



HỘI KHOA HỌC KỸ THUẬT PHÂN TÍCH HÓA, LÝ VÀ SINH HỌC VIỆT NAM
VIETNAM ANALYTICAL SCIENCES SOCIETY

ISSN - 0868 - 3224

Tạp chí
PHÂN TÍCH HÓA , LÝ VÀ SINH HỌC
Journal of Analytical Sciences

TẠP CHÍ PHÂN TÍCH HÓA, LÝ VÀ SINH HỌC

Tạp chí
PHÂN TÍCH
HÓA , LÝ VÀ SINH HỌC
Journal of Analytical Sciences

T - 23

Số 4 (Đặc biệt)

2018

PHÂN TÍCH CHẤT ĐỘC TRONG THỰC PHẨM VÀ MÔI TRƯỜNG

In 500 cuốn, khổ 19 x 27 cm. Giấy phép xuất bản số 445/GP-BTTTT cấp ngày 24/9/2016.
Chỉ số: ISN 0868 - 3224. In xong và nộp lưu chiểu tháng 12 năm 2018

HA NOI

7. Nghiên cứu định lượng rebaudioside A trong cây cỏ ngọt (stevia rebaudiana) bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC 50
 Determination of rebaudioside a in stevia (stevia rebaudiana) leaves by high-performance liquid chromatography uv detection method
Lê Thế Tâm, Trần Phương Chi, Lê Thị Mỹ Châu
8. Phân tích phenol và dẫn xuất clophenol trong mẫu hải sản: so sánh GC-MS và GC-ECD 56
Vũ Thị Hồng Ân, Nguyễn Lan Anh, Chu Thị Huệ, Nguyễn Mạnh Hà, Chu Đình Bình
9. Nghiên cứu phát triển và ứng dụng cảm biến sinh học điện hóa trên cơ sở vật liệu tổ hợp ba chiều graphene/CNTs nhằm phát hiện hàm lượng cholesterol 65
Phan Nguyễn Đức Dược, Trần Văn Hậu, Nguyễn Hải Bình, Cao Thị Thanh, Lê Đình Quang, Bùi Thị Phương Thảo, Nguyễn Việt Tuyên, Nguyễn Tuấn Dung, Nguyễn Văn Chúc
10. Khảo sát và tối ưu hóa điều kiện trích ly polyphenol trong lá chè già (camellia sinensis l.) 73
 Optimization of polyphenol extraction from aged tea leaves (camellia sinensis l.)
Trần Phương Chi, Lê Thế Tâm, Lê Thị Mỹ*
11. Định lượng các dạng arsen trong mẫu nước mắm bằng phương pháp HPLC ghép nối khối phổ plasma cao tần cảm ứng (ICP-MS) 80
 Determination of arsenic speciation in fish sauce by HPLC coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry
Nguyễn Mạnh Hà, Nguyễn Thị Liên, Nguyễn Thị Dung, Chu Thị Huệ, Tạ Thị Thảo, Nguyễn Thị Hồng Yến, Từ Bình Minh, Đỗ Hồng Quân, Chu Đình Bình
12. Xác định hàm lượng vitamin C (acid L-ascorbic) trong một số loại quả bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) 87
Lê Thị Mỹ Châu, Nguyễn Thị Bích Ngọc
13. Phát hiện malachite green ở nồng độ thấp bằng hệ các hạt nano vàng thông qua kỹ thuật tán xạ Raman tăng cường bề mặt 93
Cao Tuấn Anh, Đào Trần Cao, Kiều Ngọc Minh, Lê Văn Vũ, Hoàng Thị Thu Hải, Lương Trúc Quỳnh Ngân
14. Nghiên cứu chế tạo hệ gel nano curcumin bổ sung đường cỏ ngọt Stevia và dầu gấc, ứng dụng làm thực phẩm chức năng 101
Lê Thế Tâm, Nguyễn Hoa Du
15. Nghiên cứu ảnh hưởng của kích thước hạt nano đến khả năng phát hiện độc tố SEA của staphylococcus aureus bằng phương pháp sắc ký miễn dịch 110
 Study on the effect of gold nano particle size to SEA detection ability of staphylococcus aureus by lateral flow immunoassay

NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO HỆ GEL NANO CURCUMIN BỔ SUNG ĐƯỜNG CỎ NGỌT STEVIA VÀ DẦU GÁC, ỨNG DỤNG LÀM THỰC PHẨM CHỨC NĂNG

Đến tòa soạn: 20-05-2018

Lê Thế Tâm*, Nguyễn Hoa Du

Viện Công Nghệ Hoá Sinh - Môi Trường, Trường Đại Học Vinh

SUMMARY

*Curcumin is a highly potent, nontoxic bioactive agent found in turmeric, a spice derived from the rhizomes of the plant *Curcuma longa* Linn and is known to have significant anticancer properties against different types of cancer cells. The major disadvantage associated with the use of curcumin, however, is its low systemic bioavailability due to its poor aqueous solubility. The focus of the present study was to generate nanoparticles of curcumin with improved aqueous phase solubility, and to investigate their efficacy in treating cancer cells. Curcumin nanoparticles having particle size in the range 30–70 nm and zeta potential of nanoemulsion - 40.5 mV. The levels of Curcumin in nanoemulsion was determined by high liquid performance chromatography. Evaluation of anticancer properties of curcumin nanodispersion was carried out in 2 different cancer cell lines: lung (LUI), liver (HepG2). The slow release of curcumin from the nanoemulsion was supposed to increase its bioavailability. The enhanced antioxidant activity of curcumin nanoemulsion (compared to that of starting curcumin) was also demonstrated. The results demonstrated that under aqueous conditions curcumin nanoparticles exhibited similar or a much stronger antiproliferative effect on the cancer cells compared to normal curcumin in DMSO. Our results lead way toward unharnessed potential of curcumin in the form of its nanoparticles as an adjuvant therapy for clinical application in treating various cancers.*

Keywords: Nano curcumin, emulsion, cancer, high-performance liquid chromatography HPLC, stevia, Gac oil.

1. MỞ ĐẦU

Nghệ tươi chỉ chứa 0,3% curcumin, là thành phần chính quyết định tác dụng phòng và chữa bệnh kỳ diệu của nghệ, còn 99,7% là acid, nhựa, tinh dầu và các tạp chất khác, nên nếu dùng ngoài thì dễ gây kích ứng da, dùng trong thì gây nóng gan. Quá trình sản xuất, bảo quản thủ công nên tinh bột nghệ dễ lẫn vi khuẩn, nấm mốc, bụi và các tạp chất bên ngoài tiềm ẩn nhiều nguy cơ cho đường tiêu hóa, mà lại không đem lại hiệu quả điều trị cao do khó có thể ăn đủ lượng bột nghệ cần thiết mỗi ngày.

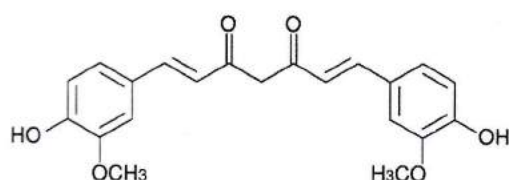
Quy trình từ củ nghệ tươi ® tinh bột nghệ ® curcumin ® nano curcumin, nhưng tinh bột nghệ cũng chỉ chứa khoảng 3% curcumin. Curcumin rất tốt cho sức khỏe, tuy nhiên do tính sinh khả dụng tương đối thấp nên độ hấp thụ vào cơ thể con người không cao. Nano curcumin ra đời với công nghệ nano tiên tiến, hiện đại đã khắc phục được nhược điểm này của curcumin. Với kích thước siêu nhỏ từ 30–100nm, nano curcumin phân tán tốt trong nước, độ tan 7,5%, tăng gấp 7500 lần so với curcumin thông thường (0,001%)^[1]. Kích thước nano siêu nhỏ cũng giúp nano curcumin thẩm thấu vào máu nhanh chóng để phát huy hiệu quả điều trị tại hầu hết các cơ quan khác nhau trong cơ thể^[1,2]. Độ hấp thụ của nano curcumin tới 80%, vì thế hiệu quả gấp hàng nghìn lần so với curcumin thông thường.

Hiện nay ở nước ta cũng đã có nhiều công trình nghiên cứu chế tạo ra các sản phẩm nano curcumin điển hình như nano curcumin của Học Viện Quân y ở dạng bột, nano curcumin dạng lỏng với nồng độ curcumin >12%, v.v.... Kế thừa những

thành quả nghiên cứu đó chúng tôi tiếp tục nghiên cứu chế tạo ra nano curcumin dạng gel với hàm lượng curcumin cao và tiếp tục nghiên cứu cải thiện, bổ sung các phụ gia gắn gũi với thiên nhiên như mật ong, đường cỏ ngọt stevia và dầu gấc để giảm bớt hàm lượng các chất phụ gia khác.

2. THỰC NGHIỆM

Chế tạo hệ liquid nano curcumin.



Đối tượng nghiên cứu: curcumin^[4,8] có độ tinh khiết >95%.

Hóa chất: Curcumin >95%, Tween 20 (polysorbate 20, Canada), Ethanol 96%, Nước khử ion, PEG (hãng Kanto, Nhật Bản), dầu đậu nành (Lecithin), đường cỏ ngọt stevia và dầu gấc.

Thiết bị: Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) Agilent 1100, bể siêu âm Elma, máy đo quang phổ UV-VIS (Agilent), cân phân tích độ chính xác 0,0001g, thiết bị tạo nhũ hóa Q – Sonica, máy khuấy từ gia nhiệt MR Hie – Standard. Ngoài ra còn thiết bị đo Zetasizer – Nano ZS (Malvern – UK), kính hiển vi điện tử truyền qua TEM và thiết bị đo phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR, Nicolet 6700).

Quy trình chế tạo hệ nano curcumin

Bước 1: Lấy 1g Curcumin pha trong 20ml ethanol trong cốc 200 ml, khuấy đều trên máy khuấy từ tại nhiệt độ 60°C trong vòng một giờ. Tiếp theo bổ sung 0,2g dầu gấc và 0,2 g lecithin sau đó khuấy đều trong 60 phút, hỗn hợp được tiếp tục rung siêu âm trong 60 phút, ta được dung dịch 1.

Bước 2: Pha 8g Tween:PEG:H₂O = 2 : 1 : 1, cho thêm 5g đường cỏ ngọt vào rồi gia nhiệt lên 60°C, khuấy đều trên thiết bị tạo nhũ trong 30 phút, cho tan đều vào nhau tạo hệ đồng nhất ta được dung dịch 2.

Bước 3: Nhỏ từ từ dung dịch 2 vào dung dịch 1 rồi gia nhiệt 60°C tiếp tục khuấy trong 4 giờ bằng thiết bị tạo nhũ cho đến khi tạo thành hệ gel đồng nhất.

- Phổ hấp thụ của dung dịch curcumin trong nước được nghiên cứu trên thiết bị đo UV- vis có độ phân giải 1nm. Mẫu đo được pha loãng trong nước khử ion với các độ pha loãng khác nhau sao cho nằm trong giới hạn của thiết bị đo.

- Kích thước và độ bền của các tiểu phân nano curcumin được đánh giá bởi phương pháp đo TEM, DLS và thế Zeta.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá độ tinh khiết nguyên liệu curcumin và định lượng curcumin trong sản phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC, High Performance Liquid Chromatography) ^[3]

Để đánh giá độ tinh khiết của nguồn nguyên liệu curcumin tinh chế từ nghệ vàng và hàm lượng curcumin trong sản phẩm chế tạo, chúng tôi tiến hành phân tích trên hệ thống thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC, Agilent 1100) với cột sắc ký ZORBAX Eclipse XDB – C18 (4,6x150mm, 5 μm), màng lọc dung môi 0,45 μm, các hóa chất là sản phẩm thương mại của hãng Merck dùng trong phân tích. Hệ pha động methanol: axit axetic (pH=3) với tỷ lệ 3:1 (75ml Methanol:25ml axit axetic), thể tích bơm 5ml, nhiệt độ cột sắc ký 40°C và tốc độ dòng 1ml/phút.

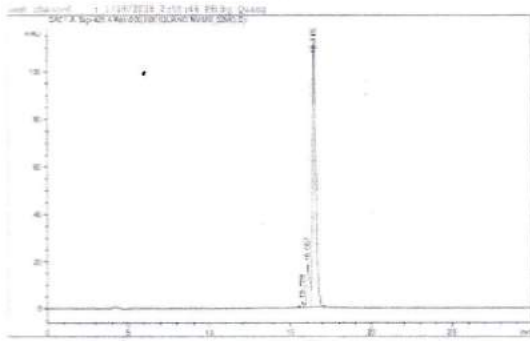
Xây dựng đường chuẩn:

Curcumin chuẩn được cân chính xác 25 mg cho vào bình định mức (25 ml) sau đó thêm MeOH cho đến vạch ta được dung dịch gốc. Pha loãng dung dịch gốc thành các dung dịch có nồng độ 0,01; 0,1; 0,2 ; 0,3 và 0,5 mg/ml, sau đó chạy lần lượt các dung dịch có nồng độ trên qua hệ thống HPLC với cột phân tích: Zorbax SB -C18 RP (4.6 x 150 mm), Detector DAD. Thời gian chạy 30 phút/ mẫu thử. Mỗi nồng độ khác nhau, sẽ có kết quả khác nhau của giá trị tích phân pic, từ kết quả đó sử dụng phương pháp phân tích phương sai hồi qui (One-way ANOVA) để xây dựng đường chuẩn để phục vụ cho việc định lượng curcumin sau này. Kết quả thu được từ sắc ký đồ (hình 1) cho thấy nguyên liệu curcumin có độ tinh khiết cao, tại bước sóng 425 nm chỉ tồn tại 1 pic duy nhất ở thời gian lưu 16 phút 43 giây.

Bảng 1: Kết quả phân tích hàm lượng curcumin trong mẫu nguyên liệu ban đầu và mẫu sản phẩm sau khi chế tạo

Tên mẫu	Lượng mẫu (mg)	Diện tích pic	Hàm lượng curcumin tổng (mg)	Tỷ lệ %
Nguyên liệu đầu	0,2	11760	0,1966	98,3
Sản phẩm nano	0,2	1860	0,0445	22,25





Hình 1: Sắc đồ mẫu của nguyên liệu curcumin ban đầu(a) và sản phẩm nano curcumin sau khi chế tạo (b).

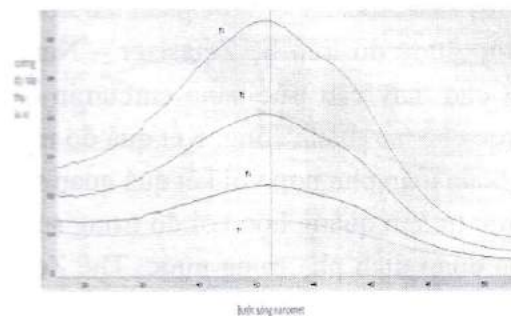
3.2. Đặc trưng cấu trúc, hình thái và kích thước hạt nano curcumin

- Để có mẫu đo hấp thụ UV-vis thích hợp trong giới hạn đo của thiết bị, mẫu gel Nano Curcumin được pha loãng như sau:

Pha loãng 1000 lần tạo dung dịch mẹ: lấy 20 μml dung dịch gel nano chứa 5% curcumin pha với 20ml nước đề ion, ta thu được dung dịch M_1 . Từ M_1 tiếp tục pha loãng để có được các mẫu đo như trong bảng 2. Phổ hấp thụ của các mẫu đo nêu trong hình 4 cho thấy các mẫu đều thể hiện hấp thụ đặc trưng của curcumin với cực đại hấp thụ tại bước sóng 425nm. Kết quả này cho thấy các phân tử curcumin trong sản phẩm gel nano vẫn giữ nguyên bản chất hóa học.

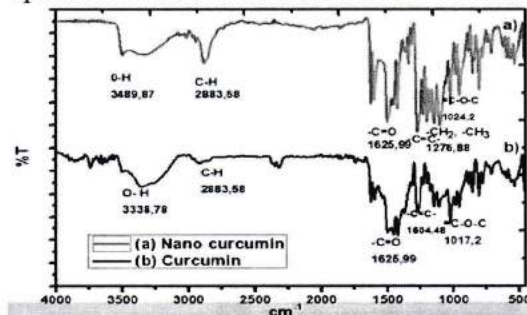
Bảng 2: Chuẩn bị nồng độ pha loãng theo các nồng độ

Kí hiệu	Nồng độ dd/ dd (ppm)	Ghi chú	Độ pha loãng
M1	4	20 μml M_1 + 5ml nước	250000
M2	12	60 μml M_1 + 5ml nước	83333
M3	24	120 μml M_1 + 5ml nước	41667
M7	0.5	5 μml M_1 + 10ml nước	2000000



Hình 2: Phổ hấp thụ các mẫu chứa curcumin ở các nồng độ khác nhau từ 0,5 – 24 ppm

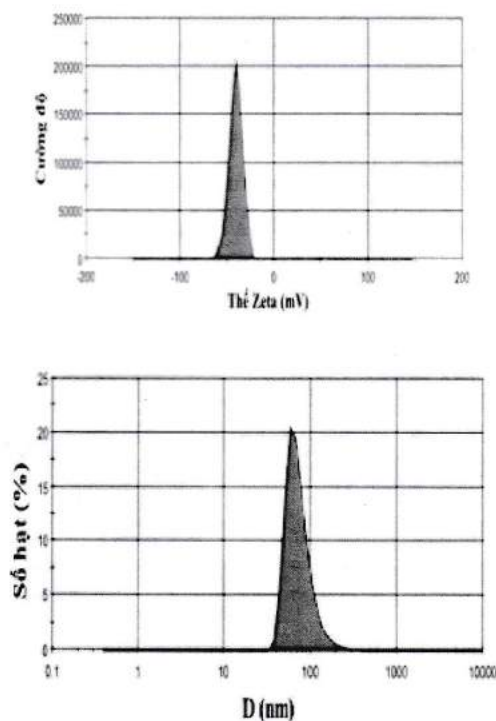
- Để biết rõ được đặc trưng các liên kết trong phân tử curcumin trước và sau khi nano hóa, chúng tôi tiến hành đo phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR). Từ hình 3 ta nhận thấy, trên phổ hồng ngoại curcumin và nano curcumin đều có sự xuất hiện của các dao động đặc trưng liên quan đến các nhóm chức của curcumin.



Hình 3: Phổ FTIR của mẫu nano curcumin và mẫu curcumin ban đầu

Tham khảo các tài liệu nghiên cứu về các nhóm chức [19], so sánh với phổ hồng ngoại FTIR ở trên nhận thấy các nhóm chức hoàn toàn phù hợp với công thức curcumin đã nghiên cứu. Cường độ dao động của các liên kết trong nano curcumin có một ít thay đổi, do sự có mặt của polymer PEG 600, chất hoạt động bề mặt dầu đậu nành, chất nhũ hóa....

Kích thước tiểu phân nano curcumin: kích thước tiểu phân nano được phân tán trong nước được đo trên hệ Zetasizer – Nano ZS cho thấy cấu trúc nano curcumin đã được chế tạo thành công. Kết quả đo này là hoàn toàn phù hợp với kết quả quan sát được từ ảnh quang học với độ trong suốt của dung dịch pha trong nước. Thế Zeta thể hiện mức độ đẩy giữa các hạt tích điện cùng dấu gần nhau trong hệ phân tán. Đối với các phân tử và các hạt đủ nhỏ, thế Zeta cao (âm hoặc dương) sẽ cho độ ổn định cao, hệ phân tán chống lại sự keo tụ.



Hình 4: Ảnh phân bố kích thước (phải) và thế zeta (trái) của nano curcumin phân tán trong nước

- Kết quả phân tích DLS cho 1 pic duy nhất, hoàn toàn không có sự kết khối, tạo ra các tập hợp hạt ở các vùng kích thước lớn hơn, khẳng định các tiểu phân nano phân tán đồng đều, kích thước hạt tập trung trong cỡ 30 – 70nm (Hình 4, phải).

- Từ hình 4 bên trái và bảng 4 ta thấy thế Zeta của mẫu chất lỏng đạt -40,5 có thế Zeta cao và đạt độ ổn định tốt [7].

Bảng 4: Sự phụ thuộc ổn định của hệ keo và giá trị thế zeta [6].

Thế Zeta (mV)	Độ ổn định của hệ keo
0 - $\pm\pm 5$	Kết tụ hay tập hợp thành từng nhóm rất nhanh
$\pm\pm 10 - \pm\pm 30$	Bắt đầu không ổn định
$\pm\pm 30 - \pm\pm 40$	Độ ổn định trung bình
$\pm 40 \pm 40 - \pm\pm 60$	Độ ổn định rất tốt
≥ 61	Độ ổn định rất tốt

Kết quả độ ổn định của gel nano curcumin: Để nghiên cứu độ ổn định của các tiểu phân nano theo thời gian, chúng tôi tiến hành theo dõi sự thay đổi cường độ hấp thụ của dung dịch curcumin theo thời gian: pha loãng 40 μl dung dịch nano với 40ml nước de ion, ta thu được dung dịch M_{11} . Từ M_{11} ta pha loãng để được các mẫu đo như bảng 5.

Bảng 5: Sự pha loãng các mẫu đo UV – vis

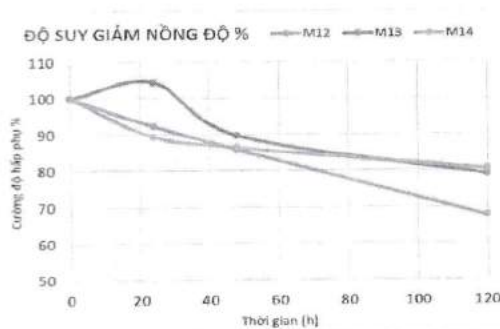
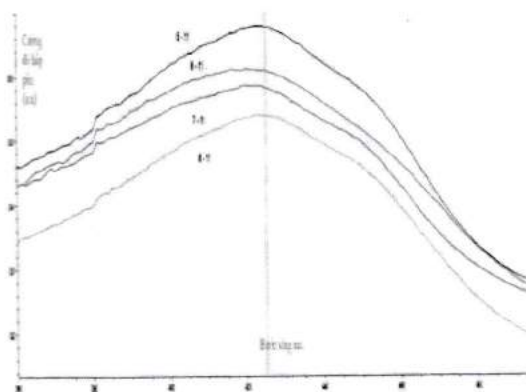
Kí hiệu	Nồng độ dd (ppm)	Ghi chú
M12	32	320 μl M_{11} + 10ml nước cất
M13	40	400 μl M_{11} + 10ml nước cất
M14	48	480 M_{11} + 10ml nước cất

Các mẫu đều thể hiện hấp thụ đặc trưng của curcumin với cực đại hấp thụ tại 425nm và giá trị hấp thụ phụ thuộc vào nồng độ của mỗi mẫu là khác nhau. Phổ hấp thụ đặc trưng của các mẫu thay đổi theo thời gian có dạng như trên hình 8 (kết quả đo mẫu M14).

- Độ suy giảm nồng độ hấp thụ của các mẫu M12, M13, và M14 được cho trong bảng 6. Kết quả này được giải thích là do các tiểu phân nano curcumin theo thời gian sẽ kết tập lại với nhau ở trạng thái rắn, quá trình này sẽ tiếp diễn tạo ra các hạt lớn hơn lắng xuống đáy làm giảm cường độ hấp thụ của Curcumin trong dung dịch.

Bảng 6: Độ suy giảm nồng độ hấp thụ (%) của các mẫu M12, M13, M14.

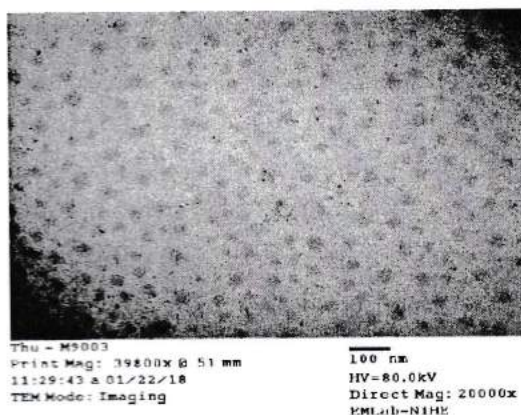
Thời gian (giờ)	Cường độ hấp thụ (a.u)			Độ suy giảm nồng độ hấp thụ (%)		
	M12	M13	M14	M12	M13	M14
0	0.560	0.623	0.671	100	100	100
24	0.517	0.651	0.6	92.32	104.49	89.41
48	0.481	0.559	0.58	85.89	89.73	86.44
120	0.379	0.492	0.54	67.68	78.97	80.48



Hình 5: Phổ hấp thụ của mẫu M14 theo thời gian (trái), độ suy giảm nồng độ tính theo % phụ thuộc thời gian của các mẫu M12, M13 và M14 (phải)

- Theo thời gian, nồng độ của curcumin trong dung dịch giảm xuống (hình 5). Trong khoảng thời gian hấp thụ của hệ tiêu hóa (1-10 giờ) nồng độ curcumin vẫn đạt trên 90%. Tuy nhiên, trong dạng gel các tiểu phân nano curcumin vẫn giữ nguyên kích thước không bị phá vỡ như khi pha vào nước, điều này cho phép bảo quản lâu dài thuận tiện cho sử dụng thực tế.

- Đặc tính về hình thái và kích thước hệ nano bằng kính hiển vi điện tử truyền qua TEM- Transmission electron microscopy) (hình 6).



Hình 6 : Ảnh TEM của mẫu liquid nano curcumin pha lỏng

3.3. Kết quả thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào

Dòng tế bào (cell lines)

+ Dòng Hep-G2 (Human hepatocellular carcinoma – Ung thư gan)

+ Dòng LU-1 (Human lung adenocarcinoma – Ung thư biểu mô phổi)

+ M1: bột nguyên liệu curcumin ban đầu,

M2: mẫu liquid nano curcumin chế tạo,

M3: mẫu liquid nano curcumin có bổ sung dầu gấc và đường cỏ ngọt stevia.

Chất chuẩn chứng dương tính:

+ Dùng chất chuẩn có khả năng diệt tế bào: Ellipticine, Vinblastine hoặc Taxol pha trong DMSO

Tính kết quả:

- Kết quả được đọc trên máy ELISA ở bước sóng 495-515nm.

- Giá trị CS (Cell Survival): là khả năng sống sót của tế bào ở nồng độ nào đó của chất thử tính theo % so với đối chứng. Dựa trên kết quả đo được của chứng OD (ngày 0), DMSO 10% và so sánh với giá trị OD khi trộn mẫu để tìm giá trị CS (%) theo công thức:

$$CS\% = \frac{OD(\text{mẫu}) - OD(\text{ngày 0})}{OD(\text{DMSO}) - OD(\text{ngày 0})} \times 100$$

- Các mẫu có biểu hiện hoạt tính (CS < 50%) sẽ được chọn ra để thử nghiệm tiếp để tìm giá trị IC₅₀. Giá trị IC₅₀ (50% Inhibitory Concentration) là nồng độ của mẫu thử mà tại đó ức chế được 50% số lượng tế bào nghiên cứu. Cách tính giá trị IC₅₀:

Dùng giá trị CS của 10 thang nồng độ, dựa vào chương trình Table curve theo thang giá trị logarit của đường cong phát triển tế bào và nồng độ chất thử để tính giá trị IC₅₀. Công thức:

$$1/y = a + b \ln X$$

Trong đó Y: nồng độ chất thử; X: Giá trị CS (%)

Bảng 7: Giá trị CS (%) dòng tế bào

TT	KH mẫu	Nồng độ đầu (mg/ml)	Giá trị CS (%) Dòng tế bào	
			Hep-G2	LU-1
1	DMSO	-	100	100
2	Chứng (+)	5	0	0
3	M1	10	0	30,7±1,4
4	M2	10	0	0
5	M3	10	5,81 ±± 0,3	0

Bảng 8: Giá trị IC₅₀ (µg/ml) của các mẫu

TT	KH mẫu	Giá trị IC ₅₀ (µg/ml) Dòng tế bào	
		Hep-G2	LU-1
1	Chứng (+)	0,30	0,34
2	M1	2,26	8,08
3	M2	0,42	0,37
4	M3	5,11	2,66

Kết luận:

Cả 3 mẫu thử đều biểu hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với 2 dòng tế bào ung thư Hep-G2 và LU-1 với giá trị IC₅₀ ≤ 10 mg/ml.

Kết quả thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa

Đây là phương pháp đã được công nhận để

xác định nhanh hoạt tính chống oxy hóa dựa trên khả năng bắt gốc tự do tạo bởi DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; Brand-Williams *et al.* 1995, Shela *et al.* 2003, Kumar *et al.* 2013). Chất thử được hòa trong dimethyl sulfoxide (DMSO 100%) và DPPH được pha trong ethanol 96%. Sự hấp thụ của DPPH ở bước sóng $\lambda = 515$ nm được xác định bằng máy đọc ELISA sau khi nhỏ DPPH vào dung dịch mẫu thử trên phiến vi lượng 96 giếng. Kết quả các thử nghiệm được thể hiện là giá trị trung bình của ít nhất 3 phép thử lặp lại \pm độ lệch chuẩn ($p \leq 0,05$). Khả năng trung hòa các gốc tự do (Scavenging capacity, SC%). Giá trị

SC50 (mg/ml)

Mẫu (chất thử) được pha loãng thành các nồng độ giảm dần, lặp lại 3 lần ở mỗi nồng độ. Hiệu quả bắt gốc tự do tạo bởi DPPH của mỗi mẫu được tính dựa trên % trung hòa gốc tự do so với mẫu trắng (Blank) và chứng âm tính. Mẫu có biểu hiện hoạt tính chống oxy hóa trên hệ DPPH được thực hiện các bước tiếp theo để tìm giá trị SC50 ($\mu\text{g/ml}$). Giá trị SC50 là nồng độ của chất thử mà tại đó trung hòa được 50% các gốc tự do, được xác định bằng phần mềm TableCurve AISN Software (Jandel Scientific) qua giá trị SC% và dãy các nồng độ chất thử tương ứng.

Bảng 9: Giá trị SC_{50} (mg/m)

TT	Kí hiệu mẫu	Nồng độ đầu của mẫu ($\mu\text{g/ml}$)	Scavenging capacity (SC, %)	SC_{50} ($\mu\text{g/m}$)	Kết quả
1	Chứng (+)	50	$88,53 \pm 0,62$	20,81	Dương tính
2	Chứng (-)	-	0	-	Âm tính
3	M1	100	$68,13 \pm 0,7$	80,84	Dương tính
4	M2	100	$75,25 \pm 0,2$	43,74	Dương tính
5	M3	100	$90,46 \pm 0,1$	9,95	Dương tính

Chứng (-): DPPH/EtOH + DMSO. Chứng (+): Ascorbic acid

4. KẾT LUẬN

- Chế phẩm Nano Curcumin dạng gel bổ sung dầu gấc và đường cỏ ngọt đã được chế tạo thành công với kích thước hạt từ 30 – 70nm có khả năng tan hoàn toàn trong nước, có độ bền cao, với giá trị thế zeta là $\sim -40,5$
- Đã tiến hành đánh giá hoạt tính sinh học của chế phẩm nano curcumin dạng gel về khả năng gây độc trên 02 dòng tế bào ung

thư. Kết quả cho thấy các chế phẩm thu được đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh, trong đó chế phẩm nano curcumin dạng gel có bổ sung dầu gấc và đường cỏ ngọt có hoạt tính chống oxy hóa, bắt gốc tự do cao hơn so với các chế phẩm không bổ sung dầu gấc.

- Đã tiến hành xác định hàm lượng curcumin trong chế phẩm nano curcumin bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng

cao (HPLC).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Shishodia S, Sethi g, Aggarwal BB: Ann N Y Acad Sci 2005, 1056:206-217.
2. Murali M Yallapu, Mara C Ebeling, Sheema Khan, et al. Nano curcumin ức chế tăng trưởng khối u tuyến tụy và giúp khối u lớn chậm phát triển.
3].<http://nanocurcumin.blogspot.com/2013/09/qui-trinh-san-xuat-nano-curcumin.html>
4. Ha Phuong Thu, Nguyen Xuan Phuc et al. In Vitro Apoptosis Enhancement of Hep-G2 Cells by PLA-TPGS and PLA-PEG Block Copolymer Encapsulated Curcumin Nanoparticles. Chemistry Letters. 42, 2013, 255-257.
5. PGS.TS Nguyễn Cửu Khoa và cs., Nghiên cứu phát triển các hệ chất mang nano có hiệu quả cao trong mang, nhả thuốc trên cơ sở dendrimer polyamidoamine, Viện Hàn lâm KH và CN Việt Nam, 2010.
6].<http://nanocurcumin.blogspot.com/2013/09/qui-trinh-san-xuat-nanocurcumin.html>
7. PGS.TS. Lê Quang Huân và cs., Nghiên cứu chế tạo cấu trúc nano Aptamer-micelle ứng dụng trong chẩn đoán và điều trị ung thư, Đề tài KHCB ĐHQĐ, Bộ KH và CN (2011-2013).
, pp. 43-52.
8. <http://nanohub.vn/uu-nhuoc-diem-cua-nano-curcumin-va-curcumin-thuong/>
9. Luận văn Tiến sĩ Khoa học Vật liệu – NCS: Vương Thị Kim Oanh – Học Viện KH&CN thuộc Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam.
10. Nghiên cứu chế tạo và đặc trưng hệ nhũ tương chứa nano Curcumin - Đặng Khôi Nguyên, Phạm Duy Việt, Phan Thị Bích Hòa, Trần Quốc Toàn, Lê Tất Thành, Nguyễn Thanh Bình, Vũ Đình Hoàng, Trần Đại Lâm
11. GS. TSKH. Từ Văn Mạc - Phân tích hóa lý phổ nghiệm nghiên cứu cấu trúc phân tử