

KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC YẾU TỐ CỦA QUÁ TRÌNH ĐỒNG HÓA ĐẾN SỰ TẠO HẠT NANO CHẤT BÉO RẮN BAO DẦU GẮC (*Momordica Cochinchinensis* Spreng.)

EFFECT OF HOMOGENIZATION CONDITIONS ON FORMATION OF GAC (Momordica Cochinchinensis Spreng.) OIL-LOADED SOLID LIPID NANOPARTICLES (SLNs-Gac).

Mai Huỳnh Cang¹, Nguyễn Lê Minh Hải², Lê Thị Hồng Nhan³

¹Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Tôn Đức Thắng Tp. Hồ Chí Minh

³Trường Đại học Bách Khoa Tp. Hồ Chí Minh

Email: maihuynhcang@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, hạt nano chất béo rắn (SLNs)- Gấc được tạo ra bằng cách sử dụng chất béo rắn Emulgade SE-PFTM, chất nhũ hóa và thiết bị đồng hóa tốc độ cao. Hạt nano béo rắn chứa 5% (w/w) dầu gấc, 2.5% (w/w) Emulgade, 3.6% (w/w) Tween 80, 1.4 % (w/w) Span 80 và nước. Tốc độ đồng hóa nóng, nhiệt độ đồng hóa nóng, thời gian đồng hóa nóng tối ưu lần lượt là 10000 v/p, 60°C và 60 phút. Tiếp sau đó là giai đoạn đồng hóa lạnh ở nhiệt độ dưới 5°C trong thời gian là 30 phút. Hạt nano béo rắn bao giữ dầu gấc có kích thước trung bình đạt dưới 100 nm.

Từ khóa: hạt nano chất béo rắn (SLNs), dầu gấc (*Momordica Cochinchinensis* Spreng.), Emulgade SE-PFTM, đồng hóa nóng, đồng hóa lạnh.

ABSTRACT

In this study, Gac oil-loaded solid lipid nanoparticles (SLNs-Gac) were successfully prepared by using Emulgade SE-PFTM as a solid lipid base, emulsifiers, and high-speed homogenization. Gac oil (5% w/w), Emulgade (2,5% w/w), Tween 80 (3.6% w/w), Span 80 (1.4% w/w), and water were chosen for SLNs' formulation. The optimum hot homogenation speed, temperature, and time were 10000 rpm, 60°C, and 60 minutes, respectively, following by cold homogenation process at temperature below 5°C in 30 minutes. The median size of gac oil-loaded SLNs was below 100 nm.

Keywords: solid lipid nanoparticles (SLNs), gac (*Momordica Cochinchinensis* Spreng.) oil, Emulgade SE-PFTM, hot homogenization, cold homogenization.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Gấc có tên khoa học là *Momordica cochinchinensis*, bộ Violales, họ bầu bí Cucurbitaceae, chi Mướp đắng *Momordica*. Gấc còn có tên khác là *Muricia cochinchinensis*, *Monordica macrophylla* Gage, *Monordica mixta* Roxburgh. Gấc được tìm thấy ở Trung Quốc, Miến Điện, Lào, Campuchia, Ấn Độ... và đặc biệt được tìm thấy chủ yếu ở Việt Nam. Từ lâu, dầu gấc đã được sử dụng để làm thuốc bổ, cung cấp vitamin A giúp hạn chế một số bệnh về mắt như đục thủy tinh thể, thoái hóa điểm vàng cho trẻ nhỏ, phụ nữ có thai và cho con bú. Dầu gấc còn được sử dụng để bôi vết thương và vết bỏng giúp mau lành, nhanh lên da non. Uống dầu gấc giúp người bệnh nhanh

chóng phục hồi, tăng khả năng chống đỡ bệnh tật. Ngày nay, cùng với sự quan tâm của nhiều nhà nghiên cứu về gấc đã chỉ ra được thêm nhiều công dụng của dầu gấc như: tăng khả năng miễn dịch, chống lại quá trình oxy hóa và lão hóa tế bào, loại bỏ tác động độc hại của môi trường như các chất độc hóa học, tia phóng xạ. Dầu gấc có hàm lượng carotenoids rất cao, đặc biệt là β -carotene và lycopene (Vuong và ctv, 2006), là những hợp chất màu tự nhiên có hoạt tính chống oxy hóa rất cao (Choudhari và ctv, 2007; Kuhnlein, 2004). Dầu gấc tinh khiết có chứa β -carotene (150 mg/kg), lycopene, vitamin E (α -tocopherol) (Burke và ctv, 2005) và rất nhiều chất béo thực vật như oleic 14,4%; linoleic 14,7%; stearic 7,69%; palmitic 33,38% và các vi chất rất cần thiết cho cơ thể con người

(Rodriguez-Amaya, 2001; Roldán-Gutiérrez và ctv, 2007). Dầu gấc có chức năng ngăn ngừa lão hóa da, làm da săn chắc và tươi trẻ nhưng do kích thước phân tử của các carotenoids trong dầu gấc tương đối lớn nên khó có thể thâm nhập sâu vào tận bên trong tế bào da (Rodriguez-Amaya, 2001; Roldán-Gutiérrez và ctv, 2007). Để giúp cho người sử dụng có thể tận dụng tối đa những lợi ích từ dầu gấc, trong nghiên cứu này dầu gấc sẽ được xử lý giảm kích thước xuống nanomet để có thể thâm sâu vào tế bào da và nuôi dưỡng da. Nhược điểm của dầu gấc chính là khi phối trộn trong mỹ phẩm, carotenoids trong dầu gấc dễ bị thoái hóa vì chất này rất nhạy với nhiệt, với oxi và ánh sáng. Chính vì thế dầu gấc được bao trong các hạt nano chất béo rắn ở các điều kiện tối ưu nhằm tăng độ bền, độ ổn định khi phối trộn vào các sản phẩm mỹ phẩm.

Hạt nano chất béo rắn (solid lipid nanoparticles - SLNs) được giới thiệu từ những năm 1990 là hệ phân tán có kích thước 50 - 1000 nm, với nhiều ưu điểm khắc phục được hạn chế của hệ nano khác như là khả năng vận chuyển hiệu quả các chất và thâm nhập vào màng tế bào một cách dễ dàng vì kích thước nanomet (Vitorino và ctv, 2011; Le và ctv, 2015). Hạt nano có diện tích bề mặt riêng lớn và kích thước vi hạt làm cho chúng dễ đi qua màng tế bào da. Hai nguyên lý cơ bản của công nghệ nano đó là phương pháp từ trên xuống (top-down) và phương pháp từ dưới lên (bottom-up). Từ hai nguyên lý này có thể tiến hành bằng nhiều giải pháp công nghệ và kỹ thuật để chế tạo vật liệu cấu trúc nano (Vitorino và ctv, 2011). Hầu hết các nghiên cứu để tạo hệ nano chất béo rắn đều gồm 2 giai đoạn: giai đoạn tạo hệ nhũ thô dầu trong nước dạng vi nhũ và giai đoạn hóa rắn của pha phân tán (Vitorino và ctv, 2011). Trong quá trình tạo hệ thì quan trọng nhất là giai đoạn đồng hóa. Có hai kỹ thuật chính để tạo hệ nano chất béo rắn là đồng hóa nóng (hot homogenization) và đồng hóa lạnh (cold homogenization) (Le và ctv, 2015). Chất nhũ hóa ảnh hưởng đến các đặc trưng của hệ trong các bước nhũ hóa. Nồng độ chất hoạt động bề mặt ảnh hưởng rất lớn đến tính chất của hệ tiểu phân nano chất béo như: kích thước hạt, hiệu suất nạp hoạt chất và khả năng giải phóng dược chất. Ngày nay công nghệ nano được áp dụng rộng rãi, đặc biệt là trong điều trị bệnh, chăm sóc

sức khỏe và sắc đẹp cho con người nên hệ chất béo rắn được nghiên cứu để bảo vệ dầu gấc và định hướng ứng dụng vào nền kem mỹ phẩm. Mục tiêu của nghiên cứu này là nghiên cứu các điều kiện của quá trình đồng hóa đến quá trình tạo hạt nano chất béo rắn bao giữ dầu gấc (SLNs-Gac) nhằm định hướng ứng dụng trong các sản phẩm mỹ phẩm.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên vật liệu

Nguyên liệu dầu gấc sử dụng là dầu gấc nguyên chất của công ty GACVIET (Oriental Agriculture Joint Stock Company) được mua ở công ty GACVIET, số 137, đường 59, phường 14, Quận Gò Vấp, Thành phố Hồ Chí Minh. Đặc tính hóa lý và thành phần của nguyên liệu được trình bày trong Bảng 1.

Dựa trên nghiên cứu về quá trình tạo thành và khảo sát các đặc tính hóa lý của SLNs bao giữ hương liệu (Le và ctv, 2015), thì nguyên liệu Emulgade SE-PF™ được chứng minh là phù hợp để chế tạo hạt nano chất béo rắn, có kích thước nhỏ, hệ bền và đồng nhất. Emulgade SE-PF™ được điều chế từ thực vật (dầu dừa, dầu cọ) và các sản phẩm từ dầu khí (ethylene oxide). Emulgade SE-PF™ (glyceryl stearate, cetareth-20, cetareth-12, cetaryl alcohol, cetyl palmitate) được cung cấp bởi công ty Cognis Deutschland GmbH & Co. KG Care Chemicals (Đức). Nhiệt độ nóng chảy của Emulgade SE-PF™ trong khoảng 49-52°C.

Chất hoạt động bề mặt được sử dụng là Tween 80 và Span 80 có xuất xứ Trung Quốc được mua ở cửa hàng hóa chất tại Quận 10, Tp. Hồ Chí Minh.

Quy trình tạo hạt nano chất béo rắn

Hệ nano chất béo rắn được tạo ra qua 2 giai đoạn: giai đoạn 1 tạo hệ nhũ thô dầu trong nước dạng vi nhũ, giai đoạn 2 tạo sự hóa rắn của pha phân tán (Mukherjee và ctv, 2011; Laserra và ctv, 2015; Le và ctv, 2011). Chất béo rắn được đun nóng chảy cùng với dầu gấc tạo thành hỗn hợp pha dầu và giữ hỗn hợp này ở nhiệt độ thích hợp. Trộn pha dầu vào pha nước có chứa chất hoạt động bề mặt (được nâng nhiệt độ bằng với

nhệt độ của pha dầu), tiến hành khuấy trộn cho hỗn hợp đều, nhiệt độ được giữ ổn định bằng cách đun cách thủy và đồng hóa nóng bằng máy đồng hóa tốc độ cao IKA (IKA T25 digital ULTRA-TURRAX, USA) thu được hệ nhũ thô dầu trong nước. Dựa vào kết quả của thí nghiệm sơ bộ, tỉ lệ phối trộn để tạo hệ SLNs trong nghiên cứu này là dầu gấc 5% (w/w), chất béo rắn 2,5% (w/w), Tween 80 3,6% (w/w), Span 80 1,4% (w/w) và nước cất vừa đủ 100% (w/w). Thể tích mẫu được chuẩn bị cho mỗi nghiệm thức là 300ml. Cốc khuấy mẫu được đặt vào bể điều nhiệt để thay đổi và ổn định nhiệt độ trong quá trình đồng hóa. Sau đó đến giai đoạn đồng hóa lạnh, hệ nhũ thô sau khi đồng hóa nóng được hạ nhiệt độ xuống 0-5°C bằng cách đặt vào thau nước đá, rồi tiếp tục đồng hóa lạnh với tốc độ bằng với tốc độ đồng hóa nóng trong 30 phút. Sản phẩm sau khi tạo thành được đo kích thước hạt và độ phân bố bằng phương pháp LDS (Laser Diffraction Spectrometry) rồi bảo quản trong tủ mát, tránh ánh sáng.

Cách xác định kích thước hạt và hệ phân tán

Sự phân bố kích thước trung bình của hệ được xác định bằng máy Size Distribution Analyzer, Horiba LA-920 (Kyoto, Nhật Bản). Hệ số Rf sử dụng để đo mẫu SLNs là 1,44. Thông qua kết quả đo LDS, xác định được sự phân bố kích thước hạt và thu được các giá trị Mean (kích thước trung bình của hệ phân tán) và giá trị Median (50% hạt phân tán trong hệ có kích thước nhỏ hơn hoặc bằng kích thước median).

Khảo sát ảnh hưởng của tốc độ đồng hóa nóng đến kích thước hạt

Khảo sát tốc độ đồng hóa nóng từ 9000, 10000, 12000, 15000, đến 17000 vòng/phút (v/p) ở 60°C trong 60 phút. Lựa chọn tốc độ đồng hóa nóng tối ưu phù hợp dựa vào kích thước LDS nhỏ, phân bố đều và ổn định (tương ứng với kích thước Mean và Median nhỏ và không chênh lệch đáng kể).

Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đồng hóa nóng đến kích thước hạt

Giữ tốc độ đồng hóa nóng tối ưu đã chọn và

thời gian đồng hóa nóng trong 60 phút, thay đổi nhiệt độ đồng hóa nóng từ 40°C, 50°C, 60°C, 70°C, đến 80°C. Lựa chọn nhiệt độ đồng hóa nóng tối ưu phù hợp dựa vào kích thước LDS nhỏ, phân bố đều và ổn định.

Khảo sát ảnh hưởng của thời gian đồng hóa nóng đến kích thước hạt

Giữ tốc độ và nhiệt độ đồng hóa tối ưu đã chọn, khảo sát thời gian đồng hóa nóng từ 30, 60, 90, đến 120 phút. Lựa chọn thời gian đồng hóa nóng tối ưu dựa vào kích thước LDS nhỏ, phân bố đều và ổn định.

Khảo sát ảnh hưởng của thời gian đồng hóa lạnh đến kích thước hạt

Giữ tốc độ đồng hóa lạnh bằng tốc độ đồng hóa nóng tối ưu đã chọn, thay đổi thời gian đồng hóa lạnh từ 10, 20, 30, đến 60 phút. Lựa chọn thời gian đồng hóa lạnh tối ưu dựa vào kích thước LDS nhỏ, phân bố đều và ổn định.

Xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu được xử lý thống kê và vẽ đồ thị bằng các phần mềm Statgraphics Centurion XV (Statgraphic, Mỹ, 2015) và MS Excel (Microsoft, Mỹ, 2013). Phân tích Anova sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức ở mức 95%.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đặc tính của nguyên liệu dầu gấc

Thành phần, đặc tính hóa lý của nguyên liệu dầu gấc được trình bày trong bảng 1. Kết quả cho thấy dầu gấc có chứa hàm lượng lycopene và b-carotene cao, lần lượt là 890 mg/kg và 2290 mg/kg. Chỉ số Iod thể hiện mức độ chưa no của dầu béo, chỉ số iod của dầu gấc là 67,2 g Iod/100g thể hiện mức độ bất bão hòa khá cao trong dầu gấc nên dầu gấc thường sẽ dễ bị oxy hóa, cần được bảo quản trong điều kiện hạn chế ánh sáng và nhiệt độ cao. Giá trị đo màu sắc thể hiện ở 3 thông số L (Lightness, độ sáng), C (Concentration, cường độ màu) và H (Hue, góc tông màu) lần lượt là 36,81; 49,17; 46,3 thể hiện màu đỏ cam đặc trưng của sản phẩm dầu gấc.

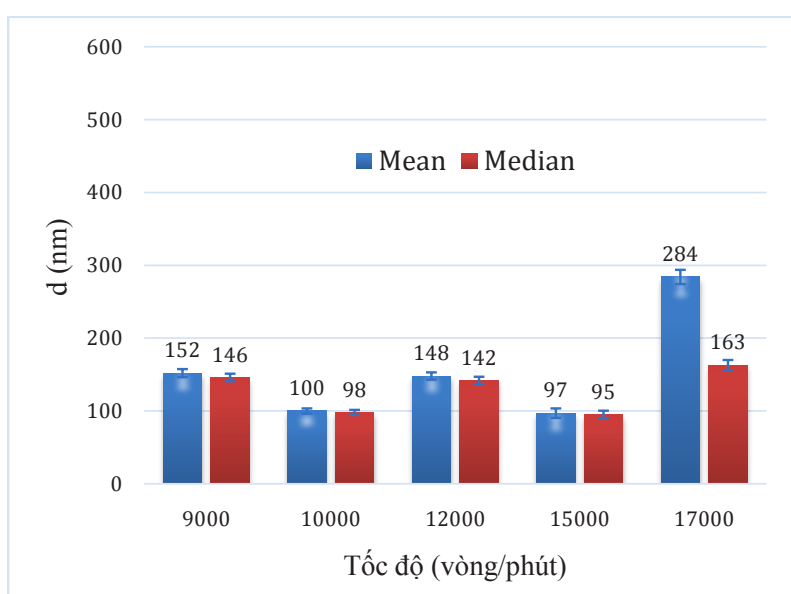
Bảng 1. Thành phần hóa học, đặc tính hóa lý của nguyên liệu dầu gấc

Thành phần và đặc tính hóa lý	Giá trị
Độ ẩm (%)	0,08
Hàm lượng chất béo (%)	99,9
Hàm lượng axit béo tự do (g/100g)	1,41 (axit oleic)
Hàm lượng lycopene (mg/kg)	890
Hàm lượng β -carotene (mg/kg)	2290
Vitamine E (mg/kg)	76,4
Chỉ số Iod (g Iod/100g)	67,2
Tỷ trọng (g/mL)	0,965
Độ nhớt (cP)	46,7
Giá trị đo màu	
L (Lightness, độ sáng)	36,81
C (Concentration, cường độ màu)	49,17
H (Hue, góc tông màu)	46,3

Ảnh hưởng của tốc độ đồng hóa nóng đến kích thước trung bình của pha phân tán

Ảnh hưởng của tốc độ đồng hóa nóng đến kích thước pha phân tán được trình bày trong hình 1. Kết quả này phù hợp với xu hướng biến đổi càng nhiều năng lượng thì kích thước hạt càng nhỏ. Năng lượng cung cấp cho hệ ngoài việc phá hạt to thành hạt nhỏ còn ngăn cản hiện tượng kết chùm của chúng. Tuy nhiên nếu tiếp tục tăng tốc độ, các hạt nhỏ lại có cơ hội va chạm với nhau và kết dính lại, hệ quả là kích thước hạt lại tăng. Cụ thể là nếu tăng tốc độ

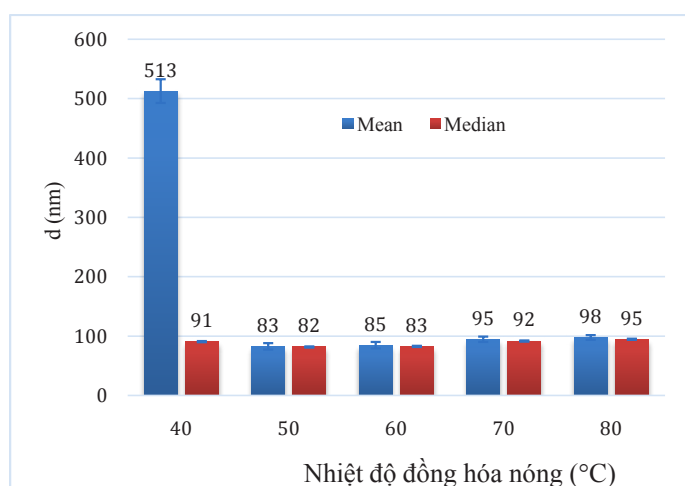
lên 17.000 v/p thì kích thước hạt tăng và không đồng đều. Thông qua kích thước đo LDS, có hai khoảng tốc độ tạo kích thước trung bình của hệ nhỏ hơn 100 nm là 10.000 v/p và 15.000 v/p. Khi tăng tốc độ đồng hóa lên 15.000 v/p sẽ tiêu tốn nhiều năng lượng hơn trong khi kích thước mean và median hầu như thay đổi không đáng kể so với kích thước tạo ra ở tốc độ đồng hóa 10.000 v/p nên chúng tôi chọn tốc độ 10.000 v/p là tốc độ đồng hóa tối ưu cho các thí nghiệm tiếp theo.

**Hình 1.** Ảnh hưởng của tốc độ đồng hóa nóng đến kích thước của hệ

Ảnh hưởng của nhiệt độ đồng hóa nóng đến kích thước trung bình của pha phân tán

Ảnh hưởng của nhiệt độ đồng hóa nóng đến kích thước pha phân tán được trình bày trong hình 2. Kết quả cho thấy ở nhiệt độ đồng hóa từ 50°C đến 80°C, kích thước mean và median hầu như chênh lệch không đáng kể. Khi nhiệt độ đồng hóa nóng tăng từ 40°C lên 50°C, kích thước trung bình hạt giảm. Tăng từ 50°C đến 80°C kích thước hạt tăng nhưng hầu như không thay đổi đáng kể. Có thể thấy rằng nhiệt độ đồng hóa nóng ảnh hưởng đến kích thước hạt không rõ rệt, sự thay đổi kích thước chỉ thay đổi

rõ rệt khi nhiệt độ được thay đổi từ 40 - 50°C. Điều này có thể giải thích là do nhiệt độ nóng chảy của chất béo rắn Emulgade dao động từ 49 - 52°C, nên khi ta tăng nhiệt độ đồng hóa lên tới mức 50°C trở đi thì các hạt dầu, cũng như là chất béo rắn, dễ dàng chảy lỏng và bị xé nhỏ hơn. Trong khi đó, nếu tiến hành đồng hóa ở nhiệt độ 40°C (thấp hơn nhiệt độ nóng chảy của Emulgade) thì các hạt béo rắn bị đóng rắn lại một phần, dẫn tới kết quả đo kích thước hạt bị lớn rõ rệt và sự phân bố của chúng không đồng đều nhau. Nhiệt độ phù hợp cho quá trình đồng hóa nóng là nhiệt độ cao hơn khoảng nhiệt độ nóng chảy của chất béo rắn Emulgade là 60°C.

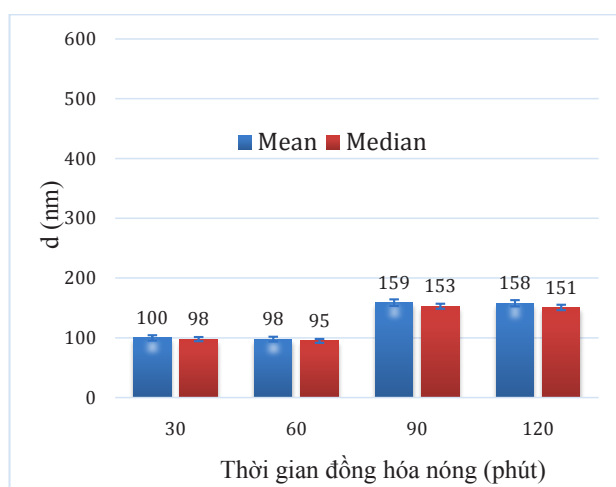


Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đồng hóa nóng đến kích thước của hệ

Ảnh hưởng của thời gian đồng hóa nóng đến kích thước trung bình của pha phân tán

Ảnh hưởng của thời gian đồng hóa nóng đến kích thước pha phân tán được trình bày trong

hình 3. Kết quả cho thấy từ thời gian 60 phút trở đi không có hiệu quả giảm kích thước hạt nên 60 phút là thời gian đồng hóa nóng phù hợp để chọn cho các khảo sát tiếp theo.

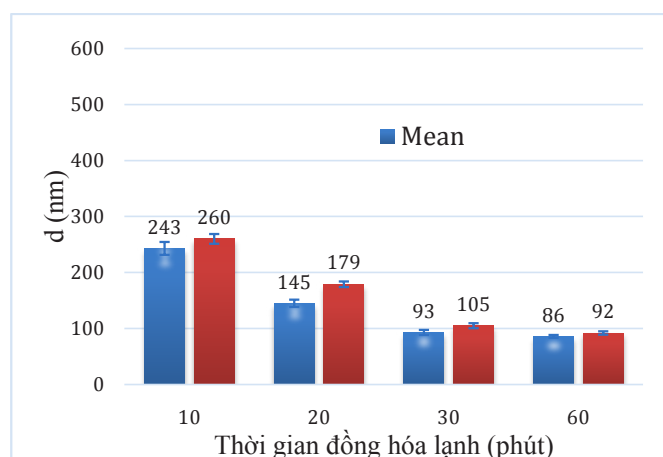


Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian đồng hóa nóng đến kích thước của hệ

Ảnh hưởng của thời gian đông hóa lạnh đến kích thước trung bình của pha phân tán

Kết quả thực nghiệm trên Hình 4 cho thấy thời gian đông hóa lạnh càng tăng thì kích thước trung bình của pha phân tán càng giảm. Khi tăng thời gian đông hóa lạnh từ 10 phút lên 30 phút, kích thước trung bình của hệ chất béo rắn giảm mạnh từ 243 nm xuống còn 93 nm. Sau đó tiếp tục tăng thời gian đông hóa lạnh tăng lên 60 phút thì kích thước trung bình vẫn giảm nhưng không đáng kể. Các giá trị kích thước mean và median tương đương nhau thể hiện phân bố kích thước rất đồng đều. Càng tăng thời gian đông hoá lạnh thì kích thước giảm và cũng tăng

mức độ đồng đều của hệ. Vậy thời gian đông hóa lạnh cũng có ảnh hưởng rất nhiều đến sự thay đổi kích thước của hệ. Khi đông hóa lạnh các giọt béo lỏng sẽ đóng rắn lại, do đó năng lượng trong thời gian này chủ yếu là để tách các hạt ra không bị kết lại với nhau. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với xu hướng càng cung cấp nhiều năng lượng thì kích thước trung bình càng nhỏ. Năng lượng cung cấp cho hệ ngoài việc phá vỡ hạt to thành các hạt nhỏ, còn sử dụng để ngăn hiện tượng kết chùm của chúng. Có thể nói đó là ngưỡng của một hệ hay thiết bị. Thời gian đông hóa lạnh phù hợp là 30 phút. Thời gian đông hoá lạnh hơn 30 phút không gây hiệu quả giảm kích thước đáng kể nữa.

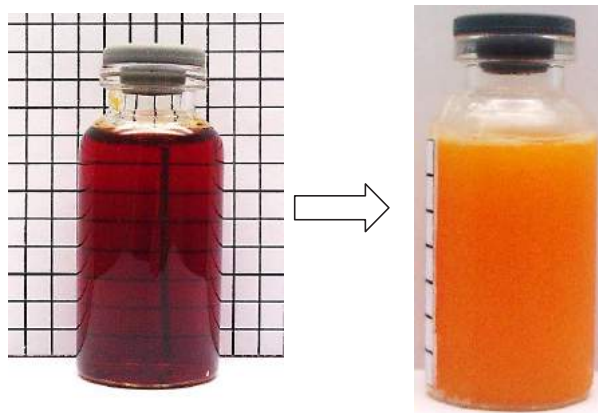


Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian đông hóa lạnh đến phân bố kích thước của hệ

KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã khảo sát được ảnh hưởng của các yếu tố tốc độ, nhiệt độ và thời gian của quá trình đông hóa nóng và lạnh đến kích thước hạt SLNs- Gac trên máy đông hóa, với hoạt chất chính là dầu gấc được bao trong chất béo

rắn Emulgade. Theo kết quả khảo sát, tốc độ đông hóa thích hợp là 10000 v/p; nhiệt độ đông hóa nóng là 60°C trong 60 phút, thời gian đông hóa lạnh là 30 phút ở nhiệt độ nhỏ hơn 5°C. Với điều kiện trên ta có hệ phân tán đồng đều, màu cam nhạt ánh vàng đặc trưng. Kích thước trung bình của hạt SLNs- Gac đạt dưới 100 nm.



Hình 5. Hệ SLNs-Gấc thu được

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi kinh phí nghiên cứu khoa học của Bộ Giáo Dục và Đào Tạo. Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn Phòng Thí Nghiệm Bộ Môn Công Nghệ Hóa, Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh và Bộ môn Hóa Hữu Cơ trường Đại học Bách khoa Thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ máy móc, thiết bị để chúng tôi có thể hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Burke, D.S. and Vuong, L.T. 2005 “*Momordica Cochinchinensis*, *Rosa Roxburghii*, Wolfberry, and Sea Buckthorn”. Highly nutritional fruits supported by tradition and science. *Current Topics in Nutraceutical Research* 3(4): 259-266.
- Choudhari, S.M. & Ananthanarayan, L. 2007. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. *Food Chemistry* 102(1): 77-81.
- Kuhnlein, H.V. 2004. Karat, pulque, and gac. Three shining stars in the traditional food galaxy. *Nutrition Review* 62(11): 439-442.
- Laserra, S. 2015. Solid lipid nanoparticles loaded with lipoyl-memantine codrug: Preparation and characterization. *International Journal of Pharmaceutics* 485(1-2): 183-191.
- Le, T.H.N. and Mai, T.T. 2011. Application of submicron curcuminoids in a skincare cream. *Vietnamese Journal of Science and Technology* 49(5A)-92-97.
- Le, T.H.N. and Phạm N.Q.A. 2015. Investigation of solid lipid nanoparticles (SLNs) for loading and increasing prolonged release of fragrance. *Journal of Science and Technology* 53(2A) 159-163.
- Mukherjee, S. 2011. Solid Lipid Nanoparticles: Methods of Preparation. *Indian Journal of Novel Drug delivery* 3(3) 170-175.
- Rodriguez-Amaya, D.B. 2001. A guide to Carotenoid Analysis in Foods. ILSI Press. Washington, USA.
- Roldán-Gutiérrez, J.M. & Castro, M.D.L. (2007). Lycopene: The need for better methods for characterization and determination. *Trends in Analytical Chemistry* 26(2) 163-170.
- Vitorino, C., et al. (2011). The size of solid lipid nanoparticles: An interpretation from experimental design. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 84(1) 117-130.
- Vuong, L.T., Adrian, A.F., Laurie, J.C. & Suzanne, P.M. (2006). *Momordica cochinchinensis* Spreng. (gac) fruit carotenoids reevaluated. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 664-668.