



(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)



2-0003951

(51) **B82Y 5/00**
2024.01

(13) **Y**

(21) 2-2024-00512

(22) 05/04/2021

(67) 1-2021-01825

(45) 27/01/2025 442

(43) 25/10/2022 415

(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); LƯU HẢI LÂN (VN); LƯU HẢI
LONG (VN).

(54) QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ HỆ TIỀN VI NHỮ NANO LUTEIN

(21) 2-2024-00512

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ tiền vi nhũ nano lutein, quy trình này bao gồm các bước:

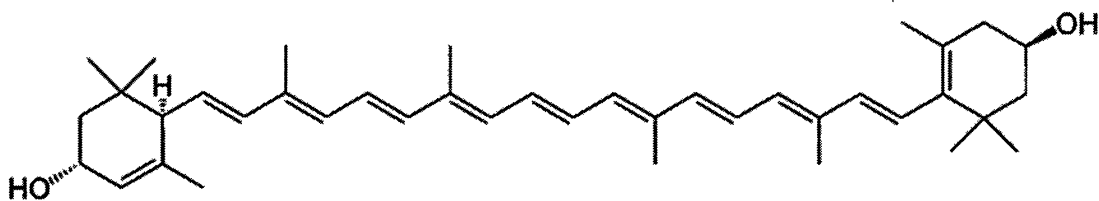
- i) chuẩn bị pha phân tán chứa lutein;
- ii) chuẩn bị hỗn hợp chất mang PEG/tween;
- iii) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang PEG/tween và chất nhũ hóa lecithin;
- iv) đồng hóa hỗn hợp; và
- v) lọc hỗn hợp bằng lưới lọc để tạo hệ tiền vi nhũ nano lutein.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ tiền vi nhũ nano lutein.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Lutein (danh pháp IUPAC: β , ϵ -carotene-3,3'-diol), là hợp chất có công thức phân tử $C_{40}H_{56}O_2$ với cấu trúc hóa học sau đây.



Lutein

Lutein là một loại hợp chất carotenoit được tìm thấy trong rau quả có chức năng hình thành nên màu sắc rau củ và có thể dùng làm dược liệu với mục đích ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh và bảo vệ cơ thể. Lutein là loại sắc tố màu vàng cam, ở trong thực vật được tìm thấy ở các loại cải xoăn, v.v. Lutein có thể được tìm thấy trong mắt và da với số lượng lớn trong vùng điểm vàng của mắt nhưng lại không thể được tổng hợp bởi cơ thể con người. Lutein còn đóng vai trò quan trọng trong sức khỏe của não và giúp ngăn ngừa sự suy giảm nhận thức. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng sử dụng nhiều lá xanh đậm giàu chất như lutein có thể duy trì tầm nhìn khỏe mạnh và giữ nhận thức tuổi già. Cơ thể không tự sản xuất được lutein vì vậy phải bổ sung từ chế độ ăn uống. Lutein là một chất oxy hóa mạnh có tác dụng lên các bệnh như xơ cứng động mạch, đục thủy tinh thể, vông mạc, tiểu đường, ung thư, v.v. Việc bổ sung lutein là rất cần thiết, tuy nhiên lutein lại có nhược điểm rất lớn là không tan được trong nước, chính điều này làm cho tính sinh khả dụng của lutein rất thấp. Vì vậy, cải thiện khả năng hấp thu lutein là một vấn đề đặt ra để tăng hiệu quả tác dụng của lutein. Có nhiều phương pháp để làm tăng khả năng hấp thu lutein trong cơ thể, tuy nhiên với sự phát triển của nền khoa học thế

giới thì việc nano hóa các hợp chất tự nhiên có hoạt tính cao kết hợp các thiết bị máy móc hiện đại là một bước tiến vượt bậc trong công nghệ.

Tác giả Aelson Aloir Santana Brum và cộng sự trong công bố "*Lutein-loaded lipid-core nanocapsules: Physicochemical characterization and stability evaluation*" đã chỉ ra khi nano lutein được bọc trong viên nang thì độ tan của lutein trong nước được cải thiện đồng thời hỗn hợp có tính ổn định ở nhiều nhiệt độ khác nhau. Kích thước của hạt nano lutein thu được nằm trong khoảng 192 nm.

Tác giả Lisha Zhao và cộng sự trong công bố "*Encapsulation of lutein in liposomes using supercritical carbon dioxide*" đã đánh giá việc sử dụng liposom bằng CO₂ siêu tới hạn để đóng gói lutein. Kích thước hạt lutein thu được nằm trong khoảng 147 đến 195 nm với độ ổn định cao.

Tác giả Isahni và cộng sự trong công bố "*Nutraceutical approach to enhance lutein bioavailability via nanodelivery systems*" đã đề xuất các phương pháp nano hóa lutein để tăng độ ổn định và hiệu quả giải phóng thuốc. Các phương pháp đã tổng hợp ra được hạt nano kích thước nhỏ dưới 70 nm với hiệu suất lên tới 99,5%.

Mặc dù đã có nhiều giải pháp tạo ra hệ vi nhũ nano lutein và đã tạo ra các hiệu quả trên thực tiễn khi áp dụng. Tuy nhiên, vẫn có nhu cầu điều chế hệ vi nhũ nano lutein có kích thước nhỏ hơn nữa, mà giúp làm tăng khả năng hấp thu lutein trong cơ thể, qua đó tăng tác dụng hiệu quả của lutein, tốt hơn nữa nếu hệ vi nhũ tương lutein phân tán trong nước bao gồm các hạt hình cầu có kích thước từ 30 đến 50 nm. Tốt hơn nữa nếu quy trình điều chế này còn cho phép tạo ra hệ vi nhũ nano lutein với hàm lượng cao, đạt đến 5,01g/100g mẫu. Tốt hơn nữa nếu mẫu lutein chế tạo còn được đạt các chỉ tiêu về an toàn thực phẩm.

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 lutein.

Mục đích khác nữa của giải pháp hữu ích là đề xuất quy trình điều chế hệ vi nhũ tương lutein phân tán trong nước bao gồm các hạt hình cầu có kích thước từ 30 đến 50

nm. Tốt hơn nữa nếu quy trình điều chế này còn cho phép tạo ra hệ vi nhũ nano lutein với hàm lượng cao, đạt đến 5,01 g/100 g mẫu. Tốt hơn nữa nếu, mẫu lutein chế tạo được đạt các chỉ tiêu về an toàn thực phẩm.

Để đạt được các mục đích trên đây, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình điều chế hệ tiền vi nhũ nano lutein, quy trình này bao gồm các bước:

i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách hòa tan lutein trong dung môi etanol theo tỷ lệ (g/mL) là 1:20 kèm khuấy, trong thời gian 12 giờ, tốc độ từ 800 đến 1000 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ từ 40 đến 50°C đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất;

ii) chuẩn bị hỗn hợp chất mang PEG/tween 80 bằng cách trộn hỗn hợp polyetylen glycol 400 (PEG 400) và tween 80 theo tỷ lệ (g/g) là 3:1, phân tán đều dưới kiểu khuấy trong thời gian 3 giờ ở nhiệt độ phòng;

iii) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang PEG/tween 80 và chất nhũ hóa lecithin sao cho các chất lutein, PEG/tween 80 và lecithin trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ (g/g/g) của lutein: PEG:tween 80:lecithin là 1/6/2/1 trong 12 giờ ở nhiệt độ phòng;

vi) tạo hệ vi nhũ tương nano lutein bằng cách để hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước iii) qua đêm ở nhiệt độ phòng, tiếp theo tiến hành đồng hóa với tốc độ 3000 vòng/phút và lặp lại đồng hóa 5 lần; và

v) lọc hỗn hợp thu được ở bước vi) bằng lưới lọc kích thước 0,2 micromet thu được hệ tiền vi nhũ nano lutein.

Theo một phương án, bước i) được thực hiện trên máy khuấy từ.

Theo phương án khác, bước ii) được thực hiện trên máy rung siêu âm.

Theo phương án khác nữa, bước iii) được hiện hiện trong thiết bị tạo nhũ.

Theo phương án khác nữa, hàm lượng nano lutein trong mẫu thu được đạt 5,01g/100g.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là Hình ảnh và kích thước tiểu phân lutein chụp bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (Transmission Electron Microscopy - TEM).

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích mô tả chi tiết các phương án cụ thể, tuy nhiên, các phương án này chỉ nhằm mục đích mô tả chi tiết giải pháp hữu ích, chứ không nhằm mục đích hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ giải pháp hữu ích.

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano lutein, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho lutein hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ là 5:100 (g/mL) trên máy khuấy từ trong thời gian 12 giờ, tốc độ từ 800 đến 1000 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ từ 40 đến 50°C đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất.

Do lutein là chất tan trong dầu, do đó để có thể tạo ra hỗn hợp vi nhũ ổn định thì lutein theo giải pháp hữu ích được hoàn tan trong etanol.

ii) chuẩn bị hỗn hợp chất mang PEG/tween 80 bằng cách trộn hỗn hợp PEG 400 và tween 80 theo tỷ lệ 30:10 (g/g) được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 3 giờ ở nhiệt độ phòng.

Polyetylen glycol (PEG) là sản phẩm được làm từ etylen oxit và nước có thể chứa các dẫn xuất khác nhau và có chức năng khác nhau. PEG 400 là một loại polyetylen glycol có trọng lượng phân tử thấp. Nó là một chất lỏng trong suốt, không màu, nhớt. PEG "400" chỉ ra rằng trọng lượng phân tử trung bình của PEG, cụ thể là 400. PEG 400 là chất hoạt động bề mặt phổ biến và an toàn thường được sử dụng trong các nghiên cứu chế tạo hệ nhũ tương, vi nhũ.

Tween 80, hay Polysorbate 80, polyoxyetylen (20) sorbitan monooleat, hoặc các tên gọi khác, là hợp chất có nguồn gốc từ polyethoxylatedsorbitan và axit oleic.

Cùng với chất trợ phân tán là tween 80, hỗn hợp PEG/tween theo giải pháp hữu ích là hỗn hợp giúp tạo ra hệ vi nhũ ổn định và tăng khả năng hòa tan cho hoạt chất.

iii) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang PEG/tween 80 và chất nhũ hóa lecithin sao cho các chất lutein, PEG/tween 80 và lecithin trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ lutein: PEG:tween 80:lecithin là 5:30:10:5 (g/g/g/g) vào thiết bị tạo nhũ trong 12 giờ ở nhiệt độ phòng.

Hỗn hợp chất phân tán pha dầu được trộn với môi trường phân tán để hình thành hệ nhũ tương dầu nước. Tỷ lệ các hoạt chất trong bước này, thông qua rất nhiều các nghiên cứu sâu rộng, không chỉ giúp tạo thuận lợi trong việc tạo ra hỗn hợp đồng nhất mà còn giúp tăng hàm lượng lutein trong sản phẩm cuối thu được.

iv) tạo hệ vi nhũ tương nano lutein bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước iii), ở nhiệt độ phòng, đem đi đồng hóa với tốc độ 3000 vòng/phút và lặp lại đồng hóa 5 lần.

Để đảm bảo tính ổn định cho hệ vi nhũ, theo giải pháp hữu ích hệ được tiến hành đồng hóa ở nhiệt độ thường, trong vòng 5 chu kỳ.

iv) lọc hỗn hợp thu được ở bước iv) bằng lưới lọc kích thước 0,2 micromet thu được hệ tiền vi nhũ nano lutein.

Theo một phương án, hỗn hợp được đem ly tâm để loại bỏ phần hoạt chất còn dư không tan.

Sản phẩm thu được được tiến hành kiểm tra các đặc tính.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1: Điều chế hệ vi nhũ tương nano lutein

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho 5 g lutein hòa tan trong dung môi 100 mL etanol trên máy khuấy từ trong thời gian 12 giờ, tốc độ từ 800 đến 1000 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ từ 40 đến 50°C đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất, thu được pha phân tán;

Chuẩn bị hỗn hợp chất mang bằng cách trộn hỗn hợp 30 g PEG 400 và 10 g tween 80 được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 5 giờ ở nhiệt độ phòng;

Tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang PEG/tween và chất nhũ hóa lecithin sao cho các chất lutein, PEG/tween và lecithin trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ lutein:PEG: tween:lecithin là 5:30:10:5 (g/g/g/g) và thiết bị tạo nhũ trong 12 giờ ở nhiệt độ phòng.

Tạo hệ vi nhũ tương nano lutein bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất ở nhiệt độ phòng, đem đi đồng hóa với tốc độ 3000 vòng/ phút và lặp lại đồng hóa 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano lutein.

Lọc hỗn hợp thu được ở bước trên bằng lưới lọc kích thước 0,2 micromet thu được hệ tiền vi nhũ nano lutein.

Ví dụ 2: Đặc tính của mẫu thu được

Sản phẩm tạo thành được tiến hành kiểm tra với các phương pháp phân tích hiện đại. Kết quả phân tích như sau:

Kết quả đo HR-TEM

Hệ vi nhũ tương lutein phân tán trong nước gồm các hạt hình cầu có kích thước từ 30 – 50 nm (Hình 1).

Kết quả phân tích hàm lượng

Hàm lượng của nano lutein trong mẫu được đo bằng HPLC. Hàm lượng nano lutein tính toán dựa trên kết quả định lượng đạt 5,01g/100g

Kết quả phân tích chỉ tiêu hóa lý và vi sinh vật

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

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp thử	Kết quả
10.1	Tổng vi sinh vật hiếu khí	CFU/mL	ISO 4833-1:2013	KPH (LOD:1 CFU/mL)
10.2	<i>Cl. Perfringens</i>	CFU/mL	TCVN 4991:2005	KPH (LOD:1 CFU/mL)

10.3	Coliforms	CFU/mL	TCVN 6848:2007	KPH (LOD:1 CFU/mL)
10.4	<i>E. coli</i>	CFU/mL	TCVN 7924 -2:2008	KPH (LOD:1CFU/mL)
10.5	Tổng số bào tử mầm men-mốc		TCVN 8275-1:2010	KPH (LOD:1 CFU/mL)
10.6	Hàm lượng Cadmi	mg/kg	H.HD.QT.429(ICP- MS)	KPH (LOD:0,004 mg/kg)
10.7	Hàm lượng Chì	mg/kg	H.HD.QT.429(ICP- MS)	0,029
10.8	Độ pH	-	H.HD.QT.070	8,32
10.9	Tỷ trọng	g/mL	NIFC.05.M.197	1,056

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

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Đã điều chế thành công hệ tiền vi nhũ nano lutein tan trong nước và có chứa các tiểu phân nano lutein, đáp ứng yêu cầu của quá trình vận chuyển các hạt tiểu phân lutein tới đích mong muốn. Hoạt tính chống oxy hóa của lutein được tăng lên khi lutein ở dạng nano.

Ngoài ra, giải pháp hữu ích đã thành công trong việc tạo ra hệ vi nhũ tương lutein phân tán trong nước bao gồm các hạt hình cầu có kích thước từ 30 đến 50 nm. Hơn nữa, quy trình này còn cho phép tạo ra hệ vi nhũ nano lutein với hàm lượng cao, đạt đến 5,01g/100g mẫu.

Yêu cầu bảo hộ

1. Quy trình điều chế hệ tiền vi nhũ nano lutein, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách hòa tan lutein trong dung môi etanol theo tỷ lệ (g/mL) là 1:20 kèm khuấy, trong thời gian 12 giờ, tốc độ từ 800 đến 1000 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ từ 40 đến 50°C đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất;

ii) chuẩn bị hỗn hợp chất mang PEG/tween 80 bằng cách trộn hỗn hợp polyetylen glycol 400 (PEG 400) và tween 80 theo tỷ lệ (g/g) là 3:1, phân tán đều dưới kiểu kiện rung trong thời gian 3 giờ ở nhiệt độ phòng;

iii) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang PEG/tween 80 và chất nhũ hóa lecithin sao cho các chất lutein, PEG/tween 80 và lecithin trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ (g/g/g/g) của lutein: PEG:tween 80:lecithin là 1/6/2/1 trong 12 giờ ở nhiệt độ phòng;

vi) tạo hệ vi nhũ tương nano lutein bằng cách để hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước iii) qua đêm ở nhiệt độ phòng, sau đó tiến hành đồng hóa với tốc độ 3000 vòng/phút và lặp lại đồng hóa 5 lần; và

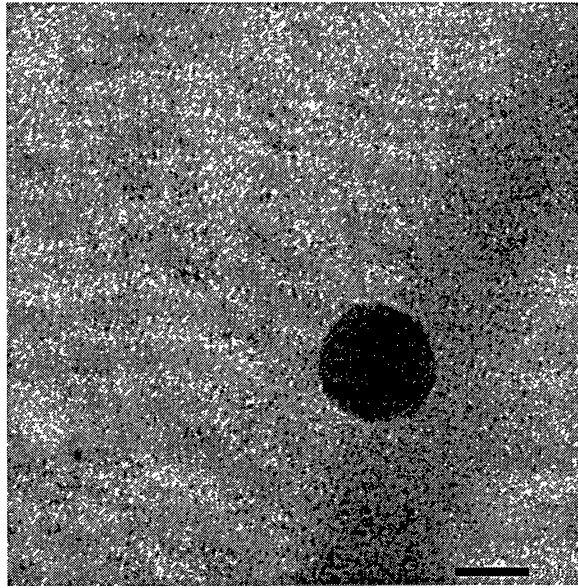
v) lọc hỗn hợp thu được ở bước iv) bằng lưới lọc kích thước 0,2 micromet thu được hệ tiền vi nhũ nano lutein.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó bước i) được thực hiện trên máy khuấy từ.

3. Quy trình theo điểm 1 hoặc 2, trong đó bước ii) được thực hiện trên máy rung siêu âm.

4. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó bước iii) được hiện hiện trong thiết bị tạo nhũ.

5. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó hàm lượng nano lutein trong mẫu thu được đạt 5,01g/100g.



Hình 1