



(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)



1-0036048

(51)⁷ A23K 10/20; C07K 1/16; A23L 5/00

(13) B

(21) 1-2019-03993

(22) 28/12/2017

(86) PCT/EP2017/084774 28/12/2017

(87) WO2018/122352 05/07/2018

(30) 1663478 28/12/2016 FR; PCT/FR2017/050554 10/03/2017 FR

(45) 26/06/2023 423

(43) 25/09/2019 378A

(73) YNSECT (FR)

1 Rue Pierre Fontaine, 91058 EVRY CEDEX, France

(72) LAURENT, Sophie (FR); SARTON DU JONCHAY, Thibault (FR); LEVON, Jean-Gabriel (FR); SOCOLSKY, Cecilia (FR); SANCHEZ, Lorena (FR); BEREZINA, Nathalie (FR); ARMENJON, Benjamin (FR); HUBERT, Antoine (FR); LE BERRE, Corentin (FR); KIRECHE, Adam (FR); TOKOS, Hella (FR); LORRETTE, Bénédicte (FR).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) QUY TRÌNH XỬ LÝ CÔN TRÙNG

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình xử lý côn trùng, bao gồm bước tách cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng, làm chín phần mềm của côn trùng, sau đó tách phần mềm của côn trùng thành phân đoạn dầu, phân đoạn rắn và phân đoạn nước. Sáng chế còn đề cập đến bột dùng trong thực phẩm, cụ thể là bột, phân đoạn rắn và phân đoạn nước thu được bằng phương pháp xử lý côn trùng theo sáng chế.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình (hoặc phương pháp) xử lý côn trùng. Sáng chế còn đề cập đến bột, cụ thể là bột thu được bởi quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế, và việc sử dụng các bột này trong dinh dưỡng, cụ thể là trong dinh dưỡng động vật.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các bột được điều chế từ các động vật từ lâu đã được sử dụng trong dinh dưỡng động vật.

Một trong số các bột được sử dụng phổ biến nhất là bột cá, là một trong số các nguồn protein chính trong dinh dưỡng động vật. Bột cá rất giàu các protein động vật (giàu axit amin loại lysin và methionin mà có thể được tiêu hoá một cách dễ dàng. Đây là kết quả của việc nhu cầu gia tăng kèm theo nguồn cung cấp bị hạn chế, cụ thể là việc tăng giá đáng kể. Do đó, rất cần có các nguồn thay thế khác có chất lượng cao và, tốt nhất là các protein có thể tái tạo mà có thể được sử dụng trong dinh dưỡng động vật.

Trong một vài năm qua, việc sử dụng bột được điều chế từ côn trùng được gợi ý làm nguồn thay thế cho bột cá.

Bột côn trùng tạo ra các nguồn protein thay thế tự nhiên và triển vọng khả năng có thể sản xuất hàng loạt với dấu ấn sinh thái tối thiểu. Cụ thể, các bộ cánh cứng nhất định như *Tenebrio molitor*, có lợi thích hợp để sản xuất hàng loạt quy mô lớn.

Ví dụ, công bố đơn quốc tế WO2016/108037 mô tả cụ thể bột bộ cánh cứng bao gồm ít nhất 67% khối lượng protein và ít nhất 5% khối lượng kitin, có thể được sử dụng trong dinh dưỡng động vật.

Trong ngữ cảnh của đơn này, “kitin có nghĩa là loại dẫn xuất kitin bất kỳ, tức là loại dẫn xuất polysacarit bất kỳ bao gồm đơn vị N-axetyl-glucosamin và đơn vị D-glucosamin, cụ thể là các copolyme kitin-polypeptit (đôi khi được gọi là “composit kitin-polypeptit”). Các polyme này cũng có thể được kết hợp với chất tạo màu, thường là loại

melanin.

Đã biết rằng kitin là polyme tổng hợp phổ biến thứ hai trong thế giới sinh vật sống, sau xenluloza. Thực tế, kitin được tổng hợp bởi nhiều loài trong thế giới sinh vật sống: nó cấu thành một phần nên bộ xương ngoài của động vật giáp xác và côn trùng, và vách bên bao quanh và bảo vệ khỏi nấm. Cụ thể hơn, ở côn trùng, kitin như vậy cấu thành nên 3 đến 60% bộ xương ngoài của chúng.

Tuy nhiên, kitin thường được coi là hợp chất khó tiêu hóa đối với các động vật nhất định.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Do đó, cần có các bột được điều chế từ côn trùng mà có thể có hàm lượng kitin giảm.

Các tác giả sáng chế đã tiến hành nghiên cứu để nhấn mạnh rằng có khả năng thu được các bột như vậy, khi các bột này thu được từ các côn trùng được điều chế theo phương pháp xử lý cụ thể.

Do đó, sáng chế đề cập đến quy trình xử lý côn trùng bao gồm các bước sau:

- tách các lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng, sau đó
- tách phần mềm của côn trùng thành phân đoạn chất béo, phân đoạn rắn và phân đoạn nước.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Các đặc điểm và ưu điểm khác của sáng chế sẽ là hiển nhiên từ phần ví dụ dưới đây, được đưa ra bằng cách minh họa, cùng với việc viện dẫn tới các hình vẽ:

- Fig. 1 là biểu đồ minh họa quy trình xử lý côn trùng chi tiết theo sáng chế;
- Fig. 2 bao gồm hai hình ảnh của phần mềm, một mặt ở đầu ra của thiết bị phản ứng sau bước làm chín (Fig. A) và ảnh còn lại là sau khi ly tâm để tách các pha (Fig. B);
- Fig. 3 là đường cong hiệu chuẩn được sử dụng để tiến hành thử nghiệm trehaloza;
- Fig. 4 là biểu đồ minh họa hàm ẩm của phân đoạn chất béo thu được bằng quy trình theo sáng chế và của phân đoạn chất béo thu được bằng cách quy trình so sánh;

- Fig. 5 là biểu đồ minh họa hàm lượng chất lắng của phân đoạn chất béo thu được bằng quy trình theo sáng chế và của phân đoạn chất béo thu được bằng cách quy trình so sánh;
- Fig. 6 là biểu đồ minh họa giá trị peroxit của phân đoạn chất béo thu được bằng quy trình theo sáng chế và của phân đoạn chất béo thu được bằng quy trình so sánh;
- Fig. 7 là biểu đồ minh họa hàm lượng chất khô của phân đoạn nước thu được bằng quy trình theo sáng chế và của phân đoạn nước thu được bằng cách quy trình so sánh;
- Fig. 8 là biểu đồ minh họa hàm lượng chất lắng của phân đoạn nước thu được bằng quy trình theo sáng chế và của phân đoạn nước thu được bằng quy trình so sánh;
- Fig. 9 là biểu đồ minh họa tỷ lệ phần trăm của nhũ tương có mặt trong phân đoạn nước thu được bằng quy trình theo sáng chế và trong phân đoạn nước thu được bằng quy trình so sánh;
- Fig. 10 là biểu đồ minh họa tỷ lệ phần trăm (là tỷ lệ phần trăm của chất khô) của lipit có mặt trong phân đoạn nước thu được bằng quy trình theo sáng chế và trong phân đoạn nước thu được bằng cách quy trình so sánh;
- Fig. 11 là biểu đồ minh họa khả năng tiêu hóa pepsin của các protein của phân đoạn nước thu được bằng quy trình theo sáng chế và của các protein của phân đoạn nước thu được bằng cách quy trình so sánh;
- Fig. 12 là biểu đồ minh họa hàm lượng trehalosa của phân đoạn nước thu được bằng quy trình theo sáng chế và của phân đoạn nước thu được bằng cách quy trình so sánh;
- Fig. 13 bao gồm ba hình ảnh minh họa màu sắc của phân đoạn nước thu được bằng quy trình theo sáng chế và của phân đoạn nước thu được bằng cách quy trình so sánh;

- Fig. 14 là biểu đồ minh họa hàm lượng trehaloza của phân đoạn rắn thu được bằng quy trình theo sáng chế và của phân đoạn rắn thu được bằng cách quy trình so sánh;
- Fig. 15 là biểu đồ minh họa tỷ lệ phần trăm của phần hòa tan trong nước của phân đoạn rắn thu được bằng quy trình theo sáng chế và của phân đoạn rắn thu được bằng cách quy trình so sánh;
- Fig. 16 là biểu đồ minh họa tỷ lệ phần trăm của phần hòa tan trong pha động, của phân đoạn rắn thu được bằng quy trình theo sáng chế và của phân đoạn rắn thu được bằng cách quy trình so sánh; và
- Fig. 17 là biểu đồ minh họa mức phân bố kích cỡ của các protein trong phân đoạn rắn thu được bằng quy trình theo sáng chế và trong phân đoạn rắn thu được bằng cách quy trình so sánh.

Mô tả chi tiết sáng chế

“Côn trùng” có nghĩa là côn trùng ở giai đoạn phát triển bất kỳ, như giai đoạn trưởng thành, ấu trùng hoặc nhộng.

Lớp cutin là lớp ngoài (hoặc bộ xương ngoài) được tiết bởi biểu bì của côn trùng. Nói chung, nó được tạo thành bởi ba lớp: lớp cutin mặt, lớp ngoại cutin và lớp nội cutin.

“Phần mềm” có nghĩa là phần thịt (cụ thể là bao gồm cơ và nội tạng) và phần dịch (cụ thể là bao gồm dịch thể, nước và máu côn trùng (haemolymph)) của côn trùng. Cụ thể, phần mềm không cấu thành nên phần dịch của côn trùng.

Có lợi nếu, côn trùng được sử dụng trong quy trình theo sáng chế ở giai đoạn ấu trùng.

Tốt hơn, nếu côn trùng được sử dụng trong quy trình theo sáng chế có thể ăn được.

Có lợi nếu, côn trùng được ưu tiên để tiến hành quy trình theo sáng chế, ví dụ, là bộ Cánh cứng, bộ Hai cánh, bộ Côn trùng cánh vảy, bộ Cánh bằng, bộ Cánh thẳng, bộ Cánh màng, bộ Cánh gián, bộ Cánh nửa, bộ Cánh khác, bộ Cánh phù du và bộ Cánh dài, tốt hơn là bộ Cánh cứng, bộ Hai cánh, bộ Cánh thẳng, bộ Côn trùng cánh vảy hoặc tổ hợp của chúng, còn ưu tiên hơn nữa là bộ Cánh cứng.

Bộ cánh cứng được ưu tiên sử dụng trong quy trình theo sáng chế thuộc các họ là

họ Quy, phân họ Melolonthidae, họ Bọ cánh cứng, họ Bọ rùa, họ Xén tóc, họ Chân chạy, họ Bọ bọ cũi giả, họ Bọ hung, họ Bọ vôi vôi, hoặc tổ hợp của chúng.

Tốt hơn nữa, chúng là các bọ cánh cứng sau: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, *Zophobas morio*, *Tenebrio obscurus*, *Tribolium castaneum* và *Rhynchophorus ferrugineus*, hoặc tổ hợp của chúng.

Phân đoạn chất béo có hàm lượng lipit lớn hơn hoặc bằng 90%, tốt hơn là lớn hơn hoặc bằng 95%, còn tốt hơn nữa là lớn hơn hoặc bằng 99% khối lượng so với tổng khối lượng của phân đoạn chất béo.

Cần lưu ý rằng, trong ngữ cảnh của đơn này, và trừ khi có chỉ dẫn khác, khoảng các giá trị được đưa ra được hiểu là bao hàm.

Phân đoạn rắn có hàm lượng chất khô nằm trong khoảng từ 45 đến 65% khối lượng so với tổng khối lượng của phân đoạn rắn.

Phân đoạn nước có hàm lượng hydrat cacbon nằm trong khoảng từ 15 đến 40% khối lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 20 đến 30% khối lượng so với tổng khối lượng khô của phân đoạn nước.

Ở giai đoạn cuối của bước tách phần mềm, và trước khi cô đặc tùy ý chúng, phân đoạn nước có hàm lượng chất khô nhỏ hơn hoặc bằng 20% khối lượng, tốt hơn là nhỏ hơn hoặc bằng 15% khối lượng so với tổng khối lượng của phân đoạn nước.

Theo phương án thứ nhất, việc tách lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng được tiến hành bằng cách sử dụng thiết bị nén lọc.

Thiết bị nén lọc bao gồm các tấm vải lọc và có thể tách theo nguyên lý lọc áp suất.

Theo phương án thứ hai, việc tách lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng được tiến hành bằng cách sử dụng máy tách băng chuyên.

“Máy tách băng chuyên” có nghĩa là thiết bị có thể tách phần rắn ra khỏi phần mềm của sản phẩm, và bao gồm băng chuyên vắt (máy lọc ép băng chuyên) và trống đục lỗ.

Việc tách lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng được mô tả chi tiết hơn ở bước 2 của quy trình xử lý côn trùng chi tiết dưới đây theo sáng chế.

Việc tách lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng này, cụ thể, có thể tách kitin ra khỏi phần mềm. Thực tế, lớp cutin thu được ở giai đoạn cuối của bước tách này có hàm

lượng kitin cao nằm trong khoảng từ 10 đến 30% khối lượng so với tổng khối lượng của cutin, như được chỉ ra dưới đây.

Cụ thể, bước tách lớp cutin ra khỏi phần mềm được tiến hành mà không cần bước nghiền côn trùng trước đó bất kỳ, cụ thể là ở dạng các hạt, được tiến hành.

Tương tự, việc tách phần mềm của côn trùng thành phân đoạn chất béo, phân đoạn rắn và phân đoạn nước được mô tả chi tiết hơn ở bước 4 của quy trình xử lý côn trùng chi tiết dưới đây theo sáng chế.

Quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế có thể bao gồm bước làm chết trước bước tách lớp cutin ra khỏi phần mềm.

Có lợi nếu, sau bước làm chết 1, côn trùng được sử dụng trực tiếp để tiến hành bước 2 tách các lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng, tức là côn trùng không cần phải xử lý bất kỳ, như nghiền, làm đông hoặc loại nước giữa bước 1 và bước 2.

Bước làm chết này được mô tả chi tiết hơn ở bước 1 của quy trình xử lý côn trùng chi tiết dưới đây theo sáng chế.

Tùy ý, quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế cũng bao gồm bước làm chín phần mềm của côn trùng, giữa bước tách lớp cutin ra khỏi phần mềm và bước tách phần mềm của côn trùng thành phân đoạn chất béo, phân đoạn rắn và phân đoạn nước.

“Bước làm chín phần mềm của côn trùng” có nghĩa cụ thể hơn là bước trong đó phần mềm của côn trùng được khuấy trộn.

Bước này được mô tả chi tiết hơn ở bước 3 của quy trình xử lý côn trùng chi tiết dưới đây theo sáng chế.

Cụ thể, do đó quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế có thể bao gồm các bước sau:

- tách các lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng,
- làm chín phần mềm của côn trùng, sau đó
- tách phần mềm của côn trùng thành phân đoạn chất béo, phân đoạn rắn và phân đoạn nước.

Tùy ý, quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế bao gồm bước cô đặc phân đoạn nước để thu được phân đoạn nước đã được cô đặc.

Bước này được mô tả chi tiết hơn ở bước 5 của quy trình xử lý côn trùng chi tiết

dưới đây theo sáng chế.

Tuỳ ý, quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế cũng bao gồm bước trộn phân đoạn rắn:

- với toàn bộ hoặc một phần phân đoạn nước đã được cô đặc; và/hoặc
- toàn bộ hoặc một phần lớp cutin,

để thu được hỗn hợp.

Bước này được mô tả chi tiết hơn ở bước 6 của quy trình xử lý côn trùng chi tiết dưới đây theo sáng chế.

Tốt hơn, nếu quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế bao gồm bước làm khô phân đoạn rắn hoặc hỗn hợp để lần lượt thu được phân đoạn rắn khô hoặc hỗn hợp khô.

Bước này được mô tả chi tiết hơn ở bước 7 của quy trình xử lý côn trùng chi tiết dưới đây theo sáng chế.

Tốt hơn nữa, quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế cũng bao gồm bước nghiền phân đoạn rắn khô hoặc hỗn hợp khô.

Bước này được mô tả chi tiết hơn ở bước 8 của quy trình xử lý côn trùng chi tiết dưới đây theo sáng chế.

Cụ thể hơn, quy trình theo sáng chế được tiến hành mà không cần thiết phải bổ sung dung môi, như nước. Cụ thể, không cần pha loãng phần mềm trong quy trình theo sáng chế.

Theo phương án được ưu tiên về quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế, sau đó là quy trình điều chế bột, và cụ thể là bột côn trùng, và bao gồm các bước sau:

- i) làm chết côn trùng;
- ii) tách các lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng;
- iii) tuỳ ý, làm chín phần mềm của côn trùng;
- iv) tách phần mềm của côn trùng thành phân đoạn rắn, phân đoạn nước và phân đoạn chất béo;
- v) tuỳ ý, cô đặc phân đoạn nước để thu được phân đoạn nước đã được cô đặc;
- vi) tuỳ ý, trộn phân đoạn nước đã được cô đặc và/hoặc lớp cutin với phân đoạn rắn để thu được hỗn hợp;

- vii) làm khô phân đoạn rắn thu được ở bước iv) hoặc hỗn hợp thu được ở bước vi) để thu được phân đoạn rắn khô hoặc hỗn hợp khô; và
- viii) nghiền phân đoạn rắn khô hoặc hỗn hợp khô thu được ở bước vii).

Quy trình xử lý côn trùng chi tiết theo sáng chế

• Bước 1: Làm chết côn trùng

Bước làm chết 1 này có lợi nếu có thể được tiến hành bằng cách sốc nhiệt, như bằng cách đun sôi hoặc bằng cách chần. Bước 1 này có thể làm chết côn trùng đồng thời giảm được tải lượng vi khuẩn (giảm nguy cơ phá hủy và nguy cơ đối với sức khỏe) và bất hoạt các nội enzym của côn trùng mà chúng có thể khởi phát sự tự phân giải, và do đó làm chín vàng chúng nhanh chóng.

Để đun sôi, côn trùng, tốt hơn là ấu trùng, được đun sôi như vậy bằng nước trong 2 đến 20 phút, tốt hơn là trong 5 đến 15 phút. Tốt hơn, nếu nước ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 87 đến 100°C, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 92 đến 95°C.

Lượng nước đưa vào trong quá trình đun sôi được xác định là như sau: tỷ lệ của thể tích của nước tính theo mL trên khối lượng tính theo g côn trùng tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,3 đến 10, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 5, còn tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,7 đến 3, còn tốt hơn nữa là khoảng 1.

Để chần, côn trùng, tốt hơn là ấu trùng, được chần bằng nước hoặc bằng hơi (các vòi hoặc giàn hơi) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80 đến 105°C, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 87 đến 105°C, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 95 đến 100°C, còn tốt hơn nữa là bằng 98°C hoặc bằng nước ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 90 đến 100°C, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 92 đến 95°C (bằng các vòi phun) hoặc theo phương thức kết hợp (nước + hơi) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80 đến 130°C, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 90 đến 120°C, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 95 đến 105°C, còn tốt hơn nữa là bằng 98°C. Khi côn trùng chỉ được chần bằng hơi, thì có lợi nếu việc chần này được tiến hành trong máy chần hơi áp lực. Thời gian lưu trú trong buồng chần nằm trong khoảng từ 5 giây đến 15 phút, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1 đến 7 phút.

Có lợi nếu, sau bước làm chết 1, côn trùng được sử dụng trực tiếp để tiến hành bước 2 tách các lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng, tức là côn trùng không cần phải xử

lý bất kỳ, như nghiền, làm đông hoặc loại nước giữa bước 1 và bước 2.

• **Bước 2: Tách các lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng**

Mục đích của bước 2 là nhằm tách lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng.

Việc tách lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng có thể được tiến hành bằng cách sử dụng loại máy tách thích hợp bất kỳ.

Theo phương án thứ nhất, việc tách lớp cutin ra khỏi phần mềm được tiến hành bằng cách sử dụng thiết bị nén lọc.

Có lợi nếu, thiết bị nén lọc được sử dụng trong quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế là thiết bị nén lọc băng chuyền.

Thiết bị nén lọc băng chuyền bao gồm hai băng chuyền vắt đục lỗ (còn được gọi là “các tấm vải lọc”). Côn trùng được đặt giữa hai băng chuyền vắt đục lỗ để làm cho phần mềm của côn trùng đi qua, bởi áp suất, bằng cách đục lỗ băng chuyền vắt, trong khi đó phần rắn của côn trùng vẫn nằm giữa 2 băng chuyền vắt đục lỗ này.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có khả năng xác định đường kính của các lỗ đục của băng chuyền vắt cũng như áp suất cần dùng, để có thể tách lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng.

Ví dụ, có thể đề cập đến thiết bị nén lọc băng chuyền (hoặc “nén băng chuyền”) do Flottweg cung cấp, hoặc cũng các thiết bị nén lọc băng chuyền do ATR Creations cung cấp.

Theo phương án thứ hai, việc tách lớp cutin ra khỏi phần mềm được tiến hành bằng cách sử dụng máy tách băng chuyền.

Ví dụ, máy tách băng chuyền có thể bao gồm băng chuyền vắt và trống đục lỗ, băng chuyền vắt bao quanh ít nhất một phần trống đục lỗ.

Băng chuyền vắt làm cho côn trùng được vận chuyển và được áp vào chống lại trống đục lỗ để làm cho phần mềm của côn trùng đi qua, bởi áp suất, qua các lỗ của trống, trong khi đó phần rắn của côn trùng (các lớp cutin) vẫn nằm bên ngoài trống này.

Sau đó, các lớp cutin có thể được thu hồi bằng cách sử dụng lưới dao nạo.

Ví dụ có thể đề cập đến máy tách băng chuyền do Baader cung cấp, như các máy tách băng chuyền 601 đến 607 (“máy tách mềm 601 đến 607”) hoặc cũng như máy tách

băng chuyên SEPAmatic® do BFD Corporation cung cấp (dao động từ 410 đến 4000 V).

Có lợi nếu, đường kính của các lỗ trống nằm trong khoảng từ 0,5 đến 3 mm, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1 đến 2 mm.

Liên quan tới áp suất, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có khả năng xác định áp suất cần dùng, cho phép tách lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng.

Bước tách côn trùng này là khác so với bước ép thông thường có thể được tiến hành, ví dụ, bằng cách ép một vít hoặc ép hai vít ở chỗ nó cho phép tách (sạch) phần mềm và lớp cutin của côn trùng mà không tách phần dịch ra khỏi phân đoạn rắn.

Có lợi nếu, việc tách lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng được tiến hành bằng cách sử dụng máy tách băng chuyên.

Lớp cutin thu được ở bước 2 bao gồm khoảng từ 10 đến 30%, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 15 đến 25% khối lượng kitin, so với tổng khối lượng khô của các lớp cutin.

Hàm lượng kitin được xác định bằng cách chiết. Ví dụ, phương pháp xác định hàm lượng kitin mà có thể được sử dụng là phương pháp AOAC 991.43.

Hơn nữa, lớp cutin bao gồm nhỏ hơn 25%, tốt hơn là nhỏ hơn 10%, tốt hơn nữa là nhỏ hơn 5%, còn tốt hơn nữa là nhỏ hơn 3% khối lượng lipit so với tổng khối lượng khô của lớp cutin.

Các phương pháp xác định hàm lượng chất béo (lipit) là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Ví dụ và theo cách được ưu tiên, hàm lượng này sẽ được xác định theo phương pháp theo tiêu chuẩn châu Âu EC Regulation 152/2009.

Trong bản mô tả này, khi không có ngày tháng được chỉ rõ trong quy định, tiêu chuẩn hoặc hướng dẫn, thì quy định, tiêu chuẩn hoặc hướng dẫn này có hiệu lực vào ngày nộp.

Ngoài ra, lớp cutin bao gồm khoảng từ 55 đến 90%, có lợi nếu nằm trong khoảng từ 60 đến 85%, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 65 đến 80% khối lượng protein so với tổng khối lượng khô của các lớp cutin.

Trong ngữ cảnh của đơn này, “các protein” có nghĩa là lượng của các protein thô. Việc định lượng các protein thô là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Ví dụ, phương pháp Dumas hoặc phương pháp Kjeldahl có thể được đưa ra. Tốt

hơn, nếu phương pháp Kjeldahl được sử dụng.

Tuy nhiên, cần lưu ý rằng phương pháp này dựa vào xác định hàm lượng nitơ. Hiện nay, kitin chứa nitơ với hàm lượng khoảng 8%. Do đó, hàm lượng nitơ của kitin được suy ra từ hàm lượng nitơ đã được xác định trước khi tiến hành quá trình chuyển hoá để có thể thu được hàm lượng protein.

Lớp cutin bao gồm khoảng từ 0,5 đến 30%, có lợi nếu nằm trong khoảng từ 1 đến 20%, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5 đến 15% khối lượng hydrat cacbon so với tổng khối lượng khô của các lớp cutin.

Hàm lượng hydrat cacbon được tính toán bằng cách xác định mức chênh lệch hydrat cacbon. Theo phương pháp này, hàm lượng hydrat cacbon là bằng hàm lượng chất khô mà đã trừ đi hàm lượng tro, protein và lipit.

Ngoài ra, tốt hơn là lớp cutin bao gồm ít nhất 0,08% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 0,1% khối lượng, còn tốt hơn nữa là ít nhất 0,12% khối lượng trehaloza so với tổng khối lượng khô của các lớp cutin.

Lượng trehaloza được xác định bằng cách phân tích GC-MS. Phân tích này được mô tả chi tiết hơn trong Ví dụ 1 dưới đây.

Phần mềm thu được ở bước 2 bao gồm khoảng từ 20 đến 50% khối lượng lipit, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 30 đến 40% khối lượng lipit so với tổng khối lượng khô của phần mềm.

Ngoài ra, phần mềm bao gồm ít nhất 45%, tốt hơn là ít nhất 48%, tốt hơn nữa là ít nhất 50% khối lượng protein so với tổng khối lượng khô của phần mềm.

- **Bước 3: Làm chín phần mềm của côn trùng**

Sau đó, phần mềm tùy ý được khuấy trong bể.

Có lợi nếu, việc làm chín được tiến hành trong khoảng thời gian từ 15 phút đến 3 giờ, tốt hơn là trong 1 giờ.

Có lợi nếu, việc làm chín được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 65 đến 100°C, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 85 đến 100°C, tốt hơn nữa ở nhiệt độ xấp xỉ 90°C.

Bước này được tiến hành để tạo điều kiện thuận lợi cho việc tách phần mềm của côn trùng ở bước 4 dưới đây.

Tốt hơn, nếu quy trình theo sáng chế bao gồm bước này.

Cụ thể, không cần thiết phải pha loãng phần mềm của côn trùng vào dung môi như nước ở bước này.

Có lợi nếu, bước làm chín này được tiến hành ngay sau bước tách phần mềm thành phân đoạn rắn, phân đoạn nước và phân đoạn chất béo.

Cụ thể, không cần bước pha loãng trong dung môi như nước và/hoặc gia nhiệt để tiến hành tách thành ba phân đoạn.

Trái lại, như được thể hiện trên Ví dụ 3, bước pha loãng như vậy ảnh hưởng tới:

- ngăn ngừa việc tách hiệu quả ba phân đoạn (rắn, nước và chất béo),
- làm giảm các đặc tính của ba phân đoạn, và
- làm tăng đáng kể chi phí.

• **Bước 4: Tách phần mềm thành phân đoạn rắn, phân đoạn nước và phân đoạn chất béo**

Mục đích của bước này là nhằm thu hồi ba phân đoạn từ phần mềm của côn trùng thu được ở bước 2 hoặc 3, tức là phân đoạn rắn, phân đoạn nước và phân đoạn chất béo.

Theo phương án thứ nhất, bước tách phần mềm này được tiến hành ở hai bước phụ.

Ở bước phụ thứ nhất, phần mềm của côn trùng được lắng gạn bằng cách sử dụng thiết bị lắng gạn 2 pha để thu được phân đoạn rắn và phân đoạn lỏng.

Ở bước phụ thứ hai, phân đoạn lỏng được ly tâm để thu hồi phân đoạn chất béo và phân đoạn nước.

Có lợi nếu, ở bước phụ thứ hai này, máy ly tâm kiểu đĩa được sử dụng.

Theo phương án thứ hai của bước 4, phần mềm của côn trùng được lắng gạn bằng cách sử dụng thiết bị lắng gạn 3 pha để trực tiếp thu được phân đoạn nước, phân đoạn chất béo và phân đoạn rắn.

Các thiết bị lắng gạn 3 pha thích hợp là, ví dụ, máy ly tâm ba pha[®] do Flottweg cung cấp, hoặc thiết bị lắng gạn 3 pha do GEA cung cấp, như thiết bị lắng gạn CA 225-03-33.

Có lợi nếu, việc tách phần mềm được tiến hành theo phương án thứ hai.

Thực tế, việc sử dụng thiết bị lắng gạn 3 pha có thể khiến cho việc tách các pha đặc biệt hữu hiệu. Cụ thể hơn, phân đoạn rắn thu được có hàm lượng chất khô lớn, phân đoạn

nước bao gồm một vài chất lỏng không hòa tan (có nguồn gốc từ phân đoạn rắn) và dầu, và phân đoạn chất béo bao gồm một vài chất lỏng không hòa tan (có nguồn gốc từ phân đoạn rắn) và nước.

- **Bước 5: Cô đặc phân đoạn nước**

Phân đoạn nước thu được ở bước 4 tùy ý được cô sau đó, để thu được phân đoạn nước đã được cô đặc.

Có lợi nếu, việc cô đặc được tiến hành bằng cách bay hơi.

Có lợi nếu, việc làm bay hơi được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30 đến 100°C, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 60 đến 80°C.

Tốt hơn, nếu việc làm bay hơi được tiến hành ở áp suất nằm trong khoảng từ 50 đến 1013 mbar, tốt hơn là ở 1013 mbar.

Tốt hơn nếu việc bay hơi được tiến hành trong khoảng thời gian từ 5 đến 20 phút.

Tốt hơn nếu việc cô đặc được tiến hành bằng cách sử dụng thiết bị làm bay hơi kiểu màng rơi, thiết bị làm bay hơi kiểu đĩa màng tăng dần, hoặc thiết bị làm bay hơi kiểu màng mỏng.

Loại thiết bị tiêu chuẩn này có thể được sử dụng mà không gặp phải các vấn đề đang vướng mắc, cụ thể là do lượng nhỏ của các chất lỏng có mặt trong phân đoạn nước.

Nói chung, các phân đoạn nước không thể được cô đặc trên 42% chất khô, vì chúng có xu hướng tạo gel (canh dịch ép) ở nồng độ lớn hơn nồng độ này.

Trong trường hợp của sáng chế, phân đoạn nước bao gồm các protein hòa tan có kích cỡ nhỏ (ít nhất 45%, tốt hơn là ít nhất 60% protein hòa tan của phân đoạn nước có kích thước nhỏ hơn 550 g/mol, như được mô tả chi tiết hơn dưới đây), làm cho nó tránh được hiện tượng tạo gel và từ đó thu được phân đoạn nước có nồng độ chất khô cao (lên tới 70%) và có độ nhớt nhỏ hơn 30000 cPs (xentipoa).

“Các protein hòa tan” có nghĩa là, trong số các protein thô, các protein hòa tan trong dung dịch nước có độ pH nằm trong khoảng từ 6 đến 8, có lợi nếu nằm trong khoảng từ 7,2 đến 7,6.

Khi thuật ngữ “protein” được sử dụng trong đơn này, thì nó được dùng để chỉ các protein thô.

Tốt hơn, nếu dung dịch nước là dung dịch đậm độ pH nằm trong khoảng từ 6 đến 8, có lợi nếu nằm trong khoảng từ 7,2 đến 7,6. Tốt hơn, nếu dung dịch đậm là dung dịch đậm phosphat NaCl, độ pH của nó bằng 7,4 +/- 0,2.

Ngoài ra, bước cô đặc phân đoạn nước là có lợi gấp đôi, vì nó có thể:

- tiết kiệm hơi: khi không có bước cô đặc 5, nước có thể bị bay hơi trong bước làm khô 7 được mô tả dưới đây, bằng thiết bị sấy mà mức tiêu thụ hơi của nó lớn hơn so với mức tiêu thụ hơi của thiết bị cô đặc như được mô tả trên đây; và
- tránh được sự nhiễm vi sinh vật, do giảm thể tích và áp suất thẩm lọc do nồng độ cao của chất khô của phân đoạn nước đã được cô đặc.

- **Bước 6: Trộn phân đoạn nước đã được cô đặc và/hoặc lớp cutin với phân đoạn rắn**

Toàn bộ hoặc một phần lớp cutin thu được ở bước 2 và/hoặc toàn bộ hoặc một phần phân đoạn nước đã được cô đặc thu được ở bước 5 có thể tùy ý được trộn một phần hoặc toàn bộ với phân đoạn rắn thu được ở bước 4 để thu được hỗn hợp.

Có lợi nếu, hỗn hợp được làm đồng nhất để tạo điều kiện cho việc xử lý tiếp theo.

Máy trộn có thể được sử dụng, ví dụ, là máy trộn vít hình nón như máy trộn do Vrieeco-Nauta® cung cấp, hoặc máy khuấy quả lắc như máy khuấy do PMS cung cấp.

Cần lưu ý rằng tính theo trung bình, đối với kilogram phân đoạn rắn thu được, thu được từ 500 đến 650g lớp cutin, ví dụ xấp xỉ 550 g, và phân đoạn nước từ 250 đến 350g, ví dụ xấp xỉ 300 g.

- **Bước 7: Làm khô phân đoạn rắn thu được ở bước 4 hoặc hỗn hợp thu được ở bước 6**

Phân đoạn rắn thu được ở bước 4 hoặc hỗn hợp thu được ở bước 6 có thể được làm khô để thu được phân đoạn rắn khô hoặc hỗn hợp khô.

Có lợi nếu, việc làm khô được tiến hành bằng cách sử dụng thiết bị sấy kiểu đĩa, thiết bị sấy hình ống, thiết bị sấy kiểu cánh quạt, thiết bị sấy kiểu tia, thiết bị sấy lớp mỏng hoặc thiết bị sấy phun.

Tốt hơn, nếu việc làm khô được tiến hành bằng cách sử dụng thiết bị sấy kiểu đĩa hoặc thiết bị sấy hình ống.

Các thiết bị sấy hình ống thích hợp, ví dụ, là thiết bị sấy do Tummers cung cấp (Simon Dryers Technology).

Các thiết bị sấy kiểu đĩa thích hợp, ví dụ, là thiết bị sấy do Haarslev cung cấp.

Việc làm khô có thể được tiến hành trong khoảng từ 1 đến 10 giờ, tốt hơn là trong khoảng từ 3 đến 5 giờ.

Có lợi nếu, việc làm khô được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 225°C, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 80 đến 100°C.

Tốt hơn, nếu việc làm bay hơi được tiến hành ở áp suất khí quyển.

• **Bước 8: Nghiền phân đoạn rắn khô hoặc hỗn hợp khô thu được ở bước**

7

Sau khi làm khô, việc nghiền có thể được tiến hành và bột thu được.

“Bột” có nghĩa là chế phẩm ở dạng hạt.

Tốt hơn, nếu bột theo sáng chế là bột côn trùng, tức là bột được điều chế chỉ từ côn trùng và tùy ý nước.

Máy xay như máy nghiền búa hoặc máy nghiền nón (như máy nghiền nón Kek do Kemutec cung cấp) có thể được sử dụng chẳng hạn.

Có lợi nếu, ở giai đoạn cuối của việc nghiền này, kích cỡ của các hạt nhỏ hơn 0,5 cm (cỡ hạt lớn nhất có thể quan sát được bằng cách sử dụng kính hiển vi), tốt hơn là khoảng 1 mm. Cụ thể hơn, cỡ hạt nằm trong khoảng từ 300 µm đến 1 mm, còn tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 500 đến 800 µm.

Khi bột được nghiền thành cỡ hạt có thể chấp nhận được để dùng cho người hoặc dinh dưỡng động vật, nó có thể được gọi là “bột” và cụ thể là “bột côn trùng”. “Cỡ hạt có thể chấp nhận được để dùng cho người hoặc dinh dưỡng động vật” có nghĩa là cỡ hạt nằm trong khoảng từ 100 µm đến 1,5 mm, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 300 µm đến 1 mm, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 500 đến 800 µm.

Theo bước 5 và/hoặc 6 tùy ý được tiến hành hoặc không, các bột khác nhau có thể thu được, tức là:

- bột chỉ thu được từ phân đoạn rắn (bước 6 không được tiến hành);
- bột thu được từ việc trộn phân đoạn rắn và toàn bộ hoặc một phần lớp cutin;

- bột thu được từ việc trộn phân đoạn rắn và toàn bộ hoặc một phần phân đoạn nước đã được cô đặc;
- bột thu được từ việc trộn phân đoạn rắn, toàn bộ hoặc một phần lớp cutin và toàn bộ hoặc một phần phân đoạn nước đã được cô đặc.

Sáng chế còn đề cập đến các sản phẩm có nguồn gốc từ quy trình theo sáng chế.

Sáng chế còn đề cập đến phân đoạn rắn có thể thu được bởi quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế.

Sáng chế còn đề cập đến phân đoạn rắn bao gồm ít nhất 71% khối lượng protein và nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2% khối lượng kitin, tỷ lệ phần trăm khối lượng này được tính theo tổng khối lượng khô của phân đoạn rắn.

Tốt hơn, nếu phân đoạn rắn bao gồm ít nhất 73% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 74% khối lượng, còn tốt hơn nữa là ít nhất 75% khối lượng protein, tỷ lệ phần trăm khối lượng này được tính theo tổng khối lượng khô của phân đoạn rắn.

Có lợi nếu, phân đoạn rắn bao gồm khoảng từ 0,5 đến 1,7% khối lượng kitin so với tổng khối lượng khô của phân đoạn rắn.

Có lợi nếu, phân đoạn rắn bao gồm khoảng từ 5 đến 17% khối lượng lipid, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10 đến 15% khối lượng lipid so với tổng khối lượng khô của phân đoạn rắn.

Tốt hơn, nếu phân đoạn rắn bao gồm khoảng từ 1 đến 10% khối lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 6% khối lượng tro so với tổng khối lượng khô của phân đoạn rắn.

Phương pháp xác định hàm lượng tro là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Tốt hơn, nếu hàm lượng tro được xác định theo phương pháp dựa theo tiêu chuẩn châu Âu EC Regulation 152/2009 vào ngày 27 tháng 1 năm 2009.

Ngoài ra, phân đoạn rắn bao gồm tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5 đến 15% khối lượng, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 7 đến 13% khối lượng hydrat cacbon so với tổng khối lượng khô của phân đoạn rắn.

Cụ thể hơn, phân đoạn rắn bao gồm tốt hơn là ít nhất 0,2% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 0,3% khối lượng, còn tốt hơn nữa là ít nhất 0,35% khối lượng, còn tốt hơn nữa là

ít nhất 0,5% khối lượng và còn tốt hơn nữa là ít nhất 0,7% khối lượng trehaloza so với tổng khối lượng khô của phân đoạn rắn.

Hơn nữa, khả năng tiêu hóa của protein ở người và động vật tùy thuộc đáng kể vào kích cỡ của các protein. Trong dinh dưỡng động vật, thông thường làm giảm kích cỡ của các protein để thuận tiện cho quá trình tiêu hóa bởi động vật. Việc giảm kích cỡ của các protein này thường được tiến hành bằng các quy trình thủy phân (ví dụ, bằng enzym), việc thực hiện các quy trình này đặc biệt tốn kém.

Phân đoạn rắn bao gồm các protein hòa tan mà kích cỡ của nó được giảm thích hợp để thuận tiện cho quá trình tiêu hóa bởi động vật.

Có lợi nếu, ít nhất 75%, tốt hơn là ít nhất 80%, tốt hơn nữa là ít nhất 85% protein hòa tan của phân đoạn rắn có kích thước nhỏ hơn hoặc bằng 12400 g/mol.

Cụ thể hơn, ít nhất 55%, tốt hơn là ít nhất 60%, tốt hơn nữa là ít nhất 65% protein hòa tan của phân đoạn rắn có kích thước nhỏ hơn 550 g/mol.

Sáng chế còn đề cập đến phân đoạn nước có thể thu được bằng quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế.

Sáng chế còn đề cập đến phân đoạn nước bao gồm ít nhất 48% khối lượng protein, ít nhất 2% khối lượng trehaloza và có hàm lượng lipid nhỏ hơn 7% khối lượng, tỷ lệ phần trăm khối lượng này được tính theo tổng khối lượng khô của phân đoạn nước.

Tốt hơn, nếu phân đoạn nước bao gồm ít nhất 55% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 60% khối lượng, còn tốt hơn nữa là ít nhất 65% khối lượng protein so với tổng khối lượng khô của phân đoạn nước.

Có lợi nếu, phân đoạn nước bao gồm ít nhất 2,5% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 3% khối lượng trehaloza so với tổng khối lượng khô của phân đoạn nước.

Tốt hơn, nếu phân đoạn nước có hàm lượng lipid nhỏ hơn 6% khối lượng, tốt hơn nữa là nhỏ hơn 4% khối lượng, còn tốt hơn nữa là nhỏ hơn 2% khối lượng so với tổng khối lượng khô của phân đoạn nước.

Có lợi nếu, phân đoạn nước bao gồm khoảng từ 5% đến 20% khối lượng tro, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 7% đến 15% khối lượng tro so với tổng khối lượng khô của phân đoạn nước.

Ngoài ra, phân đoạn nước bao gồm nhỏ hơn 2% khối lượng các chất lắng không tan, tốt hơn là nhỏ hơn 1% khối lượng các chất lắng không tan, tốt hơn là nhỏ hơn 0,5% khối lượng các chất lắng không tan so với tổng khối lượng của phân đoạn nước.

Phân đoạn nước không bao gồm kitin.

Theo cách tương tự như phân đoạn rắn, phân đoạn nước bao gồm các protein hòa tan mà kích cỡ của nó được giảm thích hợp để thuận tiện cho quá trình tiêu hóa bởi động vật.

Có lợi nếu, ít nhất 90%, tốt hơn là ít nhất 95%, tốt hơn nữa là ít nhất 97% protein hòa tan của phân đoạn nước có kích thước nhỏ hơn hoặc bằng 12400 g/mol.

Cụ thể hơn, ít nhất 45%, tốt hơn là ít nhất 50%, tốt hơn nữa là ít nhất 53%, còn tốt hơn nữa là ít nhất 60% protein hòa tan của phân đoạn nước có kích thước nhỏ hơn 550 g/mol.

Cụ thể hơn, phân đoạn nước có hàm lượng chất khô nằm trong khoảng từ 5 đến 15% khối lượng so với tổng khối lượng của phân đoạn nước.

Khi được cô, phân đoạn nước đã được cô đặc có hàm lượng chất khô nằm trong khoảng từ 55 đến 75% khối lượng so với tổng khối lượng của phân đoạn nước đã được cô đặc.

Sáng chế còn đề cập đến phân đoạn nước đã được cô đặc có thể thu được bằng quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế, sau đó quy trình xử lý này bao gồm bước cô đặc tùy ý.

Sáng chế còn đề cập đến phân đoạn chất béo có thể thu được bằng quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế.

Sáng chế còn đề cập đến bột thu được bởi quy trình xử lý côn trùng bao gồm các bước sau:

- tách các lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng,
- tách phần mềm của côn trùng thành phân đoạn chất béo, phân đoạn rắn và phân đoạn nước,
- tùy ý, cô đặc phân đoạn nước,
- tùy ý, trộn phân đoạn rắn với:
 - toàn bộ hoặc một phần phân đoạn nước đã được cô đặc; và/hoặc

- toàn bộ hoặc một phần lớp cutin,
để thu được hỗn hợp,
- làm khô phân đoạn rắn hoặc hỗn hợp để lần lượt thu được phân đoạn rắn khô hoặc hỗn hợp khô;
- nghiền phân đoạn rắn khô hoặc hỗn hợp khô.

Quy trình xử lý côn trùng này có thể cũng bao gồm một hoặc nhiều đặc điểm đã mô tả ở trên.

Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến bột thu được bởi quy trình điều chế bột, và cụ thể là bột côn trùng, theo sáng chế, như được mô tả trên đây.

Như đã chỉ ra ở trên, theo bước 5 và/hoặc 6 tùy ý của quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế, tức là bước cô đặc phân đoạn nước và bước trộn toàn bộ hoặc một phần lớp cutin và/hoặc toàn bộ hoặc một phần phân đoạn nước đã được cô đặc, với phân đoạn rắn, được tiến hành hoặc không, và nếu cần theo điều kiện thực hiện của chúng, các bột khác nhau có thể thu được.

Sáng chế còn đề cập đến bột, và cụ thể là bột côn trùng, bao gồm ít nhất 71% khối lượng protein và nằm trong khoảng từ 0,1 đến 4% khối lượng kitin, tỷ lệ phần trăm khối lượng này được tính theo tổng khối lượng khô của bột.

Tốt hơn, nếu bột này có hàm lượng protein lớn hơn hoặc bằng 72% khối lượng, tốt hơn nữa là lớn hơn hoặc bằng 74% khối lượng, còn tốt hơn nữa là lớn hơn hoặc bằng 75% khối lượng so với tổng khối lượng khô của bột.

Cụ thể hơn, bột này có hàm lượng kitin nằm trong khoảng từ 0,5 đến 3% khối lượng, tốt hơn nữa nằm trong khoảng từ 0,8 đến 2% khối lượng, còn tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,8 đến 1,7% khối lượng so với tổng khối lượng khô của bột.

Tốt hơn, nếu bột này bao gồm khoảng từ 5 đến 20% khối lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 7 đến 17% khối lượng lipid so với tổng khối lượng khô của bột.

Cụ thể hơn, bột này bao gồm khoảng từ 1 đến 10% khối lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 6% khối lượng tro so với tổng khối lượng khô của bột.

Ngoài ra, tốt hơn nếu bột này bao gồm khoảng từ 3 đến 20% khối lượng hydrat cacbon so với tổng khối lượng khô của bột.

Cụ thể hơn, tốt hơn nếu bột này bao gồm ít nhất 0,1% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 0,2% khối lượng trehaloza so với tổng khối lượng khô của bột.

Khi bước 5 và/hoặc 6 tùy ý không được tiến hành, thì bột, và cụ thể là bột côn trùng, thu được chỉ từ phân đoạn rắn.

Bột này bao gồm ít nhất 71% khối lượng protein và nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2% khối lượng kitin, tỷ lệ phần trăm khối lượng này được tính theo tổng khối lượng khô của bột.

Tốt hơn, nếu bột này có hàm lượng protein lớn hơn hoặc bằng 72% khối lượng, tốt hơn nữa là lớn hơn hoặc bằng 74% khối lượng, còn tốt hơn nữa là lớn hơn hoặc bằng 75% khối lượng so với tổng khối lượng khô của bột.

Cụ thể hơn, bột này có hàm lượng kitin nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,7% khối lượng kitin so với tổng khối lượng khô của bột.

Tốt hơn, nếu bột này bao gồm khoảng từ 5 đến 17% khối lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10 đến 15% khối lượng lipid so với tổng khối lượng khô của bột.

Cụ thể hơn, bột này bao gồm khoảng từ 1 đến 10% khối lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 6% khối lượng tro so với tổng khối lượng khô của bột.

Ngoài ra, tốt hơn nếu bột này bao gồm khoảng từ 5 đến 15% khối lượng, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 7 đến 13% khối lượng hydrat cacbon so với tổng khối lượng khô của bột.

Cụ thể hơn, tốt hơn nếu bột này bao gồm ít nhất 0,2% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 0,3% khối lượng, còn tốt hơn nữa là ít nhất 0,35% khối lượng trehaloza so với tổng khối lượng khô của bột.

Khi bước 5 và 6 của quy trình theo sáng chế được tiến hành, thì bột thu được từ việc trộn phân đoạn rắn, toàn bộ hoặc một phần lớp cutin và toàn bộ hoặc một phần phân đoạn nước đã được cô đặc có thể cũng thu được.

Do đó, sáng chế cũng đề cập đến bột, và cụ thể là bột côn trùng, bao gồm ít nhất 65% khối lượng protein, ít nhất 10% khối lượng hydrat cacbon và nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2% khối lượng kitin, tỷ lệ phần trăm khối lượng này được tính theo tổng khối lượng khô của bột.

Tốt hơn, nếu bột này có hàm lượng protein lớn hơn hoặc bằng 70% khối lượng, tốt hơn nữa là lớn hơn hoặc bằng 74% khối lượng so với tổng khối lượng khô của bột.

Cụ thể hơn, bột này có hàm lượng kitin nằm trong khoảng từ 0,2 đến 1,5% khối lượng, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,3% khối lượng so với tổng khối lượng khô của bột.

Tốt hơn, nếu bột này có hàm lượng hydrat cacbon lớn hơn hoặc bằng 12% khối lượng, tốt hơn nữa là lớn hơn hoặc bằng 14% khối lượng so với tổng khối lượng khô của bột.

Cụ thể hơn, tốt hơn nếu bột này bao gồm ít nhất 0,7% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 0,9% khối lượng, còn tốt hơn nữa là ít nhất 1% khối lượng và còn tốt hơn nữa là ít nhất 1,2% khối lượng trehalosa so với tổng khối lượng khô của bột.

Tốt hơn, nếu bột này bao gồm khoảng từ 5 đến 15% khối lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 7 đến 13% khối lượng lipit so với tổng khối lượng khô của bột.

Cụ thể hơn, bột này bao gồm khoảng từ 3 đến 10% khối lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 4 đến 8% khối lượng tro so với tổng khối lượng khô của bột.

Hàm lượng ẩm còn dư của các bột theo sáng chế nằm trong khoảng từ 2 đến 15%, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5 đến 10%, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 4 đến 8%. Hàm lượng ẩm này ví dụ có thể được xác định theo phương pháp có nguồn gốc từ tiêu chuẩn châu Âu EC Regulation 152/2009 vào ngày 27 tháng 1 năm 2009 (103°C/4 giờ).

Có lợi nếu, các protein của các bột theo sáng chế có khả năng tiêu hóa lớn hơn hoặc bằng 85% khối lượng so với tổng khối lượng của các protein thô.

Khả năng tiêu hóa là khả năng tiêu hóa pepsin đo được bằng phương pháp được mô tả trong Hướng dẫn số 72/199/EC.

Tốt hơn, nếu khả năng tiêu hóa lớn hơn hoặc bằng 88%, tốt hơn nữa là lớn hơn hoặc bằng 92%.

Sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng làm chất tạo hương của phân đoạn nước theo sáng chế, phân đoạn nước đã được cô đặc theo sáng chế, hoặc bột bao gồm ít nhất 65% protein, ít nhất 10% khối lượng hydrat cacbon và nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2% khối lượng kitin theo sáng chế đã mô tả ở trên, có lợi nếu trong dinh dưỡng động vật.

Cuối cùng, sáng chế đề cập đến việc sử dụng bột theo sáng chế trong dinh dưỡng, tốt hơn là trong dinh dưỡng động vật.

Ví dụ thực hiện sáng chế

VÍ DỤ 1: Quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế

Ấu trùng của *Tenebrio molitor* được sử dụng. Khi tiếp nhận ấu trùng, chúng có thể được bảo quản ở 4°C trong 0 đến 15 ngày trong các bể nuôi của chúng mà không bị suy biến nhiều trước khi làm chết. Khối lượng của ấu trùng (độ tuổi) được sử dụng có thể được biến đổi và do đó thành phần của chúng có thể thay đổi, như được minh họa trong Bảng 1 dưới đây:

Sinh khối (côn trùng)	mg	23	35	58	80	108	154
Chất khô	%*	34	34	34,2	37,9	39,6	39,5
Tro	%*	1,59	1,52	1,6	1,75	1,67	1,43
Protein thô	%*	22,6	22,2	22	23,2	23,1	23,2
Lipit	%*	6,62	6,88	7,98	10,3	10,9	11,7

* % được biểu thị theo khối lượng khô so với khối lượng ướt của ấu trùng.

Bảng 1: Thành phần sinh hóa của ấu trùng của *Tenebrio molitor* theo khối lượng của nó.

• Bước 1: Làm chết côn trùng

Ấu trùng sống (+4°C đến + 25°C) được vận chuyển theo các lớp với độ dày nằm trong khoảng từ 2 đến 10 cm, trên băng chuyền đục lỗ (1 mm) tới ngăn chần. Do đó, côn trùng được chần bằng hơi (các vòi hoặc giàn hơi) ở 98°C trong điều kiện thông khí áp lực hoặc bằng nước ở 92-95°C (các vòi phun) hoặc theo phương thức kết hợp (nước + hơi). Thời gian lưu trú trong buồng chần nằm trong khoảng từ 5 giây đến 15 phút, lý tưởng là trong 5 phút.

Nhiệt độ của ấu trùng sau khi chần nằm trong khoảng từ 75°C đến 98°C.

• Bước 2: Tách phần mềm ra khỏi lớp cutin của côn trùng

Ấu trùng, ngay khi được chần, được vận chuyển tới phễu nạp liệu của máy tách băng chuyền, để tách lớp cutin ra khỏi phần mềm của ấu trùng.

Có lợi nếu, việc tách được tiến hành ngay sau khi làm chết sao cho ấu trùng không

có thời gian bị ngưng xuống nhiệt độ môi trường.

Máy tách băng chuyên sử dụng là máy tách băng chuyên 601 do Baader cung cấp.

Đường kính của các lỗ trống là 1,3 mm.

Phần mềm của côn trùng được thu hồi trong bể.

Lớp cutin được thu hồi bằng cách sử dụng lưới dao nạo.

Xác định lượng trehalose của lớp cutin

Lượng trehalose trong lớp cutin được thu hồi ở bước 2 được đo theo cách sau:

Trehalose được phân tích bằng GC-MS.

Thiết lập nhiệt độ: 150°C, tiếp đó là gia tăng với tốc độ 10°C/phút lên tới 260°C, sau 5 phút ở nhiệt độ này, gia tăng với tốc độ 25°C/phút lên tới 310°C và duy trì ở nhiệt độ này trong 2 phút. Nhiệt độ của thiết bị phun: 280°C, của bề mặt chung: 250°C, tỷ lệ phân tách là 10, thể tích phun là 1 µL. Ví dụ, cột sH-RXI-5mS, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm được sử dụng.

Việc điều chế mẫu để phân tích được tiến hành theo cách sau: lượng chính xác của mẫu (nằm trong khoảng từ 10 đến 300 mg) được cân trong ống Falcon, 9,75mL metanol được bổ sung vào đó cũng như 250 µL dung dịch chuẩn nội (myo-inositol, 25 µg/mL) trong DMSO. Hỗn hợp được khuấy ở 80°C trong 10 phút, 100 µL BSTFA được bổ sung sau đó và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút tiếp ở nhiệt độ môi trường, 1mL axetonitril được bổ sung sau đó và do đó, mẫu đã được điều chế được phun vào thiết bị GC-MS.

Lượng đã được xác định là 1,2 mg trehalose /g chất khô.

• Bước 3: Làm chín phần mềm của côn trùng

Phần mềm của côn trùng được để yên trong bể gom của bước 2, trong điều kiện khuấy trong 1 giờ và ở nhiệt độ xấp xỉ 90°C.

• Bước 4: Tách phần mềm thành phân đoạn rắn, phân đoạn nước và phân đoạn chất béo

Sau đó, phần mềm được tách thành ba phân đoạn bằng cách sử dụng thiết bị lắng gạn ba pha. Thiết bị lắng gạn sử dụng là máy ly tâm ba pha® Z23 do Flottweg cung cấp.

Các điều kiện tách:

- Tốc độ chảy: lên tới 500 Kg/giờ;

- Tốc độ lặn: 4806 vòng/phút (3000 G);
- Y tối thiểu: 5% (1,4 vòng/phút).

Ba phân đoạn thu được ở giai đoạn cuối của pha tách này: phân đoạn chất béo, phân đoạn rắn và phân đoạn nước.

Các phân đoạn này có các đặc điểm được chỉ ra trong Bảng 2 dưới đây:

	Chất khô (%)	Protein (%)*	Dầu (%)*	Tro (%)*	Hydrat cacbon (%)*
Phân đoạn rắn	56	74,1	12,9	4	10
Phân đoạn nước	10	57	4	9	23
Phân đoạn chất béo	>99,5	<0,5	>99,5	<0,25	<0,25

* Các kết quả trung bình được tính toán trong một vài mẫu của mỗi phân đoạn, được biểu thị theo % chất khô

Bảng 2: Đặc điểm của phân đoạn chất béo, phân đoạn rắn và phân đoạn nước.

Xác định kích cỡ của protein hòa tan của phân đoạn rắn và của phân đoạn nước

Điều chế mẫu rắn (phân đoạn rắn): 30 mg mẫu được hòa tan vào 1 L pha động và được lọc bằng cách sử dụng thiết bị lọc Chromafil Xtra PES-45/25.

Điều chế mẫu lỏng (phân đoạn nước): 400 µL được hòa tan vào 1600 µL pha động và được lọc bằng cách sử dụng thiết bị lọc Chromafil Xtra PES-45/25, ngay trước khi phun. Do đó, 1,5mL mẫu đã được điều chế được ly tâm trong 15 phút ở 12000 vòng/phút (10625 g).

Các điều kiện tiến hành sắc ký (HPLC Nexera XR do Shimadzu cung cấp) là như sau: cột sử dụng là Superdex Peptide GL 10/300 (GE Healthcare), việc phát hiện được tiến

hành bởi bộ dò DAD ở 215 nm, tốc độ của pha động là 0,3mL/phút và nó bao gồm ACN (axetonitril)/H₂O/TFA (axit trifloaxetic) (30/70/0,1), việc phân tích được tiến hành ở 25°C.

Việc phân bố kích cỡ của protein hòa tan của phân đoạn rắn được thể hiện trên Bảng 3 dưới đây:

Phân tử lượng (kDa)	%
> 12,4	13,8
12,4 - 6,5	14
6,5 - 1,4	3,8
1,4 - 0,55	2,1
<0,55	67,3

Bảng 3: Phân bố kích cỡ của protein hòa tan trong phân đoạn rắn

Việc phân bố kích cỡ của protein hòa tan của phân đoạn nước được thể hiện trên Bảng 4 dưới đây:

Phân tử lượng (kDa)	%
> 12,4	2,7
12,4 - 6,5	13,4
6,5 - 1,4	19
1,4 - 0,55	11,5
<0,55	53,4

Bảng 4: Phân bố kích cỡ của protein hòa tan trong phân đoạn nước

Xác định lượng trehaloza trong phân đoạn rắn và phân đoạn nước

Lượng trehaloza trong các phân đoạn này được đo theo cách sau:

Trehaloza được phân tích bằng GC-MS.

Thiết lập nhiệt độ: 150°C, tiếp đó là gia tăng với tốc độ 10°C/phút lên tới 260°C, sau 5 phút ở nhiệt độ này, gia tăng với tốc độ 25°C/phút lên tới 310°C và duy trì ở nhiệt độ này trong 2 phút. Nhiệt độ của thiết bị phun: 280°C, của bề mặt chung: 250°C, tỷ lệ phân tách là 10, thể tích phun là 1 µL.

Việc điều chế mẫu để phân tích được tiến hành theo cách sau: lượng chính xác của mẫu (nằm trong khoảng từ 10 đến 300 mg) được cân trong ống Falcon, 9,75mL metanol được bổ sung vào đó cũng như 250 μ L dung dịch chuẩn nội (myo-inositol, 25 μ g/mL) trong DMSO. Hỗn hợp được khuấy ở 80°C trong 10 phút, 100 μ L BSTFA được bổ sung sau đó và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút tiếp ở nhiệt độ môi trường, 1mL axetonitril được bổ sung sau đó và do đó, mẫu đã được điều chế được phun vào thiết bị GC-MS.

Lượng được xác định trong phân đoạn rắn là 3,82 mg trehaloza /g chất khô.

Lượng được xác định trong phân đoạn nước là 33,2 mg trehaloza /g chất khô.

Ngoài ra, phân đoạn nước bao gồm nhỏ hơn 1% khối lượng các chất lỏng không tan so với tổng khối lượng của phân đoạn nước.

- **Bước 5: Cô đặc phân đoạn nước**

Phân đoạn nước thu được ở bước 4 được cô đặc bằng cách làm bay hơi sau đó, bằng cách sử dụng thiết bị làm bay hơi kiểu màng rơi.

Phân đoạn nước đã cô đặc thu được có nồng độ của chất khô xấp xỉ 65%.

- **Bước 6 (tùy ý): Trộn phân đoạn nước đã được cô đặc và/hoặc lớp cutin với phân đoạn rắn**

Bước 6 không được tiến hành trong ví dụ này.

- **Bước 7: Làm khô phân đoạn rắn**

Phân đoạn rắn thu được ở bước 4 được làm khô bằng cách sử dụng thiết bị sấy kiểu đĩa do Haarslev cung cấp trong 5 giờ để thu được phân đoạn rắn khô hoặc hỗn hợp khô.

Từ khía cạnh vi sinh vật, phân đoạn rắn bao gồm nhỏ hơn 10 UFC/g vi khuẩn trong ruột.

- **Bước 8: Nghiền**

Cuối cùng, phân đoạn rắn khô được nghiền bằng cách sử dụng máy nghiền búa liên tục (6 phần di chuyển thuận nghịch – độ dày 8 mm). Máy xay được cấp bởi phễu có van kiểm soát tốc độ dòng (180 kg/giờ). Lưới đục lỗ sử dụng để kiểm soát cấp phối đầu ra là 0,8 mm. Tốc độ quay của động cơ là 3000 vòng/phút (*động cơ điện, công suất hấp thụ 4 kW (5,5 HP)*).

Đặc điểm của bột côn trùng thu được được đưa ra trong bảng 5 dưới đây.

Protein	Kitin	Tro	Lipit	Hydrat cacbon	Trehaloza
75,1%	1,3%	4%	12,5%	10%	0,38%

* Tỷ lệ phần trăm được biểu hiện là tỷ lệ phần trăm theo khối lượng so với tổng khối lượng khô của bột côn trùng.

Bảng 5: Đặc điểm của bột côn trùng thu được trong Ví dụ 1.

VÍ DỤ 2: Quy trình xử lý côn trùng theo sáng chế

Bước 1 đến 5 được thực hiện như được mô tả trong Ví dụ 1.

- **Bước 6 (tùy ý): Trộn phân đoạn nước đã được cô đặc và lớp cutin với phân đoạn rắn**

Toàn bộ (100%) phân đoạn nước đã được cô đặc thu được ở bước 5 cũng như 0,05% khối lượng các lớp cutin được thu hồi ở bước 2 được trộn với toàn bộ các phân đoạn rắn thu được ở bước 4 để thu được hỗn hợp.

Thiết bị khuấy vít hình nón do Vrieco-Nauta® cung cấp được sử dụng.

- **Bước 7: Làm khô hỗn hợp**

Hỗn hợp thu được ở bước 6 được làm khô bằng cách sử dụng thiết bị sấy kiểu đĩa do Haarslev cung cấp trong 5 giờ để thu được hỗn hợp khô.

Từ khía cạnh vi sinh vật, hỗn hợp khô bao gồm nhỏ hơn 10 UFC/g vi khuẩn trong ruột.

- **Bước 8: Nghiền**

Cuối cùng, hỗn hợp khô được nghiền bằng cách sử dụng máy nghiền búa liên tục (6 phần di chuyển thuận nghịch – độ dày 8 mm). Máy xay được cấp bởi phễu có van kiểm soát tốc độ dòng (180 kg/giờ). Lưới đục lỗ sử dụng để kiểm soát cấp phối đầu ra là 0,8 mm. Tốc độ quay của động cơ là 3000 vòng/phút (*động cơ điện, công suất hấp thụ 4 kW (5,5 HP)*).

Đặc điểm của bột côn trùng thu được được đưa ra trong bảng 6 dưới đây.

Protein	Kitin	Tro	Lipit	Hydrat	Trehaloza
---------	-------	-----	-------	--------	-----------

				cacbon	
66%	1%	6%	11%	13%	1,1%

* Tỷ lệ phần trăm được biểu hiện là tỷ lệ phần trăm theo khối lượng so với tổng khối lượng khô của bột côn trùng.

Bảng 6: Đặc điểm của bột côn trùng thu được trong Ví dụ 2.

VÍ DỤ 3: Quy trình theo sáng chế và các quy trình so sánh

I. Điều chế các mẫu

Quy trình theo sáng chế để chuyển hóa phần thịt của *Tenebrio molitor* ấu trùng thành dầu (phân đoạn chất béo hoặc “TMO” for *Tenebrio Molitor* dầu), pha nước (phân đoạn nước hoặc “SW” đối với canh dịch ép) và các protein rắn (phân đoạn rắn hoặc “SPC” đối với bánh protein rắn) và quy trình so sánh được tiến hành giống như vậy.

Mục đích là nhằm so sánh chất lượng của các sản phẩm thu được bởi 2 quy trình.

1. Quy trình theo sáng chế

Ấu trùng trước tiên được làm chết bằng cách chần (bằng hơi), sau đó lớp cutin của ấu trùng được tách khỏi phần mềm (“được loại cutin”) bằng máy tách băng chuyên do Baader cung cấp.

8 kg phần mềm thu được từ bước tách sau đó được làm chín trong thiết bị phản ứng thử nghiệm với dung tích 10L, thiết bị phản ứng này được gia nhiệt sơ bộ tới 50°C, trong điều kiện khuấy cơ học ở 350 vòng/phút để đảm bảo làm đồng nhất phần mềm. Sau khi làm tăng nhanh nhiệt độ của phần mềm, nhiệt độ này được điều chỉnh trực tiếp ở 90°C trong khối của chúng. Sau một giờ gia nhiệt ở 90°C, thiết bị phản ứng được làm rỗng. Sau đó, phần mềm đã được gia nhiệt được tách ra. Nếu không thể sử dụng máy ly tâm ba pha ở phạm vi phòng thí nghiệm, phần mềm được ly tâm ở 10000 g trong 15 phút để tách các pha khác nhau thu được (xem Fig. 2). Mỗi pha (TMO, SW và SPC) được thu gom thủ công và được bảo quản ở -20°C cho đến khi tiến hành phân tích lý hóa.

2. Quy trình so sánh

8 kg phần mềm thu được từ bước tách được sử dụng. Phần mềm này được lấy từ cùng một lô phần mềm như khi sử dụng đối với quy trình theo sáng chế.

Quy trình so sánh là khác so với quy trình theo sáng chế bởi hai bước:

- ở giai đoạn cuối của bước tách, bước đông tụ bổ sung phần mềm được tiến hành từ 4 kg phần mềm, trong thiết bị phản ứng thử nghiệm, trong điều kiện khuấy (350 vòng/phút) với nhiệt độ của thành thiết bị phản ứng được cố định ở 100°C trong 20 phút; Sau đó

- phần mềm được pha loãng bằng cách bổ sung nước và được gia nhiệt. Hai lần pha loãng phần mềm được tiến hành đối với các thử nghiệm này, 1:0,5 (w/w, khối lượng/khối lượng) và 1:0,75 (khối lượng/khối lượng). Trong thời gian cụ thể, thể tích nước ở 50°C (2L hoặc 3L có tác dụng pha loãng) được bổ sung vào thiết bị phản ứng thử nghiệm. Nhiệt độ trong khối thịt được điều chỉnh ở 90°C trong một giờ, sau đó thiết bị phản ứng được làm rỗng. Sau đó, phần mềm đã được pha loãng được ly tâm trong cùng một điều kiện như trên và 3 pha được thu gom và được bảo quản ở -20°C cho đến khi tiến hành phân tích lý hóa.

II. Phân tích các mẫu

Xác định chất khô của các mẫu

Chất khô của TMO, SW và SPC được xác định bằng cách làm khô đến khối lượng không đổi ở 105°C theo tiêu chuẩn ISO 6496. Sự chênh lệch về khối lượng của sản phẩm trước và sau khi làm khô được dùng làm thước đo của hàm lượng chất khô. Các hàm lượng này được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm theo khối lượng. Hàm ẩm thu được bằng cách trừ chất khô cho giá trị 100.

Xác định giá trị peroxit trong TMO

Giá trị peroxit được xác định theo tiêu chuẩn của Pháp NF EN ISO 3960 (Tháng 6 năm 2010) và được biểu thị bằng meq của oxy hoạt động/kg dầu.

Hàm lượng chất lắng của TMO và SW

Thiết bị lọc được sử dụng là rây thép không rỉ có các lỗ là 50 µm, được lấy chuẩn

trước. Việc định lượng các chất lỏng được tiến hành sau khi cho 300mL TMO hoặc 750mL SW (750mL) bằng cách cân phần lỏng cần qua rây này.

Trong trường hợp SW, chất khô của các chất lỏng sau đó được xác định như được mô tả trên đây.

Đánh giá nhũ tương trong SW

Đánh giá nhũ tương trong SW được tiến hành sau khi ly tâm 50mL SW đã được gom lại. Việc thu gom nhũ tương (dịch nổi trên bề mặt) được tiến hành sau khi đặt các ống ở -20°C để thuận tiện cho việc tách. Sau đó, nhũ tương được cân và kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm nhũ tương trong canh dịch ép.

Xác định chất béo trong SW

Xác định chất béo hoặc lipid trong mẫu SW được tiến hành bằng cách chiết bằng ete dầu mỏ sau khi thủy phân theo tiêu chuẩn châu Âu EC Regulation 152/2009. Lượng lipid được tính theo chất khô của mẫu được xem xét (SW hoặc SPC).

Xác định khả năng tiêu hóa pepsin của SW

Khả năng tiêu hóa pepsin được xác định đối với SW theo Hướng dẫn số 72/199/EC, mà không cần loại chất béo.

Thử nghiệm trehaloza trong SW và SPC

Trehaloza được xác định trong SW và SPC sau khi làm đông khô chúng. 40 mg mẫu khô được chiết bằng cách sử dụng 2mL DMSO trong 1 giờ, trong điều kiện khuấy ở 80°C. sau đó, 250 µL phần chiết được trộn với 50 µL myo-inositol, được sử dụng làm chất chuẩn nội (1 g/L trong DMSO). Sau khi làm đồng nhất, 100 µL hỗn hợp này được tạo dẫn xuất với 100 µL BSTFA-TMCS (99:1) trực tiếp trong lọ GC-MS trong 30 phút ở 60°C. Trước khi phun, 600 µL axetonitril được bổ sung vào lọ GC-MS. Các kết quả được biểu thị bằng mg trehaloza/g chất khô bằng cách sử dụng a khoảng tiêu chuẩn trehaloza được tiến hành trong cùng một điều kiện (Fig. 3).

Các phần chiết được tạo dẫn xuất và các điểm khác nhau của khoảng tiêu chuẩn được phân tích trên GC-MS-QP2010 do Shimadzu cung cấp. Cột sử dụng là cột SH-Rxi 5 ms (Shimadzu), có chiều dài là 30m, đường kính là 0,25 mm và độ dày là 0,25 µm. Nhiệt độ thiết lập của GC-MS là như sau: 100°C, tiếp đó là gia tăng với tốc độ 10°C/phút lên tới

300°C, được duy trì trong 2 phút.

Nhiệt độ của thiết bị phun là 280°C, của bề mặt chung là 250°C, tỷ lệ phân tách là 10, thể tích phun là 1 µL. Việc phát hiện được tiến hành theo cách thức SIM (việc kiểm soát ion đã được chọn) với các giá trị m/z cụ thể là 305 đối với myo-inositol và 361 đối với trehalosa.

Xác định màu sắc của SW đã được đông khô nhanh

Màu sắc được so sánh với cột màu (Cột màu K7 kinh điển RAL) và khác biệt ở chỗ mã màu sắc của cột màu này.

Xác định phân đoạn hòa tan của SPC

Các thử nghiệm được tiến hành từ các SPC đã được đông khô nhanh. 1 g mẫu được cân (m_i) trong ống 50mL được lấy chuẩn trước. 30mL nước ở nhiệt độ môi trường được bổ sung và ống này được lắc (xoáy) trong vài phút. Sau khi ly tâm, dịch nổi trên bề mặt lỏng được loại bỏ và tiến hành rửa lần thứ hai với 30mL nước trong cùng một điều kiện như lần thứ nhất. Sau khi dịch nổi trên bề mặt được loại bỏ, các viên SPC đã được rửa được đặt trong lò ở 60°C trong 48 giờ sau đó được cân. Mẫu đối chứng (SPC chưa được rửa) cũng được đặt trong lò để xác định tỷ lệ phần trăm của chất khô thực và hiệu chỉnh khối lượng ban đầu của các mẫu trước khi rửa (%DM).

Tỷ lệ phần trăm của chất tan được xác định là:

$$\frac{(m_i \times \%DM) - m_{\text{SPC khô, được rửa}}}{m_i \times \%DM}$$

Xác định kích cỡ của protein hòa tan của SPC

Kích cỡ của protein hòa tan của SPC được xác định bởi sắc ký loại trừ không gian.

40 mg mẫu đông khô nhanh được hòa tan vào pha động bao gồm axetonitril/H₂O/TFA (axit trifloaxetic) (30/70/0,1) để thu được nồng độ là 30 mg/mL và được lọc to 45 µm sau khi ly tâm bằng cách sử dụng thiết bị lọc Chromafil Xtra PES-45/25. Đồng thời, độ hòa tan của SW khô và SPC khô trong pha động được xác định sau khi làm khô các cặn đã được ly tâm trong lò.

Các điều kiện tiến hành sắc ký được tiến hành trên chuỗi Nexera XR HPLC do Shimadzu cung cấp là như sau: cột sử dụng là Superdex Peptide GL 10/300 (GE

Healthcare), việc phát hiện được tiến hành bởi bộ dò DAD ở 215 nm, tốc độ của pha động (phương thức đẳng dòng) là 0,3mL/phút. Nó bao gồm hỗn hợp axetonitril/H₂O/TFA (axit trifloaxetic) (30/70/0,1), việc phân tích được tiến hành ở 25°C.

Để xác định mức phân bố khối lượng phân tử, bốn protein “tiêu chuẩn” có phân tử lượng đã biết trước tiên được phun để xác định khoảng thời gian lưu tương ứng với các phân tử lượng khác nhau. Để phân tích mức phân bố phân tử của các mẫu, tổng diện tích của biểu đồ sắc ký trước tiên được hợp nhất ở 215 nm, sau đó được tách thành các phân đoạn tương ứng với năm loại phân tử lượng. Các kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm của các protein hòa tan /loại kích cỡ phân tử.

Xác định phần hòa tan trong pha động thu được theo cách đồng nhất với phần hòa tan trong nước, nhưng ở 25% (nhiệt độ phân tích).

III. Kết quả

1. Phân đoạn chất béo

Các kết quả đối với phân đoạn chất béo được thể hiện trên các Fig. 4, 5 và 6.

Đối với hàm ẩm và hàm lượng chất lắng, các Fig. 4 và 5 chứng tỏ rằng việc tách phân đoạn chất béo được cải thiện đáng kể trong quy trình theo sáng chế. Thực vậy, đáng lưu ý là từ các Fig. này, hàm ẩm và hàm lượng chất lắng cao hơn trong phân đoạn chất béo theo quy trình so sánh. Kết quả này là đáng ngạc nhiên vì người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đã biết rằng việc hợp nhất pha và/hoặc gia nhiệt thường có thể cải thiện được khả năng tách pha trong môi trường phức tạp.

Hơn nữa, trên Fig. 6, đáng lưu ý rằng giá trị peroxit của pha chất béo thu được bằng quy trình theo sáng chế là thấp hơn so với của pha chất béo thu được bởi quy trình so sánh. Do đó, pha chất béo thu được bằng quy trình theo sáng chế có thể bảo quản được tốt hơn. Điều này là đặc biệt có lợi vì nó có thể tránh được hoặc làm giảm việc bổ sung chất bảo quản như các chất chống oxy hóa.

2. Phân đoạn nước

Các kết quả đối với phân đoạn chất béo được thể hiện trên các Fig. 7 đến 13.

Trên Fig. 7, đáng lưu ý rằng hàm ẩm nhỏ hơn đối với phân đoạn nước thu được bằng quy trình theo sáng chế. Do pha loãng, hàm lượng chất khô là nhỏ hơn trong quy trình so sánh, do đó cần có thiết bị lớn hơn để thu hồi phần (chất khô) quan tâm và cụ thể là có khả năng tiêu thụ năng lượng và nước lớn hơn.

Đối với hàm lượng chất lắng, hàm lượng nhũ tương và hàm lượng lipit, các Fig. 8 đến 10 chứng tỏ rằng việc tách phân đoạn nước được cải thiện đáng kể trong quy trình theo sáng chế. Thực vậy, đáng lưu ý là từ các Fig. này, hàm lượng các chất lắng, nhũ tương và lipit cao hơn trong phân đoạn chất béo theo quy trình so sánh. Kết quả này là đáng ngạc nhiên vì người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đã biết rằng việc hợp nhất pha và/hoặc gia nhiệt thường có thể cải thiện được khả năng tách pha trong môi trường phức tạp.

Cũng lưu ý rằng:

- trên Fig. 11, khả năng tiêu hóa pepsin của các protein của phân đoạn nước thu được bằng quy trình theo sáng chế là tốt hơn so với khi thu được bằng quy trình so sánh; và
- trên Fig. 12, hàm lượng trehaloza của phân đoạn nước thu được bằng quy trình theo sáng chế là tốt hơn so với khi thu được bằng quy trình so sánh.

Sự có mặt của trehaloza là đáng quan tâm do trehaloza có khả năng hòa tan các protein và do đó, được coi là chất bảo quản sinh học tự nhiên.

Cuối cùng, Fig. 13 đưa ra 3 hình ảnh của phân đoạn nước thu được bởi quy trình theo sáng chế, hoặc bởi quy trình so sánh, và đông khô nhanh. Phân đoạn nước thu được bằng quy trình theo sáng chế có màu sáng hơn đáng kể. Từ các Fig. này, nhận thấy rằng sản phẩm khác nhau thu được bằng quy trình theo sáng chế. Sự khác nhau về màu sắc này có thể được giải thích bằng phản ứng Maillard mà có thể xảy ra trong quá trình kết tụ và bước gia nhiệt trong môi trường nước mà được tiến hành trong quy trình so sánh. Trong phản ứng Maillard, các protein có kích cỡ nhỏ có mặt trong môi trường dễ phản ứng hơn, do đó làm giảm hàm lượng các protein có kích cỡ nhỏ của môi trường. Điều này có thể thu

được kết quả cụ thể là làm giảm khả năng tiêu hóa của phân đoạn nước.

3. Phân đoạn rắn

Các kết quả đối với phân đoạn rắn được thể hiện trên các Fig. 14 đến 17.

Trên Fig. 14, đáng lưu ý rằng hàm lượng trehaloza của phân đoạn rắn thu được bằng quy trình theo sáng chế là tốt hơn so với khi thu được bằng quy trình so sánh.

Trên Fig. 15, đáng lưu ý rằng hàm lượng của phần hòa tan của phân đoạn rắn thu được bằng quy trình theo sáng chế là tốt hơn so với khi thu được bằng quy trình so sánh. Đáng quan tâm là hàm lượng của phần hòa tan cao hơn đáng kể do phần hòa tan tạo điều kiện thuận lợi cho việc tạo ra thức ăn và tạo ra sinh khả dụng cải thiện, cụ thể là bằng cách giải phóng các protein có kích cỡ nhỏ hơn.

Trên các Fig. 16 và 17, đã chứng minh được rằng hàm lượng của các protein có kích cỡ nhỏ, tức là các protein nhỏ hơn 550 Da, là cao hơn trong phân đoạn rắn thu được bằng quy trình theo sáng chế so với khi thu được bởi quy trình so sánh.

Do đó có thể thấy rằng các protein có kích cỡ nhỏ được bảo quản tốt hơn bởi quy trình theo sáng chế. Do đó, khiến cho có độ hòa tan lớn hơn trong nước hoặc trong pha động và tỷ lệ các protein có kích cỡ nhỏ lớn hơn trong phân đoạn rắn này, quy trình so sánh dường như góp phần vào sự phá hủy các sản phẩm này trong quá trình kết tụ và các pha gia nhiệt.

4. Tiêu thụ năng lượng

Cuối cùng, việc tính toán mức tiêu thụ năng lượng được tiến hành để so sánh quy trình theo sáng chế với hai quy trình so sánh.

Quy trình so sánh ở mức pha loãng 1:0,5 làm tăng giá lên 19,8 lần so với của quy trình theo sáng chế và quy trình so sánh ở mức pha loãng 1:0,75 làm tăng giá lên 20,2 lần so với quy trình theo sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình xử lý côn trùng bao gồm các bước sau:
 - tách các lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng,
 - làm chín phần mềm của côn trùng, trong khi đó phần mềm của côn trùng được khuấy, sau đó
 - tách phần mềm của côn trùng thành phân đoạn chất béo, phân đoạn rắn và phân đoạn nước.
2. Quy trình theo điểm 1, trong đó bước tách các lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng được tiến hành bằng cách sử dụng thiết bị nén lọc.
3. Quy trình theo điểm 1, trong đó bước tách các lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng được tiến hành bằng cách sử dụng máy tách băng chuyên.
4. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó bước làm chín được tiến hành ở nhiệt độ trong khoảng từ 65 đến 100°C.
5. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó phần mềm của côn trùng không được pha loãng.
6. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, bao gồm bước cô đặc phân đoạn nước.
7. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, cũng bao gồm bước trộn phân đoạn rắn với:
 - toàn bộ hoặc một phần phân đoạn nước đã được cô đặc; và/hoặc
 - toàn bộ hoặc một phần lớp cutin,
 để thu được hỗn hợp.

8. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, bao gồm bước làm khô phân đoạn rắn hoặc hỗn hợp để lần lượt thu được phân đoạn rắn khô hoặc hỗn hợp khô.
9. Quy trình theo điểm 8, cũng bao gồm bước nghiền phân đoạn rắn khô hoặc hỗn hợp khô.
10. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, bao gồm bước làm chết côn trùng trước khi tách các lớp cutin ra khỏi phần mềm.
11. Quy trình theo điểm 10, trong đó sau bước làm chết, côn trùng được sử dụng trực tiếp để tiến hành bước tách các lớp cutin ra khỏi phần mềm của côn trùng.

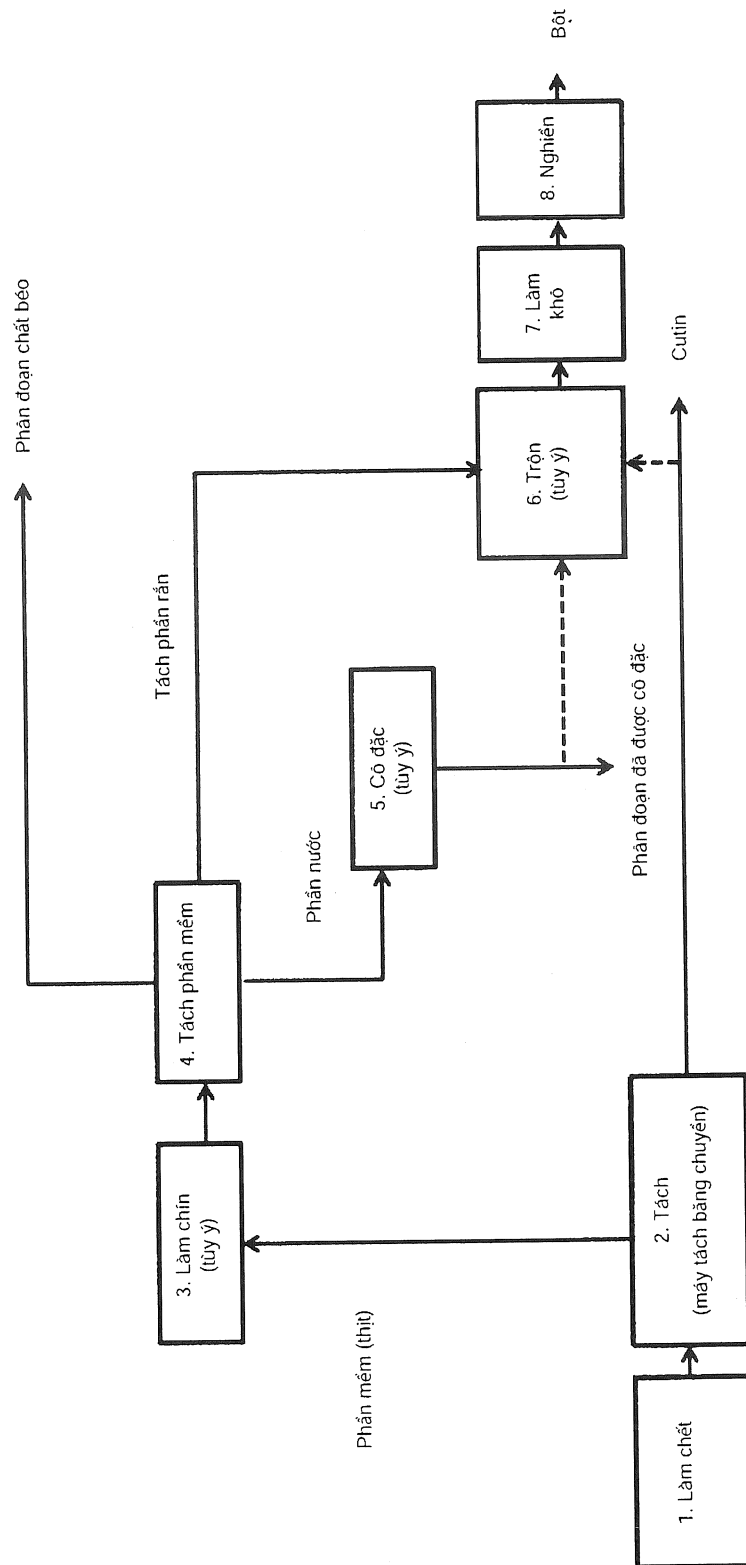


Fig. 1

2/9

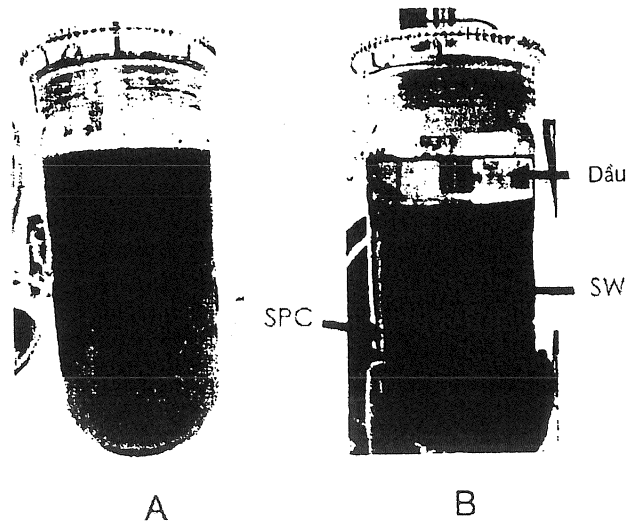


Fig. 2

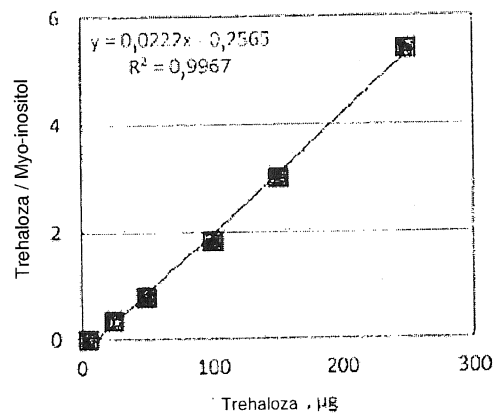


Fig. 3

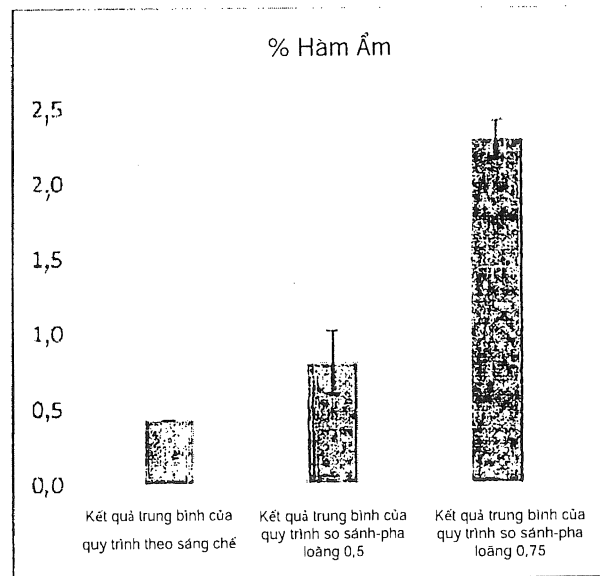


Fig. 4

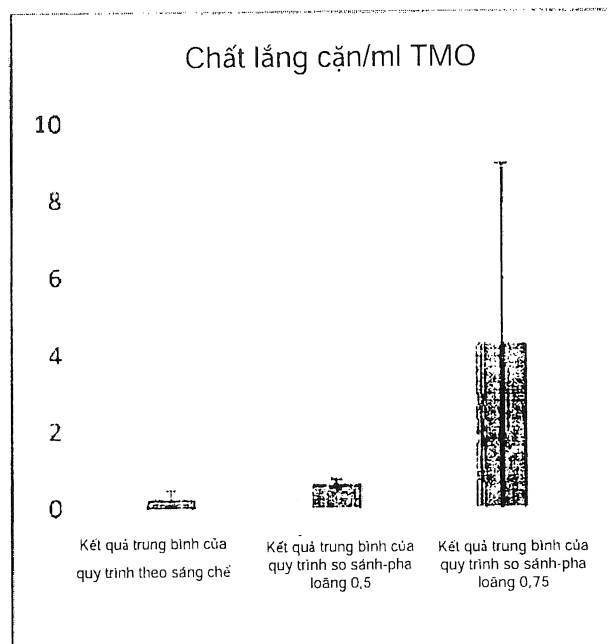


Fig. 5

4/9

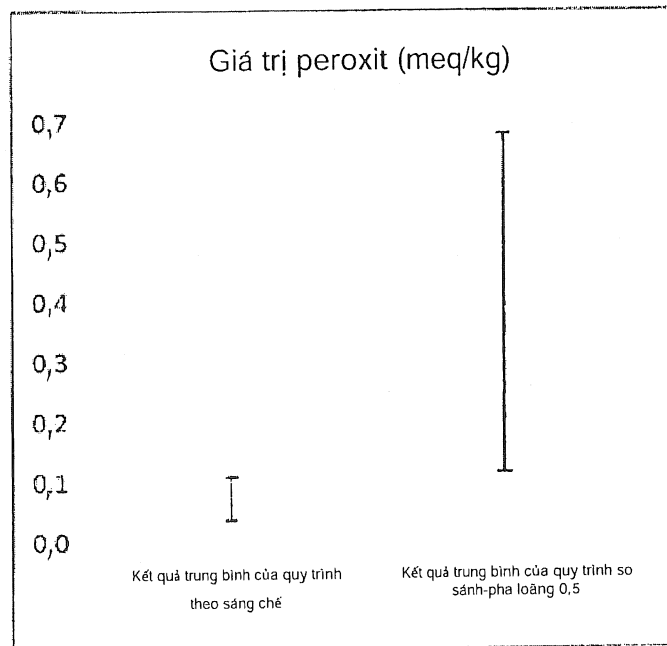


Fig. 6

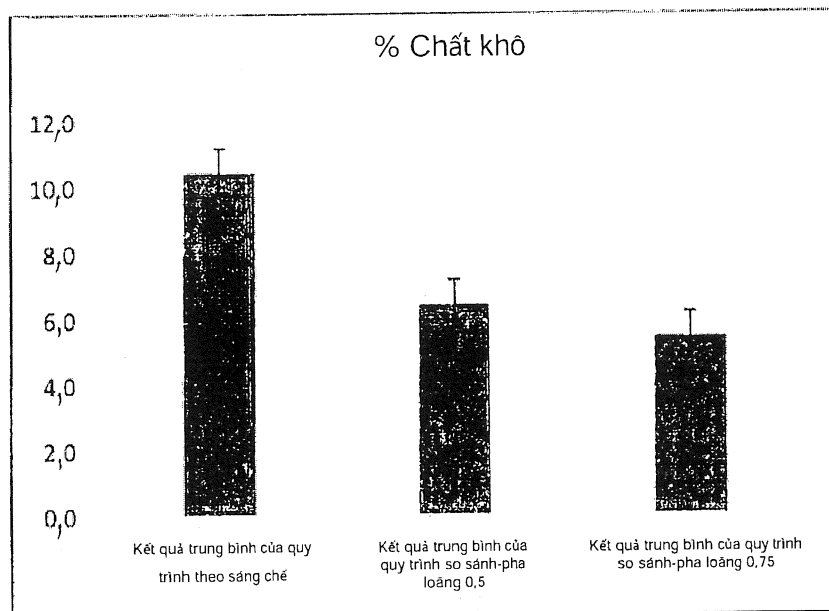


Fig. 7

5/9

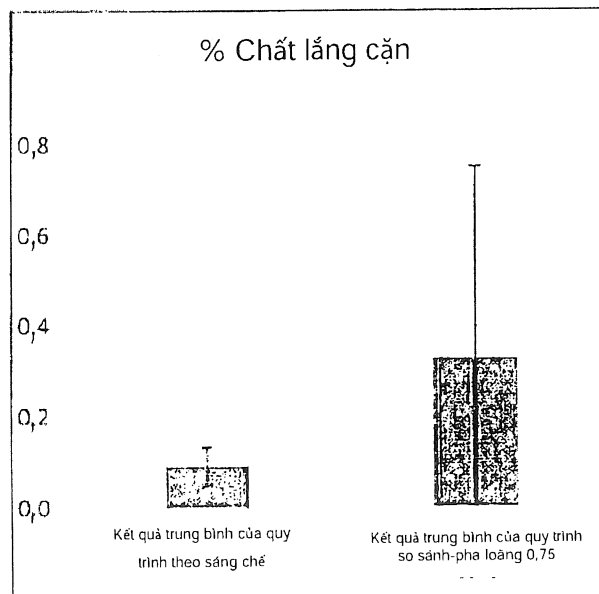


Fig. 8

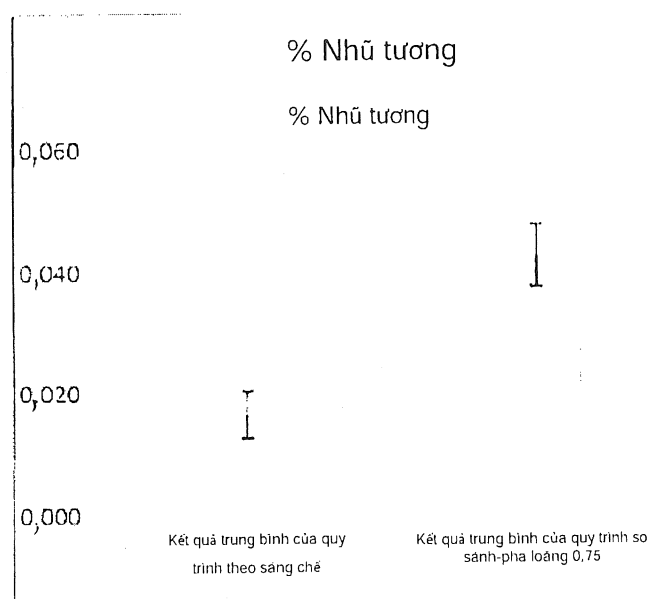


Fig. 9

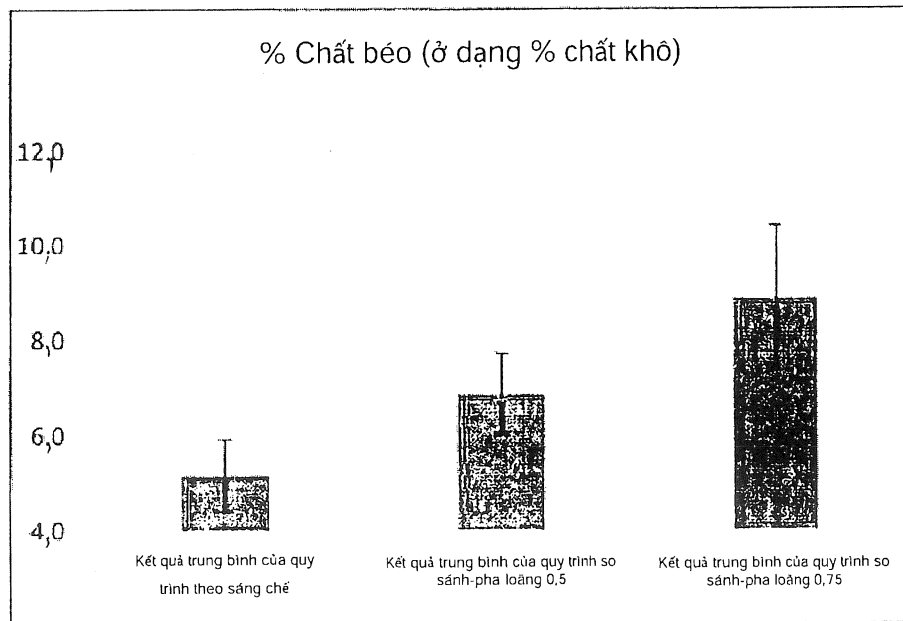


Fig. 10

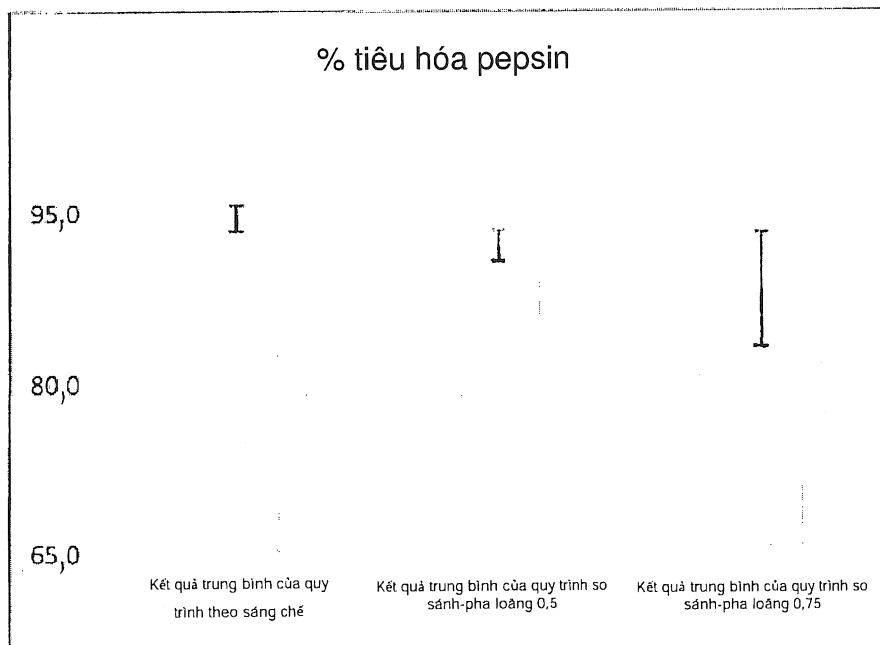


Fig. 11

7/9

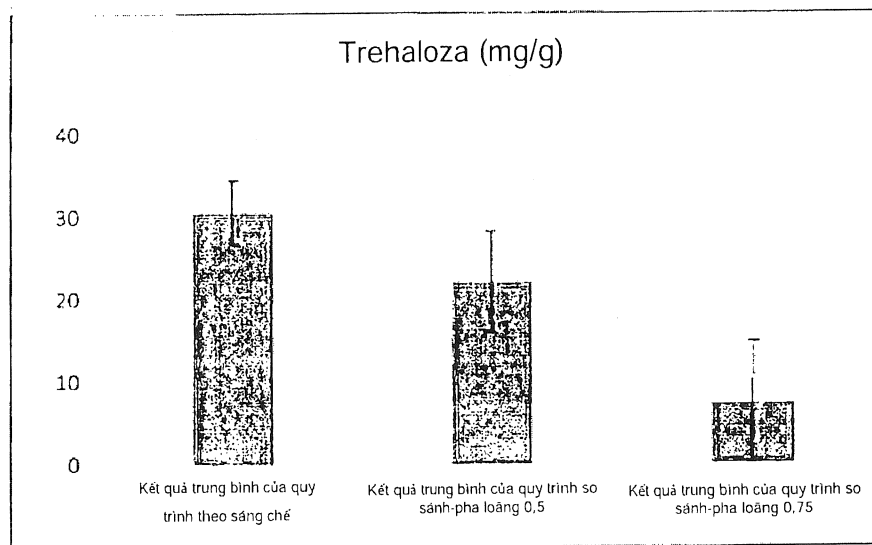


Fig. 12

Màu

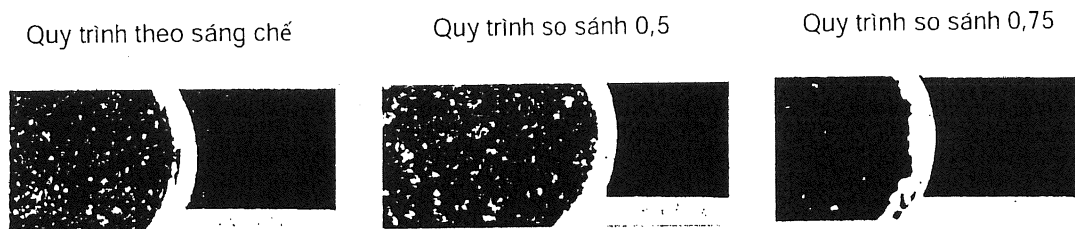


Fig. 13

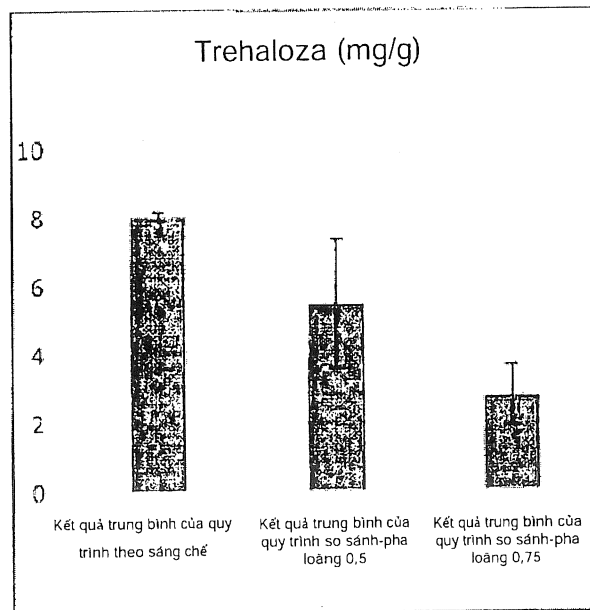


Fig. 14

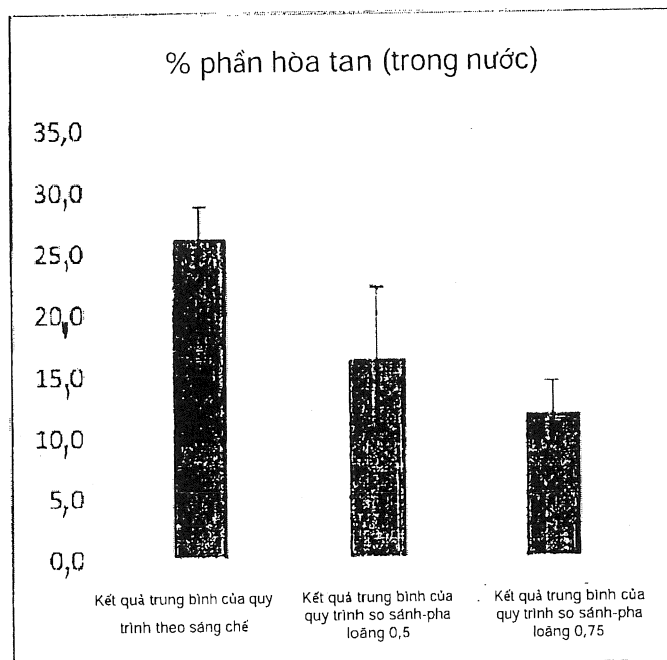


Fig. 15

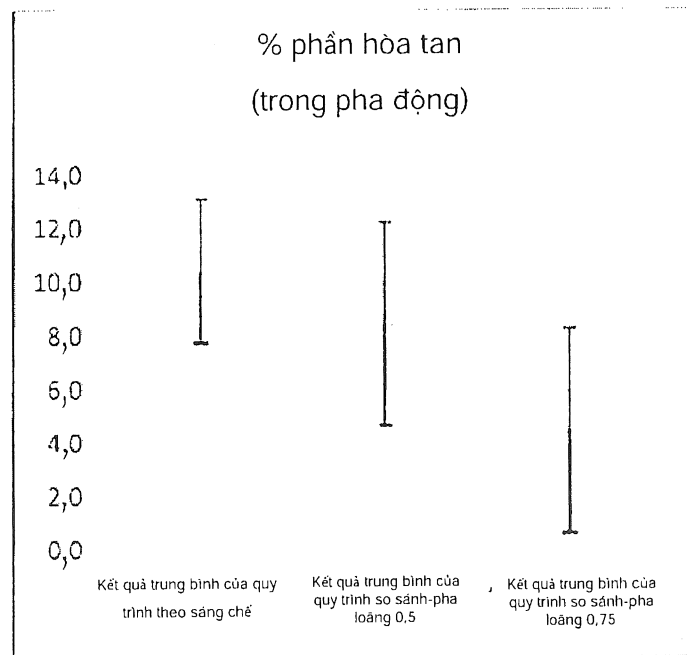


Fig. 16

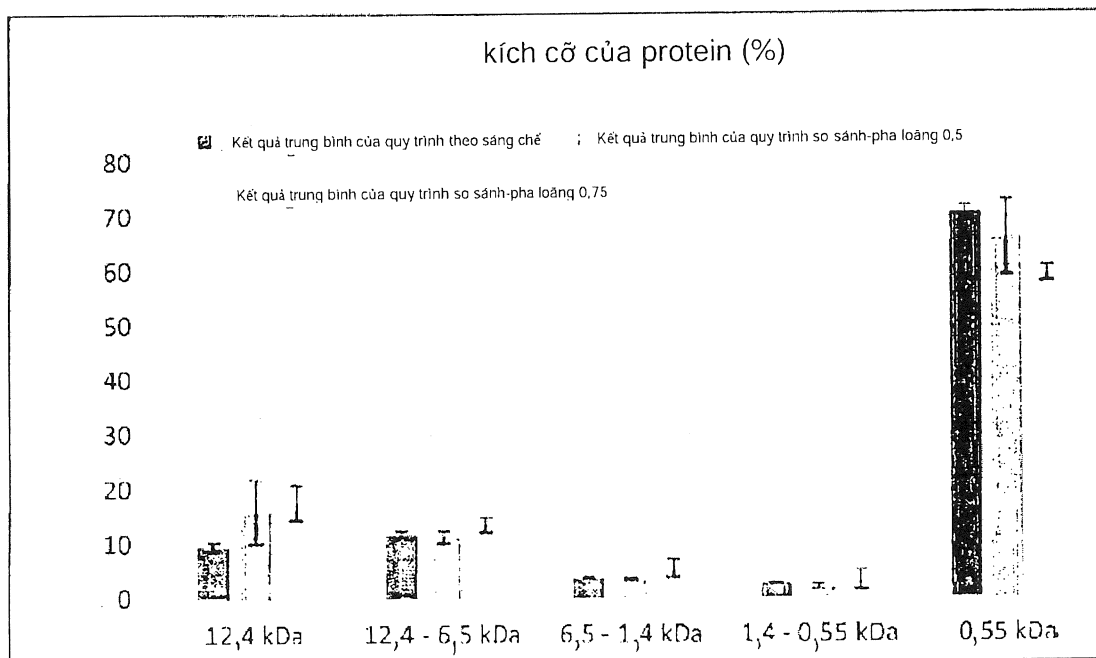


Fig. 17