



(12) **BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) 
1-0021833

(51)⁷ **A61K 47/34, B01J 13/00, A61K 31/015,** (13) **B**
9/107, 47/10

(21)	1-2013-04098	(22)	28.06.2012		
(86)	PCT/US2012/044525	28.06.2012	(87)	WO2013/003529	03.01.2013
(30)	61/502,156	28.06.2011	US		
(45)	25.10.2019	379	(43)	25.04.2014	313
(73)	KEMIN INDUSTRIES, INC. (US) 2100 Maury Street, Des Moines, Iowa 50317, United States of America				
(72)	CHOW, Pei-Yong (SG), GOH, Layh-Beng (SG)				
(74)	Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)				

(54) **PHƯƠNG PHÁP BAO NANG CHẾ PHẨM CÓ ĐỘ TAN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH ĐƯỢC TĂNG CƯỜNG VÀ VI NHŨ TƯƠNG HAI PHA LIÊN TỤC**

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp tạo ra chế phẩm được bao nang có độ tan và độ ổn định được tăng cường. Vi nhũ tương hai pha liên tục hoặc Winsor Typ III được tạo ra bằng cách sử dụng chất nhũ tương, dung môi và chất đồng nhũ tương. Chế phẩm hoạt tính được bổ sung vào vi nhũ tương dẫn đến mạng lưới mixen của chế phẩm hoạt tính trong vi nhũ tương. Chế phẩm hoạt tính có thể hòa tan trong nước hoặc có thể hòa tan trong dầu hoặc có thể hòa tan trong cả nước lẫn dầu.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Nói chung, sáng chế đề cập đến vi nhũ tương loại dùng cho thức ăn và cụ thể hơn là, đến phương pháp mới tạo ra hạt loại dùng cho thức ăn có kích cỡ giảm có độ tan và độ ổn định được tăng cường.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Việc dùng dược phẩm dinh dưỡng hoạt tính hoặc phần bổ sung thức ăn cho động vật đạt được tốt nhất nhờ việc sử dụng tá dược dạng lỏng thích hợp mà có thể mang lượng hữu hiệu của hoạt chất ở dạng nguyên vẹn đến vị trí mong muốn ở động vật. Phần lớn các hoạt chất này hòa tan rất kém trong dầu hoặc nước, đưa ra vấn đề đang trên đường đi giữa việc dùng và sự hấp thụ đích. Tuy nhiên, nhiều chất hóa học mà có thể có tác dụng như các tá dược dạng lỏng phân phối thích hợp đối với hoạt chất này đã được chấp thuận cho sử dụng với động vật, do liên quan đến độ an toàn hoặc độ độc. Do đó, việc cấu thành tá dược dạng lỏng phân phối thích hợp và hiệu quả đối với các hoạt chất này đưa ra thử thách đối với hầu hết các nhà nghiên cứu.

Carotenoit là nhóm sắc tố tạo màu mà có màu sắc từ màu vàng đến màu đỏ và được phát hiện một cách rộng rãi trong tự nhiên và tạo ra màu sắc đặc trưng cho thức ăn dùng cho gia súc. Một số ví dụ quan trọng về loại này bao gồm lutein, capsanthin, zeaxanthin và caroten. Chúng cấu thành nhóm sắc tố tự nhiên quan trọng mà là trong yêu cầu đối với ngành công nghiệp thực phẩm và thức ăn dùng cho động vật làm các thành phần thay thế đối với chất tạo màu nhân tạo. Hơn nữa, chúng không được tổng hợp trong cơ thể và do đó, việc ăn khẩu phần ăn chỉ là nguồn bổ sung. Tất cả các carotenoit là không thể hòa tan trong nước và hòa tan không đáng kể trong chất béo và dầu. Độ tan giới hạn này làm cản trở việc sử dụng trực tiếp các carotenoit tương đối thô, thu được từ sự tổng hợp đối với sự hình thành sắc tố, do chỉ có thể đạt được hiệu suất về màu sắc ở mức thấp. Ngoài ra, carotenoit thô được hấp thụ một cách rất kém trong đường dạ dày-ruột do kích cỡ hạt không đồng nhất.

Phương pháp chung trong nỗ lực tạo cấu trúc tá được dạng lỏng này là thông qua việc sử dụng các vi nhũ tương. Các vi nhũ tương là ổn định về mặt nhiệt động, trong suốt, tính nhớt thấp và sự phân tán đẳng hướng gồm có dầu và nước, được ổn định bởi màng bề mặt phân giới của các phân tử hoạt động bề mặt, thông thường trong kết hợp với đồng chất hoạt động bề mặt. Thông thường, các nghiên cứu về vi nhũ tương¹⁻⁷ tập chung ở việc tạo thành vi nhũ tương nước trong dầu (W/O) hoặc dầu trong nước (O/W), như vi bình phản ứng mà ở đó chất cô đặc (chất hoạt động bề mặt và pha dầu) được nạp vào với hoạt chất. Tuy nhiên, thông thường chúng gồm có ‘các mixen đảo ngược’ hoặc ‘pha chất hoạt động bề mặt trong dầu’ mà không thể được nghịch chuyển thành giọt dầu trong nước khi sự pha loãng trong nước đơn giản. Sản phẩm này sẽ không thích hợp làm chất phụ gia, khi nó được pha loãng và được khử ổn định trong môi trường trong nước. Sự pha loãng trong nước cũng được bắt gặp khi chúng đi vào hệ sinh học, chỉ chuyển qua các giai đoạn hấp thụ khác nhau và phân bố trong cơ thể động vật. Do đó, các sản phẩm vi nhũ tương này sẽ có ít giá trị thực tiễn.

Trong các nghiên cứu gần đây⁸⁻¹¹, các nhà khoa học đã phát hiện ra hỗn hợp đơn nhất gồm dầu loại dùng cho thức ăn, mà có thể được pha loãng với pha trong nước một cách tăng dần và một cách liên tục mà không chia tách pha và được biến đổi thành các cấu trúc hai pha liên tục (bicontinuous) mà, khi pha loãng tiếp, có thể được nghịch chuyển thành các giọt nano dầu trong nước. Hỗn hợp đơn nhất này gồm có hai hoặc nhiều chất nhũ tương ưa nước không ion loại dùng cho thức ăn mà tự tổ hợp để tạo ra các mixen đảo ngược hỗn hợp (chất cô đặc).

Vi nhũ tương hai pha liên tục¹² (Winsor Typ III) đã là một chủ đề nghiên cứu tích cực do cấu trúc đơn nhất của chúng cũng tự thích ứng với ứng dụng giải phóng có kiểm soát. Các phân tử lưỡng tính tạo ra các kênh nước và dầu hai pha liên tục, trong đó thuật ngữ “hai pha liên tục” đề cập đến hai vùng ưa nước khác biệt (liên tục, nhưng không giao nhau) được chia tách bởi hai lớp. Điều này cho phép sự hợp nhất đồng thời của các hoạt chất có thể hòa tan trong nước và dầu và cấu trúc pha tạo ra con đường khuếch tán uốn khúc đối với sự giải phóng có kiểm soát của các thành phần được bao nang. Không kể các nghiên cứu gần đây, vẫn còn khoảng trống trong việc giải thích kỹ thuật vào ứng dụng khả thi và thực tiễn. Các khó khăn bao gồm việc đạt được hàm lượng sản phẩm hợp lý ổn định có thời hạn sử dụng hợp lý, sản xuất có tính quy mô

hóa và sản xuất tùy chỉnh bằng cách sử dụng nguyên liệu được chấp thuận theo quy định, làm cản trở sự tiến triển trong sự phát triển của các vi nhũ tương hai pha liên tục loại dùng cho thức ăn thành các sản phẩm thương mại.

Sáng chế đề cập đến sự phát triển mới của sản phẩm ổn định, được tạo ra qua sự tối ưu hóa việc sản xuất vi nhũ tương hai pha liên tục loại dùng cho thức ăn đối với việc bao nang của carotenoit từ các phần chiết của cúc vạn thọ. Các đặc tính lý-hóa học của vi nhũ tương hai pha liên tục được mô tả đặc điểm và gia nhiệt một cách ổn định và mức sinh khả dụng được đánh giá.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Có sự quan tâm ngày càng lớn trong các ngành công nghiệp thực phẩm và thức ăn trong việc sử dụng hệ phân phối dạng keo để bao nang các thành phần chức năng. Các vi nhũ tương là có sự quan tâm đặc biệt như các hệ phân phối dạng keo bởi vì chúng có thể được sản xuất một cách dễ dàng từ các thành phần loại dùng cho thức ăn, bằng cách sử dụng các thao tác chế biến tương đối đơn giản.

Sáng chế đề xuất phương pháp mới và chế phẩm để bao nang nhiều chất có thể hòa tan trong nước/có thể hòa tan trong dầu vào các cấu trúc nano vi nhũ tương hai pha liên tục (ví dụ, các hạt nano hoặc hạt có kích cỡ nhỏ hơn khoảng 500 nanomet). Phương pháp này bao gồm việc tạo ra chất nhuộm màu được tạo thành chủ yếu từ carotenoit chứa vi nhũ tương hai pha liên tục gồm có hỗn hợp đơn nhất gồm dầu loại dùng cho thức ăn, hai hoặc nhiều chất nhũ tương ưa nước không ion loại dùng cho thức ăn, đồng dung môi, chất đồng nhũ tương và chế phẩm hoặc hoạt chất. Theo phương án được ưu tiên, chất nhũ tương là polysorbat 80, đồng dung môi là glyxerol hoặc limonen, chất đồng nhũ tương là etanol và chế phẩm hoạt tính là carotenoit dạng tự do thông qua phản ứng xà phòng hóa.

Cụ thể là, sáng chế bao gồm việc sử dụng mới các vi nhũ tương loại dùng cho thức ăn Winsor Typ III (hai pha liên tục) có thể pha loãng với nước, gồm có sorbitan este được etoxyl hóa (TWEEN® 80), nước, R-(+)-limonen, etanol và glyxerol, như tá được dạng lỏng dạng nano để làm tăng cường sự hòa tan và độ ổn định đối với khả năng phản ứng môi trường nhanh chóng của chế phẩm loại dùng cho thức ăn, cụ thể là carotenoit. Sự hòa tan tối đa thu được trong pha vi nhũ tương hai pha liên tục. Điều

này là lớn hơn từ 6 đến 8 lần so với khả năng hoà tan của dầu (limonen) đối cùng hợp chất với hàm lượng nước thay đổi. Khả năng hòa tan của carotenoit dọc theo đường pha loãng trong biểu đồ pha tam phân giả tạo có tương quan với sự chuyển tiếp vi cấu trúc dọc theo đường pha loãng. Trên đường pha loãng này, tỷ lệ trọng lượng của limonen/etanol/polysorbat 80 được giữ không đổi ở 1:2:3. Độ ổn định của carotenoit trong trong vi nhũ tương được nghiên cứu. Có 13% và 24% giọt trong tổng hàm lượng carotenoit khi lần lượt được phơi trần với 25°C và 65°C, trong 1 tháng. Điều này được cho là ổn định tốt hơn đối với vi nhũ tương. Ngoài ra, sự phân bố kích cỡ hạt của nguyên mẫu là tương đối đồng nhất, với đường kính trung bình khoảng 500nm.

Vi nhũ tương theo sáng chế bao gồm trong đó pha nước hoặc dầu có thể chứa các nguyên liệu được hòa tan được chọn từ chất tạo màu, vitamin, chất chống oxy hóa, phần chiết của các thành phần tự nhiên (như rễ, lá, hạt, hoa của thực vật, v.v), các thuốc, thuốc nhuộm mắt, phenol đơn, polyphenol, bioflavonoit, sản phẩm được làm từ sữa, protein, peptit, axit amin, muối, đường, chất tạo ngọt, chất tạo hương vị, tiền chất tạo hương vị, chất dinh dưỡng, chất khoáng, axit và chất tạo gia vị, và các hỗn hợp chứa chúng trong cùng vi nhũ tương.

Sáng chế đề xuất phương pháp và chế phẩm mới để bao nang nhiều chất có thể hòa tan trong nước/có thể hòa tan trong dầu trong các cấu trúc nano vi nhũ tương hai pha liên tục (ví dụ, hạt nano hoặc hạt có kích cỡ nhỏ hơn 1micron).

Vi nhũ tương hai pha liên tục được sử dụng để làm tăng cường sự bao nang và độ ổn định của các nguyên liệu có thể hòa tan trong dầu lưỡng tính hoặc ưa chất béo hoặc có thể hòa tan trong nước ưa nước trong các chế phẩm thức ăn và thực phẩm, bao gồm: (a) pha dầu bao gồm nguyên liệu có thể hòa tan trong dầu lưỡng tính hoặc ưa chất béo; (b) pha nước bao gồm nguyên liệu có thể hòa tan trong nước lưỡng tính hoặc ưa nước; và (c) hệ chất nhũ tương loại dùng cho thức ăn chứa (i) chất nhũ tương ion hoặc không ion hoặc ion lưỡng tính và (ii) chất đồng nhũ tương, trong đó pha dầu được phân tán như hạt có đường kính trung bình nhỏ hơn 1µm, trong pha nước này hoặc trong đó pha nước này được phân tán như hạt hoặc pha liên tục có đường kính trung bình nhỏ hơn 1µm, trong pha dầu này.

Vi nhũ tương hai pha liên tục theo sáng chế bao gồm pha nước nằm trong khoảng từ 10% đến 90% của tổng số, sự cân bằng là pha dầu và hệ chất nhũ tương loại dùng cho thức ăn, mà pha dầu bao gồm khoảng từ 10% đến 90% của tổng số, sự cân bằng là pha nước và hệ chất nhũ tương loại dùng cho thức ăn.

Vi nhũ tương hai pha liên tục theo sáng chế bao gồm pha nước hoặc dầu mà chứa các nguyên liệu được hòa tan được chọn từ chất tạo màu, vitamin, nước quả ép, chất chống oxy hóa, phần chiết của các thành phần tự nhiên (như rễ, lá, hạt, hoa của thực vật, v.v), thuốc, phenol đơn, polyphenol, bioflavonoit, sản phẩm được làm từ sữa, protein (bao gồm enzym), peptit, axit amin, muối, đường, chất tạo ngọt, chất tạo hương vị, tiền chất tạo hương vị, chất dinh dưỡng, chất khoáng, axit và chất tạo gia vị, hoặc hỗn hợp chứa chúng.

Vi nhũ tương hai pha liên tục theo sáng chế bao gồm chất nhũ tương mà được chọn từ glyxerol este của axit béo, monoglyxerit, diglyxerit, monoglyxerit được etoxyl hóa, polyglyxerol este của axit béo, lexithin, glyxerol este của axit béo, sorbitan este của axit béo, sucroza este của axit béo, hoặc hỗn hợp chứa chúng.

Vi nhũ tương hai pha liên tục theo sáng chế bao gồm chất đồng nhũ tương mà là chất nhũ hóa rượu trộn lẫn được với nước được chọn từ nhóm gồm có etanol, propanol, propylen glycol, glyxerol hoặc hỗn hợp chứa chúng.

Vi nhũ tương hai pha liên tục theo sáng chế bao gồm dầu được chọn từ nhóm gồm có limonen, dầu thực vật, dầu động vật, polyol polyeste và các hỗn hợp chứa chúng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là biểu đồ của tập tính pha của vùng vi nhũ tương trong suốt của hệ bao gồm polysorbat 80/etanol/limonen/glyxerol/H₂O; tỷ lệ trọng lượng của limonen với etanol và glyxerol với nước được cố định ở 1:2 và 1:3 trong khi tỷ lệ của dầu với chất hoạt động bề mặt là ở 1:1 dọc theo đường P kèm tăng hàm lượng nước.

Fig.2 là biểu đồ các thay đổi theo độ dẫn điện của vi nhũ tương dọc theo đường P kèm tăng hàm lượng nước.

Fig.3 là biểu đồ của sự hòa tan tối đa của carotenoit trong vi nhũ tương gồm có polysorbat 80/etanol/limonen/glyxerol/nước; các tham số được vẽ biểu đồ đối với hàm lượng nước dọc theo sự pha loãng dọc theo đường P.

Fig.4 là biểu đồ của sự hấp thụ Tia cực tím–Vis của carotenoit-vi nhũ tương được bao nang sau khi lưu trữ ở 25°C trong 1 tháng.

Fig.5 là biểu đồ của sự hấp thụ Tia cực tím–Vis của carotenoit-vi nhũ tương được bao nang sau khi lưu trữ ở 25°C và 65°C trong 1 tháng.

Fig.6A là ảnh hiển vi TEM của vi nhũ tương (mà không có carotenoit); Fig.6B là ảnh hiển vi TEM của carotenoit-vi nhũ tương; và Fig.6B là ảnh hiển vi TEM của chất cô đặc carotenoit được xà phòng hóa.

Fig.7 là biểu đồ của sự phân bố kích cỡ hạt của mẫu carotenoit-vi nhũ tương.

Các Fig.8(a) và (b) là các biểu đồ của sự phân tích kích cỡ hạt của (a) tiền chất dạng lỏng Kem GLO 10 và (b) tiền chất dạng lỏng Kem GLO 10 được phân tán nano.

Fig.9 là biểu đồ của sự phân bố kích cỡ hạt của tiền chất dạng lỏng Kem GLO 10 được phân tán nano ở ngày thứ 0, thứ 7, thứ 14, thứ 21 và thứ 28 ở nhiệt độ trong phòng (25°C).

Fig.10 là biểu đồ của tác dụng của việc xử lý thuốc nhuộm đối với sự hấp thụ trans-capsanthin trong huyết tương.

Fig.11 là biểu đồ của tác dụng của việc xử lý thuốc nhuộm đối với sự lắng đọng trans-capsanthin trong lòng đỏ trứng.

Fig.12 là biểu đồ của tác dụng của việc xử lý thuốc nhuộm đối với điểm YCF của trứng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Vi nhũ tương hai pha liên tục thích hợp có thể được tạo thành khi tỷ lệ của các thành phần lần lượt nằm trong khoảng từ 15 đến 50% đối với pha nước (như glyxerol/nước, propylen glycol/nước hoặc nước), khoảng từ 5% đến 40% đối với pha dầu (như limonen, etanol, limonen/etanol, dầu vô cơ, dầu đậu nành) và khoảng từ 10% đến 50% đối với chất hoạt động bề mặt (Polysorbat 60, Polysorbat 65, Polysorbat 80,

lexithin và dẫn xuất lexithin, mono- và diglyxerit, este của axit béo sorbitan) tất cả tỷ lệ phần trăm là theo trọng lượng (sau đây được biểu thị là % trọng lượng). Chuyên gia trong lĩnh vực này sẽ hiểu cách để kết hợp dầu và các chất hoạt động bề mặt khác nhau với các tỷ lệ khác nhau để đạt được tác dụng mong muốn đối với các đặc tính khác nhau của chế phẩm thu được, ví dụ, để cải thiện khả năng hòa tan các hoạt chất hoặc độ ổn định của chế phẩm thu được.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Nguyên liệu và phương pháp

Nguyên liệu. Polysorbat 80 (polyoxyethylen (20) sorbitan monooleat; TWEEN® 80), R-(+)-limonen, etanol và glyxerol là thuộc loại dùng cho thức ăn. Tất cả các chất hóa học và thuốc thử được sử dụng trong các phương pháp phân tích là loại thuốc thử phân tích. Nước được chưng cất hai lần. Nguồn carotenoit đối chứng được sử dụng là nguồn được làm ổn định của carotenoit màu vàng được xà phòng hóa từ phần chiết của cúc vạn thọ (OroGLO® 24 Dry, Kemin Industries, Inc.).

Biểu đồ pha và độ dẫn điện. Vùng pha đơn của vi nhũ tương⁶ gồm có polysorbat 80/etanol/limonen/glyxerol/H₂O được xác định một cách hệ thống bằng cách chuyển độ nước vào các chế phẩm khác nhau chứa polysorbat 80, etanol, limonen và glyxerol, trong ống thử nghiệm có nắp bằng vít. Mỗi ví dụ được trộn xoáy và được cho phép làm cân bằng trong môi trường được kiểm soát nhiệt độ ở 25°C. Dung dịch gốc chứa nước và glyxerol ở tỷ lệ trọng lượng không đổi 3:1 được tạo ra. Tỷ lệ trọng lượng etanol/limonen được giữ không đổi ở 1:2. Hỗn hợp gồm chất hoạt động bề mặt/pha dầu (etanol và limonen) hoặc hỗn hợp gồm chất hoạt động bề mặt/pha nước (nước và glyxerol) được tạo ra trong ống nuôi cấy, được bịt kín bằng nắp đỉnh vít ở tỷ lệ trọng lượng định trước của pha dầu với chất hoạt động bề mặt hoặc pha nước với chất hoạt động bề mặt và được giữ trong bể nước 25°C ($\pm 0,3^{\circ}\text{C}$). Các diện tích vi nhũ tương được xác định trong biểu đồ pha bằng cách chuẩn độ hỗn hợp pha dầu/chất hoạt động bề mặt hoặc pha nước/chất hoạt động bề mặt lần lượt với pha nước hoặc pha dầu. Tất cả các mẫu được khuấy một cách mạnh mẽ. Các mẫu được cho phép làm cân bằng trong ít nhất 24 giờ trước khi chúng được thử nghiệm.

Vùng vi nhũ tương còn được phân loại thành vi nhũ tương dầu trong nước (O/W), hai pha liên tục hoặc nước trong dầu (W/O). Ranh giới thô của vùng hai pha liên tục còn được suy diễn từ việc đo độ dẫn điện.⁶ Việc đo độ dẫn điện được thực hiện ở $25 \pm 0,2^\circ\text{C}$ đối với mẫu dọc theo đường pha loãng P bằng cách sử dụng dụng cụ đo độ dẫn điện (Extech EC500, dụng cụ đo độ pH/độ dẫn điện). Do vi nhũ tương là không ion, nên thêm một lượng nhỏ chất điện phân trong nước (dung dịch chứa 0,01M NaCl) vào. Các mẫu được giữ rõ ràng và không thể quan sát được các thay đổi trong biểu đồ pha.

Carotenoid-chế phẩm vi nhũ tương. Mẫu được chuẩn bị như sau. Dựa trên chế phẩm đối với sản phẩm khô OroGLO® 24, thêm 38,0g chất cô đặc OroGLO® được xà phòng hóa vào bình đang trộn tiếp theo 15,0g vi nhũ tương trước điều chế. Vi nhũ tương gồm có 32,5% polysorbat 80, 32,5% limonen/etanol (1:2), 35,0% glyxerol/nước (1:3). Tất cả hàm lượng được trộn cho đến khi quan sát thấy hỗn hợp đồng nhất chứa carotenoid-vi nhũ tương. Sau đó, thêm mẫu với 47g một hoặc nhiều chất mang trợ và được pha trộn để đạt được bột chảy tự do.

Thử nghiệm ứng suất ly tâm. Độ ổn định vi nhũ tương của chế phẩm được thử nghiệm bằng cách cho chúng vào thử nghiệm ứng suất ly tâm. Đặt khoảng 15g mẫu vào ống polyme trong suốt và được cho vào 24.000g lực ly tâm trong 15 phút (B. Braun Biotech Centrifuge ER 15P). Quan sát các mẫu được ly tâm trong ánh sáng huỳnh quang đối với mức độ chi tách pha. Độ nhớt của chế phẩm được thử nghiệm bằng cách sử dụng mô hình máy đo độ nhớt Brookfield DV-I+.

Đo độ nhớt và chỉ số khúc xạ. Chỉ số khúc xạ của chế phẩm được xác định bằng cách sử dụng máy đo khúc xạ kỹ thuật số loại Abbe (Reichert-Jung, Abbe Mark II) bằng cách đặt một giọt chế phẩm lên bản kính gồm ba bản ở 25°C .

Đo sự hòa tan. Carotenoid được xà phòng hóa và limonen được trộn lần thứ nhất. Sau đó, thêm nhỏ giọt nước, glyxerol, etanol và Polysorbat 80 vào để thu được vi nhũ tương rõ ràng pha đơn với chế phẩm mong muốn. Sau cùng, làm nguội các mẫu và lưu trữ ở 25°C . Các mẫu mà được giữ lại trong suốt trong ít nhất 5 ngày được cho là vi nhũ tương.

Nghiên cứu độ ổn định và xác định phổ quang kế của tổng carotenoid (SOP-10-00072). Độ ổn định của vi nhũ tương theo thời gian được kiểm tra bằng cách đo sự hấp thụ tia cực tím Tia cực tím/Vis. Đối với vi nhũ tương không ổn định, các carotenoid được bao nang có thể được giải phóng ngay lập tức và sự hấp thụ Tia cực tím/Vis của mẫu có thể giảm. Mẫu được tạo ra đầu tiên bằng cách thêm 0,5g (+/- 0,1mg) carotenoid-vi nhũ tương vào bình thót cổ màu nâu thể tích 100-ml. Bình thót cổ được làm đầy bằng hỗn hợp gồm hexan:etanol:axeton:toluen ở tỷ lệ 10:6:7:7 (HEAT) làm dung môi chiết và khuấy bằng thanh khuấy có tính từ trong 15 phút. Chuyển năm ml bằng pipet vào 50ml bình thót cổ màu nâu thể tích, được pha loãng bằng cách đánh dấu bằng HEAT, và được lắc để trộn hàm lượng. Làm đầy chậu thủy tinh bằng dung dịch và đo hệ số hấp thụ ở 460nm đối với dung môi chiết bằng cách sử dụng phổ quang kế (UV-2401PC, Shimadzu).

Hình thái học của carotenoid-vi nhũ tương. Để quan sát hình thái học, carotenoid-vi nhũ tương và carotenoid màu vàng được lắng đọng một cách trực tiếp lên màng cacbon được đỡ bởi khung lưới bằng đồng, được nhuộm với dung dịch trong nước 1% chứa osimi tetroxit (OsO_4) và được kiểm tra bằng cách sử dụng kính hiển vi điện tử truyền dẫn (TEM) JEOL 1010

Phân tích kích cỡ hạt. Mẫu carotenoid-vi nhũ tương được cho vào phân tích kích cỡ bằng cách sử dụng thiết bị phân tích kích cỡ hạt (Thiết bị phân tích kích cỡ hạt Horiba LA-950).

Kết quả

Biểu đồ pha và đo độ dẫn điện. Fig.1 thể hiện tập tính pha của vùng vi nhũ tương trong suốt (vùng có nhiều dấu chấm) của hệ bao gồm polysorbat 80/etanol/limonen/glyxerol/ H_2O . Vùng bóng tối là khoảng rộng của chế phẩm mà có thể được chọn để tạo ra vi nhũ tương trong suốt. Dựa trên biểu đồ này, vi nhũ tương có thể được tạo ra bằng cách sử dụng hàm lượng nước nằm trong khoảng từ 20 đến 100% trọng lượng.

Các thay đổi về độ dẫn điện của vi nhũ tương dọc theo đường P với hàm lượng nước được thể hiện trong Fig.2. Sẽ thể hiện rằng, độ dẫn điện thấp của vi nhũ tương ở

hàm lượng nước thấp hơn (< 20% trọng lượng), tiếp theo gia tăng nhanh chóng độ dẫn điện khi hàm lượng nước lớn hơn 20% trọng lượng.

Dựa trên phép đo độ dẫn điện, hệ chứa 35% trọng lượng nước được phát hiện là vi nhũ tương hai pha liên tục. Sau đó, hệ này được chọn cho nghiên cứu chi tiết.

Hệ carotenoit-vi nhũ tương hai pha liên tục là ổn định và có thể duy trì tính đồng nhất trong thử nghiệm phá vỡ nhũ tương (ly tâm). Độ nhớt là nhỏ hơn 100cP (khoảng từ 72,4 đến 77,5cP) và chỉ số khúc xạ của vi nhũ tương là 1,4106.

Khả năng hòa tan. Fig.3 thể hiện độ tan của carotenoit trong các thành phần vi nhũ tương ở 20% trọng lượng và 35% trọng lượng nước. Sự hòa tan của carotenoit trong các hệ vi nhũ tương với 20% trọng lượng nước và 35% trọng lượng nước lần lượt cao hơn là khoảng 6 lần (6630ppm) và khoảng 8,4 lần (10.100ppm), so với độ tan của carotenoit trong (R)-(+)-limonen (1200ppm).

Nghiên cứu độ tan. Fig.4 thể hiện sự hấp thụ Tia cực tím-Vis của carotenoit-vi nhũ tương được bao nang sau 1 tháng ở nhiệt độ trong phòng (25°C). Không có sự khác nhau đáng kể về đường cong hấp thụ của quang phổ Tia cực tím-Vis trong số các vi nhũ tương trong nghiên cứu 1 tháng. Không có carotenoit được giải phóng ra khỏi vi nhũ tương và không có biểu hiện của sự kết tụ sau 1 tháng.

Fig.5 thể hiện các thay đổi về nồng độ của carotenoit trong vi nhũ tương theo thời gian. Có sự thoái biến chậm, dẫn đến giảm 13% và 24% trong tổng hàm lượng carotenoit khi lần lượt được phơi trần với 25°C và 65°C, trong 1 tháng.

Hình thái học của carotenoit-vi nhũ tương. Các Fig.6A và B thể hiện hình ảnh TEM của vi nhũ tương hai pha liên tục 35% trọng lượng hàm lượng nước mà lần lượt không có hoặc có carotenoit. Như được thể hiện trong Fig.6A, mạng lưới mixen được tạo ra bởi các mixen được phân nhánh được phát hiện. Nó là mạng lưới mixen được kết nối, được phân nhánh, kéo dài trong khoảng trống rộng, tương tự với pha hai pha liên tục, ở đó hai lớp chất lỏng được đa kết nối vô hạn thường chia tách vùng ưa nước với vùng kỵ nước. Như được nhìn thấy trong Fig.6B, hạt có đường kính lớn hơn 100nm một cách không đáng kể.

Phần lớn hạt xuất hiện có hình cầu trong hệ vi nhũ tương được phân tán tốt. Điều này trái với Fig.6C mà thể hiện hình ảnh TEM được kết tụ của chất cô đặc carotenoit được xà phòng hóa. Sự kết tụ được mong đợi bởi vì không có chất hoạt động bề mặt được gắn vào bề mặt của carotenoit để duy trì chúng ở trạng thái được phân tán.

Phân tích kích cỡ hạt. Sự phân bố kích cỡ hạt của mẫu carotenoit-vi nhũ tương được thể hiện trong Fig.7. Đường kính trung bình của carotenoit-vi nhũ tương là tương đối đồng nhất với kích cỡ hạt khoảng 500nm.

Mô tả

Vi nhũ tương hai pha liên tục loại dùng cho thức ăn có các đặc tính đơn nhất của hạt quan tâm đối với ngành công nghiệp thực phẩm và thức ăn. Các nguyên liệu có thể được tạo ra nhờ sự kết hợp đơn của các hỗn hợp đơn nhất gồm dầu loại dùng cho thức ăn và chất hoạt động bề mặt và nước. Trong nghiên cứu của các tác giả sáng chế, carotenoit được phát hiện là được ổn định trong vi nhũ tương hai pha liên tục lớn hơn từ 6 đến 8 lần so với độ tan của chúng trong R-(+)-limonen trên đây. Hệ vi nhũ tương được chứng minh rằng nó được pha loãng bằng nước, đặc tính quan trọng mà sẽ có thể cho phép nó được áp dụng trong các ngành công nghiệp thực phẩm và thức ăn. Ngoài ra, hệ này có thể được pha loãng bằng pha dầu (bao gồm (R)-(+)-limonen) và do đó, cũng thích hợp đối với các ứng dụng pha dầu liên tục. Do đó, nó là thiết yếu để tạo cấu trúc chất cô đặc vi nhũ tương mà có khả năng pha loãng trong cả pha nước và pha dầu. Vi nhũ tương được mô tả trong bản mô tả sáng chế này có các đặc tính đơn nhất này.

Như được nhìn thấy trong Fig.6B, hạt có đường kính hơn hơn 100nm không đáng kể. Điều này là phù hợp với các kết quả của kích cỡ hạt trong Fig.7, thể hiện đường kính trung bình đơn nhất khoảng 500nm. Ngoài ra, được lưu ý ở điểm này rằng hình thái học hai pha liên tục tạo ra sự quan tâm môi trường đối với các đặc tính nạp và giải phóng. Kích cỡ miền của các kênh nước và dầu (như được thể hiện trong đoạn xen vào của Fig.6A) có thể được tinh chỉnh bằng cách làm thay đổi các thành phần vi nhũ tương để cho phép khả năng hòa tan hoàn toàn và giải phóng có kiểm soát của hoạt chất. Hơn nữa, bằng cách tùy chỉnh các đặc tính đặc hiệu của các phân ưa nước và kỵ nước, có thể kiểm soát sự tương tác của chúng với các hoạt chất, tạo ra khả năng

lớn hơn cho các đặc tính giải phóng thích hợp trong khoảng rộng các ứng dụng và điều kiện.

Carotenoit-vi nhũ tương đã thể hiện độ ổn định tốt về mặt vật lý và về mặt hóa học, với sự thoái biến tối thiểu của carotenoit trong khi lưu trữ. Sự mất lớn hơn không đáng kể của carotenoit xảy ra ở 65°C so với 25°C. Có vài sự giải thích có thể có đối với sự thoái biến của carotenoit. Trong số chúng, sự tác động của diện tích bề mặt là có liên quan đến nghiên cứu này. Như được so với carotenoit dạng tinh thể khối, diện tích bề mặt của carotenoit trong khoảng dụng cụ đo nano là lớn hơn một cách đáng kể. Điều này có thể làm giảm độ ổn định bằng cách tạo ra nhiều bề mặt tiếp xúc giữa carotenoit và môi trường nước. Trong một nghiên cứu¹³, các tác giả sáng chế đã báo cáo rằng sự thoái biến của β -caroten trong đa nhũ tương kích cỡ nano là nhanh chóng, chỉ còn lại 32,3% β -caroten sau 4 tuần lưu trữ ở 50°C. Sự thoái biến đáng kể này của carotenoit trong vi nhũ tương hai pha liên tục tạo ra thuận lợi và sẽ làm cho nó có thể phát triển sản phẩm thương mại với khoảng thời hạn sử dụng thích hợp.

Liên quan đến độ dẫn điện thấp đối với các hệ chứa ít hơn 20% trọng lượng hàm lượng nước, nó có thể là do sự hình thành các giọt vi nhũ tương W/O được phân tán trong môi trường trong dầu. Sự gai tăng rõ ràng về độ dẫn điện đối với các hệ chứa nhiều hơn 20% trọng lượng hàm lượng nước cho biết sự có mặt của nhiều kênh dẫn được kết nối, mà là các đặc điểm của vi nhũ tương hai pha liên tục.

Kết luận, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng hệ mới có thể tạo ra sự hòa tan được tăng cường của carotenoit trong vi nhũ tương, cũng như bảo vệ carotenoit khỏi bị khả năng phản ứng của môi trường nhanh (oxy hóa). Công nghệ vi nhũ tương mới này cũng tạo ra tính linh hoạt được tăng cường rất lớn đối với các nỗ lực phát triển sản phẩm, khả năng làm biến đổi lượng hoạt chất khác nhau của pha hai pha liên tục và sự dung nạp được kiểm soát của các pha hai pha liên tục đối các thành phần khác.

Ví dụ 2

Mục đích của ví dụ này là để tạo ra hệ phân phối tự nhũ hóa được phân tán nano dạng rắn chứa vi nhũ tương loại dùng cho thức ăn hai pha liên tục của sorbitan este được polyetoxyl hóa (Tween 80), nước, limonen, etanol và glyxerol với khả năng

hòa tan tuyệt vời, làm pha lỏng đối với sự phân phối của carotenoit có hoạt tính sinh học và để đánh giá mức sinh khả dụng được gia tăng của carotenoit từ dạng rắn. Nghiên cứu mức sinh khả dụng được thực hiện trong thử nghiệm lớp dẫn đến sự gia tăng hấp thụ capsanthin gấp 2,9 lần (191%) trong huyết thanh của chim và sự lắng đọng capsanthin tăng 20% trong trứng chim từ chế phẩm được phân tán nano. Hơn nữa, điểm số YCF của trứng chim được xử lý với chế phẩm được phân tán nano được so với chế phẩm hiện tại thể hiện điểm số trung bình lần lượt là 11,25 và 8,75. Các kết quả này đã chứng minh một cách rõ ràng khả năng tuyệt vời của chế phẩm dạng rắn mới trong việc thúc đẩy sự hòa tan và sự hấp thụ của trans-capsanthin *in vivo*, thông qua việc sử dụng vi nhũ tương nội sinh và tác dụng giảm kích cỡ.

Nguyên liệu và phương pháp

Nguyên liệu. Tween 80 (polyoxyetylen (20) sorbitan monooleat), limonen, etanol, glyxerol, cây lúa mì xén ngọn và silic dioxit thuộc loại dùng cho thức ăn. Tất cả các chất hóa học và thuốc thử được sử dụng trong phương pháp phân tích là thuộc loại thuốc thử phân tích. Nước được chưng cất hai lần. Nguồn ổn định của carotenoit màu đỏ được xà phòng hóa từ phần chiết của ớt cựa gà và Kem GLO 10 cũng thu được từ sự sản xuất của Kemin Animal Nutrition and Health (Asia-Pac). Việc xác định trans-capsanthin trong huyết thanh máu và lòng đỏ trứng được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp tiêu chuẩn.

Điều chế tiền chất dạng lỏng Kem GLO 10 được phân tán nano. Chế phẩm chứa carotenoit vi nhũ tương hai pha liên tục được thiết lập trong Ví dụ 1 mà gồm có tween 80:etanol/limonen:glyxerol/H₂O. Tỷ lệ trọng lượng của limonen với etanol và glyxerol với nước lần lượt được cố định ở 1:2 và 1:3. Tỷ lệ của dầu/chất hoạt động bề mặt/nước được sử dụng lần lượt là 32,5/32,5/35 (% trọng lượng), với 5,4g/kg trans-capsanthin. Chế phẩm carotenoit vi nhũ tương hai pha liên tục được tạo ra bằng phương pháp của Ví dụ 1. Tóm lại, carotenoit (37,2% trọng lượng) được hòa tan trong hỗn hợp vi nhũ tương (15% trọng lượng) gồm dầu, chất hoạt động bề mặt và đồng chất hoạt động bề mặt ở 25°C trong bể nước đẳng nhiệt để tạo thuận lợi cho sự hòa tan. Tạo lốc xoáy hỗn hợp thu được cho đến khi thu được dung dịch rõ ràng. Sau đó, làm cân bằng dung dịch này ở nhiệt độ môi trường trong ít nhất 2 giờ và được kiểm tra đối với

sự biểu hiện của tính chất đục hoặc sự chia tách pha trước các nghiên cứu kích cỡ nhỏ giọt và quang học.

Điều chế Kem GLO 10 khô được phân tán nano. Dạng rắn của carotenoit được tạo ra. Tóm lại, silic dioxit và cây lúa mì cắt ngọn (21,8% trọng lượng/26,0% trọng lượng) đầu tiên được bổ sung vào máy trộn. Sau đó, thêm 52,2% trọng lượng carotenoit vi nhũ tương được phân tán nano chứa carotenoit được xà phòng hóa (37,2% trọng lượng) vào máy trộn kèm khuấy không đổi ở nhiệt độ trong phòng trong 15 phút cho đến khi thu được hỗn hợp đồng nhất. Gôm bột thu được từ máy trộn và đo đối với hàm lượng trans-capsanthin cuối cùng.

Mô tả đặc điểm của tiền chất dạng lỏng Kem GLO 10 được phân tán nano. Sự phân bố kích cỡ hạt của mẫu được đo bằng cách sử dụng thiết bị phân tích kích cỡ hạt HORIBA (LA-950V2). Kích cỡ hạt của carotenoit màu đỏ được xà phòng hóa thô cũng được xác định để so sánh. Thử nghiệm độ ổn định lâu dài bao gồm đo kích cỡ hạt cũng được thực hiện ở khoảng thời gian đã nêu trong một tháng lưu giữ ở 25°C. Để quan sát hình thái học, carotenoit-vi nhũ tương dạng lỏng được lắng đọng một cách trực tiếp trên màng cacbon được đỡ bởi khung lưới bằng đồng, được nhuộm bằng dung dịch trong nước 1% chứa osimi tetroxit (OsO_4) và được nghiên cứu bằng cách sử dụng kính hiển vi điện tử truyền dẫn (TEM) JEOL 1010 ở 100kV. Hình thái học của carotenoit màu đỏ được xà phòng hóa thô cũng được xác định để so sánh.

Mức sinh khả dụng: Thử nghiệm lớp được thực hiện ở Genetic Improvement & Farm Technologies Sdn. Bhd., Malaysia. Thử nghiệm này được thực hiện bằng cách sử dụng các xử lý đối chứng và hai xử lý khác nhau (Kem GLO 10 được phân tán nano và Kem GLO 10 hiện tại). Chế phẩm khẩu phần ăn đối chứng được liệt kê trong Bảng 2 được sử dụng trong thử nghiệm này. Hai chế phẩm được bao gồm ở tốc độ 1kg/tấn thức ăn. Đối với hai xử lý thử nghiệm, nồng độ của trans-capsanthin trong thức ăn là khoảng 5,4g/tấn. Gà mái Lohmann Brown hai mươi chín tuần tuổi được sử dụng. Chim được cho ăn với khẩu phần ăn thử nghiệm và cho phép một tuần để thích nghi với môi trường mới của chúng. Chim được đặt vào lồng đáy dây riêng rẽ được bố trí theo hai vành đai trong lồng cạnh mở trong 14L; chế độ chiếu sáng 10 D. Bốn lồng chim được cho ăn từ máng ăn thức ăn đơn lẻ và được cho là một bản sao thử nghiệm.

Mỗi khẩu phần ăn thử nghiệm được dùng theo tám bản sao (32 chim/lần xử lý). Thức ăn và nước uống được dùng tự do trong suốt khẩu phần ăn thử nghiệm. Mỗi tuần, mười quả trứng và mẫu máu từ mỗi nhóm dùng khẩu độ ăn được lấy để phân tích trans-capsanthin. Huyết tương được tách khỏi máu và hàm lượng trans-capsanthin được định lượng. Một nhóm gồm 8 người quan sát được đào tạo được yêu cầu đánh giá các quả trứng này bằng cách sử dụng quạt màu có bán trên thị trường (DSM). Các dữ liệu được phân tích về mặt thống kê bằng phương pháp một kiểu ANOVA.

Kết quả

Mô tả đặc điểm của tiền chất dạng lỏng Kem GLO 10 được phân tán nano. Chế phẩm chứa thành phần lipid mà cấu thành pha tam phân của Kem GLO 10 vi nhũ tương được phân tán nano được tối ưu hóa được thể hiện trong Bảng 1. Hạt dạng rắn được làm khô bằng cách phun có các đặc tính về khả năng dòng chảy tốt do sự có mặt của silic dioxit và cám lúa mì, mà được xét đến làm chất mang thích hợp đối với các dạng liều dạng rắn. Hàm lượng trans-capsanthin cuối cùng của dạng rắn được tạo ra là 5,4g/kg trans-capsanthin.

Bảng 1. Chế phẩm chứa tiền chất dạng lỏng Kem GLO 10 được phân tán nano được tối ưu hóa và chất rắn khô

Loại tá dược dạng lỏng	Tên	Chế phẩm (%)	
		Chất lỏng	Chất rắn
Dầu	Limonen	1,625	1,625
Chất hoạt động bề mặt	Tween 80	4,875	4,875
Đồng chất hoạt động bề mặt	Etanol	3,25	3,25
Pha nước	Glyxerol/nước (1:3)	5,25	5,25
Carotenoit	Nhựa dầu ốt cựa gà được xà phòng hóa	37,2	37,2
Chất mang	Silic dioxit/Lúa mì cắt ngọn	NA	47,8

Bảng 2. Chế phẩm chứa thức ăn dạng cám lớp dùng cho gia cầm

Thành phần	4130
Hơi ẩm (% tối đa)	13
Tro (% tối đa)	15
Protein thô (% tối thiểu)	17
Chất béo thô (% tối thiểu)	3
Sợi thô (% tối đa)	6
Canxi (%)	từ 3,5 đến 4,5
Tổng photpho (% tối thiểu)	0,5
Xantophin được đo trong thức ăn	$2,52 \times 10^{-3} \text{g/kg}$

Fig.8 thể hiện kết quả tương ứng của sự phân tích kích cỡ hạt đối với tiền chất dạng lỏng Kem GLO 10 được phân tán nano và carotenoit thô (tiền chất dạng lỏng Kem GLO 10). Kích cỡ hạt của carotenoit trong vi nhũ tương được duy trì trung bình ở khoảng 0,5 μ m tương phản với kích cỡ hạt khoảng 20 μ m đối với carotenoit thô.

Fig.9 thể hiện sự phân bố kích cỡ hạt của tiền chất dạng lỏng Kem GLO 10 được phân tán nano ở ngày thứ 0, thứ 7, thứ 14, thứ 21 và thứ 28 ở nhiệt độ trong phòng (25°C). Không có sự khác nhau đáng kể nào về sự phân bố kích cỡ hạt đối với mẫu trong 1 tháng nghiên cứu. Các kết quả của độ ổn định lâu dài đã chứng minh rằng carotenoit được bảo vệ vi nhũ tương là ổn định hơn và được phân tán một cách đồng nhất hơn với việc không có sự kết tụ (như được thể hiện trong Fig.8(b)). Được cho rằng chất hoạt động bề mặt và pha dầu được thử dụng trong nghiên cứu này không chỉ tác động đến sự hình thành của chất keo bảo vệ đáp ứng với sự thiết lập độ ổn định dạng keo đối với sự kết tụ, nhưng cũng trợ giúp vi nhũ tương được tạo thành trong dạ dày được cấu trúc lại một cách dễ dàng thành mạng lưới hai pha liên tục. Điều này cũng có thể xảy ra thậm chí với sự không có mặt của phospholipit mặt, nhờ đó tạo thuận lợi cho việc hấp thụ carotenoit trong đường dạ dày-ruột.

Mức sinh khả dụng. Mức sinh khả dụng được nghiên cứu bằng cách phân tích trans-capsanthin trong huyết tương và lòng đỏ trứng của chim đẻ trứng, sau khi dùng qua đường miệng Nano Kem GLO 10 được phân tán nano so với Kem GLO 10 hiện tại và xử lý đối chứng. Mối quan hệ nồng độ-thời gian của trans-capsanthin trong huyết tương và lòng đỏ trứng từ hai chế phẩm được thể hiện trong các Fig.10 và 11. Như được thể hiện trong Fig.10, kích cỡ hạt tạo ra sự tác động đáng kể đến mức sinh khả dụng tương đối. Huyết tương được gom từ chim được xử lý với Nano Kem GLO 10 được phân tán nano có giá trị trung bình 0,125ppm capsanthin, trong khi các mẫu được lấy từ chim được xử lý với khẩu phần ăn đối chứng và Kem GLO 10 hiện tại lần lượt có giá trị trung bình 0,0028ppm và 0,043ppm. Dựa trên các kết quả này, có thể biết được rằng sự hấp thụ capsanthin từ Kem GLO 10 được phân tán nano tăng gấp 2,9 lần (191%) so với Kem GLO 10. Dựa trên Fig.11, trứng được gom từ việc xử lý đối chứng và Kem GLO 10 hiện tại lần lượt có 0,034ppm và 0,54ppm capsanthin trong lòng đỏ trứng. Dựa trên các kết quả này, có thể biết được rằng sự lắng đọng capsanthin từ Kem GLO 10 tăng 20% so với Kem GLO 10 hiện tại. Cũng quan trọng để lưu ý

rằng sự lắng đọng capsanthin trong trứng tăng gấp khoảng 19 lần từ Kem GLO 10 được phân tán nano so với trứng được gom từ chim được xử lý với khẩu phần ăn đối chứng. Như đối với điểm số YCF của trứng, như được thể hiện trong Fig.12, trứng của chim được xử lý với Kem GLO 10 được phân tán nano có điểm số trung bình 11,25, trong khi các mẫu được lấy từ chim được xử lý với Kem GLO 10 hiện tại có điểm số trung bình 8,75. Có sự cải thiện 28,5% về điểm số màu sắc của Kem GLO 10 được phân tán nano so với Kem GLO 10 hiện tại. Cũng quan trọng để lưu ý rằng có sự gia tăng khoảng 1,5 lần về màu sắc lòng đỏ trứng trong trứng xuất hiện từ Kem GLO 10 được phân tán nano, được so với trước được gom từ chim được xử lý với khẩu phần ăn đối chứng.

Mô tả

Dựa trên mối quan hệ nồng độ-thời gian của trans-capsanthin trong huyết thanh và lòng đỏ trứng thu được đối với Kem GLO 10 được phân tán nano (các Fig.10 và 11), sự khác nhau được nhìn thấy được so với các kết quả thu được đối với các xử lý bằng cách sử dụng Kem GLO 10 hiện tại và khẩu phần ăn đối chứng. Điều này chứng minh sự liên quan của vi nhũ tương nội sinh và tác dụng giảm kích cỡ trong việc thúc đẩy sự hòa tan của trans-capsanthin in vivo. Đã được báo cáo rằng trans-capsanthin, tương tự lutein, là hợp chất ưa chất béo có thể hòa tan trong nước kém và cho phép đường hấp thụ lipit giống nhau^{14,15}. Mặc dù cơ chế chính xác của việc hấp thụ là vẫn chưa được hiểu một cách đầy đủ, trans-capsanthin được cho là được hấp thụ qua tế bào ruột nhờ sự khuếch tán đơn giản hoặc vận chuyển qua trung gian thụ thể. Hơn nữa, trans-capsanthin được tạo nhũ hóa thành các giọt lipit nhỏ trong dạ dày và còn được hợp nhất vào các mixen hỗn hợp nhờ tác dụng của muối mật và phospholipid mật, sau khi đó mixen hỗn hợp này được hấp thụ bởi tế bào ruột. Do đó, về bề ngoài của nồng độ tương đối thấp của trans-capsanthin trong huyết tương của chim và lòng đỏ trứng có thể là do sự tham gia của cơ chế hấp thụ được kể đến trên đây. Hơn nữa, việc sử dụng chất hoạt động bề mặt đã được biết là để trợ giúp tính thấm của hoạt chất qua sự rối loạn của màng tế bào (sự thấm gian bào) và/hoặc làm biến đổi môi nội không thấm giữa sự thấm cận bào của tế bào¹⁶⁻¹⁸.

Trong Kem GLO 10 được phân tán nano, Tween 80 được sử dụng làm chất nhũ tương và các tác giả sáng chế đã giả thiết rằng trans-capsanthin có mặt ở dạng vi nhũ tương được hòa tan trong đường dạ dày-ruột, có thể làm tăng cường sự hấp thụ của trans-capsanthin bởi tế bào trong ruột. Sau khi dùng qua đường miệng, không có sự hòa tan tiếp được yêu cầu do trans-capsanthin sẽ được duy trì ở trạng thái được hòa tan hoàn toàn, sau khi tiền chất cô đặc vi nhũ tương hai pha liên tục tự tạo nhũ hóa khi tiếp xúc với dịch dạ dày trong dạ dày. Các dãy hai pha liên tục nhỏ và đồng nhất này chứa trans-capsanthin còn có thể được tạo nhũ hóa bởi các mixxin mật/lecithin trong dịch trong ruột, được tiêu hóa bởi các enzym và được chuyển hóa thành các hạt lipid thậm chí nhỏ hơn. Quy trình tiêu hóa này có thể làm gia tăng rất lớn diện tích bề mặt của trans-capsanthin để truyền vào biểu mô ruột. Việc này có thể giải thích sự cải thiện đáng kể của điểm số YCF đối với trứng từ xử lý Kem GLO 10 được phân tán nano, một lần nữa cho biết rằng sự khác nhau được phát hiện về mức sinh khả dụng là đáng kể ở mức cao.

Kết luận

Kết luận, Kem GLO 10 khô được phân tán nano chứa vi nhũ tương hai pha liên tục được tạo ra một cách thành công đối với sự phân phối của trans-capsanthin. Sự phân tích kích cỡ giọt cho biết kích cỡ đặc trưng của tiền chất dạng lỏng khoảng 0,5µm được so với carotenoid thô khoảng 20µm. Nghiên cứu mức sinh khả dụng được thực hiện trong thử nghiệm lớp dẫn đến gia tăng sự hấp thụ trans-capsanthin gấp 2,9 lần (191%) trong huyết thanh của chim và sự lắng đọng trans-capsanthin tăng 20% ở trứng chim từ chế phẩm được phân tán nano. Hơn nữa, điểm số YCF của trứng từ chim được xử lý với chế phẩm được phân tán nano được so với chế phẩm hiện tại có điểm số trung bình lần lượt là 11,25 và 8,75. Các kết quả này chứng minh một cách rõ ràng khả năng tuyệt vời của chế phẩm dạng rắn mới, với sự tham gia của vi nhũ tương nội sinh và tác dụng giảm kích cỡ, trong việc cải thiện sự hòa tan và sự hấp thụ của trans-capsanthin in vivo.

Ví dụ 3Nguyên liệu và phương pháp

Nguyên liệu. Tween 80, limonen, etanol, glyxerol, cám lúa mì và silic dioxit thuộc loại dùng cho thức ăn. Tất cả các chất hóa học và thuốc thử được sử dụng trong quy trình phân tích là loại thuốc thử phân tích và nước được chưng cất hai lần được sử dụng. Nguồn ổn định của carotenoit màu đỏ được xà phòng hóa từ phần chiết của ớt cựa gà và Kem GLO 10 thu được từ sự sản xuất của Kemin Animal Health And Nutrition (Asia-Pac).

Tạo ra Kem GLO 10 khô được phân tán nano. Dạng rắn của carotenoit được tạo ra. Tóm lại, silic dioxit và cám lúa mì cắt ngọn (21,8% trọng lượng/26,0% trọng lượng) đầu tiên được bổ sung vào máy trộn. Carotenoit vi nhũ tương được phân tán nano, sau đó thêm 52,2% trọng lượng (như đối với Ví dụ 2) chứa carotenoit được xà phòng hóa (37,2% trọng lượng) vào máy trộn kèm khuấy không đổi ở nhiệt độ trong phòng trong 15 phút cho đến khi thu được hỗn hợp đồng nhất. Mẫu được tạo ra được phân tích chứa 12,47g/kg carotenoit.

Tạo ra bột xay thô dùng cho thức ăn được xử lý. Thức ăn dạng cám lớp dùng cho gia cầm (như đối với Ví dụ 2) chứa 17% protein, 3% chất béo và không nhiều hơn 6,0% sợi thô. Thức ăn được xử lý được tạo ra bởi nhà máy thử nghiệm lớp (Genetic Improvement & Farm Technologies Sdn. Bhd., Malaysia) bằng cách bổ sung 0,5kg/tấn hoặc 1,0kg/tấn Kem GLO 10 được phân tán nano và Kem GLO 10 vào thức ăn chứa carotenoit thấp.

Lưu trữ bột thô dùng cho thức ăn. Bột thô dùng cho thức ăn được xử lý được phân phối cho Kemin Animal Health And Nutrition (Asia-Pac) bởi nhà máy thử nghiệm lớp và được lưu trữ trong túi mở ở 25°C trong 3 tháng. Hàm lượng sắc tố được xác định theo phương pháp AOAC 970.64. Nhiều lần phân tích được thực hiện đối với mỗi mẫu và các giá trị thu được được tính trung bình.

Kết quả

Tổng carotenoit bị mất trong 3 tháng lưu trữ của Kem GLO 10 trung bình là 44,75%, được so với sự mất ít hơn 22,25% được quan sát trong bột thô dùng cho thức

ăn được xử lý với Kem GL 10 được phân tán nano. Như được thể hiện trong Bảng 3, Kem GLO 10 bị mất một nửa carotenoit ban đầu trong thời gian lưu trữ 3 tháng trong khi độ ổn định của carotenoit trong Kem GLO 10 được phân tán nano (được tạo ra bằng công nghệ vi nhũ tương) là được cải thiện rất nhiều, chỉ bị mất một phần ba carotenoit ban đầu ở liều tương tự. Ngoài ra, độ ổn định tương đối của carotenoit cũng được giảm một cách tăng lên khi lượng carotenoit lớn hơn được bổ sung vào thức ăn (ở 1,0kg/tấn). Sự duy trì carotenoit giảm tiếp 10% và 20% đối với Kem GLO 10 và Kem GLO 10 được phân tán nano, lần lượt được so với sự bổ sung thấp hơn 0,5kg/tấn. Các tác giả sáng chế cũng quan sát thấy rằng mức độ carotenoit bị mất từ thức ăn được xử lý bằng Kem GLO 10 được phân tán nano là từ từ hơn như được so với mức độ của Kem GLO 10 cho biết nó có thể là do phương pháp tạo ra khác nhau và hiệu quả bảo vệ tốt hơn (Bảng 4).

Bảng 3. Độ ổn định của carotenoid từ Kem GLO 10 và Kem GLO 10 được phân tán nano được bổ sung và thức ăn lớp

Liều	Kem GLO 10		Kem GLO 10 được phân tán nano	
	Nồng độ carotenoid ban đầu (g/tấn)	Duy trì sau 3 tháng ở 25°C (%)	Nồng độ carotenoid ban đầu (g/tấn)	Duy trì sau 3 tháng ở 25°C (%)
0,5kg/tấn	7,02	55,25	6,24	77,75
1,0 kg/tấn	14,04	43,52	12,47	60,10

Bảng 4. Thử nghiệm độ ổn định xanthophin trong thức ăn

Liều ORO GLO 20 được phân tán nano trong thức ăn (kg/tấn)	Tổng xantophin phục hồi (g/tấn) (Tuần 0)	Tổng xanthophin phục hồi (g/tấn) (Tuần 2)
0,25	4,95	4,49
0,5	9,70	9,55
0,75	14,45	14,0
1,0	20,48	15,7

Liều ORO GLO 20 trong thức ăn (kg/tấn)	Tổng sự phục hồi xanthophin (Tuần 0)	Tổng sự phục hồi xanthophin (Tuần 2)
0,25	7,50	5,04
0,5	10,12	10,86
0,75	13,19	8,93
1,0	19,31	11,91

Mô tả

Như được kể đến trên đây, vài yếu tố có thể tác động đến độ ổn định tương đối của carotenoit khi được bổ sung và thức ăn. Đã biết được rằng khi carotenoit ở dạng được bao nang, chúng có thể được bảo vệ khỏi sự thoái biến sớm mà có thể do ánh sáng, oxy và/hoặc nhiệt gây ra. Kem GLO 10 được phân tán nano có sự duy trì carotenoit được cải thiện như được so với Kem GLO 10, có thể là do carotenoit khi được hoà tan và được chứa trong hệ vi nhũ tương là được bảo vệ tốt hơn do cấu trúc phân tử của sắc tố trong chất nền vi nhũ tương. Vi nhũ tương được cho là tạo ra lớp chắn vật lý giữa sắc tố và các chất xúc tác oxy hóa (như oxy) và cả đặc tính phân tán ánh sáng của nó có thể trợ giúp để làm giảm cường độ ánh sáng đi đến sắc tố được bảo vệ trong chúng. Ngoài ra, các tác giả sáng chế cũng đoán trước rằng kích cỡ hạt nhỏ hơn của sắc tố carotenoit đạt được bằng cách sử dụng vi nhũ tương sẽ cho phép nó được phân phối một cách dễ dàng hơn và đồng nhất hơn vào đường xốp bên trong của hạt chất mang mà sẽ còn trợ giúp làm giảm chi phí do sự oxy hóa gây ra trên bề mặt và làm tăng cường độ ổn định của sản phẩm.

Ví dụ 4

Sự phân tán nano của các chất ưa nước và ưa chất béo được tạo ra bằng cách sử dụng các thành phần được nêu trong các Bảng từ 5 đến 9.

Bảng 5. Chất kháng vi sinh vật: Monolaurin (ưa chất béo)

Thành phần (% trọng lượng)	Ví dụ 1	Ví dụ 2
Tween 80	35,0	25,0
Limonen/Etanol (1:2)	35,0	25,0
Glyxerol /Nước (1:3)	30,0	50,0
Monolaurin (ppm)	từ 500 đến 1000	từ 500 đến 1000

Thành phần (% trọng lượng)	Ví dụ 3
Dầu thầu dầu được etoxyl hóa (EL35)	32,5
Axit propionic	32,5
Nước	35,0
Monolaurin (ppm)	từ 500 đến 1000

Bảng 6. Vitamin C và chất chống oxy hóa: Axit ascorbic (ưa nước)

Thành phần (% trọng lượng)	Ví dụ 4	Ví dụ 5
Tween 80	45,0	35,0
Limonen/Etanol (1:2)	45,0	35,0
Glyxerol /Nước (1:3)	10,0	30,0
Axit ascorbic (ppm)	từ 200 đến 500	từ 500 đến 1000

Bảng 7. Axit amin: L-lysin, L-arginin hydroclorua (ra nước)

Thành phần (% trọng lượng)	Ví dụ 6
Tween 80	32,5
Limonen/Etanol (1:2)	32,5
Glyxerol /Nước (1:3)	35,0
L-Lysin Hydroclorua (% trọng lượng)	từ 1 đến 5

Thành phần (% trọng lượng)	Ví dụ 7
Tween 80	32,5
Limonen/Etanol (1:2)	32,5
Glyxerol /Nước (1:3)	35,0
L-Arginin Hydroclorua (% trọng lượng)	từ 1 đến 5

Bảng 8. Muối mật (lưỡng tính)

Thành phần (% trọng lượng)	Ví dụ 8
Tween 80	32,5
Limonen/Etanol (1:2)	32,5
Glyxerol /Nước (1:3)	35,0
Muối mật (% trọng lượng)	từ 0,1 đến 1

Bảng 9. Enzym: Amylaza (ura chất béo)

Thành phần (% trọng lượng)	Ví dụ 9
Tween 80	32,5
Limonen/Etanol (1:2)	32,5
Glyxerol /Nước (1:3)	35,0
Chất lỏng amylaza (% trọng lượng)	từ 0,1 đến 1,0

Việc áp dụng cụ thể mà ở đó các chất ura chất béo và ura nước có thể được kết hợp trong vi nhũ tương đơn lẻ của sáng chế là trong chế phẩm thuốc nhuộm dùng cho mô sinh học như được mô tả trong đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 13/433,526, được nộp ngày 29 tháng 3 năm 2012, và nội dung được đưa ra trong bản mô tả sáng chế này để tham khảo. Việc áp dụng đối tượng mô tả thuốc nhuộm mà chứa lutein hoặc zeaxanthin, cả hai cùng là ura chất béo, với thuốc nhuộm truyền thống, như màu xanh trypan, mà thường là ura nước.

Ví dụ 5

Vi nhũ tương của sáng chế có thể được sử dụng để tạo ra bột mà có khả năng chảy được tăng cường. Điều này được thể hiện bởi tác dụng đối với góc nghỉ của khối nguyên liệu như được nêu trong Bảng 10.

Bảng 10. So sánh góc nghỉ

	Nano Kem 10 GLO khô	Kem GLO 10 khô	Nano Oro GLO 20 khô	Oro GLO 20 khô
Góc nghỉ	19,3	Không có khả năng chảy	19,69	25,27

Thông thường, góc nghỉ nhỏ hơn 40 đối với sản phẩm có thể chảy và nhỏ hơn góc nghỉ sản phẩm có thể chảy nhiều hơn. Các dữ liệu thể hiện rằng vi nhũ tương của sáng chế tạo ra bột mà có khả năng chảy được tăng cường.

Phần mô tả và các hình vẽ trên đây bao gồm các phương án minh họa của sáng chế. Các phương án trên đây và các phương pháp được mô tả trong bản mô tả sáng chế này có thể thay đổi dựa trên khả năng, thử nghiệm và sự ưu tiên của chuyên gia trong lĩnh vực này. Chỉ đơn luật liệt kê các bước của phương pháp theo một số thứ tự mà không cấu thành giới hạn bất kỳ đối với thứ tự các bước của phương pháp. Phần mô tả và hình vẽ trên đây chỉ đơn thuần giải thích và minh họa sáng chế và sáng chế không bị giới hạn đến sự giải thích này, ngoại trừ trong phạm vi của các điểm yêu cầu bảo hộ. Chuyên gia trong lĩnh vực này là người mà có khả năng bộc lộ trước khi họ có khả năng thực hiện các biến đổi và thay đổi mà không tách rời phạm vi của sáng chế.

Danh mục các tài liệu tham chiếu

1. Ấn phẩm: Solans, C., Pons, R., Kunieda, H "Overview of basic aspects of microemulsions" Industrial Applications of microemulsions, Solans, C., Kunieda, H. Eds.; Dekker: New York, (1997); 66:1-17.
2. Ấn phẩm: Dungan, S. R. "Microemulsions in foods: properties and applications" *ibid* 148 170
3. Ấn phẩm: Holmberg, K. "Quarter century progress and new horizons in microemulsions" in Micelles, microemulsions and Monolayers, Shah, O. Ed.; Dekker: New York (1998) 161 192.
4. Ấn phẩm: Garti, N., "microemulsions, emulsions, double emulsions and emulsions in food" in Formulation Science (proceeding from formulation forum '97-association of formulation chemists) (1998) 1, 147 219.
5. Ấn phẩm: Ezrahi, S., Aserin, A., Garti, N. in microemulsions-fundamental and applied aspects Kumar, P. and Mittal, K. L. Eds. Marcel Dekker, Inc. New York (1999) "Aggregation behavior in one-phase (Winsor IV) systems" 185 246.
6. Ấn phẩm: Garti, N., Clement, V., Leser, M., Aserin, A. Fanun, M. "Sucroza este microemulsions J. Molec. Liquids (1999) 80, 253 296.
7. Ấn phẩm: Anton, N., Benoit, J. P., & Saulnier, P. (2008). "Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates a review". *Journal of Controlled Release*, 128(3), 185-199.
8. Ấn phẩm: A. Spornath, A. Yaghmur, A. Aserin, R. E. Hoffman and N. Garti. (2002). "Food-Grade microemulsions Based on Nonionic Emulsifiers: Media To Enhance Lycopene Solubilization". *J. Agric. Food Chem.*, 50, 6917–6922.
9. Ấn phẩm: A. Spornath, A. Yaghmur, A. Aserin, R. E. Hoffman and N. Garti, (2003). "Self-Diffusion Nuclear Magnetic Resonance, Microstructure Transitions, and Solubilization Capacity of Phytosterols and Cholesterol in Winsor IV Food-Grade microemulsions", *J. Agric. Food Chem.*, 51, 2359–2364.

10. Ấn phẩm: A. Yaghmur, A. Aserin, I. Tiunova and N. Garti. (2002). “Sub-zero temperature behaviour of non-ionic microemulsions in the presence of propylen glycol by DSC”. *J. Therm. Anal. Cal.*, 69, 163–177.
11. Ấn phẩm: A. Yaghmur, A. Aserin, B. Antalek and N. Garti, (2003), “Microstructure Considerations of New Five-Component Winsor IV Food-Grade microemulsions Studied by Pulsed Gradient Spin–Echo NMR, Conductivity, and Viscosity”, *Langmuir*, 19, 1063–1068.
12. Ấn phẩm: Chow P.Y. and Gan L.M. (2005). “Microemulsions Polymerizations and Reactions” *Adv Polym Sci.*, 175: 257–298.
13. Ấn phẩm: Yoshida, K., Sekine, T., Matsuzaki, F., Yanaki, T., & Yamaguchi, M. (1999). “Stability of vitamin A in oil-in-water-in-oil-type multiple emulsions”. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 76, 195–200.
14. Ấn phẩm: Yonekura, L., Nagao, A., “Intestinal absorption of dietary carotenoids”, *Mol. Nutr. Food Res.* 51 (2007) 107–115.
15. Ấn phẩm: Clevidence, B.A., Bieri, J. G., “Association of carotenoids with human plasma lipoproteins”, *Methods Enzymol.* 214 (1993) 33–46.
16. Ấn phẩm: Franceschinis, E., Voinovich, D., Grassi, M., Perissutti, B., Filipovic-Grcic, J., Martinac, A., Meriani-Merlo, F., “Self-emulsifying pellets prepared by wet granulation in high-shear mixer: influence of formulation variables and preliminary study on the in vitro absorption”, *Int. J. Pharm.* 291 (2005) 87–97.
17. Ấn phẩm: Tuleu, C., Newton, J.M., Rose, J., Euler, D., Saklatvala, R., Clarke, A., Booth, S., “Comparative bioavailability study in dogs of a self-emulsifying formulation of progesterone presented in a pellet and liquid form compared with an aqueous suspension of progesterone”, *J. Pharm. Sci.* 93 (2004) 1495–1502.
18. Ấn phẩm: Kohli, K., Chopra, S., Dhar, D., Arora, S., Khar, R. K., “Self-emulsifying drug delivery systems: an approach to enhance oral bioavailability”, *Drug Discov. Today* 15 (2010) 958–965. SA-12-00765.

19. Ấn phẩm: Livingston, A. L., Bickoff, E. M. and Thomson, C. R., “Effect of added animal fats and antioxidant on stability of xanthophyll concentrates in mixed feeds”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 3 (1955) 439.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp bao nang carotenoit trong các cấu trúc nano vi nhũ tương hai pha liên tục để dùng cho động vật, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

(a) tạo ra vi nhũ tương hai pha liên tục hoặc Winsor typ III bằng cách tổ hợp chất nhũ tương, dung môi và chất đồng nhũ tương và khuấy hoặc lắc tổ hợp này;

(b) bổ sung carotenoit vào vi nhũ tương và trộn chế phẩm thu được đến đồng nhất để thu được carotenoit bao nang có độ bền để chống lại việc giải phóng của chế phẩm trong thời gian ít nhất là một tháng; và

(c) pha trộn vi nhũ tương của bước (b) với chất mang khô để tạo ra bột chảy tự do.

2. Phương pháp bao nang carotenoid để dùng cho động vật, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

(a) trộn carotenoit với chất đồng nhũ tương bằng cách tổ hợp;

(b) bổ sung chất nhũ tương, dung môi và chất đồng nhũ tương vào để tạo ra vi nhũ tương hai pha liên tục hoặc Winsor typ III; và

(c) pha trộn vi nhũ tương của bước (b) với chất mang khô để tạo ra bột chảy tự do.

3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó chất nhũ tương là polysorbat 80, dung môi được chọn từ nhóm gồm có glyxerol và limonen và chất đồng nhũ tương là etanol.

4. Phương pháp theo điểm 1, phương pháp này còn bao gồm bước bổ sung nước vào bước (a) hoặc bước (b) hoặc cả hai bước này.

5. Phương pháp theo điểm 1, trong đó carotenoit được chọn từ nhóm gồm có lutein, capsanthin, zeaxanthin và caroten.

6. Vi nhũ tương hai pha liên tục để làm tăng cường sự bao nang và độ ổn định của carotenoit trong chế phẩm thức ăn và thực phẩm dùng cho động vật ở dạng bột chảy tự do, bao gồm:

(a) carotenoid;

(b) pha dầu bao gồm nguyên liệu có thể hòa tan trong dầu lưỡng tính hoặc ưa chất béo;

(c) pha nước bao gồm nguyên liệu có thể hòa tan trong nước lưỡng tính hoặc ưa nước; và

(d) hệ chất nhũ tương loại dùng cho thức ăn bao gồm:

(i) chất nhũ tương ion hoặc không ion hoặc ion lưỡng tính, và

(ii) chất đồng nhũ tương; và

(e) trong đó pha dầu này được phân tán như hạt có đường kính trung bình nhỏ hơn 1µm, trong pha nước này; hoặc

(f) trong đó pha nước được phân tán như hạt hoặc pha liên tục có đường kính trung bình nhỏ hơn 1µm, trong pha dầu này.

7. Vi nhũ tương hai pha liên tục theo điểm 6, trong đó pha nước chiếm khoảng từ 10% đến 90% tổng số, phần còn lại là pha dầu và hệ chất nhũ tương loại dùng cho thức ăn hoặc trong đó pha dầu chiếm khoảng từ 10% đến 90% tổng số, phần còn lại là pha nước và hệ chất nhũ tương loại dùng cho thức ăn.

8. Vi nhũ tương hai pha liên tục theo điểm 6, trong đó pha nước hoặc dầu chứa các nguyên liệu được hòa tan được chọn từ chất tạo màu, vitamin, nước quả ép, chất chống oxy hóa, phần chiết của các thành phần tự nhiên, thuốc, phenol đơn, polyphenol, bioflavonoit, sản phẩm được làm từ sữa, protein (bao gồm enzym), peptit, axit amin, muối, đường, chất tạo ngọt, chất tạo hương vị, tiền chất tạo hương vị, chất dinh dưỡng, chất khoáng, axit và chất tạo gia vị và các hỗn hợp chứa chúng.

9. Vi nhũ tương hai pha liên tục theo điểm 6, trong đó chất nhũ tương được chọn từ nhóm bao gồm glyxerol este của axit béo, monoglyxerit, diglyxerit, monoglyxerit được etoxyl hóa, polyglyxerol este của axit béo, lexithin, glyxerol este của axit béo, sorbitan este của axit béo, sucroza este của axit béo và các hỗn hợp chứa chúng.

10. Vi nhũ tương hai pha liên tục theo điểm 6, trong đó chất đồng nhũ tương là chất nhũ hóa rượu trộn lẫn được với nước được chọn từ nhóm bao gồm etanol, propanol, propylen glycol, glyxerol và các hỗn hợp chứa chúng.

11. Vì nhũ tương hai pha liên tục theo điểm 6, trong đó dầu được chọn từ nhóm bao gồm limonen, dầu thực vật, dầu động vật, polyol polyeste và các hỗn hợp chứa chúng.

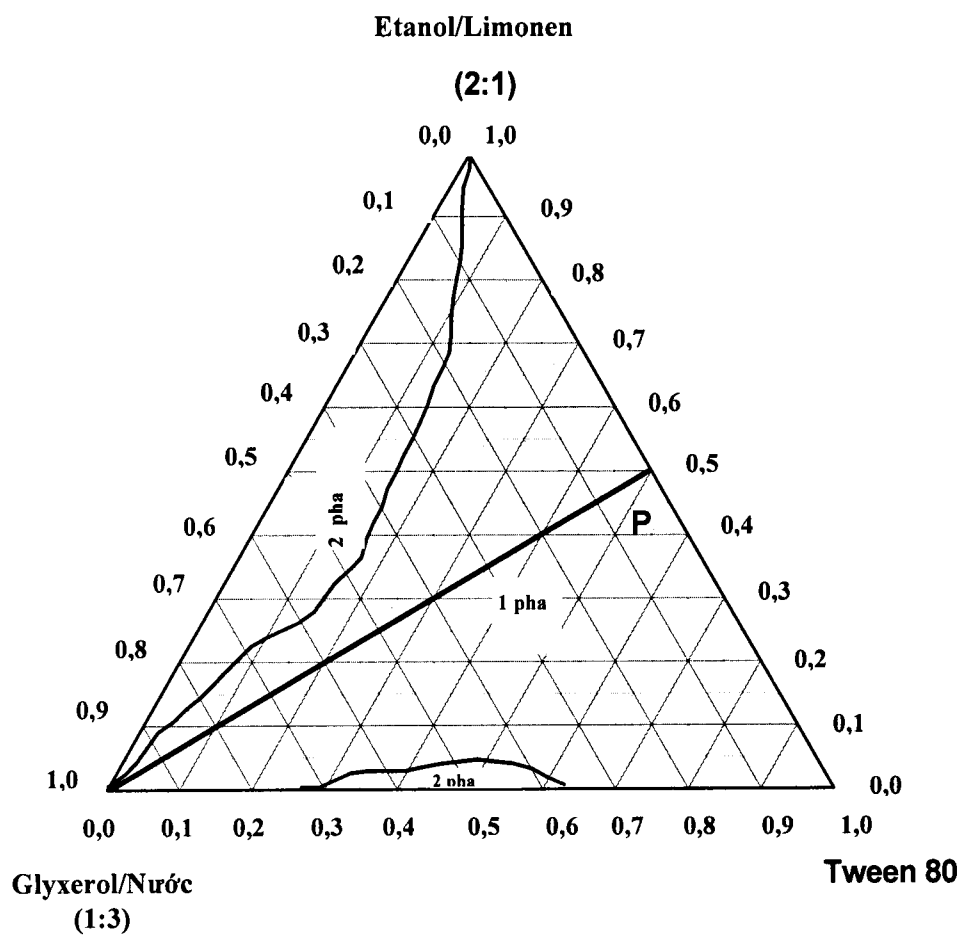


FIG. 1

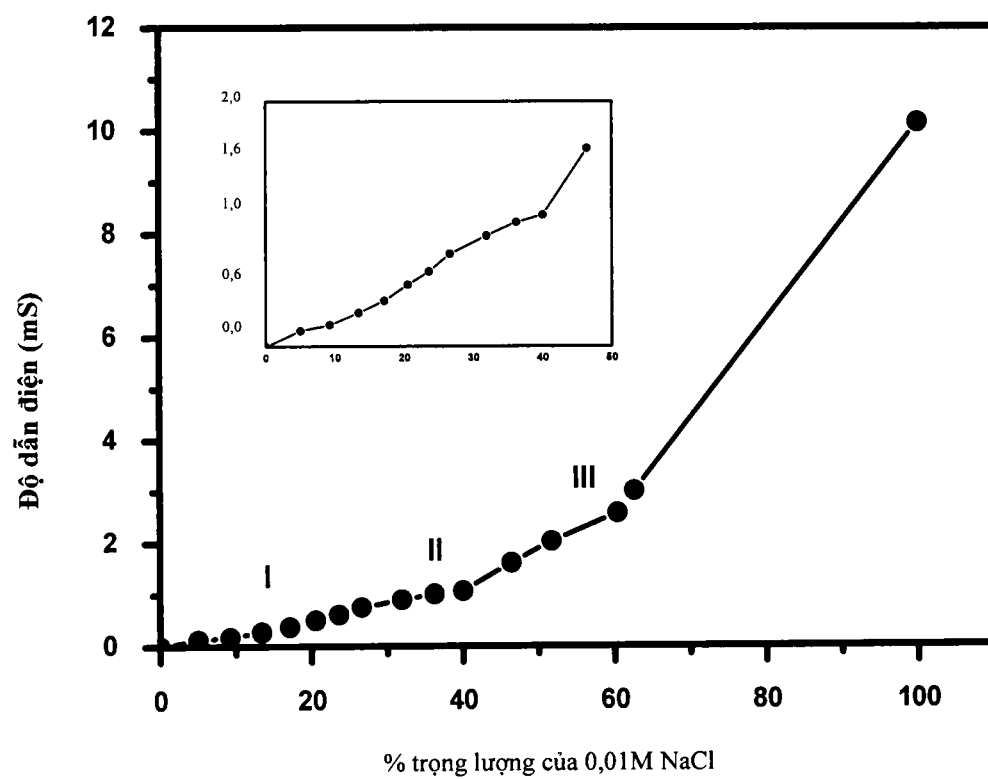


FIG. 2

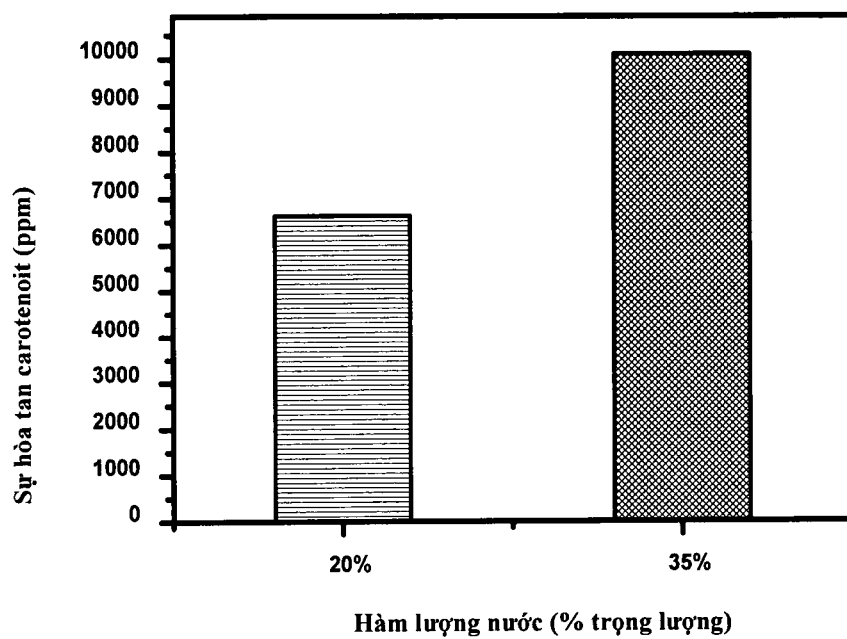


FIG. 3

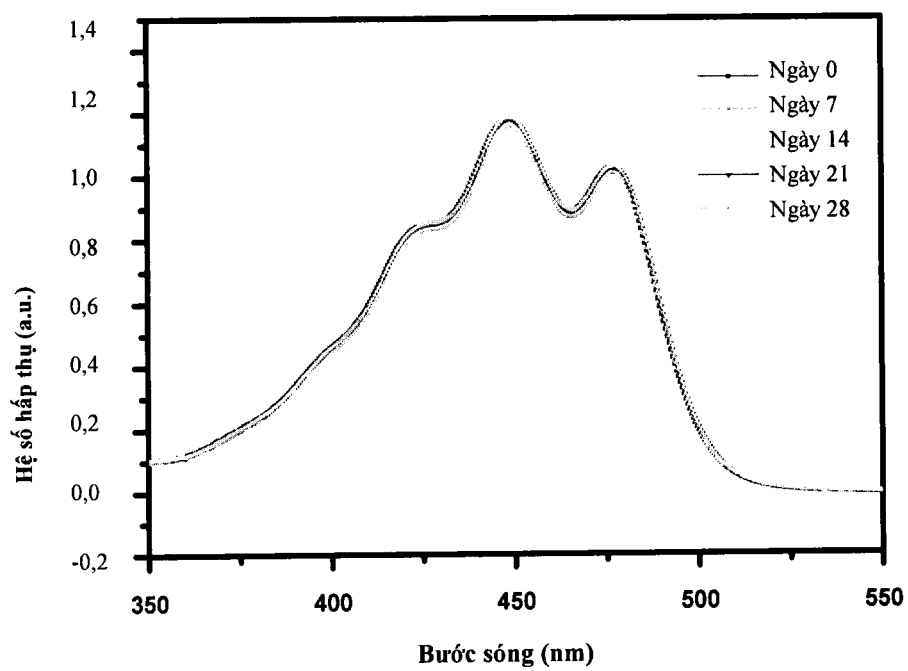


FIG. 4

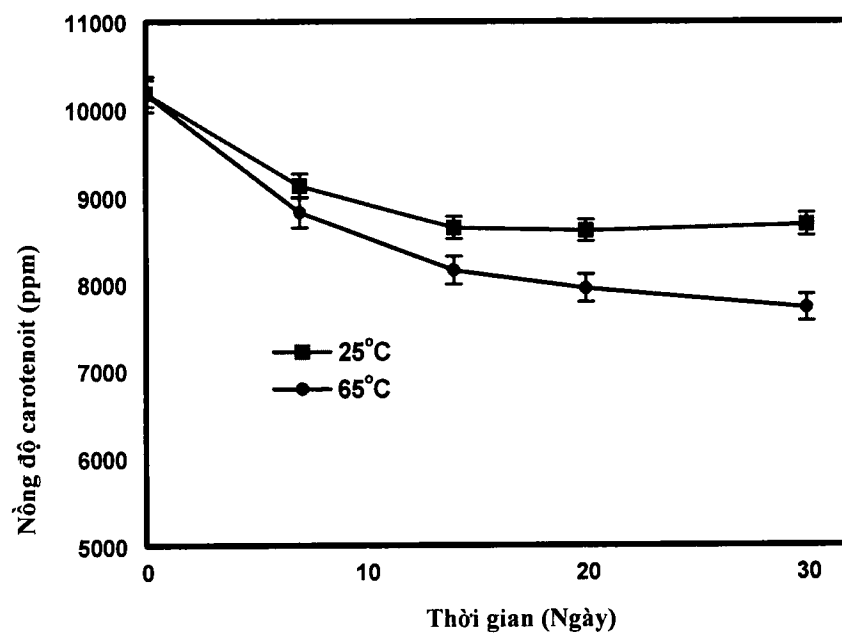


FIG. 5

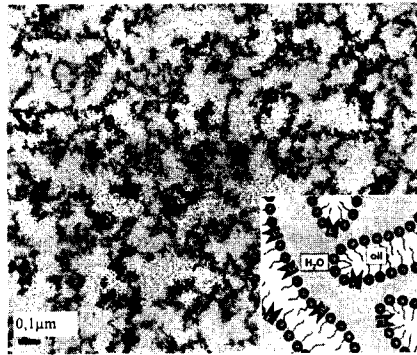


FIG. 6A

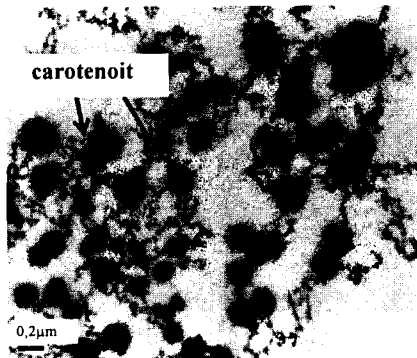


FIG. 6B



FIG. 6C

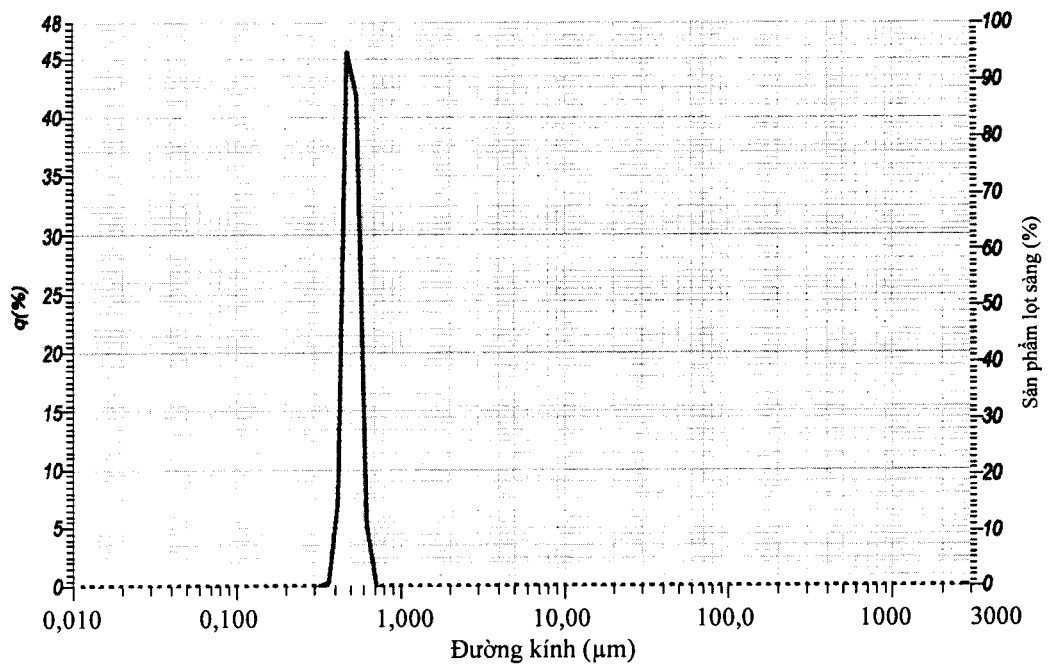


FIG. 7

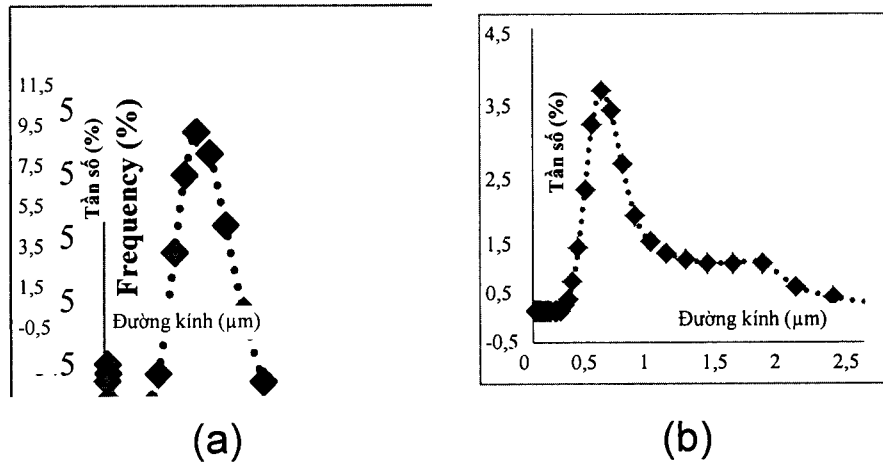


FIG. 8

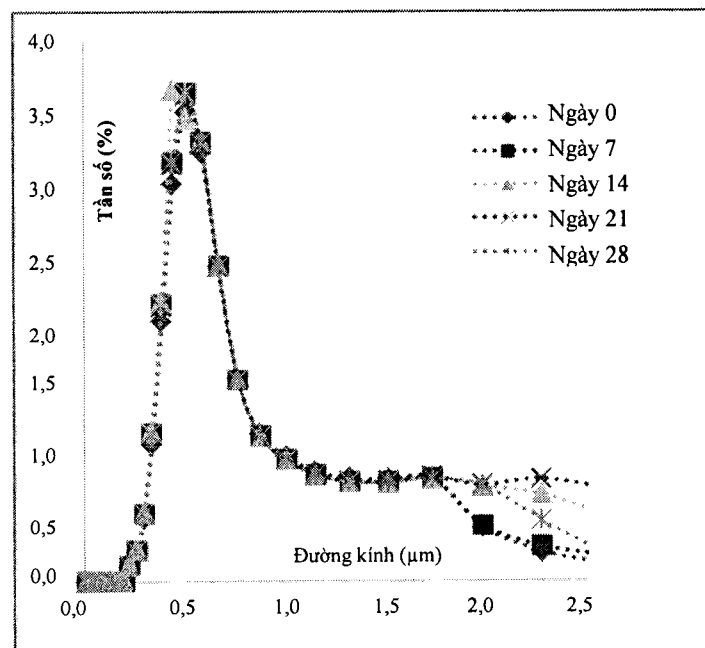


FIG. 9

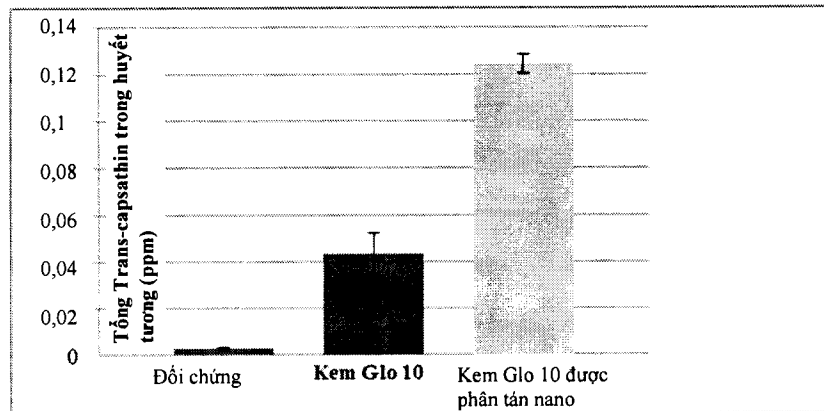


FIG. 10

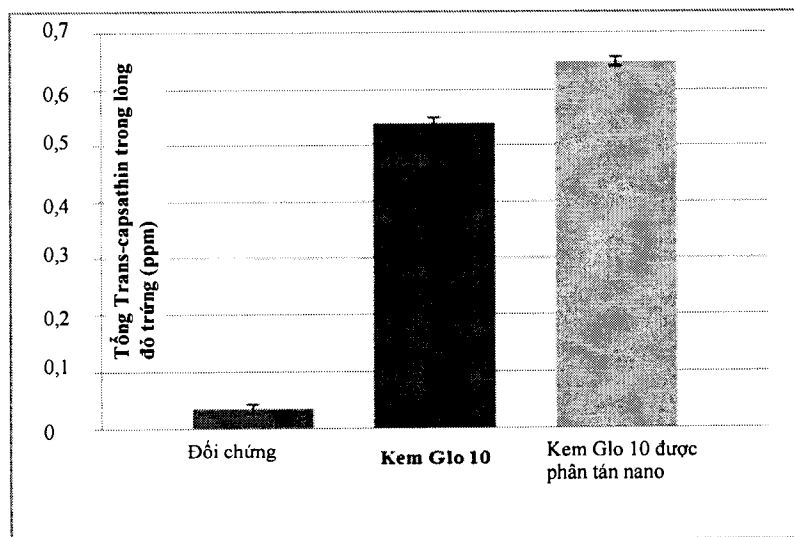


FIG. 11

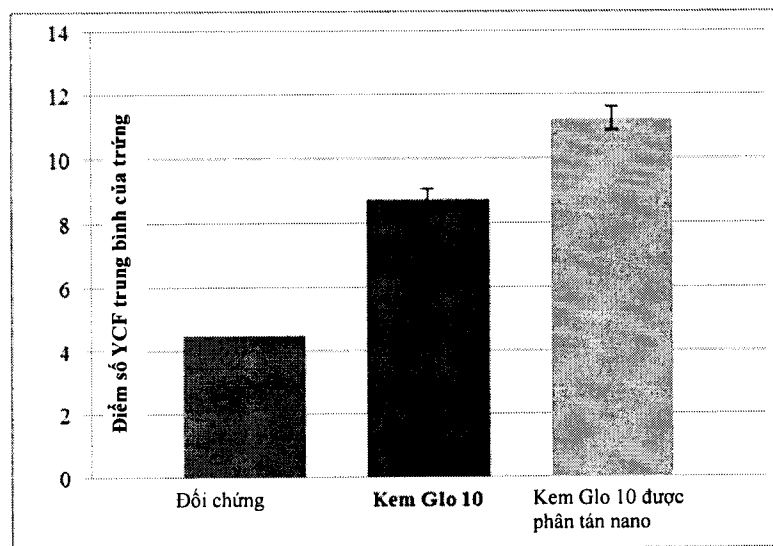


FIG. 12