



(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)



2-0004188

(51) **A61K 9/51; A61K 9/00**
2022.01

(13) **Y**

(21) 2-2023-00302

(22) 09/06/2023

(45) 25/07/2025 448

(43) 25/08/2023 425A

(73) Trường Đại học Phenikaa (VN)

Phó Nguyễn Văn Trác, phường Yên Nghĩa, quận Hà Đông, thành phố Hà Nội

(72) Nguyễn Thị Thu Thủy (VN); Nguyễn Thị Huế (VN); Trần Quang Huy (VN); Lê Anh Tuấn (VN); Phạm Tuyết Nhung (VN); Lê Thị Lệ (VN); Nguyễn Tiến Khí (VN).

(54) **QUY TRÌNH SẢN XUẤT PHỨC NANO ZNO-BERBERIN CÓ HOẠT TÍNH
KHÁNG KHUẨN SỬ DỤNG TRONG LĨNH VỰC Y SINH**

(21) 2-2023-00302

(57) Giải pháp hữu ích đề xuất quy trình sản xuất phức nano ZnO-Berberin có hoạt tính kháng khuẩn sử dụng trong lĩnh vực y sinh, trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) chuẩn bị nguyên liệu; b) tạo huyền phù hạt nano ZnO; c) tạo dung dịch berberin; d) tạo huyền phù phức nano ZnO-BBR; và e) thu dung dịch phức nano ZnO-BBR ổn định. Quy trình này được thực hiện thông qua phương pháp điện hóa cho phép hình thành phức nano ZnO-BBR đồng nhất, có cấu trúc lõi-vỏ với kích thước dưới 20 nm và tăng cường hiệu lực kháng các chủng vi khuẩn Gram dương và Gram âm gây bệnh. Sản phẩm phức nano ZnO-BBR có sự phân tán đồng nhất, ổn định ở nhiệt độ phòng và không chứa chất độc hại, an toàn khi sử dụng trong lĩnh vực y sinh.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực công nghệ nano, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất phức nano ZnO-Berberin bằng phương pháp điện hóa nhằm phối hợp và tăng cường hoạt tính sinh học của ZnO và berberin chống lại một số tác nhân gây bệnh.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Berberin (BBR) là một loại hoạt chất được chiết tách từ một số loài thực vật, được sử dụng phổ biến để điều trị các bệnh có liên quan đến đường ruột như tiêu chảy, viêm dạ dày ruột, bệnh ly, rối loạn tiêu hóa. Tác dụng chữa tiêu chảy của BBR là do hoạt tính kháng độc tố, kháng nấm và kháng vi khuẩn gây bệnh của nó (Xem tài liệu: El-Zahar et al., “Antioxidant, antibacterial, and antifungal activities of the ethanolic extract obtained from *Berberis vulgaris* roots and leaves”, *Molecules*, 27, 6114, 2022). BBR còn có thể bảo vệ lớp biểu mô ruột khỏi phản ứng viêm (Xem tài liệu: Song et al., “Biological properties and clinical applications of berberine”, *Front Med.*, 14, 564-582, 2020). Ngoài ra, BBR cũng có khả năng kháng lại nhiều chủng vi rút gây bệnh (Xem tài liệu: Warowicka et al., “Antiviral activity of berberine”, *Arch Virol.*, 165, 1935, 2020) và điều trị hiệu quả một số bệnh như ung thư (Xem tài liệu: Rauf et al., “Berberine as a potential anticancer agent: A comprehensive review”, *Molecules.*, 26, 7368, 2021), tiểu đường type 2 (Xem tài liệu: Yin et al., “Effects and mechanisms of berberine in diabetes treatment”, *Acta Pharm. Sin. B.*, 2, 327-334, 2012), tăng cholesterol máu (Xem tài liệu: Li et al., “Effect of berberine on promoting the excretion of cholesterol in high-fat diet-induced hyperlipidemic hamster”, *J. Transl. Med.*, 13, 278, 2015), các bệnh tim mạch (Xem tài liệu: Feng et al., “Berberine in cardiovascular and metabolic diseases: From mechanisms to therapeutics”, *Theranostics*, 9, 1923-1951, 2019) và rối loạn thần kinh (Xem tài liệu: Shou et al., “Therapeutic efficacies of berberine against neurological disorders: an update of pharmacological effects and mechanisms”, *Cells*, 11, 796, 2022). Tuy nhiên, nhược điểm của BBR là khả năng hòa tan

kém, dẫn đến hấp thu đường ruột và tính sinh khả dụng của nó thấp. Điều này đòi hỏi phải sử dụng BBR với liều lượng cao để điều trị hiệu quả, từ đó cũng gây ra các tác dụng phụ không mong muốn và cũng lãng phí nguồn dược liệu. Với sự hỗ trợ của công nghệ nano, tính tan và hoạt tính sinh học của BBR có thể được tăng cường bằng cách nano hóa BBR bằng cách sử dụng các chất mang nano lipid, nano polyme, hay nano ôxít kim loại (Xem tài liệu: Majidzadeh et al., “Nano-based delivery systems for berberine: A modern anti-cancer herbal medicine”, *Colloids Surf. B*, 194, 111188, 2020).

Các hạt nano ôxít kẽm (nano ZnO hay ZnONPs) được công nhận là vật liệu nano an toàn sinh học có hoạt tính chống ung thư, kháng nấm, kháng khuẩn, chống viêm, chữa lành vết thương, điều trị đái tháo đường (Xem tài liệu: Mishra et al., “Zinc oxide nanoparticles: a promising nanomaterial for biomedical applications”, *Drug Discov. Today*, 22, 1825-1834, 2017). Một số phương pháp làm tăng hoạt tính sinh học của nano ZnO đã được đề xuất, bao gồm thay đổi kích thước và hình thái của các hạt nano ZnO, biến tính hóa lý bề mặt hạt nano ZnO và kết hợp các hoạt chất có hoạt tính khác với hạt nano ZnO. Gần đây, các hạt nano ZnO kết hợp với BBR đã được nghiên cứu về khả năng điều trị ung thư (Xem tài liệu: Kim et al., “Berberine and zinc oxide-based nanoparticles for the chemophotothermal therapy of lung adenocarcinoma”, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 501, 765-770, 2018) và điều trị Covid 19 (Xem tài liệu: Ghareeb et al., “Nanoparticles of ZnO/Berberine complex contract COVID-19 and respiratory co-bacterial infection in addition to elimination of hydroxychloroquine toxicity”, 51, 735-757, 2021). Trong các nghiên cứu này, các tác giả sử dụng hạt nano ZnO thương mại hoặc chế tạo hạt nano ZnO bằng phương pháp kết tủa. Sau đó, huyền phù của hạt nano ZnO được trộn hợp với dung dịch BBR với các tỉ lệ nhất định để tạo thành các hạt nano ZnO mang BBR (nano ZnO-BBR). Như vậy, các hạt nano ZnO sử dụng trong các nghiên cứu trên đã ở trạng thái kết tinh hoàn toàn, nên sự tương tác giữa BBR và hạt nano ZnO ở trạng thái hỗn hợp. Ngoài ra, việc chế tạo ZnO bằng phương pháp kết tủa đòi hỏi phải sử dụng nhiều tác nhân hóa học và quy trình lọc rửa phức tạp mà vẫn khó loại bỏ hoàn toàn các tác nhân hóa học để đảm bảo độ tinh sạch của hạt nano ZnO sử dụng trong y sinh. Trong một nghiên cứu khác, phức nano ZnO-berberin thu được bằng cách phối trộn kẽm sulfat và bột berberin đã được chứng

minh có tác dụng để điều trị vết thương cho người bị bệnh tiểu đường. (Xem tài liệu: Xuechen Yin et al., “Encapsulation of berberine decorated ZnO nano-colloids into infectable hydrogel using for diabetic wound healing”, *Frontiers in Chemistry*, 10, 964662, 2022). Trước tiên, nano ZnO thu được bằng cách cho phản ứng giữa kẽm sulfat với natri hydroxide trong môi trường ethanol và axit linoleic ở 120°C trong 12 giờ. Sau đó, phức ZnO-berberin được tạo ra bằng cách trộn hạt nano ZnO trên với dung dịch berberin, khuấy ở 40°C, rồi lọc và làm khô để thu sản phẩm cuối. Tuy nhiên, hạn chế của các phương pháp này vẫn là khó loại bỏ được những chất tồn dư trong quá trình phản ứng từ những tiền chất ban đầu, dẫn tới những hạn chế khi sử dụng trong những sản phẩm y sinh học. Gần đây, phức hợp ZnO-BBR được tạo ra bằng cách tổng hợp hạt nano ZnO bằng phương pháp điện hóa, sau đó trộn với dung dịch berberin, trong đó BBR liên kết với ZnO qua liên kết phối trí và tương tác tĩnh điện (Xem tài liệu: Hue et al., “Complexes of Ag and ZnO nanoparticles with BBR for enhancement of gastrointestinal antibacterial activity through the impacts of size and composition”, *RSC advances*, 13(9), 6027-6037, 2023). Phương pháp này giúp tạo phức ZnO-BBR có kích thước nhỏ, độ tinh khiết cao và hiệu quả kháng khuẩn mạnh. Để tối ưu hóa phức hợp nano ZnO-BBR sử dụng trong lĩnh vực y sinh, cần tiếp tục điều chỉnh các thông số điện hóa và quá trình ổn định nhằm kiểm soát kích thước hạt, tăng độ tinh khiết và nâng cao hiệu suất tổng hợp.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Giải pháp hữu ích nhằm khắc phục và giải quyết các nhược điểm nêu trên, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình chế tạo phức nano ZnO-BBR bằng phương pháp điện hóa nhằm tạo ra sản phẩm phức nano ZnO-BBR có độ tinh khiết cao và tăng cường khả năng kháng khuẩn đối với vi khuẩn Gram âm và Gram dương do tác dụng hiệp đồng của nano ZnO và BBR. Quy trình theo giải pháp hữu ích cho phép chế tạo nano ZnO-BBR bằng phương pháp đơn giản, thân thiện với môi trường và giá thành rẻ do sử dụng hạn chế các tác nhân hóa học.

Theo đó, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình sản xuất phức nano ZnO-Berberin có hoạt tính kháng khuẩn sử dụng trong lĩnh vực y sinh, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị nguyên liệu gồm hai thanh kẽm (độ tinh khiết 99,999 %, chiều dài 150 mm, chiều rộng 10 mm và chiều dày 0,5 mm) và berberin dạng bột (độ tinh khiết không thấp hơn 97,0%);

b) tạo huyền phù hạt nano ZnO bằng cách nhúng hai thanh kẽm cách nhau 5 cm trong 200 g dung dịch natri citrat có nồng độ trong khoảng 0,01 – 0,04 % khối lượng và nối hai thanh kẽm với nguồn điện áp trong khoảng 7 – 15 V trong thời gian 1 – 3 giờ, sau đó ly tâm ở tốc độ 5000 vòng/phút trong 5 phút và loại bỏ phần lắng;

c) tạo dung dịch berberin bằng cách cho berberin vào trong cốc đựng glycerol với tỉ lệ 1:10 (khối lượng (g): thể tích (ml)), sau đó khuấy trộn trong điều kiện gia nhiệt ở 37 °C cho đến khi thu được dung dịch berberin có màu cam đồng nhất;

d) tạo huyền phù phức nano ZnO-BBR bằng cách bơm nhỏ giọt dung dịch berberin đã chuẩn bị ở bước (c) qua đầu kim tiêm với tốc độ khoảng 0,5 – 2,0 ml/phút vào bình thủy tinh chứa 180 - 190 ml huyền phù hạt nano ZnO đã chuẩn bị ở bước (c) trong điều kiện khuấy 1000 – 1500 vòng/phút tại nhiệt độ phòng; và

e) thu dung dịch phức nano ZnO-BBR ổn định bằng cách rung siêu âm dung dịch thu được ở bước (d) trong thời gian 5 – 15 phút, sau đó dung dịch được lọc qua giấy lọc, sản phẩm thu được là dung dịch phức nano ZnO-BBR có màu vàng đồng nhất.

Giải pháp hữu ích cũng đề cập đến đặc điểm sản phẩm phức nano ZnO-BBR thu được từ quy trình theo giải pháp hữu ích, trong đó phức nano ZnO-BBR có cấu trúc lõi - vỏ với kích thước hạt nhỏ và phân tán đồng đều, tạo thành dung dịch có màu vàng đồng nhất, ổn định.

Mô tả văn tắt hình vẽ

Hình 1 là phổ nhiễu xạ tia X của nano BBR (b) và phức nano ZnO-BBR (a) tạo ra bằng quy trình theo giải pháp hữu ích.

Hình 2 là phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến (UV-Vis) của nano BBR, nano ZnO và phức nano ZnO-BBR tạo ra bằng quy trình theo giải pháp hữu ích.

Hình 3 là ảnh hiển vi điện tử truyền qua (TEM) của hạt nano ZnO (a) và phức nano ZnO-BBR (b) tạo ra bằng quy trình theo giải pháp hữu ích.

Hình 4 là biểu đồ thể hiện hiệu quả kháng tụ cầu vàng kháng methicillin (MRSA) (a) và *Salmonella enteritidis* (*S. enteritidis*) (b) của mẫu chứng âm (nước cất), mẫu nano BBR, mẫu nano ZnO và mẫu phức nano ZnO-BBR (mẫu gốc, mẫu được pha loãng 2 lần và 4 lần) được chế tạo bằng quy trình theo giải pháp hữu ích.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích được mô tả chi tiết với các phương án và các ví dụ thực hiện cụ thể, tuy nhiên, những phương án và các ví dụ này chỉ nhằm mục đích minh họa và làm rõ bản chất của giải pháp hữu ích chứ không nhằm hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của giải pháp hữu ích.

Giải pháp hữu ích nhằm chế tạo phức nano ZnO-BBR bằng phương pháp điện hóa, sản phẩm hạt phức nano ZnO-BBR được tạo ra bằng quy trình theo giải pháp hữu ích có cấu trúc lõi – vỏ với kích thước hạt nhỏ và phân tán đồng đều, tạo thành dung dịch có màu vàng đồng nhất, ổn định, có hoạt tính cao kháng vi sinh vật gây bệnh.

Theo đó, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình sản xuất phức nano ZnO-Berberin có hoạt tính kháng khuẩn sử dụng trong lĩnh vực y sinh, trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) chuẩn bị nguyên liệu; b) tạo huyền phù hạt nano ZnO; c) tạo dung dịch berberin; d) tạo huyền phù phức nano ZnO-BBR; và e) thu dung dịch phức nano ZnO-BBR ổn định.

Bản chất của phương pháp chế tạo phức nano ZnO-BBR theo giải pháp hữu ích là sử dụng phương pháp điện hóa để hình thành các hạt nano ZnO, sau đó phức nano ZnO-BBR cấu trúc lõi – vỏ được hình thành thông qua liên kết phối trí giữa nguyên tử oxy trong nhóm methoxy của phân tử BBR với nguyên tử Zn của phân tử ZnO, rung siêu âm được áp dụng ở bước tiếp theo với mục đích phân tán ổn định các hạt phức nano ZnO-BBR trong nước. Quy trình cho phép linh hoạt trong quy mô thực hiện.

Trong bước chuẩn bị nguyên liệu, hai thanh kẽm (độ tinh khiết 99,999 %, chiều dài 150 mm, chiều rộng 10 mm và chiều dày 0,5 mm) được tẩy rửa sạch bằng dung môi thích

hợp. Berberin dạng bột, có độ tinh khiết không thấp hơn 97,0% được bảo quản trong lọ kín, lưu giữ ở nhiệt độ phòng.

Trong bước tạo huyền phù hạt nano ZnO, cân một lượng natri citrat trong khoảng 0,02 – 0,08 g hòa tan trong 200 g nước cất đựng trong cốc thủy tinh có mỏ 250 ml. Đặt hai thanh kẽm song song, cách nhau 5 cm vào trong cốc đựng dung dịch natri citrat đã chuẩn bị ở trên và nối hai thanh kẽm với nguồn điện áp trong khoảng 7 – 15 V trong khoảng thời gian 1 – 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Dung dịch thu được đem ly tâm ở tốc độ 5000 vòng/phút trong 5 phút và sau đó loại bỏ phần lắng để thu được huyền phù hạt nano ZnO.

Trong bước tạo dung dịch BBR, cân 1 gam BBR cho vào cốc thủy tinh có mỏ chứa từ 10 – 20 ml glycerol. Khuấy trộn ở điều kiện gia nhiệt 37 °C để BBR tan hoàn toàn, tạo thành dung dịch BBR có màu cam đồng nhất.

Trong bước tạo huyền phù phức nano ZnO-BBR, một cốc thủy tinh có mỏ chứa 180 – 190 ml dung dịch huyền phù hạt nano ZnO được đặt trên máy khuấy từ và khuấy liên tục với tốc độ 1000 – 1500 vòng/phút ở nhiệt độ phòng. Dung dịch BBR sau khi hòa tan trong glycerol được nhỏ giọt vào huyền phù nano ZnO bằng bơm kim tiêm tự động với tốc độ 0,5 – 2,0 ml/phút. Sau khi nhỏ giọt hết dung dịch BBR, dung dịch huyền phù phức nano ZnO-BBR tiếp tục được khuấy trong 30 phút.

Trong bước thu sản phẩm phức nano ZnO-BBR, dung dịch huyền phù phức nano ZnO-BBR được rung siêu âm trong thời gian 10 – 15 phút để các hạt phức nano ZnO-BBR phân tán ổn định trong nước. Sau đó dung dịch được lọc qua giấy lọc (đường kính lỗ lọc 20 – 25 μm), sản phẩm thu được là dung dịch phức nano ZnO-BBR có màu vàng đồng nhất. Sản phẩm được đựng trong lọ kín và bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1. Chế tạo phức nano ZnO-BBR

Đặt hai thanh kẽm (độ tinh khiết 99,999 %, chiều dài 150 mm, chiều rộng 10 mm và chiều dày 0,5 mm) song song, cách nhau 5 cm vào trong cốc thủy tinh có mỏ 250 ml chứa 200 g dung dịch natri citrat 0,02 % khối lượng. Nối hai thanh kẽm với nguồn điện áp 9 V

trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Ly tâm dung dịch thu được ở tốc độ 5000 vòng/phút trong 5 phút, sau đó loại bỏ phần lắng để thu được huyền phù hạt nano ZnO đồng nhất.

Hòa tan 1 gam berberin (BBR) trong 10 ml glycerol trong cốc thủy tinh có mỏ ở nhiệt độ 37 °C để thu được dung dịch BBR có màu cam đồng nhất.

Trong một cốc thủy tinh có mỏ 250 ml, 190 ml dung dịch huyền phù hạt nano ZnO được khuấy liên tục với tốc độ 1000 vòng/phút bằng máy khuấy từ ở nhiệt độ phòng. Dung dịch BBR được nhỏ giọt vào huyền phù nano ZnO bằng bơm kim tiêm tự động với tốc độ 1,0 ml/phút. Dung dịch tiếp tục được khuấy thêm 30 phút sau khi dung dịch BBR được nhỏ hết, sau đó được rung siêu âm trong thời gian 15 phút và lọc qua giấy lọc đường kính lỗ 20 μm) để thu được dung dịch phức nano ZnO-BBR có màu vàng đồng nhất.

Ví dụ 2. Xác định đặc tính phức nano ZnO-BBR

Để xác định sự hình thành cấu trúc pha tinh thể của phức nano ZnO-BBR, tiến hành xác định nhiễu xạ tia X cho sản phẩm phức nano ZnO-BBR thu được từ Ví dụ 1 bằng thiết bị EQUINOX 5000 – Thermo Scientific. Cụ thể, hình 2 là giản đồ nhiễu xạ tia X của sản phẩm phức nano ZnO-BBR thu được từ Ví dụ 1, cho thấy các pha tinh thể ZnO với các đỉnh đặc trưng tại góc 2θ bằng 31,6; 34,44; 36,19; 47,62; 56,59; 62,89 và 67,99 °. Các đỉnh đặc trưng tinh thể BBR xuất hiện tại góc 2θ bằng 6,79; 9,13 và 13,90 °. Tuy nhiên, các đỉnh đặc trưng cho tinh thể BBR trong sản phẩm phức nano ZnO-BBR xuất hiện với cường độ thấp hơn so BBR nguyên chất. Điều này chứng tỏ, sự có mặt của Zn^{2+} và ZnO hình thành trong quá trình điện hóa và tồn tại trong dung dịch huyền phù nano ZnO ảnh hưởng đến sự tái kết tinh của BBR. Zn^{2+} và ZnO có thể tạo phức với phân tử BBR thông qua sự chuyển điện tích từ nhóm methoxy isoquinolin (đóng vai trò là gốc cho) sang ion Zn^{2+} (đóng vai trò là chất nhận). Bên cạnh đó, nguyên tử oxy trong nhóm methoxy của BBR có thể cho nguyên tử Zn điện tử tự do của nó để hình thành liên kết cho nhận. Ngoài ra, bề mặt hạt nano ZnO có thể mang điện tích âm do được gắn kết với các gốc citrat, từ đó hình thành lực tương tác tĩnh điện giữa bề mặt tích điện âm của hạt nano ZnO với nhóm amoni bậc 4 mang điện tích dương của BBR.

Để xác định khả năng hấp thụ của phức nano ZnO-BBR thu được từ Ví dụ 1, tiến hành đo phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến (UV-vis) ở dải bước sóng từ 200 – 800 nm (Hình 2) sử dụng thiết bị quang phổ UV-vis (6850 UV/Vis, Jenway). Do hiệu ứng plasmon bề mặt của các hạt nano, đỉnh hấp thụ của hạt nano ZnO được xác định ở 340 nm. Các đỉnh hấp thụ đặc trưng cho BBR xuất hiện ở 228, 263, 345 nm tương ứng cho sự dịch chuyển $\pi-\pi^*$ của nhóm isoquinoline và ở 421 nm tương ứng cho sự dịch chuyển $n-\pi$ trong phân tử BBR. Đỉnh hấp thụ của phức nano ZnO/BBR tương tự như phổ của nano BBR, nhưng có cường độ thấp hơn. Tuy nhiên, đỉnh hấp thụ đặc trưng của nano ZnO ở 340 nm không xuất hiện trong phổ hấp thụ UV-vis của phức nano ZnO-BBR, có thể giải thích do nó bị chồng lấp bởi các đỉnh hấp thụ mạnh của BBR.

Để xác định kích thước và hình thái của phức nano ZnO-BBR thu được từ Ví dụ 1, tiến hành phân tích phức nano ZnO-BBR bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM, JEM1010, JEOL). Các hạt nano ZnO có hình lục giác đều với kích thước nằm trong khoảng từ 20 nm đến 40 nm (Hình 3a). Với sự có mặt của BBR, phức nano ZnO-BBR tạo thành có hình cầu với kích thước nhỏ hơn (Hình 3b). Có thể quan sát thấy các hạt nano ZnO được bao bọc bởi một lớp màng dày và thô. Lớp màng này được hình thành do sự hấp phụ của BBR trên bề mặt của hạt nano ZnO, tạo thành cấu trúc lõi-vỏ của phức ZnO-BBR.

Ví dụ 3. Đánh giá hiệu quả kháng khuẩn của sản phẩm phức nano ZnO/BBR

Sản phẩm phức nano ZnO-BBR chế tạo theo quy trình của giải pháp hữu ích được đánh giá hiệu quả kháng khuẩn đối với hai dòng vi khuẩn là tụ cầu vàng kháng methicillin (MRSA, Gram dương) và *Salmonella enteritidis* (*S. enteritidis*, Gram âm) sử dụng kỹ thuật nồng độ diệt tối thiểu và đếm khuẩn lạc.

Hiệu quả kháng khuẩn của phức nano ZnO-BBR được so sánh với nano ZnO và nano BBR (Hình 4). Đối với MRSA, hoạt tính kháng khuẩn của phức nano ZnO-BBR vượt trội so với nano BBR và nano ZnO ở nồng độ pha loãng 4 lần từ nồng độ gốc của sản phẩm thu được ở Ví dụ 1. Ở nồng độ gốc và nồng độ pha loãng 2 lần, phức nano ZnO-BBR có khả năng tiêu diệt hoàn toàn vi khuẩn MRSA ở nồng độ 10^5 CFU/mL. Các hạt phức nano ZnO-BBR có kích thước nhỏ hơn và được bao bọc bởi lớp màng BBR bên ngoài nên dễ

dàng tiếp xúc và tương tác với màng tế bào vi khuẩn MRSA, dẫn tới khả năng tiêu diệt vi khuẩn tốt hơn. Đối với *S. enteritidis*, nano BBR không thể hiện khả năng kháng khuẩn ngay cả ở nồng độ cao nhất trong khi nano ZnO và phức nano ZnO-BBR có tác dụng ức chế ở nồng độ 10^5 CFU/mL.

Sản phẩm phức nano ZnO-BBR chế tạo bằng quy trình theo giải pháp hữu ích thể hiện khả năng tiêu diệt vi khuẩn MRSA tốt hơn do có kích thước hạt nhỏ và lớp BBR bọc bên ngoài có ái lực tốt hơn với màng tế bào của vi khuẩn Gram dương. Hơn nữa, nhờ thành phần ZnO mà khả năng ức chế đối với vi khuẩn Gram âm của phức nano ZnO-BBR được thể hiện.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất phức nano ZnO/BBR theo giải pháp hữu ích cho phép chế tạo sản phẩm phức nano ZnO/BBR có kích thước dưới 20 nm, có cấu trúc lõi-vỏ với sự hình thành lớp màng mỏng BBR bao bọc hạt nano ZnO. Hoạt tính kháng vi khuẩn gây bệnh của phức nano ZnO/BBR được tăng cường so với nano ZnO và nano BBR đối với cả hai chủng vi khuẩn Gram dương và Gram âm. Quy trình theo giải pháp hữu ích đơn giản và dễ thực hiện. Phức nano ZnO/BBR được xác định có độ đồng đều về hình thái, cấu trúc tinh thể và tính chất hóa lý ổn định.

Bằng kỹ thuật điện hóa kết hợp siêu âm, quy trình cho phép chế tạo phức nano ZnO/BBR không lẫn các tạp chất độc hại, an toàn khi sử dụng trong lĩnh vực y sinh như điều trị các bệnh liên quan đến đường ruột.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất phức nano ZnO-Berberin có hoạt tính kháng khuẩn sử dụng trong lĩnh vực y sinh, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị nguyên liệu gồm hai thanh kẽm (độ tinh khiết 99,999 %, chiều dài 150 mm, chiều rộng 10 mm và chiều dày 0,5 mm) và berberin dạng bột (độ tinh khiết không thấp hơn 97,0%);

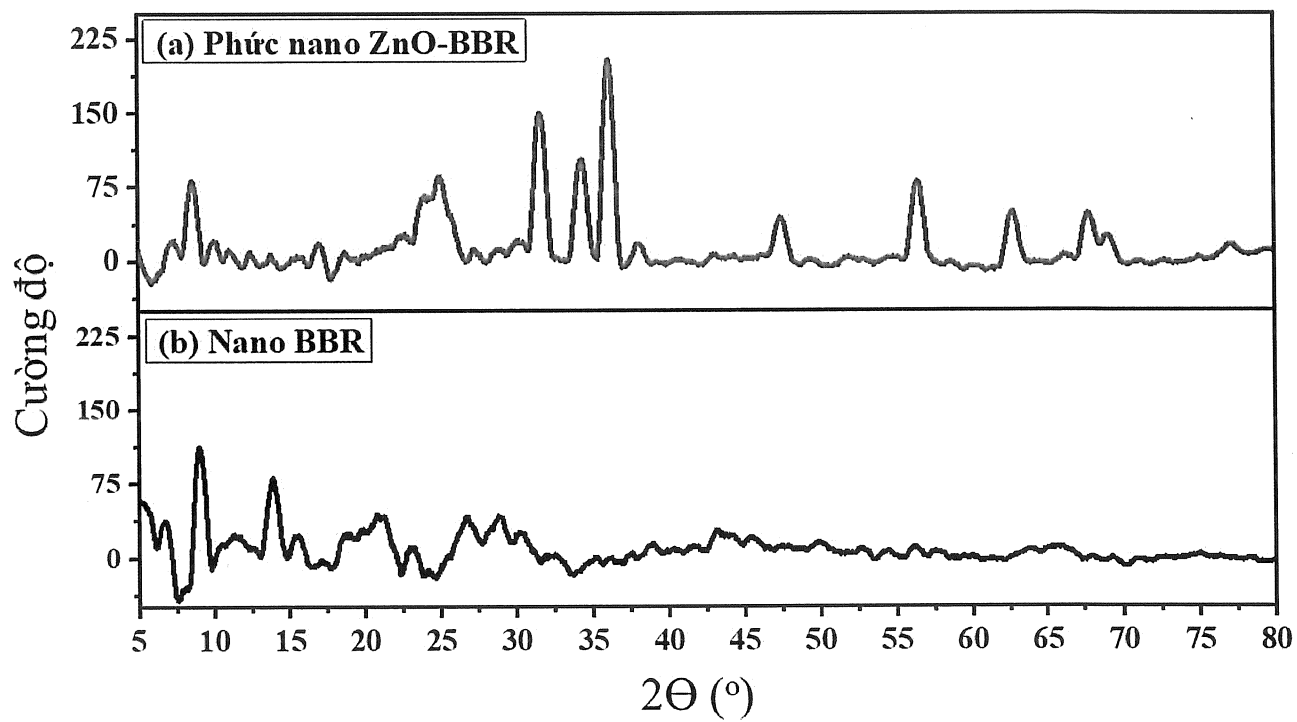
b) tạo huyền phù hạt nano ZnO bằng cách nhúng hai thanh kẽm cách nhau 5 cm trong 200 g dung dịch natri citrate có nồng độ trong khoảng 0,01 – 0,04 % khối lượng và nối hai thanh kẽm với nguồn điện áp trong khoảng 7 – 15 V trong thời gian 1 – 3 giờ, sau đó ly tâm ở tốc độ 5000 vòng/phút trong 5 phút và loại bỏ phần lắng;

c) tạo dung dịch berberin bằng cách cho berberin vào trong cốc đựng glycerol với tỉ lệ 1:10 (khối lượng (g): thể tích (ml)), sau đó khuấy trộn trong điều kiện gia nhiệt ở 37 °C cho đến khi thu được dung dịch berberin có màu cam đồng nhất;

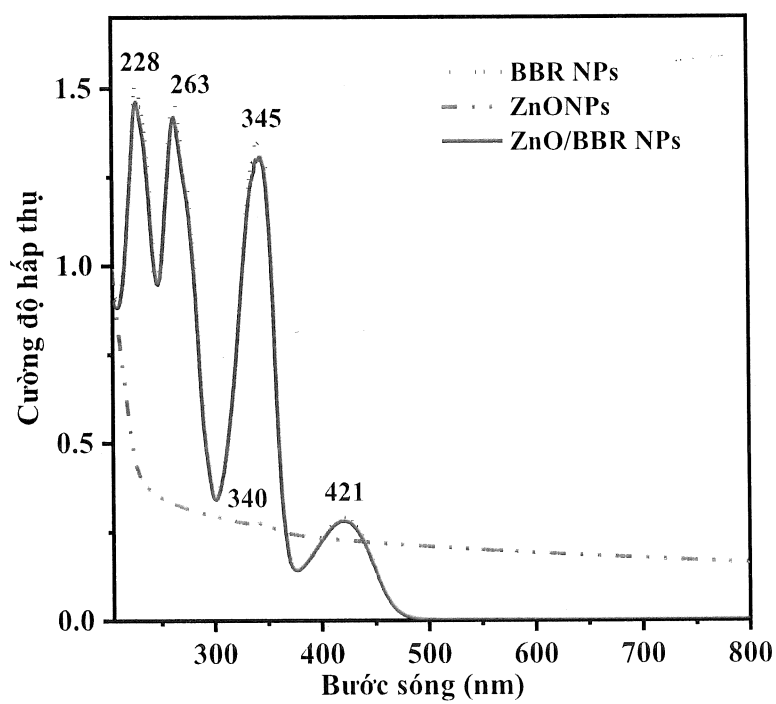
d) tạo huyền phù phức nano ZnO-BBR bằng cách bơm nhỏ giọt dung dịch berberin đã chuẩn bị ở bước (c) qua đầu kim tiêm với tốc độ khoảng 0,5 – 2,0 ml/phút vào bình thủy tinh chứa 180 - 190 ml huyền phù hạt nano ZnO đã chuẩn bị ở bước (c) trong điều kiện khuấy 1000 – 1500 vòng/phút tại nhiệt độ phòng; và

e) thu dung dịch phức nano ZnO-BBR ổn định bằng cách rung siêu âm dung dịch thu được ở bước (d) trong thời gian 5 – 15 phút, sau đó dung dịch được lọc qua giấy lọc, sản phẩm thu được là dung dịch phức nano ZnO-BBR có màu vàng đồng nhất.

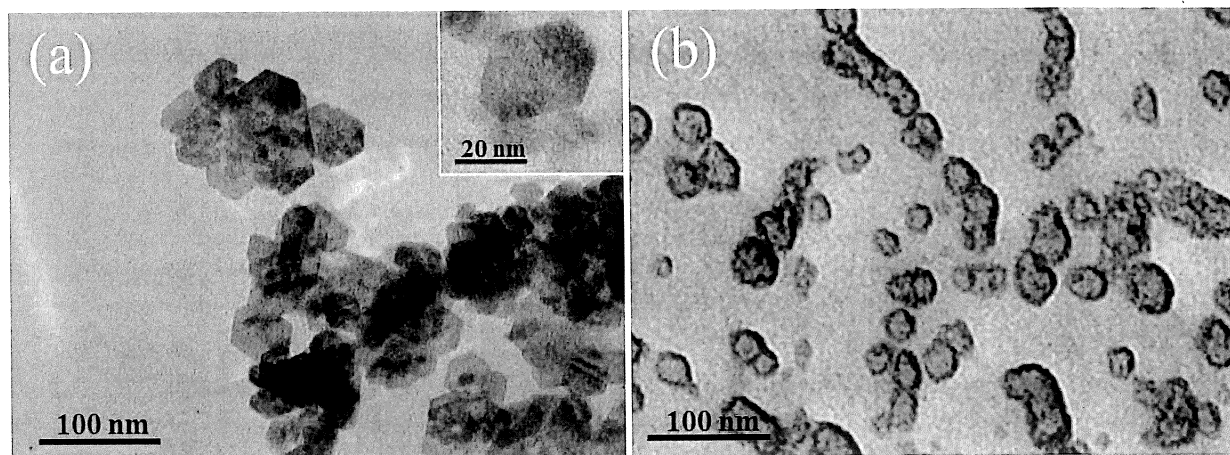
HÌNH 1



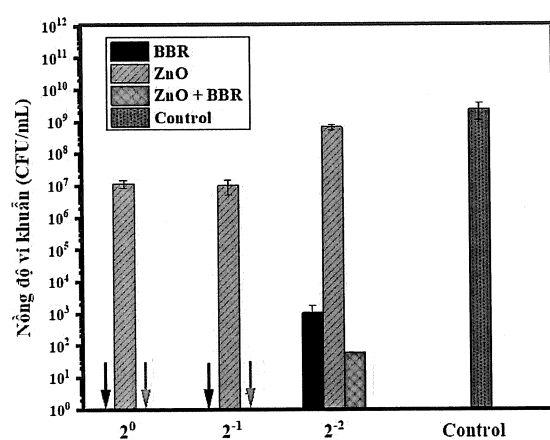
HÌNH 2



HÌNH 3

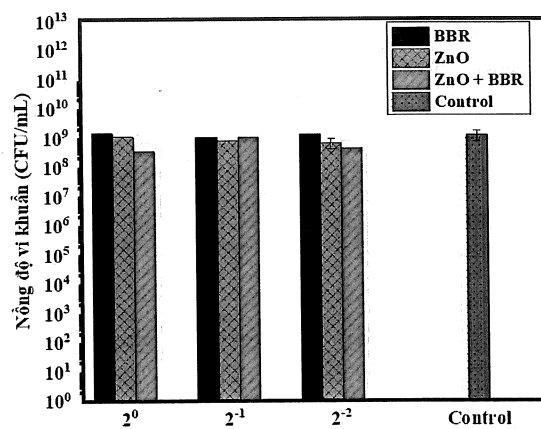


HÌNH 4



Nồng độ pha loãng của nano BBR, Nano ZnO và phức nano ZnO-BBR

(a) MRSA



Nồng độ pha loãng của nano BBR, nano ZnO và phức nano ZnO-BBR

(b) *S. enteritidis*