



(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)



2-0003812

(51) **A23F 3/00**
2022.01

(13) **Y**

(21) 2-2023-00427

(22) 30/06/2021

(67) 1-2021-04002

(45) 25/11/2024 440

(43) 27/09/2021 402

(73) Công ty Cổ phần Nghiên cứu phát triển dược liệu Hòa Bình (VN)
Thôn Hạnh Phúc, xã Hòa Sơn, huyện Lương Sơn, tỉnh Hòa Bình

(72) Vũ Thị Nguyệt (VN); Đặng Đình Kim (VN); Dương Thị Thủy (VN); Nguyễn Thị
Thu Trang (VN); Đặng Thị Mai Anh (VN).

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT TRÀ HÒA TAN XẠ ĐEN (EHRETIA ASPERULA
ZOLL. & MOR.)

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất trà hòa tan Xạ đen (*Ehretia asperula* Zoll. &
Mor.) từ cao định chuẩn Xạ đen. Sản phẩm trà hòa tan này có đặc tính quan trọng là chống
oxy hóa, tăng cường sức khỏe, chống lão hóa và kháng ung thư.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất trà hòa tan từ Xạ đen Hòa Bình. Sản phẩm này chứa cao định chuẩn Xạ đen có đặc tính quan trọng là phòng ngừa và hỗ trợ điều trị bệnh ung thư.

Tình trạng kỹ thuật sáng chế

Ung thư là một trong những căn bệnh nguy hiểm, gây hoang mang nhiều nhất cho bản thân người bệnh, cho gia đình của họ và cho cả cộng đồng. Hiện nay, bệnh ung thư diễn biến phức tạp và chưa có một loại thuốc đặc hiệu nào để chống lại nó. Đây là những thách thức mới và cấp bách đặt ra cho các nhà y dược học cùng các nhà khoa học lựa chọn và thu được nhiều thành tựu đó là tìm kiếm các giải pháp từ tự nhiên mà cụ thể là tìm kiếm các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học phòng và điều trị ung thư.

Cây Xạ đen Hòa Bình có tên khoa học là *Ehretia asperula* Zoll. & Mor., là một dược liệu được trồng tại một số địa phương ở Việt Nam. Theo kinh nghiệm dân gian, cây Xạ đen có công dụng mát gan, thanh nhiệt, thanh lọc độc tố trong cơ thể, chữa dị ứng, giảm mỡ máu, trị mụn nhọt, cân bằng huyết áp, kháng viêm, kháng u. Gần đây cây Xạ đen được dư luận chú ý và được sử dụng để chữa bệnh ung thư. Nhiều nghiên cứu cho thấy trong cây Xạ đen có một số hoạt chất chống ung thư (Kuo và cộng sự. 1995, 1996; Huang và cộng sự. 2000; Ly và cộng sự. 2006). Ngoài ra, Xạ đen còn có một số tác dụng khác như trị bệnh mất ngủ, trị cao huyết áp, giảm hội chứng men gan cao, xơ gan, viêm gan, trị các bệnh viêm nhiễm, phòng và hỗ trợ điều trị bệnh tiểu đường,.... Một số hợp chất trong cây Xạ đen có tác dụng chống oxy hóa, gây độc tế bào ung thư gan, ung thư vòm họng, ung thư phổi, ruột kết và ung thư vú

(Hu và cộng sự., 2014). Tuy nhiên hiện tại ở Việt Nam, Xạ đen chủ yếu chỉ được dùng ở dạng cao, sản xuất còn nhỏ lẻ, hiệu quả thấp, chưa có đầu ra bền vững nên không phát huy được tác dụng tối đa của dược liệu, bởi vậy, nguồn tiêu thụ ngày càng ít, diện tích trồng giảm, có nguy cơ cạn kiệt.

Do đó, có nhu cầu về việc ứng dụng tiến bộ khoa học kỹ thuật xây dựng quy trình sản xuất trà hòa tan Xạ đen từ các cao chiết tiềm năng chứa hỗn hợp polyphenol của cây Xạ đen làm thực phẩm bảo vệ sức khỏe phòng ngừa và hỗ trợ điều trị ung thư, nhờ thế giúp sử dụng cây xạ đen được sử dụng một cách hiệu quả hơn.

Bản chất kỹ thuật sáng chế

Mục đích của sáng chế là nhằm đáp ứng nhu cầu nêu trên.

Cụ thể, sáng chế này đề xuất quy trình sản phẩm trà hòa tan Xạ đen từ cao định chuẩn Xạ đen có hàm lượng phenol tổng ≥ 3 mg/g.

Trà hòa tan Xạ đen theo sáng chế có nhiều ưu điểm như giữ được tính tự nhiên, tiện dụng, đảm bảo vệ sinh, dễ lưu giữ, bảo quản, v.v.. Trà hòa tan này có tác dụng thu dọn gốc tự do DPPH và gây độc tế bào ung thư.

Quy trình sản xuất trà hòa tan Xạ đen từ cao định chuẩn Xạ đen gồm các bước sau:

(i) nghiền các nguyên liệu cao định chuẩn Xạ đen và lactoza thành dạng bột, rây qua rây cỡ 0,5 mm;

(ii) trộn bột kép cao định chuẩn Xạ đen và tá dược ở bước (i) theo kỹ thuật trộn đồng lượng trong máy trộn lập phương để đảm bảo các chất được phân phối đồng đều, thời gian trộn là 30 phút;

(iii) tạo hạt ướt bằng cách trộn hỗn hợp bột với cồn thực phẩm 70°, nhào trộn đồng nhất thành khối ẩm đủ để xát hạt qua cỡ rây 1,2 mm, tốc độ 70 vòng/phút;

(iv) sấy hạt các hạt ướt thu được ở bước (iii) bằng cách rải lên khay sấy, sấy khô ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 1 giờ;

(v) xát nhẹ hạt sau khi sấy xong qua rây 2mm để tạo ra được khối hạt có kích thước đồng nhất hơn;

(vi) đóng gói bằng máy đóng gói bán tự động, trong đó máy phải được vệ sinh bằng cồn 70° trước ca đóng gói 30 phút, và điều chỉnh tốc độ bơm, khối lượng bơm, thời gian ngắt bơm để đạt khối lượng theo yêu cầu, kiểm soát khối lượng gói trong suốt quá trình đóng gói theo cách cứ 30 phút lấy 10 gói kiểm tra khối lượng ghi vào hồ sơ lô, và lấy mẫu kiểm nghiệm bán thành phẩm theo tiêu chuẩn cơ sở sau khi có kết quả kiểm nghiệm đạt mới được đưa vào giai đoạn đóng gói;

(vii) dán nhãn và đóng hộp.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là hình vẽ dạng sơ đồ thể hiện quy trình chế biến trà hòa tan Xạ đen từ cao chiết định chuẩn Xạ đen với quy mô 50.000 túi/mẻ, mỗi túi trà 3g.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả một cách chi tiết thông qua các phương án cụ thể được ưu tiên theo sáng chế chỉ với mục đích minh họa cho sáng chế. Do đó, sáng chế không bị giới hạn chỉ ở các phương án cụ thể này.

Các tác giả sáng chế đã tiến hành các nghiên cứu một cách sâu rộng và đã tách chiết được cao định chuẩn Xạ đen có hoạt tính chống oxy hóa, phòng và hỗ trợ điều trị ung thư.

Theo đó, như được thể hiện trên hình 1, sáng chế đề xuất quy trình sản xuất trà hòa tan Xạ đen dùng hỗ trợ điều trị ung thư bao gồm nhiều công đoạn khác nhau.

Công đoạn 1: Cân chia nguyên liệu

Cân lần lượt từng nguyên liệu từ khối lượng thấp nhất đến cao nhất, bảo quản trong bao bì sạch, được lau cồn 70°.

Trong quá trình xuất kho và cân chia nguyên liệu được giám sát bởi nhân viên IPC, đảm bảo cân đúng, đủ nguyên liệu và đạt chất lượng.

Công đoạn 2: Nghiền bột và rây

Cao định chuẩn Xạ đen và lactoza cho vào nghiền thành dạng bột, rây qua rây cỡ 0,5 mm.

Công đoạn 3: Trộn bột kép:

Tiến hành trộn bột kép cao định chuẩn Xạ đen và tá được ở công đoạn 2 theo kỹ thuật trộn đồng lượng trong máy trộn lập phương để đảm bảo hoạt chất được phân phối đồng đều, thời gian trộn là 30 phút.

Công đoạn 4: Tạo hạt ướt

Trộn hỗn hợp bột với cồn thực phẩm 70°, nhào trộn đồng nhất thành khối ẩm đủ để xát hạt. Tạo hạt ướt bằng cách xát hạt qua cỡ rây 1,2 mm, tốc độ 70 vòng/phút.

Công đoạn 5: Sấy hạt

Các hạt ướt thu được ở công đoạn 4 được rải lên khay sấy, sấy khô ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 1 giờ.

Công đoạn 6: Sửa hạt

Hạt sau khi sấy xong phải xát lại nhẹ nhàng qua rây 2 mm, tạo ra được khối hạt có kích thước đồng nhất hơn.

Công đoạn 7: Đóng gói

Tiến hành đóng gói bằng máy đóng gói bán tự động, máy phải được vệ sinh bằng cồn 70° trước ca đóng gói 30 phút.

Điều chỉnh tốc độ bơm, khối lượng bơm, thời gian ngắt bơm để đạt khối lượng theo yêu cầu.

Kiểm soát khối lượng gói trong suốt quá trình đóng gói, cứ 30 phút lấy 10 gói kiểm tra khối lượng ghi vào hồ sơ lô.

Lấy mẫu kiểm nghiệm bán thành phẩm theo TCCS, sau khi có kết quả kiểm nghiệm đạt mới được đưa vào giai đoạn đóng gói.

Công đoạn 8: Dán nhãn và đóng hộp

Bao bì dạng gói được làm sạch bằng cách lau bằng khăn ẩm còn 70°, để khô tự nhiên trước khi dán nhãn.

Dán nhãn, đóng hộp và đóng thùng theo quy cách đóng gói của sản phẩm.

Kiểm tra cảm quan, chỉ những gói đã được đóng kín, không còn bột bám trên miệng túi hay bên ngoài mới được đóng hộp.

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn nữa thông qua các ví dụ chỉ với mục đích minh họa cho sáng chế. Cần lưu ý rằng, các bước, thành phần và điều kiện thực hiện tốt hơn là, nhưng không chỉ giới hạn ở, các bước, thành phần và điều kiện như được mô tả một cách cụ thể trên đây và dưới đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Điều chế trà hòa tan Xạ đen quy mô 50.000 túi/mẻ, mỗi túi trà 3g

Cho 40kg cao chiết tiềm năng vào nghiền thành dạng, rây mịn bột vừa nghiền qua rây cỡ 0,5mm (1). Cho 110 kg lactoza vào nghiền thành dạng bột, rây mịn bột vừa nghiền qua rây cỡ 0,5mm (2).

Trộn bột kép: Tiến hành trộn bột kép cao định chuẩn Xạ đen (1) và lactoza (2) theo kỹ thuật trộn đồng lượng trong máy trộn lập phương để đảm bảo hoạt chất được phân phối đồng đều, thời gian trộn là 30 phút, tạo thành hỗn hợp đồng nhất (3).

Tạo hạt ướt: Trộn hỗn hợp bột với cồn thực phẩm 70°, nhào trộn đồng nhất thành khối ẩm đủ để xát hạt. Xát khối bột ẩm qua cỡ rây 1,2mm, tốc độ 70 vòng/phút tạo thành hạt ướt (4).

Sấy hạt: Các hạt ướt (4) được rải lên khay sấy, sấy khô ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 1 giờ.

Sửa hạt: Hạt sau khi sấy xong phải xát lại nhẹ nhàng qua rây 2mm, tạo ra được khối hạt có kích thước đồng nhất hơn.

Đóng gói:

- Tiến hành đóng gói bằng máy đóng gói bán tự động, máy phải được vệ sinh bằng cồn 70° trước ca đóng gói 30 phút.

- Điều chỉnh tốc độ bơm, khối lượng bơm, thời gian ngắt bơm để đạt khối lượng theo yêu cầu.

- Kiểm soát khối lượng gói trong suốt quá trình đóng gói, cứ 30 phút lấy 10 gói kiểm tra khối lượng ghi vào hồ sơ lô.

- Lấy mẫu kiểm nghiệm bán thành phẩm theo tiêu chuẩn cơ sở, sau khi có kết quả kiểm nghiệm đạt mới được đưa vào giai đoạn đóng gói.

Dán nhãn, đóng hộp

- Bao bì dạng gói được làm sạch bằng cách lau bằng khăn tẩm cồn 70°, để khô tự nhiên trước khi dán nhãn.

- Dán nhãn, đóng hộp và đóng thùng theo quy cách đóng gói của sản phẩm.

- Kiểm tra cảm quan, chỉ những gói đã được đóng kín, không còn bột bám trên miệng túi hay bên ngoài mới được đóng hộp, bảo quản ở nhiệt độ phòng nơi khô ráo.

Các chỉ tiêu chất lượng của trà hòa tan Xạ đen như sau:

- Tính chất cảm quan: Dạng cốm, khô, đồng đều về hình dạng và màu sắc, không có hiện tượng hút ẩm, bị mềm và biến màu.

- Độ ẩm: Không quá 5,0%.

- Kích thước hạt – tỷ lệ vụn nát: Toàn bộ cốm phải qua rây số 2000. Tỷ lệ vụn nát qua rây số 250 không quá 8% khối lượng toàn phần.

- Độ đồng đều khối lượng: Độ đồng đều nằm trong khoảng khối lượng trung bình gói $\pm 5\%$.

- Tro sulfat: không quá 0,5%.

- Độ hòa tan: Thêm 20 phần nước nóng ở 70°C vào 1 phần trà hòa Xạ đen, trà hòa tan hoàn toàn.

- Định tính: trà hòa tan phải thể hiện phép thử định tính của Xạ đen.

- Định lượng: Hàm lượng phenol toàn phần trong trà hòa tan không thấp hơn 3 mg/g.

Hàm lượng kim loại nặng:

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Phương pháp thử	Giới hạn
1	Hàm lượng asen (As)	(mg/kg)	TCVN 7770:2007	$\leq 0,1$
2	Hàm lượng chì (Pb)	(mg/kg)	TCVN 7602:2007	$\leq 0,5$
3	Hàm lượng thủy ngân (Hg)	(mg/kg)	TCVN 7604:2007	$\leq 0,05$
4	Hàm lượng cadimi (Cd)	(mg/kg)	TCVN 7603:2007	$\leq 1,0$

Chỉ tiêu vi sinh vật:

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Phương pháp thử	Giới hạn
1	Tổng số vi sinh vật hiếu khí trong 1 g sản phẩm	CFU/g	TCVN 4884 – 1 – 2015	$\leq 10^4$
2	Số <i>Staphylococcus aureus</i> trong 1 g sản phẩm	MPN/g	TCVN 4830 – 3 – 2005	≤ 10
3	Số <i>Escherichia Coli</i> trong 1 g sản phẩm	MPN/g	TCVN 6846:2001 (ISO 7251:1993)	≤ 3
4	Số <i>Clotridium perfringens</i> trong 1 gam sản phẩm	CFU/g	TCVN 4991:2005	≤ 10
5	Tổng số bào tử nấm men, nấm mốc trong 1 g sản phẩm	CFU/g	TCVN 8275 – 2 - 2010	$\leq 10^2$
6	<i>Bacillus cereus</i>	MPN/g	TCVN 7903:2008	≤ 10
7	Tổng số <i>Coliform</i>	MPN/g	TCVN 4882:2007	≤ 10

Hạn sử dụng: 24 tháng kể từ ngày sản xuất, ngày sản xuất và hạn sử dụng ghi trên bao bì của sản phẩm.

Hướng dẫn bảo quản: Chế phẩm có thể được ghi trên nhãn: “Bảo quản trong bao bì kín, nơi khô mát, tốt nhất là ở nhiệt độ dưới 30°C, tránh ẩm và ánh sáng trực tiếp”.

Ví dụ 2: Thử nghiệm tác dụng thu dọn gốc tự do DPPH

Tác dụng thu dọn gốc tự do được đánh giá qua việc thu dọn gốc tự do điển hình 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) là phương pháp đã được công nhận để xác định nhanh hoạt tính chống oxy hóa. DPPH được pha trong etanol 96% thành dung dịch có nồng độ 150 μ M. Trà hòa tan Xạ đen được pha trong dung môi dimetyl sulfoxit (DMSO) thành dãy các dung dịch có nồng độ 2000, 600, 200, 60, và 20 μ g/ml. Tiếp đó, 10 μ l mẫu pha trong DMSO (dimetyl sulfoxit) được cho vào các giếng của phiên 96 giếng chứa 190 μ l dung dịch DPPH. Sau 30 phút ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng, độ hấp thụ của các dung dịch phản ứng được đo trên thiết bị đọc phiên vi lượng ở bước sóng 517nm. Hoạt chất axit ascorbic (vitamin C) được sử dụng làm đối chứng dương. Kết quả hoạt tính được thể hiện qua giá trị tác dụng thu dọn bán phần (SC_{50}).

Kết quả được chỉ ra trong bảng sau:

Nồng độ chất thử	SC_{50} (μ g/ml)
Trà hòa tan Xạ đen	17,4
Axit ascorbic (vitamin C)	20,6

Kết quả này cho thấy trà hòa tan Xạ đen làm từ cao định chuẩn Xạ đen có tác dụng chống oxy hoá mạnh hơn vitamin C.

Ví dụ 3: Thử nghiệm tác dụng gây độc tế bào ung thư

Tế bào ung thư gan HepG2, ung thư phổi LU-1, ung thư vú MCF-7 và ung thư cổ tử cung HeLa được nuôi giữ trong môi trường DMEM[®] mua từ Wako pure chemicals Ind., Ltd., Osaka, Japan ở tủ ấm 37°C, 5% CO₂, có bổ sung 10% huyết thanh bê BCS, penicillin (100 đơn vị/ml) và streptomycin sulfat (100 µg/ml). Sau đó chúng được cấy chuyển vào phiên 96 giếng với mật độ 2×10^5 tế bào/198µl/giếng và ủ trong 4 giờ. Trà hòa tan Xạ đen được pha trong dung môi dimetyl sulfoxit (DMSO) thành dãy các dung dịch có nồng độ 3000, 1000, 300, 100 và 30µg/ml.

Tiếp đó, 2 µl dung dịch mẫu này được cho vào các giếng của phiên 96 giếng chứa tế bào ung thư đã chuẩn bị ở trên. Sau khi tiếp tục ủ trong 72 giờ, các tế bào được cố định bằng axit tricloaxetic và nhuộm với sulforhodamin B trong 1 giờ. Hút cạn môi trường nuôi cấy, rửa tế bào bằng axit axetic 5% rồi thêm vào 100 µl dung dịch Tris base 10 mM (nhãn hiệu đã đăng ký) và lắc nhẹ trong 10 phút. Độ hấp thụ của các dung dịch phản ứng được đo trên thiết bị đọc phiên vi lượng ở bước sóng 515nm. Kết quả hoạt tính được thể hiện qua giá trị ức chế bán phần (IC₅₀).

Kết quả được chỉ ra trong bảng sau:

Chất thử	Giá trị IC ₅₀ (µg/ml)			
	HepG2	LU-1	MCF-7	HeLa
Trà hòa tan Xạ đen	35,4	28,50	8,3	19,64
Cao chiết bột lá xạ đen trong metanol (Cao cô đặc I)	77,36	(không xác định được)	9,98	75,28

Kết quả này cho thấy sản phẩm trà hòa tan Xạ đen từ cao định chuẩn Xạ đen có tác dụng gây độc tế bào ung thư mạnh và mạnh hơn so với cao chiết metanol từ lá cây xạ đen vốn chứa nhiều thành phần hoá học khác nhau.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Sáng chế đã đề xuất thành công quy trình sản xuất trà hòa tan Xạ đen. Trà hòa tan Xạ đen theo sáng chế có tác dụng diệt, thu dọn gốc tự do mạnh, có thể được sử dụng để làm chất chống oxy hoá, tăng cường sức khỏe, chống lão hoá. Ngoài ra sản phẩm này còn có tác dụng gây độc tế bào ung thư mạnh trên các dòng tế bào ung thư gan, phổi, vú và cổ tử cung nên có thể được sử dụng trong điều trị ung thư.

Hiện nay, 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. Sáng chế này đã sản xuất ra sản phẩm có hiệu quả, giá thành rẻ do được sản xuất trong nước sẽ đáp ứng được mong đợi của thị trường. Nhân văn hơn là số bệnh nhân ung thư được điều trị sẽ tăng lên nhiều lần khi giá thành của sản phẩm rẻ, phù hợp với túi tiền của bệnh nhân nghèo và phù hợp với nền kinh tế của nước ta hiện nay.

Yêu cầu bảo hộ

1. Quy trình sản xuất trà hòa tan Xạ đen (*Ehretia asperula* Zoll. & Mor.) từ cao định chuẩn Xạ đen bao gồm các bước:

(i) nghiền các nguyên liệu cao định chuẩn Xạ đen và lactoza thành dạng bột, rây qua rây cỡ 0,5 mm;

(ii) trộn bột kép cao định chuẩn Xạ đen và tá dược ở bước (i) theo kỹ thuật trộn đồng lượng trong máy trộn lập phương để đảm bảo các chất được phân phối đồng đều, thời gian trộn là 30 phút;

(iii) tạo hạt ướt bằng cách trộn hỗn hợp bột với cồn thực phẩm 70°, nhào trộn đồng nhất thành khối ẩm đủ để xát hạt qua cỡ rây 1,2 mm, tốc độ 70 vòng/phút;

(iv) sấy hạt các hạt ướt thu được ở bước (iii) bằng cách rải lên khay sấy, sấy khô ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 1 giờ;

(v) xát nhẹ hạt sau khi sấy xong qua rây 2mm để tạo ra được khối hạt có kích thước đồng nhất hơn;

(vi) đóng gói bằng máy đóng gói bán tự động, trong đó máy phải được vệ sinh bằng cồn 70° trước ca đóng gói 30 phút, và điều chỉnh tốc độ bơm, khối lượng bơm, thời gian ngắt bơm để đạt khối lượng theo yêu cầu, kiểm soát khối lượng gói trong suốt quá trình đóng gói theo cách cứ 30 phút lấy 10 gói kiểm tra khối lượng ghi vào hồ sơ lô, và lấy mẫu kiểm nghiệm bán thành phẩm theo tiêu chuẩn cơ sở sau khi có kết quả kiểm nghiệm đạt mới được đưa vào giai đoạn đóng gói;

(vii) dán nhãn và đóng hộp.

Hình 1

