



(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)



1-0031172

(51)⁷ A23L 3/00; B65D 85/72; A23L 3/40;
A23D 7/06

(13) B

(21) 1-2018-04040

(22) 27/10/2016

(86) PCT/KR2016/012147 27/10/2016

(87) WO2017/159949 21/09/2017

(30) 10-2016-0031502 16/03/2016 KR; 10-2016-0138963 25/10/2016 KR

(45) 25/02/2022 407

(43) 25/02/2019 371A

(73) SPRING OF LIFE (KR)

20-107, Bongam-gil Mongtan-myeon Muan-gun Jeollanam-do 58546, Republic of Korea

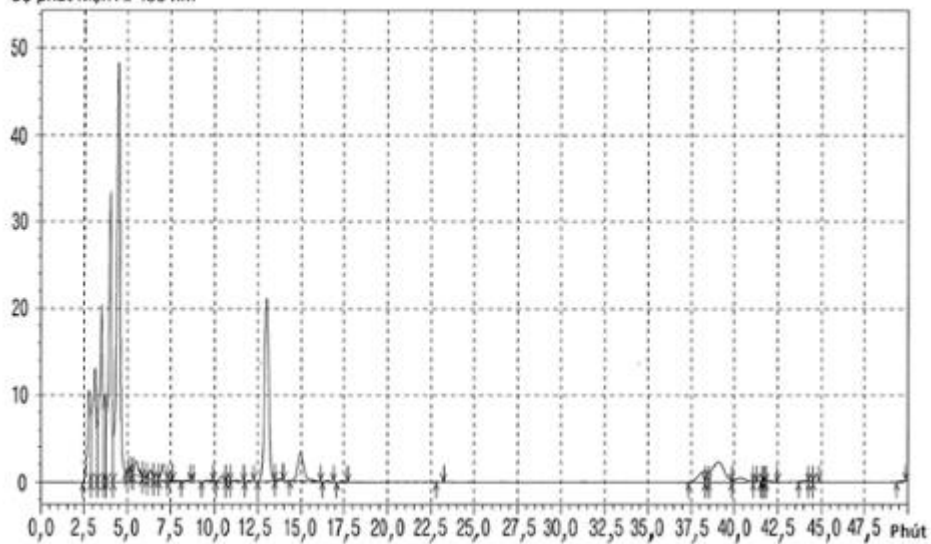
(72) OH, Hng Sang (KR); CHO, Hee Sook (KR).

(74) Công ty TNHH T&T INVENMARK Sở hữu trí tuệ Quốc tế (T&T INVENMARK CO., LTD.)

(54) PHƯƠNG PHÁP BẢO QUẢN CHẤT DIỆP LỤC

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp lắng đọng chất diệp lục tự nhiên a trong thực phẩm để nó ổn định. Theo sáng chế, chất diệp lục tự nhiên a được chiết xuất và chất diệp lục tự nhiên a sau khi chiết xuất được bảo quản bằng cách lắng đọng trong bột sữa, dầu ăn (dầu đậu nành, dầu hạt, dầu ô liu, dầu hạt nho và dầu hạt hướng dương), các protein (protein đậu nành, các protein nước sữa (WPI, WPC, WPH), protein casein và protein trứng), hỗn hợp của dầu ăn và protein, hoặc hỗn hợp của bột sữa và bột đậu, và sự thay đổi hàm lượng của chất diệp lục a trong thực phẩm được phân tích theo thời gian. Kết quả là, đã xác nhận được rằng khi chất diệp lục a được lắng đọng trong bột sữa, hàm lượng của chất diệp lục a được duy trì đến 8 tháng sau khi bảo quản và hàm lượng chất diệp lục a được dự kiến sẽ duy trì trong thời gian dài. Khi chất diệp lục a được lắng đọng trong dầu ăn, độ ổn định của chất diệp lục a tăng lên khi nó được bảo quản trong viên nang mềm để ngăn không cho nó tiếp xúc với không khí, trong khi đó khi chất diệp lục a được lắng đọng trong hỗn hợp của protein và protein đậu nành hoặc hỗn hợp của bột sữa và bột đậu, chất diệp lục a bắt đầu bị phân hủy chậm nhưng các thành phần hoạt tính của nó vẫn được duy trì trong khoảng thời gian khá dài.

nV
Bộ phát hiện A: 400 nm



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp bảo quản chất điệp lục có độ ổn định được cải thiện bằng cách lắng đọng chất điệp lục tự nhiên a trong các loại thực phẩm và protein khác nhau.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Chất điệp lục tự nhiên a là một sắc tố quang hợp có trong lá cây, nước ngọt và tảo biển. Người ta đã xác nhận được rằng chất điệp lục tự nhiên a có thể thải ra nhiều kim loại nặng và thậm chí cả các chất có hoạt tính phóng xạ từ cơ thể người. Chất điệp lục tự nhiên a cần thiết để loại bỏ các độc tố khác nhau tích tụ trong cơ thể của người hiện đại mà thường tiếp xúc với môi trường bị ô nhiễm.

Một chức năng khác của chất điệp lục tự nhiên a là chuyển đổi các chất dinh dưỡng dư thừa tích lũy thành năng lượng trong cơ thể con người.

Đã xác nhận rằng chất điệp lục tự nhiên a có thể chuyển đổi sự tích lũy triglyxerit, lipid peroxyt, cholesterol dư thừa, và v.v. thành năng lượng trong cơ thể. Việc giảm sự tích lũy chất dinh dưỡng dư thừa sẽ khơi thông các mạch máu bị tắc nghẽn, theo đó tăng cường sự lưu thông máu trơn tru. Ngoài ra, đã được xác nhận rằng chất điệp lục tự nhiên a có chức năng hình thành Catalase, một enzym phân hủy các loại oxy hoạt động; loại bỏ các loại oxy hoạt động trong tế bào; và tạo máu làm tăng mức của các tế bào bạch cầu, các tế bào hồng cầu, bạch cầu trung tính, v.v..

Cho đến nay, các chức năng được biết có liên quan đến chất điệp lục a bao gồm các tác dụng chống đột biến gen, chống lệch ADN, gây độc kháng gen, chống phá vỡ nhiễm sắc thể, ức chế sự tăng sinh của khối u, hoạt động chống ung thư, v.v.. Tác dụng của chất điệp lục a đã được xác nhận bởi nhiều nghiên cứu liên quan đến ung thư, các bệnh đường ruột, thiếu máu, điều trị chấn thương, tiểu đường, các bệnh của dạ dày-

ruột, loại bỏ mùi hôi, xơ gan, viêm khớp, loại bỏ buồn nôn, bệnh nha chu, tăng cường hoạt động gan, tàn nhang, vết thương, dị ứng, mụn trứng cá, cải thiện da, tăng huyết áp, hoạt động trợ tim, bệnh tim mạch, bệnh tim, tăng lipit máu, kháng vi-rút, chống dị ứng, kháng khuẩn, kháng cholesterol, thúc đẩy chuyển hóa, v.v., đã được xác nhận trong các tạp chí.

Chất diệp lục tự nhiên a tương đối ổn định khi nó được bao quanh bởi màng cứng thylakoit (trong tế bào thực vật). Tuy nhiên, con người không có enzyme để phân hủy thylakoit và do đó, chất diệp lục tự nhiên a ở trạng thái tự nhiên không thể được hấp thu vào cơ thể bằng cách tiêu thụ thực vật. Chất diệp lục tự nhiên a có thể được hấp thu vào cơ thể, tuy nhiên, nó có thể dễ dàng bị phá hủy khi tiếp xúc với ánh sáng, nhiệt độ cao và không khí. Do đó, việc đưa chất diệp lục a vào cơ thể vẫn còn rất khó khăn.

Theo phương pháp chiết xuất chất diệp lục a thông thường, chất diệp lục tự nhiên a có thể được chiết xuất từ tất cả các loại lá thực vật. Lượng chất diệp lục a khác nhau rất nhiều giữa các loại thực vật, tuy nhiên các vi sinh vật biển như rong tiểu cầu và tảo lục xoắn (được chỉ ra) là nguồn cho hiệu quả chiết xuất chất diệp lục a cao nhất. Các vi sinh vật này không chỉ dễ nuôi cấy mà còn chứa một lượng lớn chất diệp lục a, do đó cho phép chiết xuất chất diệp lục a một cách hiệu quả. Tuy nhiên, rất khó để bảo quản các vi sinh vật này ở trạng thái sống từ khía cạnh bảo quản nguyên liệu thô ổn định. Việc bảo quản lạnh các vi sinh vật này có thể ngăn chặn sự phân hủy các vi sinh vật nhưng nó cũng dẫn đến phá hủy chất diệp lục a chứa chúng. Ngoài ra, khi chất diệp lục a được chiết xuất từ rong tiểu cầu sống, việc chiết xuất chất diệp lục a cùng với các chất dinh dưỡng khác sẽ tốt hơn vì vậy chúng có thể được bảo quản dưới dạng thực phẩm, từ khía cạnh dinh dưỡng.

Tuy nhiên, mặc dù chất diệp lục a có nhiều tác dụng trong việc điều trị các bệnh khác nhau nhưng lượng chất diệp lục a tiêu thụ từ thực phẩm ở trạng thái tự nhiên rất khó hấp thụ vào cơ thể, và chất diệp lục a cũng dễ bị phá vỡ trong quá trình chiết xuất.

Vấn đề nêu trên có thể được khắc phục bởi sáng chế dưới đây, trong đó sáng chế đề xuất phương pháp làm ổn định chất điệp lục tự nhiên a đã chiết xuất.

Liên quan đến phương pháp chiết xuất chất điệp lục tự nhiên a hoặc phương pháp làm ổn định chất điệp lục a đã chiết xuất, bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-0808630 và 10-0808630 đã bộc lộ phương pháp điều chế clorin, để chiết xuất chất điệp lục a, trong đó các thành phần khác với chất điệp lục a được coi là tạp chất và được loại bỏ đầu tiên bằng cách chiết bằng etanol 60%, và sau đó chất điệp lục a được chiết bằng etanol 70%. Mặc dù các phương pháp này là phương pháp hợp lý để thu được một mình chất điệp lục a để điều chế clorin nhưng chúng không được đánh giá là hiệu quả để được sử dụng để điều chế chất điệp lục a làm thực phẩm để sử dụng.

Ngoài ra, bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-0979224 đã bộc lộ chất điệp lục a, chế phẩm của chất điệp lục a được làm ổn định chứa chất chống oxy hóa làm chất làm ổn định cho chất điệp lục a, và phương pháp làm ổn định chất điệp lục a. Tuy nhiên, sáng chế hướng đến việc cải thiện độ ổn định cho chất điệp lục a bằng cách lắng đọng nó trong thực phẩm lại chưa từng được biết tới.

Trong các điều kiện nêu trên, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra phương pháp chiết xuất chất điệp lục tự nhiên a và bảo quản ổn định chất chiết xuất này. Chất điệp lục tự nhiên a sau khi chiết xuất được được bảo quản bằng cách lắng đọng nó trong bột sữa, dầu ăn (dầu đậu nành, dầu hạt, dầu ô liu, dầu hạt nho và dầu hạt hướng dương), các protein (protein đậu nành, protein nước sữa (WPI, WPC, WPH), protein casein, và protein trứng), hỗn hợp của dầu ăn và protein, hoặc hỗn hợp của bột sữa và bột đậu, và phân tích sự thay đổi của hàm lượng của chất điệp lục a trong thực phẩm theo thời gian. Kết quả là, khi chất điệp lục a được lắng đọng trong bột sữa, hàm lượng của chất điệp lục a được duy trì lên đến 8 tháng sau khi bảo quản. Khi chất điệp lục a được lắng đọng trong dầu ăn, độ ổn định của chất điệp lục a tăng lên đáng kể khi nó được bảo quản trong viên nang mềm để ngăn không cho nó tiếp xúc với không khí, trong khi chất điệp lục a được lắng đọng trong hỗn hợp của protein và protein đậu nành hoặc

hỗn hợp của bột sữa và bột đậu, chất diệp lục a bắt đầu bị phân hủy chậm nhưng các thành phần hoạt tính của nó được chỉ ra là vẫn được giữ nguyên trong khoảng thời gian khá dài. Do đó, đã xác nhận được rằng phương pháp lắng đọng chất diệp lục a đã chiết xuất trong thực phẩm hoặc protein có thể bảo quản hiệu quả chất diệp lục tự nhiên a, mà rất khó được bảo quản (theo cách tự nhiên) trong hơn 8 tháng, qua đó hoàn thành sáng chế.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất phương pháp chiết xuất chất diệp lục tự nhiên a cùng với các chất dinh dưỡng khác, và lắng đọng nó trong thực phẩm hoặc protein, theo đó bảo quản nó với độ ổn định được cải thiện.

Để đạt được mục đích nêu trên, sáng chế đề xuất phương pháp bảo quản rong tiêu câu và tảo xoắn, phương pháp chiết xuất chúng và phương pháp bảo quản chất diệp lục a với độ ổn định được cải thiện bao gồm bước lắng đọng chất diệp lục a đã chiết xuất trong thực phẩm hoặc protein.

Hiệu quả của sáng chế

Trong chất diệp lục tự nhiên a đã chiết xuất theo sáng chế, chất diệp lục tự nhiên a đã chiết xuất cùng với các chất dinh dưỡng khác. Kết quả là, chi phí để tách và chiết xuất chất diệp lục tự nhiên a có thể giảm so với khi chỉ có chất diệp lục a được tách và chiết xuất; chất diệp lục a có thể được sử dụng làm thực phẩm và do đó, có ưu điểm hơn từ khía cạnh dinh dưỡng; và việc chiết xuất được thực hiện sử dụng nguyên liệu thô ở trạng thái khô và do đó, chất diệp lục a có thể được chiết xuất mà không bị biến tính. Các tác giả sáng chế đã chiết xuất và bảo quản chất diệp lục tự nhiên a đã chiết xuất bằng cách lắng đọng nó trong bột sữa, dầu ăn (dầu đậu nành, dầu hạt, dầu ô liu, dầu hạt nho, và dầu hạt hướng dương), các protein (protein đậu nành, protein nước sữa (WPI), WPC, WPH), protein casein và protein trứng), hỗn hợp của dầu ăn và protein, hoặc hỗn hợp của bột sữa và bột đậu, và phân tích sự thay đổi về hàm lượng

của chất điệp lục a trong thực phẩm theo thời gian. Kết quả là, đã phát hiện ra rằng khi chất điệp lục a được lắng đọng trong bột sữa, hàm lượng của chất điệp lục a được duy trì, khi kiểm tra lên đến 8 tháng sau khi bảo quản. Khi chất điệp lục a được lắng đọng trong dầu ăn, độ ổn định của chất điệp lục a tăng lên khi nó được bảo quản trong viên nang mềm để ngăn không cho nó tiếp xúc với không khí, trong khi đó khi chất điệp lục a được lắng đọng trong protein và protein đậu nành, hiệu quả lắng đọng cao đáng kể, và khi chất điệp lục a được lắng đọng trong hỗn hợp của protein và protein đậu nành hoặc hỗn hợp của bột sữa và bột đậu, chất điệp lục a bắt đầu bị phân hủy dần nhưng các thành phần hoạt tính của nó được chỉ ra là vẫn được giữ nguyên trong thời gian khá dài. Do đó, đã xác nhận được rằng phương pháp lắng đọng chất điệp lục a đã chiết xuất trong thực phẩm hoặc protein có thể được sử dụng để bảo quản hiệu quả chất điệp lục tự nhiên a, mà vốn rất khó bảo quản, trong hơn 8 tháng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Các mục đích nêu trên và các mục đích khác, các đặc tính và các ưu điểm khác của sáng chế sẽ được hiểu rõ hơn từ phần mô tả chi tiết sau đây có dựa vào các hình vẽ kèm theo, trong đó:

Fig.1 là sơ đồ thể hiện kết quả phân tích HPLC của chất điệp lục a đã chiết xuất (trục nằm ngang: thời gian; trục thẳng đứng: độ hấp thụ);

Fig.2 là sơ đồ thể hiện kết quả phân tích HPLC của chất điệp lục a được chiết xuất bằng cách bổ sung rượu nồng độ 70% hoặc cao hơn vào rong tiểu câu; và

Fig.3 là sơ đồ thể hiện kết quả phân tích HPLC của chất điệp lục a từ rong tiểu câu được bảo quản lạnh.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các đặc tính và ưu điểm của sáng chế sẽ được hiểu rõ hơn từ phần mô tả chi tiết các phương án được ưu tiên dưới đây của sáng chế nhờ tham khảo các hình vẽ đi kèm.

Điều đầu tiên cần lưu ý là các thuật ngữ hoặc các từ ngữ được sử dụng ở đây nên được hiểu theo ý nghĩa hoặc khái niệm tương ứng với giải pháp kỹ thuật của sáng chế, dựa trên nguyên tắc là tác giả sáng chế có thể xác định một cách thích hợp các khái niệm về các thuật ngữ để mô tả tốt nhất sáng chế. Ngoài ra, cần hiểu rằng phần mô tả chi tiết về chức năng và cấu trúc đã biết liên quan đến sáng chế sẽ được bỏ qua để việc mô tả sáng chế được rõ ràng.

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết.

Sáng chế đề xuất phương pháp bảo quản chất điệp lục a cải thiện được độ ổn định bao gồm bước lắng đọng chất điệp lục tự nhiên a trong thực phẩm hoặc protein.

Tốt hơn, nếu chất điệp lục tự nhiên a được chiết xuất từ rong tiểu cầu hoặc tảo xoắn, do phương pháp chiết xuất sử dụng nguyên liệu thô là vi sinh vật khô (vi tảo) như rong tiểu cầu hoặc tảo xoắn được bảo quản sau khi sấy rất hữu ích cho việc chiết xuất ổn định thành phần chất điệp lục.

Tốt hơn, nếu thực phẩm được chọn từ bột sữa, dầu ăn, hoặc hỗn hợp của bột sữa và bột đậu đen, và hỗn hợp này tốt hơn là chứa lớn hơn hoặc bằng 40%, và bột sữa và bột đậu đen được trộn với tỷ lệ 50:50 (g/g). Các loại dầu ăn có thể ăn được và, tốt hơn nếu chúng được chọn từ nhóm gồm dầu đậu nành, dầu hạt, dầu ô liu, dầu hạt nho và dầu hạt hướng dương.

Ngoài ra, protein được chọn từ nhóm bao gồm protein đậu nành, thể phân tách protein nước sữa (Whey Protein Isolate - WPI), dịch thủy phân protein nước sữa (Whey Protein Hydrolysate - WPH), dịch cô protein nước sữa (Whey Protein Concentrate - WPC), protein casein và protein trứng, nhưng không giới hạn ở các protein này.

Ngoài ra, tốt hơn nếu việc lắng đọng được thực hiện ở áp suất nằm trong khoảng từ 40torr đến 60torr ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30°C đến 50°C trong khoảng thời gian từ 4 giờ đến 6 giờ, nhưng tỷ lệ này có thể được điều chỉnh thích hợp để phù hợp với các đặc điểm của đường cong bay hơi của nguyên liệu.

Tốt hơn, nếu phương pháp còn bao gồm bước bảo quản chất điệp lục a, mà được lắng đọng trong dầu ăn, trong viên nang mềm.

Tốt hơn, nếu phương pháp còn bao gồm việc bảo quản chất điệp lục a, được lắng đọng trong bột sữa, dầu ăn, hoặc hỗn hợp của bột sữa và bột đậu đen, trong vật chứa bao gói bằng cách nạp đầy nitơ.

Tốt hơn, nếu phương pháp còn bao gồm bước bảo vệ chúng khỏi hơi ẩm trong không khí, và còn bao gồm bước nạp đầy khí nitơ trong quá trình đóng gói.

Tốt hơn, nếu phương pháp còn bao gồm bước tạo hình chúng thành viên nén, trong đó diện tích bề mặt tiếp xúc với không khí được giảm thiểu.

Trong phương án được ưu tiên của sáng chế, chất điệp lục tự nhiên a được chiết xuất và chất điệp lục tự nhiên a được chiết xuất được bảo quản bằng cách lắng đọng trong bột sữa, dầu ăn (dầu đậu nành, dầu hạt, dầu ô liu, dầu hạt nho và dầu hạt hướng dương), các protein (protein đậu nành, protein nước sữa (WPI, WPC, WPH), protein casein và protein trứng), hỗn hợp của dầu ăn và protein, hoặc hỗn hợp của bột sữa và bột đậu, và sự thay đổi hàm lượng của chất điệp lục a trong các loại thực phẩm được phân tích theo thời gian. Kết quả là, đã xác nhận được rằng khi chất điệp lục a được lắng đọng trong bột sữa, hàm lượng của chất điệp lục a được duy trì đến 8 tháng sau khi bảo quản (xem bảng 1); khi chất điệp lục a được lắng đọng trong dầu ăn, độ ổn định của chất điệp lục a tăng lên khi nó được bảo quản trong viên nang mềm để ngăn không cho nó tiếp xúc với không khí (xem bảng 2 và bảng 3); khi chất điệp lục a được lắng đọng trong protein (xem bảng 4) và khi chất điệp lục a được lắng đọng trong dầu ăn (xem bảng 2), tỷ lệ lắng đọng cao đáng kể; khi chất điệp lục a được lắng đọng trong hỗn hợp của protein và protein đậu nành (xem bảng 5) hoặc hỗn hợp của bột sữa và bột đậu (xem bảng 6), chất điệp lục a bắt đầu bị phân hủy chậm nhưng hàm lượng của nó được chỉ ra vẫn được giữ nguyên một khoảng thời gian khá dài.

Do đó, phương pháp lắng đọng chất diệp lục a trong thực phẩm hoặc protein có thể được sử dụng làm phương pháp bảo quản hiệu quả chất diệp lục tự nhiên a, vốn rất khó bảo quản trong hơn 8 tháng.

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn dựa vào các ví dụ và ví dụ thử nghiệm. Tuy nhiên, các ví dụ và ví dụ thử nghiệm dưới đây chỉ được cung cấp cho mục đích minh họa và phạm vi của sáng chế không bị giới hạn theo cách bất kỳ bởi các ví dụ này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Chiết xuất và phân tích chất diệp lục tự nhiên a

1-1. Chiết xuất chất diệp lục tự nhiên a từ rong tiểu câu biển

Để chiết xuất chất diệp lục tự nhiên a, ly tâm rong tiểu câu biển, và rửa sản phẩm ly tâm bằng nước ngọt để loại bỏ kiềm, và thêm rượu có nồng độ lớn hơn hoặc bằng 70% vào rong tiểu câu này (1 kg) và chiết hỗn hợp trong hơn 5 giờ.

1-2. Chiết xuất chất diệp lục tự nhiên a từ rong tiểu câu khô

Để chiết xuất chất diệp lục tự nhiên a, thêm rượu có nồng độ lớn hơn hoặc bằng 70% vào rong tiểu câu khô (500g) và chiết hỗn hợp này trong 5 giờ.

1-3. Phân tích hàm lượng của chất diệp lục a

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) được sử dụng để phân tích hàm lượng của chất diệp lục a là HPLC Dongil-Shimadzu được trang bị cột của công ty ACE (sản phẩm số ACE-121-2546). Thể tích đầu vào là 10 μ l và tốc độ dòng được đặt ở mức 1ml/phút. Metanol (assay99.9) được sử dụng làm dung dịch phát triển và chất diệp lục a được mua từ SIGMA-ALDRICH được sử dụng làm nguyên liệu tham chiếu (sản phẩm số C5753MG; chất diệp lục a được chiết xuất từ rau bina).

Như được thể hiện trên Fig.1, liên quan đến kết quả HPLC, đỉnh tương ứng với chất diệp lục a được xác nhận tại thời gian lưu là 13,024 phút), và việc phân tích dung dịch mẫu được chiết xuất từ rong tiểu câu biển cho thấy đỉnh tương ứng với chất diệp

lục a ở thời gian lưu là 13,024 phút, như được thể hiện trên Fig.2 và Fig.3. Ngoài ra, các đỉnh tương ứng với các thành phần khác đã được quan sát ở thời gian lưu là 2,5 phút đến 5,0 phút, 5,0 phút đến 12 phút, 15 phút và 38,8 phút, do đó xác nhận được rằng các chất dinh dưỡng khác nhau có trong rong tiểu câu cũng được chiết xuất ra cùng với chất diệp lục a.

Ví dụ thử nghiệm 1: Xác nhận sự thay đổi về hàm lượng của chất diệp lục a sau khi lắng đọng chất diệp lục a đã chiết xuất trong bột sữa

Để bảo quản ổn định chất diệp lục a đã chiết xuất, sự thay đổi về hàm lượng của chất diệp lục a được phân tích sau khi lắng đọng nó trong bột sữa.

Cụ thể, dung dịch etanol chứa chất diệp lục a được chiết bằng phương pháp theo ví dụ 1-1 (hàm lượng của chất diệp lục a: 0,6699mg/ml) với lượng 10 lít được bổ sung vào bột sữa toàn phần (500g), và được cô đặc ở áp suất 50 torr trong bể được giữ ở 40°C sử dụng thiết bị cô quay. Khi gần như tất cả rượu đã bay hơi, dịch cô được xử lý thành các hạt, làm khô, và đóng gói trong túi trà và bảo quản.

Để lắng trong bột sữa, mẫu đã làm khô ở trên (0,3g) được hòa tan trong etanol 95% (10 ml), và hàm lượng của chất diệp lục a được phân tích bằng HPLC theo thời gian bảo quản.

Kết quả là, tổng lượng chất diệp lục a chứa trong dung dịch rượu chứa chất diệp lục a được chiết xuất đầu tiên là 1,6699 mg. Sau khi cô đặc bột sữa toàn phần (500g), lượng chất diệp lục a vẫn được xác định là nằm trong khoảng từ 730,8 mg (phân tích 3/11) đến 1,092mg (phân tích 1/15).

Ngoài ra, chất diệp lục a được lắng đọng gần như đồng nhất sau khi cô đặc bằng cách sử dụng thiết bị cô quay, và kết quả phân tích các mẫu được bảo quản trong túi trà (khoảng 5g/túi) trong khoảng thời gian một tuần đã xác nhận được rằng chất diệp lục a gần như không bị phá hủy theo thời gian.

Bảng 1: Thay đổi về hàm lượng của chất diệp lục a theo thời gian sau khi lắng đọng chất diệp lục a trong bột sữa (đơn vị: mg/ml)

Ngày	11/27	12/4	12/8	12/25	1/1	1/8	1/15	1/22
Hàm lượng	0,05186	0,05437	0,05306	0,05127	0,05919	0,05699	0,06552	0,05758
Ngày	1/29	2/5	2/12	2/19	2/26	3/4	3/11	3/18
Hàm lượng	0,05593	0,05881	0,05515	0,04671	0,0567	0,04844	0,04365	0,0491
Ngày	3/25	4/1	4/8	4/15	4/22	4/29	5/6	5/13
Hàm lượng	0,04672	0,05314	0,048	0,05213	0,05145	0,04842	0,04898	0,04758
Ngày	6/14	6/28	7/5	7/18	7/25			
Hàm lượng	0,04755	0,04599	0,0442	0,03658	0,04443			

Trung bình từ 11/27 đến 12/8: 0,053096 mg/ml

Trung bình từ 12/25 đến 1/8: 0,055816 mg/ml

Trung bình từ 1/15 đến 1/29: 0,059676 mg/ml

Trung bình từ 2/5 đến 2/19: 0,053556 mg/ml

Trung bình từ 2/26 đến 3/11: 0,049566 mg/ml

Trung bình từ 3/18 đến 4/1: 0,049653 mg/ml

Trung bình từ 4/8 đến 4/22: 0,050526 mg/ml

Trung bình từ 4/29 đến 5/13: 0,048326 mg/ml

Trung bình từ 6/14 đến 6/28: 0,04677 mg/ml

Trung bình từ 7/5 đến 7/25: 0,041736 mg/ml

Như được thể hiện trong bảng 1 ở trên, hàm lượng được kiểm tra khi sản xuất sản phẩm (11/27) là 0,04910 mg/ml và hàm lượng sau 8 tháng (6/28) là 0,04755 mg/ml. So sánh hai hàm lượng này, đã xác nhận được rằng 11,3% sản phẩm đã bị phá hủy và khoảng 88,7% sản phẩm được giữ lại.

Ngoài ra, giá trị được thể hiện trong khoảng thời gian từ 1/15 đến 1/29, trong đó giá trị cao nhất xuất hiện trong số các giá trị trung bình của các giai đoạn là 0,059676 mg/ml và giá trị được thể hiện trong khoảng thời gian từ 7/5 đến 7/25 là 0,041736 mg/ml. So sánh hai hàm lượng này, đã xác nhận được rằng 30% sản phẩm đã bị phá hủy và khoảng 70% sản phẩm được giữ lại.

Theo đó, kết quả của việc kiểm tra, đã xác nhận được rằng khoảng 11,3% đến 30% sản phẩm đã bị phá hủy sau 8 tháng và 88,7% đến 70% sản phẩm được giữ lại.

Từ kết quả này, phương pháp bảo quản chất điệp lục a chiết xuất bằng cách lắng đọng nó trong bột sữa là rất hữu ích (có mặt ổn định trong khoảng từ 43,7% đến 65,3%).

Ví dụ thử nghiệm 2: Xác nhận sự thay đổi về hàm lượng của chất điệp lục a sau khi lắng đọng chất điệp lục a đã chiết xuất trong dầu ăn

Tiếp theo, sau khi lắng đọng chất điệp lục a trong dầu ăn, sự thay đổi hàm lượng của chất điệp lục a được xác nhận bằng cách thực hiện thử nghiệm sau.

Cụ thể, dung dịch etanol chứa chất điệp lục a được chiết bằng phương pháp theo ví dụ 1-2 (hàm lượng của chất điệp lục a: 0,1630 mg/ml) với lượng 5 lít được thêm vào dầu ăn (200ml) và được cô đặc ở áp suất 50 torr trong bể được giữ ở 36°C sử dụng thiết bị cô quay. Vì khó thực hiện việc làm khô thứ cấp cho dầu ăn nên tất cả etanol được bốc hơi trong thiết bị cô quay, và dầu ăn là dầu đậu nành, dầu hạt, dầu ô liu, dầu hạt nho và dầu hạt hướng dương.

Các mẫu (0,1 ml) chứa chất điệp lục a được cô đặc trong mỗi dầu ăn được hòa tan trong etanol 95% (10 ml) và hàm lượng của chất điệp lục a theo thời gian bảo quản được phân tích bằng HPLC. Kết quả là, đã xác nhận được rằng lượng chất điệp lục a lắng đọng trong mỗi dầu ăn là 815mg. Như được thể hiện trong bảng 2, lượng chất điệp lục a còn lại sau khi cô đặc nó trong mỗi dầu ăn (200ml) là 715mg (87,7%) đối với dầu đậu nành, 729mg (89,4%) đối với dầu hạt, 694mg (85,1%) với dầu ô liu, 706mg (86,6%) đối với dầu hạt nho và 747mg (91,6%) đối với dầu hạt hướng dương, do đó xác nhận rằng chất điệp lục a được lắng đọng trong dầu ăn rất hiệu quả.

Bảng 2: Thay đổi về hàm lượng của chất điệp lục a theo thời gian sau khi lắng đọng chất điệp lục a trong dầu ăn (đơn vị: mg/ml)

Ngày	12/4	12/11	12/18	12/25	1/1	1/8	1/15	1/22
Thời gian		sau 7 ngày	sau 14 ngày	sau 21 ngày	sau 28 ngày	sau 35 ngày	sau 42 ngày	sau 49 ngày
Dầu đậu nành	0,03579	0,03375	0,03134	0,03007	0,02988	0,02653	0,02696	0,02267
Dầu hạt	0,03646	0,03571	0,02986	0,03029	0,03044	0,02647	0,02741	0,02392
Dầu ô liu	0,03489	0,03688	0,02806	0,02687	0,03049	0,02499	0,02409	0,0181
Dầu hạt nho	0,03533	0,03373	0,02992	0,02957	0,02762	0,02542	0,02564	0,02044

Dầu hạt hướng dương	0,03739	0,03516	0,03366	0,03197	0,03184	0,02833	0,02645	0,02442
Ngày	1/29	2/5	2/12	2/19	2/26	3/4	3/11	
Thời gian	sau 56 ngày	sau 63 ngày	sau 70 ngày	sau 77 ngày	sau 84 ngày	sau 91 ngày	sau 98 ngày	
Dầu đậu nành	0,0204	0,01732	0,01504	0,01137	0,0077	0,0072	0,00454	
Dầu hạt	0,02266	0,02224	0,02176	0,0126	0,0129	0,01807	0,01702	
Dầu ô liu	0,01876	0,01876	0,01823	0,01624	0,017666	0,01563	0,0155	
Dầu hạt nho	0,01772	0,01652	0,01701	0,01545	0,0152	0,01373	0,01243	
Dầu hạt hướng dương	0,02316	0,02199	0,02137	0,01993	0,02089	0,02029	0,01865	

Trong bảng 2 nêu trên, đã xác nhận được rằng hàm lượng của chất diệt lục a được lắng đọng trong dầu ăn giảm theo thời gian; nghĩa là, tỷ lệ phá hủy chất diệt lục a vào thời điểm 1/15 sau 42 ngày là 24,6% đối với dầu đậu nành, 24,8% đối với dầu hạt, 30,9% đối với dầu ô liu, 27,4% đối với dầu hạt nho và 29,2 % đối với dầu hạt hướng dương; và ở thời điểm 3/11 sau 98 ngày là 87,3% đối với dầu đậu nành, 53,3% đối với dầu hạt, 58,2% đối với dầu ô liu, 64,8% đối với dầu hạt nho và 50,1% đối với dầu hạt hướng dương.

Ngoài ra, chất diệt lục a được lắng đọng trong dầu ăn, được bảo quản trong chân không và sau một khoảng thời gian định trước, chất diệt lục a được đo hàm lượng của chất diệt lục. Kết quả là, như được thể hiện trong bảng 3, đã xác nhận được rằng phương pháp bảo quản chất diệt lục a trong viên nang mềm sau khi lắng đọng chất diệt lục a trong dầu ăn để ngăn không cho nó tiếp xúc với không khí có hiệu quả đối với việc bảo quản chất diệt lục a.

Bảng 3: Kiểm tra hàm lượng của chất diệt lục a sau khi bảo quản trong chân không sau khi lắng đọng nó trong dầu ăn (đơn vị: mg/ml)

Ngày	12/4	2/1	3/11
Thời gian		sau 59 ngày	sau 98 ngày
Dầu đậu nành	0,03579	0,02394	0,02089
Dầu hạt	0,03646	0,02305	0,02212
Dầu ô liu	0,03489	0,02067	0,0132
Dầu hạt nho	0,03533	0,02212	0,0142
Dầu hạt hướng dương	0,03739	0,02463	0,02173

Ví dụ thử nghiệm 3: Xác nhận sự thay đổi về hàm lượng của chất diệt lục a sau khi lắng đọng chất diệt lục a đã chiết xuất trong protein

Tiếp theo, sau khi lắng đọng chất diệt lục a trong protein, sự thay đổi về hàm lượng của chất diệt lục a được xác nhận bằng cách thực hiện thử nghiệm sau đây.

Cụ thể, dung dịch etanol chứa chất diệt lục a được chiết bằng phương pháp theo ví dụ 1-2 (hàm lượng của chất diệt lục a: 0,1430mg/ml) với lượng 5 lít được thêm vào mỗi protein (500g), và được cô đặc ở áp suất 50 torr trong bể được giữ ở 40°C sử dụng thiết bị cô quay. Khi gần như tất cả rượu đã bay hơi, dịch cô được xử lý thành hạt và được làm khô thứ cấp ở 38°C trong 12 giờ. Thử phân tách protein nước sữa (WPI), dịch thủy phân protein nước (WPH), dịch cô protein nước sữa (WPC), casein, và protein trứng được sử dụng, và hàm lượng của chất diệt lục a được phân tích bằng HPLC sử dụng mẫu khô (0,3g) sau khi hòa tan chúng trong etanol 95% (10 ml).

Kết quả là, tổng lượng chất diệt lục a được thêm vào trong mỗi protein là 571,5mg, và như có thể thấy từ bảng 4 dưới đây, lượng chất diệt lục a được lắng đọng trong protein là 359,8mg (62,9%) đối với protein đậu nành, 406,1mg (71,0%) đối với WPI, 343,1mg (60,0%) đối với WPH, 255,6mg (44,7%) đối với WPC, 392,5mg (68,6%) đối với casein và 465,5mg (81,4%) đối với protein trứng, do đó xác nhận rằng chất diệt lục a đã được lắng đọng trong protein rất hiệu quả.

Bảng 4: Thay đổi về hàm lượng của chất diệt lục a sau khi lắng đọng nó trong protein (đơn vị: mg/ml)

Ngày	1/21	1/28	2/4	2/11	2/18	2/25	3/3	3/10
Thời gian		sau 7 ngày	sau 14 ngày	sau 21 ngày	sau 28 ngày	sau 35 ngày	sau 42 ngày	sau 49 ngày
Protein đậu nành	0,02159	0,02227	0,02003	0,02205	0,01994	0,01832	0,01701	0,01484
WHI	0,02437	0,02286	0,02419	0,02448	0,02365	0,02224	0,02322	0,02283
WPH	0,02059	0,01868	0,02035	0,01952	0,02068	0,01702	0,01843	0,01683
WPC	0,01534	0,01343	0,01544	0,01546	0,01496	0,01333	0,01486	0,01264
Casein	0,02355	0,0131	0,01999	0,02168	0,02064	0,0133	0,0129	0,01813

Protein trứng	0,02793	0,02559	0,02567	0,02612	0,02571	0,02475	0,02371	0,02315
---------------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------

Từ kết quả ngày 3/10 sau 49 ngày được nêu trong trong bảng 4 ở trên, đã xác nhận được rằng mức chất điệp lục a bị phá hủy là 31% trong protein đậu nành, 6,3% trong WPI, 18,2% trong WPH, 17,6% trong WPC, 23% trong protein casein, và 16,8% trong protein trứng.

Ví dụ thử nghiệm 4: Xác nhận sự thay đổi về hàm lượng của chất điệp lục a sau khi lắng đọng chất điệp lục a đã chiết xuất trong hỗn hợp của dầu ăn và protein

Tiếp theo, sau khi lắng đọng chất điệp lục a trong hỗn hợp của dầu ăn và protein, sự thay đổi hàm lượng của chất điệp lục a được xác nhận bằng cách thực hiện thử nghiệm sau.

Cụ thể, dung dịch etanol chứa chất điệp lục a được chiết bằng phương pháp theo ví dụ 1-2 (hàm lượng của chất điệp lục a; 0,13040mg/ml) với lượng dầu 6,5 lít được thêm vào dầu đậu nành (150ml) và 250g mỗi trong số protein đậu nành, WPI, WPH, WPC, casein và protein trứng, và cô đặc ở áp suất 50 torr trong bể được giữ ở 40°C sử dụng thiết bị cô quay. Khi gần như tất cả rượu đã bay hơi, dịch cô được xử lý thành hạt và được làm khô thứ cấp ở nhiệt độ 38°C trong 12 giờ sử dụng máy sấy đa năng ở dạng thông gió nóng. Sau đó, hàm lượng của chất điệp lục a được phân tích bằng HPLC sử dụng mẫu khô (0,3g) sau khi hòa tan chúng trong etanol 95% (10 ml).

Kết quả là, tổng lượng chất điệp lục a trong một hỗn hợp trong đó 250g mỗi protein được thêm vào dầu ăn (150ml) lần lượt là 847,6mg, và như được thể hiện trong bảng 5 dưới đây, lượng chất điệp lục a được lắng đọng trong hỗn hợp của protein và dầu đậu nành là 342,9mg (40,4%), trong hỗn hợp của dầu đậu nành WPI + (và) dầu đậu nành là 418,8mg (49,4%), trong hỗn hợp dầu đậu nành WPH + (và) dầu đậu nành là 426mg (50,2%), trong hỗn hợp dầu đậu nành WPC + (và) dầu đậu nành là 394mg (46,4%), trong hỗn hợp casein + dầu đậu nành là 519mg (61,2%), và trong hỗn hợp của protein + dầu đậu nành là 457mg (53,9%), do đó xác nhận rằng chất điệp lục a được lắng đọng hiệu quả trong hỗn hợp của protein và dầu ăn (dầu đậu nành).

Bảng 5: Thay đổi về hàm lượng của chất diệt lục a sau khi hòa tan trong hỗn hợp của protein và dầu ăn (dầu đậu nành) (đơn vị: mg/ml)

Ngày	12/29	1/5	1/12	1/19	1/26	2/2	2/9
Thời gian		sau 7 ngày	sau 14 ngày	sau 21 ngày	sau 28 ngày	sau 35 ngày	sau 42 ngày
Protein đậu nành + Dầu đậu nành	0,02572	0,02252	0,01804	0,01652	0,01539	0,01409	0,0125
WPI + Dầu đậu nành	0,03141	0,03318	0,02827	0,02701	0,02738	0,02856	0,02499
WPH + Dầu đậu nành	0,03195	0,03323	0,02827	0,0278	0,0282	0,02757	0,02479
WPC + Dầu đậu nành	0,02955	0,02614	0,0199	0,01755	0,01736	0,01629	0,0132
Casein + Dầu đậu nành	0,03893	0,03683	0,03443	0,0338	0,03447	0,03401	0,03196
Protein trứng + Dầu đậu nành	0,03429	0,03379	0,0309	0,02901	0,02935	0,02966	0,02685
Ngày	2/16	3/1	3/8				
Thời gian	sau 49 ngày	sau 63 ngày	sau 70 ngày				
Protein đậu nành + Dầu đậu nành	0,003939	0,00887	0,00804				
WPI + Dầu đậu nành	0,02544	0,02194	0,02352				
WPH + Dầu đậu nành	0,02656	0,0227	0,02344				
WPC + Dầu đậu nành	0,01329	0,0105	0,015015				
Casein + Dầu đậu nành	0,03122	0,02921	0,02875				
Protein trứng + Dầu đậu nành	0,02657	0,02286	0,0145				

Từ phân tích ngày 3/8 sau 70 ngày được nêu trong trong bảng 5 ở trên, đã xác nhận được rằng mức chất diệt lục a bị phá hủy là 68,7% (protein đậu nành + dầu đậu nành), 25,1% trong (dầu đậu nành WPI + dầu đậu nành), 26,6% trong (dầu đậu nành WPH + dầu đậu nành), 65,6% trong (dầu đậu nành WPC + dầu đậu nành), 26,1% trong (casein + dầu đậu nành), và 57,8% trong (protein trứng + dầu đậu nành).

Ví dụ thử nghiệm 5: Xác nhận sự thay đổi về hàm lượng của chất diệt lục a sau khi lắng đọng chất diệt lục a đã chiết xuất trong hỗn hợp của bột sữa và bột đậu đen

Tiếp theo, sau khi lắng đọng chất diệt lục a trong hỗn hợp của bột sữa và bột đậu đen, sự thay đổi hàm lượng của chất diệt lục a được xác nhận bằng cách thực hiện thử nghiệm sau.

Cụ thể, dung dịch etanol chứa chất diệt lục a được chiết bằng phương pháp theo ví dụ 1-1 (hàm lượng của chất diệt lục a: 0,11813mg/ml) với lượng 100 lít được thêm vào bột sữa toàn phần (1,5kg) và bột đậu đen (1,5kg), và được cô đặc ở áp suất 50 torr trong bể được giữ ở 40°C. Để tạo thuận lợi cho quá trình tạo hạt, tỷ lệ giữa bột sữa và bột đậu tốt hơn là 40%, và trong ví dụ thử nghiệm này, tỷ lệ trộn giữa bột sữa và bột đậu được đặt ở 50: 50 (g/g).

Sau đó, khi gần như tất cả rượu đã bay hơi, dịch cô được xử lý thành các hạt và được làm khô thứ cấp ở 38°C trong 12 giờ sử dụng máy sấy đa năng ở dạng thông gió nóng. Sau đó, hàm lượng của chất diệt lục a được phân tích bằng HPLC sử dụng mẫu khô (0,3g) sau khi hòa tan chúng trong etanol 95% (10 ml).

Kết quả là, tổng lượng chất diệt lục a được thêm vào hỗn hợp của bột sữa và bột đậu đen là 11,813mg, và như được thể hiện trong bảng 6 dưới đây, lượng chất diệt lục a được lắng đọng trong hỗn hợp của bột sữa và bột đậu đen là 6,958mg (59,1%), do đó đã xác nhận rằng chất diệt lục a được lắng đọng rất hiệu quả trong hỗn hợp của bột sữa và bột đậu đen.

Bảng 6: Thay đổi về hàm lượng của chất diệt lục a sau khi hòa tan trong hỗn hợp của bột sữa và bột đậu đen (đơn vị: mg/ml)

	1/8	1/15	1/22	1/29	2/5	2/12	2/19	2/26	3/4	3/11
Thời gian		sau 7 ngày	sau 14 ngày	sau 21 ngày	sau 28 ngày	sau 35 ngày	sau 42 ngày	sau 49 ngày	sau 56 ngày	sau 63 ngày
Hàm lượng	0,06985	0,06186	0,05013	0,04519	0,03830	0,03257	0,02279	0,02178	0,02549	0,02200

Từ phân tích của ngày 3/11 sau 63 ngày được nêu trong trong bảng 6 ở trên, đã xác nhận được rằng mức độ chất diệt lục a bị phá hủy là 68,5% trong hỗn hợp của bột sữa và bột đậu đen.

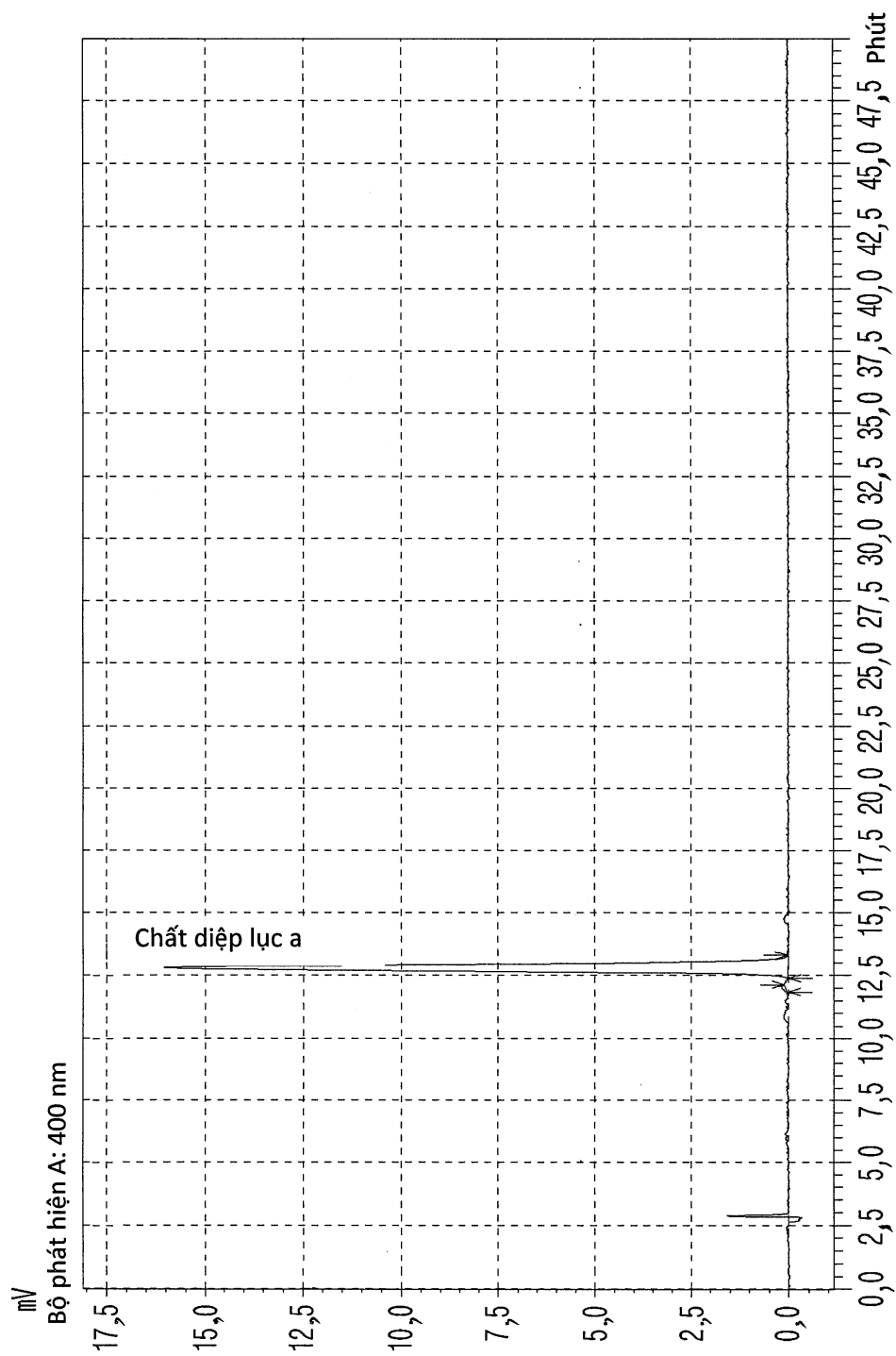
Cần phải hiểu rằng, mặc dù phần mô tả trên đây đã mô tả chi tiết các phương án được ưu tiên của sáng chế nhưng rất nhiều thay đổi và biến thể có thể được thực hiện

dựa trên các phương án này và tất cả các thay đổi và biến thể đó đều thuộc phạm vi của sáng chế.

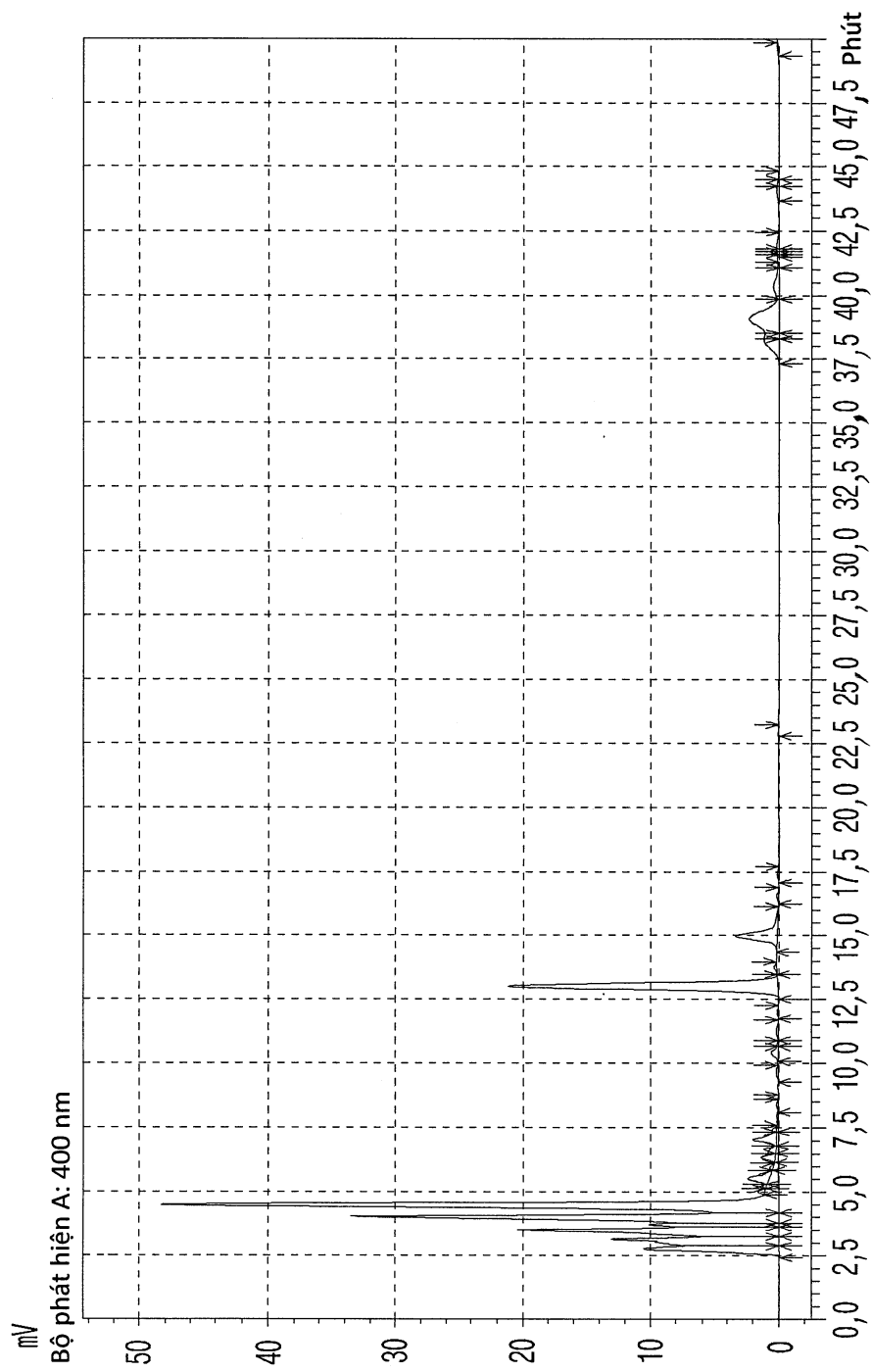
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp bảo quản chất điệp lục a cải thiện được độ ổn định bao gồm bước làm lắng đọng chất điệp lục tự nhiên a trong bột sữa.
2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó chất điệp lục tự nhiên a được chiết xuất từ rong tiểu cầu hoặc tảo xoắn.
3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó chất điệp lục tự nhiên a được chiết xuất từ rong tiểu cầu hoặc tảo xoắn cùng với các chất dinh dưỡng khác bằng rượu có nồng độ lớn hơn hoặc bằng 70% mà không cần rửa trước.
4. Phương pháp theo điểm 1, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước bảo quản chất điệp lục a được lắng đọng trong bột sữa trong vật chứa đóng gói bằng cách nạp đầy nitơ.
5. Phương pháp theo điểm 1, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước bảo vệ chúng khỏi độ ẩm trong không khí.
6. Phương pháp theo điểm 5, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước nạp đầy nitơ trong quá trình đóng gói.
7. Phương pháp theo điểm 1, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước tạo hình chất điệp lục a được lắng đọng trong bột sữa thành viên nén, trong đó diện tích bề mặt tiếp xúc với không khí được giảm thiểu.

【Fig.1】



【Fig.2】



【Fig.3】

