



(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)



2-0003967

(51) **A61K 9/107; A61K 9/10**
2024.01

(13) **Y**

(21) 2-2024-00516

(22) 11/06/2021

(67) 1-2021-03487

(45) 25/02/2025 443

(43) 26/12/2022 417A1

(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); BÙI THỊ THU HƯƠNG (VN).

(54) QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ HỆ VI NHỮ TƯƠNG NANO LIPOSOM KAEMPFEROL

(21) 2-2024-00516

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ nano liposom kaempferol, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

- i) chuẩn bị pha phân tán kaempferol;
- ii) chuẩn bị hỗn hợp chất mang phytosolve/miglyol 812/polyetylen glycol;
- iii) tạo hỗn hợp tiền nhũ bằng cách trộn pha phân tán và hỗn hợp chất mang phytosolve/miglyol 812/polyetylen glycol;
- iv) tạo màng lipid trong thiết bị cô quay chân không;
- v) hydrat hóa màng lipid bằng nước khử ion;
- vi) giảm kích thước hạt bằng thiết bị đồng hóa; và
- vii) lọc hệ vi nhũ nano liposom kaempferol.

Quy trình theo sáng chế cho phép tạo ra hàm lượng của nano liposom kaempferol trong mẫu thành phẩm đạt 2,85g/100g và hoàn toàn không có sự kết khối, tạo ra các tập hợp hạt ở vùng kích thước lớn hơn, nhờ đó cho phép khẳng định các tiểu phân nano phân tán đồng đều, kích thước hạt trung bình khoảng 20 đến 40 nm, và khả năng hòa tan tốt trong nước. Ngoài ra, các chất được sử dụng trong quy trình điều chế hệ nhũ tương nano liposom kaempferol phân tán tốt trong nước có độ an toàn cao, không độc hại và ít tác dụng phụ, nên hệ nhũ tương nano liposom kaempferol thu được từ quy trình theo sáng chế có độ an toàn cao khi sử dụng. Mẫu nano kaempferol sau khi chế tạo được kiểm tra và xác định đạt các chỉ tiêu về an toàn thực phẩm và các tiêu chuẩn về vi sinh vật-hóa lý.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ nano liposom kaempferol bao gồm các bước:

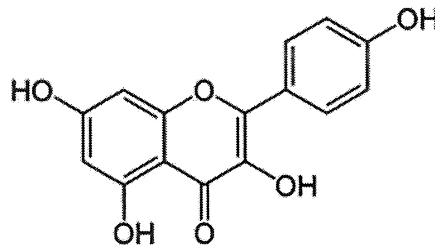
- i) chuẩn bị pha phân tán kaempferol;
- ii) chuẩn bị hỗn hợp chất mang phytosolve/miglyol 812/polyetylen glycol;
- iii) tạo hỗn hợp tiền nhũ bằng cách trộn pha phân tán và hỗn hợp chất mang phytosolve/miglyol 812/polyetylen glycol;
- iv) tạo màng lipid trong thiết bị cô quay chân không;
- v) hydrat hóa màng lipid bằng nước khử ion;
- vi) giảm kích thước hạt bằng thiết bị đồng hóa; và
- vii) lọc hệ vi nhũ nano liposom kaempferol.

Quy trình theo sáng chế cho phép tạo ra hàm lượng của nano liposom kaempferol trong mẫu thành phẩm đạt 2,85g/100g và hoàn toàn không có sự kết khối, tạo ra các tập hợp hạt ở vùng kích thước lớn hơn, nhờ đó cho phép khẳng định các tiểu phân nano phân tán đồng đều, kích thước hạt trung bình khoảng 20 đến 40 nm, và khả năng hòa tan tốt trong nước. Ngoài ra, các chất được sử dụng trong quy trình điều chế hệ nhũ tương nano liposom kaempferol phân tán tốt trong nước có độ an toàn cao, không độc hại và ít tác dụng phụ, nên hệ nhũ tương nano liposom kaempferol thu được từ quy trình theo sáng chế có độ an toàn cao khi sử dụng. Mẫu nano kaempferol sau khi chế tạo được kiểm tra và xác định đạt các chỉ tiêu về an toàn thực phẩm và các tiêu chuẩn về vi sinh vật-hóa lý. Hơn nữa, quy trình theo sáng chế đơn giản, dễ thực hiện và phù hợp với các điều kiện thực tế hiện nay của nước ta.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Kaempferol (danh pháp tiếng Anh: 3,4', 5,7-tetrahydroxyflavone) là một flavonol tự nhiên có trong các loài thực vật khác nhau, được tìm thấy nhiều trong các loại cây ăn được (bông cải xanh, táo, dâu tây và đậu) và các cây thuốc thông thường bao gồm nha

đam, *Ginkgo biloba*, *Rosmarinus officinalis*, *Crocus sativus* L., *Hypericum perforatum* L., *Equisetum* spp. (Calderon-Montano và cộng sự, 2011; Sultana và Anwar, 2008). Kaempferol có công thức phân tử là $C_{15}H_{10}O_6$ và cấu trúc như sau:



Kaempferol

Nhiều nghiên cứu đã mô tả tác dụng có lợi của kaempferol trong việc giảm nguy cơ mắc các bệnh mãn tính, đặc biệt là ung thư. Các nghiên cứu dịch tễ học đã chỉ ra mối quan hệ tỷ lệ nghịch giữa lượng kaempferol và ung thư. Các tác dụng trên được giải thích do kaempferol có khả năng tăng cường khả năng chống oxy hóa của cơ thể thông qua hoạt động ngăn chặn các gốc tự do (nguyên nhân thúc đẩy sự phát triển của ung thư). Ở cấp độ phân tử, kaempferol đã được chứng minh có khả năng làm thay đổi tín hiệu tế bào liên quan đến quá trình apoptosis. Sự thay đổi tín hiệu này gây ức chế sự phát triển và hình thành mạch và gây ra quá trình tự chết của tế bào ung thư. Mặt khác, kaempferol không ảnh hưởng đến sự phát triển của tế bào thường, trong một số nghiên cứu còn cho thấy kaempferol có tác dụng bảo vệ các tế bào lành tính.

Mặc dù có những hiệu quả dược lý đầy hứa hẹn, nhưng tiềm năng điều trị của kaempferol bị hạn chế phần lớn do sinh khả dụng đường uống thấp. Sinh khả dụng thấp của kaempferol có thể là do các đặc tính hóa lý không mong muốn của các sản phẩm tự nhiên như khả năng tan trong nước thấp, dễ bị phân hủy bởi ánh sáng, nhiệt độ, không ổn định trong dịch tiêu hóa (GI) và chuyển hóa rộng rãi trong cơ thể nên nhanh chóng bị đào thải ra khỏi cơ thể. Do đó, cần tăng thời gian tuần hoàn của hoạt chất kaempferol trong cơ thể để tăng tính sinh khả dụng của hợp chất này.

Luo và các cộng sự đã bao gói hoạt chất kaempferol bằng hai loại nano polyme khác nhau là poly(etylen oxit)-poly(propylen oxit)-poly(etylen oxit) (PEO-PPO-PEO) và poly(axit DL-axit lactic-co-glycolic) (poly(DL-lactic-co-glycolic acid) - PLGA). Cả

hai dạng đóng gói đều làm tăng tính sinh khả dụng của hoạt chất kaempferol. Phương pháp này có ưu điểm là tạo ra các hạt nano kaempferol tan trong nước. Tuy nhiên, vật liệu polyme dùng để bao gói kaempferol giá thành cao.

Liu Wei Chen và các cộng sự đã sử dụng phương pháp đồng hóa áp suất cao để tạo hệ vi nhũ tương kaempferol. Phương pháp có ưu điểm tạo ra được các hạt vi nhũ có kích thước bé. Tuy nhiên, phương pháp cần thiết bị phức tạp, giá thành cao.

John Patrick Mccook và các cộng sự trong công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Trung Quốc số CN107496186A mô tả phương pháp tạo hệ vi nhũ bằng cách trộn hỗn hợp các chất tạo nhũ, chất trợ nhũ. Phương pháp này có ưu điểm là đơn giản và các hạt nano kaempferol tan trong nước có kích thước dưới 100 nm. Nhược điểm của phương pháp này là hệ nhũ tương có thời gian ổn định ngắn, dễ bị biến đổi trong các môi trường pH khác nhau.

Như được mô tả trên đây, có thể thấy rằng đã có rất nhiều phương pháp chuyển hóa kaempferol thành các hạt nano làm tăng khả năng hòa tan và hấp thụ qua đường tiêu hóa. Mỗi phương pháp có những ưu-nhược điểm riêng.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là làm tăng tính sinh khả dụng của dược chất kaempferol.

Mục đích khác của sáng chế là tạo ra kaempferol dạng các tiểu phân nano có kích thước nhỏ hơn (dưới 50 nm).

Mục đích khác nữa của sáng chế là đề xuất quy trình cho phép tạo hệ nhũ tương nano liposom kaempferol ở dạng tiểu phân tử hình cầu có kích thước nano, có lõi chứa các hoạt chất, được bao bọc phía ngoài bởi một hoặc nhiều lớp màng phospholipit kép, trong đó các dược chất được bao trong lớp phospholipit nên khả năng hòa tan tốt, thời gian lưu lại trong cơ thể được kéo dài, tránh được sự đào thải của cơ quan gan và thận nên tính sinh khả dụng được cải thiện.

Mục đích khác nữa của sáng chế là tạo ra hệ nhũ tương nano liposom kaempferol được tạo thành dùng qua đường miệng chứa các hạt vi nhũ nhỏ hơn 50 nm tan tốt trong nước, đó đó làm tăng sự hấp thụ thuốc ở đường tiêu hóa, trong đó hệ nhũ tương nano liposom này có ưu điểm là tính chất hóa lý ổn định, thời gian dự trữ lâu. Với những ưu

điểm trên, quy trình điều chế hệ nhũ tương nano liposom theo sáng chế được xem là có khả năng ứng dụng trong công nghệ thực phẩm, dược phẩm.

Để đạt được các mục đích trên đây, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hệ nhũ tương nano liposom kaempferol bao gồm các bước:

i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách hòa tan một lượng kaempferol vào dung dịch etanol với tỷ lệ khối lượng/thể tích của kaempferol/etanol là từ (1:70) đến (1:90) trong thời gian từ 10 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng;

ii) chuẩn bị hỗn hợp chất mang bao gồm phytosolve, miglyol 812, và polyetylen glycol, trong đó:

hỗn hợp này được chuẩn bị bằng cách trộn một lượng phytosolve, miglyol 812 và polyetylen glycol theo tỷ lệ khối lượng của phytosolve/miglyol 812/polyetylen glycol khoảng 3:1:1, và

bổ sung hỗn hợp trên đây vào etanol theo tỷ lệ khối lượng/thể tích khoảng 1:4 trên máy khuấy trong thời gian từ 20 đến 40 phút với tốc độ quay từ 350 đến 450 vòng/phút ở nhiệt độ từ 45 đến 55°C;

iii) tạo hỗn hợp tiền nhũ bằng cách trộn pha phân tán và hỗn hợp chất mang theo tỷ lệ khối lượng của kaempferol/hỗn hợp chất mang khoảng 1:10 trong thời gian từ 30 đến 60 phút với tốc độ 550 đến 650 vòng/phút ở nhiệt độ từ 45 đến 55°C;

iv) tạo màng lipid bằng cách sấy hỗn hợp tiền nhũ dưới điều kiện chân không ở áp suất chân không với nhiệt độ từ 40 đến 55°C trong 18 đến 30 giờ;

v) hydrat hóa màng lipid bằng cách bổ sung một lượng nước cất khử ion vào hỗn hợp tạo màng lipid theo tỷ lệ khối lượng nước/hỗn hợp tiền nhũ khoảng 5:1 dưới điều kiện ở nhiệt độ từ 40 đến 55°C trong 40 đến 60 phút;

vi) giảm kích thước hạt liposom bằng cách đồng hóa dung dịch sau hydrat với tốc độ từ 9000 đến 12000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng trong thời gian từ 25 đến 40 phút, lặp lại quá trình từ 4 đến 6 lần; và

vii) lọc hệ nhũ tương nano liposom sau khi đồng hóa qua màng lọc có kích thước từ 40 đến 60 μm để thu được hệ nhũ tương liposom kaempferol dạng lỏng có kích thước nano.

Theo một phương án, bước i) chuẩn bị pha phân tán được thực hiện bằng cách hòa tan một lượng kaempferol vào dung dịch etanol với tỷ lệ (g/mL) của kaempferol/etanol là 1:80 trên máy siêu âm trong thời gian 15 phút ở nhiệt độ phòng.

Theo phương án khác, bước ii) chuẩn bị hỗn hợp chất mang được thực hiện bằng cách trộn một lượng phytosolve, miglyol 812 và polyetylen glycol theo tỷ lệ (g/g/g) là 3:1:1 vào 20 mL etanol trên máy khuấy trong thời gian 30 phút với tốc độ quay 400 vòng/phút ở 50°C.

Theo phương án khác nữa, bước iii) tạo hỗn hợp tiền nhũ được thực hiện bằng cách trộn pha phân tán và hỗn hợp chất mang theo tỷ lệ (g/g) của kaempferol/hỗn hợp chất mang là 1:10 trên máy khuấy trong thời gian 45 phút với tốc độ 600 vòng/phút ở nhiệt độ 50°C.

Theo phương án khác nữa, bước iv) tạo màng lipid được thực hiện bằng cách sấy hỗn hợp tiền nhũ ở áp suất chân không khoảng 80 đến 100 mmHg với nhiệt độ từ 45 đến 50°C trong 24 giờ.

Theo phương án khác nữa, bước iv) được thực hiện trong thiết bị cô quay chân không.

Theo phương án khác nữa, bước v) hydrat hóa màng lipid được thực hiện bằng cách bổ sung một lượng nước cất khử ion vào hỗn hợp tạo màng lipid theo tỷ lệ (g/g) của nước/hỗn hợp tiền nhũ là 5:1 trong thiết bị cô quay ở nhiệt độ từ 45 đến 50°C trong 45 phút.

Theo phương án khác nữa, bước vi) giảm kích thước hạt lyposom được thực hiện bằng cách đồng hóa dung dịch sau hydrat trong thiết bị đồng hóa với tốc độ 10000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng trong thời gian 30 phút, lặp lại quá trình 5 lần.

Mô tả văn tắt hình vẽ

Hình 1 là kết quả phân tích kích thước hạt bằng thiết bị tán xạ ánh sáng động (Dynamic Light Scattering - DLS) của hệ nhũ tương nano liposom kaempferol trong nước theo sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế mô tả chi tiết phương án cụ thể chế tạo hệ nhũ tương nano liposom kaempferol, tuy nhiên phương án này chỉ nhằm mục đích minh họa cho sáng chế, mà không làm giới hạn sáng chế.

Theo một phương án cụ thể được ưu tiên, sáng chế đề cập đến quy trình điều chế hệ nhũ tương nano liposom kaempferol, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

i) chuẩn bị pha phân tán chứa kaempferol

Theo một phương án, chuẩn bị pha phân tán bằng cách hòa tan một lượng kaempferol vào dung dịch etanol với tỷ lệ khối lượng/thể tích của kaempferol/etanol là từ (1:70) đến (1:90) trong thời gian từ 10 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng.

Theo một phương án cụ thể, tốt hơn nếu chuẩn bị pha phân tán chứa kaempferol được thực hiện bằng cách hòa tan một lượng kaempferol vào dung môi etanol với tỷ lệ kaempferol/etanol là 1:80 (g/mL) trên máy siêu âm trong thời gian 15 phút ở nhiệt độ phòng.

Bằng các nghiên cứu sâu rộng về cấu trúc và đặc tính của kaempferol, các tác giả sáng chế đã xác định được tỷ lệ hòa tan kaempferol trong etanol như trên đây là tỷ lệ lựa chọn phù hợp với độ tan của kaempferol trong etanol và thu được chế phẩm có hàm lượng mong muốn.

ii) chuẩn bị hỗn hợp chất mang

Theo một phương án, hỗn hợp chất mang bao gồm phytosolve, miglyol 812, và polyetylen glycol được chuẩn bị bằng cách trộn một lượng phytosolve, miglyol 812 và polyetylen glycol theo tỷ lệ khối lượng của phytosolve/miglyol 812/polyetylen glycol khoảng 3:1:1, và bổ sung hỗn hợp trên đây vào etanol theo tỷ lệ khối lượng/thể tích

khoảng 1:4 trên máy khuấy trong thời gian từ 20 đến 40 phút với tốc độ quay từ 350 đến 450 vòng/phút ở nhiệt độ từ 45 đến 55°C.

Theo một phương án cụ thể, tốt hơn nếu hỗn hợp chất mang bao gồm phytosolve, miglyol 812N và polyetylen glycol được chuẩn bị bằng cách trộn một lượng phytosolve, miglyol 812 và polyetylen glycol theo tỷ lệ 3:1:1 (g/g/g) vào 20 mL etanol trên máy khuấy trong thời gian 30 phút với tốc độ quay 400 vòng/phút ở 50°C.

Tương tự, hỗn hợp chất mang cần được chuẩn bị theo cách thích hợp với pha phân tán. Bằng các nghiên cứu, tác giả sáng chế đã xác định được tỷ lệ các chất như trên để tạo ra hỗn hợp chất mang có chỉ số HLB >12 thích hợp với pha phân tán. Ngoài ra, cần lưu ý rằng, polyetylen glycol được bổ sung vào nhằm tăng độ bền và thời gian tuần hoàn của các hạt liposom trong cơ thể. Đây là một trong các đặc trưng của sáng chế.

Phytosolve, hay phytoSolve®, là thành phần quan trọng để tạo nên lớp vỏ lipit kép của hạt nano liposom. Thành phần chính của phytosolve bao gồm các phospholipit đậu nành không biến đổi gen (non-GMO soybean phospholipids). Hóa chất này có bán sẵn trên thị trường.

Miglyol 812N, hay miglyol®812N, hoặc trong bản mô tả này còn được gọi đơn giản là Miglyol 812, là thành phần làm tăng độ ổn định của hạt liposom. Miglyol 812 là triglyxerit este của axit béo caprylic (C8) và capric (C10) có nguồn gốc từ dầu hạt cọ hoặc dầu dừa bão hòa và glyxerol có nguồn gốc thực vật. Miglyol 812 là triglyxerit chuỗi trung bình (tỷ lệ C8:C10~ 60: 40%). Hóa chất này có bán sẵn trên thị trường.

Polyetylen glycol (Polyethylene Glycol - PEG), là một polyme tổng hợp được tạo bởi quá trình trùng hợp các phân tử etylen oxit, danh pháp IUPAC là polyetylen oxit (PEO) hoặc polyoxyetylen (POE), tùy thuộc vào nguồn gốc hoặc cấu trúc. Công thức phân tử của PEG là $C_{2n}H_{4n+2}O_{n+1}$. PEG là một hoá chất rất an toàn và có khả năng bao bọc tốt, giúp cho cơ thể không đào thải các hoạt chất bên trong, kéo dài thời gian tuần hoàn của dược chất trong cơ thể. Hóa chất này có bán sẵn trên thị trường.

iii) tạo hỗn hợp tiền nhũ bằng cách trộn pha phân tán và hỗn hợp chất mang

Theo một phương án, hỗn hợp tiền nhũ được tạo ra bằng cách trộn pha phân tán và hỗn hợp chất mang theo tỷ lệ khối lượng của kaempferol/hỗn hợp chất mang khoảng 1:10 trong thời gian từ 30 đến 60 phút với tốc độ 550 đến 650 vòng/phút ở nhiệt độ từ 45 đến 55°C.

Theo một phương án cụ thể, tốt hơn nếu hỗn hợp tiền nhũ được tạo ra bằng cách trộn pha phân tán và hỗn hợp chất mang theo tỷ lệ kaempferol/hỗn hợp chất mang là 1:10 (g/g) trên máy khuấy trong thời gian 45 phút với tốc độ 600 vòng/phút ở nhiệt độ 50°C.

Thành phần và điều kiện thực hiện bước này cũng được nghiên cứu chọn lựa để tạo ra hệ lyposom đồng nhất, ổn định và kích thước hạt nhỏ. Tỷ lệ kaempferol/hỗn hợp chất mang được lựa chọn như trên đây cho phép tạo ra hệ lyposom đồng nhất, ổn định và kích thước hạt < 50 nm. Ngoài ra, hỗn hợp chất mang và chất phân tán được phối trộn ở nhiệt độ nóng chảy của các chất mang, tốc độ khuấy và thời gian được duy trì để tạo hỗn hợp đồng nhất.

iv) tạo màng lipit

Theo một phương án, tạo màng lipit được thực hiện bằng cách sấy hỗn hợp tiền nhũ dưới điều kiện chân không ở áp suất chân không với nhiệt độ từ 40 đến 55°C trong 18 đến 30 giờ.

Bước này, theo một phương án cụ thể, tốt hơn là được thực hiện bằng cách sấy hỗn hợp tiền nhũ trong thiết bị cô quay chân không ở áp suất chân không khoảng 80 đến 100 mmHg với nhiệt độ 45-50°C trong 24 giờ. Hỗn hợp được sấy trong thiết bị cô quay chân không để loại bỏ hết dung môi etanol. Nhiệt độ và thời gian đã được tối ưu để đảm bảo màng lipit được tạo thành và không còn dung môi sót lại.

v) hydrat hóa màng lipit

Theo một phương án, bước hydrat hóa màng lipit bằng cách bổ sung một lượng nước cất khử ion vào hỗn hợp tạo màng lipit theo tỷ lệ khối lượng nước/hỗn hợp tiền nhũ khoảng 5:1 dưới điều kiện ở nhiệt độ từ 40 đến 55°C trong 40 đến 60 phút.

Theo phương án khác, bước này được bằng cách bổ sung một lượng nước cất khử ion vào hỗn hợp tạo màng lipit theo tỷ lệ nước/hỗn hợp tiền nhũ là 5:1 (g/g) trong thiết bị cô quay ở nhiệt độ 45-50°C trong 45 phút. Sau khi loại hết dung môi, hỗn dịch lyposom thô được phân tán vào nước để tạo hệ nhũ tương. Tỷ lệ phối trộn đã được nghiên cứu đảm bảo hệ đồng nhất, ổn định, bền trong thời gian dài.

vi) giảm kích thước hạt lyposom

Theo một phương án, bước này được thực hiện bằng cách đồng hóa dung dịch sau hydrat với tốc độ từ 9000 đến 12000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng trong thời gian từ 25 đến 40 phút, lặp lại quá trình từ 4 đến 6 lần. Tốt hơn nữa nếu, bước đồng hóa dung dịch sau hydrat trong thiết bị đồng hóa với tốc độ 10000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng trong thời gian 30 phút, lặp lại quá trình 5 lần. Quá trình đồng hóa được thực hiện với tốc độ khuấy cao giúp chất phân tán phân bố đồng đều trong môi trường phân tán và tạo thành các hạt có kích thước bé. Quá trình được lặp lại nhiều lần giúp hệ phân tán đạt đến kích thước nano.

vii) lọc hệ nhũ tương nano liposom

Hệ nhũ tương nano liposom sau khi đồng hóa được lọc qua màng lọc có kích thước 40-60 μm để loại bỏ các tạp chất rắn làm sạch nhũ tương, tăng sự ổn định và đồng nhất hệ vi nhũ. Kết quả thu được hệ nhũ tương liposom kaempferol dạng lỏng có kích thước nano.

Mẫu nhũ tương nano kaempferol dạng dung dịch phân tán trong dung môi nước thu được theo sáng chế được tiến hành phân tích bằng thiết bị tán xạ ánh sáng động (Dynamic Light Scattering - DLS). Kết quả DLS, như được thể hiện trong Hình 1, cho thấy hệ nhũ tương nano liposom kaempferol phân tán tốt trong nước, có chứa các hạt nano kaempferol hình cầu có đường kính khoảng 20 đến 40 nm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế còn được mô tả thông qua các ví dụ chỉ với mục đích minh họa cho sáng chế.

Ví dụ 1: Chế tạo hệ nhũ tương nano liposom kaempferol

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách hòa tan 2g kaempferol vào 160mL etanol trên trên máy siêu âm trong thời gian 15 phút ở nhiệt độ phòng.

Chuẩn bị hỗn hợp chất mang phytosolve/miglyol 812/polyetylen glycol bằng cách trộn lượng 12g phytosolve, 4g miglyol 812 và 4g polyetylen glycol vào 80mL etanol trên máy khuấy trong thời gian 30 phút với tốc độ quay 400 vòng/phút ở 50°C.

Tiếp theo, tạo hỗn hợp tiền nhũ bằng cách trộn 160 mL pha phân tán và 80 mL hỗn hợp chất mang trên đây trên máy khuấy trong thời gian 45 phút với tốc độ 600 vòng/phút ở nhiệt độ 50°C.

Sau đó, tạo màng lipit bằng cách sấy hỗn hợp tiền nhũ trong thiết bị cô quay chân không ở áp suất chân không với nhiệt độ 45-50°C trong 24 giờ.

Sau khi sấy, hỗn hợp được hydrat hóa màng lipit bằng cách bổ sung 110 g nước cất khử ion vào hỗn hợp tạo màng lipit trong thiết bị cô quay ở nhiệt độ 45-50°C trong 45 phút.

Tiếp theo, giảm kích thước hạt liposom bằng cách đồng hóa dung dịch sau hydrat trong thiết bị đồng hóa với tốc độ 10000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng trong thời gian 30 phút, lặp lại quá trình 5 lần.

Cuối cùng, lọc hệ nhũ tương nano liposom sau khi đồng hóa qua màng lọc có kích thước 40-60 μm để loại bỏ các tạp chất rắn làm sạch nhũ tương, tăng sự ổn định và đồng nhất hệ vi nhũ. Kết quả thu được 100 g hệ nhũ tương liposom kaempferol dạng lỏng có kích thước nano.

Các ví dụ khác có thể thực hiện theo cách tương tự chỉ bằng cách thay đổi tỷ lệ và điều kiện thực hiện như được mô tả trên đây.

Ví dụ 2: Đặc tính của hệ nhũ tương nano kaempferol

Sau khi thu được sản phẩm, tiến hành kiểm tra với các phương pháp phân tích hiện đại để thu được các kết quả như sau.

1. Kết quả phân tích hàm lượng

Hàm lượng của nano liposom kaempferol trong mẫu được đo bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Kết quả định lượng cho thấy hàm lượng kaempferol trong mẫu phân tích đạt 2,85 g/100 g.

2. Kết quả đo HR-TEM

Mẫu nhũ tương nano liposom kaempferol được pha loãng và phân tích bằng thiết bị tán xạ ánh sáng động (Dynamic Light Scattering - DLS). Kết quả phân tích DLS, như được thể hiện trong Hình 1, cho một pic duy nhất, hoàn toàn không có sự kết khối, tạo ra các tập hợp hạt ở vùng kích thước lớn hơn, cho phép khẳng định các tiểu phân nano phân tán đồng đều, kích thước hạt trung bình khoảng 20 - 40 nm.

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

Mẫu nano kaempferol 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:

TT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp thử	Kết quả
1.	Tổng vi sinh vật hiếu khí	CFU/mL	TCVN 4888-1:2015	KPH
2.	<i>Cl. Perfringens</i>	CFU/mL	TCVN 4991:2005	KPH (LOD:1 CFU/g)
3.	<i>Coliforms</i>	CFU/mL	TCVN 6848:2007	KPH (LOD:1 CFU/g)
4.	<i>E. coli</i>	CFU/mL	TCVN 7924 -2:2008	KPH (LOD:1 CFU/g)
5.	Tổng số bào tử nấm men-mốc	CFU/mL	TCVN 8275-1:2010	KPH (LOD:1 CFU/mL)
6.	Tỷ trọng	g/mL	NIFC.05.M.197	1,112

7.	Hàm lượng Cadmi	mg/L	NIFC.03.M.45(ICP-MS)	KPH (LOD:0,004 mg/kg)
8.	Hàm lượng Chì	mg/L	NIFC.03.M.45(ICP-MS)	KPH (LOD:0,007 mg/kg)

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

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Quy trình điều chế hệ nhũ tương nano liposom kaempferol đã thành công trong việc điều chế hệ nhũ tương có chứa các tiểu phân nano kaempferol có kích thước nano, đồng đều và khả năng hòa tan tốt trong nước.

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

i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách hòa tan một lượng kaempferol vào dung dịch etanol với tỷ lệ khối lượng/thể tích của kaempferol/etanol là từ (1:70) đến (1:90) trong thời gian từ 10 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng;

ii) chuẩn bị hỗn hợp chất mang bao gồm phytosolve (phospholipit đậu nành không biến đổi gen), miglyol 812 (triglycerit este của axit béo caprylic và capric và glyxerol), và polyetylen glycol, trong đó:

hỗn hợp này được chuẩn bị bằng cách trộn một lượng phytosolve, miglyol 812 và polyetylen glycol theo tỷ lệ khối lượng của phytosolve/miglyol 812/polyetylen glycol khoảng 3:1:1, và

bổ sung hỗn hợp trên đây vào etanol theo tỷ lệ khối lượng/thể tích khoảng 1:4 trên máy khuấy trong thời gian từ 20 đến 40 phút với tốc độ quay từ 350 đến 450 vòng/phút ở nhiệt độ từ 45 đến 55°C;

iii) tạo hỗn hợp tiền nhũ bằng cách trộn pha phân tán và hỗn hợp chất mang theo tỷ lệ khối lượng của kaempferol/hỗn hợp chất mang khoảng 1:10 trong thời gian từ 30 đến 60 phút với tốc độ 550 đến 650 vòng/phút ở nhiệt độ từ 45 đến 55°C;

iv) tạo màng lipit bằng cách sấy hỗn hợp tiền nhũ dưới điều kiện chân không ở áp suất chân không với nhiệt độ từ 40 đến 55°C trong 18 đến 30 giờ;

v) hydrat hóa màng lipit bằng cách bổ sung một lượng nước cất khử ion vào hỗn hợp tạo màng lipit theo tỷ lệ khối lượng nước/hỗn hợp tiền nhũ khoảng 5:1 dưới điều kiện ở nhiệt độ từ 40 đến 55°C trong 40 đến 60 phút;

vi) giảm kích thước hạt lyposom bằng cách đồng hóa dung dịch sau hydrat với tốc độ từ 9000 đến 12000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng trong thời gian từ 25 đến 40 phút, lặp lại quá trình từ 4 đến 6 lần; và

vii) lọc hệ nhũ tương nano liposom sau khi đồng hóa qua màng lọc có kích thước từ 40 đến 60 μm để thu được hệ nhũ tương liposom kaempferol dạng lỏng có kích thước nano.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó bước i) chuẩn bị pha phân tán được thực hiện bằng cách hòa tan một lượng kaempferol vào dung dịch etanol với tỷ lệ (g/mL) của kaempferol/etanol là 1:80 trên máy siêu âm trong thời gian 15 phút ở nhiệt độ phòng.

3. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó bước ii) chuẩn bị hỗn hợp chất mang được thực hiện bằng cách trộn một lượng phytosolve, miglyol 812 và polyetylen glycol theo tỷ lệ (g/g/g) là 3:1:1 vào 20 mL etanol trên máy khuấy trong thời gian 30 phút với tốc độ quay 400 vòng/phút ở 50°C.

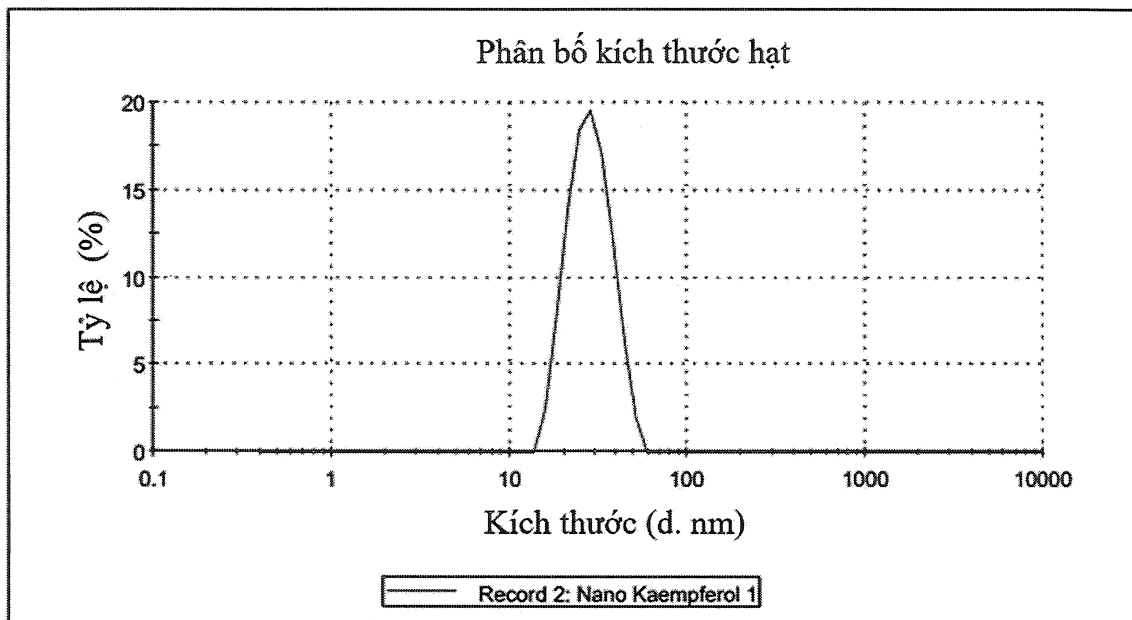
4. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó bước iii) tạo hỗn hợp tiền nhũ được thực hiện bằng cách trộn pha phân tán và hỗn hợp chất mang theo tỷ lệ (g/g) của kaempferol/hỗn hợp chất mang là 1:10 trên máy khuấy trong thời gian 45 phút với tốc độ 600 vòng/phút ở nhiệt độ 50°C.

5. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó bước iv) tạo màng lipid được thực hiện bằng cách sấy hỗn hợp tiền nhũ ở áp suất chân không khoảng 80 đến 100 mmHg với nhiệt độ từ 45 đến 50°C trong 24 giờ.

6. Quy trình theo điểm 5, trong đó bước iv) được thực hiện trong thiết bị cô quay chân không.

7. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó bước v) hydrat hóa màng lipid được thực hiện bằng cách bổ sung một lượng nước cất khử ion vào hỗn hợp tạo màng lipid theo tỷ lệ (g/g) của nước/hỗn hợp tiền nhũ là 5:1 trong thiết bị cô quay ở nhiệt độ từ 45 đến 50°C trong 45 phút.

8. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó bước vi) giảm kích thước hạt liposom được thực hiện bằng cách đồng hóa dung dịch sau hydrat trong thiết bị đồng hóa với tốc độ 10000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng trong thời gian 30 phút, lặp lại quá trình 5 lần.



Hình 1