

(22) 09/11/2020

(45) 25/08/2023 425

(43) 25/01/2021 394

(73) 1. Viện Công nghệ Môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VN)

Viện Công nghệ Môi trường, số 18 Hoàng Quốc Việt, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

2. Công ty TNHH Đầu tư và Phát triển Công nghệ cao ITD Việt Nam (VN)

Số 5 ngõ 52 phố Quan Nhân, phường Trung Hòa, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

(72) Nguyễn Trần Điện (VN); Đào Trọng Hiền (VN); Bùi Thị Kim Anh (VN); Lê Thanh Sơn (VN); Phạm Văn Dương (VN).

(54) **CHẾ PHẨM NANO TẢO SPIRULINA PLATENSIS VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT
CHẾ PHẨM NÀY**

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp sản xuất chế phẩm nano tảo *Spirulina platensis* bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị hỗn hợp sinh khối tảo *Spirulina platensis* trong nước với nồng độ sinh khối tảo nằm trong khoảng từ 1 đến 10 g/L;

(ii) đồng hóa hỗn hợp sinh khối tảo bằng máy đồng hóa ở tốc độ 15000 đến 50000 vòng/phút, trong thời gian từ 10 đến 60 phút để tạo ra huyền phù sinh khối tảo có kích thước tảo nhỏ hơn hoặc bằng 150nm;

(iii) bổ sung CMC hoặc liposome phosphatidylcholin vào huyền phù sinh khối tảo đến nồng độ 0,025 đến 0,1% khối lượng; và

(iv) tiếp tục đồng hóa bằng máy đồng hóa ở tốc độ 15000 đến 50000 vòng/phút, trong thời gian từ 10 đến 20 phút để tạo ra chế phẩm nano tảo *Spirulina platensis* được bọc màng CMC hoặc liposome phosphatidylcholin.

Nano tảo *Spirulina platensis* có thể sử dụng làm thực phẩm chức năng giàu dinh dưỡng thay thế sinh khối tảo *Spirulina platensis*, giúp tăng cường khả năng hấp thu dinh dưỡng cho người già, trẻ nhỏ, phụ nữ.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp sản xuất chế phẩm nano tảo *Spirulina platensis* có thể sử dụng làm thực phẩm chức năng tốt cho sức khỏe con người. Giải pháp hữu ích còn đề cập chế phẩm nano tảo *Spirulina platensis* có thể sử dụng làm thực phẩm chức năng giàu dinh dưỡng thay thế sinh khối tảo *Spirulina platensis*, giúp tăng cường khả năng hấp thu dinh dưỡng cho người già, trẻ nhỏ, phụ nữ...

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Từ xa xưa, vi khuẩn lam *Spirulina* được biết đến là nguồn thức ăn bổ dưỡng từ thời cổ xưa của người Aztec ở Mêhicô-Châu Mỹ và thổ dân Kanembu- Trung Phi. Cho đến nay, giá trị dinh dưỡng và chức năng sinh học của *Spirulina* đã được công bố rộng rãi ở nhiều nước trên thế giới như Mỹ, Pháp, Nhật, Canada, Mehico, Đài Loan, Trung Quốc,... Hầu hết các nghiên cứu đã chỉ ra rằng, *Spirulina* có hàm lượng protein tới 60-70%, lipid chiếm từ 4 – 7%, carbonat 13,6%, axit béo không thay thế 18%, bicarbonat 0,22% và phycocyanin 14%. Nó còn là nguồn bổ sung nhiều loại vitamin như vitamin A, vitamin E, vitamin B (B1, B2, B6, B12)... Ngoài ra, ba thành phần chính có hoạt tính sinh học cao có trong vi khuẩn lam *Spirulina* là chất màu biliprotein pigment phycocyanin (biliprotein pigment phycocyanin), polysaccarit sulfat hóa và axit gamma linolenic đóng vai trò quan trọng trong việc cải thiện các chức năng trong cơ thể con người. Các kết quả nghiên cứu cho thấy, các hợp chất này có tác dụng hỗ trợ tăng cường hệ miễn dịch, hỗ trợ tăng cường sức khỏe và có tác dụng kháng virus. Với tỷ lệ 1%, axit gama - linolenic cùng với vitamin E có tác dụng chống xơ vữa động mạch, điều hòa huyết áp, bảo vệ gan và các tế bào thần kinh. Các nguyên tố vi lượng như K, Mg, Fe, Mn, Zn cũng rất có lợi cho hoạt động của hệ thần kinh và tim mạch, kích thích sự đáp ứng miễn dịch của cơ thể. Có thể dùng tảo *Spirulina* hỗ trợ điều trị bệnh viêm gan, suy gan, làm giảm cholesterol máu, viêm da lan tỏa, bệnh tiểu đường, loét dạ dày tá tràng, suy yếu hoặc viêm tụy, hạn chế các tai biến về tim mạch, khả năng ức chế virus và nâng cao sức đề kháng của cơ thể. Nhiều nghiên cứu mới nhất trên tạp chí Biomedicine and Pharmacotherapy và International Journal of Biological Science đã khẳng định được vai trò của tảo *Spirulina* trong hỗ trợ điều trị ung thư vú và ung thư

gan. Điều này đặc biệt có ý nghĩa bởi các thuốc chống ung thư đang lưu hành trên thị trường hầu hết là sản phẩm nhập ngoại với giá thành đắt, không phải tất cả các bệnh nhân ung thư đều có thể tham gia điều trị được, đặc biệt là bệnh nhân có thu nhập thấp. Nhu cầu sử dụng sản phẩm tảo cho cung cấp dinh dưỡng trong việc tăng cường, bảo vệ sức khỏe hay hỗ trợ điều trị bệnh là rất cao và có thể áp dụng rộng cho nhiều đối tượng: những người ăn kiêng, người già bị suy yếu, trẻ em suy dinh dưỡng, những người có chế độ ăn uống hàng ngày chưa cân đối hay làm việc cường độ cao như trí thức văn phòng công sở, sinh viên, học sinh, rồi đến cả các đối tượng chơi thể thao. Sản phẩm tảo cũng an toàn và có thể sử dụng cho người đái tháo đường hoặc người cao huyết áp, người bệnh sau phẫu thuật hay trong điều trị. Tảo *Spirulina* được Tổ chức Lương Nông quốc tế (FAO) và Tổ chức Y tế thế giới (WHO) công nhận là nguồn thực phẩm của tự nhiên, có tác dụng bảo vệ sức khỏe tốt an toàn cho con người trong tương lai. Để thay thế một phần cho các nguồn cung cấp dinh dưỡng từ chế phẩm động vật thì việc sử dụng sản phẩm tảo là lý tưởng cả về độ an toàn và tính cải thiện hay bảo vệ môi trường. Đây là sản phẩm vô cùng hữu ích cho con người trong thế kỷ tới. Tuy nhiên, việc sử dụng tảo cung cấp bổ sung dinh dưỡng trong đời sống cho các đối tượng trên còn hạn chế bởi mùi vị hay cách chế biến cũng như hiệu năng chưa cao. Ngoài ra, tảo *Spirulina* được sử dụng ở dạng bột sinh khối thông thường sẽ khó hấp thu hơn và phần lớn cơ thể người sử dụng thải bỏ ra ngoài. Do đó, có xu hướng sử dụng tảo dạng nano.

Để nano hóa tảo, một ý tưởng ứng dụng công nghệ nano trong việc chế tạo sản phẩm tảo là dựa trên cách tiếp cận top – down để phân mảnh hay chia cắt nhỏ các vi tảo (bằng máy xay nghiền, máy phối trộn, bi nghiền) kết hợp với chiết tách hợp chất thiên nhiên như từ thực vật, thảo dược tự nhiên để đưa vào bào chế sản phẩm thực phẩm chức năng nano tảo. Quy trình ứng dụng công nghệ nano cho sản xuất với mục đích nhận được chế phẩm tảo có tính an toàn cao, thân thiện với màng sinh học của cơ thể, phân tán tốt trong nước sẽ giúp dẫn các chất dinh dưỡng từ tảo *Spirulina platensis* qua thành ruột, đi vào máu và cung cấp cho cơ thể sống. Tuy nhiên, quá trình nano hóa tảo bằng các phương pháp cơ học này có thể làm mất một số axit amin, vitamin, chất béo,...do sự phát sinh nhiệt lớn trong quá trình xay, nghiền. Mặt khác, độ đồng đều về kích thước của sản phẩm nano cũng là một điểm hạn chế của công nghệ này.

Do đó, có nhu cầu về phương pháp sản xuất chế phẩm nano tảo *Spirulina platensis* không làm thoái biến vi chất trong tảo và có thời gian sử dụng sản phẩm được kéo dài, hạn chế được hiện tượng kết tụ các hạt nano tảo.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất phương pháp sản xuất chế phẩm nano tảo *Spirulina platensis* cho phép giải quyết vấn đề nêu trên. Cụ thể, giải pháp hữu ích đề xuất phương pháp sản xuất nano tảo *Spirulina platensis* bằng cách nano hóa sinh khối tảo và bọc màng tảo đã được nano hóa. Nano tảo thu được theo giải pháp hữu ích có thể sử dụng làm thực phẩm chức năng giàu dinh dưỡng thay thế sinh khối tảo *Spirulina platensis*, giúp tăng cường khả năng hấp thu dinh dưỡng cho người già, trẻ nhỏ, phụ nữ.

Cụ thể, giải pháp hữu ích đề xuất phương pháp sản xuất chế phẩm nano tảo *Spirulina platensis* bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị hỗn hợp sinh khối tảo *Spirulina platensis* trong nước với nồng độ sinh khối tảo nằm trong khoảng từ 1 đến 10 g/L;

(ii) đồng hóa hỗn hợp sinh khối tảo bằng máy đồng hóa ở tốc độ 15000 đến 50000 vòng/phút, trong thời gian từ 10 đến 60 phút để tạo ra huyền phù sinh khối tảo có kích thước tảo nhỏ hơn hoặc bằng 150nm, tốt hơn là nhỏ hơn 100nm;

(iii) bổ sung cacboxymetyl xenluloza (Carboxymethyl Cellulose: CMC) hoặc dung dịch liposome phosphatidylcholin vào huyền phù sinh khối tảo đến nồng độ 0,025 đến 0,1% khối lượng, trong đó dung dịch liposome phosphatidylcholin chứa phosphatidylcholin trong dung dịch đệm với lượng phosphatidylcholin theo tỷ lệ 100mg trong 107mL dung dịch đệm; và

(iv) tiếp tục đồng hóa bằng máy đồng hóa ở tốc độ 15000 đến 50000 vòng/phút, trong thời gian từ 10 đến 20 phút để tạo ra chế phẩm nano tảo *Spirulina platensis* được bọc màng CMC hoặc liposome phosphatidylcholin.

Theo một phương án khác, giải pháp hữu ích cũng đề cập đến chế phẩm nano tảo *Spirulina platensis* được bọc màng bằng CMC hoặc liposome phosphatidylcholin thu được từ phương pháp nêu trên.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là ảnh SEM huyền phù sinh khối tảo sau khi đồng hóa.

Hình 2 là ảnh SEM nano tảo sau khi bọc màng.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Dưới đây, giải pháp hữu ích sẽ được mô tả một cách chi tiết hơn theo từng công đoạn thực hiện.

Trước hết, sinh khối tảo *Spirulina platensis*, dưới đây đôi khi sẽ được gọi tắt là sinh khối tảo, thu được từ các quy trình chăn nuôi tảo thông thường. Sinh khối tảo được làm sạch, sau đó phân tán vào nước với lượng 1 đến 10 g tảo /L nước. Lượng tảo lớn hơn 10 g/L không được sử dụng do dung dịch nano tạo ra quá đặc, dễ xảy ra hiện tượng tự kết tụ sau đồng hóa. Lượng tảo nhỏ hơn 1 g/L không được sử dụng do nồng độ nano tảo quá nhỏ, không đạt được mục đích sử dụng. Sau đó, hỗn hợp này được đem đi nano hóa.

Hỗn hợp sinh khối tảo được đồng hóa bằng các máy đồng hóa để tạo ra tảo có kích thước nano. Tốt hơn nếu kích thước tảo sau đồng hóa không lớn hơn 150nm, tốt hơn là nhỏ hơn 100nm. Các thiết bị đồng hóa khác như, máy đồng hóa thực phẩm, máy đồng hóa áp lực cũng có thể được sử dụng miễn là tạo ra được dung dịch nano tảo có kích thước đạt yêu cầu. Các máy đồng hóa này đã biết đến rộng rãi trong lĩnh vực kỹ thuật và có thể được mua dưới tên IKA T 25 digital ULTRA-TURRAX® của hãng IKA. Hình 1 là hình ảnh SEM huyền phù sinh khối tảo sau khi đồng hóa.

Ngay sau khi đồng hóa tạo ra huyền phù nano tảo trong nước, cần bổ sung ngay chất tạo màng để ngăn các hạt nano tảo kết tụ lại với nhau. Thời gian bảo quản dung dịch nano tảo tránh bị kết tụ có thể đến 24 tháng sau khi bọc màng nano tảo.

Việc tạo màng được thực hiện bằng cách bổ sung CMC hoặc liposome phosphatidylcholin vào huyền phù sinh khối tảo đến nồng độ 0,025 đến 0,1% khối lượng; và tiếp tục đồng hóa bằng máy đồng hóa ở tốc độ 15000 đến 50000 vòng/phút, trong thời gian từ 10 đến 20 phút. Kết thúc quá trình này sẽ thu được dung dịch nano tảo *Spirulina platensis* đã được bọc bằng màng CMC hoặc liposome. Dung dịch này được đem đi chụp SEM và kết quả được thể hiện trên Hình 2.

Cacboxymetyl xenluloza (CMC) là loại bán sẵn trên thị trường, tốt nhất là loại có độ tinh khiết cao phù hợp dùng trong thực phẩm, dược phẩm.

Liposome phosphatidylcholin chứa phosphatidylcholin trong dung dịch đậm với lượng phosphatidylcholin theo tỷ lệ 100mg trong 107mL dung dịch đậm, dưới đây đôi khi được gọi vẫn tắt là dung dịch liposome. Cách thức chế tạo liposome phosphatidylcholin như sau:

Chuẩn bị dung dịch đệm xitrat 300 mM có độ pH bằng 4 theo tỷ lệ sau:

- Cân 41,29 gam axit xitric hòa tan trong 800 mL nước cất;
- Thêm 30,44 gam natri xitrat vào dung dịch trên;
- Sử dụng HCl và NaOH để chỉnh độ pH bằng 4;
- Bổ sung nước đến 1 Lít để thu được dung dịch đệm.

Chế tạo liposome:

- Hòa tan hoàn toàn 100 mg phosphatidylcholin trong 7mL etanol tuyệt đối.
- Tiêm nhanh 7mL hỗn hợp trên vào 100 mL dung dịch đệm tốc độ tiêm 0,5 m/s; kết hợp khuấy trộn 2000 v/p bằng máy đồng hóa tốc độ cao để tạo ra dung dịch liposome phosphatidylcholin.

Các lượng khác nhau của dung dịch đệm, liposome được lấy theo tỷ lệ dựa trên lượng cụ thể nêu trên.

Chế phẩm nano tảo *Spirulina platensis* được bọc màng bằng CMC hoặc liposome phosphatidylcholin thu được ở trên có thời gian bảo quản dài mà không bị kết tụ, biến chất. Chế phẩm này có khả năng hấp thu vào cơ thể người tốt hơn dạng tảo thông thường do được bào chế sẵn dưới dạng nano.

Hình 1 là ảnh chụp kính hiển vi điện tử quét các hạt nano tảo sau khi đồng hóa, các hạt nano tảo kết tụ thành đám (kích thước trung bình 150 nm).

Hình 2 là ảnh chụp kính hiển vi điện tử quét các hạt nano tảo sau khi tạo màng, các hạt nano tảo đã có kích thước đồng đều hơn và không có hiện tượng kết tụ, dính vào nhau (kích thước trung bình 200 nm).

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1. Sản xuất dung dịch nano tảo *Spirulina platensis* nồng độ 1 g/L

Cân một lượng chính xác 1g sinh khối tảo vào cốc thủy tinh chứa 1 lít nước cất.

Đồng hóa mẫu trong 10 phút, tốc độ 50.000 vòng/phút thu được huyền phù sinh khối tảo kích thước 70 nm.

Bổ sung CMC vào dung dịch nano tảo *Spirulina platensis* nêu trên để đạt được nồng độ 0,1%, đồng hóa ở tốc độ 15.000 vòng/phút trong 15 phút thu được nano tảo *Spirulina platensis* được bọc màng.

Ví dụ 2. Sản xuất dung dịch nano tảo *Spirulina platensis* nồng độ 2 g/L

Cân một lượng chính xác 2 g sinh khối tảo vào cốc thủy tinh chứa 1 lít nước cất.

Đồng hóa mẫu trong 20 phút, tốc độ 30.000 vòng/phút thu được huyền phù sinh khối tảo kích thước 90 nm.

Bổ sung CMC dung dịch nano tảo *Spirulina platensis* nêu trên để đạt được nồng độ 0,05%, đồng hóa ở tốc độ 16.000 vòng/phút trong 10 phút thu được nano tảo *Spirulina platensis* được bọc màng.

Ví dụ 3. Sản xuất dung dịch nano tảo *Spirulina platensis* nồng độ 3 g/L

Cân một lượng chính xác 3 g sinh khối tảo vào cốc thủy tinh chứa 1 lít nước cất.

Đồng hóa mẫu trong 60 phút, tốc độ 50.000 vòng/phút thu được huyền phù sinh khối tảo kích thước 80 nm.

Bổ sung liposome vào dung dịch nano tảo *Spirulina platensis* nêu trên để đạt được nồng độ 0,025%, đồng hóa ở tốc độ 20.000 vòng/phút trong 15 phút thu được nano tảo *Spirulina platensis* được bọc màng

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Nhờ việc phân tán sinh khối tảo trong nước nên quá trình giảm kích thước tảo đến nanomet bằng quá trình đồng hóa ở tốc độ cao không làm ảnh hưởng đến chất lượng của tảo, không sinh nhiệt cục bộ gây biến chất tảo hoặc làm mất chất dinh dưỡng của tảo. Nano tảo *Spirulina platensis* thu được có thể được sử dụng làm thực phẩm chức năng giàu dinh dưỡng thay thế sinh khối tảo *Spirulina platensis*, giúp tăng cường khả năng hấp thu dinh dưỡng cho người già, trẻ nhỏ, phụ nữ.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp sản xuất chế phẩm nano tảo *Spirulina platensis* bao gồm các bước:

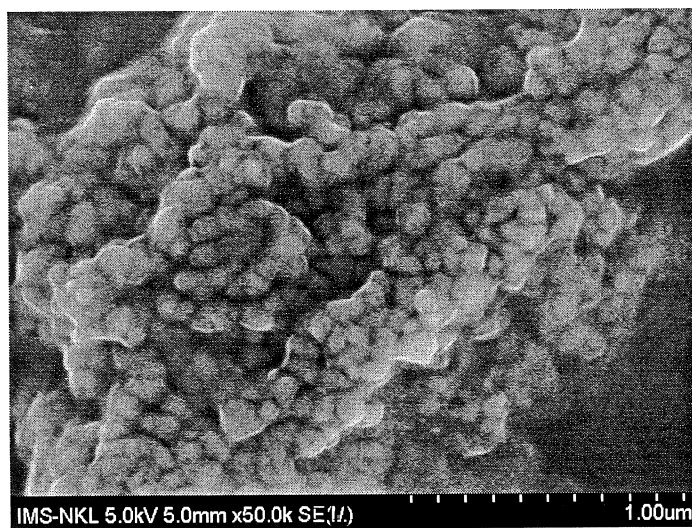
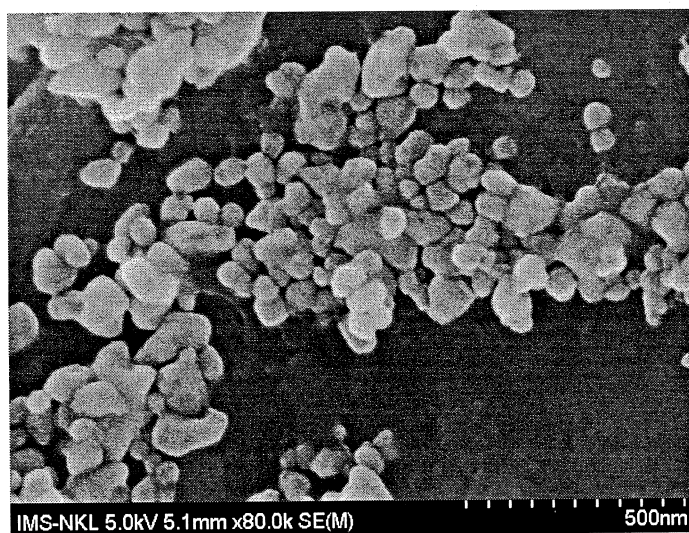
(i) chuẩn bị hỗn hợp sinh khối tảo *Spirulina platensis* trong nước với nồng độ sinh khối tảo nằm trong khoảng từ 1 đến 10 g/L;

(ii) đồng hóa hỗn hợp sinh khối tảo bằng máy đồng hóa ở tốc độ 15000 đến 50000 vòng/phút, trong thời gian từ 10 đến 60 phút để tạo ra huyền phù sinh khối tảo có kích thước tảo nhỏ hơn hoặc bằng 100nm;

(iii) bổ sung cacboxymetyl xenluloza (Carboxymethyl Cellulose: CMC) hoặc dung dịch liposome phosphatidylcholin vào huyền phù sinh khối tảo đến nồng độ 0,025 đến 0,1% khối lượng, trong đó dung dịch liposome phosphatidylcholin chứa phosphatidylcholin trong dung dịch đậm với lượng phosphatidylcholin theo tỷ lệ 100mg trong 107mL dung dịch đậm; và

(iv) tiếp tục đồng hóa bằng máy đồng hóa ở tốc độ 15000 đến 50000 vòng/phút, trong thời gian từ 10 đến 20 phút để tạo ra chế phẩm nano tảo *Spirulina platensis* được bọc màng CMC hoặc liposome phosphatidylcholin.

2. Chế phẩm nano tảo *Spirulina platensis* thu được bằng phương pháp theo điểm 1, trong đó hạt nano tảo có kích thước nhỏ hơn hoặc bằng 150nm được bọc bằng CMC hoặc liposome phosphatidylcholin và phân tán trong môi trường nước.

**Hình 1****Hình 2**