



(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)



1-0034784

(51)⁷ A23L 33/00

(13) B

(21) 1-2018-00755

(22) 08/07/2016

(86) PCT/US2016/041428 08/07/2016

(87) WO 2017/019273 02/02/2017

(30) 62/198,220 29/07/2015 US

(45) 25/01/2023 418

(43) 27/08/2018 365A

(73) ADVANCED BIONUTRITION CORP. (US)

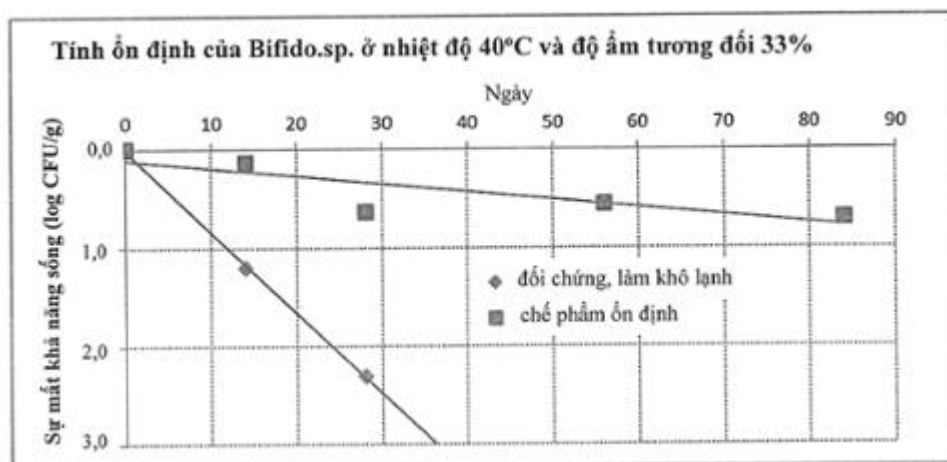
7155 Columbia Gateway Drive, Suite H, Columbia, MD 21046, United States of America

(72) KESHTMAND, Majid (US); HAREL, Mordechai (US); RICE, Trisha (US).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) CHẾ PHẨM KHÔ DÙNG TRONG CHẾ ĐỘ ĂN CHỨA VI SINH VẬT
PROBIOTIC SỐNG VÀ PHƯƠNG PHÁP TẠO RA CHẾ PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề xuất chế phẩm probiotic khô ổn định. Chế phẩm này chứa một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống, một hoặc nhiều protein được thủy phân, một hoặc nhiều disacarit, một hoặc nhiều oligosacarit và một hoặc nhiều polysacarit, nhưng không chứa trehaloza. Chế phẩm này có khả năng sống ít nhất là 1×10^{10} CFU/g và sự mất khả năng sống ít hơn 1 đơn vị log/g sau 3 tháng ở nhiệt độ 40°C và độ ẩm tương đối 33%. Sáng chế cũng đề xuất phương pháp tạo ra chế phẩm probiotic khô ổn định này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm probiotic ổn định để dùng trong chế độ ăn đặc biệt, ví dụ, chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hiện nay có rất nhiều vi sinh vật probiotic (còn được gọi là vi sinh vật có lợi) để bổ sung cho đường dạ dày - ruột của động vật, bao gồm người. Các vi sinh vật này có thể điều biến hệ vi sinh vật tự nhiên trong ruột động vật để có được hiệu quả sinh học mong muốn.

Một trong những thách thức trong việc cung cấp lượng hiệu quả của vi khuẩn probiotic cho vật chủ là việc duy trì khả năng sống của chúng trong các điều kiện khắc nghiệt của các quy trình sản xuất công nghiệp điển hình và việc bảo quản trong thời gian dài ở nhiệt độ và độ ẩm cao. Mặc dù đã có những phát triển liên quan đến kỹ thuật bao nang và phối chế để đưa các vật liệu sinh học vào hệ tiêu hóa của động vật, nhưng có rất ít phát triển trong kỹ thuật bao nang hoặc làm ổn định để bảo vệ khả năng sống của vi sinh vật probiotic trong suốt quy trình sản xuất, phân phối và bảo quản. Cần có kỹ thuật làm ổn định cho phép vi khuẩn probiotic sống sót khi tiếp xúc với các môi trường khắc nghiệt, đặc biệt là các môi trường gắn liền với nhiệt độ và độ ẩm cao.

Ngoài ra, độ ẩm vốn có của sản phẩm probiotic đặt ra thách thức khác ở chỗ là vi sinh vật probiotic thường nhạy cảm với hoạt độ nước, đặc biệt là khi kết hợp với nhiệt độ cao. Cho đến nay, không có công nghệ hoặc kỹ thuật nào đã được xác định để tạo ra sự bảo vệ vi sinh vật probiotic đáng kể trong các điều kiện độ ẩm trung bình (nghĩa là, hoạt độ nước là khoảng 0,2 và cao hơn, hoặc lên đến khoảng 0,4 hoặc cao hơn) và nhiệt độ cao trong quá trình phân phối và bảo quản (ví dụ, nhiệt độ là ít nhất khoảng 30°C, hoặc lên đến khoảng 40°C hoặc cao hơn) khi được đưa vào sản phẩm như sản phẩm dinh dưỡng. Như vậy, cần có chế phẩm probiotic ổn định thích hợp để phân phối ở các vị trí địa lý khác nhau, bao gồm cả những vùng khí hậu nhiệt đới, nơi mà khả năng sống của vi sinh vật probiotic có thể bị ảnh hưởng.

Các thách thức khác bao gồm các hạn chế về mặt quy định đối với việc sử dụng các thành phần thực phẩm thông thường trong các chế phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt thích hợp đối với người tiêu dùng như trẻ nhũ nhi, trẻ nhỏ và người già. Các hợp chất tổng hợp thường dùng để bao nang và làm ổn định và thậm chí là một số hợp chất tự nhiên như gồm acaxia, alginat, protein sữa và một số loại đường nhất định như trehaloza không được khuyến nghị để sử dụng trong các chế phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt này. Một danh sách khuyến nghị về các hợp chất dinh dưỡng được cho phép để dùng trong chế độ ăn đặc biệt được quy định bởi Ủy ban Luật thực phẩm quốc tế liên chính phủ do Tổ chức y tế thế giới WHO và Tổ chức nông lương FAO thành lập (joint FAO/WHO Codex Alimentarius Commission).

Do đó, cần phải có chế phẩm probiotic ổn định thích hợp để dùng trong chế độ ăn đặc biệt chứa vi sinh vật probiotic như vi khuẩn probiotic và các thành phần khác và các kỹ thuật làm ổn định để tạo ra chế phẩm này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến chế phẩm probiotic khô ổn định để dùng trong chế độ ăn đặc biệt và phương pháp tạo ra nó.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm khô. Chế phẩm này chứa một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống, một hoặc nhiều protein được thủy phân, một hoặc nhiều disacarit, một hoặc nhiều oligosacarit và một hoặc nhiều polysacarit. Chế phẩm này không chứa trehaloza. Chế phẩm này có khả năng sống ít nhất là 1×10^{10} CFU/g, sự mất khả năng sống ít hơn 1 đơn vị log/g sau 3 tháng ở nhiệt độ 40°C và độ ẩm tương đối 33%.

Chế phẩm này có thể cung cấp lợi ích của vi sinh vật probiotic cho vật chủ trong sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt. Sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt có thể được chọn từ nhóm bao gồm chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi, chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ ăn dặm, thực phẩm chế biến từ ngũ cốc, thực phẩm đóng hộp dùng cho trẻ em, chế phẩm bổ sung hoặc chế phẩm trị liệu dùng cho động vật và/hoặc thực phẩm đặc biệt dùng cho mục đích y tế. Theo các phương án cụ thể, sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt là chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi.

Vi sinh vật probiotic sống có thể được chọn từ nhóm bao gồm vi khuẩn, nấm và nấm men probiotic sống.

Chế phẩm có thể chứa một hoặc nhiều protein được thủy phân với lượng ít nhất là 50%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm. Một hoặc nhiều protein được thủy phân có thể được chọn từ nhóm bao gồm protein sữa, protein thực vật và tổ hợp của chúng. Một hoặc nhiều protein được thủy phân có thể được chọn từ nhóm bao gồm casein được thủy phân, protein nước sữa được thủy phân, protein đậu Hà Lan được thủy phân, protein đậu nành được thủy phân và tổ hợp của chúng.

Chế phẩm có thể chứa một hoặc nhiều disacarit với lượng ít hơn 20%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm. Một hoặc nhiều disacarit có thể được chọn từ nhóm bao gồm sucroza, lactoza và tổ hợp của chúng.

Chế phẩm có thể chứa một hoặc nhiều oligosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 30%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm. Một hoặc nhiều oligosacarit có thể được chọn từ nhóm bao gồm inulin, maltodextrin, dextran, fructo-oligosacarit (FOS), galacto-oligosacarit (GOS), mannan-oligosacarit (MOS) và tổ hợp của chúng.

Chế phẩm có thể chứa một hoặc nhiều polysacarit với lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 10%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm. Một hoặc nhiều polysacarit có thể được chọn từ nhóm bao gồm caragenan, gồm guar, gồm acaxia, gồm đậu locust, tinh bột, tinh bột biến tính và tổ hợp của chúng.

Chế phẩm có thể còn chứa một hoặc nhiều chất bổ sung. Chế phẩm có thể chứa một hoặc nhiều chất bổ sung với lượng nằm trong khoảng từ 0,5% đến 10%, tính theo tổng khối lượng của chế phẩm. Một hoặc nhiều chất bổ sung có thể được chọn từ nhóm bao gồm muối của axit carboxylic, tocopherol và tổ hợp của chúng. Muối của axit carboxylic có thể được chọn từ nhóm bao gồm muối của axit ascorbic và muối của axit xitric. Một hoặc nhiều chất bổ sung có thể chứa một hoặc nhiều tocopherol và một hoặc nhiều muối của axit carboxylic theo tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 1:4 đến 4:1. Tốt hơn là, một hoặc nhiều chất bổ sung chứa vitamin E và natri ascorbat theo tỷ lệ khối lượng là 4:1.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra chế phẩm theo sáng chế. Phương pháp này bao gồm một hoặc nhiều quy trình làm khô được chọn từ nhóm bao gồm làm khô bằng không khí, sấy chân không, sấy tầng sôi và sấy phun.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra chế phẩm theo sáng chế. Phương pháp này bao gồm: (a) kết hợp một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống, một hoặc nhiều protein được thủy phân, một hoặc nhiều disacarit, một hoặc nhiều oligosacarit và một hoặc nhiều polysacarit trong dung môi kiềm chứa nước để tạo thành huyền phù đặc; (b) làm đông lạnh nhanh huyền phù đặc này trong nitơ lỏng để tạo thành các hạt rắn đông lạnh ở dạng hạt, giọt nhỏ hoặc chuỗi; (c) làm khô sơ bộ các hạt rắn đông lạnh bằng cách làm bay hơi trong chân không, trong khi vẫn duy trì nhiệt độ của các hạt cao hơn nhiệt độ đông lạnh của chúng, nhờ đó tạo thành chế phẩm được làm khô sơ bộ; và (d) làm khô lần hai chế phẩm đã được làm khô sơ bộ trong chân không cường độ đầy đủ và nhiệt độ của nguồn nhiệt là 20°C hoặc cao hơn trong khoảng thời gian đủ để làm giảm hoạt độ nước của chế phẩm đã được làm khô sơ bộ xuống 0,3 Aw hoặc thấp hơn. Kết quả là, chế phẩm theo sáng chế được tạo ra. Phương pháp này có thể còn bao gồm bước khử trùng một hoặc nhiều protein được thủy phân, một hoặc nhiều disacarit, một hoặc nhiều oligosacarit và một hoặc nhiều polysacarit trước bước (a). Phương pháp này có thể cũng bao gồm bước cắt, nghiền vụn, xay hoặc nghiền bột chế phẩm thành bột chảy tự do. Kích cỡ hạt của bột có thể nhỏ hơn 1000 μm .

Trong phương pháp theo sáng chế, chế phẩm có thể chứa lượng hiệu quả của một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống để cung cấp lợi ích của vi sinh vật probiotic cho vật chủ trong sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt. Phương pháp này cũng có thể bao gồm việc tạo ra sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt chứa chế phẩm này. Sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt có thể được chọn từ nhóm bao gồm chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi, chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ ăn dặm, thực phẩm chế biến từ ngũ cốc, thực phẩm đóng hộp dùng cho trẻ em, chế phẩm bổ sung hoặc chế phẩm trị liệu dùng cho động vật và/hoặc thực phẩm đặc biệt dùng cho mục đích y tế. Theo phương án cụ thể, sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt tốt hơn là chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi.

Mô tả văn tắt hình vẽ

Fig.1 thể hiện độ ổn định bảo quản của các mẫu nêu trong ví dụ 2 trong các điều kiện bảo quản tăng cường ở nhiệt độ 40°C và độ ẩm tương đối 33%.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến chế phẩm probiotic khô ổn định mới, tốt hơn là để dùng trong chế độ ăn đặc biệt và phương pháp tạo ra chế phẩm này. Các chế phẩm này tạo ra độ ổn định và mức độ bảo vệ mong muốn đối với vi sinh vật probiotic. Vi sinh vật probiotic có thể được bảo vệ trong suốt quy trình sản xuất để tạo ra sản phẩm tiêu dùng, qua các kênh phân phối và trong các điều kiện bảo quản khắc nghiệt. Các nhà bào chế chế phẩm probiotic hầu hết đều sử dụng số lượng tế bào vi khuẩn cực cao trong sản phẩm của họ, đôi khi có thể cao hơn gấp 10 lần và thậm chí gấp 100 lần so với liều dùng hiệu quả, với việc hiểu rằng một số lượng đáng kể các tế bào cuối cùng bị mất khả năng sống và chết trong quy trình sản xuất, vận chuyển và bảo quản.

Thuật ngữ "dùng trong chế độ ăn đặc biệt" trong bản mô tả này dùng để chỉ việc tạo ra hoặc sử dụng sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt cho vật chủ. Tốt hơn là, sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt được khuyến nghị bởi Ủy ban Luật thực phẩm quốc tế liên chính phủ do Tổ chức y tế thế giới WHO và Tổ chức nông lương FAO thành lập trong tài liệu có tên "Tiêu chuẩn đối với chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi và chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho mục đích y tế đặc biệt dành cho trẻ nhũ nhi, CODEX STAN 72-1981" ("Luật tiêu chuẩn Hoa Kỳ 72") ("Standard For Infant Formula and Formulas For Special Medical Purposes Intended for Infants, CODEX STAN 72-1981" ("US Standard Codex 72")). Ví dụ về sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt bao gồm chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi, chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ ăn dặm, thực phẩm chế biến từ ngũ cốc, thực phẩm đóng hộp dùng cho trẻ em và thực phẩm đặc biệt dùng cho mục đích y tế. Tốt hơn là, sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt là chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi.

Vật chủ có thể là động vật bất kỳ, gồm cá, gia cầm, ví dụ, gà, hoặc động vật có vú như động vật nhai lại, lợn, hoặc vật nuôi như ngựa, chó, hoặc mèo. Theo các

phương án cụ thể, động vật có vú là người. Vật chủ người có thể là trẻ nhũ nhi, trẻ em hoặc người già. Tốt hơn là, vật chủ người là trẻ nhũ nhi.

Thuật ngữ “trẻ nhũ nhi” trong bản mô tả này dùng để chỉ người từ khi sinh ra đến khoảng 12 tháng tuổi.

Thuật ngữ "trẻ em" trong bản mô tả này dùng để chỉ người từ khoảng 12 tháng tuổi đến khoảng 12 tuổi.

Thuật ngữ “người già” trong bản mô tả này dùng để chỉ người ít nhất khoảng 55, 60, 65 hoặc 70 tuổi, tốt hơn là ít nhất khoảng 65 tuổi.

Các thuật ngữ "vi sinh vật probiotic" và “vi sinh vật có lợi” được sử dụng thay thế lẫn nhau trong bản mô tả này và dùng để chỉ vi sinh vật sống mà cung cấp hoặc tạo ra lợi ích của vi sinh vật probiotic cho vật chủ khi được sử dụng cho vật chủ với lượng hiệu quả. Thuật ngữ "lượng hiệu quả" trong bản mô tả này dùng để chỉ một lượng vi sinh vật probiotic đủ để đạt được lợi ích của vi sinh vật probiotic mong muốn ở vật chủ khi được sử dụng cho vật chủ thông qua, ví dụ, sản phẩm dùng cho chế độ ăn như sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt. Vi sinh vật probiotic có thể được chọn từ nhóm bao gồm vi khuẩn, nấm và nấm men probiotic sống. Lợi ích của vi sinh vật probiotic mong muốn có thể là sức khỏe có lợi hoặc hiệu quả dinh dưỡng bất kỳ, ví dụ, duy trì hệ vi sinh vật đường dạ dày - ruột khỏe mạnh, tăng cường miễn dịch, phòng chống dị ứng và cảm lạnh và bảo vệ chống tiêu chảy, viêm da dị ứng và nhiễm trùng đường tiết niệu.

Thuật ngữ "khả năng sống" trong bản mô tả này dùng để chỉ khả năng của vi sinh vật probiotic trong chế phẩm trong việc tạo thành khuẩn lạc trên môi trường dinh dưỡng thích hợp đối với sự sinh trưởng của vi sinh vật probiotic và có thể được thể hiện bằng đơn vị hình thành khuẩn lạc (CFU) trên khối lượng của chế phẩm, ví dụ, CFU/g.

Thuật ngữ “độ ẩm tương đối (RH)” trong bản mô tả này dùng để chỉ lượng hơi nước trong không khí, thường là ở nhiệt độ nhất định. Độ ẩm tương đối thường ít hơn mức cần thiết để bão hòa không khí và thường được thể hiện dưới dạng phần trăm độ ẩm bão hòa.

Thuật ngữ "khô" trong bản mô tả này dùng để chỉ trạng thái vật lý của chất, ví dụ, chế phẩm theo sáng chế, được loại nước hoặc khan, ví dụ, về cơ bản không có chất lỏng. Chất, chẳng hạn, chế phẩm theo sáng chế, có thể được làm khô bằng một hoặc nhiều quy trình làm khô, ví dụ, làm khô bằng không khí, sấy chân không, sấy tầng sôi, sấy phun và đông khô.

Thuật ngữ "hoạt độ nước (A_w)" trong bản mô tả này dùng để chỉ mức độ khả dụng của nước trong một chất, ví dụ, chế phẩm theo sáng chế, là trạng thái năng lượng của nước trong một chất. Hoạt độ nước có thể được định nghĩa là áp suất hơi của nước trên một chất chia cho áp suất hơi của nước tinh khiết ở cùng nhiệt độ. Nước cất tinh khiết có hoạt độ nước chính xác là bằng một, nghĩa là, $A_w=1,0$. Chất khô có thể có A_w là khoảng 0,5 hoặc thấp hơn, tốt hơn là khoảng 0,3 hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là khoảng 0,2 hoặc thấp hơn, tốt nhất là khoảng 0,1 hoặc thấp hơn.

Sáng chế đề xuất chế phẩm khô. Chế phẩm này chứa một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống, một hoặc nhiều protein được thủy phân, một hoặc nhiều disacarit, một hoặc nhiều oligosacarit và một hoặc nhiều polysacarit. Chế phẩm có khả năng sống ban đầu ít nhất là 1×10^9 , 1×10^{10} , 1×10^{11} hoặc 1×10^{12} CFU/g, tốt hơn là 1×10^{10} CFU/g. Chế phẩm có sự mất khả năng sống ít hơn 1 đơn vị log/g sau một khoảng thời gian đã định trong điều kiện đã định. Tốt hơn là, chế phẩm không chứa trehaloza.

Chế phẩm có thể chứa một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống với lượng hiệu quả để cung cấp lợi ích của vi sinh vật probiotic cho vật chủ trong sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt. Sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt có thể là chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi, chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ ăn dặm, thực phẩm chế biến từ ngũ cốc, thực phẩm đóng hộp dùng cho trẻ em hoặc thực phẩm đặc biệt dùng cho mục đích y tế, tốt hơn là chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi.

Khoảng thời gian đã định có thể là khoảng 1, 2, 3 hoặc 4 tuần, hoặc 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18, 24 hoặc 36 tháng, tốt hơn là khoảng 1, 2 hoặc 3 tháng, tốt hơn nữa là 1 hoặc 3 tháng. Khoảng thời gian xác định có thể bao gồm khoảng thời gian ngắn hơn hoặc dài hơn trong phạm vi 10% của khoảng thời gian xác định này. Thuật ngữ "3 tháng" trong bản mô tả này dùng để chỉ khoảng thời gian nằm trong khoảng từ 84 ngày đến

90 ngày. Thuật ngữ “2 tháng” trong bản mô tả này dùng để chỉ khoảng thời gian nằm trong khoảng từ 56 ngày đến 60 ngày. Thuật ngữ “1 tháng” trong bản mô tả này dùng để chỉ khoảng thời gian nằm trong khoảng từ 28 ngày đến 30 ngày.

Các điều kiện đã định có thể bao gồm nhiệt độ đã định và độ ẩm tương đối (RH) đã định. Nhiệt độ đã định có thể ít nhất là khoảng 25, 37, 40, 45, 50 hoặc 55°C. Độ ẩm tương đối (RH) đã định có thể ít nhất là khoảng 10%, 20%, 30%, 33%, 35%, 40%, 50%, 60%, 70% hoặc 80%.

Điều kiện đã định có thể là điều kiện bảo quản tăng cường. Ví dụ, điều kiện đã định có thể bao gồm nhiệt độ ít nhất là khoảng 40°C và độ ẩm tương đối ít nhất là khoảng 33%, hoặc nhiệt độ ít nhất là khoảng 45°C và độ ẩm tương đối ít nhất là khoảng 33%.

Chế phẩm có thể có sự mất khả năng sống ít hơn 1 đơn vị log/g sau khoảng 3 tháng ở nhiệt độ khoảng 40°C và độ ẩm tương đối 33%, hoặc sau 1 tháng ở nhiệt độ khoảng 45°C và độ ẩm tương đối 33%.

Chế phẩm có thể chứa một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống với lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 30%, 10% đến 25%, 10% đến 20% hoặc 15% đến 20%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm. Vi sinh vật probiotic thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, nấm men như *Saccharomyces*, *Debaromyces*, *Candida*, *Pichia* và *Torulopsis*; nấm mốc như *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Penicillium* và *Torulopsis*; và vi khuẩn như chi *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Melissococcus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacillus*, *Pediococcus*, *Micrococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Oenococcus* và *Lactobacillus*. Ví dụ cụ thể về vi sinh vật probiotic thích hợp có thể là các loài sau đây và bao gồm tất cả các kiểu sinh học thu được bằng cách nuôi cấy thuộc các loài này: *Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *Bacillus coagulans*, *B. lentus*, *B. licheniformis*, *B. mesentericus*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. natto*, *Bacteroides amylophilus*, *Bac. capillosus*, *Bac. ruminicola*, *Bac. suis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *B. animalis*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. longum*, *B. pseudolongum*, *B. thermophilum*, *Candida pintolepesii*, *Clostridium butyricum*, *Enterococcus cremoris*, *E. diacetylactis*, *E. faecium*, *E. intermedius*, *E.*

lactis, *E. muntzii*, *E. thermophilus*, *Escherichia coli*, *Kluyveromyces fragilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. alimentarius*, *L. amylovorus*, *L. crispatus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. curvatus*, *L. cellobiosus*, *L. delbrueckii* ss. *bulgaricus*, *L. farciminis*, *L. fermentum*, *L. gasseri*, *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. plantarum*, *L. johnsonii*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. sakei*, *L. salivarius*, *Leuconostoc mesenteroides*, *P. cerevisiae* (*damnosus*), *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Prop. shermanii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Staphylococcus carnosus*, *Staph. xylosus*, *Streptococcus infantarius*, *Strep. salivarius*, *thermophilus*, *Strep. Thermophilus* và *Strep. Lactis*. Tốt hơn là, vi sinh vật probiotic là vi khuẩn axit lactic và vi khuẩn bifido.

Chế phẩm có thể chứa một hoặc nhiều protein được thủy phân với lượng ít nhất là khoảng 40% hoặc 50%, tốt hơn là ít nhất khoảng 50%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm. Ví dụ, chế phẩm có thể chứa protein được thủy phân với lượng nằm trong khoảng từ 40% đến 80%, 40% đến 70%, 50% đến 70% hoặc 50% đến 60%, tốt hơn là 40% đến 80%.

Thuật ngữ “protein được thủy phân” và “sản phẩm thủy phân protein” được sử dụng thay thế lẫn nhau trong bản mô tả này và dùng để chỉ protein bị phá vỡ bằng cách thủy phân hoặc phân giải thành các mảnh peptit và/hoặc axit amin ngắn hơn. Bước thủy phân hoặc phân giải có thể được thực hiện bằng axit mạnh, bazơ mạnh, enzym hoặc tổ hợp của chúng. Protein được thủy phân có thể là từ động vật hoặc thực vật, tốt hơn là từ động vật có vú, tốt hơn nữa là từ nguồn sữa. Protein được thủy phân có thể là protein sữa, protein thực vật hoặc hỗn hợp của chúng.

Protein được thủy phân có thể được thủy phân một phần hoặc hoàn toàn, tốt hơn là được thủy phân hoàn toàn. Protein được thủy phân có thể là hỗn hợp của polypeptit và axit amin. Theo một số phương án, ít nhất khoảng 60%, 70%, 80%, 90%, 95% hoặc 99%, tốt hơn là ít nhất khoảng 70% protein được thủy phân có khối lượng phân tử thấp hơn khoảng 100.000, 75.000, 50.000, 25.000, 10.000, 5.000, 1.000 hoặc 500 Dalton, tốt hơn là khoảng 50.000 Dalton, tốt hơn nữa là khoảng 10.000 Dalton, tốt hơn nữa là khoảng 2.000 Dalton. Ví dụ, ít nhất khoảng 50%, 60%, 70%, 80% hoặc 90%, tốt hơn là ít nhất khoảng 70% protein được thủy phân có khối lượng phân tử thấp hơn khoảng 2.000 Dalton.

Protein thích hợp để tạo ra protein được thủy phân dùng trong chế phẩm theo sáng chế bao gồm protein trứng, gelatin, protein sữa, casein, protein nước sữa, albumin, protein đậu nành, protein đậu Hà Lan, protein gạo, protein lúa mì và protein thực vật khác. Tốt hơn là, protein là protein được khuyến nghị để dùng trong chế độ ăn đặc biệt.

Ví dụ về protein được thủy phân bao gồm casein được thủy phân, protein nước sữa được thủy phân, protein đậu Hà Lan được thủy phân, protein đậu nành được thủy phân và tổ hợp của chúng. Theo một phương án được ưu tiên, protein được thủy phân bao gồm casein được thủy phân hoặc protein đậu Hà Lan được thủy phân mà ít nhất khoảng 80% protein này có khối lượng phân tử ít hơn 2.000 Dalton.

Chế phẩm chứa hỗn hợp hydrat cacbon của disacarit, oligosacarit và polysacarit, trong đó vi sinh vật probiotic được sử dụng. Không bị giới hạn bởi lý thuyết, chất nền được tạo thành bằng cách kết hợp hỗn hợp hydrat cacbon và protein được thủy phân hoàn toàn như nêu trong mô tả này được tin là cho phép làm khô nhanh hơn và góp phần vào cấu trúc vô định hình và cứng mong muốn của chế phẩm khô thu được.

Chế phẩm có thể chứa một hoặc nhiều disacarit với lượng ít hơn khoảng 30%, 20% hoặc 10%, tốt hơn là ít hơn 20%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm. Ví dụ, chế phẩm có thể chứa disacarit với lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 30%, 1% đến 20%, 1% đến 10%, 5% đến 30%, 5% đến 20%, 5% đến 10%, 10% đến 20%, 10% đến 15% hoặc 10% đến 20%, tốt hơn là khoảng 5% đến 30%.

Disacarit tốt hơn là disacarit được khuyến nghị để dùng trong chế độ ăn đặc biệt. Disacarit này có thể là lactoza, sucroza, maltoza, fructoza, hoặc tổ hợp của chúng, tốt hơn là lactoza hoặc sucroza, tốt hơn nữa là lactoza. Tốt hơn là disacarit này không phải là trehaloza. Theo một số phương án được ưu tiên, chế phẩm theo sáng chế không chứa trehaloza.

Chế phẩm có thể chứa một hoặc nhiều oligosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 30%, 1% đến 20%, 1% đến 10%, 5% đến 30%, 5% đến 20%, 5% đến 10%, 10% đến 20%, 10% đến 15% hoặc 10% đến 20%, tính theo tổng khối lượng khô của

chế phẩm. Tốt hơn là, chế phẩm chứa oligosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 30%.

Oligosacarit là chất xơ tan được thường được coi là prebiotic trong các ứng dụng dinh dưỡng. Thuận lợi là, chất xơ tan được đi qua dạ dày ở dạng không bị phân giải và khả dụng cho việc phân giải bởi hệ vi sinh vật trong ruột. Việc kết hợp chất xơ tan được cũng có thể giúp bảo vệ vi sinh vật probiotic khỏi enzym phân giải và độ axit cao ở dạ dày.

Oligosacarit tốt hơn là oligosacarit được khuyến nghị để dùng trong chế độ ăn đặc biệt. Oligosacarit có thể là inulin, maltodextrin, dextran, fructo-oligosacarit (FOS), galacto-oligosacarit (GOS), mannan-oligosacarit (MOS), hoặc tổ hợp của chúng, tốt hơn là maltodextrin hoặc inulin, tốt hơn nữa là inulin.

Chế phẩm có thể chứa một hoặc nhiều polysacarit với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 40%, 0,5% đến 30%, 1% đến 30%, 1% đến 20%, 1% đến 10%, 1% đến 5% hoặc 5% đến 10%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm. Tốt hơn là, chế phẩm chứa polysacarit với lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 10%. Polysacarit tốt hơn là polysacarit được khuyến nghị để dùng trong chế độ ăn đặc biệt. Polysacarit có thể là caragenan, gồm guar, gồm acaxia, gồm đậu locust, tinh bột, tinh bột biến tính, hoặc tổ hợp của chúng, tốt hơn là gồm đậu locust hoặc gồm guar, tốt hơn nữa là gồm đậu locust. Tốt hơn là, polysacarit không phải là alginat hoặc chitosan. Theo một số phương án được ưu tiên, chế phẩm không chứa alginat hoặc chitosan. Theo một số phương án được ưu tiên khác, chế phẩm không chứa trehaloza hoặc alginat.

Theo một số phương án, chế phẩm chứa polysacarit với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 20%, oligosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 30% và disacarit với lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 20%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm. Cụ thể là, chế phẩm có thể chứa gồm đậu locust với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 20%, inulin với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 30% và lactoza với lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 20%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm.

Chế phẩm theo sáng chế cũng có thể chứa một hoặc nhiều chất bổ sung. Chất bổ sung có thể cung cấp lợi ích bổ sung cho vi sinh vật probiotic, vật chủ hoặc cả hai.

Ví dụ, chất bổ sung có thể cung cấp hiệu quả điều trị bệnh hoặc gây miễn dịch cho vật chủ. Chất bổ sung có thể được chọn từ nhóm bao gồm vitamin, chất chống oxy hóa, nguyên tố hóa học có lượng vết (trace element), sterol, magie stearat, silica khối, chất hoạt động bề mặt, peptit và steroid và tổ hợp của chúng.

Chế phẩm có thể chứa chất bổ sung với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 20%, 0,5% đến 20%, 1% đến 20%, 0,1% đến 10%, 0,5% đến 10%, 1% đến 10% hoặc 1% đến 5%, tính theo tổng khối lượng của chế phẩm. Chất bổ sung tốt hơn là chất được khuyến nghị để dùng trong chế độ ăn đặc biệt.

Chất bổ sung có thể được chọn từ nhóm bao gồm muối của axit carboxylic, tocopherol và tổ hợp của chúng. Muối của axit carboxylic có thể được chọn từ nhóm bao gồm muối của axit ascorbic và muối của axit xitric. Theo một số phương án, chất bổ sung chứa một hoặc nhiều tocopherol và một hoặc nhiều muối của axit carboxylic theo tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 4:1 đến 1:4. Ví dụ, chất bổ sung bao gồm vitamin E và natri ascorbat theo tỷ lệ khối lượng là 4:1.

Theo một số phương án, chế phẩm chứa protein được thủy phân với lượng nằm trong khoảng từ 40% đến 80%, disacarit với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 30%, oligosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 30% và polysacarit với lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 10%, tính theo tổng khối lượng của chế phẩm. Theo phương án được ưu tiên, chế phẩm chứa protein đậu Hà Lan được thủy phân với lượng là 54%, lactoza với lượng là 8%, inulin với lượng là 14% và gồm đậu locust với lượng là 3%, tính theo tổng khối lượng của chế phẩm. Chế phẩm cũng có thể chứa chất bổ sung với lượng là 4%, bao gồm vitamin E và natri ascorbat theo tỷ lệ khối lượng là 4:1, tính theo tổng khối lượng của chế phẩm.

Chế phẩm theo sáng chế được tạo ra bằng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Phương pháp tạo ra này có thể bao gồm các quy trình như trộn, làm đông lạnh, làm đông khô, làm khô bằng không khí xung quanh, sấy chân không, sấy phun, hoặc tổ hợp của chúng. Chế phẩm probiotic thu được, ở dạng đơn lẻ hoặc được kết hợp thành sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt, có khả năng sống tăng khi tiếp xúc với nhiều dạng điều kiện nhiệt độ và độ ẩm.

Vi sinh vật probiotic được sử dụng để tạo ra chế phẩm tốt hơn là sản phẩm thu được từ bước lên men mà được cô đến độ đặc giống như dạng bột nhão ướt có hàm lượng chất rắn nằm trong khoảng từ 5% đến 30% khối lượng/ thể tích. Sản phẩm probiotic cô đặc có thể là ở dạng bột nhão ướt, đông lạnh hoặc được rải đông trước khi kết hợp với các thành phần khác. Một phương án thay thế là phương án bắt đầu bằng vi sinh vật probiotic ở dạng khô.

Quy trình tạo ra chế phẩm probiotic ổn định có thể bao gồm bước cô vi sinh vật probiotic đã được chọn, bước trộn các thành phần với vi sinh vật probiotic đã được cô để tạo thành huyền phù đặc, làm đông lạnh nhanh huyền phù đặc này trong nitơ lỏng để tạo thành các hạt ở dạng giọt nhỏ, chuỗi hoặc hạt, làm khô các hạt bằng cách làm bay hơi hơi ẩm trong hạt dưới chế độ áp suất giảm trong khi cung cấp nhiệt cho các hạt này và sau đó đóng gói hoặc kết hợp chế phẩm probiotic ổn định thu được thành sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt, có thể là sản phẩm dinh dưỡng như chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi.

Một quy trình trộn thích hợp có thể là việc bổ sung hỗn hợp khô gồm tất cả các thành phần ngoại trừ vi sinh vật probiotic trong chế phẩm trực tiếp vào giồng cây cô đặc hoặc dung dịch môi trường chứa vi sinh vật probiotic để tạo thành huyền phù đặc. Hỗn hợp khô có thể được hòa tan trước trong dung dịch nước được điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9 bằng dung dịch kiềm đặc (ví dụ, dung dịch natri hydroxit (NaOH) 1M hoặc 5M) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 80°C. Trong huyền phù đặc này, khối lượng khô của vi sinh vật probiotic có thể cấu thành khoảng 5% đến 30% khối lượng/ thể tích trong khi hỗn hợp khô có thể cấu thành khoảng 70% đến 95% hoặc khoảng 80% đến 90% khối lượng/ thể tích. Tổng hàm lượng chất rắn trong huyền phù đặc có thể nằm trong khoảng từ 20% đến 60% hoặc nằm trong khoảng từ 30% đến 50%. Lượng polysacarit trong hỗn hợp khô có thể được điều chỉnh để đạt được độ nhớt mong muốn của huyền phù đặc, cho phép làm khô hiệu quả, trong khi tránh được việc tạo thành chất cao su hoặc việc tạo bột quá mức mà có thể xảy ra trong quá trình làm khô. Mật độ mong muốn của huyền phù đặc có thể đạt được bằng các phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, bằng cách loại khí trong chân không hoặc phun khí vào như không khí, nitơ, cacbon dioxit hoặc argon.

Huyền phù đặc có thể được làm đông lạnh nhanh đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng -30°C đến khoảng -180°C , hoặc được làm đông lạnh nhanh trong nitơ lỏng bằng cách phun sương, nhỏ giọt hoặc phun vào bể nitơ lỏng. Các hạt thu được ở dạng hạt, chuỗi hoặc giọt nhỏ có thể được thu gom và được làm khô trong thiết bị làm đông khô hoặc thiết bị sấy chân không, hoặc theo cách khác được bảo quản trong thiết bị làm lạnh sâu (ví dụ, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -30°C đến -80°C) để sử dụng sau đó ở dạng đông lạnh hoặc để làm khô sau đó, ví dụ, bằng cách làm đông khô hoặc sấy chân không.

Thông thường, các kỹ thuật quy trình làm khô hữu ích bao gồm làm đông khô, hoặc làm khô bằng cách làm bay hơi huyền phù đặc đã rắn đông trong lò chân không hoặc thiết bị làm bay hơi bằng cách ly tâm trong khi nhiệt độ của huyền phù đặc hoặc sản phẩm làm khô được duy trì cao hơn nhiệt độ đông lạnh của nó (ví dụ, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -20°C đến -5°C), sau đó xay đến kích cỡ hạt mong muốn. Tốt hơn là, vi sinh vật probiotic được phủ bằng nguyên liệu vô định hình không kết tinh trong hạt. Ưu điểm của việc phủ vi sinh vật probiotic bằng các nguyên liệu ở trạng thái vô định hình là nhằm làm tăng tính ổn định vật lý của các hạt và làm giảm sự hình thành tinh thể có hại trong các hạt. Cần lưu ý rằng việc đạt được cấu trúc vô định hình không kết tinh không phải là điều kiện tiên quyết đối với tính ổn định lâu dài vì một số vi sinh vật có thể sống tốt hơn ở trạng thái kết tinh hơn. Theo phương án tiêu biểu thích hợp, huyền phù đặc được làm đông lạnh nhanh có thể được đổ lên khay với dung lượng tải nằm trong khoảng từ khoảng $1,08\text{ kg/m}^2$ ($0,1\text{ kg/phút vuông}$) đến khoảng $16,15\text{ kg/m}^2$ ($1,5\text{ kg/phút vuông}$) và sau đó ngay lập tức được chuyển sang buồng sấy chân không nơi mà quy trình làm khô có thể được tiến hành theo 3 bước chính bao gồm: (a) bước làm thích nghi nhiệt độ tùy ý trong thời gian ngắn và làm ổn định cấu trúc của các hạt đông lạnh dưới áp suất chân không nhỏ hơn 1000 mTORR , (b) bước làm khô sơ bộ, hoặc bước làm khô bằng cách làm bay hơi sơ bộ, trong chân không và ở nhiệt độ của các hạt cao hơn nhiệt độ đông lạnh của chúng và (c) bước làm khô lần hai dưới áp suất chân không cường độ đầy đủ và nhiệt độ nguồn nhiệt cao trong thời gian đủ để làm giảm hoạt độ nước của chế phẩm khô thu được xuống, ví dụ, $0,3\text{ Aw}$ hoặc thấp hơn. Chế phẩm khô thu được có thể có dạng vô định hình thủy tinh.

Các thuật ngữ “đông khô” và “khô lạnh” được sử dụng thay thế lẫn nhau trong bản mô tả này và dùng để chỉ việc tạo ra chế phẩm ở dạng khô bằng cách làm đông lạnh nhanh và khử nước ở trạng thái đông lạnh (đôi khi được gọi là sự thăng hoa). Sự đông khô diễn ra ở nhiệt độ mà làm kết tinh các thành phần trong chế phẩm.

Thuật ngữ “làm khô sơ bộ” trong bản mô tả này dùng để chỉ việc làm khô sản phẩm ở nhiệt độ của sản phẩm về cơ bản thấp hơn nhiệt độ của nguồn nhiệt, nghĩa là, nhiệt độ nguồn nhiệt hoặc nhiệt độ giá, để tạo ra sản phẩm được làm khô sơ bộ. Thông thường, phần lớn bước làm khô sơ bộ có thể được thực hiện bằng cách làm bay hơi diện rộng, trong khi nhiệt độ sản phẩm vẫn thấp hơn đáng kể so với nhiệt độ của nguồn nhiệt.

Thuật ngữ “làm khô lần hai” trong bản mô tả này dùng để chỉ việc làm khô sản phẩm đã được làm khô sơ bộ ở nhiệt độ sản phẩm gần với nhiệt độ của nguồn nhiệt, nghĩa là, nhiệt độ nguồn nhiệt hoặc nhiệt độ giá, để tạo ra sản phẩm khô. Quy trình này có thể diễn ra trong chân không đủ để làm giảm hoạt độ nước của sản phẩm khô thu được. Trong quy trình làm khô điển hình, bước làm khô lần hai làm giảm hoạt độ nước của chế phẩm xuống, ví dụ, 0,3 Aw hoặc thấp hơn.

Theo một phương án, chế phẩm theo sáng chế được tạo ra bằng phương pháp bao gồm các bước (a) kết hợp một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống, một hoặc nhiều protein được thủy phân, một hoặc nhiều disacarit, một hoặc nhiều oligosacarit và một hoặc nhiều polysacarit trong dung môi kiềm chứa nước để tạo thành huyền phù đặc; (b) làm đông lạnh nhanh huyền phù đặc này trong nitơ lỏng để tạo thành các hạt rắn đông lạnh ở dạng hạt, giọt nhỏ hoặc chuỗi; (c) làm khô sơ bộ các hạt rắn đông lạnh bằng cách làm bay hơi trong chân không, trong khi vẫn duy trì nhiệt độ của các hạt cao hơn nhiệt độ đông lạnh của chúng, nhờ đó tạo thành chế phẩm được làm khô sơ bộ; và (d) làm khô lần hai chế phẩm đã được làm khô sơ bộ trong chân không cường độ đầy đủ và nhiệt độ của nguồn nhiệt là 20°C hoặc cao hơn trong thời gian đủ để làm giảm hoạt độ nước của chế phẩm đã được làm khô sơ bộ xuống 0,3 Aw hoặc thấp hơn, nhờ đó tạo ra chế phẩm.

Phương pháp này có thể còn bao gồm bước khử trùng một hoặc nhiều protein được thủy phân, một hoặc nhiều disacarit, một hoặc nhiều oligosacarit và một hoặc

nhiều polysacarit trước bước (a). Bước khử trùng có thể được thực hiện bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, bước làm nóng hỗn hợp gồm protein được thủy phân, disacarit, oligosacarit và polysacarit dưới áp suất và sau đó làm mát trước bước (a).

Phương pháp này có thể còn bao gồm bước hòa tan một hoặc nhiều protein được thủy phân, một hoặc nhiều disacarit, một hoặc nhiều oligosacarit và một hoặc nhiều polysacarit trước bước (a).

Phương pháp này có thể còn bao gồm bước cắt, nghiền vụn, xay hoặc nghiền bột chế phẩm thành bột chảy tự do. Kích cỡ hạt của bột có thể nhỏ hơn khoảng 10.000, 1.000, 500, 250 hoặc 100 μm , tốt hơn là nhỏ hơn khoảng 1.000 μm , tốt hơn nữa là nhỏ hơn khoảng 250 μm .

Chế phẩm khô theo sáng chế có thể được sử dụng trực tiếp dưới dạng片片 mỏng, hoặc được nghiền thành bột và được rây đến kích cỡ hạt trung bình nằm trong khoảng từ 1 đến 10.000 μm , tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10 đến 1.000 μm .

Chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng dưới dạng bột đặc hoặc chất lỏng hoàn nguyên (ví dụ, đồ uống). Chế phẩm này cũng có thể được kết hợp ở dạng片片 mỏng hoặc dạng bột vào một sản phẩm thực phẩm đã có.

Phương pháp này cũng có thể bao gồm việc tạo ra sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt với chế phẩm theo sáng chế, chứa lượng hiệu quả của một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống để cung cấp lợi ích của vi sinh vật probiotic cho vật chủ trong sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt. Ví dụ về sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt có thể bao gồm chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi, chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ ăn dặm, thực phẩm chế biến từ ngũ cốc, thực phẩm đóng hộp dùng cho trẻ em và thực phẩm đặc biệt dùng cho mục đích y tế. Tốt hơn là, sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt là chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi.

Bột khô ổn định thu được chứa vi sinh vật probiotic có thể được kết tụ bằng chất béo nóng chảy. Bột khô có thể được đặt trong máy trộn kiểu hành tinh ở nhiệt độ 40°C và chất béo nóng chảy như bơ cacao, sáp tự nhiên hoặc dầu cọ, axit stearic, stearin hoặc hỗn hợp của chúng có thể được bổ sung từ từ vào bột ẩm. Hỗn hợp này có

thể được làm mát xuống dưới nhiệt độ tan chảy của chất béo trong khi trộn liên tục cho tới khi đạt được kích cỡ đồng đều trực quan của bột kết tụ. Khối lượng của chất béo nóng chảy trong chế phẩm thu được có thể nằm trong khoảng từ 20% đến 70%, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 30% đến 50%.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Tạo chế phẩm khô và ổn định

Protein đậu Hà Lan đã được thủy phân (65g, Marcor, Carlstadt, NJ) được hòa tan trong 100 ml nước cất ấm (ở nhiệt độ 75°C). Độ pH của dung dịch đậu Hà Lan được điều chỉnh đến 8,5 bằng cách sử dụng dung dịch NaOH đặc 20%. Gôm đậu locust (3 g, Tic gum, Belcamp, MD), lactoza (10g, Foremost Farms, Rothschild, WI), Inulin (17 g, Cargill Minneapolis, MN), hỗn hợp chứa vitamin E và natri ascorbat theo tỷ lệ 4:1 khối lượng/khối lượng (5g) được trộn khô và được bổ sung vào dung dịch đậu Hà Lan trong điều kiện trộn liên tục với tốc độ 500 vòng/phút bằng máy trộn có cánh khuấy. Dung dịch này được làm nguội xuống và được duy trì ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 35°C đến 40°C trong điều kiện trộn liên tục.

Chế phẩm ổn định thu được có dạng trong mờ với độ đặc của si rô và màu hổ phách. Dung dịch si rô được chuyển vào máy trộn kiểu hành tinh kép (DPM, 1qt, Ross Engineering, Inc. Savannah, GA) có trang bị vỏ có kiểm soát nhiệt độ. Nhiệt độ của vỏ máy trộn là 37°C. Vi khuẩn đông lạnh (100g, Bifidobacterium sp.) được bổ sung trong điều kiện trộn với tốc độ 45 vòng/phút trong thời gian từ 2 phút đến 3 phút, hoặc cho tới khi toàn bộ vi khuẩn đều được làm tan đông và được phân phối đồng nhất. Hỗn hợp vi sinh vật probiotic được làm lạnh xuống nhiệt độ 4°C và được giữ ở nhiệt độ này trong thời gian từ 30 đến 60 phút. Hỗn hợp được nhỏ giọt và được làm đông lạnh nhanh trong bể nitơ lỏng để tạo thành hạt đông lạnh, được thu hoạch từ nitơ lỏng và được bảo quản ở nhiệt độ -80°C để làm khô sau đó.

Để làm khô, hạt đông lạnh được trải trên khay đã được làm lạnh trước (ở nhiệt độ -20°C) với dung lượng tải là 0,074 kg/m² (800g/phút vuông) và sau đó ngay lập tức được đặt trên các giá trong thiết bị làm khô lạnh (Model 25 SRC, Virtis, Gardiner, NY). Sau đó, chân không được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 1800 đến 2200 mTORR và nhiệt độ giá được tăng đến +20°C. Các chế độ thiết đặt nhiệt độ và áp suất

chân không này được duy trì trong 12 giờ. Trước khi làm khô sơ bộ, nhiệt độ của hạt đông lạnh được làm thích nghi tùy ý đến khoảng -20°C bằng cách sử dụng áp suất chân không vào khoảng 1000 mTORR để cho phép nhiệt độ của hạt đông lạnh thích nghi trong khoảng 10 phút. Sau đó, bước làm khô sơ bộ được thực hiện bằng cách điều chỉnh áp suất chân không tới 2000-2700 mTORR và nhiệt độ giá đến $+20^{\circ}\text{C}$. Các chế độ thiết đặt nhiệt độ và áp suất chân không này được duy trì trong 12 giờ. Sau đó, bước làm khô lần hai được thực hiện trong chân không cường độ đầy đủ (150-200 mTORR) và nhiệt độ giá được duy trì ở 40°C trong 12 giờ nữa. Chế phẩm được làm khô hoàn toàn và hoạt độ nước của nó, như được đo bằng dụng cụ Hygropalm Aw1 (Rotonic Instrument Corp., Huntington, NY), là 0,23 Aw. Sau đó, nguyên liệu khô này được xay và được rây tới kích cỡ hạt nhỏ hơn hoặc bằng 250 μm và được bảo quản ở nhiệt độ 4°C .

Ví dụ 2. Độ ổn định bảo quản của chế phẩm probiotic khô

Các mẫu chứa chế phẩm khô ổn định của vi khuẩn probiotic từ ví dụ 1 hoặc hỗn dịch vi khuẩn đã được làm khô lạnh thông thường trong trehalosa 10% được đặt trong bình làm khô trong điều kiện bảo quản tăng cường ở nhiệt độ 40°C và độ ẩm tương đối 33%. Các mẫu được lấy định kỳ để đánh giá CFU vi sinh vật bằng cách sử dụng các dịch pha loãng vi sinh tiêu chuẩn và quy trình ria cấy trên thạch LMRS. Fig.1 thể hiện độ ổn định bảo quản trong điều kiện bảo quản tăng cường ở nhiệt độ 40°C và độ ẩm tương đối 33%. Vi khuẩn probiotic không được bảo vệ hoàn toàn mất khả năng sống trong một vài tuần đầu trong điều kiện bảo quản tăng cường, trong khi chế phẩm khô của vi khuẩn probiotic theo sáng chế chỉ mất đi 0,70 đơn vị log/g sau 84 ngày ở nhiệt độ 40°C và độ ẩm tương đối 33%.

Ví dụ 3. Tác dụng của hydrat cacbon và protein đối với độ ổn định bảo quản

Chế phẩm theo sáng chế giúp xóa bỏ nhu cầu về chất làm ổn định hydrat cacbon, một chất không nằm trong danh sách khuyến nghị về các hợp chất dinh dưỡng được cho phép dùng trong chế độ ăn đặc biệt, của Ủy ban Luật thực phẩm quốc tế liên chính phủ do Tổ chức y tế thế giới WHO và Tổ chức nông lương FAO.

a. Chế phẩm chứa maltodextrin: Chế phẩm chứa 50g sản phẩm thủy phân protein đậu Hà Lan (Marcor, Carlstadt, NJ), 33g maltodextrin (Tate & Lyle, Decatur, IL), 10g

inulin (Cargill, Minneapolis, MN), 2g gồm đậu locust (Tic gum, Belcamp, MD) và 5g hỗn hợp chứa vitamin E và natri ascorbat (4:1 khối lượng/khối lượng) được tạo ra. Sản phẩm thủy phân protein đậu Hà Lan được hòa tan trong 100 gam nước cất và độ pH được điều chỉnh đến 7,5. Hợp chất hydrat cacbon được trộn khô và được bổ sung vào dung dịch protein đậu Hà Lan. Hỗn hợp này được làm nóng đến 70°C để hòa tan tất cả các hợp chất và dung dịch được làm nguội xuống nhiệt độ 37°C. Các hạt *L. rhamnosus* sp. đông lạnh (100g) được bổ sung vào dung dịch và huyền phù đặc này được làm khô như được mô tả trong ví dụ 1. Số lượng ban đầu của vi khuẩn sống trong chế phẩm khô là 9,92 log CFU/g. Mẫu của sản phẩm này được đặt trong điều kiện thử thách độ ổn định tăng cường như được mô tả trong ví dụ 1. Mẫu bị mất đi 1,19 đơn vị log/g sau 1 tháng, do đó, không đạt kết quả trong thử thách này.

b. Chế phẩm chứa sản phẩm phân tách protein lúa mì: Chế phẩm khác chứa 25g sản phẩm thủy phân protein đậu Hà Lan (Marcor, Carlstadt, NJ), 33g Prolite 200 (sản phẩm phân tách protein lúa mì, Archer Daniels Midland Company Decatur, IL), 25g maltodextrin (Tate & Lyle, Decatur, IL), 10g inulin (Cargill, Minneapolis, MN), 2g gồm đậu locust (Tic gum, Belcamp, MD) và 5g hỗn hợp chứa vitamin E và natri ascorbat (4:1 khối lượng/khối lượng) được tạo ra. Chế phẩm chứa *L. rhamnosus* sp. được tạo ra và được làm khô như được mô tả ở trên trong các ví dụ 1 và 2. Số lượng ban đầu của vi khuẩn sống trong chế phẩm khô là 10,17 log CFU/g. Mẫu của sản phẩm này được đặt trong điều kiện thử thách độ ổn định tăng cường như được mô tả trong ví dụ 1. Mẫu bị mất đi 1,71 đơn vị log/g sau 2 tuần, do đó, không đạt kết quả trong thử thách này.

c. Chế phẩm chứa sản phẩm phân tách protein nước sữa: Chế phẩm khác chứa 25g sản phẩm thủy phân protein đậu Hà Lan (Marcor, Carlstadt, NJ), 25g sản phẩm phân tách protein nước sữa (Davisco, Eden Prairie, MN), 33g maltodextrin (Tate & Lyle, Decatur, IL), 10g inulin (Cargill, Minneapolis, MN), 2g gồm đậu locust (Tic gum, Belcamp, MD) và 5g hỗn hợp chứa vitamin E và natri ascorbat (4:1 khối lượng/khối lượng) được tạo ra. Chế phẩm chứa *L. rhamnosus* sp. được tạo ra và được làm khô như được mô tả ở trên trong các ví dụ 1 và 2. Số lượng ban đầu của vi khuẩn sống trong chế phẩm khô là 10,40 log CFU/g. Mẫu của sản phẩm này được đặt trong điều kiện thử thách độ ổn định tăng cường như được mô tả trong ví dụ 1. Mẫu bị mất đi 1,71 đơn vị log/g sau 2 tuần, do đó, không đạt kết quả trong thử thách này.

kiện thử thách độ ổn định tăng cường như được mô tả trong ví dụ 1. Mẫu bị mất đi 1,30 đơn vị log/g sau 2 tuần, do đó, không đạt kết quả trong thử thách này.

d. Chế phẩm chứa lactoza: Chế phẩm khác chứa 50g sản phẩm thủy phân protein đậu Hà Lan (Marcor, Carlstadt, NJ), 33g lactoza (Foremost Farms, Rothschild, WI), 10g inulin (Cargill, Minneapolis, MN), 2g gồm đậu locust (Tic gum, Belcamp, MD) và 5g hỗn hợp chứa vitamin E và natri ascorbat (4:1 khối lượng/khối lượng) được tạo ra. Chế phẩm chứa *L. rhamnosus* sp. được tạo ra và được làm khô như được mô tả ở trên trong các ví dụ 1 và 2. Số lượng ban đầu của vi khuẩn sống trong chế phẩm khô là 9,77 log CFU/g. Mẫu của sản phẩm này được đặt trong điều kiện thử thách độ ổn định tăng cường như được mô tả trong ví dụ 1. Mẫu đạt được độ ổn định sau tháng đầu tiên nhưng bị mất đi 1,89 đơn vị log/g sau 2 tháng, do đó, không đạt kết quả trong thử thách này.

e. Chế phẩm theo sáng chế: Chế phẩm chứa 65g sản phẩm thủy phân protein đậu Hà Lan (Marcor, Carlstadt, NJ), 10g lactoza (Foremost Farms, Rothschild, WI) 17g inulin (Cargill, Minneapolis, MN), 3g gồm đậu locust (Tic gum, Belcamp, MD) và 5g hỗn hợp chứa vitamin E và natri ascorbat (4:1 khối lượng/khối lượng) được tạo ra. Chế phẩm chứa *Bifidobacterium* sp. được tạo ra và được làm khô như được mô tả ở trên trong các ví dụ 1 và 2, ngoại trừ độ pH của dung dịch sản phẩm thủy phân protein đậu Hà Lan được điều chỉnh đến độ pH = 8,5. Số lượng ban đầu của vi khuẩn sống trong chế phẩm khô là 10,87 log CFU/g. Mẫu của sản phẩm này được đặt trong điều kiện thử thách độ ổn định tăng cường. Mẫu chỉ mất đi 0,70 đơn vị log/g sau 3 tháng, do đó, đạt kết quả trong thử thách này.

Ví dụ 4. Tác dụng của inulin đối với độ ổn định bảo quản

Luật tiêu chuẩn Hoa Kỳ 72 (US Standard codex 72) cho phép sử dụng oligosacarit như inulin và maltodextrin trong chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi. Tác dụng của lượng inulin nằm trong khoảng từ 0% đến 30% trong chế phẩm được đánh giá. Chế phẩm chứa 50g sản phẩm thủy phân protein đậu Hà Lan (Marcor, Carlstadt, NJ), 43g lactoza (Foremost Farms, Rothschild, WI), 2g gồm đậu locust (Tic gum, Belcamp, MD), 5g hỗn hợp chứa vitamin E và natri ascorbat (4:1 khối lượng/khối lượng) và 0g, 10g, 15g hoặc 30g inulin được tạo ra (lượng inulin

được bổ sung được trừ ra khỏi lượng lactoza trong chế phẩm). Chế phẩm chứa *L. acidophilus* sp. được tạo ra và được làm khô như được mô tả ở trên trong các ví dụ 1 và 2. Số lượng ban đầu của vi khuẩn sống trong chế phẩm khô chứa 0g, 10g, 15g và 30g inulin là 9,42, 9,57, 9,59 và 9,80 log CFU/g, một cách tương ứng. Mẫu của mỗi chế phẩm được đặt trong điều kiện thử thách độ ổn định tăng cường. Mẫu chứa 0g inulin (không chứa oligosacarit) mất đi 1,14 đơn vị log/g sau 2 tháng và 2,25 đơn vị log/g sau 3 tháng trong khi mẫu chứa 15g inulin và mẫu chứa lượng inulin cao hơn mất đi ít hơn 2 đơn vị log/g sau 3 tháng, do đó, lượng tối thiểu của inulin trong chế phẩm theo sáng chế được xác định là phải cao hơn 10%.

Ví dụ 5. Tác dụng của disacarit đối với độ ổn định bảo quản

Luật tiêu chuẩn Hoa Kỳ 72 (US Standard codex 72) hạn chế việc sử dụng trehaloza nhưng cho phép sử dụng sucroza và lactoza trong chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi. Ví dụ sau đây chứng minh rằng trehaloza được thay thế thành công bằng lượng tăng của protein đậu Hà Lan được thủy phân và chỉ một lượng nhỏ của disacarit lactoza trong chế phẩm theo sáng chế.

a. Chế phẩm chứa trehaloza: Chế phẩm chứa 25g sản phẩm thủy phân protein đậu Hà Lan (Marcor, Carlstadt, NJ), 62g trehaloza (Cargill, Minneapolis, MN), 5g inulin (Cargill, Minneapolis, MN), 3g gôm đậu locust (Tic gum, Belcamp, MD) và 5g hỗn hợp chứa vitamin E và natri ascorbat (4:1 khối lượng/khối lượng) được tạo ra. Chế phẩm chứa *L. acidophilus* sp. được tạo ra và được làm khô như được mô tả ở trên trong các ví dụ 1 và 2. Số lượng ban đầu của vi khuẩn sống trong chế phẩm khô là 9,49 log CFU/g. Mẫu của chế phẩm được đặt trong điều kiện thử thách độ ổn định tăng cường. Mẫu bị mất đi 0,83 đơn vị log/g sau 3 tháng, do đó, thể hiện độ ổn định tương đối tốt. Tuy nhiên, việc sử dụng trehaloza không được cho phép trong chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi.

b. Tác dụng của việc thay thế trehaloza bằng lactoza: Chế phẩm chứa 50g sản phẩm thủy phân protein đậu Hà Lan (Marcor, Carlstadt, NJ), 2g gôm đậu locust (Tic gum, Belcamp, MD), 5g hỗn hợp chứa vitamin E và natri ascorbat (4:1 khối lượng/khối lượng) và 33g lactoza (Foremost Farms, Rothschild, WI), 10g inulin (Cargill, Minneapolis, MN) hoặc 13g và 30g inulin được tạo ra. Chế phẩm chứa *L. acidophilus*

sp. được tạo ra và được làm khô như được mô tả ở trên trong các ví dụ 1 và 2. Số lượng ban đầu của vi khuẩn sống trong chế phẩm khô chứa lactoza với lượng là 33g hoặc 13g lần lượt bằng 9,57 log CFU/g và 9,80 log CFU/g. Mẫu từ mỗi chế phẩm được đặt trong điều kiện thử thách độ ổn định tăng cường. Mẫu chứa 33 g lactoza bị mất đi 1,25 đơn vị log/g sau 1 tháng trong khi mẫu chứa 13g lactoza trong 2 tháng sau, do đó, có thể xác định rằng lactoza 13% và kèm theo protein đậu Hà Lan được thủy phân 50% trong chế phẩm ổn định có thể thay thế trehaloza một cách hiệu quả.

c. Độ ổn định của chế phẩm không có trehaloza và alginat: Để đánh giá tác dụng của việc thay thế các thành phần (ví dụ, trehaloza và alginat) không mong muốn đối với chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi trong chế phẩm có disacarit với lượng hơn 50%, ba (3) chế phẩm chứa 25g sản phẩm thủy phân protein đậu Hà Lan (Marcor, Carlstadt, NJ), 5g inulin (Cargill, Minneapolis, MN), 5g hỗn hợp chứa vitamin E và natri ascorbat (4:1 khối lượng/khối lượng), 3g alginat (ISP Corp., Wayne, NJ) hoặc 3g gôm đậu locust (Tic gum, Belcamp, MD) và 62g trehaloza (Cargill, Minneapolis, MN) hoặc 62 g lactoza (Foremost Farms, Rothschild, WI) được tạo ra (bảng 1). Chế phẩm chứa *L. rhamnosus* sp. được tạo ra và được làm khô như được mô tả ở trên trong các ví dụ 1 và 2. Số lượng ban đầu của vi khuẩn sống trong ba chế phẩm khô là khoảng 10 log CFU/g (bảng 1). Mẫu từ mỗi chế phẩm được đặt trong điều kiện thử thách độ ổn định tăng cường. Chỉ có chế phẩm chứa cả alginat và trehaloza là mất đi ít hơn 1 đơn vị log/g sau 84 ngày, trong khi hai chế phẩm còn lại, trong đó trehaloza và alginat lần lượt được thay bằng lactoza và gôm đậu locust, mất đi nhiều hơn một đơn vị log/g chỉ sau 28 ngày. Theo đó, trehaloza và alginat là các thành phần thiết yếu trong chế phẩm, mà thường có disacarit với lượng hơn 50%, để đạt yêu cầu về độ ổn định là mất đi ít hơn 1 đơn vị log/g sau 3 tháng ở nhiệt độ 40°C và độ ẩm tương đối 33%.

Bảng 1. Tác dụng của việc thay thế trehaloza và alginat đối với độ ổn định của probiotic

Chế phẩm	1	2	3
Sản phẩm thủy phân protein đậu Hà Lan	25g	25g	25g
Trehaloza	62g	0	0
Lactoza	0	62g	62g

Inulin	5g	5g	5g
Alginat	3g	3g	0
Gôm đậu locust	0	0	3g
Hỗn hợp vitamin	5g	5g	5g
Khả năng sống ban đầu (log CFU/g)	10,08	9,84	10,16
Sự mất khả năng sống (log CFU/g/ngày)	0,96/84	1,24/28	1,62/28

Ví dụ 6. Tác dụng của polysacarit đối với độ ổn định bảo quản

Polysacarit tạo ra nền đỡ cấu trúc cần thiết trong chế phẩm probiotic. Luật tiêu chuẩn Hoa Kỳ 72 (US Standard codex 72) hạn chế việc sử dụng một số polysacarit như alginat nhưng cho phép sử dụng gôm guar, gôm đậu locust và tinh bột trong chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi. Natri alginat, gôm guar, gôm đậu locust và tinh bột là các polysacarit có bán trên thị trường và tác dụng của chúng trong chế phẩm ổn định theo sáng chế được đánh giá.

a. Chế phẩm chứa gôm guar: Chế phẩm chứa 36g sản phẩm thủy phân casein (DMV International Nutritionals, Delhi, NY), 25g inulin (Cargill, Minneapolis, MN), 36g sucroza (Sigma) và 3g gôm guar (Tic gum, Belcamp, MD) được tạo ra. Chế phẩm chứa *L. rhamnosus* sp. được tạo ra và được làm khô như được mô tả ở trên trong các ví dụ 1 và 2. Số lượng ban đầu của vi khuẩn sống trong chế phẩm khô là 9,90 log CFU/g. Mẫu của sản phẩm này được đặt trong điều kiện thử thách độ ổn định tăng cường như được mô tả trong ví dụ 1. Mẫu đạt được độ ổn định sau tháng đầu tiên nhưng bị mất đi 1,10 đơn vị log/g sau 2 tháng, do đó, không đạt kết quả trong thử thách này.

b. Chế phẩm chứa natri alginat: Chế phẩm chứa 17 g sản phẩm thủy phân casein (DMV International Nutritionals, Delhi, NY), 5g inulin (Cargill, Minneapolis, MN), 75g sucroza (Sigma) và 3g natri alginat (ISP Corp., Wayne, NJ) được tạo ra. Chế phẩm chứa *L. rhamnosus* sp. được tạo ra và được làm khô như được mô tả ở trên trong các ví dụ 1 và 2. Số lượng ban đầu của vi khuẩn sống trong chế phẩm khô là 9,90 log CFU/g. Mẫu của sản phẩm này được đặt trong điều kiện thử thách độ ổn định tăng cường như được mô tả trong ví dụ 1. Mẫu đạt được độ ổn định sau tháng đầu tiên nhưng bị mất đi 1,25 đơn vị log/g sau 2 tháng, do đó, không đạt kết quả trong thử thách này.

c. Chế phẩm chứa gôm đậu locust: Chế phẩm chứa 25g sản phẩm thủy phân protein đậu Hà Lan (Marcor, Carlstadt, NJ), 5g inulin (Cargill, Minneapolis, MN), 62g trehaloza (Cargill, Minneapolis, MN), 3g gôm đậu locust (Tic Gums, Belcamp, MD) và 5g hỗn hợp chứa vitamin E và natri ascorbat (4:1 khối lượng/khối lượng) được tạo ra. Chế phẩm chứa *L. rhamnosus* sp. được tạo ra và được làm khô như được mô tả ở trên trong các ví dụ 1 và 2. Số lượng ban đầu của vi khuẩn sống trong chế phẩm khô là 9,93 log CFU/g. Mẫu của sản phẩm này được đặt trong điều kiện thử thách độ ổn định tăng cường như được mô tả trong ví dụ 1. Mẫu đạt được độ ổn định sau 2 tháng nhưng mất đi 0,81 đơn vị log/g. Gôm đậu locust được xác định là có thể thay thế chức năng của alginat trong chế phẩm probiotic được làm ổn định.

Ví dụ 7. Chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi

Chế phẩm khô ổn định chứa *Bifidobacterium* sp. được tạo ra theo ví dụ 1 sau đó được rây thành hai nhóm có kích cỡ hạt khác nhau (lớn hơn 50 μm và nhỏ hơn 250 μm). Chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi chứa vi khuẩn probiotic được tạo ra bằng cách trộn 99,9 g Gerber Good Start (Nestle Infants Nutrition, Florham Park, NJ.) với 0,1 g hạt chế phẩm khô có kích cỡ nằm trong khoảng từ 50 μm đến 250 μm). Sản phẩm cuối cùng chứa khoảng 10^8 CFU *Lactobacillus* GG trong mỗi 100g chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi. Chế phẩm probiotic dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi được đóng vào trong chai HDPE 180 cc và được cho tiếp xúc với độ ẩm/nhiệt độ được kiểm soát là nhiệt độ 40°C/độ ẩm tương đối 33%. Sản phẩm được thử nghiệm độ ổn định vi sinh hằng tháng trong 12 tháng hoặc cho đến khi quan sát thấy sự giảm lượng thử nghiệm dưới 5×10^7 /liều đơn vị.

Ví dụ 8. Chế phẩm bổ sung vi sinh vật probiotic

Chế phẩm khô ổn định chứa *Lactobacillus acidophilus* được tạo ra theo ví dụ 1 và được bào chế thành chế phẩm dạng liều dùng qua đường miệng, như viên nén, viên nén thuôn dài (caplet) hoặc viên nang. Viên nén hương cam chứa 99,9 g chất nén (dextroza) và 0,1 g hạt chế phẩm khô có kích cỡ nằm trong khoảng từ 50 μm đến 250 μm được tạo ra bằng cách nén trực tiếp trên máy xoay bằng cách sử dụng dụng cụ dập lõm tròn tiêu chuẩn 1/2". Sản phẩm cuối cùng chứa khoảng 10^8 CFU/liều đơn vị. Độ

cứng của viên nén nằm trong khoảng từ 8 kp đến 10 kp và thời gian phân rã là khoảng 20 giây. Viên nén đã nén được đóng vào trong chai HDPE 180 cc, mỗi chai chứa 100 viên nén và được cho tiếp xúc với nhiệt độ/ độ ẩm được kiểm soát là nhiệt độ 40°C/độ ẩm tương đối 33%. Sản phẩm này được thử nghiệm độ ổn định vi sinh hàng tháng trong khoảng thời gian là 12 tháng hoặc cho đến khi quan sát thấy sự giảm lượng thử nghiệm dưới 1×10^6 / liều đơn vị.

Ví dụ 9. Đồ uống chức năng

Chế phẩm khô ổn định chứa *Lactobacillus acidophilus* được tạo ra theo ví dụ 1 và được phối chế thành hỗn hợp khô chứa (% khối lượng) sucroza với lượng là 71%, maltodextrin với lượng là 14%, inulin với lượng là 10%, dextroza với lượng là 2%, axit xitric khan với lượng là 1%, gồm acaxia với lượng là 0,3%, chất tạo hương vị với lượng là 0,3%, tricanxi phosphat với lượng là 0,3% và hạt chế phẩm probiotic khô (*L. acidophilus*) với lượng là 0,1% có kích cỡ nằm trong khoảng từ 50 μm đến 250 μm . Sản phẩm cuối cùng chứa khoảng 10^9 cfu/liều đơn vị (30g hỗn hợp khô). Sản phẩm này được đóng trong túi lá nhôm nhỏ (30g liều đơn vị/túi) để uống bằng cách khuấy trong 340 ml nước. Độ ổn định của vi khuẩn probiotic trong hỗn hợp đồ uống khô được thử nghiệm độ ổn định vi sinh hàng tháng trong khoảng thời gian là 12 tháng hoặc cho đến khi quan sát thấy sự giảm lượng thử nghiệm dưới 1×10^7 / liều đơn vị.

Ví dụ 10. Vitamin tổng hợp/viên nén probiotic

Mười (10) g chế phẩm bột khô được tạo ra như được mô tả trong ví dụ 1. Để tạo viên nén, chế phẩm probiotic ổn định và khô (100 mg) được trộn với 400 mg bột vitamin tổng hợp có bán trên thị trường (Centrum®, Pfizer) chứa magie stearat với lượng là 2% khối lượng và silica khối ưa nước với lượng là 2% khối lượng (AEROSIL® 200, Evonik Industries) và được nén trong thiết bị nén viên cầm tay (sử dụng vỏ có đường kính viên nén là $\frac{1}{2}$ "). Mỗi viên nén chứa khoảng 10^7 cfu/viên nén. Viên nén được đóng vào trong chai HDPE 180 cc, mỗi chai chứa 100 viên nén và được cho tiếp xúc với nhiệt độ/độ ẩm được kiểm soát là nhiệt độ 40°C/độ ẩm tương đối 33%. Các chai được thử nghiệm độ ổn định vi sinh hàng tháng trong khoảng thời gian là 12 tháng hoặc cho đến khi quan sát thấy sự giảm lượng thử nghiệm dưới 1×10^6 / viên nén.

Thuật ngữ “khoảng” trong bản mô tả này dùng để chỉ giá trị có thể đo được như lượng, tỷ lệ phần trăm và tương tự, có nghĩa là bao gồm các giá trị biến thiên là $\pm 20\%$ hoặc $\pm 10\%$, tốt hơn nữa là $\pm 5\%$, thậm chí tốt hơn nữa là $\pm 1\%$ và còn tốt hơn nữa là $\pm 0,1\%$ so với giá trị đã nêu, vì các giá trị biến thiên này là thích hợp.

Tất cả các tài liệu, sách, sách hướng dẫn, giấy tờ, patent, công bố đơn yêu cầu cấp patent, tài liệu hướng dẫn, bản tóm tắt và các tài liệu tham khảo khác nêu trong bản mô tả này được đưa vào bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của chúng. Các phương án khác của sáng chế có thể được thấy rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này từ việc xem xét bản mô tả này và các ví dụ thực hiện sáng chế được bộc lộ trong đó. Dự định rằng bản mô tả này và các ví dụ thực hiện sáng chế chỉ được xem là nhằm mục đích minh họa, còn phạm vi của sáng chế được thể hiện chính xác bằng các yêu cầu bảo hộ dưới đây.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm khô chứa một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống, một hoặc nhiều protein được thủy phân, một hoặc nhiều disacarit, một hoặc nhiều oligosacarit và một hoặc nhiều polysacarit,

trong đó chế phẩm này chứa một hoặc nhiều protein được thủy phân với lượng ít nhất là 40%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm, và một hoặc nhiều protein được thủy phân này được chọn từ nhóm bao gồm casein được thủy phân, protein nước sữa được thủy phân, protein đậu Hà Lan được thủy phân, protein đậu nành được thủy phân và tổ hợp của chúng,

trong đó chế phẩm này chứa một hoặc nhiều disacarit với lượng ít hơn 30%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm, và một hoặc nhiều disacarit này được chọn từ nhóm bao gồm sucroza, lactoza, và tổ hợp của chúng,

trong đó chế phẩm này chứa một hoặc nhiều oligosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 30%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm, và một hoặc nhiều oligosacarit này được chọn từ nhóm bao gồm inulin, maltodextrin, dextran, fructo-oligosacarit (FOS), galacto-oligosacarit (GOS), mannan-oligosacarit (MOS) và tổ hợp của chúng,

trong đó chế phẩm này chứa một hoặc nhiều polysacarit với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 40%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm, và một hoặc nhiều polysacarit này được chọn từ nhóm bao gồm caragenan, gồm guar, gồm acaxia, gồm đậu locust, tinh bột, tinh bột biến tính và tổ hợp của chúng,

trong đó chế phẩm này có khả năng sống ít nhất là 1×10^{10} CFU/g và trong đó chế phẩm này có sự mất khả năng sống ít hơn 1 đơn vị log/g sau 3 tháng ở nhiệt độ 40°C và độ ẩm tương đối 33%.

2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa lượng hiệu quả của một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống để cung cấp lợi ích của vi sinh vật probiotic cho vật chủ trong sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt.

3. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó vi sinh vật probiotic sống được chọn từ nhóm bao gồm vi khuẩn, nấm và nấm men probiotic sống.
4. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa một hoặc nhiều protein được thủy phân với lượng ít nhất là 50%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm.
5. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa một hoặc nhiều disacarit với lượng ít hơn 20%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm.
6. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa một hoặc nhiều oligosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 30%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm.
7. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa một hoặc nhiều polysacarit với lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 10%, tính theo tổng khối lượng khô của chế phẩm.
8. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa một hoặc nhiều chất bổ sung.
9. Chế phẩm theo điểm 8, trong đó chế phẩm này chứa một hoặc nhiều chất bổ sung với lượng nằm trong khoảng từ 0,5% đến 10%, tính theo tổng khối lượng của chế phẩm.
10. Chế phẩm theo điểm 8, trong đó một hoặc nhiều chất bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm muối của axit carboxylic, tocopherol và tổ hợp của chúng.
11. Chế phẩm theo điểm 10, trong đó muối của axit carboxylic được chọn từ nhóm bao gồm muối của axit ascorbic và muối của axit xitric.
12. Chế phẩm theo điểm 8, trong đó một hoặc nhiều chất bổ sung bao gồm một hoặc nhiều tocopherol và một hoặc nhiều muối của axit carboxylic theo tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 1:4 đến 4:1.
13. Chế phẩm theo điểm 8, trong đó một hoặc nhiều chất bổ sung bao gồm vitamin E và natri ascorbat theo tỷ lệ khối lượng là 4:1.
14. Phương pháp tạo ra chế phẩm theo điểm 1, bao gồm các bước sau:
 - (a) kết hợp một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống, một hoặc nhiều protein được thủy phân, một hoặc nhiều disacarit, một hoặc nhiều oligosacarit và một hoặc nhiều polysacarit trong dung môi kiềm chứa nước để tạo thành huyền phù đặc;

(b) làm đông lạnh nhanh huyền phù đặc này trong nitơ lỏng để tạo thành hạt rắn đông lạnh ở dạng hạt, giọt nhỏ hoặc chuỗi;

(c) làm khô sơ bộ các hạt rắn đông lạnh bằng cách làm bay hơi trong chân không, trong khi vẫn duy trì nhiệt độ của các hạt cao hơn nhiệt độ đông lạnh của chúng, nhờ đó tạo thành chế phẩm được làm khô sơ bộ; và

(d) làm khô lần hai chế phẩm đã được làm khô sơ bộ trong chân không cường độ đầy đủ và nhiệt độ của nguồn nhiệt là 20°C hoặc cao hơn trong khoảng thời gian đủ để làm giảm hoạt độ nước của chế phẩm đã được làm khô sơ bộ xuống 0,3 Aw hoặc thấp hơn, nhờ đó tạo ra chế phẩm theo điểm 1.

15. Phương pháp theo điểm 14, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước khử trùng một hoặc nhiều protein được thủy phân, một hoặc nhiều disacarit, một hoặc nhiều oligosacarit và một hoặc nhiều polysacarit trước bước (a).

16. Phương pháp theo điểm 14, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước cắt, nghiền vụn, xay hoặc nghiền bột chế phẩm thành bột chảy tự do.

17. Phương pháp theo điểm 16, trong đó kích cỡ hạt của bột nhỏ hơn khoảng 1000 μm .

18. Phương pháp theo điểm 14, trong đó chế phẩm chứa lượng hiệu quả của một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống để cung cấp lợi ích của vi sinh vật probiotic cho vật chủ trong sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt.

19. Phương pháp theo điểm 14, trong đó phương pháp này còn bao gồm việc tạo ra sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt nhờ chế phẩm.

20. Phương pháp theo điểm 18, trong đó sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt được chọn từ nhóm bao gồm chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi, chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ ăn dặm, thực phẩm chế biến từ ngũ cốc, thực phẩm đóng hộp dùng cho trẻ em và thực phẩm đặc biệt dùng cho mục đích y tế.

21. Phương pháp theo điểm 19, trong đó sản phẩm dùng trong chế độ ăn đặc biệt là chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi.

22. Phương pháp tạo ra chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi bằng chế phẩm theo điểm 1, bao gồm các bước:

- (a) khử trùng một hoặc nhiều protein đã được thủy phân, một hoặc nhiều disacarit, một hoặc nhiều oligosacarit, và một hoặc nhiều polysacarit;
- (b) kết hợp một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống đã được khử trùng, một hoặc nhiều protein được thủy phân đã được khử trùng, một hoặc nhiều disacarit đã được khử trùng, một hoặc nhiều oligosacarit đã được khử trùng và một hoặc nhiều polysacarit đã được khử trùng trong dung môi kiềm chứa nước để tạo thành huyền phù đặc;
- (c) làm đông lạnh nhanh huyền phù đặc này trong nitơ lỏng để tạo thành hạt rắn đông lạnh ở dạng hạt, giọt nhỏ hoặc chuỗi;
- (d) làm khô sơ bộ các hạt rắn đông lạnh bằng cách làm bay hơi trong chân không, trong khi vẫn duy trì nhiệt độ của các hạt cao hơn nhiệt độ đông lạnh của chúng, nhờ đó tạo thành chế phẩm được làm khô sơ bộ;
- (e) làm khô lần hai chế phẩm đã được làm khô sơ bộ trong chân không cường độ đầy đủ và nhiệt độ của nguồn nhiệt là 20°C hoặc cao hơn trong khoảng thời gian đủ để làm giảm hoạt độ nước của chế phẩm đã được làm khô sơ bộ xuống 0,3 Aw hoặc thấp hơn, nhờ đó tạo ra chế phẩm theo điểm 1;
- (f) cắt, nghiền vụn, xay hoặc nghiền bột chế phẩm theo điểm 1 thành bột chảy tự do, trong đó kích cỡ hạt của bột nhỏ hơn khoảng 1000 μm và bột chứa lượng hiệu quả của một hoặc nhiều vi sinh vật probiotic sống để cung cấp lợi ích của vi sinh vật probiotic cho vật chủ trong chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi; và
- (g) tạo ra chế phẩm dinh dưỡng dạng công thức dùng cho trẻ nhũ nhi nhờ bột này.

Fig.1

