



(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)



2-0003969

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

(13) **Y**

(21) 2-2024-00434

(22) 07/05/2021

(67) 1-2021-02555

(45) 25/02/2025 443

(43) 25/11/2022 416

(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 CHẾ TẠO HỆ TIỀN VI NHỮ NANO GAMMA ORYZANOL

(21) 2-2024-00434

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

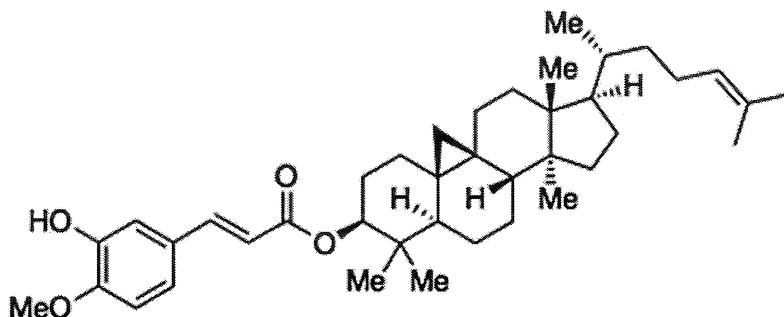
- i) chuẩn bị pha phân tán chứa γ -oryzanol;
- ii) chuẩn bị hỗn hợp chất nhũ hóa span 80/tween 80;
- iii) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất nhũ hóa span 80/tween 80;
- iv) đồng hóa hỗn hợp; và
- v) lọc hỗn hợp bằng lưới lọc để tạo hệ tiền vi nhũ nano γ -oryzanol.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình chế tạo hệ tiền vi nhũ tương nano gamma oryzanol.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Gamma oryzanol hay γ -oryzanol, danh pháp UPAC: [(1*S*,3*R*,6*S*,8*R*,11*S*,12*S*,15*R*,16*R*)-7,7,12,16-tetramethyl-15-[(2*R*)-6-methylhept-5-en-2-yl]-6-pentacyclo [9.7.0.0^{1,3}.0^{3,8}.0^{12,16}] octadecanyl] (*E*)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)prop-2-enoate, được tìm thấy trong cám gạo và dầu gạo. Hợp chất này có công thức phân tử là C₄₀H₅₈O₄ với công thức cấu trúc sau đây:



Gamma oryzanol

Các nghiên cứu cho thấy γ -oryzanol có rất nhiều tính chất sinh học đáng quý như khả năng chống ung thư, chống nhiễm trùng, ngăn ngừa mỡ máu, bảo vệ dây thần kinh, v.v. Các nghiên cứu còn cho thấy γ -oryzanol không gây độc cấp tính và mãn tính. Chính vì vậy, đã có rất nhiều chế phẩm sinh học chứa γ -oryzanol được sử dụng rộng rãi ở Châu Á để hỗ trợ điều trị một số triệu chứng liên quan đến kỳ mãn kinh, tăng tiết bã nhờn và viêm loét.

Nakamura là người đầu tiên nghiên cứu ảnh hưởng của γ -oryzanol đến quá trình tổng hợp cholesterol ở gan từ những năm 1960. Sau đó, đã có hơn 180 bài báo đã được công bố cho thấy phổ hoạt tính sinh học đa dạng của γ -oryzanol, trong đó có nhiều nghiên cứu đã thử nghiệm *in-vitro* và *in-vivo* hoạt tính sinh học của các chế phẩm chiết xuất γ -oryzanol và chế phẩm γ -oryzanol tinh khiết.

Về tác dụng chống oxy hóa của γ -oryzanol có thể kể đến công bố của Kim và các cộng sự. Các tác giả cho thấy khả năng ức chế sự oxy hóa pyrogallol và tổng hợp các chất



chống oxy hóa (BHA, BHT và TBHQ) chống lại sự hình thành hydroperoxit. Gamma oryzanol còn có tác dụng chống oxy hóa cholesterol. Quá trình oxy hóa cholesterol sẽ tạo ra các sản phẩm độc gây xơ vữa, đột biến, ung thư. Do đó, γ -oryzanol có khả năng ngăn ngừa các bệnh về tim mạch và hạn chế các tác nhân gây ung thư. Các thử nghiệm lâm sàng đánh giá tác dụng làm sự giảm mỡ máu của γ -oryzanol đã được tiến hành trên 50 người phụ nữ khỏe mạnh. Kết quả đã được Suzuki và Oshima công bố trên bài "*Influence of blending of edible fats and oils on human serum cholesterol. Blending of rice bran oil and safflower oil*".

Bên cạnh đó, tác dụng làm giảm các triệu chứng thời kỳ mãn kinh của γ -oryzanol cũng đã được thử nghiệm. Các nhà khoa học Nhật Bản đã thực hiện các thử nghiệm lâm sàng trên 13 phụ nữ ở độ tuổi mãn kinh, với liều dùng 100 mg/1 lần, dùng 3 lần/1 ngày trong 38 ngày. Kết quả cho thấy 67% phụ nữ tham gia thử nghiệm đã giảm các triệu chứng kỳ mãn kinh. Một thử nghiệm khác cũng đã được thực hiện trên 40 phụ nữ với liều dùng là 300 mg trong 4-8 tuần. Kết quả ghi nhận 90% phụ nữ đã giảm các triệu chứng liên quan đến kỳ mãn kinh.

Qua các tài liệu đã công bố có thể thấy γ -oryzanol là hợp chất thiên nhiên có nhiều hoạt tính sinh học đáng quý và đã được ứng dụng nhiều trong các sản phẩm thực phẩm và mỹ phẩm với tác dụng chống oxy hóa, giảm mỡ máu, v.v. Các sản phẩm chủ yếu được dùng dưới dạng uống, nhưng γ -oryzanol là một chất ít tan trong nước nên khả năng chuyển hóa của nó thấp. Do đó, cần cải thiện khả năng hòa tan của γ -oryzanol trong các chế phẩm để tăng tính sinh khả dụng của hợp chất này.

Serveh Ghaderi và các cộng sự đã nghiên cứu chế phẩm γ -oryzanol dạng nano được bao gói trong etylen xenluloza bằng phương pháp bay hơi dung môi. Kết quả trong công bố: "*Formulation of Gammaoryzanol-Loaded Nanoparticles for Potential Application in Fortifying Food Products*" cho thấy sản phẩm tạo thành có kích thước trong khoảng từ 70 – 100 nm. Nghiên cứu đã cải thiện độ hoà tan của γ -oryzanol nhưng kích thước các hạt còn khá lớn nên sẽ ảnh hưởng đến sự phân bố của chế phẩm trong hệ tuần hoàn.

Tác giả Kai-Min Yang và cộng sự trong công bố: "*Preparation and evaluation of release formulation of γ -oryzanol/algae oil self-emulsified with alginate beads*" đã tạo chế

phẩm nhũ tương γ -oryzanol/dầu tảo và được bao gói trong các hạt tảo biển. Các hạt tảo bảo vệ γ -oryzanol tránh tiếp xúc với dịch tiêu hóa dạ dày, làm tăng tính hòa tan và tính ổn định của chế phẩm, kiểm soát được hàm lượng phân phối của chế phẩm. Tuy nhiên, nhũ tương γ -oryzanol/dầu tảo có kích thước khá lớn, khoảng 600 nm, sẽ ảnh hưởng đến sự phân bố γ -oryzanol trong cơ thể.

Kozuka C và các cộng sự trong nghiên cứu: “*Marked augmentation of PLGA nanoparticle-induced metabolically beneficial impact of γ -oryzanol on fuel dyshomeostasis in genetically obese-diabetic ob/ob mice*” đã sử dụng phương pháp bao gói γ -oryzanol trong hạt nano PLGA. Chế phẩm tạo thành được tiến hành thử nghiệm *in-vitro* nhằm đánh giá tác dụng điều trị rối loạn chuyển hóa trên chuột mắc bệnh béo phì. Kết quả cho thấy chế phẩm tạo thành đã tăng sự hấp thụ γ -oryzanol lên 1000 lần, đồng thời cải thiện chức năng của tuyến tụy. Phương pháp này đã làm tăng tính sinh khả dụng của γ -oryzanol, nhưng kích thước hạt tạo thành vẫn khá lớn, khoảng 218 nm.

Mặc dù có nhiều giải pháp tạo ra để tăng khả năng hòa tan, khả năng chuyển hóa và hấp thụ γ -oryzanol qua đường tiêu hóa và đã tạo ra được hiệu quả khi áp dụng. Tuy nhiên, các hạt γ -oryzanol tổng hợp được vẫn có kích thước khá lớn. Với kích thước này khả năng vận chuyển và phân bố trong hệ tuần hoàn cơ thể sẽ bị hạn chế. Do đó, sáng chế này sẽ đề cập đến quy trình chế tạo γ -oryzanol dạng các tiểu phân nano có kích thước nhỏ hơn (dưới 50 nm). Tốt hơn nữa là còn được bọc bằng hệ vi nhũ ổn định. Tốt hơn nữa nếu quy trình chế tạo này cho phép tạo ra hệ tiền vi nhũ nano gamma oryzanol với hàm lượng cao, đạt tới 4,78 mg/g mẫu. Tốt hơn nữa nếu hệ tiền vi nhũ đạt được các chỉ tiêu 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 γ -oryzanol.

Mục đích khác nữa là đề xuất quy trình chế tạo hệ tiền vi nhũ nano γ -oryzanol, tan tốt trong nước bao gồm các hạt nano γ -oryzanol có kích thước nhỏ hơn 50 nm. Tốt hơn nữa nếu quy trình này cho phép chế tạo hệ tiền vi nhũ nano γ -oryzanol có hàm lượng cao, lên tới 4,78 mg/g. Tốt hơn nữa, nếu mẫu γ -oryzanol 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 chế tạo hệ tiền vi nhũ nano γ -oryzanol, quy trình bao gồm các bước:

i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho γ -oryzanol hòa tan trong xetyl palmitat theo tỷ lệ (g/g) là 1:4 kèm khuấy, trong thời gian khoảng 10 giờ, tốc độ khuấy từ 400 đến 800 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 nhũ hóa gồm span 80 và tween 80 theo tỷ lệ (g/g) là 2:3, phân tán dưới điều kiện khuấy với tốc độ từ 100 đến 300 vòng/phút trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ phòng;

iii) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất nhũ hóa span 80/tween 80 sao cho các chất γ -oryzanol, xetyl palmitat, span 80 và tween 80 trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ (g/g/g/g) của γ -oryzanol: xetyl palmitat: span 80: tween 80 là 1/4/2/3 trong 4 đến 6 giờ ở nhiệt độ phòng;

iv) tạo hệ tiền vi nhũ nano γ -oryzanol 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 đến 5000 vòng/phút và lặp lại từ 5 đến 7 lần; và

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

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 thực hiện trên thiết bị tạo nhũ.

Theo phương án khác nữa, hàm lượng nano γ -oryzanol trong mẫu thu được là 4,78 mg/g.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là hình ảnh và kích thước tiểu phân nano γ -oryzanol chụp bằng kính hiển vi điện tử truyền qua phân giải cao (High Resolution Transmission Electron Microscopy - HRTEM) theo một phương án cụ thể của giải pháp hữu ích.

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 chế tạo hệ vi nhũ tương nano γ -oryzanol, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho γ -oryzanol hòa tan trong xetyl palmitat theo tỷ lệ (g/g) là 1:4 kèm khuấy, trong thời gian 10 giờ, tốc độ khuấy từ 400 đến 800 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ từ 40 đến 50°C đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất;

Xetyl palmitat (Cetyl palmitate), hay hexadexyl hexadecanoat, là este có nguồn gốc từ axit hexadecanoic và hexadecanol. Chất rắn dạng sáp trắng này là thành phần chính của tinh trùng, loại sáp từng được đánh giá cao được tìm thấy trong hộp sọ của cá nhà táng. Xetyl palmitat không tan trong nước, tan trong dầu và có bán sẵn trên thị trường hoặc thu được bằng cách tổng hợp thông dụng đã biết.

Mục đích ban đầu là tạo ra các hạt γ -oryzanol với kích thước nano và ổn định trong hệ, giải pháp hữu ích sử dụng xetyl palmitat để hòa tan γ -oryzanol. Bằng nhiều nghiên cứu phân tích và thử nghiệm, giải pháp hữu ích đã xác định được tỷ lệ hòa tan của γ -oryzanol trong xetyl palmitat là 1:5 (g/g) là tỷ lệ hòa tan thích hợp để hòa tan nhằm tạo ra hạt γ -oryzanol với kích thước nano và ổn định trong hệ.

ii) chuẩn bị hỗn hợp chất nhũ hóa gồm span 80 và tween 80 theo tỷ lệ (g/g) là 2:3, phân tán dưới điều kiện khuấy với tốc độ từ 100 đến 300 vòng/phút trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ phòng;

Vì hệ vi nhũ tương theo giải pháp hữu ích 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. Sorbitan monooleat (Span 80) và polyoxyetylen sorbitan monooleat (tween 80) là hai chất hoạt động bề mặt đã được ứng dụng nhiều trong ngành thực phẩm và dược phẩm. Theo khuyến cáo của WHO, đây là hai chất an toàn với liều dùng là 25 mg/kg trọng lượng cơ thể.

Bằng nhiều nghiên cứu phân tích và thử nghiệm, các tác giả đã tìm ra tỷ lệ span 80 và tween 80 là 2:3 (g/g) là tỷ lệ tối ưu cho hệ tiền vi nhũ được ổn định nhất.

iii) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất nhũ hóa span 80/tween 80 sao cho các chất γ -oryzanol, xetyl palmitat, span 80 và tween 80 trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ (g/g/g/g) của γ -oryzanol: xetyl palmitat: span 80: tween 80 là 1/4/2/3 trong 4 đến 6 giờ ở nhiệt độ phòng;

Hỗn hợp chất phân tán pha dầu trộn với hỗn hợp chất nhũ hóa để hình thành hệ tiền vi nhũ. Tỷ lệ các chất trong bước này, được nghiên cứu sâu rộng, không chỉ giúp tạo điều kiện thuận lợi cho sự ổn định của hệ tiền vi nhũ mà còn giúp khả năng hòa tan trong nước tạo hệ nhũ tương ổn định.

iv) tạo hệ tiền vi nhũ nano γ -oryzanol 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 đến 5000 vòng/phút và lặp lại từ 5 đến 7 lần;

Để đảm bảo tính ổn định cho hệ tiền vi nhũ, theo giải pháp hữu ích được tiến hành đồng hóa ở nhiệt độ phòng, trong vòng 5 đến 7 chu kỳ.

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

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: Chế tạo hệ tiền vi nhũ nano γ -oryzanol

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho 1 g γ -oryzanol hòa tan trong 4 g xetyl palmitat trên máy khuấy từ trong thời gian 10 giờ, tốc độ khuấy từ 400 đến 800 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 nhũ hóa bằng cách trộn 2 g span 80 và 3 g tween 80 được phân tán đều dưới điều kiện khuấy với tốc độ từ 100 đến 300 vòng/phút trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ phòng;

Tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất nhũ hóa span 80/tween 80 sao cho các chất γ -oryzanol, xetyl palmitat, span 80 và tween 80 trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ (g/g/g/g) của γ -oryzanol: xetyl palmitat: span 80: tween 80 là 1/4/2/3 trong 4 đến 6 giờ ở nhiệt độ phòng.

Tạo hệ tiền vi nhũ nano γ -oryzanol bằng cách để hỗn hợp đồng nhất qua đêm ở nhiệt độ phòng, tiếp theo tiến hành đồng hóa với tốc độ 3000 đến 5000 vòng/phút và lặp lại từ 5 đến 7 lần thu được hệ tiền vi nhũ nano γ -oryzanol.

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

Ví dụ 2: Đặc tính 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 tiền vi nhũ nano γ -oryzanol phân tán tốt trong nước gồm các hạt nano γ -oryzanol hình cầu có đường kính khoảng 30-40 nm (xem, Hình 1).

Kết quả phân tích hàm lượng

Hàm lượng của nano γ -oryzanol trong mẫu được đo bằng HPLC. Hàm lượng nano γ -oryzanol tính toán dựa trên kết quả định lượng đạt 4,78 mg/g.

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

Mẫu nano γ -oryzanol 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
9.1	Tổng vi sinh vật hiếu khí	CFU/mL	ISO 4833-1:2013	KPH (LOD:1 CFU/mL)
9.2	<i>Cl. Perfringens</i>	CFU/mL	TCVN 4991:2005	KPH (LOD:1 CFU/mL)
9.3	Coliforms	CFU/mL	TCVN 6848:2007	KPH (LOD:1 CFU/mL)
9.4	<i>E. coli</i>	CFU/mL	TCVN 7924 -2:2008	KPH (LOD:1CFU/mL)
9.5	Tổng số bào tử mầm men-mốc		TCVN 8275-1:2010	KPH (LOD:1 CFU/mL)
9.6	Hàm lượng Cadmi	mg/kg	NIFC.03.M.45(ICP-MS)	KPH (LOD:0,004 mg/kg)
9.7	Hàm lượng Chì	mg/kg	NIFC.03.M.45(ICP-MS)	0.067
9.8	Hàm lượng Thủy ngân	mg/kg	NIFC.03.M.45(ICP-MS)	< LOQ (LOQ: 0,011 mg/kg)
9.9	Độ pH	-	NIFC.05.M.196	
9.10	Tỷ trọng		NIFC.05.M.197	

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

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Đã chế tạo thành công hệ tiền vi nhũ nano γ -oryzanol tan tốt trong nước, có chứa các tiểu phân nano γ -oryzanol, đáp ứng yêu cầu của quá trình vận chuyển các hạt tiểu phân nano γ -oryzanol tới đích mong muốn. Hoạt tính sinh học của γ -oryzanol tăng lên khi γ -oryzanol ở dạng nano kích thước nhỏ.

Ngoài ra, giải pháp hữu ích đã thành công trong việc chế tạo hệ tiền vi nhũ γ -oryzanol phân tán trong nước bao gồm các hạt hình cầu có kích thước từ 30 đến 40 nm. Hơn nữa, quy trình này còn cho phép tạo ra hệ tiền vi nhũ nano γ -oryzanol có hàm lượng γ -oryzanol là 4,78 mg/g. Với các đặc tính thu được này, γ -oryzanol dễ dàng được vận chuyển và tăng sự phân bố trong hệ tuần hoàn của cơ thể so với các chế phẩm đã biết.

Yêu cầu bảo hộ

1. Quy trình chế tạo hệ tiền vi nhũ nano γ -oryzanol, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho γ -oryzanol hòa tan trong xetyl palmitat theo tỷ lệ (g/g) là 1:4 kèm khuấy, trong thời gian khoảng 10 giờ, tốc độ khuấy từ 400 đến 800 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 nhũ hóa gồm span 80 và tween 80 theo tỷ lệ (g/g) là 2:3, phân tán dưới điều kiện khuấy với tốc độ từ 100 đến 300 vòng/phút trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ phòng;

iii) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất nhũ hóa span 80/tween 80 sao cho các chất γ -oryzanol, xetyl palmitat, span 80 và tween 80 trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ (g/g/g/g) của γ -oryzanol: xetyl palmitat: span 80: tween 80 là 1/4/2/3 trong 4 đến 6 giờ ở nhiệt độ phòng;

iv) tạo hệ tiền vi nhũ nano γ -oryzanol 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 đến 5000 vòng/phút và lặp lại từ 5 đến 7 lần; và

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

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 thực 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 γ -oryzanol trong mẫu thu được đạt 4,78 mg/g.



Hình 1