



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

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

(11)



2-0002599

(51) **A61K 38/00; C07K 1/14; A23L 33/00**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2021-00015

(22) 05/11/2019

(67) 1-2019-06195

(45) 25/04/2021 397

(43) 30/01/2020 382A

(73) Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VN)

Nhà 1H, số 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

(72) Trần Quốc Toàn (VN); Phạm Quốc Long (VN); Hoàng Thị Bích (VN); Phạm Minh Quân (VN).

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT CHẾ PHẨM GIÀU PHOSPHOLIPIT CHỨA CÁC AXIT BÉO HỢ EICOSANOIT TỪ HÀU BIỂN (OYSTER. SP)

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm giàu phospholipit chứa các axit béo họ eicosanoit từ hàu biển (*Oyster. sp*) bao gồm các bước: xử lý nguyên liệu bằng dung dịch nước muối 0,9%; thủy phân protein trong mẫu nguyên liệu; lọc thô; lọc tinh; phân ly dầu-nước dịch lọc; làm khan và thu chế phẩm.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực hóa học, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm giàu phospholipit chứa các axit béo họ eicosanoit từ hàu biển (*Oyster. sp*).

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Phospholipit là một lớp lipit có cấu tạo tương tự như các triaxylglyxerit, tuy nhiên trong cấu trúc phospholipit có sự thay thế của 1 phospho ở vị trí của axit béo trong phân tử triaxylglyxerit. Cấu tạo đó của phospholipit giúp nó thể hiện tính chất của một chất lưỡng cực, thường tạo thành lớp kép lipit có khả năng bán thấm. Trong cơ thể sống, phospholipit là một thành cấu tạo nên màng tế bào động vật, tập trung nhiều ở tế bào thần kinh, tim, gan và hệ thống sinh dục. Ngoài ra, nó còn là tiền chất để tổng hợp nên các hormon giúp điều hòa quá trình sinh trưởng và phát triển của cơ thể sống, là yếu tố quan trọng trong điều hòa và chuyển hóa lipit, cholesterol.

Axit béo họ eicosanoit: Eicosanoit (Tên IUPAC: Icosanoids) là các phân tử dẫn truyền tín hiệu, sản phẩm của quá trình oxy hóa axit béo đa nối đôi chứa 20 nguyên tử cacbon (HUFA).

Các eicosanoit có chức năng sinh học quan trọng, chúng không được lưu trữ trong các tế bào, nhưng được tổng hợp theo yêu cầu khi tế bào nhận được kích thích và sau đó được các enzym chuyển hóa và bất hoạt.

Chúng thực hiện các chức năng điều khiển phức tạp trong hệ thống của cơ thể sống; chủ yếu đối với các hoạt động thể chất, tình trạng viêm hoặc miễn dịch đối với các yếu tố tác động từ bên ngoài; và là chất trung gian dẫn truyền trong hệ thống thần kinh trung ương. Các mạng lưới điều khiển phụ thuộc vào eicosanoit là một trong những hệ thống phức tạp nhất trong cơ thể con người.

Eicosanoit có nguồn gốc từ một trong hai nhóm axit béo omega-3 (ω -3) hoặc omega-6 (ω -6). Nói chung, các ω -6 là các tiền chất eicosanoit gây viêm; ω -3 thể hiện ít hơn nhiều. Số lượng và cân bằng của các chất béo trong chế độ ăn uống của một người sẽ ảnh hưởng đến chức năng eicosanoit kiểm soát của cơ thể. Các yếu tố kích hoạt quá trình sinh tổng hợp eicosanoit gồm các chấn thương cơ học, các xytokin, yếu tố kích thích khác thậm chí có thể là một eicosanoit từ một tế bào lân cận. Nếu tốc độ tổng hợp lớn hơn tốc độ thoái biến sẽ làm tăng quá mức nồng độ các eicosanoit trong tổ chức mô và chúng gây ra các tác dụng có hại, chúng đóng vai trò quan trọng trong các bệnh tự miễn, trong đó điển hình là bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh hen và tim mạch và một số bệnh dị ứng. Thuốc kháng viêm như thuốc aspirin và các NSAID ngăn chặn một số phản ứng tổng hợp eicosanoit.

Tiền thân quan trọng để tổng hợp nên các eicosanoit là các axit béo có 20 cacbon như: 8, 11, 14-eicosatrienoic (dihomo- γ -linolenic (DGLA) hoặc 20:03 (n-6)), 5, 8, 11, 14-eicosatetraenoic (arachidonic (AA) hoặc 20:04 (n-6) và 5, 8, 11, 14, 17-eicosapentaenoic (EPA hoặc 20:05 (n-3)). Các axit béo 20 cacbon này được gọi chung là các axit béo họ eicosanoit.

Oligopeptit là các sản phẩm thiên nhiên có hoạt tính sinh học quan trọng có trong nhiều loài sinh vật và đã được tiến hành nghiên cứu sâu rộng. Phát hiện ra những vai trò điều hòa sinh học cùng với việc làm rõ các cơ chế hoạt động của các oligopeptit từ sinh vật biển giúp cho oligopeptit được sử dụng làm thuốc tiềm năng cho ung thư, tiểu đường hoặc điều trị cao huyết áp và các sản phẩm giúp tăng cường thể lực, miễn dịch, v.v.. Phổ hoạt động sinh học rộng của các oligopeptit biển có tiềm năng dinh dưỡng cao và các giá trị dược phẩm thu hút sự chú ý của ngành công nghiệp dược phẩm, thực phẩm chức năng và dinh dưỡng, với hy vọng rằng chúng có thể được sử dụng trong điều trị hoặc phòng ngừa các bệnh khác nhau. Các oligopeptit hoạt tính cũng có thể thu được từ việc cắt protein của các sinh vật biển. Các enzym cắt được sử dụng nhiều nhất là pepsin, trypsin, α -chymotrypsin, papain và một số các loại proteaza thương mại.

Ứng dụng enzym được ưa thích hơn trong các ngành công nghiệp dược phẩm để tránh xử lý hóa học và vật lý khắc nghiệt, và duy trì các chức năng và giá trị dinh dưỡng. Các sản phẩm thủy phân, oligopeptit hoạt hóa, được tách theo trọng lượng phân tử khác nhau bằng cách lọc qua màng.

Hàu là loài động vật nhuyễn thể thuộc nhóm thân mềm hai mảnh vỏ trong họ hàng nghêu, sò nhỏ sống ở bờ biển, ở các ghềnh đá ven bờ biển hay các cửa sông, sống bám vào một giá thể như bám vào đá thành tảng, các rạn đá, móng cầu ăn sinh vật phù du và các sinh vật trong bùn, cát, nước biển, v.v.. Hàu cũng được coi là một loại hải sản sống dưới nước.

Theo y học cổ truyền, thịt hàu có vị ngọt hơi mặn, tính mát, không độc, tác dụng tráng dương, bổ tinh, tư âm dưỡng huyết, ăn vào trị được chứng mất ngủ do nhiệt, người nóng khô khát, hoa mắt, chóng mặt, phụ nữ rối loạn tiền mãn kinh, phụ nữ sau sinh thiếu sữa, thiếu máu ăn hàu rất tốt, nam giới có chứng di mộng tinh, hoạt tinh, yếu sinh lý, liệt dương, hiếm muộn.

Những nghiên cứu sâu hơn về thành phần và xây dựng công nghệ chế biến hàu biển thành các sản phẩm có giá trị cao được Phạm Quốc Long & cộng sự báo cáo năm 2015. Theo các tác giả, khi nghiên cứu trên mẫu hàu Thái Bình Dương được nuôi tại vùng biển Quảng Ninh có đầy đủ các axit amin thiết yếu. Nghiên cứu hàm lượng lipid cho thấy giá trị trung bình từ 1-2 % (khối lượng tươi), trong đó đặc biệt là các axit béo họ eicosanoit (C20) có hàm lượng lên tới > 10% trong mẫu lipid. Đặc biệt, các nghiên cứu về phospholipit cho thấy trong hàu biển có đầy đủ các thành phần như PE, PC, PI, PG, v.v. mang các axit béo họ eicosanoit với tổng hàm lượng phospholipit lên tới trên 30%.

Các nghiên cứu về chế biến hàu biển hiện nay, ngoài việc nghiên cứu chế biến làm thực phẩm, thì các nghiên cứu chế biến hàu tạo thành sản phẩm thực phẩm chức năng mới chỉ dừng lại ở bước thủy phân rồi đem sấy khô thành bột. Các nghiên cứu về việc tạo thành một quy trình kép vừa phân lập phospholipit đồng thời với thu nhận oligopeptit hoàn toàn chưa được nghiên cứu.

Sóng siêu âm là một dạng năng lượng rung động với tần suất liên tục. Theo thường lệ, chúng được chia ra theo tác dụng đối với chất được nhắm đến. Sóng siêu âm là sóng âm với tần suất cao hơn mức nghe được của tai người (>20 kHz). Nó bao gồm tần suất thấp, năng lượng cao, siêu âm điện trong khoảng kHz và tần suất cao, năng lượng thấp, siêu âm chẩn đoán trong khoảng MHz. Sóng siêu âm tần suất thấp cường độ cao sẽ tạo ra vết cắt và lực cơ học lớn. Nó có thể được sử dụng trong quá trình nhũ hoá trong ngành công nghiệp sữa. Ngược lại, sóng siêu âm có tần số cao cường độ thấp lại được sử dụng trong ứng dụng khi cần một lượng lớn gốc oxi hoá khử, ví dụ như sự oxi-hoá chất thải hữu cơ trong môi trường dung dịch sẽ cần một lượng lớn gốc oxi-hoá. Đặc biệt, sóng siêu âm có tần suất cao không được sử dụng nhiều trong xử lý thực phẩm, chỉ trừ việc quản lý chất lượng thực phẩm và nhu cầu chẩn đoán.

Ngày nay, sóng siêu âm đang trở thành một công nghệ nổi lên được phát triển để giảm tối thiểu các quá trình xử lý, tối đa chất lượng và đảm bảo an toàn thực phẩm. Có thể nói, sóng siêu âm hiện đã được dùng rộng rãi trong việc đông lạnh, chiết xuất, chia tách, nhũ hoá, làm mềm, kết tinh, sấy khô, lọc, ngăn chặn sự hoạt động, quản lý chất lượng, xử lý thịt, thay đổi công dụng, v.v.. Ứng dụng của sóng siêu âm không chỉ dừng lại ở những vấn đề trên, ứng dụng của nó trong các tác động sinh học, như tăng cường khả năng sinh sôi của tế bào vi sinh, ngăn chặn sự hoạt động của vi sinh vật và tác động lên hoạt động của enzym hiện đã đánh thức sự quan tâm của các nhà khoa học.

Ở cấp độ phân tử, siêu âm có thể cung cấp các tác động thúc đẩy hoặc làm hỏng các enzym, cơ chất, phản ứng giữa các enzym, cơ chất và môi trường xung quanh. Dưới điều kiện cường độ thấp và tần số phù hợp, siêu âm tạo ra sự tạo bọt, hiệu ứng từ tính và hiệu ứng dao động cơ học. Nó thay đổi cấu trúc của enzym để tăng tốc độ tiếp xúc giữa enzym và cơ chất. Do đó hoạt động sinh học của enzym được thúc đẩy. Hơn nữa, siêu âm có thể làm thay đổi các đặc tính của chất nền, phản ứng giữa các enzym và cơ chất. Nó thậm chí còn hỗ trợ để cung cấp một môi trường tối ưu cho các phản ứng.

Siêu âm làm thay đổi các đặc tính của enzym. Ma và cộng sự đã khám phá những ảnh hưởng của siêu âm thu thập năng lượng đối với hoạt động của alcalaza, giải phóng tyrosin từ casein cơ chất của nó bằng cách thủy phân. Họ tìm thấy siêu âm có ảnh hưởng đến hoạt động của alcalaza. Hoạt tính cao nhất của alcalaza đã đạt được khi nó được điều trị bằng siêu âm ở 80 W trong 4 phút, theo đó hoạt tính của enzym đã tăng 5,8% so với điều kiện. Sau khi điều trị bằng siêu âm, các thông số nhiệt động học của enzym Ea, DH, DS và DG đã giảm lần lượt 70,0%, 75,8%, 34,0% và 1,3%. Hơn nữa, việc xử lý siêu âm làm tăng số lượng tryptophan trên bề mặt alcalaza một chút, tăng số lượng đường xoắn ốc lên 5,2% và giảm số lượng cuộn ngẫu nhiên xuống 13,6%. Có ý kiến cho rằng những thay đổi này làm cho alcalaza thể hiện sự đều đặn và linh hoạt hơn, rất hữu ích cho việc cải thiện hoạt động của alcalaza. Siêu âm và nhiệt là các yếu tố hiệp đồng để cung cấp các tác dụng thúc đẩy enzym. Net-sanetshiferaw và cộng sự đã nghiên cứu động học bất hoạt siêu âm của polygalacturonaza (PG) và pectin metylesteraza (PME) trong nước ép cà chua ở tần số 20 kHz, biên độ 65 lm và nhiệt độ từ 50°C đến 75°C. Họ đã tìm thấy nhiệt dung tăng cường tốc độ bất hoạt của cả PME và PG. Tốc độ bất hoạt của PME đã tăng thêm 1,5-6 lần và tốc độ bất hoạt của PG2 từ 2,3 đến 4 lần trong khoảng nhiệt độ 60–75°C.

Siêu âm làm biến tính enzym. Kapturowska và cộng sự khi nghiên cứu ảnh hưởng của sóng siêu âm đến việc thủy phân protein từ *Y. lipolytica*. Các thông số lý tưởng của quá trình phát hành là công suất siêu âm ở 150 W trong 15 phút và 9 tuần thời gian lưu trữ sinh khối đông lạnh. Tuy nhiên, điều kiện như vậy không phải là hiệu quả nhất để có được hoạt động lipolytic cao do biến tính như là một tác động của xâm thực.

Siêu âm cung cấp hiệu ứng trên chất nền. Li và cộng sự đã nghiên cứu các tác động của siêu âm thu thập năng lượng đa tần số (MFEGU) và tiền xử lý kiềm hỗ trợ MFEGU đối với quá trình phân tách protein gạo (RP). Họ phát hiện ra rằng cả hai phương pháp đều cải thiện đáng kể lượng rửa giải protein của RP và mức độ thủy phân (DH). Cả hai đều là phương pháp hiệu quả để tiết kiệm

thời gian phân tách so với việc không điều trị. Phân tích kính hiển vi lực nguyên tử (AFM) chỉ ra rằng cả hai phương pháp đã phá hủy các cấu trúc vi mô và giảm kích thước hạt của RP. Phân tích lưỡng sắc tuần hoàn cho thấy cả hai phương pháp đều giảm đường xoắn ốc nhưng tăng độ phủ và cuộn ngẫu nhiên của RP. Có ý kiến cho rằng các tiền xử lý kiềm được hỗ trợ bởi MFEGU và MFEGU có thể cải thiện mức độ thủy phân do các hiệu ứng hóa học của nó đối với cấu trúc phân tử cũng như cấu trúc vi mô của RP.

Siêu âm làm thay đổi các đặc điểm của các phản ứng giữa các enzym và cơ chất. Jin và cộng sự đã nghiên cứu ảnh hưởng của tiền xử lý siêu âm điện đa tần số (MPU) đối với động học và nhiệt động lực học của bột ngô (CGM). Họ phát hiện ra rằng tiền xử lý MPU có thể đẩy nhanh quá trình thủy phân CGM trong các điều kiện phân giải enzym khác nhau, tập trung cơ chất, nồng độ enzym, pH và nhiệt độ. Phân tích động học cho thấy tiền xử lý MPU làm giảm 26,1% giá trị hằng số rõ ràng (KM) và tăng giá trị hằng số tốc độ phá vỡ rõ ràng (kA) lên 7,3%, cho thấy tiền xử lý siêu âm làm tăng ái lực giữa enzym và phân lớp. Qu và cộng sự đã khám phá những ảnh hưởng của tiền xử lý siêu âm đối với quá trình phân giải enzym của protein mầm lúa mì đã khử chất béo (DWGP). Họ phát hiện ra rằng cả enzym tiền xử lý truyền thống và siêu âm đều phù hợp với động học bậc nhất. Và so với phương pháp phân giải enzym truyền thống, siêu âm làm tăng đáng kể hằng số tốc độ phản ứng và giảm năng lượng kích hoạt, entanpi của hoạt hóa, năng lượng tự do Gibbs kích hoạt và entropy kích hoạt. Do đó, có thể kết luận rằng tiền xử lý siêu âm của DWGP có thể cải thiện đáng kể hiệu quả phân giải enzym và do đó dẫn đến việc sản xuất oligopeptit tốt hơn.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất quy trình sản xuất chế phẩm giàu phospholipit chứa axit béo họ eicosanoit từ hàu biển đơn giản và thu được chế phẩm chứa hàm lượng phospholipit ở mức độ cao.

Theo một phương án, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình sản xuất chế phẩm giàu phospholipit chứa axit béo họ eicosanoit từ hào biển (*Oyster. sp*), quy trình bao gồm các bước:

- (i) xử lý nguyên liệu bằng cách rửa sạch thịt hào bằng dung dịch NaCl 0,9%, tiếp đó nghiền nhỏ bằng máy nghiền chuyên dụng, và tiến hành siêu âm trong khoảng 20-30KHz trong thời gian 20 phút;
- (ii) thủy phân protein trong mẫu nguyên liệu thu được ở bước (i) bằng cách sử dụng hệ enzym proteaza là bromelain/papain với tỷ lệ khối lượng bromelain/papain là 2,5/1, trong đó tỷ lệ enzym/cơ chất là 0,2%, nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50 đến 55⁰C, pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6 và thời gian là 45 phút thu hỗn hợp dịch thủy phân ;
- (iii) lọc thô hỗn hợp dịch thủy phân bằng máy vắt ly tâm với tốc độ nằm trong khoảng từ 4000 đến 6000 vòng/phút thu được dịch lọc và bã khô;
- (iv) lọc tinh phần dịch lọc thu được ở bước (iii) để phân lập các oligopeptit hòa tan ra khỏi hỗn hợp dầu-nước trong thiết bị lọc áp suất cao và màng lọc siêu cấp, trong đó dịch lọc thu được ở bước (iii) được đưa vào một thùng chứa kín chịu áp suất sau đó sử dụng bơm nén đưa áp suất tới nằm trong khoảng từ 3 đến 5 atm, sau khi áp suất đạt đến 3 atm, tiến hành mở van đưa dịch lọc qua hệ thống các màng xenluloza axetat được bố trí liên hoàn có các kích thước lỗ lần lượt là 100 kDa, 30 kDa, 10 kDa, 5kDa và 1kDa thu được các oligopeptit hòa tan bị giữ lại trên màng và dịch lọc tinh;
- (v) Phân ly dầu-nước dịch lọc tinh thu được ở bước (iv) bằng cách bổ sung muối NaCl với tỷ lệ dịch lọc tinh/muối là 100/1 (thể tích/trọng lượng) trong thiết bị phân ly có khả năng điều chỉnh nhiệt độ, trong đó nhiệt độ hỗn hợp được đưa xuống nhiệt độ 5⁰C, khuấy nhẹ trong thời gian 30 phút, sau đó để yên trong 12 giờ cho hỗn hợp phân ly hoàn toàn thu được phần dầu bên trên;
- (vi) làm khan phần dầu thu được ở bước (v) bằng cách cho đi qua một cột chứa Na₂SO₄ dưới áp suất giảm, sau đó bổ sung bột than hoạt tính với tỷ lệ khối lượng phần dầu/bột than hoạt tính là 5/1, khuấy nhẹ trong 1 giờ và lọc loại bỏ

than hoạt tính để thu được hỗn hợp giàu phospholipit chứa các axit béo họ eicosanoit và oligopeptit hòa tan;

(vii) thu chế phẩm bằng cách bổ sung vitamin E vào hỗn hợp thu được ở bước (vi) với hàm lượng 0,05%.

Theo một phương án khác, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình nêu trên, trong đó quy trình này còn bao gồm bước sấy khô bã khô thu được sau ly tâm. Bã khô này được sử dụng làm thức ăn chăn nuôi.

Theo một phương án khác nữa, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình nêu trên, trong đó quy trình này còn bao gồm bước thu hồi các oligopeptit trên màng lọc, làm khô ở nhiệt độ dưới 10⁰C. Oligopeptit này được sử dụng làm thực phẩm chức năng có tác dụng bồi bổ cơ thể, chống suy nhược, mệt mỏi.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là sơ đồ quy trình sản xuất chế phẩm giàu phospholipit chứa axit béo họ eicosanoit và oligopeptit hòa tan trọng lượng phân tử thấp.

Hình 2 là công thức cấu tạo các phospholipit chứa axit béo họ eicosanoit

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

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

Hàu biển có tên khoa học là *Oyster* sp. Trong hàu biển có hàm lượng lipit cao, đặc biệt là các axit béo họ eicosanoit.

Theo một phương án, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình sản xuất chế phẩm giàu phospholipit chứa axit béo họ eicosanoit từ hàu biển (*Oyster*. sp), quy trình bao gồm các bước:

Bước 1: xử lý nguyên liệu.

Mẫu thịt hàu được rửa sạch bằng dung dịch NaCl 0,9% sau đó nghiền nhỏ bằng máy nghiền chuyên dụng, tiến hành siêu âm trong khoảng 20-30KHz trong 20 phút. Bước xử lý mẫu bằng phương pháp này có nhiều ưu điểm là:

- Thời gian xử lý rất nhanh, ức chế triệt để các vi sinh vật.
- Quy trình thực hiện ở điều kiện nhẹ nhàng, tránh được sự phân hủy, oxy hóa các hoạt chất.

- Quá trình siêu âm giúp phá vỡ cấu trúc tế bào, tạo các mảnh vi hạt có kích thước siêu mịn giúp tăng khả năng tiếp xúc với enzym ở giai đoạn tiếp theo

Bước 2: thủy phân protein trong mẫu nguyên liệu thu được ở bước 1 bằng cách sử dụng hệ enzym proteaza.

Mẫu nguyên liệu sau xử lý được bổ sung hệ enzym proteaza là bromelain và papain với tỷ lệ khối lượng bromelain/papain là 2,5/1, tỷ lệ enzym/cơ chất là 0,2%, nhiệt độ 50-55⁰C, pH 5,5-6 và thời gian là 45 phút thu hỗn hợp dịch thủy phân.

Bước 3: lọc thô hỗn hợp dịch thủy phân

Hỗn hợp dịch thủy phân được lọc thô loại xương, bã bằng máy vắt ly tâm ở tốc độ 4000 - 6000 vòng/phút thu được dịch lọc và bã khô. Bã khô được đem sấy khô, đóng gói sử dụng làm thức ăn gia súc (chất dẫn dụ).

Bước 4: lọc tinh

Phần dịch lọc thu được ở bước 3 được tiến hành lọc tinh để phân lập các oligopeptit hòa tan ra khỏi hỗn hợp dầu-nước bằng thiết bị lọc chuyên dụng có khả năng nâng áp suất lên tới 20 atm và màng lọc siêu cấp:

Dịch lọc thô được đưa vào một thùng chứa kín chịu áp suất sau đó sử dụng bơm nén đưa áp suất lên tới 3 – 5 atm. Sau khi áp suất đạt đến 3 atm, tiến hành mở van đưa dịch lọc qua hệ thống các màng xenluloza axetat được bố trí liên hoàn có các kích thước lỗ lần lượt là 100 kDa, 30 kDa, 10 kDa, 5kDa và 1kDa. Các oligopeptit hòa tan bị giữ lại trên màng được thu hồi, sấy khô ở nhiệt độ thấp, sử dụng làm thực phẩm bổ sung dinh dưỡng có tác dụng tăng cường sinh lực, bồi bổ cơ thể cho người suy nhược.

Dịch lọc tinh được thu lại cho các bước phân ly tiếp theo.

Bước 5: Phân ly dầu-nước dịch lọc tinh.

Dịch lọc tinh được bổ sung muối NaCl với tỷ lệ 100/1 (dịch lọc tinh/muối; v/m) được đưa vào thiết bị phân ly có khả năng điều chỉnh nhiệt độ. Hạ thấp nhiệt độ hỗn hợp xuống nhiệt độ 5°C, khuấy nhẹ trong thời gian 30 phút, sau đó để yên trong 12 giờ cho hỗn hợp phân ly hoàn toàn.

Hỗn hợp sau khi phân ly hoàn toàn được loại bỏ phần nước, thu lấy phần dầu bên trên.

Bước 6: Làm khan

Phần dầu được làm khan bằng cách cho đi qua một cột chứa Na₂SO₄ dưới áp suất giảm. Dầu khan được bổ sung bột than hoạt tính với tỷ lệ khối lượng phần dầu/bột than hoạt tính là 5/1 (m/m; 2.000 m²/g), khuấy nhẹ trong 1 giờ rồi lọc loại bỏ than hoạt tính thu được hỗn hợp giàu các phospholipit chứa các axit béo họ eicosanoit.

Bước 7: Thu chế phẩm

Chế phẩm thu được bằng cách bổ sung vitamin E vào hỗn hợp thu được ở bước 6 với hàm lượng 0,05%. Chế phẩm được đóng trong lọ kín, tối màu, bảo quản ở nhiệt độ dưới 10°C, và chế phẩm này có các đặc điểm sau:

- Trạng thái: chất lỏng hơi sánh, màu vàng nâu.
- Mùi vị: mùi đặc trưng hơi tanh và thơm nhẹ của đạm thủy phân.
- Khả năng hòa tan: tan tốt trong các dung môi phân cực vừa phải.
- Thành phần: phospholipit chiếm hàm lượng trên 30%. Các axit béo họ eicosanoit chiếm hàm lượng trên 20% tổng lượng các axit béo.
- Biến đổi dần sang nâu đến đen khi để trong không khí ở nhiệt độ thường.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Sản xuất 135g chế phẩm giàu phospholipit chứa axit béo họ eicosanoit

2kg phần thịt ăn được của hàu biển được rửa sạch bằng dung dịch NaCl 0,9%, sau đó nghiền nhỏ bằng máy nghiền trục vít. Nguyên liệu sau khi nghiền nhỏ được đưa vào thiết bị phát sóng siêu âm dạng thanh ở tần số 25KHz trong

20 phút. Tiếp theo, bổ sung thêm 8 lít nước, 4 gram hệ enzym bromelain/papain (tỷ lệ khối lượng bromelain/papain là 2,5/1), điều chỉnh pH trong khoảng 5,5-6, giữ nhiệt độ ổn định tại 50-55⁰C. Sau 45 phút thủy phân, hỗn hợp được đưa vào máy vắt ly tâm, tốc độ vắt 4000 - 6000 vòng/phút. Bã khô thu được đem sấy khô, đóng gói sử dụng làm chất dẫn dụ bổ sung vào thức ăn gia súc. Dịch lọc thô được đưa dần vào một thùng chứa kín chịu áp suất, sử dụng bơm nén đưa áp suất lên tới 3 atm. Sau khi áp suất đạt đến 3 atm, tiến hành mở van đưa dịch lọc qua hệ thống các màng xenluloza axetat được bố trí liên tiếp có các kích thước lỗ lần lượt là 100 kDa, 30 kDa, 10 kDa, 5kDa và 1kDa.

Các oligopeptit hòa tan bị giữ lại trên màng theo định kỳ được thu hồi, sấy khô ở nhiệt độ thấp (dưới 10⁰C), sử dụng làm thực phẩm bổ sung dinh dưỡng có tác dụng tăng cường sinh lực, bồi bổ cơ thể cho người suy nhược.

Dịch lọc tinh được bổ sung 100 gram NaCl, sau đó đưa vào thiết bị phân ly dung tích 15 lít. Hạ thấp nhiệt độ hệ xuống nhiệt độ 5⁰C, khuấy nhẹ trong thời gian 30 phút sau đó để yên trong 12 giờ cho hỗn hợp phân ly hoàn toàn.

Hỗn hợp sau khi phân ly hoàn toàn được loại bỏ phần nước, thu được khoảng 100 gram phần dầu bên trên.

Phần dầu được làm khan bằng cách cho đi qua một cột chứa Na₂SO₄ (10 gram) dưới áp suất giảm (0,1atm). Dầu khan được bổ sung 20 gram bột than hoạt tính (10 000 m²/g), khuấy nhẹ trong 1h rồi lọc loại bỏ than hoạt tính thu được 90 gram hỗn hợp giàu phospholipit chứa axit béo họ eicosanoit. Tiếp theo, bổ sung 45 mg vitamin E, khuấy trộn thu được 135g chế phẩm giàu giàu phospholipit chứa axit béo họ eicosanoit. Chế phẩm này được đóng trong lọ kín, tối màu, bảo quản ở nhiệt độ dưới 10⁰C. Chế phẩm này có màu vàng nâu, mùi đặc trưng hơi tanh kèm mùi thơm của đạm thủy phân, thành phần phospholipit trong chế phẩm chiếm hàm lượng trên 30%.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Phospholipit chứa các axit béo họ eicosanoit từ lâu đã được nghiên cứu và chứng minh các tác dụng sinh lý, đặc biệt đối với hệ thần kinh, hệ sinh sản cũng như là tiền chất để sản sinh ra các prostaglandin giúp điều hòa các chức năng sinh lý ở cơ thể sống. Các nghiên cứu đánh giá đã xác định trong lipit được của hàu biển chứa một hàm lượng lớn các phospholipit chứa các axit béo họ eicosanoit, đặc biệt là các axit béo họ ω -3. Tuy nhiên, các phospholipit này chủ yếu liên kết với các protein màng tế bào dưới dạng các phức lipoprotein, vì vậy các phương pháp thông thường không thể chiết triệt để được các phospholipit.

Quy trình theo giải pháp hữu ích đơn giản, dễ triển khai ở quy mô lớn, chiết triệt để và chế phẩm thu được có hàm lượng phospholipit cao (trên 30%). Ngoài ra, dung môi và hóa chất sử dụng trong quy trình này không độc hại, lượng chất thải ra môi trường rất ít nên không gây ô nhiễm môi trường.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất chế phẩm giàu phospholipit chứa các axit béo họ eicosanoit từ hàu biển (*Oyster. sp*) bao gồm các bước:

(i) xử lý nguyên liệu bằng cách rửa sạch thịt hàu bằng dung dịch NaCl 0,9%, tiếp đó nghiền nhỏ bằng máy nghiền chuyên dụng, và tiến hành siêu âm trong khoảng 20-30KHz trong thời gian 20 phút;

(ii) thủy phân protein trong mẫu nguyên liệu thu được ở bước (i) bằng cách sử dụng hệ enzym proteaza là bromelain/papain với tỷ lệ khối lượng bromelain/papain là 2,5/1, trong đó tỷ lệ enzym/cơ chất là 0,2%, nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50 đến 55⁰C, pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6 và thời gian là 45 phút thu hỗn hợp dịch thủy phân;

(iii) lọc thô hỗn hợp dịch thủy phân bằng máy vắt ly tâm với tốc độ nằm trong khoảng từ 4000 đến 6000 vòng/phút để thu được dịch lọc và bã khô;

(iv) lọc tinh phần dịch lọc thu được ở bước (iii) để phân lập các oligopeptit hòa tan ra khỏi hỗn hợp dầu-nước trong thiết bị lọc áp suất cao và màng lọc siêu cấp, trong đó dịch lọc thu được ở bước (iii) được đưa vào một thùng chứa kín chịu áp suất, sau đó sử dụng bơm nén đưa áp suất tới nằm trong khoảng từ 3 đến 5 atm, sau khi áp suất đạt đến 3 atm, tiến hành mở van đưa dịch lọc qua hệ thống các màng xenluloza axetat được bố trí liên hoàn có các kích thước lỗ lần lượt là 100 kDa, 30 kDa, 10 kDa, 5kDa và 1kDa thu được các oligopeptit hòa tan bị giữ lại trên màng và dịch lọc tinh;

(v) Phân ly dầu-nước dịch lọc tinh thu được ở bước (iv) bằng cách bổ sung muối NaCl với tỷ lệ dịch lọc tinh/muối là 100/1 (thể tích/trọng lượng) trong thiết bị phân ly có khả năng điều chỉnh nhiệt độ, trong đó nhiệt độ hỗn hợp được đưa xuống nhiệt độ 5⁰C, khuấy nhẹ trong thời gian 30 phút, sau đó để yên trong 12 giờ cho hỗn hợp phân ly hoàn toàn thu được phần dầu bên trên;

(vi) làm khan phần dầu thu được ở bước (v) bằng cách cho đi qua một cột chứa Na₂SO₄ dưới áp suất giảm, sau đó bổ sung bột than hoạt tính với tỷ lệ khối lượng phần dầu/bột than hoạt tính là 5/1, khuấy nhẹ trong 1 giờ và lọc loại bỏ

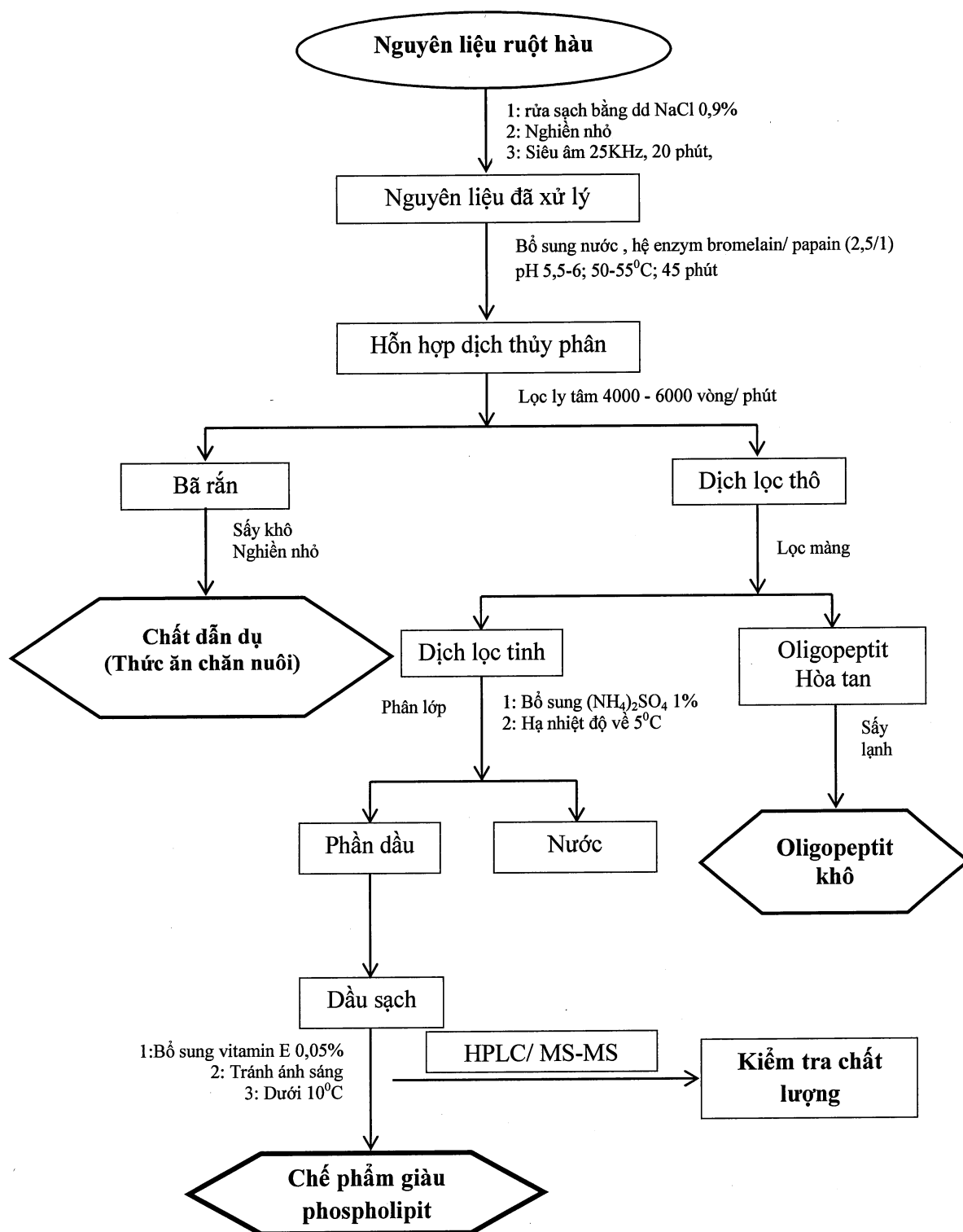
than hoạt tính để thu được hỗn hợp giàu phospholipit chứa các axit béo họ eicosanoit;

(vii) thu chế phẩm bằng cách bổ sung vitamin E vào hỗn hợp thu được ở bước (vi) với hàm lượng 0,05%.

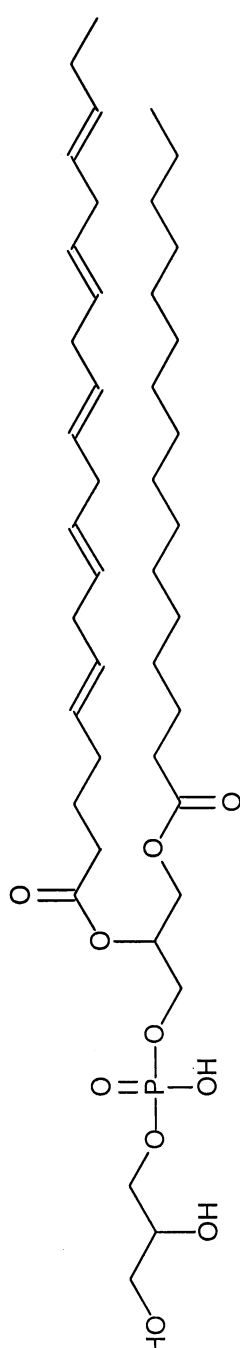
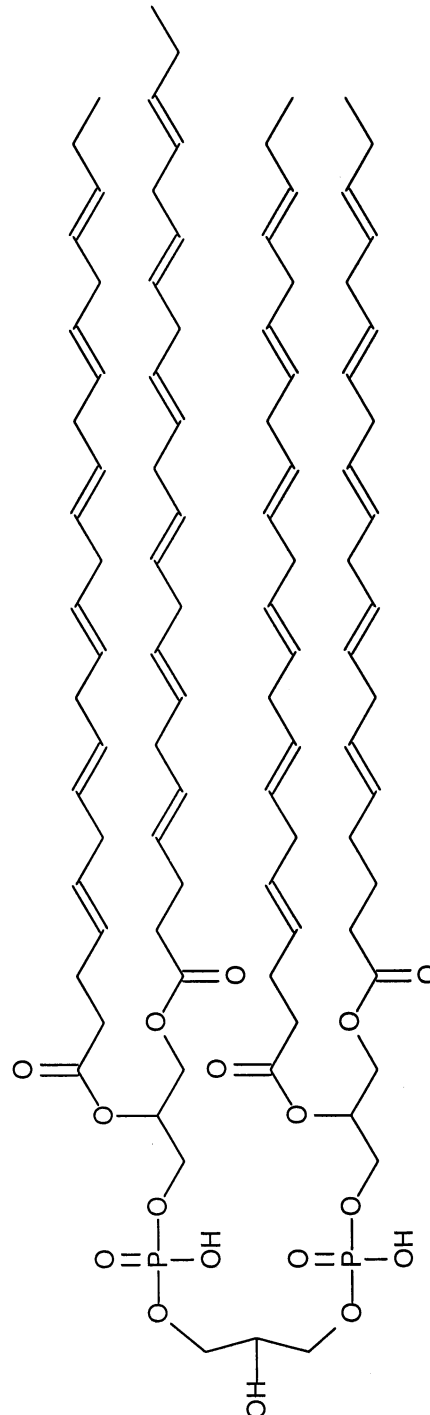
2. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này còn bao gồm bước sấy khô bã khô thu được sau ly tâm.

3. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này còn bao gồm bước thu hồi các oligopeptit hòa tan trên màng lọc và sấy khô ở nhiệt độ dưới 10⁰C.

Hình 1



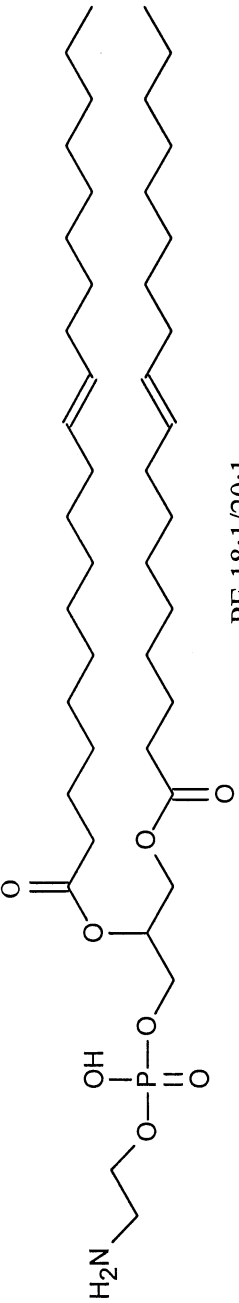
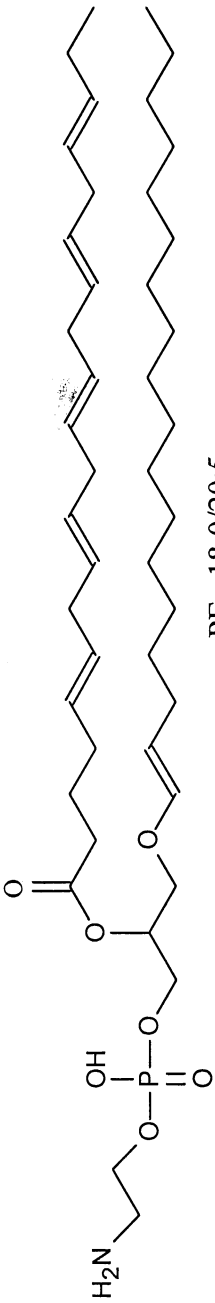
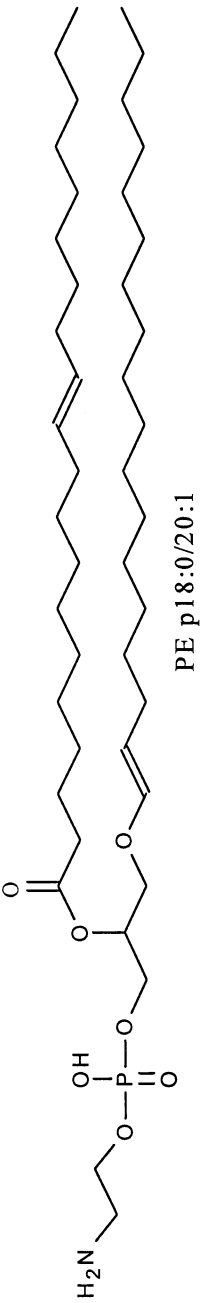
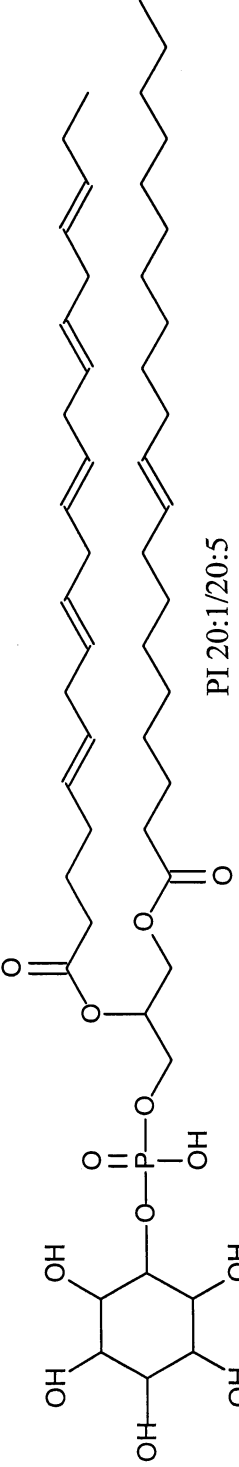
Hình 2

Phospholipit	CTCT
PG	 PG 16:0/20:5
DPG	 DPG 20:5/22:6/22:6/22:6

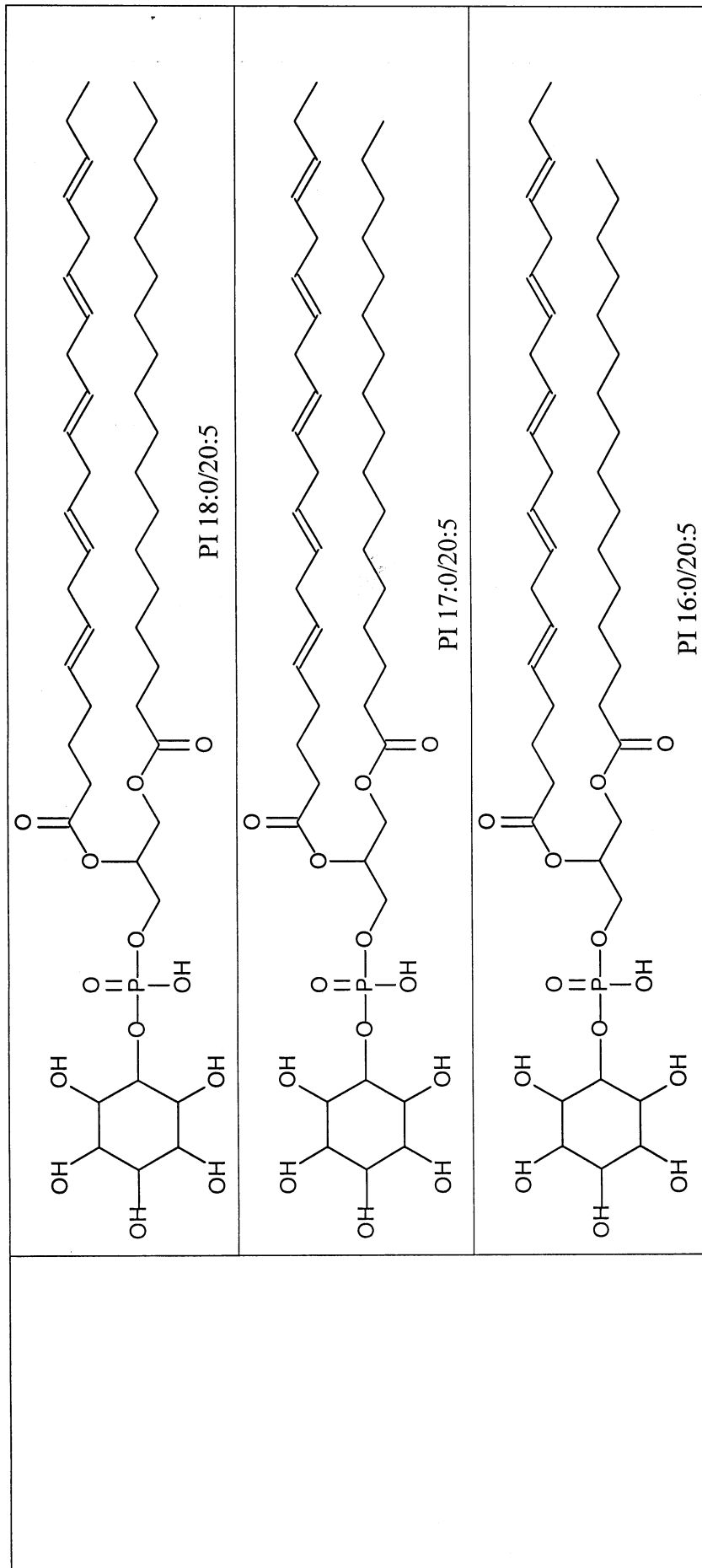
Hình 2 (tiếp)

PE	PE 18:1/20:5
	PE 18:0/20:5
	PE 17:0/20:5
	PE 16:0/20:5

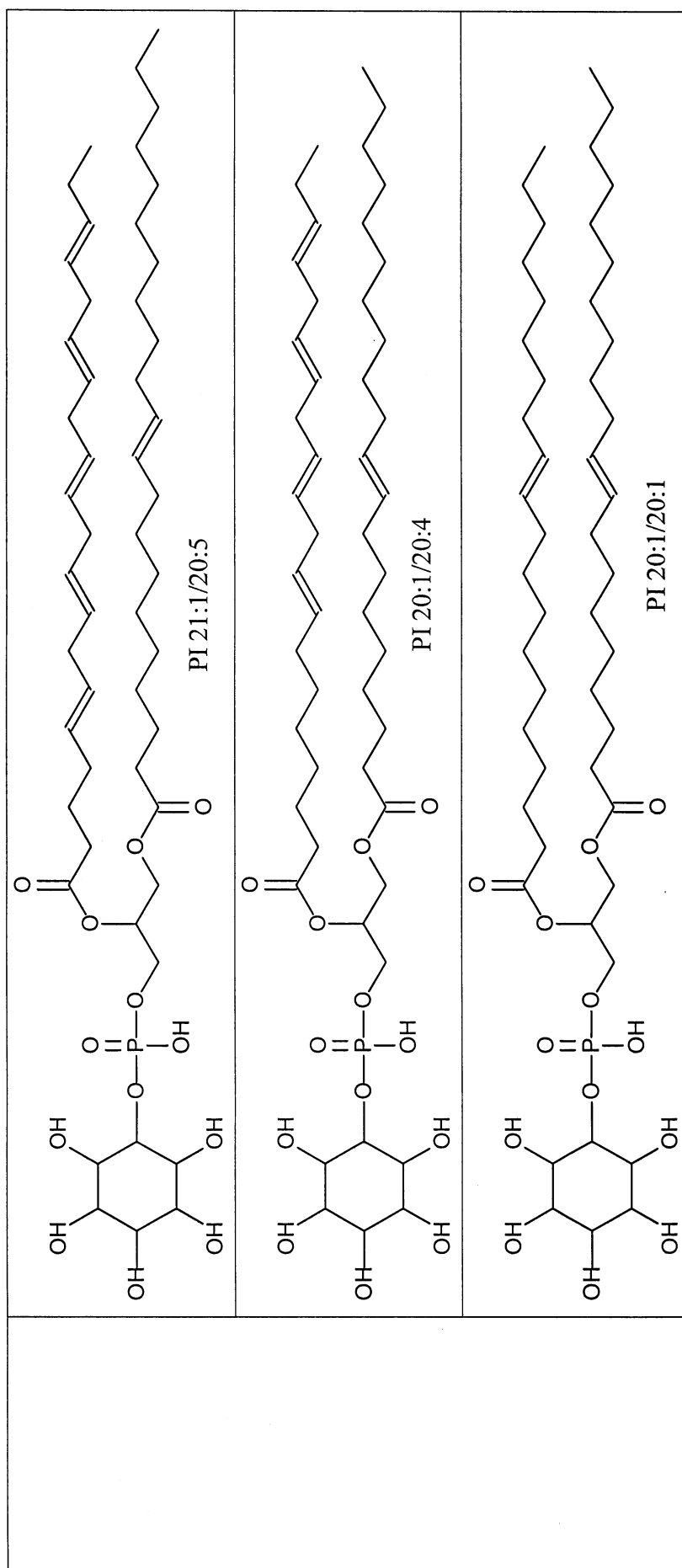
Hình 2 (tiếp)

	 PE 18:1/20:1
	 PE p18:0/20:5
	 PE p18:0/20:1
PI	 PI 20:1/20:5

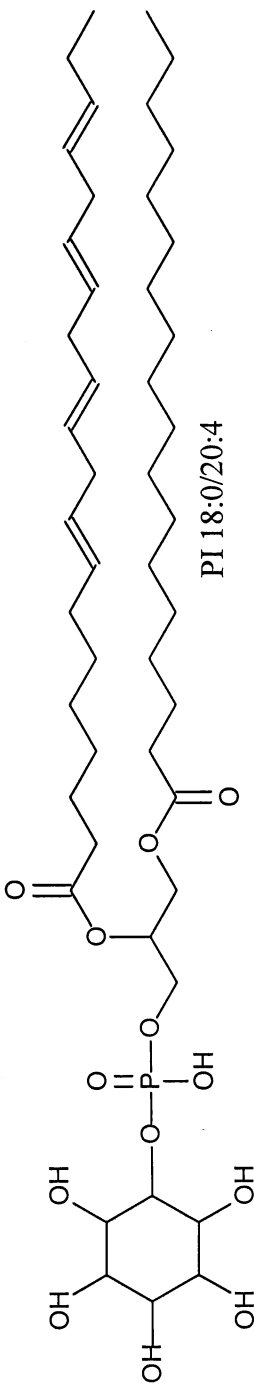
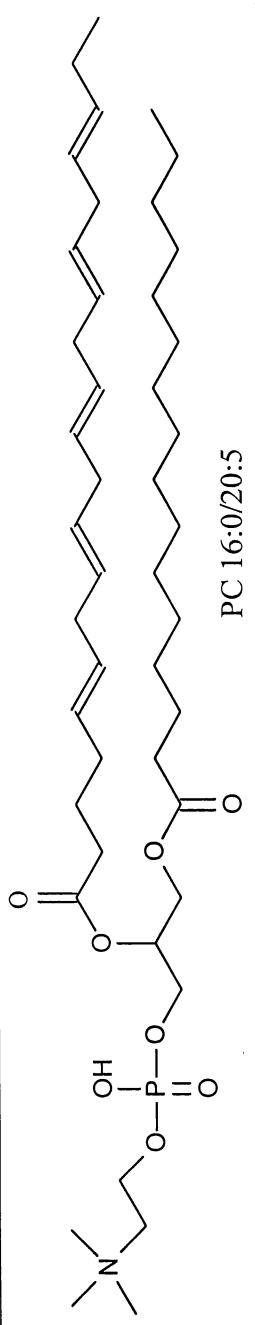
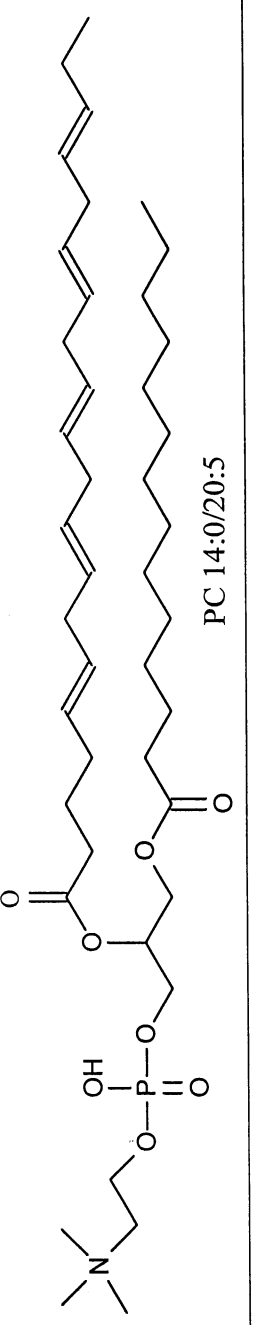
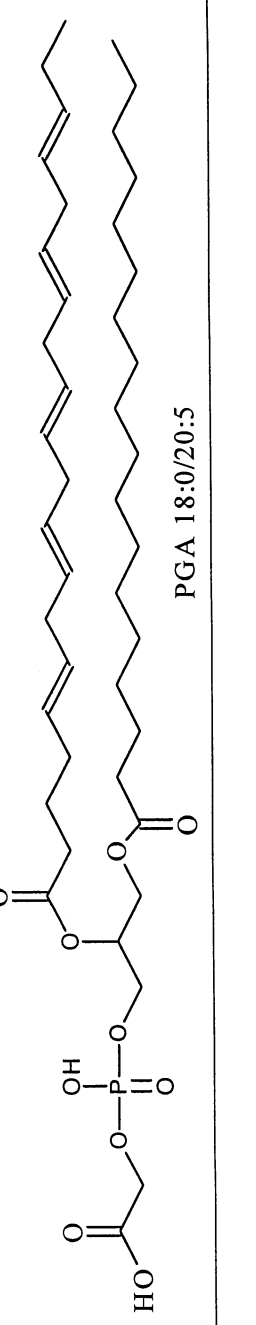
Hình 2 (tiếp)



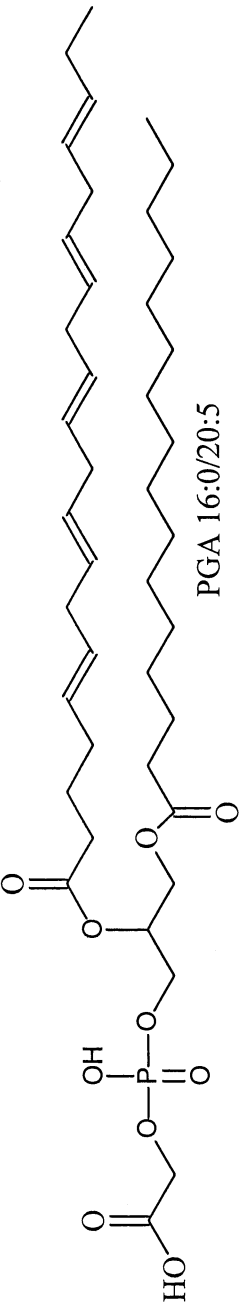
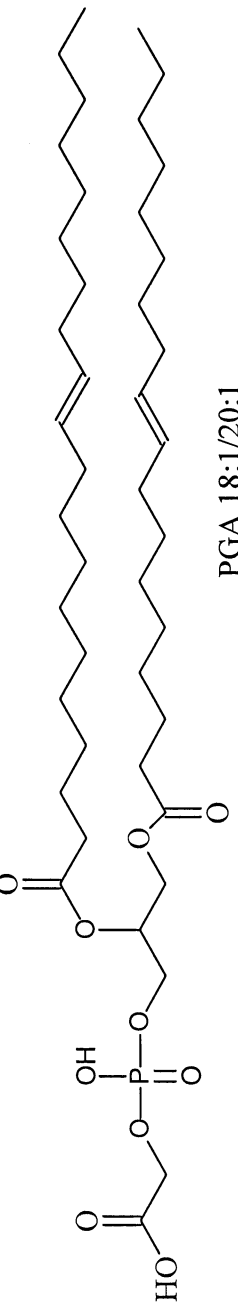
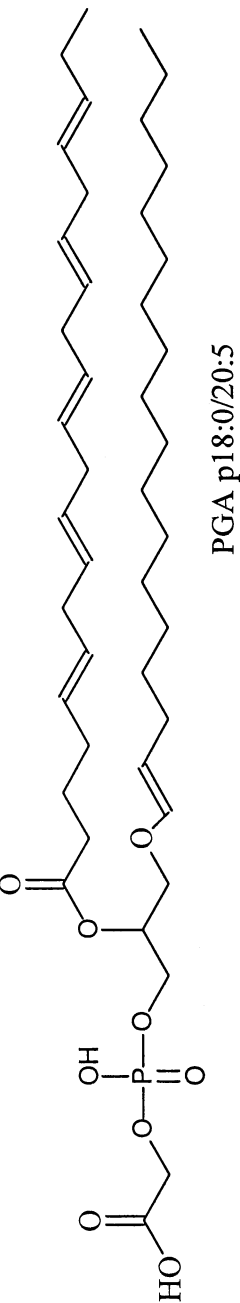
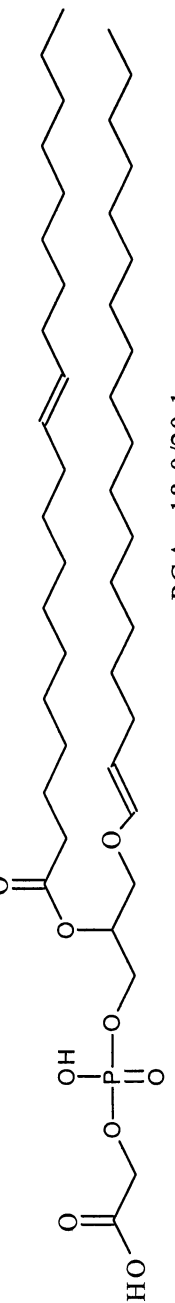
Hình 2 (tiếp)



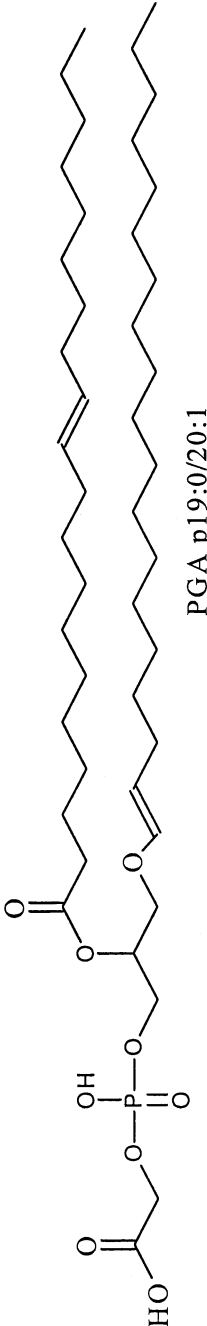
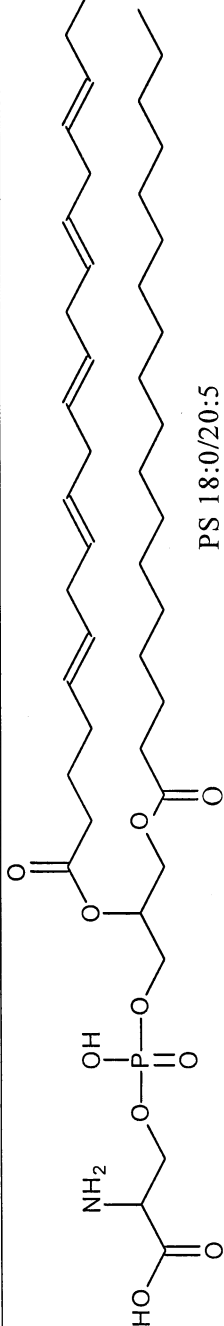
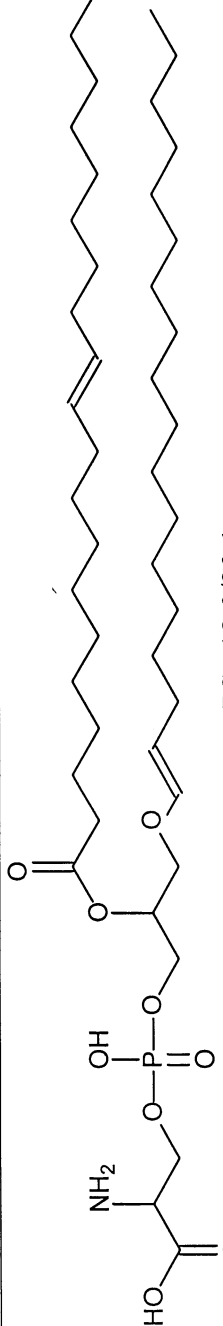
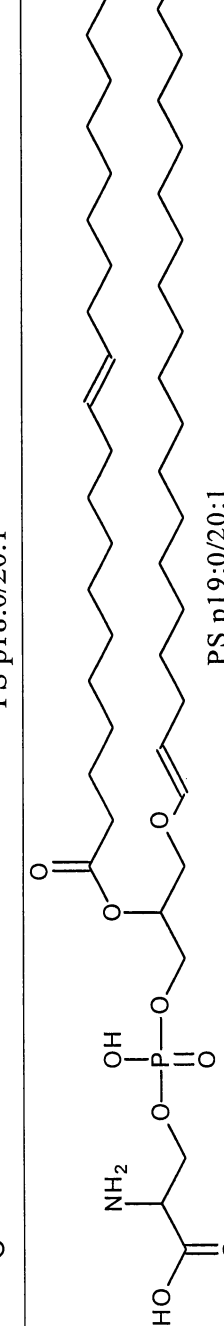
Hình 2 (tiếp)

	 PI 18:0/20:4
PC	 PC 16:0/20:5
	 PC 14:0/20:5
PGA	 PGA 18:0/20:5

Hình 2 (tiếp)

	 PGA 16:0/20:5
	 PGA 18:1/20:1
	 PGA p18:0/20:5
	 PGA p18:0/20:1

Hình 2 (tiếp)

	 PGA p19:0/20:1
PS	 PS 18:0/20:5
	 PS p18:0/20:1
	 PS p19:0/20:1