



(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)



1-0028570

(51)⁷ A01N 43/16; A01N 25/08

(13) B

(21) 1-2015-03863

(22) 17/03/2014

(86) PCT/US2014/030657 17/03/2014

(87) WO/2014/145828 18/09/2014

(30) 13/815,839 15/03/2013 US

(45) 25/06/2021 399

(43) 25/04/2016 337A

(73) JENEIL BIOSURFACTANT COMPANY, LLC (US)

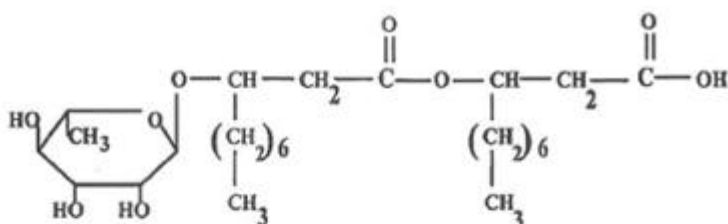
400 North Dekora Woods Boulevard Saukville, WI 53080 (US)

(72) GANDHI, Niranjan, Ramanlal (US); PALMER SKEBBA, Victoria (US);
STROBEL, Gary, A. (US).

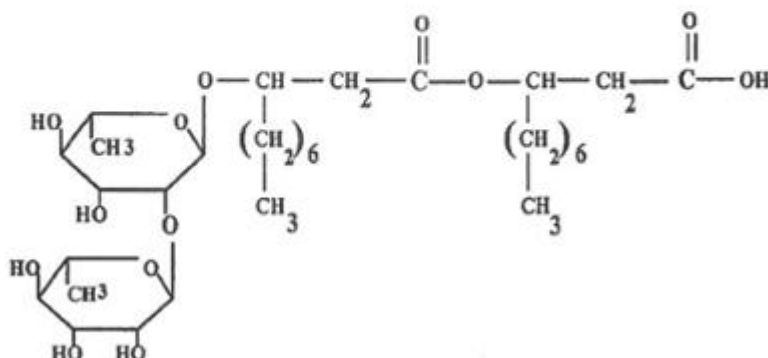
(74) Công ty Cổ phần Sở hữu công nghiệp INVESTIP (INVESTIP)

(54) CHẾ PHẨM KHÁNG VI SINH VẬT VÀ SẢN PHẨM CHẾ BIẾN ĐỂ PHÒNG NGỪA, ỨC CHẾ VÀ/HOẶC DIỆT TRỪ BỆNH NHIỄM VI SINH VẬT CHỨA CHẾ PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm kháng vi sinh vật và sản phẩm chế biến để phòng ngừa, ức chế và/hoặc diệt trừ bệnh nhiễm vi sinh vật. Chế phẩm kháng vi sinh vật theo sáng chế bao gồm một hoặc nhiều thành phần hợp chất thường được nhận biết là an toàn để dùng cho người, và có thể được sử dụng trong nhiều sản phẩm và ứng dụng trong nông nghiệp, công nghiệp, xây dựng, dược phẩm, chăm sóc cá nhân và/hoặc các sản phẩm chăm sóc động vật.



R1 -- α-L-RHAMNOPYRANOSYL-β-HYDROXYDECANOYL-β-HYDROXYDECANOAT



R2 -- 2-O-α-L-RHAMNOPYRANOSYL-α-L-RHAMNOPYRANOSYL-β-HYDROXYDECANOYL-β-HYDROXYDECANOAT

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến sản phẩm chế biến để phòng ngừa, ức chế và/hoặc diệt trừ bệnh nhiễm vi sinh vật, các chế phẩm kháng vi sinh vật và phương pháp tác động đến hoạt động của vi sinh vật.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Nhiều tiến bộ đã được thực hiện hướng tới việc xác định và phát triển chất diệt sinh vật để kiểm soát nấm mốc, bệnh thực vật khác nhau và các bệnh tương tự. Tuy nhiên, hầu hết các chất diệt sinh vật hoặc thuốc trừ sâu có bán trên thị trường được sử dụng là các hợp chất được phân vào nhóm chất gây ung thư hoặc là chất độc với động vật hoang dã và các loài không phải mục tiêu khác. Ví dụ, metyl bromua được sử dụng rộng rãi làm chất xông dùng cho đất và trong xử lý nhiễm vi sinh vật sau thu hoạch. Độc tính với người và tác động có hại đến môi trường đã dẫn đến kết quả là việc ngừng sử dụng metyl bromua và các chất diệt sinh vật/thuốc trừ sâu tổng hợp khác nhau khác. Kết quả là, những nỗ lực gần đây đã hướng tới việc xác định và phát triển các chế phẩm tự nhiên hoặc mô phỏng sinh học thể hiện hiệu quả kháng vi sinh vật hoặc trừ sâu tương đương.

Một phương pháp tiếp cận hướng tới các vi khuẩn nội sinh thực vật và sản phẩm phụ dễ bay hơi được kết hợp. Các vi khuẩn nội sinh thực vật được định nghĩa trong lĩnh vực kỹ thuật này là các vi sinh vật cư trú trong vùng mô kẽ của mô thực vật sống, nhưng thường không được coi là ký sinh. Cụ thể là, các vi khuẩn nội sinh thực vật được tìm thấy đi kèm với cây rừng nhiệt đới tạo ra lợi ích đáng kể vì liên quan đến đặc tính kháng sinh của sản phẩm phụ dễ bay hơi của chúng. Một số chủng thuộc chi *Muscodora* (tức là, *M. albus*, *M. roseus* và *M. vitigenus*) đã thể hiện là tạo ra sản phẩm phụ dễ bay hơi thể hiện đặc tính kháng sinh hoặc diệt côn trùng. Tuy nhiên, sản phẩm phụ tương ứng của mỗi loài bao gồm các dẫn xuất naphtalen và/hoặc azulene khác nhau. Các hợp chất này, cùng với các thành phần sản phẩm phụ khác, có thể độc hoặc không tốt cho sức khỏe, và hỗn hợp tương ứng được xem là không chấp nhận được cho các ứng dụng khác nhau. Do đó, vẫn cần tiếp tục nghiên cứu để tìm ra chế phẩm tự nhiên và phát triển

các chế phẩm mô phỏng sinh học không có các hợp chất trên, an toàn khi sử dụng cho người và có các tính chất kháng vi sinh vật hiệu quả.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Từ các vấn đề nêu trên, mục đích của sáng chế là đề xuất các hương liệu chứa chế phẩm kháng vi khuẩn và/hoặc các phương pháp sử dụng chúng, nhờ đó khắc phục các nhược điểm và thiếu sót khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm các nhược điểm nêu trên. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng một hoặc nhiều phương án theo sáng chế có thể đáp ứng các mục tiêu nhất định, trong khi đó một hoặc nhiều phương án khác có thể đáp ứng một số mục tiêu khác. Mỗi mục tiêu có thể không đáp ứng như nhau, trong tất cả các khía cạnh, trong tất cả các phương án theo sáng chế. Như vậy, các mục tiêu sau đây có thể được xem là thay thế từng khía cạnh trong phương án bất kỳ theo sáng chế.

Mục đích của sáng chế là đề xuất loài *Muscodor* và sản phẩm phụ dễ bay hơi của chúng, không chứa các hợp chất liên quan đến naphthalen và azulene (các hợp chất không GRAS), kết hợp với phương pháp phòng, ức chế và/hoặc xóa bỏ bệnh nhiễm vi sinh vật.

Mục đích của sáng chế là đề xuất hệ bao gồm loài hoặc chủng của chúng và sản phẩm phụ dễ bay hơi kết hợp được kết hợp với môi trường hoặc chất nền không phải bản địa để sử dụng chống nhiễm vi sinh vật.

Mục đích của sáng chế là đề xuất hệ và/hoặc phương pháp liên quan để sử dụng, Không bị giới hạn, trong phạm vi thức ăn cho người và động vật, sản phẩm, cây, các phần của cây, hạt, cây nông nghiệp và các nguyên liệu hữu cơ khác, bao bì, vật liệu xây dựng, sợi, vải, sản phẩm may mặc, và các ứng dụng trong dược phẩm và/hoặc thuốc.

Mục đích của sáng chế là đề xuất, thay thế hoặc kết hợp với, các chế phẩm mô phỏng sinh học do con người tạo ra có hoạt tính kháng vi sinh vật so với loài *Muscodor*.

Mục đích của sáng chế là đề xuất một hoặc nhiều chế phẩm chứa các thành phần ăn được hoặc an toàn cho người sử dụng và tiêu thụ.

Mục đích của sáng chế là đề xuất hệ, hỗn hợp hoặc sản phẩm bao gồm hợp phần mô phỏng sinh học không tự nhiên kết hợp với môi trường hoặc chất nền để phòng, ức chế và/hoặc xóa bỏ bệnh nhiễm vi sinh vật. Phương án khác theo sáng chế đề xuất hệ,

hỗn hợp và/hoặc sản phẩm để sử dụng, như được mô tả ngắn gọn ở trên hoặc được minh họa ở đây.

Mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp xử lý diệt vi sinh vật và/hoặc trừ sâu bao gồm chế phẩm, nhưng không bị giới hạn về môi trường, chất mang hoặc chất nền.

Các mục đích, dấu hiệu, lợi ích và ưu điểm khác của sáng chế sẽ được thể hiện trong phần tóm tắt và phần mô tả một số phương án dưới đây, và sẽ trở nên rõ ràng với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có hiểu biết về chế phẩm kháng vi khuẩn khác nhau và các phương pháp xử lý liên quan. Các mục đích, dấu hiệu, lợi ích và ưu điểm này sẽ được thể hiện ở trên kết hợp với các ví dụ, dữ liệu, hình vẽ đi kèm và tất cả các suy luận hợp lý đúc kết được, một mình hoặc kèm theo các tài liệu tham khảo được đưa ra ở đây.

Trong một phần, sáng chế có thể đề cập đến hệ bao gồm ít nhất một chủng *M. crispans*, sản phẩm phụ dễ bay hơi của chúng hoặc hơi của sản phẩm phụ dễ bay hơi và môi trường hoặc chất nền không phải bản địa. Các môi trường hoặc chất nền này có thể được mô tả ở đây hoặc có thể được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Bất kể, chúng có thể được cung cấp dưới dạng nuôi cấy tinh khiết sinh học, kết hợp tùy ý với thành phần chất mang thích hợp để tiếp xúc với môi trường/chất nền hoặc mục đích sử dụng cuối cùng, môi trường đủ khả năng sản xuất sản phẩm phụ dễ bay hơi. Theo sáng chế, sản phẩm phụ hoặc cải biến của sản phẩm phụ của *M. crispans*, hoặc hơi tương ứng của chúng, được kết hợp mô tả ở đây.

Do đó, sáng chế cũng có thể đề cập đến việc sử dụng hệ này và/hoặc sản phẩm phụ của nấm dễ bay hơi của chúng có hiệu quả kháng vi sinh vật. Phương pháp này có thể bao gồm việc cung cấp chất nền hoặc môi trường không phải bản địa có khả năng hỗ trợ hoạt động hoặc sinh trưởng của vi sinh vật; và cho chất nền hoặc môi trường này tiếp xúc với môi trường nuôi cấy của chủng *M. crispans*, sản phẩm phụ dễ bay hơi của chúng và/hoặc hơi từ sản phẩm phụ này. Trong một số phương án, việc tiếp xúc này có thể bao gồm chủng trên, khoảng hoặc xấp xỉ tiếp xúc với môi trường hoặc chất nền. Trong một số phương án khác, sản phẩm phụ dễ bay hơi hoặc các biến thể của sản phẩm phụ của *M. crispans*, hoặc hơi tương ứng, có thể ngấm hoặc tiếp xúc với môi trường hoặc chất nền.

Không giới hạn ở hệ hoặc phương pháp này, chất nền có thể được chọn từ thực phẩm hoặc sản phẩm, bao bì cho thực phẩm hoặc hàng hóa dễ hư hỏng khác, sợi, quần áo hoặc hàng may mặc, vật liệu xây nhà hoặc xây dựng, cây, bề mặt cây, đất trồng, rác thải hoặc đồ bỏ đi. Việc tiếp xúc này có thể có hoạt tính sinh học với sự có mặt của vi sinh vật và/hoặc dự phòng.

Trong một phần, sáng chế có thể đề cập đến chế phẩm kháng vi sinh vật không xuất hiện trong tự nhiên, cho dù các thành phần của chúng có nguồn gốc tự nhiên, tổng hợp hóa học hoặc kết hợp của chúng. Chế phẩm có thể bao gồm các hợp chất được chọn từ rượu, aldehyt, xeton, axit và/hoặc este axit của hợp phần sản phẩm phụ *Muscodor sp.* mô phỏng sinh học, chế phẩm có thể không chứa các hợp chất thơm ngưng tụ, các hợp chất thơm ngưng tụ được thế và các dẫn xuất hydro của các hợp chất này. Trong một số phương án không giới hạn, chế phẩm có thể bao gồm thành phần axit được chọn từ axit axetic, axit isobutyric, axit propanoic và các kết hợp của chúng.

Trong một số phương án, sáng chế có thể đề cập đến chế phẩm kháng vi sinh vật có nguồn gốc tự nhiên bao gồm thành phần C₂-C₅ axit; thành phần C₂-C₅ este; và ít nhất hai thành phần C₂-C₅ có thể được tách từ sản phẩm phụ dễ bay hơi của môi trường nuôi cấy *Muscodor crispans* được phân lập, chế phẩm này có thể có hoạt tính gây bệnh khác hoạt tính gây bệnh của *Muscodor sp.* được nuôi cấy được phân lập, sản phẩm phụ dễ bay hơi của chúng và/hoặc hỗn hợp tổng hợp của sản phẩm phụ dễ bay hơi này. Thành phần axit này có thể được chọn từ axit isobutyric, axit propanoic và các kết hợp của chúng. Một cách độc lập, thành phần este này có thể được chọn từ C₄ este axetat, C₅ este axetat và các kết hợp của chúng.

Trong một số phương án khác, chế phẩm có thể bao gồm axit propanoic, và thành phần được chọn từ este C₂-C₅ axit, aldehyt và các kết hợp của chúng. Trong một số phương án, thành phần este axit có thể được chọn từ este axit axetic, este axit isobutyric và các kết hợp của chúng. Một phương án có thể cần phải bao gồm axit propanoic và isobutyl isobutyrat. Phương án khác có thể cần phải bao gồm axit propanoic, isoamyl axetat và aldehyt như benzaldehyt.

Trong một số phương án không giới hạn khác, chế phẩm có thể bao gồm khoảng từ 8 đến 10 thành phần khác có thể được tách từ sản phẩm phụ dễ bay hơi của *M. crispans*. Trong một số phương án, mỗi thành phần của chế phẩm có thể được tách

từ sản phẩm phụ dễ bay hơi này. Như vậy chế phẩm có thể có nguồn gốc tự nhiên, mỗi thành phần này có thể là sản phẩm lên men, và sản phẩm lên men có thể được chọn từ sản phẩm lên men từ vi khuẩn, nấm men và/hoặc nấm. Bất kể, mỗi thành phần này của chế phẩm thường được nhận biết là an toàn để tiêu thụ cho người theo Chương 21 của Bộ Luật Liên Bang của Hoa Kỳ và các phần và/hoặc quy định tương đương của chúng.

Bất kể, trong một số phương án không giới hạn, thành phần có thể được tách có thể là axit isobutyric. Trong một số phương án, axit propanoic có thể được thế ít nhất một phần vào axit isobutyric. Trong phương án này hoặc một số phương án không giới hạn khác, thành phần có thể được tách này có thể là 2-butanon. Trong một số phương án, axit axetic, axit propanoic hoặc kết hợp của chúng có thể được thế ít nhất một phần vào 2-butanon. Trong phương án này hoặc một số phương án không giới hạn khác nữa, thành phần có thể được tách này có thể là etanol. Trong một số phương án, axit axetic có thể được thế ít nhất một phần vào etanol. Bất kể bản chất hoặc lượng thành phần axit bất kỳ, thành phần este và/hoặc thành phần có thể được tách, chế phẩm có nguồn gốc tự nhiên này có thể bao gồm chất hoạt động bề mặt. Trong một số phương án, chất hoạt động bề mặt sinh học có thể được kết hợp vào đó. Không bị giới hạn, chất hoạt động bề mặt sinh học có thể là thành phần rhamnolipit được chọn từ monorhamnolipit, dirhamnolipit và các kết hợp của chúng.

Theo cách khác, sáng chế có thể đề cập đến chế phẩm kháng vi sinh vật tổng hợp, không có nguồn gốc tự nhiên. Chế phẩm có thể bao gồm thành phần C₂-C₅ axit; thành phần C₂-C₅ este; và ít nhất hai thành phần C₂-C₅ có thể được tách từ sản phẩm phụ dễ bay hơi của môi trường nuôi cấy được phân lập của *Muscodor crispans*, chế phẩm có thể có hoạt tính gây bệnh khác hoạt tính gây bệnh của *Muscodor sp.* nuôi cấy được phân lập hoặc sản phẩm phụ dễ bay hơi của chúng. Axit, este này và/hoặc các thành phần có thể được tách có thể giống như được mô tả ở trên hoặc được minh họa ở đây. Bất kể, chế phẩm kháng vi sinh vật này có thể bao gồm chất hoạt động bề mặt. Trong một số phương án không giới hạn, chất hoạt động bề mặt này có thể là thành phần rhamnolipit được chọn từ monorhamnolipit, dirhamnolipit và các kết hợp của chúng.

Trong một phần, sáng chế có thể đề cập đến chế phẩm kháng vi sinh vật mô phỏng sinh học bao gồm hỗn hợp lỏng chứa các hợp chất được chọn từ các rượu từ C₂ đến C₅, các aldehyt, các xeton, các axit và các este axit và các kết hợp và các kết hợp con của chúng, chế phẩm không được phân lập từ *Muscodor sp.* Như được mô tả ở các

phần khác trong bản mô tả này, hỗn hợp lỏng này dễ bay hơi ở nhiệt độ trong phòng và/hoặc nhiệt độ thường. Với chế phẩm và các hợp chất của chúng, thuật ngữ "khoảng" có thể có nghĩa, như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, các chất đồng đẳng cacbon và/hoặc metylen với trọng lượng phân tử tương ứng và/hoặc đồng phân cấu trúc chỉ được giới hạn bởi hỗn hợp với một hoặc nhiều thành phần, hợp chất khác và bay hơi ít nhất một phần ở nhiệt độ trong phòng/nhiệt độ thường của chế phẩm tạo thành. Với một số phương án không giới hạn, chế phẩm có thể bao gồm các hợp chất rượu, aldehyt, xeton, axit và este axit được chọn từ các thành phần của hợp phần sản phẩm phụ *M. crispans* mô phỏng sinh học, như được mô tả dưới đây. Chế phẩm có thể bao gồm các hợp chất được tổng hợp hóa học, các hợp chất được phân lập từ lên men vi khuẩn và các kết hợp của các hợp chất này. Trong một số phương án, chế phẩm có thể bao gồm thành phần axit được chọn từ axit axetic, axit isobutyric, axit propanoic và các kết hợp của chúng.

Trong một phần, sáng chế cũng có thể đề cập đến chế phẩm kháng vi sinh vật không xuất hiện trong tự nhiên, có thể có nguồn gốc tự nhiên và/hoặc tổng hợp hóa học, bao gồm các hợp chất được chọn từ các rượu C₂ đến C₅, các aldehyt, các xeton, các axit và các este axit và các kết hợp và các kết hợp con của các hợp chất này, các hợp chất được chọn lọc này thường được nhận biết dưới dạng an toàn ("GRAS") cho người sử dụng, nhận định này được mô tả trong Chương 21 của tài liệu Bộ Luật Liên Bang của Hoa Kỳ và các phần và/hoặc quy định tương đương của chúng. Trong một số phương án không giới hạn, các hợp chất này có thể được chọn từ các thành phần rượu, xeton, axit và/hoặc este axit của hợp phần sản phẩm phụ *M. crispans* mô phỏng sinh học. Trong một số phương án, hoạt tính vi sinh vật/tỷ lệ chết của chúng khác cả *M. crispans* và *M. albus*, sản phẩm phụ dễ bay hơi của chúng và/hoặc các chế phẩm sản phẩm phụ tổng hợp tương ứng của chúng. Bất kể, trong một số phương án, chế phẩm có thể bao gồm thành phần axit được chọn từ axit axetic, axit isobutyric, axit propanoic và các kết hợp của chúng.

Trong một phần, sáng chế có thể bao gồm chế phẩm bao gồm chế phẩm theo sáng chế; và chất hoạt động bề mặt, thành phần chất hoạt động bề mặt này có thể một mình hoặc được kết hợp vào thành phần chất mang. Trong một số phương án, chất hoạt động bề mặt này có thể là chất hoạt động bề mặt sinh học, chất hoạt động bề mặt sinh học này có thể là thành phần rhamnolipit được chọn từ monorhamnolipit, dirhamnolipit và các kết hợp của chúng.

Trong một phần, sáng chế cũng có thể đề cập đến hệ hoặc hỗn hợp bao gồm chế phẩm theo sáng chế và thành phần chất nền hoặc môi trường. Chế phẩm có thể như được mô tả ở trên hoặc được minh họa ở đây. Không bị giới hạn, chất nền có thể được chọn từ thực phẩm hoặc sản phẩm, bao bì (ví dụ, màng hoặc giấy gói) cho thực phẩm hoặc hàng hóa dễ hư hỏng khác, sợi, vải hoặc hàng may mặc, vật liệu xây nhà hoặc xây dựng, mô của người, cây, bề mặt cây, đất trồng, và rác thải hoặc đồ bỏ đi. Trong một số phương án, chế phẩm, lỏng hoặc khí, có thể được kết hợp hoặc tiếp xúc với môi trường, chất nền hoặc bề mặt chất nền.

Trong một phần, sáng chế có thể đề cập đến sản phẩm của quá trình sản xuất, sản phẩm này có thể bao gồm thành phần chất mang rắn và chế phẩm kháng vi sinh vật dễ bay hơi được hấp thụ vào trong, được hấp phụ trên, ghép đôi hoặc kết hợp với chúng. Chế phẩm kháng vi sinh vật này có thể bao gồm axit propanoic; và thành phần được chọn từ este C₂-C₅ axit, aldehyt và các kết hợp của chúng. Trong một số phương án, este axit có thể được chọn từ este axit axetic, este axit isobutyric và các kết hợp của chúng; và/hoặc thành phần aldehyt có thể được chọn từ thành phần C₂-C₈ aldehyt. Trong một số phương án, este axit có thể là isobutyl isobutytrat; hoặc thành phần aldehyt có thể là benzaldehyt. Bất kể, chế phẩm kháng vi sinh vật này có thể được kết hợp với thành phần chất mang bao gồm đất sét. Trong một số phương án, thành phần chất mang này có thể bao gồm đất sét bentonit. Bất kể, chế phẩm có thể bao gồm một hoặc nhiều thành phần tùy ý hoặc các chất điều chỉnh, bao gồm nhưng không giới hạn ở thành phần rhamnolipit.

Theo cách khác, sản phẩm của quá trình sản xuất này có thể được xem xét với chế phẩm kháng vi sinh vật được kết hợp có thể bao gồm axit propanoic và este C₂-C₅ axit bao gồm ít nhất một nhóm alkylcarbonyl, RC(O)-, trong đó R bao gồm nhóm isopropyl, (CH₃)₂CH-, phần nửa phân tử, và nhóm alkoxy, -OR', trong đó R' bao gồm nhóm isopropyl, -CH(CH₃)₂, phần nửa phân tử. Trong một số phương án, este axit này có thể được chọn từ isoamyl axetat, isobutyl isobutytrat và kết hợp của chúng. Trong một số phương án, chế phẩm kháng vi sinh vật này có thể bao gồm axit propanoic và isobutyl isobutytrat. Trong một số phương án khác, chế phẩm có thể bao gồm axit propanoic, isoamyl axetat và benzaldehyt. Bất kể, thành phần chất mang rắn có thể bao gồm đất sét.

Do đó, sản phẩm này có thể bao gồm thành phần chất mang rắn bao gồm đất sét bentonit, và chế phẩm kháng vi sinh vật được kết hợp vào đó. Không bị giới hạn, chế phẩm kháng vi sinh vật này có thể được chọn từ chế phẩm cần thiết chứa axit propanoic và isobutyl isobutyrate; và chế phẩm cần thiết chứa axit propanoic, isoamyl axetat và benzaldehyt.

Trong một phần, sáng chế cũng có thể đề cập đến sản phẩm của quá trình sản xuất bao gồm các hạt thành phần chất mang rắn và chế phẩm kháng vi sinh vật được kết hợp vào đó. Chế phẩm có thể bao gồm thành phần C₂-C₅ axit; ít nhất một thành phần C₂-C₅ có thể được tách từ sản phẩm phụ dễ bay hơi của môi trường nuôi cấy được phân lập của *Muscodora crispans* sinh trưởng trong thạch dextroza khoai tây; và thành phần được chọn từ ít nhất một este C₂-C₅ axit, aldehyt và các kết hợp của chúng. Liên quan đến sản phẩm, hạt thành phần chất mang rắn được kết hợp vào chế phẩm này có thể được cung cấp trong bao gói có thể thấm hơi.

Trong một số phương án, chất mang rắn này và chế phẩm kháng vi khuẩn có thể được mô tả ở trên hoặc được minh họa ở đây. Trong một số phương án, chế phẩm kháng vi sinh vật này có thể nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 10,0% trọng lượng của sản phẩm này. Trong một số phương án, chế phẩm có thể nằm trong khoảng từ 0,20% trọng lượng đến 10,0% trọng lượng. Trong các phương án khác nữa, chế phẩm có thể nằm trong khoảng từ 1,0% trọng lượng đến 3% trọng lượng của sản phẩm này. Không giới hạn ở thành phần chất mang rắn hoặc chế phẩm kháng vi sinh vật được kết hợp vào đó, bao gói này có thể bao gồm lưới dệt và/hoặc vật liệu không dệt có thể có hình dạng như túi mềm hoặc túi. Bất kể, sản phẩm của quá trình sản xuất này có thể được cung cấp trong đồ bao gói với mặt hàng thực phẩm dễ hư hỏng.

Do đó, sáng chế cũng có thể đề cập đến phương pháp xử lý, phòng ngừa, ức chế, xóa bỏ vi sinh vật hoặc côn trùng và/hoặc tác động đến hoạt động của vi sinh vật hoặc côn trùng. Phương pháp này có thể bao gồm việc cung cấp chế phẩm theo sáng chế, bao gồm nhưng không giới hạn ở một hoặc nhiều chế phẩm được minh họa ngắn gọn ở đây; và cho vi sinh vật hoặc côn trùng hoặc sản phẩm/chất nền có khả năng hỗ trợ hoạt tính của vi sinh vật hoặc côn trùng tiếp xúc với chế phẩm với lượng thích hợp để gây ảnh hưởng ít nhất một phần đến hoạt động của vi sinh vật hoặc côn trùng. Vi sinh vật (ví dụ, nấm, vi khuẩn hoặc virus) hoặc côn trùng này có thể ở trong môi trường, trên hoặc gần bề mặt của chất nền được mô tả ở trên. Do đó, việc tiếp xúc này có thể là trực tiếp

và/hoặc nhờ sự bay hơi của chế phẩm. Bất kể, việc xử lý này có thể có tác dụng với sự có mặt của vi sinh vật hoặc côn trùng và/hoặc dự phòng. Như được minh họa ở đây, việc xử lý có thể được xem xét trong phạm vi làm chết và/hoặc ức chế sinh trưởng hoặc hoạt động của vi sinh vật hoặc côn trùng.

Trong một phần, sáng chế cũng có thể đề cập đến phương pháp tác động đến hoạt động của vi sinh vật. Với phương pháp này, sáng chế có thể bao gồm việc cung cấp sản phẩm như được mô tả ở trên hoặc được minh họa ở đây; và cho hơi của chế phẩm kháng vi sinh vật của sản phẩm này tiếp xúc với vi sinh vật và/hoặc thực phẩm có khả năng hỗ trợ hoạt động của vi sinh vật, chế phẩm có thể ở lượng đủ để tác động đến hoạt động của vi sinh vật. Trong một số phương án, thực phẩm này có thể bao gồm sản phẩm sau thu hoạch. Cùng với sản phẩm theo sáng chế, sản phẩm này có thể được tùy ý đưa vào đồ bao gói tại một thời điểm trong quá trình cung ứng sản phẩm. Không bị giới hạn, việc đưa vào sản phẩm có thể là tại thời điểm thu hoạch, tại thời điểm xử lý, tại thời điểm bán buôn, tại thời điểm bán lẻ, và kết hợp của chúng. Không tính đến dạng bào chế hoặc thời điểm dùng, chế phẩm kháng vi sinh vật này có thể như được mô tả ở trên hoặc được minh họa ở đây.

Như được mô tả dưới đây và được minh họa bằng một số ví dụ nhưng không giới hạn, sáng chế có thể bao gồm một hoặc nhiều muối axit. Do đó, trong một phần, sáng chế có thể đề cập đến một hoặc nhiều chế phẩm bao gồm thành phần axit propanoic; và thành phần được chọn từ thành phần muối C_4 - C_6 axit, thành phần este C_2 - C_5 axit, thành phần C_2 - C_8 aldehyt và các kết hợp của chúng. Trong một số phương án, thành phần muối axit này có thể được chọn từ các muối của axit isobutyric, các muối của axit xitric và các kết hợp của chúng. Trong một số phương án, thành phần muối axit này có thể được chọn từ các muối của axit isobutyric và các kết hợp của chúng. Không bị giới hạn, muối này có thể được chọn từ các muối kali và amoni của axit butyric. Không tính đến sự có mặt của thành phần muối axit, thành phần este này có thể được chọn từ các este của C_4 axit và các kết hợp của chúng. Tương tự, không tính đến sự có mặt của muối axit và/hoặc thành phần este, thành phần aldehyt này có thể là benzaldehyt. Trong một số phương án khác, không tính đến sự có mặt của thành phần muối axit, thành phần este và/hoặc thành phần aldehyt, chế phẩm có thể bao gồm thành phần axit khoảng C_2 - C_6 ngoài axit propanoic. Trong một số phương án, thành phần axit

bổ sung này có thể được chọn từ axit axetic, axit isobutyric, axit xitric, và các kết hợp của chúng.

Không bị giới hạn, chế phẩm có thể bao gồm axit propanoic và ít nhất một muối C_4 axit. Trong một số phương án, muối axit này có thể được chọn từ các muối kali và amoni của axit isobutyric. Trong một số phương án, chế phẩm có thể bao gồm thành phần axit ngoài axit propanoic. Thành phần axit bổ sung này có thể được chọn từ axit axetic, axit isobutyric, axit xitric và các kết hợp của chúng. Trong một số phương án khác, chế phẩm có thể bao gồm axit propanoic và ít nhất một thành phần este C_2 - C_5 axit. Một số phương án có thể bao gồm ít nhất một este C_4 axit. Bất kể, chế phẩm có thể bao gồm thành phần axit ngoài axit propanoic, thành phần axit bổ sung này có thể được chọn từ axit axetic, axit isobutyric, axit xitric và các kết hợp của chúng.

Trong một phần, sáng chế cũng có thể đề cập đến các chế phẩm bao gồm axit propanoic và ít nhất một thành phần muối C_4 - C_6 axit. Trong một số phương án, thành phần muối axit này có thể được chọn từ các muối của axit isobutyric, các muối của axit xitric và các kết hợp của chúng. Trong một số phương án, muối axit này có thể là muối của axit isobutyric. Không bị giới hạn, thành phần muối axit này có thể được chọn từ các muối kali và amoni của axit isobutyric, và các kết hợp của chúng. Không tính đến loại thành phần muối axit này, chế phẩm có thể bao gồm thành phần axit ngoài axit propanoic, thành phần axit bổ sung này có thể được chọn từ các C_2 - C_6 axit và các kết hợp của chúng. Trong một số phương án, thành phần axit bổ sung này có thể được chọn từ axit axetic, axit isobutyric, axit xitric và các kết hợp của chúng. Không bị giới hạn, chế phẩm có thể được chọn từ chế phẩm cần thiết chứa axit propanoic và muối của axit isobutyric; và chế phẩm cần thiết chứa axit propanoic, muối của axit isobutyric, và ít nhất một axit axetic và axit xitric.

Như được mô tả ở trên và được minh họa dưới đây, các chế phẩm này có thể được kết hợp vào sản phẩm của quá trình sản xuất. Do đó, trong một phần, sáng chế có thể đề cập đến sản phẩm của quá trình sản xuất bao gồm một hoặc nhiều chế phẩm, được mô tả ở trên, bao gồm axit propanoic. Trong một số phương án, sản phẩm này có thể được chọn từ sản phẩm thức ăn cho người, sản phẩm thức ăn cho động vật, sản phẩm chăm sóc động vật, sản phẩm bao gói và thành phần chất mang rắn. Không bị giới hạn, thành phần chất mang rắn có thể bao gồm đất sét. Trong một số phương án khác, sản phẩm thức ăn cho người này có thể được chọn từ thực phẩm chế biến. Các sản

phẩm khác nhau này được minh họa dưới đây, bao gồm nhưng không giới hạn ở pho mát và các sản phẩm từ sữa có liên quan.

Theo một số phương án theo sáng chế, các chế phẩm bao gồm một số thực phẩm và các hợp chất hương liệu (FFCs) ức chế đặc hiệu và/hoặc gây chết một số nấm, vi khuẩn và các vi sinh vật gây bệnh khác trong nông nghiệp, thuốc, hoặc các sản phẩm thương mại và công nghiệp có liên quan. Các chế phẩm này có thể khác với hỗn hợp chứa các hợp chất có nguồn gốc sinh học bất kỳ đã biết: ví dụ, các chế phẩm này không chứa các hợp chất có nguồn gốc từ naphthalen hoặc azulene (các hợp chất không GRAS). Ngược lại, các chế phẩm này có thể bao gồm hỗn hợp các hợp chất hữu cơ, mỗi hợp chất này còn được coi là (tức là, GRAS) thực phẩm hoặc hương liệu.

Sáng chế chứng minh bản chất của các chế phẩm này, việc điều chế chúng và ứng dụng vào các mục đích khác nhau (ví dụ, không bị giới hạn, thực phẩm, sợi, đồ dùng và các bề mặt xây dựng) để bảo tồn tính toàn vẹn của chúng và ngăn ngừa bị phá hủy bởi các loại nấm khác nhau (nấm mốc và các vi sinh vật khác). Các chế phẩm này cũng có thể được dùng cho các công trình xây dựng, các phần của cây và thậm chí cả hàng may mặc để bảo quản chúng. Hơn nữa, như được chứng minh dưới đây, chế phẩm có thể gây hại cho *Mycobacterium tuberculosis* – một loại vi sinh vật gây bệnh lao-bao gồm ít nhất 3 chủng kháng thuốc.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1. Ảnh minh họa hiệu quả diệt của các FFC để diệt vi khuẩn gây bệnh lao kháng thuốc trong môi trường nuôi cấy sau khi tiếp xúc trong 2 ngày.

Fig.2. Chuỗi ảnh minh họa phòng ngừa nấm sinh trưởng (nấm mốc) trên pho mát bằng một số phương pháp sử dụng các FFC.

Fig.3. Hiệu quả bảo vệ của các FFC trên củ khoai mỡ trong bảo quản với sự có mặt của 0,2 ml chế phẩm FFC trong 2 ngày. Sau đó, củ khoai mỡ được chụp ảnh sau 10 ngày. (Mẫu thử nghiệm ở bên trái và mẫu đối chứng ở bên phải).

Fig.4. Hiệu quả bảo vệ của các FFC từ phân hủy rác thải trong 10 ngày ở nhiệt độ 30°C.

Fig.5. Chứng minh hiệu quả chống thối/héo cà chua, bên trái là đĩa đối chứng *C. michiganense*, và bên phải là đĩa xử lý bằng 20 microlít chế phẩm FFC theo sáng chế.

Fig.6. Chứng minh hiệu quả của chế phẩm FFC theo sáng chế được kết hợp vào sản phẩm kem bôi da.

Các Fig.7A-B và 8 minh họa lần lượt cấu trúc của một số hợp chất không giới hạn, monorhamnolipit và dirhamnolipit, theo một số phương án không giới hạn theo sáng chế.

Fig.9 thể hiện hai phương án của thành phần rhamnolipit, gọi là R1 và R2 cho lần lượt các cấu trúc mono- và dirhamnolipit, có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với nhau, như được mô tả trong một số ví dụ dưới đây, theo một số phương án không giới hạn theo sáng chế.

Fig.10 thể hiện danh pháp và các cấu trúc FFC khác hữu ích kết hợp với các chế phẩm kháng vi khuẩn khác nhau, theo một số phương án không giới hạn theo sáng chế.

Các Fig.11A-B thể hiện các hình ảnh kỹ thuật số của (A) sản phẩm sau thu hoạch được bảo quản trong 7 ngày với sự có mặt của các hạt bentonit được tẩm chế phẩm kháng vi sinh vật theo sáng chế; và, để so sánh, (B) hệ đối chứng thể hiện sự hư hại sau 7 ngày với sự có mặt của các hạt không có chế phẩm kháng vi sinh vật được kết hợp.

Mô tả chi tiết sáng chế

Như được minh họa bằng một số phương án không giới hạn, sáng chế đề cập đến việc sử dụng loài *Muscodor* mới và/hoặc sản phẩm phụ dễ bay hơi của nó và phát triển các chế phẩm mô phỏng sinh học được điều chế trong phòng thí nghiệm, không tự nhiên bao gồm thực phẩm thông thường và các hợp chất hương liệu mà, khi được kết hợp vào các môi trường khác nhau, được phủ lên các bề mặt, hoặc đưa vào không khí, không gian hoặc vật, thì đem lại sự khử nhiễm cho bề mặt môi trường hoặc vật khỏi các vi sinh vật xấu, có hại, và/hoặc gây bệnh bao gồm nấm ở cây và tác nhân gây bệnh lao. Sáng chế có ý nghĩa cực kỳ quan trọng và ứng dụng cho nông nghiệp hiện đại, thuốc dùng cho người, công nghệ thực phẩm, và công nghiệp. Các chế phẩm theo sáng chế không thể hiện rõ là có đặc tính kháng vi sinh vật do thực tế là không có thành phần cụ thể, mà bản thân có hoạt tính sinh học. Sự kết hợp có tác dụng hiệp đồng của các thành phần thể hiện đầy đủ hoạt tính kháng vi sinh vật tiềm năng.

Với việc sử dụng loài *Muscodor* này, sản phẩm phụ dễ bay hơi của chúng hoặc chế phẩm mô phỏng sinh học không xuất hiện trong tự nhiên bao gồm các FFC, có thể tiếp xúc trực tiếp hoặc bằng cách tiếp xúc loài này với hơi của sản phẩm phụ của chế phẩm mô phỏng sinh học. Như được minh họa dưới đây, trong phạm vi một số phương án, trong khi hơi có thể ức chế sinh trưởng, cần phải cho vi sinh vật tiếp xúc trực tiếp để có thể giết chết vi khuẩn hoặc nấm.

Không tính đến cách tiếp xúc, các chế phẩm theo sáng chế có thể được tạo thành trong phòng thí nghiệm, bao gồm các thành phần tổng hợp hóa học, các thành phần có nguồn gốc tự nhiên hoặc kết hợp của các thành phần tổng hợp và tự nhiên này. Bất kể, các chế phẩm này có thể là mô phỏng sinh học với hiệu quả của sản phẩm phụ *Muscodor* trên loài vi khuẩn hoặc nấm cụ thể. Theo cách khác, chế phẩm, với nồng độ tương đối hoặc chọn lọc của một hoặc nhiều thành phần FFC của chúng, có thể thể hiện làm thay đổi hoặc cải thiện hoạt tính kháng vi sinh vật, so với sản phẩm phụ của nấm *Muscodor*.

Trong một số phương án, chế phẩm có thể được đặt trên, hoặc có thể được phủ lên, chất nền hoặc môi trường chứa thành phần protein đơn thuần hoặc xenlulo có thể, có khả năng hoặc hỗ trợ sự sinh trưởng của vi sinh vật. Không bị giới hạn, một số phương án có thể bao gồm cây, các thành phần của cây (ví dụ, rễ, thân, lá hoặc bộ lá, sản phẩm và các loại tương tự) và chồi nguyên bản bất kỳ hoặc hạt. Cụ thể là, không bị giới hạn, các chế phẩm này có thể là sản phẩm của cây bất kỳ, như quả, rau, củ, hoa, hạt, trước hoặc sau khi thu hoạch. Một số cây và/hoặc sản phẩm từ cây được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật này, một mình hoặc gom lại, như cây nông nghiệp. Do đó, trong một số phương án, chế phẩm theo sáng chế có thể là được phủ lên các cây trồng này tại thời gian bất kỳ trong quá trình phát triển, trước thu hoạch và/hoặc sau thu hoạch. Tương tự, chế phẩm theo sáng chế có thể được phủ lên hoặc được kết hợp vào sản phẩm đồ uống, thực phẩm (ví dụ cho người, vật nuôi và/hoặc động vật) hoặc sản phẩm của quá trình sản xuất có thể, có khả năng hoặc hỗ trợ sự sinh trưởng của vi sinh vật.

Trong một số phương án khác theo sáng chế, chế phẩm có thể được phủ lên, chất nền hoặc bề mặt nâng đỡ hoặc hỗ trợ sự sinh trưởng của vi sinh vật (ví dụ, nấm men và/hoặc nấm vi khuẩn và/hoặc virus). Do đó, chất nền hoặc bề mặt này có thể bao gồm nguyên liệu bất kỳ có thể, có khả năng hoặc hỗ trợ sự sinh trưởng của vi sinh vật. Các

chất nền này bao gồm nhưng không giới hạn ở gỗ, gốm, sứ, đá, thạch cao, vách thạch cao, xi măng, vải, da, nhựa và các chất tương tự.

Trong một số phương án khác, các chế phẩm khác nhau theo sáng chế có thể được tiếp xúc với, hoặc được phủ lên hoặc được dùng cho chất nền hoặc bề mặt bao gồm mô động vật có vú hoặc người, bao gồm nhưng không giới hạn ở móng, tóc, răng hoặc miệng, da và các dạng tế bào khác, trong phạm vi dược phẩm hoặc sản phẩm chăm sóc cá nhân hoặc sản phẩm vệ sinh để xử lý hoặc phòng ngừa sự sinh trưởng hoặc nhiễm vi sinh vật. Các chế phẩm đại diện được mô tả, dưới đây, với điều kiện có thể ứng dụng ít nhất một phần vào một hoặc nhiều phương án khác.

Nấm nội sinh thực vật được phát hiện bên trong các mô của cây dứa dại (*Ananas ananassoides*) sinh trưởng trong vùng Amazon của Bolivia. Cuối cùng, nó thể hiện là tạo ra hỗn hợp gồm các hợp chất dễ bay hơi có hoạt tính kháng vi sinh vật. Sử dụng công nghệ phân tử, nấm được phát hiện là có trình tự tương tự các thành viên của chi *Muscodor*. Các nấm này đã biết là tạo ra các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi có tác dụng làm chất kháng vi sinh vật có hiệu quả chống lại các tác nhân gây bệnh cả ở người và cây. Các thành viên của loài *Muscodor* được xác định sử dụng các phương pháp như bản đồ Phylogenetic Character sử dụng phân tích trình tự 18S rADN cộng ITS-5.8S rADN. Các trình tự được phát hiện với sự có mặt của nấm và các *Muscodor* spp. khác được tìm kiếm BLAST trong GenBank, và được so sánh với các nấm khác (Bruns và các đồng tác giả, 1991; Reynolds và Taylor 1993; Mitchell và các đồng tác giả, 1995; Guarro và các đồng tác giả, 1999; Taylor và các đồng tác giả, 1999). Cuối cùng đã xác định rằng các chất được tách này có liên quan đến *Xylaria* (Worapong và các đồng tác giả, 2001a&b). Tất cả các đơn vị phân loại được phân lập thuộc *Muscodor* có các tính chất tương tự, như sinh trưởng tương đối chậm, có hệ sợi giống như vải nỉ, tạo ra các hợp chất dễ bay hơi có hoạt tính sinh học, và không gây hại cho cây mà trong đó chúng cư trú ban đầu. Cuối cùng, mỗi chất này chia sẻ các trình tự rADN rất giống nhau (Ezra và các đồng tác giả, 2004).

Mặc dù các nấm này đều có cùng dấu hiệu thông thường nêu trên, một số phương án khác phân loại nó khác biệt với các chủng *Muscodor* spp. và thể phân lập khác. Như được minh họa đầy đủ hơn trong các ví dụ dưới đây, các đặc tính duy nhất này hỗ trợ công nhận nấm này là loài mới. Tên được đề nghị cho nấm nội sinh thực vật mới này là *Muscodor crispans*.

Như được phân tích bởi GC/MS, nấm được phân lập tạo ra các rượu, các este và các axit có trọng lượng phân tử nhỏ, trong pha khí, khi sinh trưởng trong thạch dextroza khoai tây (PDA). Như được thể hiện trong Bảng 1, dưới đây, các hợp chất này bao gồm axit propanoic, 2-metyl; 1-butanol, 3-metyl, axetat; 1-butanol, và etanol. Không có các dẫn xuất naphthalen hay azulen (các hợp chất không GRAS) được tạo ra bởi sinh vật này khi sinh trưởng trong PDA, làm cho nó khác với tất cả các *Muscodor* spp. khác được nghiên cứu từ trước đến nay. Mùi được tạo ra bởi nấm này trở nên nhận thấy được sau khoảng 1 tuần và dường như gia tăng theo thời gian đến và bao gồm ít nhất ba tuần. Như được minh họa dưới đây, các chất dễ bay hơi của nấm này có hoạt tính sinh học ức chế và diệt một số tác nhân gây bệnh cho cây và người sử dụng kỹ thuật thử nghiệm sinh học thông thường (Strobel và các đồng tác giả, 2001).

Bảng 1.

Thời gian lưu Phút	Hợp chất	MW
2:05	Axetaldehyt	44,03
3:40	Etyl axetat	88,05
3:51	2-Butanon	72,06
4:08	Axit propanoic, 2-metyl-, metyl este	102,07
4:18	Etanol	46,04
5:29	Axit axetic, 2-metylpropyl este	116,08
6:39	Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylpropyl este	144,12
6:46	1-Propanol, 2-metyl-	74,07
6:52	2-Butenal, 2-metyl-, (E)-	84,06
7:12	1-Butanol, 3-metyl-, axetat	130,10
8:18	Hexan, 2,3-dimetyl-	114,14
8:21	Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylbutyl este	158,13
8:31	1-Butanol, 3-metyl-	88,09
13:37	Axit propanoic, 2-metyl-	88,05
14:41	Formamidit, N-(1-metylpropyl)-	101,08
16:44	Axit axetic, 2-phenyletyl este	164,08
20:44	Xyclohexan, 1,2-dimetyl-3,5-bis(1-metyletenyl)-	192,19

Như được mô tả ở trên, sáng chế bao gồm việc sử dụng *M. crispans* và/hoặc sản phẩm phụ dễ bay hơi của chúng kết hợp với môi trường, chất nền và/hoặc khối không phải bản địa cho hiệu quả kháng vi sinh vật. Việc sử dụng và/hoặc ứng dụng này có thể được mô tả ở đây hoặc có thể được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm nhưng không giới hạn ở việc sử dụng và ứng dụng được mô tả trong Patent Mỹ số 6,911,338, được đưa toàn bộ ra đây để tham khảo.

Theo cách khác, rất nhiều chế phẩm mô phỏng sinh học tự nhiên và tổng hợp có thể được sử dụng với hiệu quả tương đương hoặc cải thiện hoặc, theo một hoặc nhiều phương án, tạo ra hiệu quả chưa từng có từ trước tới nay nhờ sử dụng nấm hoặc sản phẩm phụ dễ bay hơi của nó. Xuất phát từ kỹ thuật đã biết và sản phẩm phụ của *M. crispans*, chế phẩm kháng vi khuẩn này có thể bao gồm thực phẩm và các hợp chất hương liệu thường được nhận biết là an toàn cho người sử dụng và tiêu thụ. Đại diện của chúng, một số các chế phẩm mô phỏng sinh học không giới hạn được đề xuất trong các Bảng 2-7, dưới đây. Các chế phẩm khác nhau khác có thể bao gồm các kết hợp của các hợp chất được chọn từ một hoặc nhiều chất trong các Bảng 2-7. (Xem, ví dụ, các ví dụ 52-56.) Theo cách khác, chế phẩm bất kỳ này có thể bao gồm thành phần hợp chất ngoài hoặc thay thế cho hợp chất bất kỳ được liệt kê, để gia tăng độ bay hơi hoặc cải biến các đặc tính về mục đích sử dụng hoặc hiệu suất bất kỳ. Trong một số chế phẩm này, sự thay thế hoặc bổ sung hợp chất này có thể là GRAS và/hoặc các chế phẩm được xác định này được sử dụng ở mức sao cho được xem là hoàn toàn không chứa bất kỳ thành phần hoặc nguyên liệu nào không được nhận biết là an toàn (GRAS) theo Bộ Luật Liên Bang của Hoa Kỳ. Các chế phẩm này có thể, theo cách khác, bao gồm thành phần được tìm thấy trong sản phẩm phụ dễ bay hơi của *M. crispans* và/hoặc không có trong sản phẩm phụ dễ bay hơi của *Muscodor sp* khác.

Mỗi hợp chất này có thể được đề xuất với nồng độ hoặc khoảng phần trăm hữu hiệu và có bán trên thị trường hoặc có thể được điều chế bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Đối với phương pháp được kể đến sau này, kỹ thuật lên men có thể được sử dụng để điều chế một cách tự nhiên và tách các hợp chất này. Theo cách khác, các hợp chất này có thể được tổng hợp hóa học. Với một số phương án không giới hạn theo sáng chế, mỗi hợp chất của các Bảng 2-7 có thể thu được dưới dạng sản phẩm lên men, các sản phẩm này và các chế phẩm tương ứng có thể là sản phẩm mang thương hiệu Flavorzon của Jeneil Biotech, Inc. of Saukville, Wisconsin.

Bảng 2. Chế phẩm mô phỏng sinh học theo sáng chế bao gồm:

Hợp chất
Axetaldehyt
Etyl axetat
2-Butanon
Axit propanoic, 2-metyl-, metyl este
Etanol
Axit axetic, 2-metylpropyl este
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylpropyl este
1-Propanol, 2-metyl-
1-Butanol, 3-metyl-, axetat
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylbutyl este
1-Butanol, 3-metyl-
Axit propanoic
Axit axetic, 2-phenyletyl este

Bảng 3. Chế phẩm mô phỏng sinh học theo sáng chế bao gồm:

Hợp chất
Axetaldehyt
Etyl axetat
2-Butanon
Axit propanoic, 2-metyl-, metyl este
Etanol
Axit axetic, 2-metylpropyl este
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylpropyl este
1-Propanol, 2-metyl-
1-Butanol, 3-metyl-, axetat
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylbutyl este
1-Butanol, 3-metyl-
Axit propanoic, 2-metyl-
Axit axetic, 2-phenyletyl este
Axit propanoic

Bảng 4. Chế phẩm mô phỏng sinh học theo sáng chế bao gồm:

Hợp chất
Axetalđehyt
Etyl axetat
2-Butanon
Axit propanoic, 2-metyl-, metyl este
Axit axetic
Axit axetic, 2-metylpropyl este
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylpropyl este
1-Propanol, 2-metyl-
1-Butanol, 3-metyl-, axetat
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylbutyl este
1-Butanol, 3-metyl-
Axit propanoic, 2-metyl-
Axit axetic, 2-phenyletyl este

Bảng 5. Chế phẩm mô phỏng sinh học theo sáng chế bao gồm:

Hợp chất
Axetalđehyt
Etyl axetat
Axit axetic
Axit propanoic, 2-metyl-, metyl este
Etanol
Axit axetic, 2-metylpropyl este
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylpropyl este
1-Propanol, 2-metyl-
1-Butanol, 3-metyl-, axetat
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylbutyl este
1-Butanol, 3-metyl-
Axit propanoic, 2-metyl-
Axit axetic, 2-phenyletyl este

Bảng 6. Chế phẩm mô phỏng sinh học theo sáng chế bao gồm:

Hợp chất
Axetaldehyt
Etyl axetat
Axit propanoic
Axit propanoic, 2-metyl-, metyl este
Etanol
Axit axetic, 2-metylpropyl este
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylpropyl este
1-Propanol, 2-metyl-
1-Butanol, 3-metyl-, axetat
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylbutyl este
1-Butanol, 3-metyl-
Axit propanoic, 2-metyl-
Axit axetic, 2-phenyletyl este

Bảng 7. Chế phẩm mô phỏng sinh học theo sáng chế bao gồm các kết hợp khác nhau của các hợp chất được chọn từ hoặc bao gồm các hợp chất dưới đây:

%	Hợp chất
khoảng 0,1 – khoảng 10	Axetaldehyt
khoảng 0,5 – khoảng 25	Etyl axetat
khoảng 0,1 – khoảng 15	2-Butanon
khoảng 4 – khoảng 99	Axit propanoic, 2-metyl-, metyl este
khoảng 1,5 – khoảng 40	Etanol
khoảng 0,1 – khoảng 10	Axit axetic, 2-metylpropyl este
khoảng 0,1 – khoảng 15	Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylpropyl este
khoảng 0,1 – khoảng 10	1-Propanol, 2-metyl-
khoảng 0,5 – khoảng 25	1-Butanol, 3-metyl-, axetat
khoảng 0,5 – khoảng 25	Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylbutyl este
khoảng 2 – khoảng 50	1-Butanol, 3-metyl-
khoảng 10 đến 99	Axit propanoic, 2-metyl-
khoảng 0,1 – khoảng 10	Axit axetic, 2-phenyletyl este

Với chế phẩm FFC bất kỳ theo sáng chế, dự tính rằng thành phần hợp chất bất kỳ bao gồm thành phần hợp chất bất kỳ của chúng được mô tả qua tham khảo hoặc suy luận ra ở đây, như nhưng không giới hạn ở thành phần trong các Bảng 1-7 và 10 và các chất đồng phân cấu trúc và/hoặc chất đồng đẳng cacbon và metylen của chúng có thể có mặt với lượng hoặc khoảng riêng rẽ và tách từ thành phần chế phẩm khác bất kỳ. Do đó, không bị giới hạn, mỗi thành phần hợp chất này có thể có mặt với lượng bằng hoặc khoảng 0,1% trọng lượng, (hoặc thấp hơn) khoảng 0,2% trọng lượng, khoảng 0,3% trọng lượng, hoặc khoảng 0,4% trọng lượng, ... hoặc/đến 1,0% trọng lượng, khoảng 1,1% trọng lượng, khoảng 1,2% trọng lượng, khoảng 1,3% trọng lượng, hoặc khoảng 1,4% trọng lượng ... hoặc/đến 2,0% trọng lượng, khoảng 2,1% trọng lượng, khoảng 2,2% trọng lượng, khoảng 2,3% trọng lượng, hoặc khoảng 2,4% trọng lượng ... hoặc/đến 3,0% trọng lượng, khoảng 3,1% trọng lượng, khoảng 3,2% trọng lượng, khoảng 3,3% trọng lượng, hoặc khoảng 3,4% trọng lượng ... hoặc/đến 4,0% trọng lượng, khoảng 4,1% trọng lượng, khoảng 4,2% trọng lượng, khoảng 4,3% trọng lượng, hoặc khoảng 4,4% trọng lượng ... hoặc/đến 5,0% trọng lượng, khoảng 5,1% trọng lượng, khoảng 5,2% trọng lượng, khoảng 5,3% trọng lượng, hoặc khoảng 5,4% trọng lượng ... hoặc/đến 6,0% trọng lượng, khoảng 6,1% trọng lượng, khoảng 6,2% trọng lượng, khoảng 6,3% trọng lượng, hoặc khoảng 6,4% trọng lượng ... hoặc/đến 7,0% trọng lượng, khoảng 7,1% trọng lượng, khoảng 7,2% trọng lượng, khoảng 7,3% trọng lượng, hoặc khoảng 7,4% trọng lượng ... hoặc/đến 8,0% trọng lượng, khoảng 8,1% trọng lượng, khoảng 8,2% trọng lượng, khoảng 8,3% trọng lượng, hoặc khoảng 8,4% trọng lượng ... hoặc/đến 9,0% trọng lượng, khoảng 9,1% trọng lượng, khoảng 9,2% trọng lượng, khoảng 9,3% trọng lượng, hoặc khoảng 9,4% trọng lượng ... hoặc/đến 10,0% trọng lượng; và hoặc/đến 10,1% trọng lượng ... hoặc/đến 20,0% trọng lượng, theo các biến thiên gia tăng này; hoặc/đến 20,1% trọng lượng ... hoặc/đến 30,0% trọng lượng, theo các biến thiên gia tăng này; hoặc/đến 30,1% trọng lượng ... hoặc/đến 40,0% trọng lượng, theo các biến thiên gia tăng này; hoặc/đến 40,1% trọng lượng ... hoặc/đến 50,0% trọng lượng, theo các biến thiên gia tăng này; hoặc/đến 50,1% trọng lượng ... hoặc/đến 60,0% trọng lượng, theo các biến thiên gia tăng này; hoặc/đến 60,1% trọng lượng ... hoặc/đến 70,0% trọng lượng, theo các biến thiên gia tăng này; hoặc/đến 70,1% trọng lượng ... hoặc/đến 80,0% trọng lượng, theo các biến thiên gia tăng này; hoặc/đến 80,1% trọng lượng ... hoặc/đến 90,0% trọng lượng, theo các biến

thiên gia tăng này; hoặc/đến 90,1% trọng lượng . . . hoặc/đến 99,9% trọng lượng (hoặc hơn), theo các biến thiên gia tăng này. Tương tự, không bị giới hạn, chế phẩm bất kỳ theo sáng chế -- không tính đến bản chất hoặc lượng của thành phần hợp chất hoặc hợp phần cụ thể bất kỳ -- có thể có mặt với lượng (% trọng lượng) hoặc khoảng % trọng lượng các biến thiên gia tăng này, như được mô tả ở trên, từ 0,1% trọng lượng đến 99,9% trọng lượng chế phẩm hoặc môi trường (ví dụ, nằm trong khoảng bất kỳ từ 0,1% trọng lượng đến 1,0% trọng lượng, khoảng 2,0% trọng lượng, khoảng 4,0% trọng lượng hoặc đến 10,0% trọng lượng) được kết hợp ở đây hoặc sản phẩm hoặc chất nền được phủ lên.

Trừ khi có chỉ dẫn khác, tất cả các số biểu thị lượng, nồng độ hoặc lượng các thành phần hoặc thành phần, các tính chất như trọng lượng phân tử, các điều kiện phản ứng, và tương tự được sử dụng trong bản mô tả và yêu cầu bảo hộ được hiểu là được cải biến theo mọi khía cạnh bằng thuật ngữ "khoảng." Do đó, trừ khi có định nghĩa ngược lại, các thông số bằng số được đưa ra trong bản mô tả này và yêu cầu bảo hộ đi kèm là xấp xỉ và có thể thay đổi phụ thuộc vào các tính chất mong muốn thu được bởi sáng chế. Ít nhất, và không dự định làm giới hạn phạm vi của yêu cầu bảo hộ, mỗi thông số bằng số cần được phân tích ít nhất từ các số ghi nhận được và áp dụng các kỹ thuật thông thường.

Tuy khoảng số và thông số tạo nên phạm vi rộng theo sáng chế là xấp xỉ, các giá trị số và các ví dụ được ghi chép ở mức chính xác nhất có thể. Tuy nhiên, các giá trị số bất kỳ có thể vốn đã chứa một số lỗi do độ lệch chuẩn của phép đo thử nghiệm tương ứng.

Các chế phẩm và các phương pháp theo sáng chế có thể bao gồm, chứa hoặc cần thiết chứa một cách thích hợp thành phần hợp chất bất kỳ hoặc lượng/nồng độ của chúng được bộc lộ, tham khảo hoặc suy luận ra ở đây -- bao gồm nhưng không giới hạn ở thành phần hợp chất bất kỳ trong các Bảng 1-7 và 10, cùng với các chất đồng phân cấu trúc của chúng, các chất đồng đẳng cacbon và/hoặc metylen của thành phần rượu, thành phần aldehyt, thành phần xeton, thành phần axit và/hoặc thành phần este, cho dù phần nửa phân tử của chúng dẫn xuất từ axit và/hoặc dẫn xuất từ rượu. Không tính đến lượng/nồng độ, mỗi thành phần hợp chất hoặc phần nửa phân tử/nhóm thế của chúng khác biệt về thành phần, trái ngược về tính chất và có thể được sử dụng kết hợp với các chế phẩm này và các phương pháp riêng rẽ và tách khỏi lượng/nồng độ thành phần hoặc

thành phần hợp chất khác (hoặc phần nửa phân tử/nhóm thế) hoặc lượng/nồng độ. Do đó, cần được hiểu rằng các chế phẩm và/hoặc các phương pháp theo sáng chế, như được bộc lộ để minh họa ở đây, có thể được yêu cầu bảo hộ, được ứng dụng hoặc sử dụng có thay đổi lượng hoặc nồng độ với sự thiếu vắng của một thành phần hợp chất bất kỳ (hoặc phần nửa phân tử và/hoặc nhóm thế của chúng), hợp chất này (hoặc phần nửa phân tử/nhóm thế của chúng) hoặc lượng/nồng độ của chúng có thể có hoặc có thể không được bộc lộ cụ thể, qua tham khảo hoặc suy luận ra ở đây, sự thay đổi hoặc vắng mặt các chất này có thể có hoặc có thể không được bộc lộ cụ thể, qua tham khảo hoặc suy luận ra ở đây.

Trong các phương án được ưu tiên, chế phẩm có hiệu quả sinh học của các FFC này (được điều chế dưới dạng hỗn hợp lỏng) sẵn sàng bay hơi ở nhiệt độ trong phòng và khuếch tán trong không gian khép kín để ức chế và/hoặc diệt một cách hữu hiệu nấm nhiễm không mong muốn (nấm mốc) trên các bề mặt cần sạch vi sinh vật có hại. Hỗn hợp này có thể được dùng dưới dạng phun (ví dụ, có thể với các thành phần dưới áp suất) hoặc đặt một cách đơn giản vào bao gói và để bay hơi trong bao bì kín hoặc túi hàn kín.

Bất kể, các chế phẩm FFC theo sáng chế có thể được kết hợp vào các chế phẩm để sử dụng khác nhau, chỉ được giới hạn bởi việc ứng dụng. Các chế phẩm này bao gồm nhưng không giới hạn ở các chế phẩm dùng trực tiếp cho thực phẩm hoặc chất dinh dưỡng dùng cho người/động vật, sản phẩm vệ sinh dùng cho người, sản phẩm chăm sóc sức khỏe, nông nghiệp, công nghiệp, nhà ở, thuốc và các ứng dụng khác. Trong một số phương án không giới hạn, chế phẩm FFC và/hoặc (các) thành phần của chúng có thể có mặt ở nồng độ khoảng 0,1% trọng lượng hoặc nhỏ hơn đến 99,9% trọng lượng hoặc lớn hơn chế phẩm để sử dụng cụ thể. Mức kết hợp này chỉ được giới hạn bởi hiệu quả kháng vi sinh vật mong muốn và/hoặc dạng chế phẩm.

Các chế phẩm FFC này, ở mức liều hữu hiệu, có hiệu quả diệt nhiều tác nhân gây bệnh cho cây, nấm có thể gây ra sự hư hại cho thực phẩm, vi sinh vật có thể gây ra bệnh chủ yếu ở người và vi sinh vật có thể làm hỏng các bề mặt sản phẩm, nhà ở và các tòa nhà khác. Danh sách không nhằm loại trừ các ứng dụng này là như dưới đây:

Để xử lý pho mát trong bảo quản hoặc trong chế biến để kiểm soát nhiễm nấm mốc không đẹp mắt của các bề mặt và cuối cùng làm hư hại khối pho mát.

Để xử lý các phần khác nhau của cây trong bảo quản bao gồm rễ, củ, thân, hạt và các bộ phận khác có thể được sử dụng cuối cùng trong chế biến thực phẩm cho các mục đích trồng cây và tái sinh thảm thực vật hoặc nông nghiệp.

Để sử dụng trong khử ô nhiễm các tòa nhà có thể có các bề mặt mốc hoặc bị nhiễm ở những điểm mà mốc có thể phát triển.

Để sử dụng trong bảo quản rác thải trong khi vận chuyển qua biển dài ngày từ cảng này đến cảng kia để cuối cùng lên men thành sản phẩm mang năng lượng.

Để khử nhiễm đất trồng có thể chứa vi sinh vật là các tác nhân gây bệnh tiềm tàng cho cây.

Để điều trị bệnh nhân bị lao và nhiễm các vi khuẩn khác.

Để điều trị kiểm soát nhiễm khuẩn mũi và làm sạch đường mũi.

Để kết hợp với các polyme được xác định cụ thể có thể được sử dụng để cuộn và nhờ đó bảo quản nguyên liệu bao gồm thực phẩm, sợi và các sản phẩm khác cho quá trình bảo quản kéo dài.

Thông thường hơn, các chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để ức chế sinh trưởng hoặc diệt các sinh vật được chọn từ nhóm bao gồm nấm, vi khuẩn, vi sinh vật và các vi sinh vật hoặc sâu bọ khác. Sử dụng các phương pháp đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này biết rõ, chế phẩm được tiếp xúc với các sinh vật với lượng có hiệu quả ít nhất một phần để diệt hoặc ức chế sự sinh trưởng của các sinh vật. Theo cách khác, chế phẩm này có thể được sử dụng để điều trị cho người hoặc động vật bị bệnh, ví dụ, dưới dạng thành phần kiểm soát hoặc xử lý bệnh dạng nước hoặc chất rắn. Các chế phẩm này cũng hữu ích để khử nhiễm người và động vật bị bệnh, ví dụ, làm giảm hoặc loại bỏ sự nhiễm vi khuẩn và nấm. Hơn nữa, chế phẩm có thể được sử dụng để xử lý hoặc ngăn ngừa nấm mốc trên vật liệu xây dựng và trong các tòa nhà bằng cách cho toà nhà, vật liệu xây dựng, khoảng không gian giữa các vật liệu xây dựng tiếp xúc với lượng hữu hiệu của chế phẩm hoặc hơi của chúng. Chỉ với mục đích minh họa, lượng hữu hiệu của chế phẩm có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với các thuốc xông hoặc hoạt chất khác trong quá trình xông phòng hoặc theo cách khác, trong toàn bộ toà nhà.

Khi được sử dụng trong các ứng dụng trong nông nghiệp, sáng chế đề xuất phương pháp xử lý hoặc bảo vệ quả, hạt, cây hoặc đất trồng xung quanh cây khỏi bị nhiễm các sinh vật như nấm hoặc vi khuẩn, bằng cách cho vi sinh vật tiếp xúc với lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều chế phẩm được mô tả ngắn gọn ở đây.

Như được mô tả ở trên, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa, xử lý, ức chế và diệt vi khuẩn, nấm, virus và/hoặc vi sinh vật bị nhiễm khác. Phương pháp này có thể bao gồm việc dùng cho chất nền là sản phẩm, động vật/động vật có vú hoặc cây, bị nhiễm hoặc sinh trưởng hoặc có khả năng hỗ trợ sự nhiễm hoặc sinh trưởng này, chế phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu -- một mình hoặc có thể được kết hợp vào chế phẩm hoặc công thức. Do đó, sáng chế đề xuất một hoặc nhiều chế phẩm cho được phẩm, sử dụng cho người (ví dụ, không bị giới hạn, mỹ phẩm), công nghiệp và/hoặc nông nghiệp.

Xử lý vi sinh vật có thể đạt được bằng cách cho vi khuẩn, nấm, virus và/hoặc vi sinh vật khác tiếp xúc với chế phẩm với lượng hữu hiệu theo sáng chế. Có thể cho tiếp xúc *in vitro* hoặc *in vivo*. "Cho tiếp xúc" có nghĩa là chế phẩm theo sáng chế và vi sinh vật tiếp xúc với nhau theo cách thích hợp để ngăn ngừa, ức chế và/hoặc loại bỏ sự nhiễm và/hoặc sinh trưởng của vi sinh vật. Lượng chế phẩm hữu hiệu để xử lý có thể được xác định theo kinh nghiệm, và được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ức chế bao gồm cả làm giảm và loại trừ sinh trưởng/hoạt động của vi sinh vật.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể được dùng cho hoặc tiếp xúc với người, động vật hoặc cây, hoặc bề mặt chất nền sản phẩm bằng con đường thích hợp bất kỳ, bao gồm nhưng không giới hạn ở dùng qua đường miệng hoặc dùng qua đường mũi (ví dụ, với được phẩm hoặc sản phẩm chăm sóc cá nhân), và thông thường, dưới dạng hạt, các hạt, lỏng, phun sương, thuốc mỡ, thuốc lỏng hoặc kem. Do đó, các chế phẩm theo sáng chế có thể bao gồm các hợp chất thành phần tương ứng trong hỗn hợp với một hoặc nhiều chất mang chấp nhận được và, tùy ý, với một hoặc nhiều hợp chất hoặc nguyên liệu khác. Chất mang này cần phải "chấp nhận được" theo nghĩa là tương hợp với các thành phần khác/thành phần của chế phẩm và không làm giảm hiệu quả hoặc ứng dụng mong muốn.

Không tính đến đường dùng, phương pháp xử lý hoặc dùng được chọn lọc, các chế phẩm theo sáng chế có thể được bào chế để thu được dạng nồng độ hoặc liều chấp nhận được bằng các phương pháp thông thường đã biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Lượng hoặc nồng độ của chế phẩm bất kỳ hoặc thành phần của chúng, có hoặc không có chất mang, sẽ thay đổi phụ thuộc vào vi sinh vật/chất nền/sản phẩm đích được xử lý, dạng dùng/dẫn truyền cụ thể và tất cả các yếu tố khác được mô tả ở trên. Lượng được kết hợp với nguyên liệu chất mang thường là lượng chế phẩm tạo ra nồng độ thấp nhất hoặc tối thiểu tạo ra hiệu quả kháng vi sinh vật mong muốn.

Lượng hoặc nồng độ tương đối của chế phẩm FCC và thành phần tùy ý khác trong các chế phẩm của sáng chế có thể thay đổi trong khoảng hữu hiệu rộng, như được chứng minh trong các ví dụ dưới đây. Nồng độ và/hoặc liều dùng được sử dụng tốt hơn là được chọn để đạt được hoạt tính cải thiện hoặc gia tăng hơn so với khi các thành phần dùng một mình và/hoặc tối đa hóa hoạt tính của chế phẩm với nồng độ thành phần hữu hiệu thấp nhất. Do đó, tỷ lệ trọng lượng và/hoặc nồng độ phần trăm làm cải thiện hoạt tính không chỉ phụ thuộc vào chế phẩm FCC cụ thể được sử dụng, mà còn vào mục đích sử dụng cụ thể cuối cùng của chế phẩm bao gồm, nhưng không giới hạn ở, thời tiết, thành phần đất trồng, bản chất chất nền, sản phẩm và/hoặc vật chủ của vi sinh vật cần xử lý và/hoặc tình trạng dày đặc của vi sinh vật cụ thể.

Các phương pháp điều chế hợp phần hoặc chế phẩm bao gồm bước cho chế phẩm theo sáng chế, hoặc một hoặc nhiều hợp chất thành phần, vào hỗn hợp với chất mang và, tùy ý, một hoặc nhiều thành phần phụ. Nói chung, chế phẩm được điều chế bằng cách cho chế phẩm/thành phần kết hợp với chất mang (ví dụ, chất mang lỏng hoặc chất rắn được phân tán mịn) và, nếu muốn, tạo hình cho sản phẩm.

Các chế phẩm liên quan đến sáng chế, cho dù là chế phẩm theo sáng chế hay sản phẩm kết hợp với chế phẩm, có thể dưới dạng viên nang, viên nhộng, viên tròn, viên nén, bột, hạt, bột nhão hoặc dưới dạng dung dịch hoặc huyền phù trong nước hoặc chất lỏng không phải nước, hoặc dưới dạng huyền phù lỏng dạng dầu trong nước hoặc nước trong dầu, hoặc rượu thuốc, hoặc syrô, hoặc dạng viên hình thoi (sử dụng chất nền trợ, như gelatin và glyxerin, hoặc sucroza và acaxia) và/hoặc dạng rửa (ví dụ, phun sương, phun hoặc nước súc miệng) và các dạng tương tự, mỗi dạng chứa lượng chế phẩm theo sáng chế hoặc các thành phần của chúng với lượng định trước.

Trong các chế phẩm rắn khác (ví dụ, viên nang, viên nén, viên tròn, viên bao đường, bột, hạt và các dạng tương tự), chế phẩm theo sáng chế có thể được trộn với một hoặc nhiều thành phần hoạt tính và/hoặc chất mang chấp nhận được khác, như natri xitrat hoặc dicanxi phosphat, và/hoặc chất bất kỳ sau đây: (1) chất độn hoặc chất phân tán, như tinh bột, lactoza, sucroza, glucoza, manitol, và/hoặc axit silicic; (2) chất kết dính, như, ví dụ, carboxymetyl-xenluloza, alginat, gelatin, polyvinyl pyrrolidon, sucroza và/hoặc acaxia; (3) chất làm ẩm, như glyxerol; (4) chất làm rã, như aga-aga, canxi cacbonat, tinh bột khoai tây hoặc sắn, axit alginic, một số silicat, và natri cacbonat; (5) chất làm chậm hòa tan, như parafin; (6) chất tăng cường hấp thụ, như các hợp chất amoni bậc bốn; (7) chất làm ướt, như, ví dụ, rượu xetyl và glyxerol monostearat; (8) chất hấp phụ, như kaolin và đất sét bentonit; (9) chất làm trơn, như bột talc, canxi stearat, magie stearat, polyetylen glycol rắn, natri lauryl sulfat, và hỗn hợp của chúng; và (10) chất màu. Trong trường hợp viên nang, viên nén và viên tròn, các chế phẩm cũng có thể bao gồm chất đệm. Các chế phẩm rắn loại tương tự cũng có thể được sử dụng làm chất độn trong viên nang gelatin cứng và mềm sử dụng các tá dược như lactoza hoặc đường sữa, cũng như polyetylen glycol trọng lượng phân tử cao và các chất tương tự.

Viên nén có thể được tạo thành bằng cách nén hoặc đúc, tùy ý với một hoặc nhiều thành phần phụ trợ. Viên nén được nén có thể được bào chế sử dụng chất kết dính (ví dụ, gelatin hoặc hydroxypropylmetyl xenluloza), chất làm trơn, chất pha loãng trợ, chất bảo quản, chất làm rã (ví dụ, natri tinh bột glycolat hoặc natri carboxymetyl xenluloza tạo liên kết ngang), chất hoạt động bề mặt hoặc chất phân tán. Viên nén đúc có thể được bào chế bằng cách đúc trong thiết bị thích hợp hỗn hợp gồm (các) thành phần hoạt tính được nghiền thành bột được làm ẩm bằng chất pha loãng lỏng trợ.

Viên nén, và các dạng chế phẩm rắn khác hoặc sản phẩm kết hợp với các chế phẩm này, như viên bao đường, viên nang, viên tròn và các hạt, có thể tùy ý được xử lý hoặc bào chế với lớp phủ và vỏ, như lớp phủ tan trong ruột và lớp phủ khác đã được biết rõ trong lĩnh vực bào chế. Chúng cũng có thể được bào chế sao cho tạo ra việc giải phóng (các) thành phần hoạt tính chậm hoặc có kiểm soát sử dụng, ví dụ, hydroxypropylmetyl xenluloza với tỷ lệ khác nhau tạo ra độ giải phóng mong muốn, các mạng polyme, liposom và/hoặc vi cầu khác. Các chế phẩm này cũng có thể tùy ý chứa chất làm đục và có thể là chế phẩm chỉ giải phóng (các) thành phần hoạt tính, hoặc

được ưu tiên là, trong một số phần của ống tiêu hóa, tùy ý, theo cách chậm. Các ví dụ về các thành phần thêm vào có thể được sử dụng bao gồm các chất polyme và sáp. (Các) thành phần hoạt tính cũng có thể ở dạng vi nang.

Dạng lỏng để sử dụng hoặc dùng theo sáng chế bao gồm nhũ tương, hỗn hợp, vi nhũ tương, dung dịch được dụng-hoặc-chấp nhận được (bao gồm các dạng trong nước cất hoặc nước tinh khiết), huyền phù, phun sương, syrô và rượu thuốc. Ngoài chế phẩm theo sáng chế hoặc (các) thành phần hợp chất của chúng, dạng lỏng có thể chứa chất pha loãng trợ hoặc chất pha loãng khác thường được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật này, như, ví dụ, nước hoặc các dung môi khác, chất tạo độ hòa tan và chất nhũ hóa, như rượu etylic, rượu isopropylic, etyl cacbonat, etyl axetat, propylen glycol, 1,3-butylen glycol, dầu (cụ thể là, dầu hạt bông, lạc, ngô, mầm hạt, oliu, thầu dầu và vùng), glyxerol, rượu tetrahydrofurylic, polyetylen glycol và các este axit béo của sorbitan, và các hỗn hợp của chúng.

Bên cạnh các chất pha loãng trợ, các chế phẩm và/hoặc các sản phẩm giải phóng cũng có thể bao gồm các chất điều chỉnh như nhưng không giới hạn ở chất làm ướt, chất nhũ hóa và chất tạo huyền phù (ví dụ, chất làm dính và chất phân tán ứng dụng trong nông nghiệp), chất màu, chất thơm và một hoặc nhiều chất bảo quản khác. Huyền phù có thể bao gồm chất tạo huyền phù như, ví dụ, các rượu isostearylic etoxyl hóa, polyoxyetylen sorbitol và các este sorbitan, xenluloza vi tinh thể, nhôm metahydroxit, bentonit, aga và tragacanth, và hỗn hợp của chúng.

Công thức của các chế phẩm theo sáng chế và/hoặc các vật hoặc sản phẩm kết hợp với các chế phẩm theo sáng chế để làm chất nền hoặc dùng/dẫn truyền tại chỗ (ví dụ, trong phạm vi sản phẩm chăm sóc cá nhân hoặc sản phẩm vệ sinh) theo sáng chế, bao gồm bột, phun sương, thuốc mỡ, bột nhão, kem, thuốc lỏng, gel, dung dịch, cao dán và thuốc xông hít. Thuốc mỡ, bột nhão, kem và gel này có thể chứa, ngoài chế phẩm theo sáng chế, các tá dược, như chất béo động vật và chất béo thực vật, dầu, sáp, parafin, tinh bột, tragacanth và các loại gôm khác, dẫn xuất xenluloza, polyetylen glycol, silicon, bentonit, axit silicic, bột talc và kẽm oxit, hoặc hỗn hợp của chúng. Tương tự, bột và dạng phun sương có thể chứa các tá dược như lactoza, bột talc, axit silicic, nhôm hydroxit, canxi silicat và bột polyamit, hoặc hỗn hợp của các chất này. Dạng phun sương có thể chứa thêm các chất đẩy thông thường như hydrocarbon không

được thể dễ bay hơi, như butan và propan, hoặc được dẫn dưới áp suất không khí dương.

Các ví dụ về chất mang dạng nước và không phải nước thích hợp có thể được sử dụng trong các chế phẩm theo sáng chế bao gồm nước, etanol, polyol (như glyxerol, propylen glycol, polyetylen glycol, và các chất tương tự), và các hỗn hợp thích hợp của chúng, dầu thực vật, như dầu oliu, và các este hữu cơ, như etyl oleat. Độ lỏng riêng có thể được duy trì, ví dụ, bằng cách sử dụng nguyên liệu phụ, như lecithin, bằng cách duy trì cỡ hạt yêu cầu trong trường hợp phân tán, và bằng cách sử dụng các chất hoạt động bề mặt.

Dạng giải phóng chậm của sản phẩm hoặc các sản phẩm kết hợp chế phẩm theo sáng chế có thể được tạo thành bằng cách tạo mạng vi nang của (các) thành phần hoạt tính trong các polyme có thể phân hủy sinh học như polylactit-polyglycolit. Phụ thuộc vào tỷ lệ của (các) thành phần hoạt tính với polyme, và bản chất của polyme cụ thể được sử dụng, tốc độ giải phóng của (các) thành phần hoạt tính có thể được kiểm soát. Các ví dụ về các polyme có thể phân hủy sinh học khác bao gồm poly(octoste) và poly(anhydrua). Chế phẩm giải phóng chậm có thể tiêm được cũng được bào chế bằng cách khóa (các) thành phần hoạt tính trong liposom hoặc vi nhũ tương tương hợp với mô cơ thể.

Hơn nữa, các chế phẩm của sáng chế và/hoặc sản phẩm hoặc các sản phẩm kết hợp với chế phẩm này có thể bao gồm thêm các chất hóa học và/hoặc sinh học, chống nấm mốc hoặc chống nấm, chống vi khuẩn và kháng vi sinh vật đa vị trí và/hoặc vị trí đơn, có kiểu tác dụng giống và/hoặc khác, đã được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các chất này có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các hợp chất kali bicarbonat, silic oxit, đồng hoặc gốc lưu huỳnh và/hoặc dầu thực vật (ví dụ, dầu neem). Hơn nữa, các chất này có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở các azol; polyen, như amphotericin B và nystatin; các chất ức chế nucleotit purin hoặc pyrimidin, như flucytosin; polyoxin, như nikkomycin; các chất ức chế chitin khác, các chất ức chế kéo dài, như sordarin và các chất tương tự của chúng; các chất ức chế ty lạp thể đường hô hấp, các chất ức chế sinh tổng hợp sterol và/hoặc chế phẩm diệt nấm hoặc diệt sinh vật bất kỳ khác đã biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này thích hợp để điều trị hoặc ngăn ngừa nhiễm nấm men hoặc nấm, vi khuẩn,

virut và/hoặc vi sinh vật khác cho cây, các chất nền khác, động vật và/hoặc người, hoặc có thể được tìm thấy trên hoặc trong sản phẩm bất kỳ.

Trong một số phương án, các sản phẩm hoặc sản phẩm kết hợp với các chế phẩm của sáng chế cũng có thể bao gồm một hoặc nhiều thành phần chất bảo quản đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm nhưng không giới hạn ở, axit sorbic hoặc benzoic; các muối natri, kali, canxi và amoni của axit benzoic, axit sorbic, hydroxymetyl glycinic, và propionic; và methyl, ethyl, propyl và butyl paraben và các kết hợp của chúng.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể chứa hợp chất bao gồm nhóm chức axit hoặc bazơ và, vì vậy, có thể tạo thành các muối được dụng-hoặc-chấp nhận được với các axit và bazơ được dụng- hoặc-chấp nhận được. Thuật ngữ "các muối được dụng-chấp nhận được" dùng để chỉ các muối cộng axit và bazơ vô cơ và hữu cơ tương đối không độc, của các hợp chất này. Bất kể, các muối này có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất này phản ứng với axit hoặc bazơ thích hợp. Các bazơ thích hợp bao gồm hydroxit, cacbonat hoặc bicacbonat của cation kim loại, amoniac chấp nhận được, hoặc amin hữu cơ bậc một, bậc hai hoặc bậc ba chấp nhận được. Các muối kim loại kiềm hoặc kim loại kiềm thổ đại diện bao gồm các muối lithi, natri, kali, canxi, magie, và nhôm và các muối tương tự. Các amin hữu cơ đại diện hữu ích để tạo thành muối cộng bazơ bao gồm etylamin, diethylamin, etylendiamin, etanolamin, dietanolamin, piperazin và các chất tương tự. Các muối cộng axit đại diện bao gồm các muối hydrobromua, hydroclorua, sulfat, phosphat, nitrat, axetat, valerat, oleat, palmitat, stearat, laurat, benzoat, lactat, phosphat, tosylat, xitrat, maleat, fumarat, suxinat, tartrat, naptalat, mesylat, glucoheptonat, lactobionat, và laurylsulphonat và các muối tương tự.

Các chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng dưới dạng chế phẩm phân tán hoặc nhũ tương trong nước và có thể dưới dạng cô đặc chứa tỷ lệ cao FFC (có hoặc không có chất hoạt động bề mặt), có thể được pha loãng (ví dụ, nước hoặc thành phần pha loãng khác) trước khi sử dụng. Chất cô đặc có thể nhũ hóa được hoặc nhũ tương có thể được bào chế bằng cách hòa tan chế phẩm của sáng chế, cùng với thành phần hoạt tính mong muốn khác, trong dung môi tùy ý chứa chất làm ướt hoặc chất nhũ hóa và sau đó bổ sung hỗn hợp này vào nước có thể chứa chất làm ướt hoặc chất nhũ hóa. Dung môi hữu cơ thích hợp bao gồm các rượu và glycol etc. Các chất cô đặc này được ưu tiên là phải chịu được thời gian bảo quản dài và sau khi bảo quản có thể pha loãng

với nước để tạo thành chế phẩm dạng nước đồng nhất trong thời gian đủ để dùng bằng thiết bị phun thông thường.

Phụ thuộc vào loại mục đích sử dụng cuối cùng, sản phẩm hoặc các sản phẩm kết hợp với các chế phẩm của sáng chế cũng có thể bao gồm các thành phần yêu cầu bất kỳ khác bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất mang rắn hoặc lỏng để dễ dàng cho việc sử dụng, các chất hoạt động bề mặt bao gồm các chất hoạt động bề mặt sinh học, các chất keo bảo vệ, chất kết dính, chất làm đầy, chất xúc biến, chất làm thấm, chất ổn định, tác nhân chelat hóa, tác nhân texturing, chất tạo mùi (ví dụ, ứng dụng trong thực phẩm/đồ uống sau thu hoạch hoặc chế biến), đường, chất màu, v.v., như đã được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Ví dụ, các chế phẩm này và/hoặc sản phẩm hoặc các sản phẩm liên quan có thể được sử dụng trong nông nghiệp và được bào chế với chất mang hoặc chất pha loãng. Các chế phẩm này có thể được phủ, được bào chế hoặc không được bào chế, trực tiếp lên bộ lá cây, hạt hoặc môi trường khác trong đó cây sinh trưởng hoặc được trồng, hoặc chúng có thể là được phun lên, phủ lên hoặc dùng dưới dạng chế phẩm kem hoặc bột nhão, hoặc chúng có thể được phủ dưới dạng hơi hoặc các hạt giải phóng chậm. Việc sử dụng có thể là cho, hoặc xấp xỉ cho, phần bất kỳ của cây bao gồm bộ lá, thân, cành hoặc rễ, hoặc cho đất trồng xung quanh rễ, quả hoặc rau (trước hoặc sau thu hoạch) hoặc cho hạt trước khi trồng, hoặc cho đất trồng nói chung, cho nước tưới hoặc cho hệ môi trường nuôi cấy thủy canh. Các chế phẩm theo sáng chế cũng có thể được tiêm vào cây hoặc phun lên rau (bao gồm quả và rau) sử dụng kỹ thuật phun thể tích nhỏ hoặc áp suất thấp hoặc động lực điện, hoặc phương pháp xử lý bất kỳ khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật hoặc công nghiệp này.

Trong một số phương án, dù là chế biến liên quan đến thực phẩm hoặc nông nghiệp hay không, các chế phẩm và/hoặc sản phẩm hoặc các sản phẩm được tẩm và/hoặc kết hợp các chế phẩm theo sáng chế có thể dưới dạng bột hoặc hạt có thể nghiền mịn bao gồm chất pha loãng hoặc chất mang rắn, ví dụ, chất độn (cũng như phân động vật hoặc phân mèo), kaolin, bentonit, kieselguhr, dolomit, canxi cacbonat, bột talc, magie có thể nghiền thành bột, đất sét để hồ vải, thạch cao, diatomit đất, đất sét làm đồ sứ và cá nguyên liệu có thể thấm khác. Các hạt này có thể được bào chế dạng hạt thích hợp để dùng mà không cần xử lý thêm. Các hạt có thể được tạo thành bằng cách tẩm các viên tròn chất độn với chế phẩm theo sáng chế hoặc thành phần hoạt tính

khác hoặc bằng cách tạo viên tròn hỗn hợp gồm thành phần hoạt tính và chất độn được làm thành bột. Ví dụ, các chế phẩm để bao hạt có thể bao gồm chất (ví dụ, dầu khoáng) hỗ trợ bám dính chế phẩm vào hạt; theo cách khác thành phần hoạt tính có thể được bào chế cho mục đích bao hạt sử dụng dung môi hữu cơ. Các chế phẩm này cũng có thể ở dưới dạng bột có thể thấm ướt hoặc hạt có thể phân tán trong nước bao gồm chất thấm ướt hoặc chất phân tán để giúp dễ dàng phân tán trong chất lỏng. Bột và các hạt này cũng có thể chứa chất độn và chất tạo huyền phù. Theo cách khác, các chế phẩm này có thể được sử dụng ở dạng vi nang. Chúng cũng có thể được bào chế ở dạng chế phẩm polyme có thể phân hủy sinh học để thu được chế phẩm giải phóng hoạt chất chậm, có kiểm soát.

Bất kể, chế phẩm rắn này bao gồm chế phẩm theo sáng chế có thể được cung cấp trong nhiều sản phẩm hoặc sản phẩm ở các dạng, hình dạng hoặc khuôn khác nhau, bao gồm nhưng không giới hạn ở hình trụ, hình que, khối, viên nang, viên nén, viên tròn, viên tròn (ví dụ, cũng như thực phẩm cho vật nuôi), mảnh, que nhọn và các dạng tương tự. Theo cách khác, nguyên liệu dạng hạt hoặc bột có thể được nén thành viên nén hoặc được sử dụng để nạp vào viên nang hoặc vỏ nang. Như được mô tả ở trên, chế phẩm bất kỳ theo sáng chế, cho dù được bào chế hoặc không được bào chế, có thể được sử dụng một mình, được phủ lên chất nền hoặc được kết hợp trong sản phẩm hoặc các sản phẩm sản xuất với nhiều mục đích sử dụng cuối cùng, bao gồm nhưng không giới hạn ở dược phẩm, các chế phẩm dùng cho người, công nghiệp và nông nghiệp và các phương pháp sử dụng liên quan.

Nói chung, thành phần chất mang rắn hữu ích có thể bao gồm nguyên liệu bất kỳ ít nhất là hơi xốp và/hoặc có thể mang các chế phẩm kháng vi sinh vật nêu trên mà không bị căng phồng lên quá mức. Cùng với các nguyên liệu như được mô tả ở trên và ở đây, các ví dụ về các thành phần chất mang bao gồm silica gel, zeolit, canxi silicat, đất sét, than hoạt tính, nhôm oxit, allophan, vermiculit, các chất hấp thụ và/hoặc các polyme giải phóng chậm khác nhau, và các kết hợp của chúng, như được hiểu trong lĩnh vực kỹ thuật này bởi các tác giả sáng chế. Trong một số phương án, thành phần chất mang này có thể bao gồm một hoặc nhiều nguyên liệu đất sét -- các ví dụ về chúng hữu ích theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, attapulgit, montmorillonit, bentonit, hectorit, sericit và đất sét kaolin và hỗn hợp của chúng. Không bị giới hạn, đất sét bentonit, như đất sét chứa nhôm silicat hydrat hóa keo chứa lượng sắt, kim loại kiềm

và/hoặc kim loại kiềm thổ khác nhau, đã được phát hiện là đặc biệt hữu ích. Nguyên liệu đất sét bentonit và các sản phẩm chế biến có liên quan có bán trên thị trường từ nhiều nguồn, bao gồm American Colloid Company của Arlington Heights, Illinois, dưới nhãn hiệu là Bentonit AE H, cùng với các nguồn khác được xác định ở đây hoặc đã biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Phụ thuộc vào sản phẩm cụ thể hoặc mục đích sử dụng cuối cùng, chế phẩm kháng vi sinh vật dễ bay hơi có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với một hoặc nhiều thành phần dung môi hoặc chất pha loãng, như nhưng không giới hạn ở nước, dạng nước rượu và các dung môi khác tương hợp với chế phẩm kháng vi sinh vật này và/hoặc thành phần FFC của chúng. Như được xem xét kỹ hơn nữa, độ giải phóng hoặc độ bay hơi của chế phẩm kháng vi sinh vật này có thể thay đổi hoặc điều chỉnh nhờ sự có mặt của một thành phần dung môi hoặc chất pha loãng bất kỳ.

Việc sản xuất các sản phẩm khác nhau theo sáng chế nói chung liên quan đến bước trộn chế phẩm kháng vi sinh vật theo sáng chế và thành phần chất mang rắn thích hợp. Có thể tiến hành trộn sử dụng kỹ thuật bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Như một khía cạnh để xem xét, kỹ thuật và thời gian trộn cần đủ để phân tán chế phẩm kháng vi sinh vật trên hoặc qua thành phần chất mang rắn. Thứ tự trộn có thể khác nhau. Ví dụ, trước tiên, thành phần chất mang rắn có thể được cung cấp hoặc chuẩn bị, sau đó bổ sung chế phẩm kháng vi sinh vật. Theo cách khác, chế phẩm kháng vi sinh vật này và tất cả các thành phần được sử dụng để sản xuất thành phần chất mang có thể được trộn với nhau. Với phương pháp được kể đến cuối cùng ở trên, các thành phần có thể được trộn một mình hoặc với dung môi (ví dụ, nước và/hoặc rượu), chất phân tán hoặc một hoặc nhiều chất điều chỉnh khác. Đối với kỹ thuật bào chế, các thành phần được sử dụng để sản xuất chất mang rắn và chế phẩm kháng vi sinh vật có thể được trộn, với chất sau này, tùy ý, dưới dạng dung dịch nước. Theo phương án khác nữa, dạng bột của thành phần chất mang thích hợp có thể được trộn với chế phẩm kháng vi sinh vật và thành phần chất kết dính thích hợp để tạo thành các hạt kết tụ hoặc các hạt có kích thước thích hợp. Không tính đến bản chất chất mang, kỹ thuật bào chế hoặc cỡ hạt, chế phẩm kháng vi sinh vật có thể có mặt với lượng khoảng từ 1,0 đến 3,0% trọng lượng của sản phẩm này và thành phần chất mang kết hợp.

Sản phẩm theo sáng chế có thể được bố trí và có mặt kết hợp với bao gói hoặc túi kín để giải phóng hoặc bay hơi chế phẩm kháng vi sinh vật. khay đếm, nắp, chèn,

khay phủ hoặc cốc, thùng carton, lọ và các bao gói khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể được sử dụng, cung cấp đủ thời gian lưu sản phẩm và giải phóng/bay hơi kháng vi sinh vật từ sản phẩm này. Các ví dụ về bao gói có thể thấm khí/hơi hữu ích bao gồm dạng túi mềm, gói hoặc túi lưới hoặc vải không dệt bao gồm vật liệu có thể thấm khí.

Các sản phẩm được mô tả ở đây hữu ích trong việc tác động đến hoạt động của vi sinh vật, bao gồm ức chế sự sinh trưởng của vi sinh vật, trên và/hoặc gần sản phẩm thực phẩm, nhờ đó kéo dài tuổi thọ của thực phẩm. Với mục đích này, sản phẩm-dù một mình, không được bọc hoặc tùy ý được kết hợp với túi mềm hoặc túi-có thể được đặt hoặc để trong bao bì để vận chuyển, bảo quản hoặc thể hiện sản phẩm thực phẩm mong muốn (ví dụ, không bị giới hạn, quả, rau và sản phẩm nông nghiệp khác), bao bì này được chọn hoặc thiết kế phụ thuộc vào loại thực phẩm cụ thể. Việc sắp xếp sản phẩm trong bao bì có thể ở một hoặc nhiều bước trong chuỗi cung ứng và phân phối thực phẩm tương ứng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ và dữ liệu minh họa dưới đây nhưng không giới hạn các phương án khác nhau và dấu hiệu liên quan đến các chế phẩm và/hoặc các phương pháp của sáng chế, bao gồm việc sản xuất và sử dụng chế phẩm kháng vi khuẩn bao gồm các thành phần hợp chất khác nhau, như được mô tả ở đây. So sánh với lĩnh vực kỹ thuật đã biết, các chế phẩm và các phương pháp này tạo ra kết quả và dữ liệu đáng ngạc nhiên, không ngờ và khác biệt. Trong khi đó việc sử dụng theo sáng chế được minh họa qua việc sử dụng một số các chế phẩm và các hợp chất thành phần có thể được sử dụng ở đó, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng các kết quả có thể so sánh có thể thu được với các chế phẩm và các hợp chất thành phần khác nhau khác, đều thuộc phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1a

Phân lập nấm. Một số thân nhỏ của *Ananas ananassoides* được tách khỏi cây sinh trưởng trong Bolivian Amazon vào tháng ba năm 2007. chúng được thu gom trong vùng savanna sát rừng nhiệt đới ở tọa độ 12°40'07" Bắc và 68°41'58" Tây và được chuyển ngay đi phân tích. Một số mẫu nhỏ (từ 5,08cm đến 12,7cm (2-5 inch)) từ thân cây được cắt và đặt vào etanol 70% trong 30 giây dưới phần miếng đệm chảy tạo lớp.

Cặp nhíp vô trùng được sử dụng để hơ các đoạn thân riêng rẽ trong lửa để loại bỏ rượu dư. Sau đó các mẫu nhỏ của mô bên trong (ở dưới vỏ cây) được cắt và đặt vào thạch dextroza khoai tây (PDA) 620 thể phân lập *M. albus* sinh trưởng hoạt tính trên một mặt đĩa có lỗ trung tâm được loại bỏ. Một cách hiệu quả, kỹ thuật này có thể được sử dụng để chọn lọc các thể phân lập khác của *Muscodor* (Worapong và các đồng tác giả, 2001a&b). Trong giai đoạn ủ hai tuần, đĩa Petri được kiểm tra định kỳ sự sinh trưởng của nấm. Khi quan sát thấy sợi nấm, các đầu sợi nấm được cắt vô trùng khỏi thạch aga và được đặt vào PDA sạch. Thể phân lập được phát hiện theo cách này. Một số đĩa Petri (PDA) được sử dụng để xác định nấm tạo ra kháng sinh dễ bay hơi. Quy trình này bao gồm bước loại bỏ phần 2,54cm (1-inch) thạch aga ở giữa đĩa, đặt phần được phân lập lên một mặt và để sinh trưởng trong một số ngày, và sau đó phủ các sinh vật thử nghiệm lên mặt kia của khoảng trống.

Ví dụ 1b

Phân loại nấm. *Fungus* nguyên bản được kết hợp với *A. ananassoides* và thuộc lớp deuteromycete thuộc nhóm mycelia sterilia. Các khuẩn lạc nấm hơi trắng trên tất cả các môi trường được thử nghiệm khi tránh ánh sáng mặt trời trực tiếp. Các khuẩn lạc nấm hơi hồng trên tất cả các môi trường được thử nghiệm khi để trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời. *Spores* hoặc các thân quả khác không quan sát được dưới điều kiện bất kỳ. *Hyphae* (0,6-2,7 μ m) thường sinh trưởng bằng cách phân nhánh, đôi khi tạo thành cuộn hoàn hảo (ca. 40 μ m) và có bông cải trắng giống như thân (3,5-14 μ m) kết hợp với chúng. *Hyphae*, mới phát triển, sinh trưởng trong mẫu gọn sóng khi được quan sát trong tất cả các điều kiện với tất cả các môi trường được thử nghiệm. *Mycelium* trên PDA phủ đĩa trong 3-4 tuần và tạo ra mùi trái cây.

Mẫu vật gốc: Nội sinh thực vật trên *A. ananassoides*. Tiến hành thu gom trong Bolivian Amazon trong vùng sông Heath. Mẫu vật gốc chỉ từ một thân *A. annisoides*, được thu gom trong vùng trong vùng sông Heath. Môi trường nuôi cấy sống được đăng ký dưới tên *Muscodor crispans* tại bộ sưu tập nấm của Montana State University với số đăng ký là 2347 (2/29/2008). Cả hai trình tự 18S rADN và ITS của *M. crispans* (B-23) đã được đưa vào GenBank với số đăng ký là EU195297.

Bào tử túi: Bào tử túi của nấm này có thể tìm thấy trong *Xylariaceae*, dựa trên sự giống nhau của dữ liệu trình tự gen 18S rADN giữa *M. crispans* và họ *Xylariaceae*

trong cơ sở dữ liệu của GenBank (Bruns và các đồng tác giả, 1991; Reynolds và Taylor 1993; Mitchell và các đồng tác giả, 1995; Guarro và các đồng tác giả, 1999; Taylor và các đồng tác giả, 1999). Dữ liệu phân tử từ các trình tự gen 18S rADN của *M. crispans* thể hiện 100% độ tương đồng với 620 thể phân lập *M. albus*.

Từ nguyên học: Tên chủng, *Muscodor*, được lấy từ từ Latin có nghĩa là mùi mốc. Điều này thích hợp với chất lượng mùi tạo ra bởi ba lần phân lập lần thứ nhất chủng này. Tên loài là *crispans*, từ Latin nghĩa là "quăn, gợn sóng." Sợi nấm sinh trưởng trong mẫu gợn sóng thông thường.

Ví dụ 2a

Kính hiển vi điện tử vi phân. Kính hiển vi điện tử vi phân được tiến hành trên thể phân lập của ví dụ 1 sau quy trình được mô tả bởi Castillo và các đồng tác giả (2005). Các mẫu thạch aga và các mẫu cây chủ nâng đỡ nấm sinh trưởng được đặt trong gói giấy lọc sau đó được đặt trong glutaraldehyt 2% trong dung dịch đệm natri cacodylat 0,1 M (độ pH 7,2 – 7,4) với Triton X 100, chất làm ướt, được hút khí trong 5 phút và để qua đêm. Ngày hôm sau các mẫu này được rửa sáu lần $\times$ 15 phút thay đổi trong dung dịch đệm nước 1:1, sau đó 15 phút thay đổi trong etanol 10%, 15 phút thay đổi trong etanol 30%, 15 phút thay đổi trong etanol 50%, năm lần $\times$ 15 phút thay đổi trong etanol 70%, và sau đó được để qua đêm hoặc lâu hơn trong etanol 70%. Sau đó chúng được rửa sáu lần trong 15 phút trong etanol 95% và sau đó ba lần 15 phút thay đổi trong etanol 100%, sau đó ba lần 15 phút thay đổi trong axeton. Nguyên liệu vi sinh vật được làm khô, được phun tráng vàng, và ảnh được ghi bằng XL30 ESEM FEG trong chân không cao sử dụng thiết bị phát hiện Everhart-Thornley. Sợi nấm được đo sử dụng phần mềm Image J có thể on-line.

Ví dụ 2b

Sinh học nấm. Nấm tạo ra hệ sợi nấm màu trắng trong môi trường nền nước. Không có cấu trúc quả thể hoặc bào tử của loại bất kỳ được tìm thấy trong điều kiện phòng thí nghiệm bất kỳ. Sợi nấm có xu hướng quăn vào nhau để tạo thành cuộn. Loài *Muscodor* khác cũng có xu hướng này (Worapong và các đồng tác giả, 2001a). Sợi nấm phát triển mới có xu hướng sinh trưởng trong mẫu gợn sóng hơn là trong mẫu thẳng thông thường và thường quăn vào nhau để tạo thành cấu trúc dạng cuộn. Mẫu sinh trưởng này có thể chứng minh là hữu ích để làm công cụ chẩn đoán để xác định các

sinh vật này trong nghiên cứu tiêm mẫu *in-vivo*. Nấm cũng tạo ra các cấu trúc giống bông cải trắng có thể được kết nối với các sợi nấm bằng các sợi nhỏ. Các thân này không nảy mầm dưới điều kiện bất kỳ và vì vậy không thể hiện bào tử. Quan sát này dường như là duy nhất đối với *Muscodor* spp. và không được ghi lại là thể hiện ở các loài nấm nói chung.

Ví dụ 3a

Sinh trưởng và Bảo quản nấm. Được xác định rằng thể phân lập không tạo thành bào tử hoặc quả thể bất kỳ khác khi một số mẫu lá cây hoa cẩm chướng được đặt lên trên mặt của thể phân lập sinh trưởng hoạt tính để kích thích tạo thành bào tử, và không quan sát thấy cấu trúc này sau một tuần ủ ở nhiệt độ 23°C. Nấm cũng được đặt trên một số môi trường khác bao gồm thạch Xenluloza Aga (CA), Malt Aga (MA), và ngô Meal Aga (CMA) để xác định có biểu hiện tạo thành mầm hay không. Ngoại trừ tốc độ sinh trưởng chậm đi ở một số môi trường, không có các tính chất khác của nấm biểu hiện là khác biệt, và không quan sát thấy quả thể hoặc bào tử.

Một số phương pháp được sử dụng để bảo quản nấm được phân lập dưới dạng môi trường nuôi cấy sạch, một trong số các phương pháp này là kỹ thuật giấy lọc. Nấm cũng được để sinh trưởng trên PDA, và sau đó được cắt thành từng ô nhỏ và được đặt vào các lọ chứa 15% glyxerol và được bảo quản ở nhiệt độ -70°C. Nấm cũng được bảo quản ở nhiệt độ 4°C bằng phương pháp tương tự, sử dụng nước cất tốt hơn glyxerol. Tuy nhiên, phương pháp bảo quản hiệu quả nhất là trên các hạt lúa mạch vô trùng được gây nhiễm ở nhiệt độ -70°C.

Ví dụ 3b

Theo cách khác, các dấu hiệu phân loại khác của *M. crispans* được phân lập cũng được kiểm tra và được so sánh với *M. albus*. *Muscodor crispans* tạo ra hệ sợi nấm sinh trưởng chậm, dày đặc, màu trắng trên tất cả các môi trường được thử nghiệm, trừ khi được đặt trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời, làm cho hệ sợi nấm phát triển màu hồng nhạt. Ngược lại với *M. albus* tạo thành hệ sợi nấm hơi trắng trên tất cả các môi trường và điều kiện so sánh được thử nghiệm (Worapong và các đồng tác giả, 2001a). Sợi nấm trẻ này cũng sinh trưởng trong mẫu gọn sóng, chứ không có đặc tính mẫu như sợi thẳng như thường quan sát được với *M. albus* (Strobel và các đồng tác giả, 2001). Không có bào tử được tạo thành trên môi trường bất kỳ bao gồm môi trường chứa vật liệu cây chủ

hoặc lá cây hoa cẩm chướng. Sợi nấm thay đổi đường kính (0,8-3,6 μm) và thường quấn vào nhau để tạo thành cấu trúc phức tạp hơn và cuộn sợi nấm nhẵn nhụi (Các Fig.1-3). Các sợi nấm này nói chung lớn hơn sợi nấm của *M. albus* (Worapong và các đồng tác giả, 2001a).

Ví dụ 4

Phân tích định lượng hơi. Phương pháp được sử dụng để phân tích các khí này trong môi trường không khí ở môi trường nuôi cấy trên 10 ngày tuổi của hệ sợi nấm sinh trưởng trong đĩa Petri được so sánh với phương pháp được sử dụng trên thể phân lập gốc của chủng *M. albus* cz-620 (Strobel và các đồng tác giả, 2001). Trước tiên, bơm tiêm "Solid Phase Micro Extraction" được nung (Supelco) chứa 50/30 divinylbenzen/carburen trong polydimetylsiloxan trên sợi mềm dẻo ổn định được đặt qua lỗ nhỏ được khoan bên cạnh của đĩa Petri để nấm sinh trưởng. Sợi được tiếp xúc với pha hơi của nấm trong 45 phút. Sau đó bơm tiêm được đưa vào cổng nạp không phân chia của sắc ký khí Hewlett Packard 6890 chứa cột mao dẫn 30 m $\times$ 0,25 mm I.D. ZB Wax với độ dày màng là 0,50 mm. Cột được đặt nhiệt độ như sau: 30°C trong 2 phút sau đó đến nhiệt độ 220°C với tốc độ 5°C/phút chất mang khí là Heli cực tinh khiết (phân bố tại chỗ), và áp suất đầu cột ban đầu là 50 kPa. Trước khi bẫy khóa các chất bay hơi, sợi được đưa vào điều kiện 240°C trong 20 phút dưới dòng khí Heli. Thời gian tiêm mẫu là 30 giây được sử dụng để đưa mẫu sợi vào GC. Sắc ký khí được tương tác với máy phát hiện chọn lọc khối Hewlett Packard 5973 (phổ khối) hoạt động ở độ phân giải đơn vị. Dữ liệu thu được và dữ liệu xử lý được tiến hành trên hệ phần mềm Hewlett Packard ChemStation. Xác định ban đầu về các hợp chất trong hỗn hợp dễ bay hơi được tạo ra bởi nấm được tiến hành qua so sánh trong thư viện sử dụng cơ sở dữ liệu NIST.

Ví dụ 5a

Phân lập ADN của nấm và thu được trình tự ITS-5.8S rADN. Môi trường nuôi cấy 10 ngày tuổi của nấm này, sinh trưởng trên PDA, được sử dụng làm nguồn ADN sau khi ủ ở nhiệt độ 25°C sử dụng Rapid Homogenization: bộ khuếch đại ADN lá cây Amplification Kit (Cartagen; Washington, USA). Một số kỹ thuật được sử dụng có thể so sánh với kỹ thuật được sử dụng để xác định đặc tính di truyền học khác *M. albus* phân lập từ Australia (Ezra và các đồng tác giả, 2004). Các ô hệ sợi nấm được nuôi cấy

(0,5 cm²) được cắt từ các môi trường nuôi cấy một tuần tuổi. Thạch aga được cắt lọc khỏi đáy của các mẫu này, để loại bỏ càng nhiều aga càng tốt. Các mẫu này được đặt vào các lọ 1,5 ml Eppendorf và được ủ trong khoảng 10 phút ở nhiệt độ -80°C. Sau đó ADN được chiết theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất bộ dụng cụ này. ADN chiết được pha loãng (1:9) trong nước cất hai lần, nước cất và 1 µl mẫu được sử dụng để khuếch đại PCR. Trình tự rADN ITS1, 5.8S ITS2 được khuếch đại bằng phản ứng chuỗi polymeaza sử dụng chất khởi đầu ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGGG) và ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC). Quy trình PCR được tiến hành trong 14 µl hỗn hợp phản ứng chứa 1 µl ADN được chiết từ môi trường nuôi cấy nấm (pha loãng 1:9), 0,5 µl chất khởi đầu ITS1 và 0,5 µl chất khởi đầu ITS4, 7 µl hỗn hợp PCR cộng RedMixTM với 1,5 mM MgCl₂ (GeneChoice, Inc., Maryland, USA) và 5 µl ddH₂O PCR grade (Fisher Scientific, Wembley, Western Australia, Australia). Tiến hành khuếch đại PCR trong máy Biometra personal cyclor (Goettingen, Germany): 96°C trong 5 phút sau đó 35 chu trình ở nhiệt độ 95°C trong 45 giây, 50°C trong 45 giây và 72°C trong 45 giây, sau đó chu trình 72°C trong 5 phút. Các sản phẩm PCR được kiểm tra sử dụng điện di gel, trên agarose gel 1,3% trong 30 phút ở 100V với dung dịch đệm TAE (GelXLUltra V-2 từ Labnet International, Inc., (Woodbridge, NJ, USA) hoặc hệ tế bào Wealtec GES, từ (Wealtec Inc., Georgia, USA). Gel được ngâm trong 0,5 µg dung dịch ml-1 ethidi bromua trong 5 phút và sau đó rửa trong nước cất trong 5 phút. Tiến hành chụp ảnh gel dưới ánh sáng UV trong hệ Bio-Imaging (kiểu 202D; các hệ DNR-Imaging, Kiryat Anavim, Israel). Sản phẩm ~500 bp PCR được tinh chế sử dụng bộ tinh chế UltraClean PCR Clean Up DNA Purification Kit (MO BIO Laboratories, Inc., California, USA). Các sản phẩm tinh chế được xác định trình tự PCR trực tiếp. Tiến hành xác định trình tự trên cả hai sợi của sản phẩm PCR sử dụng các chất khởi đầu ITS1 và ITS4. Tiến hành xác định trình tự sử dụng chất kết thúc DYEnamic ET trên hệ phân tích MegaBACETM1000 (Danyel Biotech Ltd., Rehovot, Israel). Các trình tự được nộp vào GenBank trên web site NCBI. Các trình tự thu được trong nghiên cứu này được so sánh với cơ sở dữ liệu của GenBank sử dụng phân mềm BLAST trên web site NCBI.

Ví dụ 5b

Sinh học phân tử của *Muscodor crispans*. Các trình tự một phần của 18S rADN, ITS1, 5.8S, và ITS2 đã được chứng minh vùng ADN được bảo tồn cao và vì vậy rất hữu

ích trong phân loại các sinh vật (Mitchell và các đồng tác giả, 1995). Các trình tự một phần khác biệt về phân tử của *M. crispans* thu được và được so sánh với dữ liệu trong GenBank. Sau khi tìm kiếm các trình tự 18S rADN, 525bp của *M. crispans* được tìm kiếm BLAST nâng cao. Các kết quả thể hiện giống 100% với 525 bp của *M. albus* (AF324337). Phân tích so sánh của các trình tự rADN ITS 1&2 và 5.8S một phần của *M. crispans* đạt ITS 1 và 2 của *M. albus* (AF324336), *M. roseus* (AY034664), *X. enteroleuca* CBS 651.89 (AF163033), *X. arbuscula* CBS 452.63 (AF163029), và *Hypoxylon fragiform* (HFR246218) với độ tương đồng lần lượt là 95, 95, 90, 90, và 91%.

Ví dụ 5c

Trong khi một phần sáng chế được mô tả kết hợp với nấm mới được phân lập, cần hiểu rằng các biến thể và thể đột biến của nấm này-như được hiểu trong lĩnh vực kỹ thuật này-cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Các thuật ngữ "biến thể" và "thể đột biến" có thể được định nghĩa như được mô tả trong Patent Mỹ số 6,911,338, toàn bộ nội dung của nó được đưa ra đây để tham khảo. Do đó, sáng chế có thể đề cập đến các chủng biến thể hoặc thể đột biến của *M. crispans* và các chế phẩm tương ứng của chúng.

Ví dụ 6a

Các thử nghiệm sinh học cho *M. crispans* chống lại các tác nhân gây bệnh cho cây. Hoi của sản phẩm phụ dễ bay hơi của *M. crispans* được thử nghiệm hoạt tính ức chế vi sinh vật sử dụng thử nghiệm tương đối đơn giản, như đã được mô tả trong tài liệu (Strobel, và các đồng tác giả, 2001). Một miếng thạch aga (rộng 2 cm) trong đĩa Petri PDA tiêu chuẩn được loại bỏ và *M. crispans* được ủ và để sinh trưởng ở một bên của đĩa trong khoảng một tuần. Sau đó nấm hoặc vi khuẩn thử nghiệm được ủ ở mặt kia của đĩa Petri, sử dụng mẫu nhỏ thạch aga cho nấm. Các vi khuẩn và nấm men được phết thành vệt trên thạch aga (dài 1,5 cm). sau đó đĩa được bọc bằng một mảnh Parafilm và được ủ ở nhiệt độ 23°C trong 48 giờ. Hiệu quả của *M. crispans* trên sinh trưởng của các sinh vật thử nghiệm và được xác định trước hết bằng cách kiểm tra sự có mặt hoặc vắng mặt của sự sinh trưởng tại nơi tiêm mẫu. Nếu quan sát thấy sự sinh trưởng, tiến hành đo đường kính ở hai vị trí của hệ sợi nấm. Hoạt tính sinh học của hơi trên vi khuẩn và nấm men được đánh giá bằng cách dự tính mức độ sự sinh trưởng bị ảnh hưởng tính theo phần trăm so với độ sinh trưởng trên đĩa đối chứng (Strobel và các đồng tác giả, 2001).

Nếu không quan sát thấy sự sinh trưởng, các sinh vật thử nghiệm được loại bỏ một cách vô trùng từ đĩa thử nghiệm và được ủ trên đĩa PDA sạch tại một số thời điểm sau khi tiếp xúc với hơi để xác định khả năng sống của các sinh vật thử nghiệm.

Sử dụng các phương pháp đã biết, khi *M. crispans* được sinh trưởng trong 7-10 ngày ở nhiệt độ 23°C trên PDA, sản phẩm phụ dễ bay hơi của nấm chứng tỏ là gây chết một số nấm và vi khuẩn. Vi khuẩn Gram âm và Gram dương, cũng như nấm men và mỗi nhóm trong số các nhóm nấm chính, được sử dụng làm các sinh vật thử nghiệm. Hầu hết các sinh vật thử nghiệm bị ức chế 100% và chết sau 2 ngày tiếp xúc với sản phẩm phụ của *M. crispans*. (Xem Bảng 8.) Một số sinh vật thử nghiệm chịu đựng nổi các chất bay hơi của *M. crispans* sau hai ngày tiếp xúc, nhưng sự sinh trưởng của chúng bị ức chế đáng kể bởi sản phẩm phụ dễ bay hơi, và chúng bị diệt sau bốn ngày tiếp xúc. Các sinh vật này bao gồm *Penicillium roquefortii*, *Bipolaris sorokiniana*, *Stagonospora* sp., và *Fusarium oxysporum*, trong số những chủng khác.

Bảng 8. Hiệu quả của sản phẩm phụ dễ bay hơi của *M. crispans* trên nhiều nấm gây bệnh cho cây và một số vi khuẩn các loại. Giá trị ức chế được tính toán là % của độ ức chế sinh trưởng như được so sánh với các sinh vật thử nghiệm đối chứng không được xử lý. Thử nghiệm được lặp lại ít nhất 3 lần với các kết quả tương đương. Độ ức chế các sinh vật thử nghiệm được ghi 48 giờ sau khi tiếp xúc với nấm và hơi của sản phẩm phụ của nấm dễ bay hơi.

Các sinh vật thử nghiệm	Ức chế (%) sau 48 giờ tiếp xúc	Sống sót sau 48 giờ tiếp xúc	Sống sót sau 96 giờ tiếp xúc
<i>Alternaria helianthi</i>	100	N	N
<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	Y	N
<i>Bacillus subtilis</i> *	100	N	N
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	100	Y	N
<i>Botrytis cinerea</i>	100	N	N
<i>Candida albicans</i> *	100	N	N
<i>Cephalosporium graminum</i>	100	N	N
<i>Ceratocystis ulmi</i>	100	Y	N
<i>Cochliobolus carbonum</i>	100	N	N
<i>Colletotrichum lagenarium</i>	100	N	N

Các sinh vật thử nghiệm	Ức chế (%) sau 48 giờ tiếp xúc	Sống sót sau 48 giờ tiếp xúc	Sống sót sau 96 giờ tiếp xúc
<i>Curvularia lunata</i>	100	Y	N
<i>Drechslera teres</i>	100	N	N
<i>Drechslera tritici-repentis</i>	100	N	N
<i>Drechslera portulacae</i>	100	N	N
<i>Escherichia coli</i> *	100	N	N
<i>Fusarium avenaceum</i>	100	N	N
<i>Fusarium culmorum</i>	100	N	N
<i>Fusarium oxysporum</i>	100	Y	N
<i>Fusarium solani</i>	50	Y	Y
<i>Ganoderma</i> sp.	100	Y	N
<i>Geotrichum candidum</i>	100	Y	N
<i>Mycosphaerella fijiensis</i>	100	N	N
<i>Penicillium roquefortii</i>	100	Y	N
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	100	N	N
<i>Phytophthora palmivora</i>	100	N	N
<i>Pythium ultimum</i>	100	N	N
<i>Rhizoctonia solani</i>	100	N	N
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> *	90-95	N	N
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	100	N	N
<i>Stagonospora</i> sp.	100	Y	N
<i>Tapesia yallundae</i>	100	N	N
<i>Trichoderma viridae</i>	10	Y	Y
<i>Verticillium dahliae</i>	100	Y	N
<i>Xanthomonas axonipodis</i> p.v. <i>citri</i> *	100	N	N

*Lưu ý rằng các sinh vật này được phết thành vệt lên đĩa thử nghiệm, và xác định là sinh trưởng nếu xuất hiện sự phát triển của khuẩn lạc. Sau thời gian tiếp xúc thích hợp với sản phẩm phụ dễ bay hơi của *M. crispans*, vùng được phết thành vệt được so sánh với độ sinh trưởng trên đĩa đối chứng và dự đoán % ức chế. Mỗi sinh vật cuối cùng được phết thành vệt lại trên đĩa PDA để thử nghiệm khả năng sống.

Ví dụ 6b

Tham khảo Bảng 8, hiệu quả của hơi của sản phẩm phụ để bay hơi của *M. crispans* trên Botrytis là rất đáng chú ý -- đặc biệt là trên *B. cinerea*, gây bệnh mốc xám cho nhiều cây khác nhau. Hiệu quả ức chế và diệt vi khuẩn cũng có thể áp dụng cho *Botrytis allii* gây bệnh mốc xám thối cổ hành tây. Không bị giới hạn, các kết quả này đề xuất sáng chế có thể được sử dụng hiệu quả để thay đổi bề mặt sản phẩm hoặc môi trường bảo quản sau thu hoạch để ngăn ngừa nấm mốc và các loại tương tự. Tương tự, các kết quả này đề xuất việc sử dụng chế phẩm FFC theo sáng chế để xử lý sản phẩm hành tây (ví dụ, hành tây Vidalia), họ tây và tỏi để ngăn ngừa hoặc kiểm soát sự sinh trưởng của nấm.

Ví dụ 6c

Hơi từ các chất bay hơi của *M. crispans* cũng kháng một cách hữu hiệu nhiều loại nấm gây thối rữa và nấm sinh trưởng trên hạt (ví dụ, ngô, lúa mỳ, lúa mạch, gạo, v.v.), và sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với các loại quả và rau khác nhau như khoai tây, củ cải, cà rốt, khoai lang -- hạt, quả hoặc rau, trước hoặc sau thu hoạch, trong bảo quản hoặc vận chuyển. Do đó, các chế phẩm và các phương pháp theo sáng chế có thể được áp dụng cho các vấn đề chủ yếu liên quan đến nấm trong lĩnh vực nông nghiệp và chế biến thực phẩm, và có thể được sử dụng cho các sinh vật đích như nhưng không giới hạn ở *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Diplodia*, *Fusarium* và *Gibberella*. (Xem, ví dụ, Bảng 8.)

Ví dụ 6d

Hơi từ sản phẩm phụ *M. crispans* kháng một cách hiệu quả nấm *Mycosphaerella fijiensis*. (Xem, Bảng 8.) Do đó, sáng chế có thể được sử dụng để xử lý bệnh đốm lá Black Sigatoka liên quan đến nấm của cây chuối và cây mã đề.

Ví dụ 6e

Bệnh thối mục cây có múi đe dọa sự tồn tại của ngành công nghiệp cây có múi của Mỹ. Như được thể hiện trong Bảng 8, hơi từ sản phẩm phụ của *M. crispans* diệt một cách hiệu quả tác nhân gây bệnh thối mục *Xanthomonas axonipodis* p.v. *citri*. Các kết quả này đề xuất rằng các chế phẩm FFC và các phương pháp liên quan theo sáng chế có thể được sử dụng một cách hiệu quả để xử lý hạt, cây giống, vườn cây ăn quả, thiết bị

hoặc máy móc (bao gồm, ví dụ, trang thiết bị và quần áo của công nhân) và/hoặc quá thu hoạch được để ngăn ngừa, ức chế hoặc kiểm soát bệnh thối mục.

Ví dụ 7

Theo dõi các thử nghiệm và kết quả của Ví dụ 6, các thử nghiệm sinh học với hơi của sản phẩm phụ dễ bay hơi của *M. crispans* được tiến hành với các nấm và vi khuẩn gây bệnh cho các cây và người khác nhau. (Xem, Bảng 9, dưới đây). Nấm được sinh trưởng trong đĩa X với PDA trong một góc và được ủ trong 3-5 ngày ở nhiệt độ trong phòng trước khi tiêm mẫu với một hoặc nhiều sinh vật thử nghiệm. Đĩa đối chứng được tiến hành cùng lúc với tiêm mẫu và sinh trưởng trong cùng môi trường tối ưu cho cá nhân các sinh vật thử nghiệm. Các sinh vật thử nghiệm, *Staphylococcus aureus* 6538, *Salmonella choleraesuis* 10708, *Escherichia coli* 11229, *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA), và *Vibrio cholerae* ATCC 14035, được sinh trưởng trong Trypticase Soy Agar (TSA) ở ba góc còn lại của đĩa X. Mỗi sinh vật ba đĩa, với các đối chứng thích hợp, được tiếp xúc với hơi của sản phẩm phụ của nấm trong khoảng hai, bốn và sáu ngày ở nhiệt độ trong phòng. Để kiểm tra khả năng sống của vi sinh vật thử nghiệm, nấm được loại bỏ bằng phương pháp vật lý, và các đĩa đối chứng và thử nghiệm được đặt trong lò ủ ở nhiệt độ $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ trong tối thiểu ba đến bốn ngày, ngoại trừ *Mycobacterium* spp. được ủ thêm khoảng một tháng nữa. Điều này được thực hiện để xác định xem hơi của sản phẩm phụ có ức chế hay diệt các sinh vật thử nghiệm hay không, và khả năng sống của các sinh vật được đánh giá. Quy trình tương tự được lặp lại với *Yersinia pestis* và *Bacillus anthracis*, ngoại trừ là thời gian tiếp xúc thay đổi thành 3 và 5 ngày, và *Y. pestis* được ủ ở nhiệt độ $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ và trong 5% CO_2 sau khi được tiếp xúc với nấm. *Mycobacterium marinum* ATCC 927 được sinh trưởng trong thạch 7H11 aga (Difco Co) trong ba góc còn lại, sử dụng quy trình nêu trên, và được ủ ở nhiệt độ $33\pm 1^{\circ}\text{C}$. Lặp lại thử nghiệm ba lần giống hệt nhau với mỗi các sinh vật.

Với tất cả các chủng *Mycobacterium tuberculosis*, cũng sinh trưởng trong 7H11, phần thạch aga được loại bỏ khỏi đĩa và nấm B-23 (trên PDA) được đưa vào. Sau đó các đĩa này được ủ từ môi trường nuôi cấy canh thang. Các đĩa đối chứng, không có nấm, cũng được ủ. Tại mỗi thời điểm định trước, phần thạch aga được loại bỏ khỏi các đĩa và được chuyển sang đĩa trống riêng và được đặt trong lò ủ ở nhiệt độ $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ để xác định khả năng sống của vi sinh vật. Các đĩa được đặt trong túi nhựa có khăn giấy làm ẩm để ngăn ngừa bị khô.

Pseudomonas aeruginosa 15442 và *Burkholderia thailandensis* 70038 đều được sinh trưởng trong thạch aga TSA. Chúng được để ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian sinh trưởng tối ưu cho các sinh vật và sau đó đưa vào lò ủ ở nhiệt độ $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ và quan sát. Lưu ý rằng tất cả các thử nghiệm sử dụng các tác nhân gây bệnh cho người được tiến hành trong các điều kiện nghiêm ngặt và an toàn sinh học được liên bang phê chuẩn. Tất cả các thử nghiệm trên các tác nhân gây bệnh cho người được lặp lại ít nhất hai lần.

Bảng 9. Hiệu quả của sản phẩm phụ dễ bay hơi của *M. crispans* trên các loài vi khuẩn Gram + và Gram – khác nhau. Thời gian tiếp xúc thay đổi theo các sinh vật cụ thể được quan tâm, và khả năng sống của các sinh vật thử nghiệm được xác định sau giai đoạn này (được liệt kê là sinh trưởng hoặc không sinh trưởng).

Sinh vật	loại thành tế bào	Thời gian tiếp xúc	Sinh trưởng/ Không sinh trưởng (với sự có mặt của <i>M. crispans</i>)	Nhận xét
<i>S. aureus</i> 6538	Gram +	2, 4 và 6 ngày	Không sinh trưởng	
<i>S. choleraesuis</i> 10708	Gram -	2, 4 và 6 ngày	Không sinh trưởng	
<i>P. aeruginosa</i> 15442	Gram -	2 ngày	Sinh trưởng	Không nhìn thấy khác biệt giữa đĩa tiếp xúc và đĩa đối chứng.
<i>M. marinum</i> ATCC 927	Axit-fast	2, 4 và 6 ngày	Không sinh trưởng	
<i>B. thailandensis</i> 70038	Gram -	2 ngày	Sinh trưởng	Không nhìn thấy khác biệt giữa đĩa tiếp xúc và đĩa đối chứng.
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Gram +	2, 4 và 6 ngày	Sinh trưởng	Không có khuẩn lạc thực sự tạo thành, chỉ có màng sinh trưởng nhẹ.
<i>E. coli</i> 11229	Gram -	2, 4 và 6 ngày	Sinh trưởng	Không nhìn thấy khác biệt giữa đĩa tiếp xúc và đĩa đối chứng.

Sinh vật	loại thành tế bào	Thời gian tiếp xúc	Sinh trưởng/ Không sinh trưởng (với sự có mặt của <i>M. crispans</i>)	Nhận xét
<i>V. cholerae</i> ATCC 14035	Gram -	2, 4 và 6 ngày	Sinh trưởng	Sinh trưởng tiếp xúc ở 4 và 6 ngày thể hiện ức chế nhẹ so với đĩa đối chứng.
<i>Y. pestis</i> 91-3365	Gram -	3 và 5 ngày	Không sinh trưởng	
<i>B. anthracis</i> A2084	Gram +	3 và 5 ngày	Sinh trưởng	Chỉ vài khuẩn lạc còn lại sau khi tiếp xúc và khi được ủ, sinh trưởng tăng
<i>M. tuberculosis</i> 3081 (kháng isoniazid)	Axit-fast	2, 4, 7 và 14 ngày	Không sinh trưởng	
<i>M. tuberculosis</i> 50001106 (kháng streptomycin)	Axit-fast	2, 4, 7 và 14 ngày	Không sinh trưởng	
<i>M. tuberculosis</i> 59501228 (kháng streptomycin/ethambutol)	Axit-fast	2, 4, 7 và 14 ngày	Không sinh trưởng	
<i>M. tuberculosis</i> 59501867 (nhạy cảm)	Axit-fast	2, 4, 7 và 14 ngày	Không sinh trưởng	

Như được thể hiện trong Bảng 9, toàn bộ bốn vi khuẩn axit-fast (các chủng *Mycobacterium tuberculosis*) bị diệt sau 2, 4, 7, và 14 ngày tiếp xúc với *M. crispans* sinh trưởng tích cực (môi trường nuôi cấy 6-10 ngày tuổi). Vi khuẩn khác bị diệt sau ít nhất 2 ngày tiếp xúc với *M. crispans* là: *Staphylococcus aureus* 6538, *Mycobacterium marinum*, *Yersinia pestis*, và *Salmonella choleraesuis*. Hơi bị hoặc hoàn toàn không bị ảnh hưởng khi tiếp xúc với *M. crispans* là: *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia thailandensis*, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli*, *Vibrio cholera*, và *Bacillus anthracis*. Tuy nhiên, sự sinh trưởng của *S. aureus* (MRSA) chỉ là màng rất nhẹ chứ không phải là khuẩn lạc rõ rệt và vì vậy nó bị ảnh hưởng bởi các VOC của *M. crispans*. Ngoài ra, đĩa *B. anthracis* chỉ có vài khuẩn lạc còn lại trên đĩa bị tiếp xúc, nhưng nhiều khuẩn lạc sinh trưởng hơn sau khi loại bỏ *M. crispans* và sau đó ủ. Vì vậy,

dự đoán rằng hơi của sản phẩm phụ của *M. crispans* chỉ hiệu quả để diệt các tế bào sinh dưỡng của *B. anthracis*, nhưng không diệt được bào tử. Một tháng sau thời gian quan sát cuối cùng (14 ngày), quan sát thấy không sinh trưởng trên các đĩa được tiếp xúc với nấm, và quan sát thấy sinh trưởng trên tất cả các đĩa đối chứng.

Các thử nghiệm của các ví dụ dưới đây minh họa các phương án khác nhau của các chế phẩm theo sáng chế và việc sử dụng chúng. Một chế phẩm đại diện, nhưng không giới hạn ở lượng, nồng độ hoặc tỷ lệ thành phần, được cung cấp trong Bảng 10. Trong một số phương án, lượng axit isobutyric có thể được thay thế bằng axit propanoic với lượng bằng hoặc khoảng xấp xỉ bằng. Trong một số phương án này hoặc phương án khác, etanol có thể được thay thế bằng axit axetic và/hoặc 2-butanon có thể được thay thế bằng axit axetic hoặc axit propanoic. Cũng như vậy, các este khác nhau có thể được thay thế bằng các chất đồng phân hoặc đồng đẳng (ví dụ, không bị giới hạn, 3-metylbutyl este, của axit propanoic, thay cho 2-metylbutyl este của chúng) của các este được liệt kê. Các kết quả quan sát được trong các ví dụ dưới đây thu được với chế phẩm của các hợp chất được liệt kê trong Bảng 10. Tương tự, các chế phẩm khác nhau khác có thể được sử dụng với hiệu quả tương đương.

Bảng 10. Chế phẩm của thực phẩm và các hợp chất hương liệu hữu ích trong kiểm soát các vi sinh vật có hại.

Hợp chất* thuộc nhóm các FFC
Axetaldehyt
Etyl axetat
2-Butanon
Axit propanoic, 2-metyl-, methyl este
Etanol
Axit axetic, 2-metylpropyl este
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylpropyl este
1-Propanol, 2-metyl-
1-Butanol, 3-metyl-, axetat
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylbutyl este
1-Butanol, 3-metyl-
Axit propanoic, 2-metyl-

Axit axetic, 2-phenyletyl este

*Mỗi hợp chất này xuất hiện dưới dạng lỏng ở nhiệt độ trong phòng và có thể được sử dụng với nhau để tạo thành chế phẩm lỏng sẵn sàng bay hơi ở nhiệt độ trong phòng hoặc nhiệt độ và áp suất cho phép bay hơi.

Chế phẩm FFC được sử dụng để kiểm soát bệnh cho cây.

Ví dụ 8a

Khả năng tương đối của các FFC để ức chế và diệt các sinh vật thử nghiệm được đo. Dung dịch thử nghiệm được chuẩn bị bằng cách cho các hợp chất vào trong các lọ. Hỗn hợp thử nghiệm (20 microlit) được đặt trong cốc siêu nhỏ đã khử trùng trước (4x6 mm) đặt ở trung tâm của đĩa Petri chứa PDA. Khi không sử dụng, hỗn hợp này được bảo quản ở nhiệt độ 0°C. Các sinh vật thử nghiệm (như được nêu trong Bảng 9), mới sinh trưởng và được cắt trên khối thạch aga 3 mm³ (ít nhất 3 khối thạch aga với mỗi nấm thử nghiệm), được đặt cách cốc siêu nhỏ từ 2-3 cm và đĩa này được bọc bằng hai lớp parafilm. Tiến hành đo sự sinh trưởng của hệ sợi nấm từ cạnh của khối thạch aga sau một khoảng thời gian. Tuy nhiên, trong trường hợp *Geotrichum candidum* chúng được phết thành vệt và kiểm tra sự sinh trưởng mới có thể nhìn thấy và khả năng sống bằng cách phết lại từ vùng góc của đĩa thạch aga được ủ. Các đối chứng thích hợp cũng được thiết lập trong đó dung dịch thử nghiệm không được đặt vào cốc siêu nhỏ. Thử nghiệm trên 20 µl hỗn hợp FFC được tiến hành ít nhất hai lần với các kết quả tương đương.

Ví dụ 8b

Khả năng sống của các vi sinh vật thử nghiệm được tiến hành bằng cách loại bỏ một cách vô trùng khối thạch aga nhỏ và đặt nó lên đĩa PDA và quan sát sinh trưởng sau 1-3 ngày, hoặc bằng cách phết lại *Geotrichum candidum* trên đĩa PDA sạch. Theo cách này khả năng sống của các vi sinh vật có thể được đánh giá. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 11a chỉ ra rằng các sinh vật được liệt kê dưới đây tất cả đều bị ức chế bởi chế phẩm FFC cụ thể và trong hầu hết các trường hợp bị diệt bằng cách tiếp xúc với chúng. Các vi sinh vật này bao gồm *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp. trên pho mát, *Cercospora beticola*, *Verticillium dahliae*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora palmivora*, *Mycophaearea fijiensis*, *Rhizoctonia solani*, *Aspergillus fumigatus*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma viridi*, *Ganoderma* sp., *Curvularia* sp., và *Botrytis alli*. Vì vậy,

khi được ứng dụng cụ thể, chế phẩm FFC có khả năng kiểm soát các vi sinh vật gây bệnh này. Các kết quả này cho thấy nhiều vi sinh vật gây bệnh khác có thể bị ức chế hoặc diệt bởi hỗn hợp này.

Bảng 11a. Danh sách ngắn gọn các vi sinh vật gây bệnh cho cây khác nhau và độ nhạy cảm của chúng với chế phẩm FFC tương ứng theo sáng chế, khi tiếp xúc với 20 microlít hỗn hợp trong 2 ngày ở nhiệt độ 23°C trên thạch dextroza khoai tây (PDA) trong đĩa Petri được bọc bằng màng parafilm. Cuối cùng các mẫu aga chứa vi sinh vật thử nghiệm được thử nghiệm khả năng sống sau khi được loại bỏ và đặt vào đĩa Petri PDA thông thường.

Các sinh vật thử nghiệm	Hiệu quả trên sinh trưởng	Sống sót hoặc chết sau 48 giờ
<i>Aspergillus niger</i>	Không sinh trưởng	Chết
<i>Penicillium</i> sp. trên pho mát	95% ức chế	Sống sót
<i>Cercospora beticola</i>	Không sinh trưởng	Chết
<i>Verticillium dahliae</i>	Không sinh trưởng	Chết
<i>Pythium ultimum</i>	Không sinh trưởng	Chết
<i>Phytophthora palmivora</i>	Không sinh trưởng	Chết
<i>Mycophaeoraella fijiensis</i>	Không sinh trưởng	Chết
<i>Rhizoctonia solani</i>	Không sinh trưởng	Chết
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Không sinh trưởng	Chết
<i>Geotrichum candidum</i>	Không ức chế	Sống sót
<i>Trichoderma viridi</i>	60% ức chế	Sống sót
<i>Ganoderma</i> sp	Không sinh trưởng	Chết
<i>Curvularia</i> sp	Không sinh trưởng	Sống sót
<i>Botrytis alli</i>	Không sinh trưởng	Chết

Ví dụ 8c

Tham khảo dữ liệu của Bảng 11a, hoạt tính của chế phẩm FFC được sử dụng cho thấy, trong một số trường hợp, hiệu quả kháng vi sinh vật là khác biệt và/hoặc cải thiện, như được so sánh với *M. crispans* và hơi của sản phẩm phụ dễ bay hơi của chúng.

Ví dụ 8d

Tham khảo ví dụ nêu trên và sử dụng các kỹ thuật và quy trình so sánh, các tác nhân gây bệnh này được xử lý bằng hơi axit propanoic. Các kết quả so sánh được thể hiện trong Bảng 11b, dưới đây, với dữ liệu của Bảng 11a được ghi lại trong các cột A và B, và hiệu quả quan sát được của axit propanoic, một mình, được nêu trong cột C (% ức chế). Ở 20 μ l, lượng axit propanoic có thể so sánh được với mức axit propanoic trong một số phương án theo sáng chế. Axit propanoic là đại diện cho các hợp chất một mình khác nhau trong lĩnh vực kỹ thuật đã biết là có một số hiệu quả kháng vi sinh vật. Tuy nhiên, như được chứng minh bởi các dữ liệu so sánh của Bảng 11b, các chế phẩm này tạo ra kết quả mới và hiệp đồng trên và ngoài mong đợi một cách độc lập từ thành phần đã biết một cách độc lập ngoài phạm vi của sáng chế. Như được thể hiện ở đây, trong khi các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này tốt nhất chỉ là ức chế, thì các chế phẩm theo sáng chế loại bỏ (tức là, diệt) nhiều tác nhân gây bệnh được thử nghiệm. Các kết quả tương tự cũng có thể thu được để so sánh với các hợp chất/các chế phẩm đã biết được sử dụng một mình khác.

Bảng 11b. Các kết quả có thể so sánh thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật axit propanoic được cải thiện.

Các sinh vật thử nghiệm	Hiệu quả trên Sinh trưởng (A)	Sống sót hoặc chết sau 48 giờ (B)	Chỉ có axit propanoic với lượng 20 μ l sau 24 giờ (C)
<i>Aspergillus niger</i>	Không sinh trưởng	Chết	0% Sống sót
<i>Penicillium</i> sp. trên pho mát	95% ức chế	Sống sót	
<i>Cercospora beticola</i>	Không sinh trưởng	Chết	75% Sống sót
<i>Verticillium dahliae</i>	Không sinh trưởng	Chết	
<i>Pythium ultimum</i>	Không sinh trưởng	Chết	80% Sống sót
<i>Phytophthora palmivora</i>	Không sinh trưởng	Chết	100% ND*
<i>Mycophaeuraella fijiensis</i>	Không sinh trưởng	Chết	

Các sinh vật thử nghiệm	Hiệu quả trên Sinh trưởng (A)	Sống sót hoặc chết sau 48 giờ (B)	Chỉ có axit propanoic với lượng 20μl sau 24 giờ (C)
<i>Rhizoctonia solani</i>	Không sinh trưởng	Chết	80% Sống sót
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Không sinh trưởng	Chết	0% Sống sót
<i>Geotrichum candidum</i>	Không ức chế	Sống sót	0% Sống sót
<i>Trichoderma viridi</i>	60% ức chế	Sống sót	
<i>Ganoderma</i> sp	Không sinh trưởng	Chết	
<i>Curvularia</i> sp	Không sinh trưởng	Sống sót	
<i>Botrytis alli</i>	Không sinh trưởng	Chết	0% Sống sót

100% ức chế, nhưng khả năng sống không được xác định (ND).

Sử dụng các chế phẩm FFC để điều trị bệnh lao và các tác nhân gây bệnh cho người khác

Ví dụ 9a

Bốn chủng *M. tuberculosis* phân lập kháng thuốc trên lâm sàng (5901867, 50001106, 59501228 và 3081) được tiếp xúc với chế phẩm FFC. Với mỗi thể phân lập, 10 μL môi trường nuôi cấy được đặt ở giữa đĩa thạch aga 7H11 và sau đó được trải đều trên toàn bộ bề mặt của đĩa bằng một vòng nhựa vô trùng. Các nắp của ống vi ly tâm 0,65 ml (nắp siêu nhỏ) được cắt ra và được hấp ở nhiệt độ 121°C trong 15 phút trong ống có thể hấp có nắp vặn. Kẹp vô trùng được sử dụng để loại bỏ nắp siêu nhỏ được đặt ở trung tâm của đĩa được ủ. Các đĩa đối chứng (một đĩa với mỗi thể phân lập) không có nắp siêu nhỏ. Ba đĩa với mỗi thể phân lập được tiến hành và 5, 10, hoặc 20 μL FFC được đặt trong mỗi nắp trong số ba nắp siêu nhỏ của đĩa tương ứng. Các đĩa sau đó được đặt vào túi nhựa có khóa kéo với khăn giấy ướt và được ủ ở nhiệt độ 36°C ± 1°C trong khoảng 28 ngày. Sau khoảng 48 giờ tiếp xúc, nắp siêu nhỏ được loại bỏ và sắp đặt và các đĩa được ủ lại. Khăn giấy được kiểm tra thường xuyên và được làm ẩm lại để ngăn ngừa môi trường bị mất nước. Tất cả các đĩa đối chứng đều có sinh trưởng. Tất cả các đĩa được tiếp xúc với 5 và 10 μL hơi có sinh trưởng. Chỉ một thể phân lập

(50001106) được tiếp xúc với 20 μ L hơi có sinh trưởng. Lưu ý rằng mỗi thể phân lập của *M. tuberculosis* là chủng vi sinh vật kháng thuốc trong lâm sàng. Tất cả các thử nghiệm được tiến hành trong các điều kiện phòng thí nghiệm an toàn sinh học được chấp thuận bởi chính phủ Mỹ.

Các đĩa đối chứng và các đĩa được tiếp xúc với 5 và 10 μ L hơi được đặt trên 4/14/08. Các đĩa được tiếp xúc với 20 μ L hơi được đặt trên 4/22/08. Tất cả các đĩa được kiểm tra nhiều lần. Tiến hành kiểm tra lần cuối cùng trên 5/19/08 và các sinh vật này không còn sống như được thể hiện trong Bảng 12 dưới dạng dấu "--."

Bảng 12. Hiệu quả ức chế của các FFC trong sinh trưởng của *M. tuberculosis* kháng thuốc

M. tuberculosis được phân lập	5 μ L	10 μ L	20 μ L
5901867	+	+	--
50001106	+	+	+
59501228	+	+	--
3081	+	+	--

Các hiệu quả thực tế của chế phẩm FFC theo sáng chế trên chủng TB khác được thể hiện trong Fig.1: Hiệu quả diệt của các FFC trên chủng (110107) của *M. tuberculosis*. Đĩa bên trái là đĩa đối chứng không được xử lý bằng 20 microlít các FFC trong 48 giờ, trong khi đó đĩa bên phải được xử lý trong 48 giờ. Cả hai đĩa sau đó được ủ trong 28 ngày ở nhiệt độ 36°C. Có thể quan sát thấy từ các thử nghiệm này rằng các FFC có khả năng diệt $\frac{3}{4}$ thể phân lập kháng thuốc của *M. tuberculosis*. Điều này đem lại triển vọng cho thử nghiệm trên động vật và cuối cùng là trên người sử dụng các chế phẩm FFC này trong điều trị lao.

Ví dụ 9b

Phù hợp với dữ liệu của ví dụ nêu trên, các phương án mở rộng hơn theo sáng chế có thể được chứng minh. Các môi trường nuôi cấy sinh tồn và các môi trường thích hợp được chuẩn bị sử dụng các nguyên liệu và kỹ thuật đã được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, tiếp xúc với chế phẩm FFC theo sáng chế (ví dụ, bằng cách tiếp xúc trực tiếp với chế phẩm lỏng hoặc hơi của chúng) có thể tạo ra sự ức chế sinh trưởng hoặc chết của vi khuẩn coliform dưới đây (nhuộm gram và hình thái học): *Escherichia coli* (gram âm, hình que), *Salmonella enteritidis* (gram

âm, hình que), *Pseudomonas aeruginosa* (gram âm, hình que), *Staphylococcus aureus* (gram dương, hình cầu) và *Listeria monocytogenes* (gram dương, hình que).

Tương tự, các kết quả này cũng có thể thu được và được chứng minh với các vi khuẩn gram âm và/hoặc gram dương khác nhau khác như nhưng không giới hạn ở *Bacillus cereus* (gram dương, hình que) và *Clostridium botulinum* (gram dương, hình que).

Ví dụ 10

IC₅₀ được tính toán cho một số sinh vật thử nghiệm được thử nghiệm kháng chế phẩm nhân tạo bất chước sản phẩm phụ dễ bay hơi của *M. crispans*. (Xem, Bảng 1.) Tham khảo Bảng 12, tất cả các sinh vật thử nghiệm bị ức chế 100% nhờ sử dụng 15 µL hỗn hợp nhân tạo của lĩnh vực kỹ thuật này, và một số trong số chúng bị diệt với lượng ít là 10 µL. *Verticillium dahliae*, *Botrytis cinerea*, và *Aspergillus fumigatus* không bị diệt ngay cả với lượng hỗn hợp lớn nhất (30 µL), nhưng tất cả ba chủng này bị ức chế 100% bởi 10 hoặc 15 µL hỗn hợp thử nghiệm. Các sinh vật nhạy cảm nhất là *Pythium ultimum*, bị diệt bởi 10 µL và 100% ức chế với 2,5 µL vì vậy giá trị IC₅₀ không phản ánh một cách cần thiết khả năng diệt vi khuẩn của các chất bay hơi vì cả *P. ultimum* và *Botrytis cinerea* có IC₅₀ hầu như bằng nhau nhưng một vi khuẩn bị diệt và vi khuẩn kia thì không (Bảng 13).

Bảng 13. IC₅₀ của hỗn hợp nhân tạo trong lĩnh vực kỹ thuật này của các thành phần của sản phẩm phụ dễ bay hơi của *M. crispans* trên các tác nhân gây bệnh cho cây khác nhau. Lượng hỗn hợp, nằm trong khoảng từ 1 µL đến 30 µL, được bổ sung vào lỗ bằng nhựa vô trùng ở trung tâm của đĩa thử nghiệm, và các sinh vật gây bệnh được đặt xung quang cạnh của đĩa. Khả năng sống được đánh giá sau 48 giờ và được so sánh với đĩa đối chứng không được bổ sung hỗn hợp nhưng có đặt lỗ vô trùng. Các sinh vật bất kỳ thể hiện là không sinh trưởng sau khoảng thời gian xác định thì được coi là bị ức chế 100%, trong khi đó các sinh vật thể hiện là không sinh trưởng sau 48 giờ và không sinh trưởng sau khi phân lập vào PDA ngay sau 48 giờ đánh giá thì được coi là chết. Tính toán IC₅₀ được xác định bằng cách chia lượng hỗn hợp nhân tạo cần để gây ra 50% ức chế (tính bằng µL) cho tổng khoảng không khí trong đĩa Petri (50 mL).

Các sinh vật thử nghiệm	Thể tích tối thiểu gây 100% ức chế (μL)	Thể tích gây chết (μL)	IC 50 (μL mL ⁻¹)
<i>Pythium ultimum</i>	2,0	10,0	0,030 ± 0,004
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	5,0	30,0	0,056 ± 0,009
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	n/a	>30	0,15 ± 0,016
<i>Botrytis cinerea</i>	10,0	>30	0,035 ± 0,004
<i>Rhizoctonia solani</i>	20,0	15,0	0,039 ± 0,006
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2,0	20	0,031 ± 0,003
<i>Verticillium dahliae</i>	5,0	>30	0,062 ± 0,004
<i>Phytophthora palmivora</i>	1,0	5,0	<0,02

Sử dụng chế phẩm FFC để xử lý rác thải để kiểm soát vi sinh vật thối rữa.

Ví dụ 11

Hỗn hợp nhân tạo gồm các vật, thường được coi là rác thải, được cho vào hai hộp. các vật này bao gồm rác thải ngũ cốc, các phần của hoa, rác thải thịt, sợi giấy, và các rác thải linh tinh khác. Đặt vào một hộp cốc thủy tinh nhỏ chứa 0,2 ml chế phẩm FFC nêu trên. Đặt vào hộp kia cốc thủy tinh không chứa các FFC. Cả hai hộp được ủ trong 10 ngày ở nhiệt độ 80°F. Cuối thời gian này các hộp được mở và ktra. Quan sát thấy rằng không xuất hiện thối rữa trong hộp chứa các FFC. Mặt khác, hộp đối chứng kia chuyển hoàn toàn thành một khối thối rữa. Việc sử dụng chế phẩm FFC để xử lý rác thải là cơ hội để bảo vệ rác thải khỏi bị thối rữa trong khi vận chuyển đến các nhà máy trên khắp thế giới để lên men rác thải thành các sản phẩm năng lượng liên quan như metan. Fig.4 minh họa chế phẩm FFC bảo vệ rác thải khỏi bị thối rữa do vi sinh vật trong các điều kiện thử nghiệm.

Sử dụng chế phẩm FFC để xử lý pho mát để kiểm soát thối rữa do nấm

Ví dụ 12

Lọ chứa 10 ml chế phẩm FFC nêu trên như được kết hợp trong hoặc với và/hoặc được sử dụng để ngâm một miếng nhựa cuộn trong suốt Saran® kích thước 25,4 x 25,4 cm (10 x 10 inch). Cuộn nhựa này được ngâm trong chế phẩm FFC trong 6 ngày, được để nhỏ giọt cho khô và sau đó sử dụng làm giấy gói miếng pho mát được ủ kỹ với

chúng pho mát *Penicillium* sp. Trong thử nghiệm khác, miếng pho mát được ủ với nấm sau đó bọc bằng cuộn Saran® thông thường và sau đó được tiêm 10 microlít các FFC. Các đối chứng thích hợp như được thể hiện trong phần minh họa ở trên với một mình *Penicillium* sp., một mình giấy gói được xử lý, một mình các FFC và đối chứng (không xử lý). Các miếng pho mát thử nghiệm được ủ trong 1 tuần ở nhiệt độ trong phòng và sau đó các phần của mỗi miếng pho mát được ăn thử bởi nhân viên phòng thí nghiệm. Lưu ý rằng không có ảnh hưởng bất lợi nào trong bảo quản theo cách này với vị của pho mát khi được so sánh với miếng pho mát tươi mới cắt được bảo quản trong tủ lạnh. Toàn bộ các miếng pho mát bị nhiễm nấm đều không ăn được. Có thể quan sát thấy từ Fig.2 rằng sử dụng chế phẩm FFC trong giấy gói hoặc giấy gói được xử lý bảo vệ gần như hoàn hảo miếng pho mát khỏi bị thối rữa và mốc pho mát bởi *Penicillium* sp. Điều này đúng với các giấy gói được xử lý và tiêm 10 microlít các FFC với các miếng pho mát chỉ được bọc Saran đơn thuần một mình.

Sử dụng chế phẩm FFC để xử lý thực phẩm và các phần của cây (ví dụ, sản phẩm của cây) để kiểm soát thối rữa do nấm

Ví dụ 13a

Một số củ khoai mỡ thu được cho các thử nghiệm này. Được cho rằng bề mặt nhiễm vi sinh vật sẽ gây thối rữa đủ nhiều để thành ổ bệnh. Vì vậy, hai miếng khoai mỡ được đặt trong hộp nhựa có nắp được hàn kín với sự có mặt của một cốc thủy tinh nhỏ chứa 0,2 ml các FFC. Hộp đối chứng chứa cốc thủy tinh không chứa các FFC. Các hộp được hàn kín sau đó giữ ở nhiệt độ trong phòng trong 10 ngày và sau đó kiểm tra. Quan sát thấy rằng không phát triển nhiễm khuẩn bề mặt và sâu hơn ở các miếng khoai mỡ được xử lý, trong khi đó củ khoai mỡ đối chứng phát triển nhiều vùng bề mặt bị hỏng và thối rữa như được minh họa trong Fig.3: khoai mỡ không được xử lý ở bên trái và bên phải được xử lý bằng các FFC. Có diện tích lớn thối rữa do nấm ở mặt trên của miếng khoai mỡ bên trái.

Ví dụ 13b

Đối với mục đích sử dụng cuối cùng có liên quan, chế phẩm FFC và/hoặc thành phần của chúng có thể được phủ lên quả thu hoạch được hoặc sản phẩm rau để thay thế cho các lớp phủ tự nhiên, sáp hoặc lớp phủ bảo vệ trên đó. Ví dụ, quả bí được thu hoạch và sản phẩm tương tự, có cắt thân, có thể được xử lý bằng chế phẩm FFC (ví dụ, dung

cách phun) để kiểm soát/ức chế vi sinh vật sinh trưởng, cải thiện khả năng bán hàng và kéo dài tuổi thọ của sản phẩm.

Ví dụ 14

Chế phẩm FFC tổng hợp theo sáng chế, theo các chế phẩm được mô tả ngắn gọn trong các Bảng 2-7 và 10, được so sánh ưu tiên với sử dụng *M. albus* sống làm đối chứng về bệnh cho cây mầm củ cải đường (*Beta vulgaris* L.) gây ra bởi *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* AG 2-2 và *Aphanomyces cochlioides*, và giun tròn gây nốt sần ở rễ, *Meloidogyne incognita*, trên cà chua (*Lycopersicon esculentum*). Chế phẩm tổng hợp giúp kiểm soát bệnh chết rạp cây con tương đương với chế phẩm gốc tinh bột đối với nấm còn sống cho cả ba tác nhân gây bệnh cho củ cải đường, và làm giảm đáng kể số lượng nốt sần đáng trên rễ cà chua. Các nghiên cứu về tỷ lệ chế phẩm FFC được sử dụng thể hiện rằng nồng độ 2 $\mu\text{l}/\text{cm}^3$ và 0,75 $\mu\text{l}/\text{cm}^3$ chất mang đất trồng/môi trường thành phần tạo ra sự kiểm soát tốt lần lượt với bệnh chết rạp cây con *Rhizoctonia* và *Pythium*, của củ cải đường. Nồng độ 5 $\mu\text{l}/\text{cm}^3$ cát tạo ra 100% chết trong 24h đối với *M. incognita*. Để so sánh, sử dụng nghiên cứu *in vitro*, tỷ lệ tương tự sinh học tạo ra ít nốt sần đáng hơn so với khi chế phẩm lúa mạch xử lý đất bị nhiễm *M. albus* được dùng với nồng độ 5g/l.

Ví dụ 15

Corynebacterium michiganese gây hại cà chua nghiêm trọng do héo và thối mô. Môi trường nuôi cấy vi khuẩn được phết thành vệt trên canh thang thạch aga dinh dưỡng và nắp nhỏ được đặt ở giữa đĩa. Cho 20 microlít chế phẩm FFC được điều chế nhân tạo trong phòng thí nghiệm theo sáng chế vào giữa đĩa. Đĩa đối chứng không chứa chế phẩm FFC. Các đĩa được ủ trong 24 giờ, sau đó được kiểm tra. Không có sinh trưởng của vi khuẩn trên đĩa được xử lý bằng FFC. (Xem, Fig. 5.) Như vậy, chế phẩm FFC theo sáng chế có thể được sử dụng, không bị giới hạn, để xử lý hạt, cây hoặc sản phẩm cà chua. Theo cách khác, chế phẩm FFC có thể được trộn với nước làm nước ngâm đất trước khi trồng cây.

Ví dụ 16

Tham khảo ví dụ nêu trên và một số ví dụ trước đó, nhiều chế phẩm FFC theo sáng chế có thể được sử dụng để phòng hoặc xử lý tình trạng bệnh đang hoạt động, như

bệnh bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, các bệnh ảnh hưởng đến củ cải đường, cà chua, hành tây, hạt, chuối và cây mã đề, và cây có mùi trong số những loại khác.

Thông thường hơn, các chế phẩm và phương pháp này có thể đề cập đến bước xử lý và cải thiện khả năng sống của hạt, cây, sản phẩm và/hoặc các sản phẩm thực phẩm có liên quan – để phòng hoặc với sự có mặt của nấm hoặc vi khuẩn, không tính đến các giai đoạn của vòng đời (ví dụ, bào tử, v.v.), phát triển, sinh trưởng hoặc nhiễm. Do đó, như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, các chế phẩm này có thể bao gồm và/hoặc được dùng, không kể đến dạng dùng (ví dụ bột, các hạt, dạng lỏng, phun sương, huyền phù, hơi, bột nhão, gel, lớp phủ, v.v.), trên bề mặt hoặc tiếp xúc với hạt, cây mầm hoặc cây (ví dụ, rễ, thân, lá, v.v.) hoặc sản phẩm của chúng (ví dụ, trước hoặc sau thu hoạch).

Ví dụ 17

Các chế phẩm FFC và/hoặc các thành phần của chúng, một mình hoặc có thể được kết hợp vào các chế phẩm khác nhau khác, có thể được sử dụng trong các mục đích sử dụng cuối cùng khác nhau trong công nghiệp chế biến gia cầm, sản phẩm và thực phẩm liên quan. Một số ứng dụng không giới hạn được đề xuất trong các ví dụ dưới đây.

Ví dụ 17a

Chế phẩm FFC theo sáng chế, theo các chế phẩm được mô tả ngắn gọn trong các Bảng 2-7 và 10, được sử dụng để xử lý nhiều sản phẩm trứng, bao gồm nhưng không giới hạn ở toàn bộ quả trứng, và toàn bộ quả trứng lỏng, toàn bộ quả trứng được bổ sung dưỡng chất, và toàn bộ quả trứng lỏng được bổ sung dưỡng chất, toàn bộ quả trứng muối, và toàn bộ quả trứng lỏng muối, toàn bộ quả trứng ngâm đường, và toàn bộ quả trứng lỏng ngâm đường, và hỗn hợp các sản phẩm này -- lỏng hay không -- có bổ sung đường, syrô rắn, syrô, dextroza và dextrin và/hoặc gôm và chất độn, cùng với hỗn hợp trứng được đánh và hỗn hợp trứng được đánh lỏng, các sản phẩm trứng và các sản phẩm lỏng và hỗn hợp của chúng được làm giảm cholesteol, và các sản phẩm liên quan chứa ít hơn khoảng 10% chất rắn trứng, vỏ trứng và các thành phần trứng bao gồm nhưng không giới hạn ở lòng đỏ trứng giảm cholesteol. Thuật ngữ này được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và có nghĩa thông thường được sử dụng trong công nghiệp và theo quy định.

Ví dụ 17b

Tương tự, các chế phẩm FFC khác nhau theo sáng chế, bao gồm nhưng không giới hạn ở các chế phẩm sử dụng axit propanoic thay thế ít nhất một phần cho axit isobutyric, có thể được sử dụng trong sản xuất và/hoặc đóng gói để kéo dài tuổi thọ (ESL) cho các sản phẩm trứng lỏng, bao gồm nhưng không giới hạn ở toàn bộ quả trứng, hỗn hợp được bổ sung dưỡng chất, các sản phẩm lỏng lòng đỏ trứng và lòng trắng trứng.

Ví dụ 17c

Tương tự, các chế phẩm FFC khác nhau theo sáng chế có thể được sử dụng trong quá trình xử lý vỏ trứng rỗng bị nứt. Như được hiểu trong lĩnh vực kỹ thuật này, sử dụng các kỹ thuật và thiết bị xử lý, chế phẩm FFC và/hoặc thành phần của chúng-một mình hoặc được kết hợp làm một phần của chế phẩm khác-có thể được phủ (ví dụ, được phun lên) vỏ rỗng trước khi xử lý tiếp, ví dụ thành sản phẩm dinh dưỡng. Tương tự, một hoặc nhiều chế phẩm theo sáng chế có thể được phủ lên hoặc được kết hợp với hoặc được sử dụng để xử lý sản phẩm xác, thịt hoặc sản phẩm thịt gia cầm có liên quan, sử dụng máy móc và kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Nói rộng ra, một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng sáng chế cũng có thể được sử dụng với các sản phẩm xác, thịt, thịt chế biến của động vật khác và tất cả các loại động vật có thể ăn thịt (ví dụ, động vật có vú, chim, cá, ốc, nghêu, động vật giáp xác, hải sản và các loài có thể ăn được khác), như cũng được minh họa trong một hoặc nhiều ví dụ dưới đây.

Ví dụ 17d

Mở rộng từ ví dụ nêu trên, chế phẩm FFC này có thể được kết hợp vào sản phẩm dinh dưỡng chế biến (ví dụ, viên nang hoặc viên nén thảo dược hoặc gia vị) để ức chế sự sinh trưởng của vi khuẩn/nấm.

Ví dụ 17e

Trong khi các ví dụ trước để minh họa các ứng dụng chế biến khác nhau, sáng chế có thể được sử dụng rộng rãi hơn trong phạm vi ngành sản xuất trứng và gia cầm. Không bị giới hạn, các chế phẩm FFC hoặc các thành phần có liên quan theo sáng chế có thể được đưa vào quy trình sản xuất gia cầm hoặc trứng bất kỳ và/hoặc dùng cho

thiết bị hoặc máy móc có liên quan. Ví dụ, xử lý không khí hoặc bề mặt chuồng gà hoặc chỗ sinh trưởng/nằm có thể được xử lý, làm giảm và/hoặc ức chế nhiễm vi sinh vật từ không khí và dính trên bề mặt và vi sinh vật sinh trưởng trên đó.

Ví dụ 18

Chế phẩm FFC hoặc một hoặc nhiều thành phần của chúng có thể được kết hợp vào các sản phẩm thực phẩm chế biến khác nhau khác, bao gồm các sản phẩm thực phẩm có nước có tác dụng hỗ trợ của vi sinh vật sinh trưởng. Ví dụ, chế phẩm hoặc thành phần có thể được kết hợp vào đất mùn, bơ lạc bằng cách phát tán trên bề mặt, nhúng và hỗn hợp của chúng. Liên quan đến ngành công nghiệp sản xuất và chế biến lạc, các chế phẩm và các thành phần có liên quan theo sáng chế có thể được phủ lên lạc trước và sau khi bóc vỏ, sau khi rửa lạc lần đầu, vào sản phẩm chế biến có liên quan (ví dụ, bơ lạc) và/hoặc trên bao bì thiết bị và vật liệu bao gói.

Ví dụ 19

Tương tự, chế phẩm/thành phần FFC theo sáng chế (ví dụ, một hoặc nhiều chế phẩm của các Bảng 2-7 và 10, ở trên, hoặc các loại khác được mô tả ngắn gọn ở đây) có thể được sử dụng làm hoặc được kết hợp vào các sản phẩm chăm sóc da khác nhau hoặc các sản phẩm xử lý, không tính đến dạng bào chế (ví dụ, lotion, thuốc mỡ, kem, v.v..).

Ví dụ 19a

Ví dụ, mụn thường do một hoặc nhiều loài vi khuẩn xâm nhập qua nang lông ở da gây ra. Chứng minh hơn nữa việc sử dụng theo sáng chế, chế phẩm dạng nước của chế phẩm FFC được thể axit propanoic theo sáng chế được bào chế và được sử dụng để điều trị cho bệnh nhân nam vị thành niên bị mụn liên quan đến tuổi. Một lần dùng mỗi ba ngày trong ba tuần làm giảm đáng kể, quan sát được bằng mắt thường, số lượng và độ nặng của các tổn thương do mụn.

Ví dụ 19b

Chứng minh cách sử dụng khác theo sáng chế trong phạm vi sản phẩm tiêu dùng và/hoặc sản phẩm chăm sóc sức khỏe, chế phẩm FFC theo sáng chế như được kết hợp (ở khoảng 2% trọng lượng) trong một đại diện của chế phẩm kem dùng cho da. Tham khảo Fig.6, đĩa PDA được chuẩn bị và được ủ trong một ngày với kem đối chứng (không chứa thành phần hoặc chế phẩm FFC), phía trên bên trái; kem đối chứng nhiễm

tế bào vi khuẩn, phía trên bên phải; kem "được xử lý" bằng chế phẩm FFC, phía dưới bên trái; và kem được xử lý có nhiễm vi khuẩn, phía dưới bên phải. Như được thể hiện, sự sinh trưởng của vi khuẩn trong sản phẩm kem bôi da bị ngăn chặn nhờ kết hợp chế phẩm FFC theo sáng chế với nồng độ vừa phải.

Ví dụ 20

Tương tự, sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với các sản phẩm vệ sinh, chăm sóc điều trị răng miệng. Không bị giới hạn, các ví dụ dưới đây chứng minh việc sử dụng chế phẩm FFC được thể axit propanoic như được mô tả ở trên. Theo cách khác, các chế phẩm FFC khác nhau khác có thể được sử dụng, theo các chế phẩm của các Bảng 2-7 và 10, ở trên, hoặc các biến thể của chúng như được mô tả ở đây.

Ví dụ 20a

Ví dụ, minh họa một sản phẩm chăm sóc/vệ sinh miệng, sản phẩm nước súc miệng/rửa miệng được bào chế sử dụng khoảng 1% chế phẩm FFC này. Sản phẩm này được bào chế bằng cách kết hợp chế phẩm FFC này vào sản phẩm nước súc miệng/rửa miệng có bán trên thị trường. Các chế phẩm FFC theo sáng chế, không tính đến nồng độ hoặc liều dùng, cũng có thể được kết hợp vào bột nhào/gel đánh răng hoặc gôm, sản phẩm chăm sóc miệng, hoặc răng liên quan.

Ví dụ 20b

Liken phẳng (LP) là một bệnh tự miễn của da có thể xuất hiện bên trong miệng hoặc trên các màng nhầy khác. Khi các màng trở nên bất ổn, vi khuẩn hoặc nấm có thể đến cư trú ở các vùng này và gây đau, đỏ, nhiễm bệnh, chảy máu và sưng phồng các mô. Để giảm nguyên nhân do vi khuẩn của bệnh này, sản phẩm rửa miệng được bào chế chứa dung dịch nước 1% của chế phẩm FFC. Miệng của bệnh nhân được rửa hai lần đến ba lần mỗi ngày trong ít nhất 3-4 phút và sau đó nhổ ra. Ảnh chụp được thực hiện trước khi điều trị và sau ba tuần điều trị. Sau 3 tuần, các kết quả thể hiện làm giảm hầu như hoàn toàn nướu đỏ, kèm theo làm giảm gần như hoàn toàn đau miệng và nướu cũng như màu của nướu và các màng nhầy khác gần như trở về bình thường. Bệnh nhân thông báo gần như hết đau/chảy máu hoàn toàn và các triệu chứng chính do LP gây ra, như được so sánh với các thử nghiệm trước.

Ví dụ 20c

Dung dịch chế phẩm FFC 1% nêu trên trong sản phẩm rửa miệng được sử dụng để làm giảm mảng bám răng và điều trị các vấn đề khác phát sinh từ vi khuẩn kết hợp với các vấn đề răng miệng. Sử dụng mỗi ngày, với 3-4 lần súc miệng/ngày, trong hai tháng làm cho rất ít hoặc không có mảng bám răng được tạo thành. Nếu được ghi nhận ban đầu là đỏ, sưng, và dễ gây chảy máu (từ lưu ý thực sự từ các bác sĩ nha khoa) thì bây giờ biểu hiện màu gần như bình thường và không bị chảy máu khi kiểm tra bằng dụng cụ khám.

Ví dụ 20d

Để xác định hiệu quả của chế phẩm FFC này, nước bọt trong miệng từ ví dụ trước được đặt trên một bên của đĩa thạch aga dinh dưỡng, nước bọt sử dụng nước súc miệng có bán ngoài thị trường không chứa FFC được đặt ở mặt kia của đĩa này, và nước bọt không súc miệng được đặt trên đĩa khác. Các nước bọt này sau đó được ủ trong hai ngày. Để so sánh: nước bọt không súc miệng có mức vi khuẩn cao; nước bọt sử dụng nước súc miệng không chứa FFC có, như dự đoán trước, lượng vi khuẩn giảm; nhưng nước bọt được súc bằng FFC không phát hiện thấy vi khuẩn.

Ví dụ 20e

Trong ví dụ khác, một cuộc phẫu thuật miệng được thử nghiệm chế phẩm FFC (ví dụ, dưới dạng sản phẩm rửa/súc miệng 1% có bán trên thị trường) trước khi phẫu thuật miệng. Bệnh nhân được lấy nước bọt không xử lý đặt lên đĩa thạch aga (thạch aga dinh dưỡng), được rửa bằng dung dịch rửa FFC và đặt nước bọt này trên đĩa thạch aga khác. Sau hai – ba ngày ủ, không có khuẩn lạc vi khuẩn trên đĩa được rửa bằng FCC, cho thấy sử dụng trước và sau phẫu thuật miệng có tác dụng điều trị hoặc ức chế các bệnh nhiễm khuẩn răng hoặc miệng khác.

Ví dụ 21

Bệnh viêm vú ở bò sữa gây ra bởi nhiều loại vi khuẩn kết hợp với bầu vú. Theo các phương án không giới hạn khác nhau theo sáng chế, chế phẩm FFC hoặc chế phẩm FFC được cải biến rhamnolipit như được mô tả dưới đây có thể được phủ lên bầu vú tại thời điểm vắt sữa để làm giảm nguy cơ nhiễm vi khuẩn sản phẩm sữa.

Ví dụ 22

Các chế phẩm FFC khác nhau theo sáng chế có thể được sử dụng để làm giảm vi sinh vật có mặt trên màng sinh học quan trọng trong công nghiệp/ngành y. Đối với ngành y, các sản phẩm từ các bộ phận giả trong nha khoa đến khớp nhân tạo, có thể được xử lý bằng chế phẩm FFC theo sáng chế trước khi cấy phẫu thuật.

Ví dụ 23

Các chế phẩm FFC theo sáng chế có thể được sử dụng để kiểm soát nấm và vi khuẩn thổi rửa của hàng may mặc đặc biệt là sản phẩm tiếp xúc với môi trường ẩm (tức là, da, giày, ủng, dây đai, cà vạt, thắt lưng). Ví dụ, sử dụng 0,2ml chế phẩm FFC 1% như được mô tả ở trên được đặt trong ủng bị ướt. Ủng được đóng kín để giữ hơi trong vài giờ, sau đó được tiếp xúc với không khí khô. Các kết quả thể hiện là không có thổi rửa, và ủng được làm khô mà không còn mùi mốc.

Ví dụ 24

Các chế phẩm của sáng chế có thể bao gồm các thành phần FFC khác nhau và có thể được bào chế như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này theo sáng chế. Không bị giới hạn, không tính đến mục đích sử dụng hoặc xử lý cuối cùng, một hoặc nhiều thành phần FFC này và/hoặc các chế phẩm liên quan có thể được kết hợp vào các chế phẩm chống vi khuẩn hoặc chống nấm mốc khác nhau. Không bị giới hạn, chế phẩm có thể bao gồm thành phần chất hoạt động bề mặt rhamnolipit -- một mình hoặc kết hợp với thành phần chống vi khuẩn và/hoặc chống nấm mốc đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Với thành phần sau này, chế phẩm có thể bao gồm thành phần syringomycin và/hoặc pseudomycin.

Cụ thể hơn, như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, thành phần rhamnolipit có thể bao gồm một hoặc nhiều hợp chất được mô tả ngắn gọn trong các patent Mỹ số 5,455,232 và 5,767,090, mỗi tài liệu được đưa toàn bộ ra đây để tham khảo. Hợp chất rhamnolipit này, cho dù đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc được phân lập và/hoặc xác định đặc tính sau này, có thể là cấu trúc được bộc lộ ở đây hoặc được thay đổi, cũng sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, không bị giới hạn, xuất hiện trong tự nhiên hay có nguồn gốc tổng hợp (ví dụ, từ loài *Pseudomonas* hoặc chủng của chúng) dưới dạng axit và/hoặc muối axit tương ứng, hợp chất này có thể được thế alkyl- và/hoặc axyl- (ví dụ,

metyl và/hoặc axetyl, tương ứng, và đồng đẳng cao hơn của chúng) tại một hoặc nhiều vị trí sacarit hydroxy. Tương tự, cho dù ở dạng mono- và/hoặc dirhamno, hợp chất bất kỳ này có thể được thay đổi bởi phần nửa phân tử kỵ nước. Đối với ví dụ không giới hạn, tham khảo các Fig.7A và 7B, m và n có thể độc lập nằm trong khoảng từ 4 đến 20, không tính đến gốc no, không no đơn hay đa không no, phần nửa phân tử kỵ nước được proton hóa, có mặt dưới dạng bazơ kết hợp với ion trái dấu bất kỳ hoặc dẫn xuất. Phù hợp với các phương án rộng hơn theo sáng chế, rhamnolipit hữu ích trong các chế phẩm này có cấu trúc chỉ được giới hạn bởi chức năng hoạt động bề mặt tạo thành và/hoặc hiệu quả kháng vi sinh vật kết hợp với chế phẩm FFC theo sáng chế. Do đó, các biến thể về cấu trúc được mô tả sơ bộ trong Công bố quốc tế WO 99/43334 cũng được xem là nội dung của sáng chế, công bố này được đưa toàn bộ ra đây để tham khảo. Xem, các thành phần/cấu trúc rhamnolipit không giới hạn của các Fig.8-9.

Không quan tâm đến bản chất kháng vi sinh vật hoặc rhamnolipit, thành phần chất mang của các chế phẩm theo sáng chế có thể bao gồm chất lỏng được chọn từ, nhưng không giới hạn ở, nước, rượu, dầu, khí và các kết hợp của chúng. Ví dụ, trong khi các chế phẩm này không giới hạn về lượng hoặc nồng độ (ví dụ, % trọng lượng) của lượng kháng vi sinh vật hoặc rhamnolipit, thì chất mang bao gồm nước và/hoặc rượu có thể được sử dụng để tạo thành chế phẩm, các tính chất vận chuyển, bảo quản và/hoặc việc ứng dụng mong muốn, cũng như nồng độ và hoạt tính tạo thành một cách hiệu quả.

Các thành phần chất hoạt động bề mặt rhamnolipit này, các thành phần chống nấm mốc và/hoặc các chế phẩm liên quan bao gồm nhưng không giới hạn ở các thành phần được mô tả trong seri đơn được nộp cùng nhau số 11/351,572, cụ thể là các ví dụ 9-15 của chúng, đơn này được nộp ngày 10 tháng Hai, 2006 và được đưa ra toàn bộ ở đây để tham khảo. Các thành phần chất hoạt động bề mặt rhamnolipit này, các thành phần chống nấm mốc và/hoặc các chế phẩm liên quan có thể được kết hợp hoặc được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều thành phần FFC và/hoặc chế phẩm FFC theo sáng chế. Các thành phần chống vi khuẩn và/hoặc chống nấm mốc đã biết là các chất đã biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và có bán trên thị trường. Các thành phần rhamnolipit khác nhau và các chế phẩm chất hoạt động bề mặt có liên quan có bán bởi Jeneil Biosurfactant Co., LLC, dưới nhãn hiệu là Zonix.

Ví dụ 25

Ví dụ, minh họa về các biến thể có liên quan đến rhamnolipit, các chế phẩm có thể được điều chế với một hoặc nhiều thành phần rhamnolipit và một hoặc nhiều chế phẩm FFC theo sáng chế (và/hoặc một hoặc nhiều thành phần FFC của chúng), để sử dụng làm hoặc kết hợp với nước rửa hoặc xử lý sau thu hoạch nhiều loại quả và rau. Không bị giới hạn, trong chế phẩm, thành phần rhamnolipit, (ví dụ, như được mô tả trong đơn '572 nêu trên) có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 0,1% trọng lượng đến 99,9% trọng lượng, và chế phẩm/thành phần FFC (ví dụ, các chế phẩm của các Bảng 2-7 và 10, ở trên) có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 99,9% trọng lượng đến 0,1% trọng lượng. Tham khảo quy định EPA có thể áp dụng, không có giới hạn về dung sai cho các chất hoạt động bề mặt Zonix rhamnolipit nêu trên. Tương tự, không có giới hạn về dung sai cho các chế phẩm /các thành phần FFC theo sáng chế. Do đó, thực phẩm được xử lý bằng các chế phẩm rhamnolipit/FFC này có thể được tiêu thụ mà không cần rửa lại.

Ví dụ 25a

Theo những điều trên, chế phẩm rhamnolipit/FFC có thể được sử dụng để rửa các loại quả có múi. Một chế phẩm rửa/ngâm được bào chế sử dụng dung dịch 8,5% rhamnolipit (trong nước) và dung dịch 5% FFC (ví dụ, chế phẩm của Bảng 10 trong nước). Một gallon (3,785 lít) hỗn hợp 95:5 (thể tích/thể tích) được pha loãng thành 425 gallon (1.608,625 lít). Sử dụng các quy trình đã biết trong ngành công nghiệp này hoặc các yêu cầu về độ an toàn hiện hành hoặc các quy định của liên bang, chế phẩm được sử dụng một cách hiệu quả để làm sạch và thấm vào vỏ quả có múi-diệt cả vi khuẩn và nấm bề mặt ngoài và trong. Trong khi đó các kết quả hiệu quả được chứng minh với quả có múi, các chế phẩm rhamnolipit/FFC này và các chế phẩm có liên quan có thể được sử dụng kết hợp tương ứng với bước rửa hoặc xử lý sau thu hoạch quả hoặc rau khác (ví dụ, không bị giới hạn, quả việt quất, cà chua, nho, hành tây, củ cải đường, khoai lang, táo, lê, dưa và các sản phẩm nhiệt đới khác nhau khác nhau nhưng không giới hạn ở quả nhàu và acai, v.v.). Các loại quả/rau được rửa hoặc được xử lý bằng các chế phẩm FFC của ví dụ này có thể được nhận biết dưới dạng an toàn và vệ sinh cho người sử dụng.

Ví dụ 25b

Dù có hoặc không được kết hợp với thành phần rhamnolipit, các chế phẩm FFC khác nhau theo sáng chế có thể được sử dụng để xử lý các loại quả và rau khác nhau (ví dụ, không bị giới hạn, lê, đào, táo, cà chua, mơ, xoài và các quả tương tự) trước hoặc khi đóng gói hoặc đóng hộp để làm giảm nhiễm vi khuẩn/nấm.

Ví dụ 26

Nguồn các hợp chất thành phần FFC. Các hợp chất thành phần để sử dụng trong các chế phẩm theo sáng chế có thể có bán trên thị trường hoặc được điều chế sử dụng các kỹ thuật tổng hợp đã được biết rõ hoặc được mô tả trong tài liệu. (Xem, ví dụ, Patent Mỹ số 6,911,338, toàn bộ nội dung của nó được đưa ra đây để tham khảo.)

Theo cách khác, có thể được ưu tiên kết hợp với một số phương án -- bao gồm nhưng không giới hạn ở sản phẩm thực phẩm và đồ uống cho động vật và người, các sản phẩm chăm sóc cá nhân và mỹ phẩm và các kỹ thuật chế biến và sản xuất có liên quan, các hợp chất thành phần GRAS và các chế phẩm FFC có liên quan theo sáng chế có thể có nguồn gốc tự nhiên bằng các kỹ thuật lên men, và có thể mua dưới nhãn hiệu Flavorzon của Jeneil Biosurfactant Co., LLC của Saukville, Wisconsin. Do đó, các chế phẩm khác nhau theo sáng chế, phụ thuộc vào việc sử dụng hoặc ứng dụng, có thể bao gồm các hợp chất có nguồn gốc từ lên men vi khuẩn, các hợp chất được tổng hợp hóa học và các hỗn hợp khác nhau của các hợp chất lên men và có nguồn gốc tổng hợp.

Tham khảo nội dung trên, các ví dụ dưới đây minh họa không giới hạn việc sử dụng hoặc kết hợp một hoặc nhiều chế phẩm theo sáng chế, việc sử dụng hoặc kết hợp này được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này cũng thuộc phạm vi của sáng chế, và được mô tả trong phạm vi một số patent trước đây, mỗi tài liệu này được đưa ra đây để tham khảo nhằm mục đích chứng minh rằng một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu việc sử dụng này hoặc kết hợp theo sáng chế.

Ví dụ 27

Minh họa các phương án khác, các chế phẩm khác nhau theo sáng chế có thể được bào chế để sử dụng làm chất phụ gia cho đồ uống hoa quả, như được mô tả trong Patent Mỹ số 6,566,349 được đưa ra đây để tham khảo. Ví dụ, các chế phẩm theo sáng

chế có thể được bổ sung vào nước quả kết hợp với hoặc dưới dạng chất thay thế cho hợp chất hương liệu và/hoặc chất chống oxy hóa, hoặc được phủ trước lên quả và rau trước khi chế biến, để gia tăng tuổi thọ của sản phẩm. Như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, các chế phẩm của Patent '349 có thể được cải biến để bao gồm một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế với lượng phù hợp với mục đích sử dụng cuối cùng bất kỳ có thể được xác định ngay mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 28

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng trong bảo quản trà và các đồ uống hỗn hợp trà/quả, như được mô tả trong Patent Mỹ số 5,866,182 được đưa ra đây để tham khảo. Ví dụ, các chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với hoặc dưới dạng thay thế cho K-sorbat và/ Na-benzoat, axit ascorbic, và dimetyl dicacbonat. Như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, các đồ uống của Patent '182 (ví dụ, ví dụ 1 của chúng) có thể được cải biến để bao gồm một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế, lượng các chất này dùng cho các ứng dụng cụ thể bất kỳ có thể được xác định ngay mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 29

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng trong bảo quản và/hoặc gia tăng hiệu quả kháng vi sinh vật của chất chống mồ hôi và chất khử mùi, như được mô tả trong Patent Mỹ số 5,176,903 được đưa ra đây để tham khảo. Ví dụ, các chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với hoặc dưới dạng thay thế cho paraben, imidazolidinyl ure, rượu quaterni-15, benzylic, phenoxyetanol, và các chất bảo quản thích hợp khác nhau (ví dụ, như được mô tả trong các ví dụ 1-3 của chúng) và được bổ sung vào chất chống mồ hôi/chất khử mùi để bảo vệ khỏi sự phân hủy, kéo dài tuổi thọ của sản phẩm và/hoặc gia tăng hiệu quả, một hoặc nhiều chế phẩm này với lượng có thể được xác định ngay mà không cần các thử nghiệm không cần thiết bởi một chuyên gia bình thường trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Ví dụ 30

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng trong chất chống mồ hôi, như được mô tả trong Patent Mỹ số 4,548,808 được đưa ra đây để tham khảo. Ví dụ, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được bổ sung vào các sản

phẩm chống mồ hôi không cần khan hoàn toàn được mô tả trong Patent '808 (ví dụ, các Ví dụ 1-6 của chúng) với lượng hiệu quả được xác định ngay mà không cần các thử nghiệm không cần thiết bởi một chuyên gia bình thường trong lĩnh vực kỹ thuật này -- để kéo dài tuổi thọ và gia tăng hiệu quả kháng vi sinh vật.

Ví dụ 31

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng làm thức ăn cho động vật/vật nuôi, ví dụ thực phẩm cho chó, như được mô tả trong Patent Mỹ số 3,119,691 được đưa ra đây để tham khảo. Một chuyên gia bình thường trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ nhận ra rằng một hoặc nhiều chế phẩm này có thể được bổ sung vào thực phẩm dùng cho chó hydrat hóa thấp, thực phẩm dùng cho chó có độ ẩm cao, và thực phẩm dùng cho chó tái hydrat hóa để (ví dụ, vào các sản phẩm được mô tả ở đây) kéo dài tuổi thọ của các sản phẩm được mô tả trong Patent '691, (các) chế phẩm này với lượng được xác định ngay mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 32

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng trong phân mèo, như được mô tả trong các patent Mỹ số 5,060,598 và 4,721,059 được đưa ra đây để tham khảo. Các vật liệu hấp thụ khác nhau, bao gồm, ví dụ, đất sét, cây linh thảo, mẫu gỗ, và mùn cưa, và các vật liệu gia tăng độ hấp thụ bao gồm chất độn kiểu đất sét (Patent '059) và than bùn (Patent '598) được sử dụng để hấp thụ nước tiểu và kiểm soát mùi. Một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với các nguyên liệu này (ví dụ, được phun lên hoặc được kết hợp vào đó) để làm giảm hoặc loại bỏ hoạt động của vi sinh vật và kiểm soát mùi sau khi sử dụng phân, (các) chế phẩm này với lượng được xác định ngay mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 33

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng trong chất phun khử trùng, như được mô tả trong Patent Mỹ số 6,250,511 được đưa ra đây để tham khảo. Patent '511 mô tả bao gồm dung dịch xử lý trong chai phun bao gồm khoảng từ 25% đến 75% của ít nhất một hợp chất glycol, từ 0,2% đến 60% thành phần kháng vi sinh vật, từ khoảng 5% đến 45% chất hoạt động bề mặt, và tùy ý nước thơm, chất màu và các chất phụ gia khác với lượng hiệu quả (ở col. 3 của chúng). Ví dụ, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với chất khử trùng của Patent '511

dưới dạng thay thế cho thành phần kháng vi sinh vật, hoặc làm chất phụ gia của chúng, (các) chế phẩm này với lượng được xác định ngay bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 34

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để làm sạch và/hoặc khử trùng thiết bị chế biến thực phẩm và đồ uống, như được mô tả trong Patent Mỹ số RE 40,050 được đưa ra đây để tham khảo. Trong khi '050 Reissue mô tả chế phẩm halogen dioxit, chế phẩm này có thể được cải biến bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này để thay thế một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế, các chế phẩm này với lượng được xác định ngay mà không cần các thử nghiệm không cần thiết và được tiếp xúc với hoặc được phủ lên thiết bị chế biến này sử dụng các máy móc và kỹ thuật được mô tả ngắn gọn trong '050 Reissue (ví dụ, như được mô tả trong các col. 3-4 của chúng).

Ví dụ 35

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng trong bảo quản gỗ, như được mô tả trong Patent Mỹ số 4,988,576 được đưa ra đây để tham khảo (và cho các hỗn hợp gốc lignoxenlulo được mô tả trong Patent Mỹ số 7,449,130 được đưa ra đây để tham khảo). Patent '576 mô tả bước tẩm gỗ bằng dung dịch chế phẩm chất bảo quản bao gồm copolyme ghép của lignosulfonat, rượu hydroxyl benzylic và muối kim loại hoặc hỗn hợp gồm các muối kim loại, hoặc ít nhất một muối kim loại của copolyme ghép của lignosulfonat, copolyme này là sản phẩm phản ứng của lignosulfonat và các monome acrylic. Ví dụ, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với các chất bảo quản được mô tả bởi Patent '576 (hoặc Patent '130), như được mô tả, lần lượt, trong các ví dụ 1-4 và 1-2 của chúng, để tẩm và bảo quản gỗ, các chế phẩm này với lượng được xác định ngay bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 36

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng làm sạch và/hoặc khử trùng khăn lau, như được mô tả trong Patent Mỹ số 4,575,891 được đưa ra đây để tham khảo, mô tả tập giấy được làm no một phần bằng chất khử trùng (ví dụ,

col. 2 của chúng). Patent '891 mô tả các chất khử trùng thích hợp dưới dạng dung dịch rượu, và dung dịch sát khuẩn khác. Ví dụ, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với các chất khử trùng này và được kết hợp vào vật liệu khăn lau, các chế phẩm này với lượng được xác định ngay bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 37

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng với lotion làm sạch tay, như được mô tả trong Patent Mỹ số 6,187,327 được đưa ra đây để tham khảo. Ví dụ, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được bào chế để bổ sung vào và kết hợp với lotion của Patent '327 hoặc thay thế thành phần hoạt tính bất kỳ của lotion để cải thiện hiệu quả kháng vi sinh vật. Patent '327 cũng bộc lộ các chất khử trùng tay đã biết khác nhau khác (ví dụ chất hoạt động bề mặt cation lưỡng tính, chất hoạt động bề mặt cation, chất làm ướt, và chất làm thoái hóa không ion). Bất kể, chế phẩm của sáng chế có thể được kết hợp dưới dạng thay thế cho hoặc sử dụng kết hợp với các thành phần hoạt tính bất kỳ trong chất khử trùng tay bất kỳ này, các chế phẩm này với lượng được xác định ngay mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 38

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng trong xử lý hạt ăn được hoặc thu hoạch, như được mô tả trong Patent Mỹ số 4,581,238 được đưa ra đây để tham khảo, mô tả việc cho tiếp xúc hạt với hơi có sorbat được phân tán trong đó (ví dụ, trong các col. 2-5 của chúng). Ví dụ, sử dụng các kỹ thuật và máy móc được bộc lộ ở đây, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được bay hơi hoặc được phủ lên hạt này, các chế phẩm này với lượng được xác định ngay bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 39

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng để ngăn ngừa hoặc ức chế sự sinh trưởng của các sinh vật có hại, như được mô tả trong Patent Mỹ số 4,356,204 được đưa ra đây để tham khảo, mô tả việc cho tiếp xúc thực phẩm với lượng hữu hiệu để ức chế sinh trưởng của axit ketohecanoic (ví dụ, trong các col. 2-3 của chúng). Một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng một mình hoặc

với axit ketohehexanoic này để ức chế hơn nữa và/hoặc diệt các sinh vật gây hại. Tương tự, Patent Mỹ số 2,711,976 được đưa ra đây để tham khảo đề xuất việc sử dụng các axit amin để gia tăng độ kháng của các thực phẩm trứng sữa với các sinh vật gây hại và loài *Staphylococcus*. Một lần nữa, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với hoặc làm chất thay thế cho các axit amin này. Tương tự, Patent Mỹ số 2,866,819 được đưa ra đây để tham khảo đề xuất việc sử dụng axit sorbic làm chất bảo quản trong thực phẩm. Một lần nữa, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp hoặc làm chất thay thế cho axit sorbic. Tương tự, Patent Mỹ số 2,910,368 được đưa ra đây để tham khảo bộc lộ việc sử dụng EDTA với axit sorbic để gia tăng tuổi thọ của rau. Một lần nữa, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với EDTA và/hoặc axit sorbic. Trong mỗi ví dụ, các chế phẩm này của sáng chế có thể được sử dụng với lượng được xác định ngay bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 40

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng trong xử lý quả, hạt, hạt cây lương thực, và quả đậu, như được mô tả trong Patent Mỹ số 5,273,769 được đưa ra đây để tham khảo, mô tả việc cho vật bất kỳ cần được xử lý trong đồ bao gói sau đó đưa cacbon dioxit và amoniac vào. Ví dụ, sử dụng các máy móc và kỹ thuật được mô tả ở đây (ví dụ, các Ví dụ 1-4), một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng một cách hiệu quả như được hiểu trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 41

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng trong xử lý răng và các sản phẩm/thiết bị thuốc và mô cấy, mô cấy được mô tả cụ thể hơn trong Patent Mỹ số 6,812,217 được đưa ra đây để tham khảo, mô tả màng polyme kháng vi sinh vật được phủ lên bề mặt ngoài của thiết bị y tế cấy ghép. Ví dụ, sử dụng các kỹ thuật được mô tả ngắn gọn ở đây, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế cũng có thể được lắng đọng lên hoặc được kết hợp với thiết bị hoặc sản phẩm này (dù là thuốc hoặc răng) hoặc màng polyme trên đó (ví dụ, như được mô tả trong các col. 5-6) để tạo thành hiệu quả kháng vi sinh vật, các chế phẩm này với lượng được xác định ngay bởi một

người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 42

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng trong xử lý vải dệt, như trong Patent Mỹ số 5,968,207 được đưa ra đây để tham khảo, mô tả việc ứng dụng triclosan este vào sợi hoặc vải dệt bằng cách khuếch tán hoặc thấm. Ví dụ, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được bào chế để sử dụng một mình hoặc kết hợp với hợp chất để cải thiện các tính chất kháng vi sinh vật của vải hoặc sợi của chúng, cho dù nhân tạo, tự nhiên, hoặc hỗn hợp của chúng (ví dụ, như được mô tả trong các col. 2-3 của Patent '207), các chế phẩm này với lượng được xác định ngay bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 43

Các chế phẩm của sáng chế có thể được bào chế để xử lý các bề mặt của sản phẩm chế biến thực phẩm, thiết bị và thực phẩm đóng hộp liên quan, như được mô tả trong Patent Mỹ số 7,575,744 được đưa ra đây để tham khảo. Ví dụ, sử dụng các kỹ thuật và máy móc được mô tả ngắn gọn ở đây, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được bào chế và đặt trên các bề mặt thiết bị và thực phẩm đóng hộp trong nhiều sản phẩm chế biến thực phẩm để làm giảm hoặc loại bỏ hoạt động của vi sinh vật, các sản phẩm/thiết bị này bao gồm nhưng không giới hạn ở thức ăn nhẹ, gia cầm, quả có múi, lạc và sản phẩm chế biến thực phẩm/thiết bị có liên quan (xem, ví dụ, col. 20). Các chế phẩm này có thể được sử dụng với lượng được xác định ngay bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 44

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng trong điều trị các bệnh liên quan đến vi sinh vật (tức là, bệnh viêm vú, móng & miệng, v.v..) ở động vật và thú nuôi trong trang trại, và để ức chế vi sinh vật sinh trưởng trên cây trồng, cây, hạt, và thực phẩm đóng hộp khác, như được mô tả trong Patent Mỹ số 7,192,575 được đưa ra đây để tham khảo, mô tả việc ứng dụng và chế phẩm bao gồm dầu nụ đinh hương, dầu khuynh diệp, dầu oải hương, cây trà và dầu cam. Ví dụ, một hoặc nhiều chế

phẩm của sáng chế có thể được bào chế để sử dụng một mình hoặc kết hợp với chế phẩm của Patent '575 (ví dụ, các Ví dụ 1-2 của chúng), các chế phẩm này với lượng được xác định ngay bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 45

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng trong bảo quản thực phẩm đóng hộp như gia vị, xốt, nước xốt, đồ gia vị, đồ phết lên bánh, bơ, bơ thực vật, thực phẩm bơ sữa, và các loại tương tự khỏi vi sinh vật gây hại, như được mô tả trong Patent Mỹ số 6,156,362 được đưa ra đây để tham khảo, mô tả kết hợp của các thành phần kháng vi sinh vật. Một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được bào chế để sử dụng một mình hoặc kết hợp với một hoặc nhiều thành phần của Patent '362 (ví dụ, các Ví dụ 1-4 của chúng), các chế phẩm này với lượng được xác định ngay bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 46

Các chế phẩm của sáng chế có thể được bào chế để kết hợp với nhiều loại sơn, thuốc nhuộm màu và bề mặt lớp phủ liên quan gốc nước và gốc hữu cơ, như được mô tả trong Patent Mỹ số 7,659,326 được đưa ra đây để tham khảo và các tác giả thuật lại ở đây (ví dụ, Kirk-Othmer-Paint; trang 1046-1049, Vol. 17; 1996, bởi Arthur A. Leman, nội dung của chúng cũng được đưa toàn bộ ra đây để tham khảo). Ví dụ, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được bào chế để sử dụng một mình hoặc kết hợp với thành phần kháng vi sinh vật được mô tả trong bản mô tả chi tiết này và các ví dụ 1 và 3 của Patent '326, các chế phẩm này với lượng được xác định ngay bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 47

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng hoặc kết hợp vào các sản phẩm sau khi cạo râu, như các sản phẩm được mô tả trong Patent Mỹ số 6,231,845 được đưa ra đây để tham khảo. Ví dụ, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với các thành phần được mô tả ngắn gọn trong các ví dụ 1-6 của Patent '845, để tạo thành hiệu quả kháng vi sinh vật cho các sản phẩm sau

khi cạo râu trong lĩnh vực kỹ thuật đã biết. Các chế phẩm này có thể có mặt với lượng được xác định ngay bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 48

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng hoặc kết hợp vào sản phẩm để xử lý xác, thịt hoặc sản phẩm thịt (*ví dụ*, động vật có vú, chim, cá, nhện, động vật giáp xác và/hoặc các dạng hải sản khác, và các loài có thể ăn được khác), như được mô tả trong Patent Mỹ số 7,507,429 được đưa ra đây để tham khảo. Ví dụ, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được bào chế để sử dụng một mình hoặc kết hợp với thành phần kháng vi sinh vật khác, để kết hợp vào sản phẩm được mô tả ngắn gọn trong Patent '429. Các chế phẩm này có thể có mặt với lượng được xác định ngay bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết, và (các) sản phẩm tương ứng có thể được phủ hoặc được sử dụng bằng các kỹ thuật và máy móc được mô tả trong Patent '429 hoặc có thể được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này theo sáng chế. (Xem, ví dụ, chế biến, phun, nhúng và xử lý thịt, và chế phẩm và thành phần được mô tả chi tiết trong Patent '429.)

Ví dụ 49

Các chế phẩm của sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng hoặc kết hợp vào nguyên liệu (*ví dụ*, nguyên liệu để phủ hoặc kết hợp khác) cho sản phẩm thực phẩm, các sản phẩm này bao gồm nhưng không giới hạn ở thực phẩm thức ăn nhẹ, thực phẩm ngũ cốc và các thành phần thực phẩm khác, thức ăn nhẹ và thực phẩm ngũ cốc và các nguyên liệu này được mô tả ngắn gọn trong Patent Mỹ số 7,163,708 được đưa ra đây để tham khảo. Không giới hạn ở việc làm thế nào các nguyên liệu này có thể được phủ, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với một hoặc nhiều thành phần kháng vi sinh vật hoặc chất bảo quản của các nguyên liệu này, như được mô tả trong phần mô tả chi tiết các sản phẩm thực phẩm và nguyên liệu phủ, của patent '708. Do đó, như được hiểu bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, chế phẩm có thể có mặt với lượng được xác định ngay mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 50

Các chế phẩm của sáng chế có thể được bào chế để kết hợp với nhiều chế phẩm phết lên bánh ăn được, bao gồm nhưng không giới hạn ở các chế phẩm bơ lạc, như được mô tả trong Patent Mỹ số 7,498,050 được đưa ra đây để tham khảo. Ví dụ, như được hiểu bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với các sản phẩm phết lên bánh ăn được này để tạo thành hoặc gia tăng hiệu quả kháng vi sinh vật, như được mô tả trong các ví dụ 1-2 của Patent '050, các chế phẩm này có thể có mặt với lượng được xác định ngay mà không cần các thử nghiệm không cần thiết.

Ví dụ 51

Các chế phẩm của sáng chế có thể được bào chế để kết hợp với nhiều chế phẩm kiểm soát sâu bọ, như các chế phẩm được mô tả trong Patent Mỹ số 6,720,450 được đưa ra đây để tham khảo (ví dụ, trong các phần 2-3 bản mô tả chi tiết của chúng). Ví dụ, một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế có thể được bào chế để sử dụng một mình hoặc kết hợp với thành phần thuốc trừ sâu khác, như được mô tả trong patent '450. Tương tự, một hoặc nhiều chế phẩm theo sáng chế có thể được bào chế như được mô tả ở đây, với thành phần chất mang thích hợp, để sử dụng chống các côn trùng hút máu khác nhau, bao gồm nhưng không giới hạn ở các loại muỗi, và côn trùng sâu bọ khác nhau của cây nông nghiệp. Các chế phẩm này có thể được sử dụng như được mô tả ở đây bằng cách trực tiếp tiếp xúc, ức chế và/hoặc loại trừ muỗi, bao gồm ấu trùng, nhộng và/hoặc các dạng trưởng thành của chúng. Theo cách khác, các chế phẩm này có thể được sử dụng và/hoặc được bào chế để có hoạt tính trừ sâu. Bất kể, các chế phẩm này có thể có mặt với lượng được xác định ngay bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà không cần các thử nghiệm không cần thiết và có thể tùy ý bao gồm chất hoạt động bề mặt. Chất hoạt động bề mặt này có thể là chất hoạt động bề mặt sinh học. Không bị giới hạn, chất hoạt động bề mặt sinh học này có thể được chọn từ monorhamnolipit, dirhamnolipit và các kết hợp của chúng.

Các đoạn tham khảo [0046]-[0047], [0051]-[0052] và [0105] và các chế phẩm khác được mô tả ngắn gọn trong và có thể qua việc sử dụng các FFC của các Bảng 2-7 và 10, các ví dụ dưới đây chứng minh việc sử dụng một số chế phẩm FFC này và các sản phẩm liên quan, theo sáng chế.

Ví dụ 52

Một số thử nghiệm được tiến hành sử dụng chế phẩm kháng vi khuẩn tương ứng để kháng các sinh vật thử nghiệm khác nhau. Các mẫu ổ bệnh (3x3 mm) được phết thành vệt ở mức tối thiểu, sau đó cho tiếp xúc, lần lượt, với hơi từ các chế phẩm B-L được đặt trong lỗ ở giữa có cốc siêu nhỏ. Radial sinh trưởng từ mỗi mẫu được đo (mm) sau 38 giờ ở nhiệt độ trong phòng.

Bảng 14.

Cột thử nghiệm	Pythium	Rhizoc	Vert	Asp	Phyto	Fus	Botr	Scl	Bacillus	E. coli
A	31	8	2,5	3,5	3,0	9,5	5,5	7	sinh trưởng	sinh trưởng
B	0	0	0	1	0	0,2	0,5	1,7	nhẹ	0
C	0	0	0	0,5	0	0,7	0,2	0,8	vết	0
D	0	0	0	0,45	0	0,7	0	0	0	0
E	0	0	0	0,4	0	0,5	0,1	0,7	0	0
F	0	0	0	0,1	0,1	0	0,1	0,7	vết	0
G	0	0	0	0,2	0,1	0,1	0,1	3,5	0	0
H	0	0	0	0,1	0,15	2,5	0,2	0,15	0	0
I	0	0	0	0,15	0	0,3	0,1	0,15	0	0
J	0	0	0	0,7	0	0,1	0	0	0	0
K	0	0	0	0,7	0	0,3	0,15	1,7	0	0
L	0	0	0	0,07	0	1,5	0	0,8	0	0

chế phẩm kháng vi khuẩn được thử nghiệm:

A = đối chứng (không xử lý)

B = chế phẩm của Bảng 10, ở trên; 10 microlít

C = axit propanoic:isoamyl axetat, 7:2 (thể tích/thể tích); 9 microlít

D = axit propanoic:isobutyl isobutytrat, 7:2 (thể tích/thể tích); 9 microlít

E = axit propanoic:isopentyl isobutytrat, 7:2 (thể tích/thể tích); 9 microlít

F = axit propanoic:allyl axetat, 7:2 (thể tích/thể tích); 9 microlít

G = axit propanoic:metyl isobutytrat, 7:2 (thể tích/thể tích); 9 microlít

H = axit propanoic:phenyletyl axetat, 7:2 (thể tích/thể tích); 9 microlít

I = axit propanoic:benzaldehyt, 7:2 (thể tích/thể tích); 9 microlít

J = axit propanoic:isoamyl axetat:benzaldehyt, 7:2:2 (thể tích/thể tích/thể tích); 11 microlít

K = axit propanoic:tất cả các este ở trên trong hỗn hợp tương đương, 7:2 (thể tích/thể tích); 9 microlít

L = axit propanoic:tất cả các este ở trên trong hỗn hợp tương đương:benzaldehyt, 7:2:2 (thể tích/thể tích/thể tích); 11 microlít.

Các sinh vật thử nghiệm: *Pythium ultimum* (Pythium); *Rhizoctonia solani* (Rhizoc); *Verticillium dahliae* (Vert); *Aspergillus fumigatus* (Asp); *Phytophthora cinnamomi* (Phyto); *Fusarium solani* (Fus); *Botrytis cinerea* (Botr); *Sclerotinia sclerotiorum* (Scl); *Bacillus subtilis* (Bacillus); và *Escherichia coli* (*E. coli*).

Như được chứng minh ở trên, các chế phẩm cụ thể theo sáng chế có thể được xác định là có hiệu quả kháng vi sinh vật khác nhau. Ví dụ, trong khi đó chế phẩm B ít ưu điểm hơn khi kháng loài *Botrytis* và *Sclerotinia*, thì chế phẩm D ức chế sinh trưởng hoàn toàn, dưới các điều kiện thử nghiệm được sử dụng. Bất kể, chế phẩm kháng vi sinh vật theo sáng chế -- dù được sử dụng một mình, ở dạng hơi hoặc được kết hợp với thành phần chất mang -- có thể thể hiện các kết quả vượt trội với sự có mặt của thành phần axit propanoic với tỷ lệ ít nhất khoảng 7:1 với thành phần chế phẩm bất kỳ khác. (Xem Fig.10 với các cấu trúc và danh pháp của các FFC được sử dụng trong các chế phẩm B-L.) Với các chế phẩm B-L, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng trong khi một số este axit được tham khảo cụ thể, thì các este C₂-C₅ axit khác nhau khác và các kết hợp của chúng có thể được sử dụng với hiệu quả tương đương.

Ví dụ 53

Theo và minh họa sử dụng các sản phẩm khác nhau theo sáng chế, các hạt đất sét bentonit (ví dụ, từ Al Harvey của Lovell, Wyoming) được tẩm chế phẩm tương ứng của Bảng 10, ở trên, (~0,80 ml/g bentonit) và được đặt trong buồng mở nắp. Các hạt của sản phẩm này và một phần chùm quả mâm xôi (tức là, sản phẩm thực phẩm dễ thối sau thu hoạch) được đặt trong bao gói được hàn kín. Sau bảy ngày, sự sinh trưởng của nấm mốc nhỏ hoặc vi sinh vật khác là hiện rõ. (Xem, Fig.11A.) Để so sánh, sử dụng hệ đối chứng gồm các hạt bentonit không được kết hợp chế phẩm kháng vi sinh vật, quả mâm xôi từ cùng một chùm được bảo quản trong bao gói được hàn kín trong cùng thời gian: quan sát thấy sự hư hại quá mức. (Xem, Fig.11B.)

Ví dụ 54

Các chế phẩm khác nhau khác theo sáng chế, bao gồm nhưng không giới hạn ở các chế phẩm B-L của Ví dụ 52, có thể được kết hợp với thành phần chất mang rắn. Ví dụ, các hạt đất sét bentonit có bán trên thị trường có thể được tẩm chế phẩm, để sử dụng kết hợp với bao gói có thể thấm hơi, như túi mềm hoặc túi được hàn kín hoặc có thể hàn lại. Dù lưới có kích thước thích hợp hoặc Tyvek® không dệt xốp hoặc vật liệu cùng chức năng, túi/bao này có thể tạo thành sản phẩm với tất cả các thành phần (tức là, chế phẩm kháng vi sinh vật, chất mang và bao gói) đáp ứng yêu cầu của FDA liên quan đến thực phẩm chế biến và tiếp xúc.

Ví dụ 55

Tham khảo các đoạn [0055] và [0119] và Ví dụ 11, ở trên, các hạt đất sét bentonit có thể được tẩm chế phẩm của Bảng 10, sau đó đóng gói vào túi có thể thấm hơi, hoặc bao gói tương tự, và được đặt bên cạnh nơi để hoặc thu gom rác thải hoặc đồ bỏ đi của người. Không bị giới hạn, sản phẩm này có thể được đặt trong hoặc sát đồ bao gói rác của người-tùy ý, như một biện pháp xử lý sơ bộ trên đường đến nơi xử lý và/hoặc vứt bỏ cuối cùng.

Ví dụ 55a

Tham khảo các đoạn [0057]-[0062] và [0119], chế phẩm kháng vi sinh vật hữu ích kết hợp với ứng dụng cuối cùng của ví dụ 55 được biểu diễn, dưới đây.

Axetaldehyt
Etyl axetat

Axit propanoic, 2-metyl-, metyl este
Etanol
Axit axetic, 2-metylpropyl este
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylpropyl este
1-Propanol, 2-metyl-
1-Butanol, 3-metyl-, axetat
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylbutyl este
Axit axetic, 2-phenyletyl este

Ví dụ 55b

Một lần nữa, tham khảo các đoạn [0057]-[0062] và [0119], chế phẩm kháng vi sinh vật hữu ích này kết hợp với ứng dụng cuối cùng của ví dụ 55 được biểu diễn, dưới đây.

Axetalđehyt
Etyl axetat
Axit propanoic, 2-metyl-, metyl este
Axit axetic, 2-metylpropyl este
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylpropyl este
1-Propanol, 2-metyl-
1-Butanol, 3-metyl-, axetat
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylbutyl este
Axit axetic, 2-phenyletyl este

Ví dụ 55c

Hơn nữa, tham khảo các đoạn [0057]-[0062] và [0119], chế phẩm kháng vi sinh vật hữu ích khác kết hợp với ứng dụng cuối cùng của ví dụ 55 được biểu diễn, dưới đây.

Etyl axetat
Axit propanoic, 2-metyl-, metyl este
Axit axetic, 2-metylpropyl este
Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylpropyl este
1-Propanol, 2-metyl-
1-Butanol, 3-metyl-, axetat

Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylbutyl este
Axit axetic, 2-phenyletyl este

Ví dụ 56

Tham khảo hơn nữa các đoạn [0077] và [0087]-[0091], các Bảng 2-7 và 10 và các Ví dụ 32-33, các chế phẩm FFC khác nhau theo sáng chế có thể được sử dụng để xử lý phân mèo và các sản phẩm chăm sóc động vật liên quan. Ví dụ, các hạt đất sét bentonit hoặc các thành phần chất mang rắn được tiếp xúc hoặc được tẩm chế phẩm kháng vi sinh vật (ví dụ, từ 0,20% trọng lượng đến 10,0% trọng lượng hoặc, trong một số phương án, khoảng từ 1,0% trọng lượng đến 3,0% trọng lượng) như được biểu diễn ngắn gọn dưới đây.

% trọng lượng	Hợp chất
khoảng 0,1 – khoảng 10	Axetaldehyt
khoảng 0,5 – khoảng 10	Etyl axetat
khoảng 0,1 – khoảng 10	2-Butanon
khoảng 4 – khoảng 20	Axit propanoic, 2-metyl-, metyl este
khoảng 1,5 – khoảng 15	Etanol
khoảng 0,1 – khoảng 10	Axit axetic, 2-metylpropyl este
khoảng 20 – khoảng 40	Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylpropyl este
khoảng 0,1 – khoảng 10	1-Propanol, 2-metyl-
khoảng 20 – khoảng 40	1-Butanol, 3-metyl-, axetat
khoảng 1,0 – khoảng 30	Axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylbutyl este
khoảng 2 – khoảng 10	1-Butanol, 3-metyl-
khoảng 40 – khoảng 80	Axit propanoic, 2-metyl-
khoảng 0,1 – khoảng 10	Axit axetic, 2-phenyletyl este

Theo cách khác, các chế phẩm được mô tả ngắn gọn trong các Ví dụ 52 (các chế phẩm B-L) và các Ví dụ 55a-55c cũng có thể được sử dụng trong sản xuất sản phẩm phân này. Bất kể, lượng tương ứng của thành phần bất kỳ này có thể được điều chỉnh tùy theo dạng chế phẩm cụ thể, hiệu quả kháng vi sinh vật mong muốn và/hoặc phù hợp với sự có mặt của một hoặc nhiều chất phụ gia bất kỳ được mô tả ngắn gọn ở đây bao gồm nhưng không giới hạn ở chất thơm/nước hoa.

Ví dụ 57

Tham khảo các đoạn [0026] và [0087] và Ví dụ 52, ở trên, các chế phẩm theo sáng chế có thể được điều chế sử dụng axit propanoic kết hợp với một hoặc nhiều muối axit, bao gồm nhưng không giới hạn ở các muối của một hoặc nhiều axit C₂-C₆. Các muối axit này, bao gồm các chất có chất lượng cấp thực phẩm, có thể được điều chế, như được mô tả dưới đây, và có thể thu được từ nguồn đã được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm nhưng không giới hạn ở Sigma-Aldrich (St. Louis, MO).

Ví dụ 57a

Theo một số phương án theo sáng chế và tham khảo đoạn [0061], các chế phẩm dưới đây có thể được xem xét nhưng không giới hạn ở lượng hoặc nồng độ thành phần, các chế phẩm này bao gồm:

axit propanoic: muối C₄ axit;

axit propanoic: muối C₅ axit;

axit propanoic: muối C₆ axit;

axit propanoic: kết hợp của các muối C₄ axit;

axit propanoic: kết hợp của các muối C₅ axit;

axit propanoic: kết hợp của các muối C₆ axit; và

axit propanoic: kết hợp của các muối C₄-C₆ axit.

Các muối C₄-C₆ axit này và các kết hợp của chúng có thể, không bị giới hạn, được chọn từ các muối của các axit n-C₄-n-C₆ monocarboxylic và các chất đồng phân cấu trúc của chúng và các axit C₄-C₆ polycarboxylic và hydroxypolycarboxylic thích hợp lần lượt bao gồm nhưng không giới hạn ở các muối của axit 2-metyl propanoic, axit 2-metylbutanoic, axit 3-metylbutanoic, axit 2,3-dimetyl propanoic, axit 2,2-dimetyl propanoic, axit tartaric, axit xitric và các axit C₄-C₆ mono- và (hydroxy)polycarboxylic, như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này theo sáng chế, các muối này có thể, không bị giới hạn, được chọn từ kim loại kiềm (ví dụ, natri, kali, v.v.), kim loại kiềm thổ (ví dụ, canxi, magie, v.v.) và amin bậc bốn (ví dụ, amoni, v.v.) các muối của các axit này. Các chế phẩm này có thể được điều chế bằng cách trộn

các thành phần một mình hoặc với dung môi hoặc chất pha loãng thích hợp như nhưng không giới hạn ở nước và/hoặc dạng rượu nước và, tùy ý, với sự có mặt của thành phần hoạt tính bề mặt như rhamnolipit.

Ví dụ 57b

Tham khảo chế phẩm bất kỳ của Ví dụ 57a, các chế phẩm khác nhau khác theo sáng chế có thể bao gồm một hoặc nhiều este của một hoặc nhiều C_2 - C_5 axit và các chất đồng phân cấu trúc của chúng, bổ sung vào hoặc làm chất thay thế cho thành phần muối axit bất kỳ này.

Ví dụ 57c

Tham khảo chế phẩm bất kỳ của các Ví dụ 57a-b, các chế phẩm khác nhau khác theo sáng chế có thể bao gồm một hoặc nhiều thành phần C_2 - C_8 aldehyt được bổ sung vào hoặc làm chất thay thế cho thành phần muối axit và/hoặc este axit bất kỳ này.

Ví dụ 57d

Tham khảo các chế phẩm của các Ví dụ 57a-c, các chế phẩm khác nhau khác theo sáng chế có thể bao gồm thành phần C_2 - C_6 axit. Không bị giới hạn, thành phần axit bổ sung này có thể được chọn từ axit axetic, axit isobutyric, axit xitric và các kết hợp của chúng, ngoài hoặc thay thế một phần axit propanoic.

Ví dụ 57e

Tuy nhiên các chế phẩm của các Ví dụ 57 và 57a-d, các chế phẩm axit propanoic và ít nhất một muối C_4 - C_6 axit, các chế phẩm axit propanoic và ít nhất một thành phần C_2 - C_6 axit bổ sung và các chế phẩm axit propanoic và ít nhất một muối C_4 - C_6 axit tạo nên sự vắng mặt của este axit, aldehyt và/hoặc xeton có thể được sử dụng. Bất kể, như được mô tả ở trên, chế phẩm bất kỳ theo sáng chế có thể không chứa các hợp chất dẫn xuất naphthalen và azulen và các hợp chất thơm ngưng tụ khác và các dẫn xuất hydro của chúng.

Ví dụ 58

Tham khảo một hoặc nhiều chế phẩm của các Ví dụ 57 và 57a-e nêu trên, các chế phẩm này có thể được kết hợp vào sản phẩm của quá trình sản xuất, bao gồm nhưng

không giới hạn ở các sản phẩm được mô tả ngắn gọn ở đây hoặc được sử dụng như được mô tả ở trên. Nói chung, nhưng không giới hạn ở và như được mô tả ở trên, một hoặc nhiều chế phẩm này có thể được kết hợp vào thành phần thực phẩm hoặc dinh dưỡng (ví dụ, Ví dụ 17d), nhiều sản phẩm thực phẩm (ví dụ, ở các đoạn [0032], [0052] và [0066]) bao gồm thực phẩm chế biến như bơ lạc, đất mùn, và nhân và đồ phết lên bánh khác nhau (ví dụ, Ví dụ 18), pho mát (ví dụ, ở đoạn [0067]) và các sản phẩm bơ sữa và các sản phẩm liên quan khác, các thành phần chất mang rắn (ví dụ, các Ví dụ 53-56), và các thành phần chất mang này kết hợp với các bao gói có thể thấm hơi (ví dụ, các Ví dụ 53-55) và làm chất thay thế cho axit sorbic, axit benzoic và các muối sorbat và benzoat (ví dụ, các Ví dụ 28 và 39).

Ví dụ 59

Tham khảo các Ví dụ 57 và 57a-e, thử nghiệm so sánh của chế phẩm đại diện của axit propanoic và muối của axit isobutyric (ví dụ, kali) chứng minh sáng chế này tạo ra hiệu quả kháng vi sinh vật khi được kết hợp vào sản phẩm thực phẩm. Cụ thể hơn, 0,1 gam kali isobutyrate được bổ sung vào 20 microlit axit propanoic. (Tương tự, một số chế phẩm tham khảo cũng được chuẩn bị, như được xác định trong Bảng 15, dưới đây.) Các chế phẩm thử nghiệm và tham khảo được trộn bằng tay vào 10 gam đất mùn sạch được làm lạnh (Costco) và được đặt trong bao gói được hàn kín. Các bao gói được xử lý và bao gói đối chứng được giữ ở nhiệt độ 25°C sau đó được kiểm tra và lấy mẫu vào thời điểm 10 và 18 ngày. Lấy mẫu mỗi bao gói được tiến hành bằng kim chuyển vô trùng, với khoảng 1 mg, được phết thành vệt lên đĩa Petri thạch agar dextroza khoai tây (PDA), được ủ trong 30 giờ, sau đó được kiểm tra. Các kết quả được tóm tắt trong Bảng 15, dưới đây.

Bảng 15.

Xử lý	Biểu hiện (10 ngày)	Vị (10 ngày)	Biểu hiện (18 ngày)	Vị (18 ngày)
Đối chứng	Sản phẩm có mùi	Vị không	Nấm sinh trưởng cao	Mùi kinh
10g đất mùn	thơm; có thể nhìn	được thử	trên hầu như toàn bộ	khủng; vị
	thấy nấm sinh trưởng;	nghiệm	bề mặt sản phẩm thực	không được
	sinh trưởng đáng kể		phẩm	thử nghiệm
	trên PDA			

A	Sản phẩm biểu hiện bình thường, như đất mùn nguyên gốc; không thấy rõ vi sinh vật sinh trưởng trên đĩa PDA	Vị tuyệt vời, giống như đất mùn nguyên gốc	Sản phẩm biểu hiện bình thường, như đất mùn nguyên gốc; không có vi sinh vật sinh trưởng trên bề mặt sản phẩm; không thấy rõ vi sinh vật sinh trưởng trên đĩa PDA	Vị tương đối giống sản phẩm đất mùn được làm lạnh gốc
B	Sản phẩm thể hiện gần giống đất mùn nguyên gốc; vi sinh vật sinh trưởng nhẹ trên đĩa PDA	Vị axit và có mùi	Khuẩn lạc nấm phát triển trên bề mặt sản phẩm	Vị giống axit và có mùi không thể chấp nhận được
C	Sản phẩm biểu hiện bình thường như đất mùn nguyên gốc; vi sinh vật sinh trưởng đáng kể trên đĩa PDA	Vị giống axit	Không xuất hiện nấm hoặc vi khuẩn khác sinh trưởng trên bề mặt sản phẩm	Vị giống axit nhưng mạnh hơn
D	Có mùi thơm; vi sinh vật sinh trưởng nhiều trên đĩa PDA	Vị thối rửa	Một số vi sinh vật sinh trưởng trên bề mặt sản phẩm	Vị thối rửa

A: 0,1g K isobutytrat trong 20 µl axit propanoic, trong 10g đất mùn

B: 20 µl axit propanoic, trong 10g đất mùn

C: 0,2g Na₂HPO₄ trong 100 µl axit propanoic, trong 10g đất mùn

D: 0,1g K isobutytrat, trong 10g đất mùn

Ví dụ 60a

Mục đích: Xác định xem chế phẩm theo sáng chế có ức chế nấm mốc trong sản phẩm pho mát dây (EMC CH) được biến đổi bằng enzyme (EMC) là sản phẩm nhạy cảm với sự sinh trưởng của nấm mốc do có độ pH và độ axit có thể chuẩn độ thấp (TA) hay không. Quy trình: Chuẩn bị chế phẩm, thu được sản phẩm pho mát dây EMC, và

chuẩn bị bột nhão Pho mát xanh làm nguồn bào tử nấm mốc để đưa vào 1-10 CFU/100 gam mẫu. Thử nghiệm hiệu quả của chế phẩm.

Điều chế chế phẩm kháng vi sinh vật:

1. Chuẩn bị dung dịch 4M (Mol) Kali Isobutyrate (K-IB) bằng cách bổ sung 394,92g axit isobutyric và 498,76g dung dịch KOH (Kali Hydroxit) 45% vào bình thót cổ dung tích 1L.
2. Bổ sung nước khử khoáng để thể tích lên tới 1L.
3. Điều chỉnh nhiệt độ tới nhiệt độ trong phòng và điều chỉnh lại thể tích.
4. Đo độ pH=8,11
5. Cân tất cả các thành phần theo tỷ lệ phần trăm trong Bảng dưới đây, bao gồm: Kali Isobutyrate 4M, axit propionic, axit axetic, và axit xitric để tạo thành chế phẩm cuối cùng.

Chế phẩm của ví dụ này (được ký hiệu là FF#2) bao gồm kali isobutyrate, axit propionic, axit axetic và axit xitric.

Chế phẩm này có độ pH là 5,39.

Thành phần	%	gam
K-IBA (4 M)	67,0	16,75
Axit propionic	20,0	5,00
Axit axetic	10,0	2,50
Axit xitric	3,0	0,75
	100,0	25,00

Sản phẩm pho mát dây được biến đổi bằng enzyme (EMC CH) [Lô sản phẩm số # 140210]:

Mô tả	EMC CH	Đích
% Độ ẩm	43,5	42-46
% chất béo	28,0	26-30
TA (Độ axit có thể chuẩn độ)	18,5	20-24
% muối	2,1	1-2
pH	5,9	5,2 – 6,0

Đếm nấm mốc (cfu/g)	<10	< 10
---------------------	-----	------

Điều chế bột nhão Pho mát xanh (BM) (Mốc xanh)

1. Phủ trước thu được 3,4 triệu CFU/g *Penicillium roqueforti* trong pho mát xanh.

2. Bỏ sung 1g pho mát xanh vào 9ml dung dịch đệm Natri Xitrat (2,0%) (pha loãng 1/10).

Thử nghiệm GC/LC	(mg/g)	
Axit isobutyric	2,112	
Axit propionic	0,024	
Axit axetic	2,307	

3. Tạo một dung dịch pha loãng (1/10) và 3 dung dịch pha loãng 0,1ml vào 9,9ml dung dịch đệm Natri Xitrat.

4. Phủ 0,2ml trên mỗi mẫu thử và

đối chứng "C" và "D".

5. Tính BM tương đương 6,8 CFU/mẫu.

Thử nghiệm:

1. Đặt 100g EMC CH làm Đối chứng âm tính "Aa" trong các cốc màu trắng và "Ab" trong các cốc vô trùng.

2. Đặt 99g EMC CH làm Đối chứng âm tính "B" với 1ml FF#2 (1,0%) trong cốc màu trắng.

3. Đặt 100g EMC CH với 0,2ml BM trên bề mặt làm Đối chứng dương tính "C" trong cốc màu trắng.

4. Đặt 100g EMC CH với 0,2ml BM được trộn làm Đối chứng dương tính "D" trong cốc màu trắng.

5. Các cốc màu trắng thử nghiệm "E" sẽ có 1ml FF#2 (1,0%) trong 99g EMC CH với 0,2ml BM được ủ trên bề mặt.

6. Các cốc màu trắng thử nghiệm "F" sẽ có 1ml FF#2 (1,0%) trong 99g EMC CH với 0,2ml BM được ủ bên trong sản phẩm.

7. Đánh số và dán nhãn các cốc thử nghiệm màu trắng.

8. Ủ ở nhiệt độ 25°C trong 12 tuần (84 ngày).
9. Lấy mẫu một cốc thử nghiệm để đo độ pH, TA và đếm nấm mốc ban đầu.
10. Đếm nấm mốc thử nghiệm sử dụng PDA (Thạch agar dextroza khoai tây w/ 1% Axit Tartaric) ở tuần 2, 4, 8, và 12.
11. Lấy mẫu độ pH và TA cuối cùng ở 12 tuần.
12. Ghi các kết quả.
13. Thu được thử nghiệm GC/MS của Mẫu A và B so sánh với các hiệu quả hóa học FF#2 trong sản phẩm

Mẫu thử nghiệm	EMC CH + Đối chứng "A"	EMC CH 1% FF#2 "B"	EMC CH BM top "C"	EMC CH BM mix "D"	EMC CH 1% FF2 BM top "E"	EMC CH 1% FF2 BM mix "F"
Tuần 1, ngày 7	Aa/Ab-1	B1	C1	D1	E1	F1
Tuần 2, ngày 14	Aa/Ab-2	B2	C2	D2	E2	F2
Tuần 4, ngày 28	Aa/Ab-3	B3	C3	D3	E3	F3
Tuần 8, ngày 56	Aa/Ab-4	B4	C4	D4	E4	F4
Tuần 12, ngày 84	Aa/Ab-5	B5	C5	D5	E5	F5

Các kết quả:

Cốc thử nghiệm	pH	TA	Nhìn thấy Nấm mốc (Có/không)	Đếm nấm mốc cfu/g
Aa1- ban đầu	6,08	19,68	Không	<10
Aa1- ngày 7			Không	na
Aa2- ngày 14			Có	
Aa3- ngày 28			Có	
Aa4- ngày 56				
Aa5- ngày 84				
Ab1- ban đầu	5,96	19,81	Không	<10
Ab1- ngày 7			Không	NA
Ab2- ngày 14			Không	
Ab3- ngày 28			có	

Ab4- ngày 56				
Ab5- ngày 84				
B1- ban đầu	5,71	23,7	Không	<10
B1- ngày 7			Không	NA
B2- ngày 14			Không	
B3- ngày 28			Không	
B4- ngày 56				
B5- ngày 84				
C1- ban đầu	6,03	20,88	Không	6,8
C1- ngày 7			Không	NA
C2- ngày 14			Không	
C3- ngày 28			Không	
C4- ngày 56				
C5- ngày 84				
D1- ban đầu	5,92	20,61	Không	6,8
D1- ngày 7			Không	NA
D2- ngày 14			Không	
D3- ngày 28			Không	
D4- ngày 56				
D5- ngày 84				
E1- ban đầu	5,63	20,3	Không	6,8
E1- ngày 7			Không	NA
E2- ngày 14			Không	
E3- ngày 28			Không	
E4- ngày 56				
E5- ngày 84				
F1- ban đầu	5,53	19,1	Không	6,8
F1- ngày 7			Không	NA
F2- ngày 14			Không	
F3- ngày 28			Không	
F4- ngày 56				

F5- ngày 84

Ví dụ 60b

Mục đích: Xác định xem FF#2 có ức chế nấm mốc trong sản phẩm kem Lipolyzed (LC) nhạy cảm với sự sinh trưởng của nấm mốc do độ pH cao và TA thấp của nó hay không. Quy trình: Chuẩn bị FF#2, thu được sản phẩm kem Lipolyzed không chứa kali sorbat, và chuẩn bị bột nhào Pho mát xanh làm nguồn bào tử nấm mốc để đưa 1-10 CFU/100 gam mẫu. Thử nghiệm hiệu quả của FF#2.

Điều chế FF#2:

1. Chuẩn bị dung dịch 4M (Mol) Kali Isobutytrat (K-IB) bằng cách bổ sung 394,92g axit isobutyric và 498,76g KOH (Kali Hydroxit) 45% vào bình thốt cổ dung tích 1L.
2. Bổ sung nước khử khoáng đến thể tích bằng 1L.
3. Điều chỉnh nhiệt độ tới nhiệt độ trong phòng và điều chỉnh lại thể tích.
4. Đo độ pH=8,11
5. Cân tất cả các thành phần theo tỷ lệ phần trăm trong Bảng dưới đây, bao gồm: Kali Isobutytrat 4M, axit propionic, axit axetic, và axit xitric để tạo thành chế phẩm cuối cùng FF#2.

FF#2 bao gồm kali isobutytrat, axit propionic, axit axetic và axit xitric.

Chế phẩm này có độ pH là 5,39.

Thành phần	%	gam
K-IBA (4 M)	67,0	16,75
Axit propionic	20,0	5,00
Axit axetic	10,0	2,50
Axit xitric	3,0	0,75
	100,0	25,00

Sản phẩm kem Lipolyzed (LC) [Lô sản xuất # 140205]:

Mô tả	LC	Đích
% Độ ẩm	54,61	54-59

% chất béo	38,5	34-39
TA (Độ axit có thể chuẩn độ)	8,5	9-13
pH	4,41	4,2 – 5,2
Đếm nấm mốc (cfu/g)	<10	< 10

Thử nghiệm GC/LC	(mg/g)
Axit isobutyric	0,07
Axit propionic	0,00
Axit axetic	0,20

Điều chế Bột nhão pho mát xanh
(BM) (Mốc xanh)

1. Phủ trwocs thu được 3,4 triệu CFU/g *Penicillium roqueforti* trong pho mát xanh.
2. Bổ sung 1g Pho mát xanh vào 9ml dung dịch đệm Natri Xitrat (2,0%) (pha loãng 1/10).
3. Tạo một dung dịch pha loãng (1/10) và 3 dung dịch pha loãng 0,1ml vào 9,9ml dung dịch đệm Natri Xitrat.
4. Đặt 0,2ml lên mỗi mẫu thử và đối chứng "C" và "D".
5. Tính BM ương đương 6,8 CFU/mẫu.

Thử nghiệm:

1. Đặt 100g LC làm Đối chứng âm tính "Aa" trong các cốc màu trắng và "Ab" trong các cốc vô trùng.
2. Đặt 99g LC làm Đối chứng âm tính "B" với 1ml FF#2 (1,0%) trong cốc màu trắng.
3. Các cốc màu trắng thử nghiệm "E" sẽ có 1ml FF#2 (1,0%) trong 99g LC với 0,2ml BM được ủ trên bề mặt.
4. Các cốc màu trắng thử nghiệm "F" sẽ có 1ml FF#2 (1,0%) trong 99g LC với 0,2ml BM được ủ bên trong sản phẩm.
5. Đánh số và dán nhãn các cốc thử nghiệm màu trắng.
6. Ủ ở nhiệt độ 25°C trong 12 tuần (84 ngày).

7. Lấy mẫu một cốc thử nghiệm để đo độ pH, TA và đếm nấm mốc ban đầu.
8. Đếm nấm mốc thử nghiệm sử dụng PDA (Thạch aga dextroza khoai tây w/ 1% Axit Tartaric) ở tuần 2, 4, 8, và 12.
9. Lấy mẫu độ pH và TA cuối cùng ở 12 tuần.
10. Ghi các kết quả.

Thu được thử nghiệm GC/MS của Mẫu A và B so sánh với các hiệu quả hóa học FF#2 trong sản phẩm.

Mẫu thử nghiệm	LC + Đối chứng "A"	LC 1% FF#2 "B"	LC BM top "C"	LC BM mix "D"	LC 1% FF2 BM top "E"	LC 1% FF2 BM mix "F"
Tuần 1, ngày 7	Aa/Ab-1	B1	C1	D1	E1	F1
Tuần 2, ngày 14	Aa/Ab-2	B2	C2	D2	E2	F2
Tuần 4, ngày 28	Aa/Ab-3	B3	C3	D3	E3	F3
Tuần 8, ngày 56	Aa/Ab-4	B4	C4	D4	E4	F4
Tuần 12, ngày 84	Aa/Ab-5	B5	C5	D5	E5	F5

Các kết quả:

Cốc thử nghiệm	pH	TA	Nhìn thấy Nấm mốc (Có/không)	Đếm nấm mốc cfu/g
Aa1- ban đầu	4,55	9,73	Không	<10
Aa1- ngày 7			Không	na
Aa2- ngày 14			Không	
Aa3- ngày 28			Có	
Aa4- ngày 56				
Aa5- ngày 84				
Ab1- ban đầu	4,49	9,8	Không	<10
Ab1- ngày 7			Không	NA
Ab2- ngày 14			Có	
Ab3- ngày 28			có	
Ab4- ngày 56				

Ab5- ngày 84				
B1- ban đầu	4,66	9,79	không	<10
B1- ngày 7			không	NA
B2- ngày 14			không	
B3- ngày 28			không	
B4- ngày 56				
B5- ngày 84				
C1- ban đầu	4,58	9,53	không	6,8
C1- ngày 7			không	NA
C2- ngày 14			có	
C3- ngày 28			có	
C4- ngày 56				
C5- ngày 84				
D1- ban đầu	4,64	9,37	không	6,8
D1- ngày 7			không	NA
D2- ngày 14			không	
D3- ngày 28			không	
D4- ngày 56				
D5- ngày 84				
E1- ban đầu	4,67	10	không	6,8
E1- ngày 7			không	NA
E2- ngày 14			không	
E3- ngày 28			không	
E4- ngày 56				
E5- ngày 84				
F1- ban đầu	4,72	10,74	không	6,8
F1- ngày 7			không	NA
F2- ngày 14			không	
F3- ngày 28			không	
F4- ngày 56				
F5- ngày 84				

Như được thể hiện bởi các kết quả của các Ví dụ 60a-b, chế phẩm đại diện theo sáng chế có thể được sử dụng để ức chế một cách hiệu quả nấm mốc sinh trưởng trong các sản phẩm thực phẩm bơ sữa nhạy cảm.

Ví dụ 61

Chế phẩm của các Ví dụ 60a-b (FF#2) được thử nghiệm chống lại các chủng nấm và vi khuẩn. Chế phẩm được đặt trong cốc siêu nhỏ ở trung tâm của đĩa thạch aga dextroza khoai tây với các mẫu nhỏ là ổ bệnh được đặt xung quanh cốc siêu nhỏ lỗ trung tâm cách 2cm. Cốc chứa lượng chế phẩm như được xác định trong Bảng 16. Các đĩa được ủ trong 24 giờ ở nhiệt độ thường và được đo. Tiến hành đo đĩa đối chứng và lượng ức chế của chế phẩm được thể hiện dưới dạng lượng sinh trưởng so với lượng sinh trưởng trong đĩa đối chứng (không có chế phẩm). Các kết quả phần trăm ức chế được tính toán sau tối thiểu hai lần đo với mỗi sinh vật thử nghiệm được hoàn tất.

Bảng 16.

Các sinh vật thử nghiệm	6 µl trong cốc siêu nhỏ % ức chế	12,5 µl trong cốc siêu nhỏ % ức chế	25 µl trong cốc siêu nhỏ % ức chế
<i>Rhizoctonia solani</i>	66	80	100
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	73	100	100
<i>Verticillium dahliae</i>	40	80	100
<i>Sclerotium sclerotiorum</i>	19	60	100
<i>Penicillium sp.</i>	15	10	100
<i>Aspergillus fumigatus</i>	80	80	100
<i>Fusarium solani</i>	45	63	100
<i>Pythium ultimum</i>	N.D.	100	100
<i>Bortyitis cinerea</i>	N.D.	50	95
<i>E.coli</i>	N.D.	Vết	100
<i>Bacillus subtilis</i>	N.D	Vết	Vết

Đối với các thử nghiệm khác nữa để diệt nấm và vi khuẩn, chế phẩm được dùng trực tiếp dưới dạng nhỏ giọt vào giữa đĩa thạch aga dextroza khoai tây với mẫu nhỏ ổ bệnh được đặt xung quanh trong tâm cách 2cm. Các đĩa được ủ trong 24 giờ ở nhiệt độ thường và được đo. Lượng chế phẩm được dùng được xác định trong Bảng 17. Tiến hành đo trên các đĩa đối chứng và đĩa thử nghiệm. Lượng ức chế của chế phẩm được thể hiện dưới dạng lượng sinh trưởng so với lượng sinh trưởng trong đĩa đối chứng.

Bảng 17.

Các sinh vật thử nghiệm	6 µl trên thạch aga % ức chế	12,5 µl trên thạch aga % ức chế
<i>Rhizoctonia solani</i>	100	100
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	52	78
<i>Verticillium dahliae</i>	0	0
<i>Sclerotium sclerotiorum</i>	0	64
<i>Penicillium sp.</i>	0	33
<i>Aspergillus fumigatus</i>	30	60
<i>Fusarium solani</i>	0	32
<i>Pythium ultimum</i>	100	100
<i>Bortytis cinerea</i>	0.	50
<i>E.coli</i>	N.D.	Không sinh trưởng
<i>Bacillus subtilis</i>	N.D	Vết

N.D. = không được xác định

Các vi khuẩn đối chứng sinh trưởng tốt và “vết” là xuất hiện sinh trưởng một ít so với đối chứng.

Các kết quả của ví dụ này thể hiện rằng chế phẩm có hoạt tính trong pha khí, đối với tất cả các sinh vật, ở một hoặc tất cả các nồng độ trong khoảng ít nhất 24 giờ. Ở 25µl, hiệu quả là tối đa vì hầu hết các sinh vật đều bị ức chế 100% (Bảng 16). Khi chế phẩm được đặt trực tiếp ở giữa đĩa trên bề mặt, tác dụng của chế phẩm bị giảm một chút, do sự khuếch tán đương nhiên vào nền thạch aga. Tuy nhiên, hoạt tính kháng vi sinh vật vẫn quan sát được (Bảng 17). Nồng độ cao hơn (12,5µl) tác dụng mạnh hơn đến cả vi khuẩn và nấm thử nghiệm so với liều thấp (6µl) trên nền thạch aga, ngoại trừ *Verticillum*.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm kháng vi sinh vật chứa axit propanoic; và thành phần được chọn từ muối của axit C₄-C₆, este của axit C₂-C₅, C₂-C₈ aldehyt và các kết hợp của chúng, miễn là muối của axit C₄ là muối của axit isobutyric và chế phẩm này không chứa các hợp chất dẫn xuất naphtalen và azulen.
2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó muối của axit này được chọn từ các muối của axit isobutyric, các muối của axit xitric và các kết hợp của chúng.
3. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó muối của axit này được chọn từ các muối của axit isobutyric và các kết hợp của chúng.
4. Chế phẩm theo điểm 3, trong đó muối này được chọn từ các muối kali và muối amoni của axit isobutyric.
5. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó este này được chọn từ các este của axit C₄ và các kết hợp của chúng.
6. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó aldehyt này là benzaldehyt.
7. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa axit C₂-C₆ ngoài axit propanoic.
8. Chế phẩm theo điểm 7, trong đó axit này được chọn từ axit axetic, axit isobutyric, axit xitric và các kết hợp của chúng.
9. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó muối của axit này được chọn từ các muối kali và muối amoni của axit isobutyric.
10. Chế phẩm theo điểm 9, trong đó chế phẩm này còn chứa axit ngoài axit propanoic, axit bổ sung này được chọn từ axit axetic, axit isobutyric, axit xitric và các kết hợp của chúng.
11. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa axit propanoic và ít nhất một este của axit C₂-C₅.
12. Chế phẩm theo điểm 11, trong đó chế phẩm này chứa ít nhất một este của axit C₄.
13. Chế phẩm theo điểm 11, trong đó chế phẩm này chứa axit ngoài axit propanoic, axit bổ sung này được chọn từ axit axetic, axit isobutyric, axit xitric và các kết hợp của chúng.
14. Chế phẩm kháng vi sinh vật chứa axit propanoic và ít nhất một muối của axit C₄-C₆, miễn là muối C₄ là muối của axit isobutyric.

15. Chế phẩm theo điểm 14, trong đó muối của axit này được chọn từ các muối của axit isobutyric, các muối của axit xitric và các kết hợp của chúng.
16. Chế phẩm theo điểm 15, trong đó muối của axit này là muối của axit isobutyric.
17. Chế phẩm theo điểm 16, trong đó muối của axit này được chọn từ các muối kali và muối amoni của axit isobutyric.
18. Chế phẩm theo điểm 14, trong đó chế phẩm này còn chứa axit ngoài axit propanoic, axit bổ sung này được chọn từ các axit C₂-C₆ và các kết hợp của chúng.
19. Chế phẩm theo điểm 18, trong đó axit bổ sung được chọn từ axit axetic, axit isobutyric, axit xitric và các kết hợp của chúng.
20. Chế phẩm theo điểm 19, trong đó chế phẩm này được chọn từ chế phẩm chủ yếu chứa axit propanoic và muối của axit isobutyric; và chế phẩm chủ yếu chứa axit propanoic, muối của axit isobutyric và ít nhất một axit trong số axit axetic và axit xitric.
21. Sản phẩm chế biến để phòng ngừa, ức chế và/hoặc diệt trừ bệnh nhiễm vi sinh vật chứa chế phẩm được chọn từ các chế phẩm theo điểm 1, các chế phẩm theo điểm 14 và các kết hợp của các chế phẩm này.
22. Sản phẩm theo điểm 21, trong đó sản phẩm này được chọn từ sản phẩm thực phẩm cho người, sản phẩm thức ăn cho động vật, sản phẩm bao gói và thành phần chất mang rắn.
23. Sản phẩm theo điểm 22, trong đó chất mang rắn này bao gồm đất sét.
24. Sản phẩm theo điểm 22, trong đó sản phẩm thực phẩm cho người này được chọn từ thực phẩm được chế biến sẵn.
25. Sản phẩm theo điểm 24, trong đó sản phẩm này được chọn từ các sản phẩm bơ sữa.
26. Sản phẩm chế biến để phòng ngừa, ức chế và/hoặc diệt trừ bệnh nhiễm vi sinh vật được chọn từ sản phẩm thực phẩm cho người được chế biến sẵn, sản phẩm này chứa chế phẩm được chọn từ các chế phẩm theo điểm 1, các chế phẩm theo điểm 14 và các kết hợp của các chế phẩm này.
27. Sản phẩm theo điểm 26, trong đó sản phẩm này bao gồm sản phẩm pho mát.
28. Chế phẩm kháng vi sinh vật chứa axit propanoic; và thành phần được chọn từ isoamyl axetat, isobutyl isobutytrat, alyl axetat, benzaldehyt, muối của axit isobutyric và các kết hợp của chúng, miễn là chế phẩm này không chứa các hợp chất dẫn xuất naphtalen và azulen.

29. Chế phẩm kháng vi sinh vật chứa axit propanoic và ít nhất một muối của axit C₄-C₆, miễn là muối của axit C₄ này là muối kali của axit isobutyric.
30. Chế phẩm theo điểm 29, trong đó chế phẩm này chứa muối được chọn từ các muối của axit xitric và các kết hợp của chúng.
31. Chế phẩm theo điểm 29, trong đó chế phẩm này còn chứa axit ngoài axit propanoic, axit bổ sung này được chọn từ các axit C₂-C₆ và các kết hợp của chúng.
32. Chế phẩm theo điểm 31, trong đó axit bổ sung được chọn từ axit axetic, axit isobutyric, axit xitric và các kết hợp của chúng.
33. Chế phẩm theo điểm 32, trong đó chế phẩm này được chọn từ chế phẩm chủ yếu chứa axit propanoic và muối kali của axit isobutyric; và chế phẩm chủ yếu chứa axit propanoic, muối kali của axit isobutyric và ít nhất một axit trong số axit axetic và axit xitric.
34. Sản phẩm chế biến để phòng ngừa, ức chế và/hoặc diệt trừ bệnh nhiễm vi sinh vật được chọn từ sản phẩm thực phẩm cho người chế biến sẵn, sản phẩm này chứa chế phẩm được chọn từ các chế phẩm theo điểm 29 và các kết hợp của các chế phẩm này.
35. Sản phẩm theo điểm 34, trong đó sản phẩm này bao gồm sản phẩm pho mát.

Fig.1

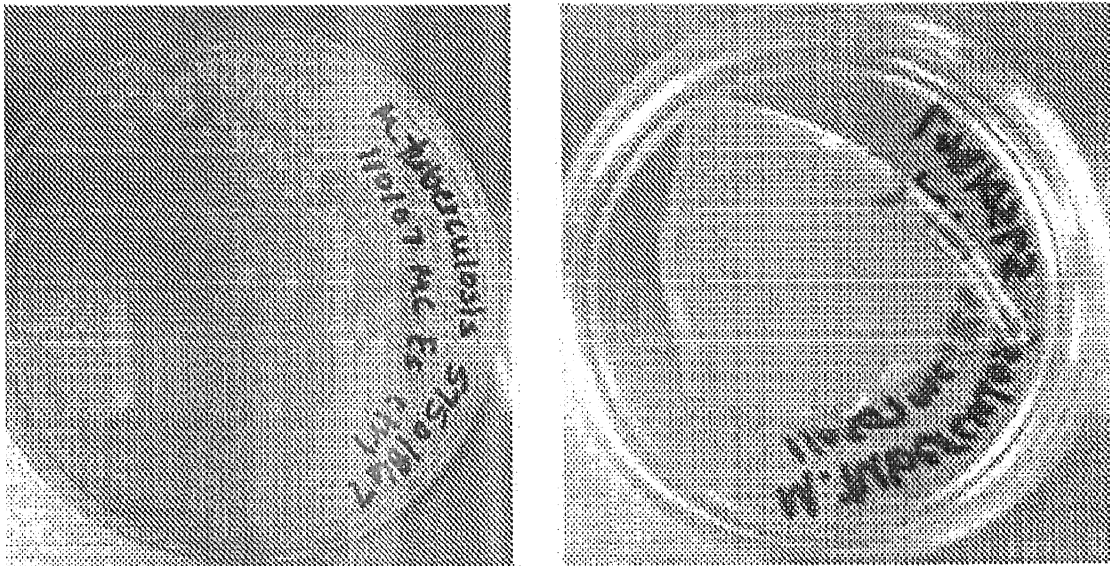
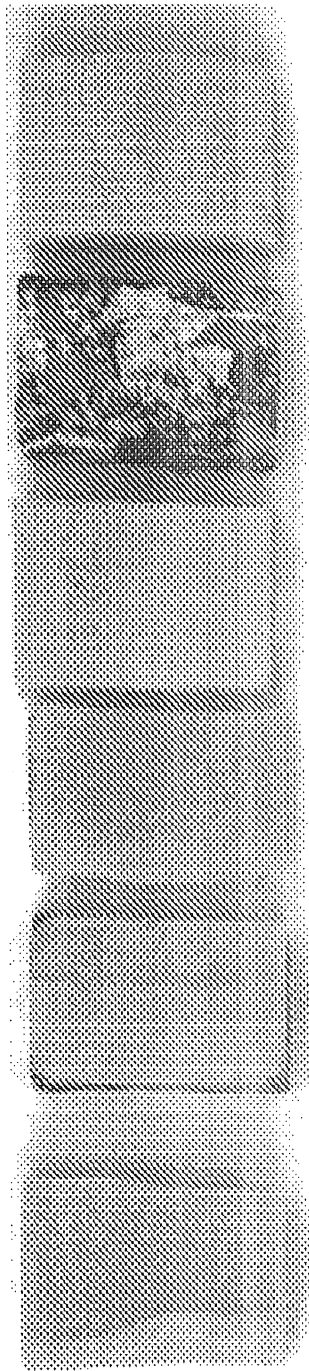


Fig.2



Đối chứng, không xử lý

Chỉ có *Penicillium sp.*

Giấy bọc được xử lý bằng *Penicillium sp.*

Chỉ có giấy bọc được xử lý

Penicillium sp + 10 μ l cf VOCs trong giấy bọc

Chỉ có 10 μ l cf VOCs

Fig.3

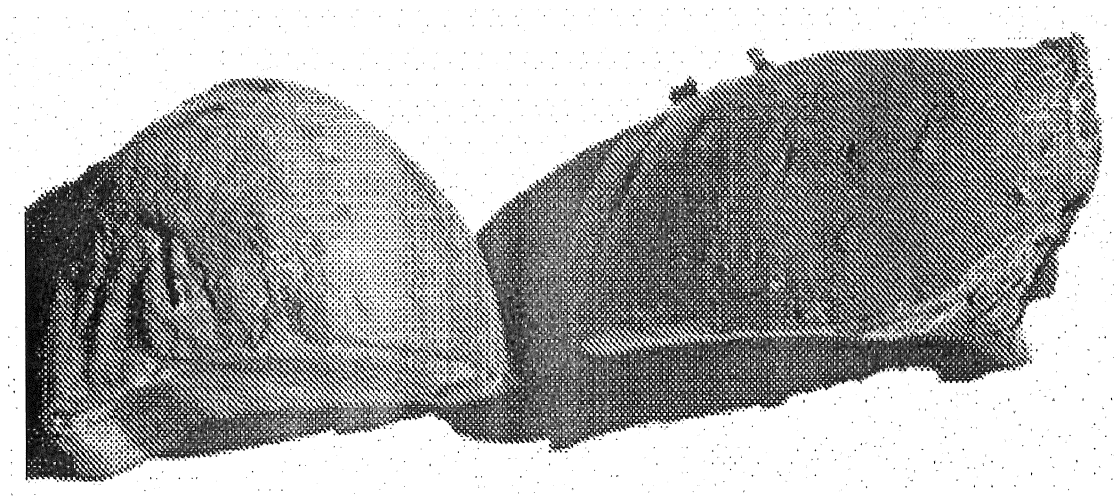


Fig.4

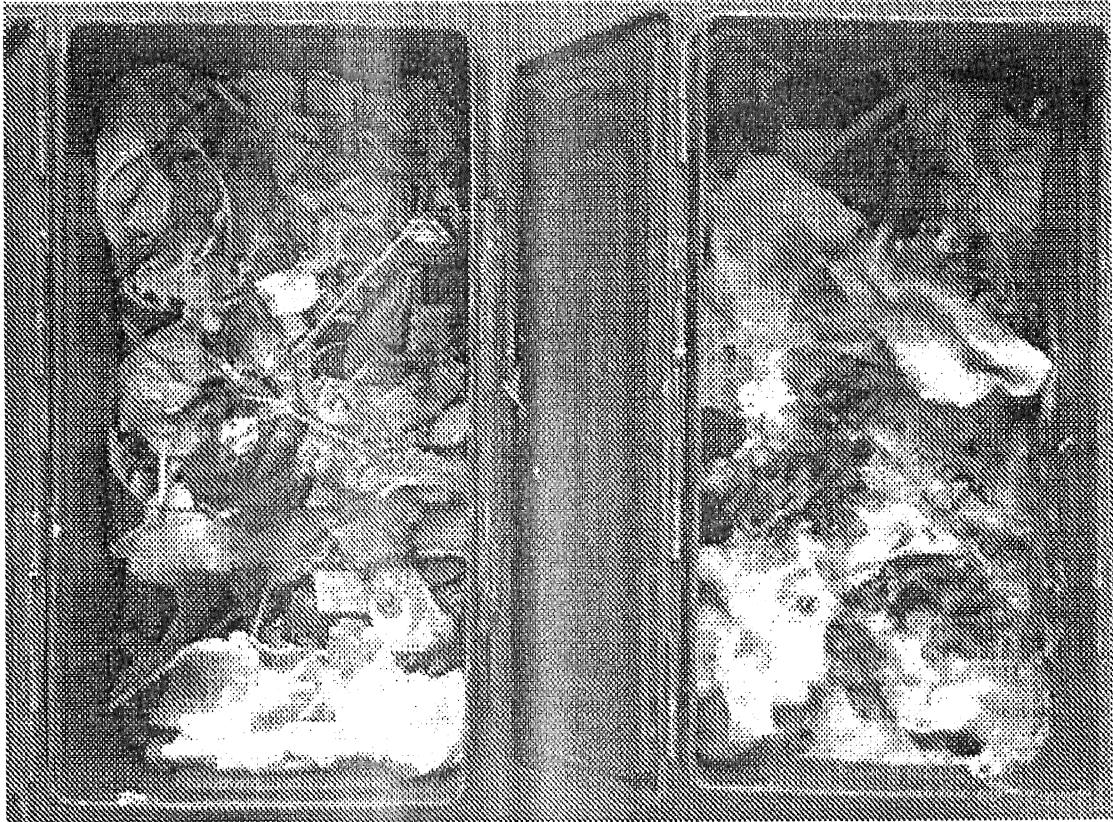


Fig.5

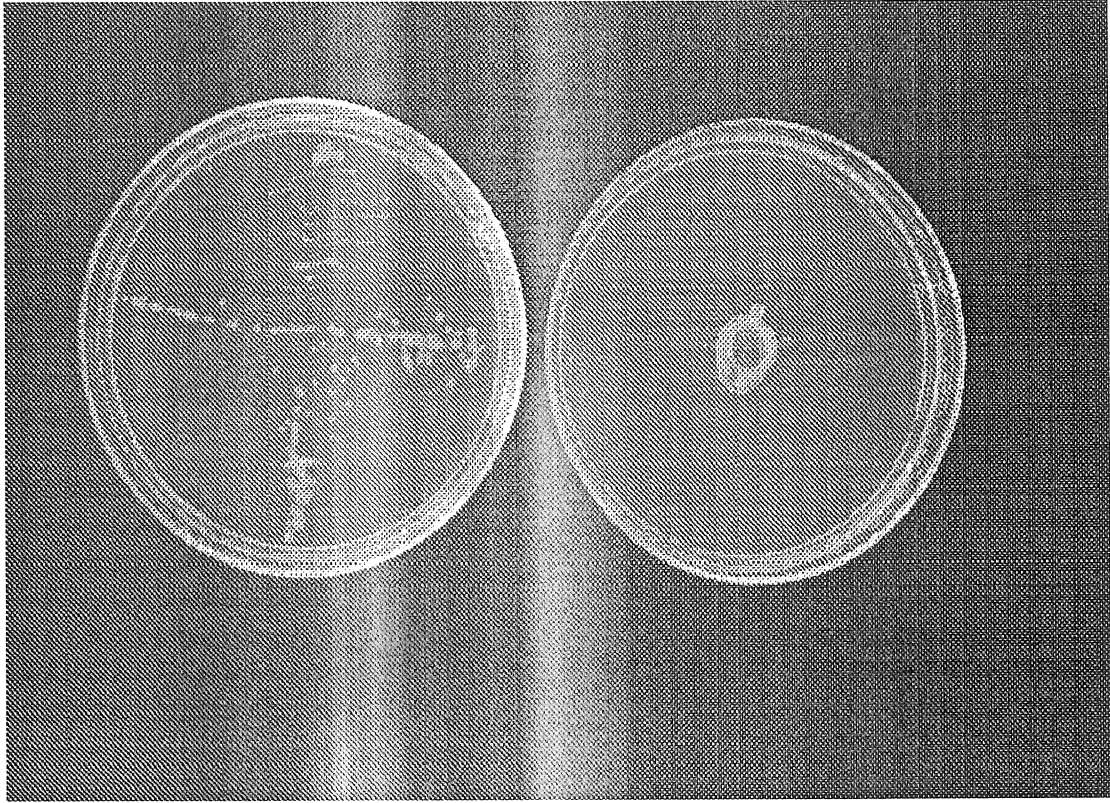


Fig.6

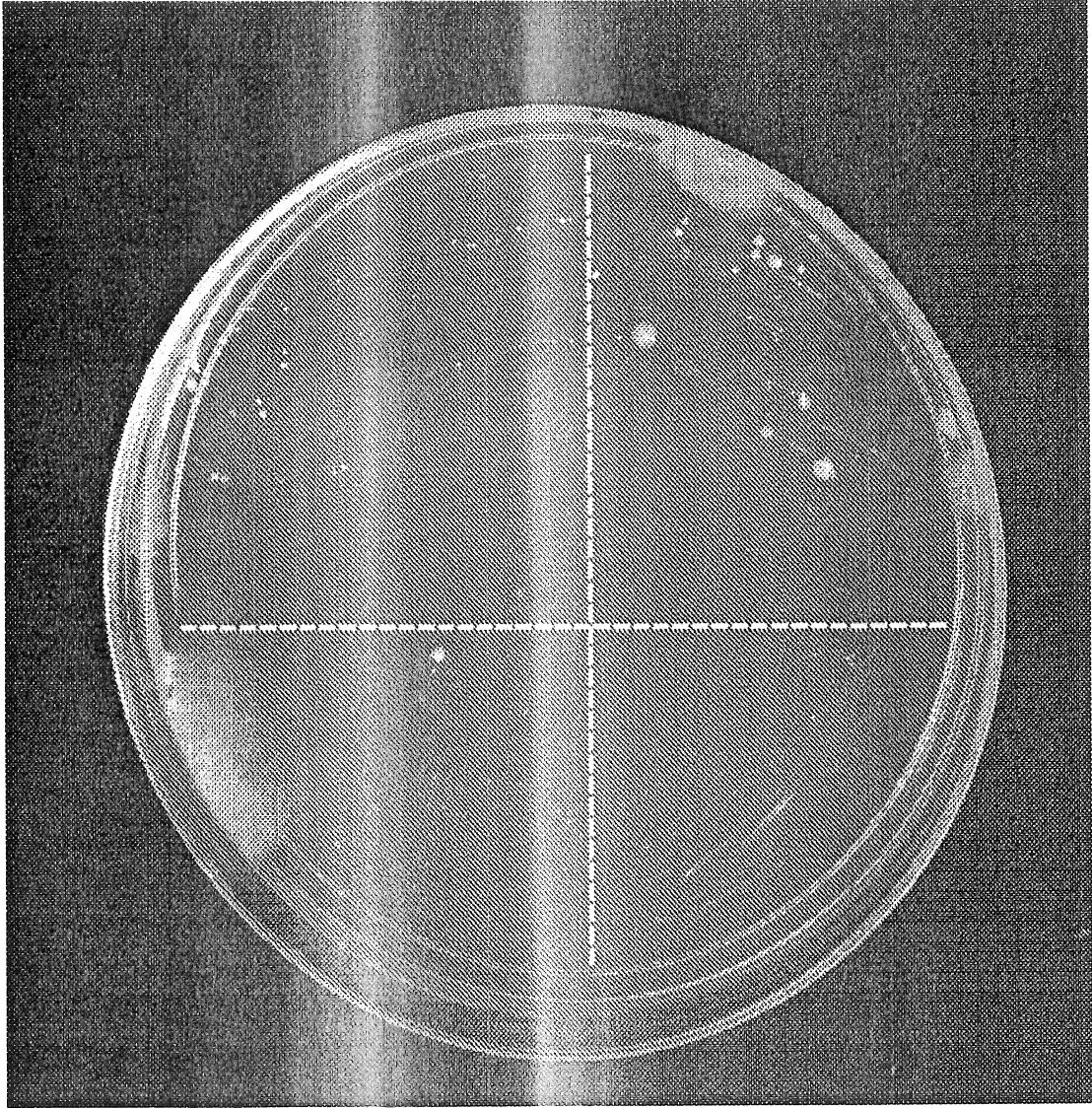


Fig.7A

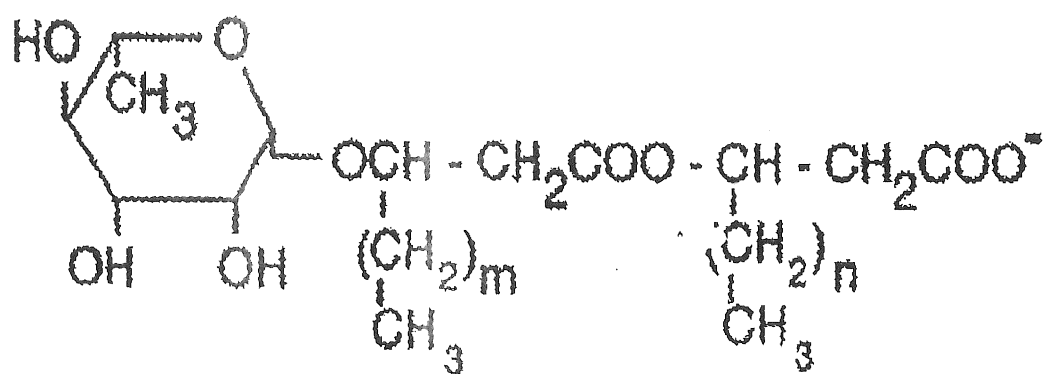


Fig.7B

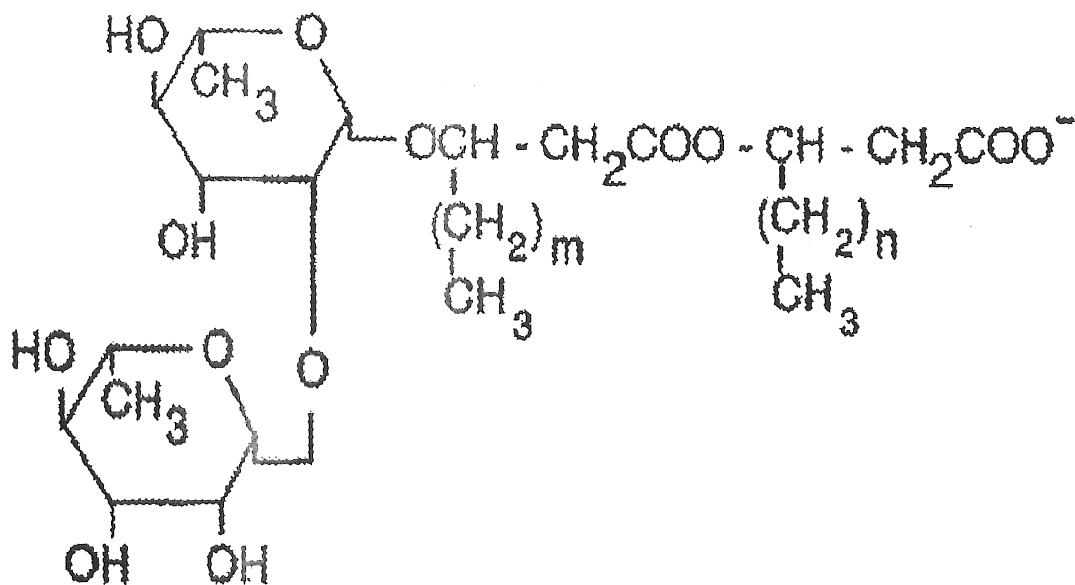
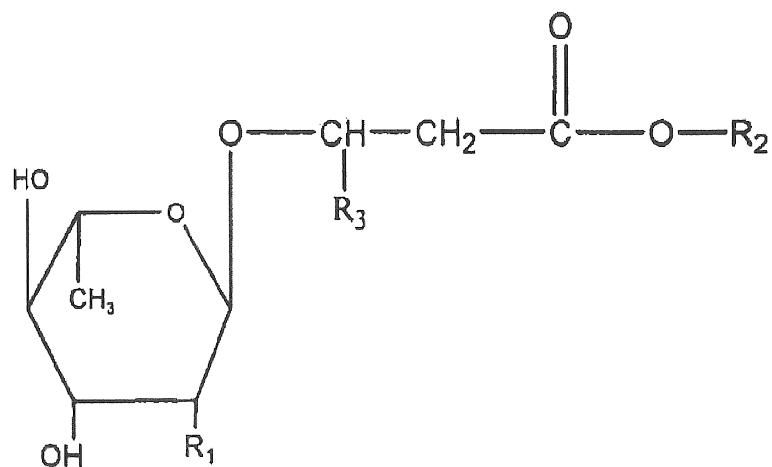


Fig.8



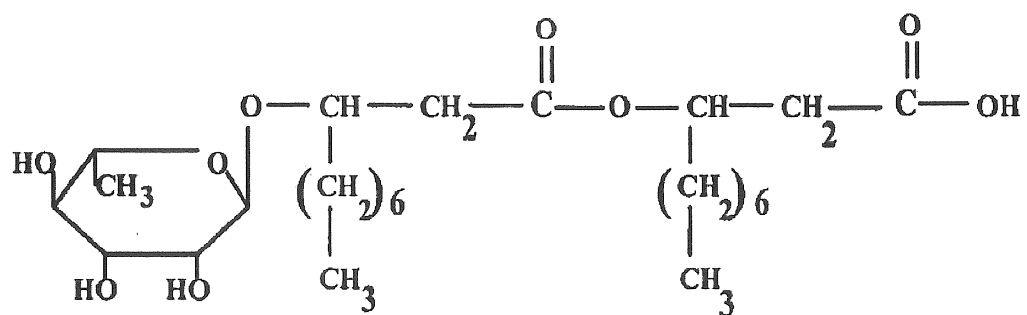
$R_1 = \text{H, OH, } \alpha\text{-L-rhamnopyranosyl;}$

$R_2 = \text{H, } -\underset{\text{R}_4}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{COOH;}$

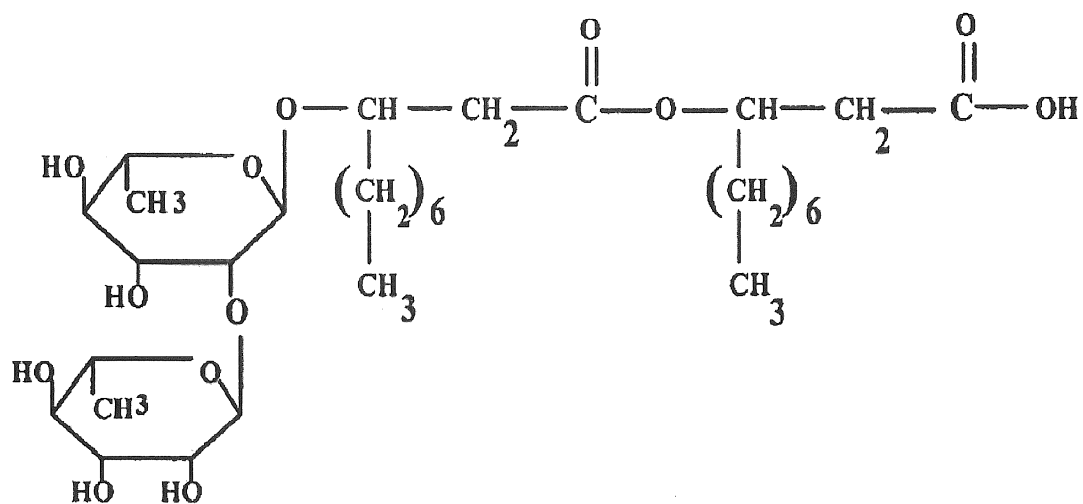
$R_3 = \text{alkyl (C}_5\text{-C}_{20}) \text{ no, không no đơn hoặc đa}$

$R_4 = \text{alkyl (C}_5\text{-C}_{20}) \text{ no, không no đơn hoặc đa}$

Fig.9

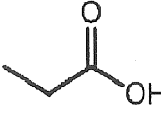
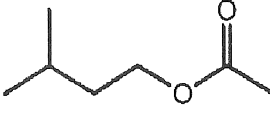
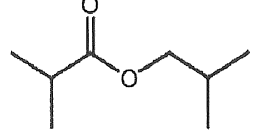
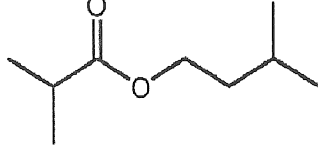
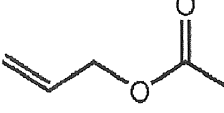
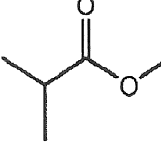
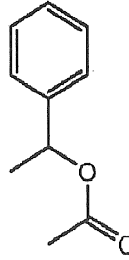
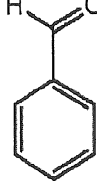


R1 -- α -L-RHAMNOPYRANOSYL- β -HYDROXYDECANOYL
- β -HYDROXYDECANOAT



R2 -- 2-O- α -L-RHAMNOPYRANOSYL- α -L-RHAMNOPYRANOSYL
- β -HYDROXYDECANOYL- β -HYDROXYDECANOAT

Fig.10

Tên thông thường (viết tắt hóa học)	Cấu trúc	Tên IUPAC*
Axit propanoic		Axit propionic
Isoamyl axetat (axit axetic, 3-metylbutyl este)		Isopentyl axetat
Isobutyl isobutytrat (axit propanoic, 2-metyl-, 2-metylpropyl este)		Isobutyl isobutytrat
Isopentyl isobutytrat (axit propanoic, 2-metyl-, 3-metylbutyl este)		Isopentyl isobutytrat
Alyl axetat (axit axetic, 2-propenyl este)		Alyl axetat
Metyl isobutytrat (axit propanoic, 2-metyl-, metyl este)		Metyl isobutytrat
Phenyletyl axetat (axit axetic, 1-phenyletyl este)		1- Phenyletyl axetat
Benzaldehyt		Benzaldehyt

* Tên gọi cho các hợp chất này được tạo ra bởi ChemBioDraw Ultra, phiên bản 13.0

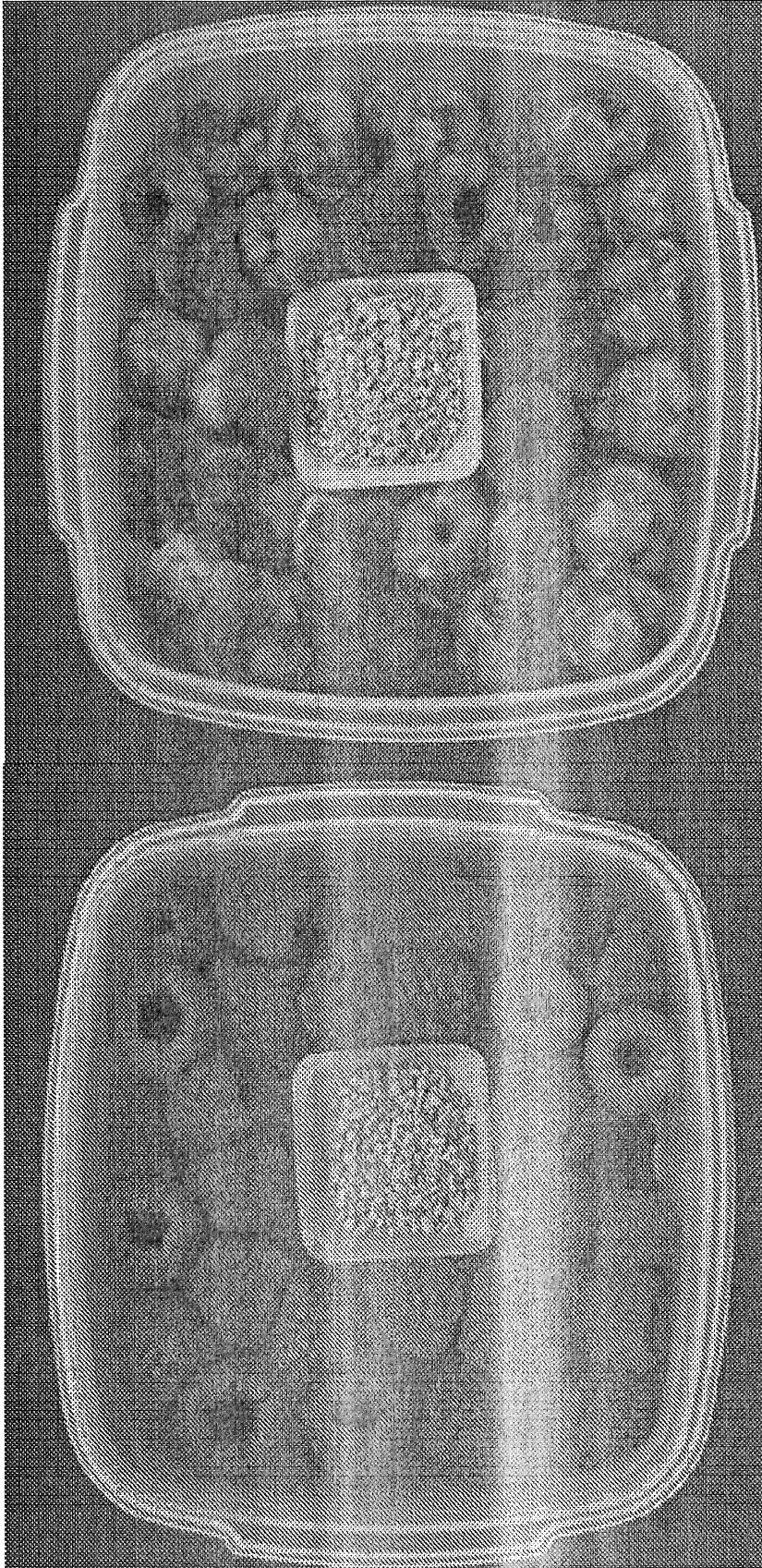


Fig. 11B

Fig. 11A