



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

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

(11)



1-0040233

(51)⁷ C07H 17/07; A23L 1/302; A23L 2/52; (13) B
A61K 31/7048; A61K 8/67; C12P 19/44;
A61P 35/00; A61P 9/00; A61Q 19/00;
A61Q 19/10; A23L 1/226; A61P 31/12

(21) 1-2016-03700

(22) 03/03/2015

(86) PCT/JP2015/056230 03/03/2015

(87) WO2015/133483 11/09/2015

(30) 2014-041066 03/03/2014 JP; 2014-266504 26/12/2014 JP

(45) 25/06/2024 435

(43) 25/01/2017 346A

(73) HAYASHIBARA CO., LTD. (JP)

675-1, Fujisaki, Naka-ku, Okayama-shi, Okayama 7028006 Japan

(72) KAMBE Mitsuyuki (JP); NISHI Koichi; (JP); KAWASHIMA Akira; (JP); YASUDA Akiko (JP); MITSUZUMI Hitoshi; (JP); ARIYASU Toshio; (JP).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) CHẾ PHẨM GLYCOSYL HESPERETIN VÀ PHƯƠNG PHÁP TẠO RA CHẾ PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề xuất chế phẩm glycosyl hesperetin được làm giảm đáng kể vị pha tạp đặc trưng của sản phẩm thông thường chứa glycosyl hesperetin, và phương pháp tạo ra hợp chất này và các ứng dụng của nó; và mục đích của sáng chế được giải quyết bằng cách tạo ra chế phẩm glycosyl hesperetin chứa glycosyl hesperetin với lượng 90% hoặc lớn hơn tính theo khối lượng nhưng nhỏ hơn 100% khối lượng, trên cơ sở chất rắn khô, nhưng hầu như không chứa furfural, và phương pháp tạo ra hợp chất này và các ứng dụng của nó.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

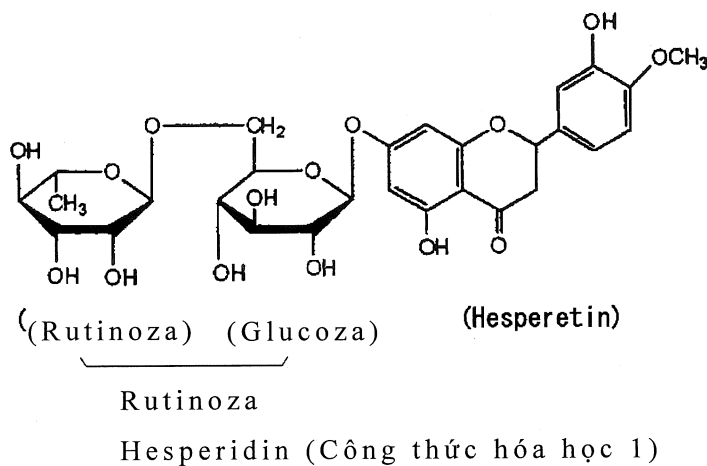
Sáng chế đề cập đến chế phẩm glycosyl hesperetin mới, và cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến chế phẩm glycosyl hesperetin mà có vị pha tạp được giảm đáng kể, và đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm này. Mặc dù chi tiết sáng chế sẽ được mô tả sau đây, thuật ngữ glycosyl hesperetin được dùng trong bản mô tả là để chỉ chung đến các hợp chất mà chứa hesperetin được kết hợp với saccarit (sau đây được gọi là “hợp chất có cấu trúc hesperetin”); hesperidin, 7-O- β -glucosyl hesperetin có cấu trúc một phần của hesperidin, trong đó gốc rhamnoza là thành phần cấu thành rutinoza trong hesperidin được giải phóng từ đó, và α -glycosyl hesperidin, trong đó một đương lượng mol hoặc nhiều hơn saccarit như D-glucosa, D-fructoza, và D-galactoza được liên kết với hesperidin bằng liên kết α .

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Đã biết rằng, trong số các vitamin, vitamin P liên quan đến chức năng sinh lý của vitamin C trong cơ thể sống, ví dụ, liên quan đến phản ứng hydroxyl hóa của prolin và lysin cần thiết đối với quá trình tổng hợp collagen là thành phần chính của mô liên kết sinh học, cũng như liên quan đến phản ứng oxy hóa khử của phản ứng khử Fe^{+++} trong xytochrome C thành Fe^{++} và, liên quan đến tác dụng tăng cường miễn dịch của chúng tăng bạch cầu; và đóng một vai trò quan trọng trong việc duy trì và tăng cường sức khỏe của cơ thể sống.

Hesperidin, còn được biết đến là vitamin P, là hợp chất có Công thức hóa học I sau đây với cấu trúc hesperetin, trong đó rutinoza chứa rhamnoza và glucoza liên kết với hesperetin, và nó là dạng flavonoid có nhiều trong vỏ quả của hoa quả họ cam quýt; hơn nữa, nó còn được biết đến và được sử dụng trong thời gian dài như là vitamin P có chức năng sinh lý tăng cường mao mạch, ngăn ngừa chảy máu và điều hòa áp suất; và được sử dụng rộng rãi trong các sản phẩm thực phẩm, mỹ phẩm và dược phẩm chẳng hạn.

Công thức hóa học 1:



Ngoài việc sử dụng hesperidin làm tác nhân làm giàu vitamin P như là chất dinh dưỡng vi lượng, khi xem xét cấu trúc hóa học và chức năng sinh lý, hesperidin có thể được đưa vào sản phẩm thực phẩm riêng rẽ hoặc kết hợp với các vitamin khác làm chất chống oxy hóa, chất ổn định, tác nhân cải thiện chất lượng, tác nhân hấp thụ tia cực tím v.v.; vào trong dược phẩm như tác nhân phòng hoặc điều trị bệnh, tức là tác nhân cho các bệnh nhạy với hesperidin như bệnh do virus, bệnh do vi khuẩn, bệnh liên quan đến tuần hoàn máu, và khối u di căn mà nhạy với hesperidin; và thậm chí được sử dụng trong mỹ phẩm như tác nhân làm đẹp da, tác nhân làm trắng da và tác nhân chống lão hóa như chất làm

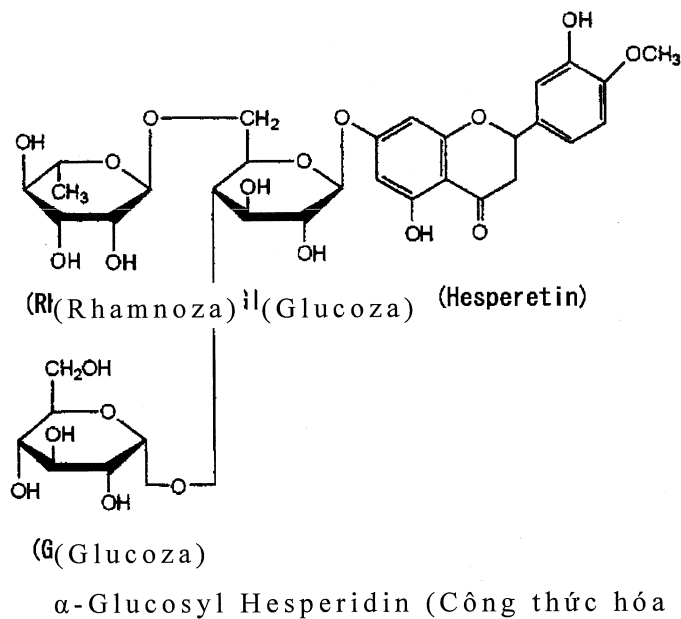
ổn định, chất chống oxy hóa, và tác nhân hấp thụ tia tử ngoại, và tác nhân ức chế sự hình thành melamin. Do đó, hesperidin được sử dụng khá là rộng rãi.

Tuy nhiên, do hesperidin khó hòa tan trong nước ở nồng độ thấp chỉ khoảng 1g trong 50 lít nước (hoặc khoảng 0,002% trọng lượng/thể tích) ở nhiệt độ môi trường, nên nó khó để sử dụng.

Về phương pháp cải thiện vấn đề nêu trên, ví dụ, tài liệu patent 1 mô tả hợp chất α -glycosyl hesperidin, được điều chế bằng cách cho enzym chuyển hóa saccarit (hoặc glycosyltransferaza) tác dụng với dung dịch chứa hesperidin và dịch thủy phân tinh bột một phần, có độ hòa tan trong nước tương đối cao, và được thủy phân dễ dàng *in vivo* để thực hiện chức năng sinh lý vốn có của hesperidin mà không ngại gây ra độc tính bất kỳ, và phương pháp điều chế hợp chất này.

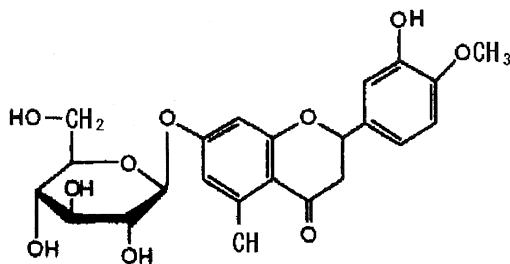
Làm ví dụ tiêu biểu về α -glycosyl hesperidin, α -glucosyl hesperidin, được biết là hesperidin đã được xử lý bằng enzym, glycosyltransferaza/glycosyl hesperidin, hesperidin tan trong nước, hoặc glycosyltransferaza/glycosyl vitamin P, là hợp chất được thể hiện trong Công thức hóa học 2 sau đây, trong đó 1 phân tử glucoza được liên kết với glucoza khác trong cấu trúc rutinoza của hesperidin nhờ liên kết α , và được thương mại hóa dưới dạng sản phẩm chứa chất này làm thành phần chính, ví dụ “HAYASHIBARA HESPERIDIN S”, tên sản phẩm của glucosyl hesperidin, sản phẩm thương mại của công ty Hayashibara Co., Ltd., Okayama, Japan.

Công thức hóa học 2:



Đã biết rằng, các sản phẩm thông thường chứa α -glycosyl hesperidin, chứa đồng thời hesperidin được biết là chất nguyên nhân làm giảm độ hòa tan trong nước của α -glycosyl hesperidin; và, làm thử nghiệm để cải thiện độ giảm nêu trên, chuyển hóa hesperidin thành 7-O- β -glucosyl hesperetin, như được thể hiện trong Công thức hóa học 3 sau đây, chất này có thể thu được bằng cách giải phóng gốc rhamnoza mà cấu thành nên cấu trúc rutinoza của hesperidin và có độ hòa tan trong nước cao hơn rõ rệt so với hesperidin. Ví dụ, tài liệu patent 2 mô tả phương pháp tạo ra sản phẩm có hàm lượng α -glycosyl hesperidin cao với độ hòa tan trong nước được cải thiện bằng cách cho phép α -L-rhamnosidaza (EC 3. 2. 1. 40) tác động lên dung dịch chứa hesperidin cùng với α -glucosyl hesperidin ở nồng độ tương đối cao để chuyển hóa hesperidin thành 7-O- β -glucosyl hesperetin và làm giảm hàm lượng của hesperidin còn lại.

Công thức hóa học 3:



(Glucosa) (Hesperidin)

7-O- β -Glucosyl hesperidin (Công thức hóa học 3)

Sản phẩm chứa glycosyl hesperetin, tức là, sản phẩm được gọi là glycosyl hesperetin như hesperidin, α -glucosyl hesperidin, và 7-O- β -glucosyl hesperetin thông thường (sau đây có thể được gọi đơn giản là “sản phẩm thông thường”), có vị đắng đặc biệt (bao gồm cả vị thô, vị chát, hoặc vị se) và hậu vị không mong muốn, tức là, vị pha tạp, được mô tả, ví dụ, trong tài liệu patent 3, phương pháp thêm axit malic vào đồ uống chứa α -glycosyl hesperidin, tức là, glycosyl hesperetin, còn được biết là hesperidin tan trong nước, là phương pháp cải thiện tác dụng nêu trên.

Tuy nhiên, cho đến nay, vẫn chưa có sản phẩm glycosyl hesperidin bất kỳ được tạo ra nào mà vị pha tạp của nó đặc trưng cho sản phẩm thông thường này được cải thiện đến mức độ hài lòng nhất.

Tài liệu patent

tài liệu patent 1: Đơn yêu cầu cấp patent Nhật số 3060227

tài liệu patent 2: Đơn yêu cầu cấp patent Nhật số 3833811

tài liệu patent 3: Japanese Patent Kokai No. 2011-126849

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế

Sáng chế, được tạo ra để khắc phục các thiếu sót nêu trên, nhằm mục đích tạo ra chế phẩm α -glycosyl hesperetin mà có vị pha tạp được giảm một cách đáng kể so với các sản phẩm thông thường, và quy trình tạo ra chế phẩm này.

Phương thức thực hiện để đạt được mục đích sáng chế

Tác giả sáng chế tập trung vào vị pha tạp được coi là nhược điểm của sản phẩm thông thường và nỗ lực thực hiện nghiên cứu với mục đích khắc phục được nhược điểm này. Tác giả sáng chế giả định rằng buộc phải tồn tại một hoặc nhiều chất làm nguyên nhân gây ra vị pha tạp của sản phẩm thông thường, mà vốn có trong một số nguyên liệu cấu thành nên sản phẩm này (sau đây có thể được gọi đơn giản là “chất gây ra vị pha tạp”) hoặc chất nguyên nhân này được hình thành trong các bước tạo thành nó. Theo giả định này, tác giả sáng chế lặp lại nhiều nghiên cứu khác nhau dựa trên phương pháp làm giảm vị pha tạp của sản phẩm thông thường và tìm ra chế phẩm glycosyl hesperetin mới mà vị pha tạp của nó được giảm một cách đáng kể so với sản phẩm thông thường, khi tác nhân làm giảm cùng tồn tại trong bước bất kỳ của quá trình hình thành. Ngoài ra, Tác giả sáng chế còn phát hiện ra rằng hợp chất glycosyl hesperetin mới được giảm đáng kể về

màu và mùi so với sản phẩm thông thường. Hơn nữa, tác giả sáng chế đã so sánh chi tiết các dấu hiệu của chế phẩm glycosyl hesperetin mới thu được theo sáng chế với các dấu hiệu của sản phẩm thông thường và phát hiện ra những điểm sau đây:

(A) Cả hai đều là các sản phẩm trên cơ sở glycosyl hesperetin nhưng khác biệt về hàm lượng furfural, tức là, aldehyt thơm là thành phần vi lượng, hoặc 2-furancarboxyaldehyt theo danh pháp IUPAC; và

(B) chế phẩm glycosyl hesperetin mới có vị pha tạp được giảm đáng kể theo sáng chế có hàm lượng furfural được giảm đáng kể so với sản phẩm thông thường, và nói cách khác là chế phẩm có hàm lượng furfural giảm đáng kể là chế phẩm glycosyl hesperetin mà được giảm đáng kể vị pha tạp so với sản phẩm thông thường. Dựa trên những phát hiện này, tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng, hàm lượng furfural chắc chắn là một chỉ số để thu được chế phẩm glycosyl hesperetin mà được làm giảm đáng kể vị pha tạp.

Dựa trên cơ sở về các phát hiện trên đây, tác giả sáng chế đã đề xuất sáng chế theo cách tập trung vào hàm lượng furfural, làm chỉ số để thu được chế phẩm glycosyl hesperetin mà được làm giảm đáng kể vị pha tạp là khiếm khuyết của sản phẩm thông thường, được chứa trong chế phẩm glycosyl hesperetin này; và thu được chế phẩm glycosyl hesperetin mong muốn, mà được làm giảm đáng kể vị pha tạp so với sản phẩm thông thường, bằng cách sử dụng tác nhân khử trong bước bất kỳ của quy trình hình thành nó làm phương pháp để thu được chế phẩm glycosyl hesperetin này mà được làm giảm đáng kể hàm lượng furfural.

Sáng chế giải quyết mục đích nêu trên bằng cách tạo ra chế phẩm glycosyl hesperetin mà hầu như không chứa furfural. Thuật ngữ “hầu như không chứa furfural” trong bản mô tả này là để chỉ hàm lượng của furfural trong glycosyl hesperetin ở mức thấp đáng kể so với sản phẩm thông thường. Nói một cách cụ thể, có nghĩa là mức độ hàm lượng furfural thường nhỏ hơn 200ppb, trong đó 1ppb tức là một phần tỷ, tốt hơn là nhỏ hơn 100ppb, tốt hơn nữa là nhỏ hơn 50ppb, còn tốt hơn nữa là nhỏ hơn 30ppb, tốt nữa là nhỏ hơn 20ppb, đặc biệt tốt hơn là nhỏ hơn 15ppb, và tốt nhất là nhỏ hơn 10ppb, khi được xác định bằng phương pháp phân tích được mô tả sau đây bằng cách sử dụng quang phổ khối sắc ký khí (sau đây được viết tắt là “phép phân tích GC/MS”) được thể hiện trong mục “(1) Hàm lượng furfural” trong Ví dụ thử nghiệm 1 được mô tả sau đây. Trong số các chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế, các chế phẩm mà hàm lượng furfural của nó được làm giảm đến mức tối đa đến dưới giới hạn phát hiện của phép phân tích GC/MS là các chế phẩm glycosyl hesperetin có chất lượng cao rõ rệt mà vị pha tạp của nó được làm giảm một cách đáng kể so với sản phẩm thông thường và cả màu sắc của nó cũng được giảm rõ rệt. Bỏ qua việc sử dụng chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế trong các lĩnh vực dược phẩm, thiết bị chính xác, v.v., glycosyl hesperetin có độ tinh khiết cao nhất là không cần thiết khi được sử dụng trong các lĩnh vực thực phẩm, thực phẩm đặc sản (“shikohin”), mỹ phẩm, nguyên liệu/vật liệu công nghiệp, thức ăn chăn nuôi, môi, vật liệu may mặc, những sản phẩm khác bao gồm hàng hóa, hoặc các sản phẩm nhựa; tức là chế phẩm glycosyl hesperetin không nhất thiết phải là chế phẩm có hàm lượng furfural giảm đến mức thấp hơn giới hạn phát hiện, cũng không cần phải là chế phẩm hoàn toàn không có

furfural. Do đó, chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế bao gồm các chế phẩm hầu như không chứa furfural hoặc các chế phẩm mà chứa furfural ở mức độ thấp đơn đáng kể so với sản phẩm thông thường hoặc ở mức không thể phát hiện được, miễn là đạt được mục đích mong muốn của sáng chế.

Sáng chế giải quyết mục đích khác nêu trên đây bằng cách đề xuất phương pháp tạo ra chế phẩm glycosyl hesperetin, phương pháp này bao gồm các bước (a) điều chế dung dịch nước chứa hesperidin và dịch thủy phân tinh bột một phần, (b) để enzym glycosyltransferaza tác động trong dung dịch nước để tạo ra glycosyl hesperetin chứa α -glucosyl hesperidin, và (c) thu gom glycosyl hesperetin tạo thành, trong đó một hoặc nhiều bước trong số các bước từ (a) đến (c) được thực hiện với sự có mặt của tác nhân khử, hoặc tác nhân khử được thêm vào nguyên liệu ban đầu được sử dụng trước khi thực hiện một hoặc nhiều bước từ (a) đến (c) và/hoặc được thêm vào sản phẩm tạo thành ở bước bất kỳ.

Ngoài ra, sáng chế giải quyết mục đích khác được nêu trên đây bằng cách đề xuất sản phẩm thực phẩm, sản phẩm đặc sản, mỹ phẩm, dược phẩm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu/vật liệu công nghiệp, đồ ăn, môi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, hoặc các sản phẩm nhựa, tất cả các chất này chứa glycosyl hesperetin theo sáng chế.

Sáng chế còn giải quyết mục đích khác được nêu trên đây bằng cách đề xuất phương pháp làm giảm vị pha tạp của sản phẩm chứa glycosyl hesperetin, phương pháp này bao gồm bước để sản phẩm tiếp xúc với tác

nhân khử.

Tác dụng của sáng chế

Không giống với các sản phẩm thông thường, chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế khác biệt ở chỗ được làm giảm đáng kể vị pha tạp. Theo phương pháp tạo ra chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế hoặc phương pháp làm giảm vị pha tạp của sản phẩm chứa glycosyl hesperetin theo sáng chế, có thể có lợi ích thực tiễn khi tạo ra chế phẩm glycosyl hesperetin mà được làm giảm đáng kể vị pha tạp so với sản phẩm thông thường ở quy mô công nghiệp, ổn định, và có hiệu suất tương đối cao, cũng như dễ dàng thực hiện và có chi phí thấp hơn. Do đó, chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế tốt hơn là có thể được sử dụng trong các vật phẩm/hàng hóa/sản phẩm trong đó sản phẩm thông thường hầu như không được sử dụng hoặc có vấn đề do vị pha tạp của riêng nó hoặc cùng với vấn đề màu sắc của nó, hoặc thậm chí do mùi vị của nó. Do chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế có vị pha tạp giảm đáng kể, cũng như được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị so với sản phẩm thông thường, nên nó có lợi ích thực tiễn đáng kể ở chỗ tạo ra sản phẩm chất lượng cao khi chúng được tạo ra qua các bước gia nhiệt.

Mô tả chi tiết sáng chế

Phần sau đây sẽ giải thích các phương pháp được ưu tiên theo sáng chế, nó chỉ nhằm minh họa cho các phương pháp thực hiện được ưu tiên của sáng chế, mà không làm giới hạn sáng chế.

Chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế giống với sản phẩm thông thường ở chỗ chúng chứa chủ yếu glycosyl hesperetin, nhưng chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế là chế phẩm glycosyl hesperetin mới mà được làm giảm đáng kể vị pha tạp so với sản phẩm thông thường.

Thuật ngữ “glycosyl hesperetin” được dùng trong sáng chế là để chỉ chế phẩm mà chứa (1) α -glycosyl hesperidin và (2) một hoặc cả hai chất gồm hesperidin và 7-O- β -glucosyl hesperetin, tức là, hỗn hợp của glycosyl hesperetin làm thành phần chính; và còn gồm (3) flavonoid như narirutin, diosmin, neoponxirin, và glucosyl narirutin, và (4) các thành phần vi lượng như muối. Tổng phần trăm (% theo khối lượng) của các thành phần (1) và (2) nêu trên trong chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế (sau đây gọi đơn giản là “hàm lượng glycosyl hesperetin”, trừ khi có quy định khác), trên cơ sở chất rắn khô (*dry solid basis: d.s.b.*), thường là ít nhất 90% khối lượng nhưng nhỏ hơn 100% khối lượng, tốt hơn là ít nhất 93% khối lượng nhưng nhỏ hơn 100% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 95% khối lượng nhưng nhỏ hơn 100% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 97% khối lượng nhưng nhỏ hơn 100% khối lượng, và ít nhất 98% khối lượng nhưng nhỏ hơn 100% khối lượng (trong toàn bộ bản mô tả, “% theo khối lượng” được viết tắt là “%”, nếu không có quy định khác).

Bỏ qua việc sử dụng glycosyl hesperetin theo sáng chế trong lĩnh vực dược phẩm, thiết bị chính xác, v.v., khi nó được sử dụng trong lĩnh vực thực phẩm, sản phẩm đặc sản, mỹ phẩm, nguyên liệu/vật liệu công nghiệp, thức ăn chăn nuôi, môi, vật liệu may mặc, những sản phẩm khác bao gồm các loại hàng hóa, hoặc các sản phẩm nhựa, trong đó glycosyl hesperetin có độ tinh

khiết cao nhất có thể không thực sự cần thiết hoặc thậm chí chế phẩm có độ tinh khiết tương đối thấp hầu như cũng không gây ra vấn đề cụ thể bất kỳ, giới hạn trên của glycosyl hesperetin theo sáng chế thường là 99% tính theo d.s.b., mức này dễ dàng cho phép cung cấp ở quy mô công nghiệp và ở mức chi phí thấp hơn; 98% tính theo d.s.b., mức này cho phép cung cấp ở mức chi phí thấp hơn; và thậm chí ở mức thấp tối đa đến 97% hoặc thấp hơn tính theo d.s.b., mức này cho phép cung cấp ở mức chi phí thấp hơn nữa, trong khi việc xem xét sự hình thành sản phẩm cuối cùng và có thể cho phép cung cấp sản phẩm ở mức chi phí thấp hơn. Tuy nhiên, trong trường hợp hàm lượng tính theo d.s.b., của glycosyl hesperetin trong glycosyl hesperetin theo sáng chế là tương đối thấp, chắc chắn sẽ đòi hỏi lượng lớn hơn trong trường hợp sử dụng chất có hàm lượng glycosyl hesperetin cao hơn, dẫn đến việc thực hiện khó khăn và khả năng thực hiện không theo ý muốn. Để tránh các khiếm khuyết này, giới hạn thấp hơn của hàm lượng glycosyl hesperetin thường ít nhất 90%, tốt hơn là ít nhất 93%, tốt hơn nữa là ít nhất 95%, và tốt hơn nữa là ít nhất 97%.

Ví dụ về các phương án được ưu tiên của glycosyl hesperetin theo sáng chế bao gồm các chất có hàm lượng α -glycosyl hesperidin là ít nhất 50% nhưng nhỏ hơn 100%, khi glycosyl hesperetin là α -glycosyl hesperidin như α -glucosyl hesperidin.

Trong trường hợp tạo ra glycosyl hesperetin theo sáng chế dưới dạng nguồn α -glucosyl hesperidin ở mức chi phí thấp hơn, giới hạn trên của hàm lượng α -glucosyl hesperidin trong glycosyl hesperetin theo sáng chế có thể thường là 90% hoặc thấp hơn để dễ dàng tạo ra nó ở quy mô công nghiệp,

với lượng tương đối lớn và ở mức chi phí thấp hơn; tốt hơn là 85% hoặc thấp hơn để tạo ra nó ở mức chi phí thấp hơn nhiều; và tốt hơn nữa là 80% hoặc thấp hơn để tạo ra hợp chất này ở mức chi phí thấp hơn nữa. Trong khi giới hạn dưới của lượng α -glucosyl hesperidin thường là ít nhất 60%, 65%, hoặc 70% với lý do tương tự như ở hàm lượng glycosyl hesperetin nêu trên đây. Cụ thể, ví dụ về các phương án được ưu tiên của glycosyl hesperetin theo sáng chế bao gồm hợp chất có hàm lượng α -glucosyl hesperidin nằm trong khoảng từ 60 đến 90% tính theo d.s.b.

Hàm lượng glycosyl hesperetin trong chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế được nêu trên đây có thể được xác định bằng thiết bị đo bất kỳ thường được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ về việc xác định này là như sau: hàm lượng glycosyl hesperetin được xác định bằng cách lấy mẫu glycosyl hesperetin theo sáng chế; pha loãng hoặc hòa tan mẫu với nước tinh khiết để tạo ra nồng độ, ví dụ 0,1% trọng lượng; lọc dung dịch tạo thành bằng màng lọc thương mại kích cỡ 0,45 μ m; đưa dịch lọc vào sắc ký lỏng tính năng cao (sau đây gọi là “HPLC” (*high-performance liquid chromatography*)) bằng cách sử dụng chất phản ứng loại hesperidin, được phân phối thương mại bởi Công ty Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Tokyo, Japan, là chất chuẩn trong các điều kiện sau đây; và tính hàm lượng glycosyl hesperetin dựa trên diện tích của mỗi đỉnh xuất hiện trong phổ sắc ký ở bước sóng UV là 280nm và trọng lượng phân tử tương ứng với mỗi đỉnh của mỗi chế phẩm glycosyl hesperetin như hesperidin, α -glycosyl hesperidin (α -glucosyl hesperidin, v.v.), hoặc 7-O- β -glucosyl hesperetin. Việc xác định lượng glycosyl hesperetin được trình bày dưới đây:

Điều kiện phân tích HPLC:

- Thiết bị HPLC: “LC-20AD”, được phân phối thương mại bởi Công ty SHIMADZU CORPORATION, Kyoto, Nhật Bản
- Máy khử khí: “DGU-20A3”, được phân phối thương mại bởi Công ty SHIMADZU CORPORATION, Kyoto, Nhật Bản
- Cột: “CAPCELL PAK C18 UG 120”, được phân phối thương mại bởi Công ty Shiseido Co., Ltd., Tokyo, Nhật Bản
- Thể tích mẫu truyền: 10µl
- Dung môi rửa giải: nước/axetonitril/axit axetic (80/20/0,01 (theo tỷ lệ thể tích))
- Tốc độ chảy: 0,7ml/phút
- Nhiệt độ: 40°C
- Phát hiện: “SPD-20A”, detector UV, được phân phối thương mại bởi Công ty SHIMADZU CORPORATION, Kyoto, Nhật Bản
- Bước sóng đo: 280nm
- Thiết bị xử lý dữ liệu: “CHROMATOPAC C-R7A” được phân phối thương mại bởi Công ty SHIMADZU CORPORATION, Kyoto, Nhật Bản

Xác định lượng glycosyl hesperetin:

(1) Hàm lượng hesperidin: Được phân tích theo HPLC và được tính toán dựa trên cơ sở tỷ lệ của diện tích đỉnh của hesperidin trong mẫu với diện tích của chất phản ứng loại hesperidin là chất chuẩn, được phân phối thương mại bởi Công ty Wako Pure Chemical Industries, Tokyo, Nhật Bản, ở nồng độ quy định trước.

(2) Hàm lượng α -glucosyl hesperidin: Được phân tích theo HPLC và được tính toán dựa trên cơ sở tỷ lệ của diện tích đỉnh của α -glucosyl hesperidin trong mẫu với diện tích của chất phản ứng loại hesperidin là chất chuẩn, được phân phối thương mại bởi Công ty Wako Pure Chemical Industries, Tokyo, Nhật Bản, ở nồng độ quy định trước; và dựa trên tỷ lệ trọng lượng phân tử của α -glucosyl hesperetin với hesperidin.

(3) Hàm lượng 7-O- β -glucosyl hesperetin: Được phân tích theo HPLC và được tính toán dựa trên cơ sở tỷ lệ của diện tích đỉnh của 7-O- β -glucosyl hesperetin trong mẫu với diện tích của chất phản ứng loại hesperidin là chất chuẩn, được phân phối thương mại bởi Công ty Wako Pure Chemical Industries, Tokyo, Nhật Bản, ở nồng độ quy định trước; và dựa trên tỷ lệ trọng lượng phân tử của α -glucosyl hesperetin với hesperidin.

(4) Hàm lượng của các glycosyl hesperetin khác: \được phân tích theo HPLC và được tính toán dựa trên cơ sở tỷ lệ của diện tích đỉnh của mỗi loại glycosyl hesperetin khác trong mẫu với diện tích của chất phản ứng loại hesperidin là chất chuẩn, được phân phối thương mại bởi Công ty Wako Pure

Chemical Industries, Tokyo, Nhật Bản, ở nồng độ quy định trước; và dựa trên tỷ lệ của trọng lượng phân tử của các α -glucosyl hesperetin tương ứng khác với hesperidin.

Thuật ngữ “hàm lượng của glycosyl hesperetin tính theo d.s.b.” trong glycosyl hesperetin theo sáng chế tức là phần trăm (%) của tổng hàm lượng glycosyl hesperetin được xác định trong các mục từ (1) đến (4) trên đây với trọng lượng tính theo d.s.b. của glycosyl hesperetin theo sáng chế được sử dụng làm mẫu.

So với sản phẩm thông thường, chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế là chế phẩm được làm giảm đáng kể vị pha tạp và, thu được khi quan tâm đến hàm lượng furfural, hầu như không chứa furfural. Nói cách khác, hàm lượng furfural trong chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế là chỉ số để thu được glycosyl hesperetin mà được làm giảm đáng kể vị pha tạp, và sáng chế mô tả phương pháp tạo ra glycosyl hesperetin này bằng cách sử dụng hàm lượng furfural làm chỉ số. Đã được biết rộng rãi rằng hàm lượng furfural càng thấp hơn thì vị pha tạp của chế phẩm glycosyl hesperetin được làm giảm một cách đáng kể càng nhiều.

Trong quá trình phân tích đa khía cạnh chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế, tác giả sáng chế phát hiện ra rằng, trong số các chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế, các chế phẩm mà hầu như không chứa furfural và 4-vinyl anisol (sau đây được viết tắt là “4-VA”) còn được biết là 4-metoxystylen, một loại phenol ete, được làm giảm rõ rệt về vị pha tạp, cũng như màu sắc. Hàm lượng của 4-VA, được ước tính là thành phần có thể được

tạo ra từ nguyên liệu bất kỳ được sử dụng để tạo ra glycosyl hesperetin theo sáng chế, thường nhỏ hơn 30ppb so với khối lượng của glycosyl hesperetin tính theo d.s.b.; và hàm lượng của 4-VA thường là mối liên hệ song song với hàm lượng furfural trong glycosyl hesperetin mà có hàm lượng furfural nhỏ hơn 200ppb. Thuật ngữ “hầu như không chứa 4-VA” được dùng trong sáng chế là để chỉ rằng, tương tự như ở furfural, hàm lượng của 4-VA là ở mức thấp đáng kể so với sản phẩm thông thường. Cụ thể, hàm lượng của 4-VA trong glycosyl hesperetin theo sáng chế thường nhỏ hơn 30ppb, tốt hơn là nhỏ hơn 15ppb, tốt hơn nữa là 10ppb, còn tốt hơn nữa là nhỏ hơn 5ppb, tốt hơn nữa là nhỏ hơn 3ppb, và còn tốt hơn nữa là nhỏ hơn 2ppb so với khối lượng của glycosyl hesperetin tính theo d.s.b., khi được xác định theo phương pháp phân tích sử dụng phép phân tích GC/MS được thể hiện trong mục “(2) 4-VA” trong Ví dụ thử nghiệm 1 được mô tả sau đây.

Ngoài ra, chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế có dấu hiệu có lợi là được làm giảm đáng kể vị pha tạp là khiếm khuyết của sản phẩm thông thường; hoặc nó không chỉ có dấu hiệu có lợi là được làm giảm đáng kể vị pha tạp so với sản phẩm thông thường mà còn giữ lại được dấu hiệu có lợi này thậm chí khi được gia nhiệt sau khi được hòa tan trong dung dịch nước. Vị pha tạp của chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế có thể được đánh giá bằng đánh giá cảm quan bởi những người tình nguyện được thể hiện trong phần “Thử nghiệm 2: Đánh giá cảm quan” được mô tả sau đây.

Chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế có dấu hiệu kỹ thuật có lợi là được giảm rõ rệt về màu sắc so với sản phẩm thông thường (sau đây có thể được gọi là “cấp độ màu”). Cấp độ màu của chế phẩm glycosyl hesperetin

theo sáng chế được xác định bằng phương pháp được thể hiện trong mục “(2) Tông màu và cấp độ màu” trong Ví dụ thử nghiệm 1 được mô tả sau đây và được chỉ rõ như sau: Dung dịch nước với nồng độ xác định trước của glycosyl hesperetin theo sáng chế được đưa vào xử lý nhiệt trong bình chứa đầy kín, và dung dịch tạo thành được quan sát bằng kính hiển vi về tông màu của nó và được xác định hệ số hấp thụ của nó OD_{420nm} và OD_{720nm} ở bước sóng tương ứng là 420nm và 720nm, tiếp theo tính toán sự khác biệt giữa các hệ số hấp thụ này, $OD_{420nm} - OD_{720nm}$, để thu được giá trị để sử dụng làm cấp độ màu. Phương án được ưu tiên về chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế bao gồm các phương án mà có sự khác biệt nêu trên nhỏ hơn 0,24, tốt hơn là 0,20 hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là 0,17 hoặc thấp hơn, và còn tốt hơn nữa là 0 hoặc cao hơn 0,15 hoặc thấp hơn. Do sản phẩm thông thường có khiếm khuyết là bị gia tăng rõ rệt về cấp độ màu của nó khi được đun nóng, dung dịch nước trên đây được đun nóng một cách chủ ý trong khi thực hiện thử nghiệm này để đánh giá một cách chính xác màu sắc của glycosyl hesperetin theo sáng chế *vốn có* và mức độ màu sắc khi đun nóng.

Phương án được ưu tiên về glycosyl hesperetin theo sáng chế bao gồm các chất mà có độ dẫn điện là nhỏ hơn $10\mu S/cm$, tốt hơn là nhỏ hơn $8\mu S/cm$, tốt hơn nữa là nhỏ hơn $6\mu S/cm$, còn tốt hơn nữa là lớn hơn $0\mu S/cm$ nhưng nhỏ hơn $4,5\mu S/cm$, khi được xác định bằng cách điều chế nó trong dung dịch nước 1% trọng lượng, đun nóng dung dịch nước ở $100^{\circ}C$ trong 30 phút trong đồ chứa được đầy kín tương đối, và làm nguội dung dịch đã được đun nóng đến $20^{\circ}C$ trước khi xác định độ dẫn điện của nó. Độ dẫn điện có thể được xác định bằng thiết bị đo độ dẫn điện thông thường. Do sản phẩm

thông thường có độ dẫn điện là lớn hơn $10\mu\text{S}/\text{cm}$, glycosyl hesperetin theo sáng chế có dấu hiệu đặc trưng là hàm lượng hợp chất có thể được ion hóa nhỏ hơn so với sản phẩm thông thường. Lý do mà tại sao dung dịch nước chứa glycosyl hesperetin theo sáng chế được đun nóng trong thử nghiệm trên đây được thiết lập theo quan điểm về động học của cấp độ màu nêu trên đây.

Phương án được ưu tiên về glycosyl hesperetin theo sáng chế bao gồm các chất mà có hàm lượng canxi, kali, magie, và natri tương đối thấp, là các hợp chất ion mà ảnh hưởng lên độ dẫn điện của glycosyl hesperetin, so với sản phẩm thông thường. Hàm lượng của canxi, kali, magie, và natri trong glycosyl hesperetin theo sáng chế được xác định bằng phương pháp phân tích phổ phát xạ plasma ngẫu hợp cảm ứng, thường được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ về glycosyl hesperetin theo sáng chế bao gồm các chất mà có hàm lượng canxi, kali, magie, và natri lần lượt là 1ppm hoặc thấp hơn, 0,1ppm hoặc thấp hơn, 0,2ppm hoặc thấp hơn, và 0,4ppm hoặc thấp hơn, so với glycosyl hesperetin tính theo d.s.b.; lần lượt là tốt hơn nữa là 0,6ppm hoặc thấp hơn, 0,06ppm hoặc thấp hơn, 0,1ppm hoặc thấp hơn, và 0,3ppm hoặc thấp hơn; và tốt hơn nữa là 0ppm hoặc 0,5ppm hoặc thấp hơn, 0ppm hoặc 0,05ppm hoặc thấp hơn, 0ppm hoặc 0,08ppm hoặc thấp hơn, và 0ppm hoặc 0,2ppm hoặc thấp hơn.

Do đó, xét thấy chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế được giảm về hàm lượng hợp chất ion khả dụng về sinh lý như muối và các thành phần ion khác, so với sản phẩm thông thường, chế phẩm glycosyl hesperetin này được giảm cả về độ dẫn điện và nồng độ của các thành phần kim loại (hoặc ion kim loại) như canxi, kali, magie, và natri.

Sau đây sẽ là những giải thích tuần tự về phương pháp tạo ra glycosyl hesperetin và phương pháp làm giảm vị pha tạp của sản phẩm chứa glycosyl hesperetin theo sáng chế.

Phương pháp điều chế theo sáng chế tạo ra glycosyl hesperetin, và phương pháp này bao gồm các bước sau: (a) Điều chế dung dịch nước chứa hesperidin và dịch thủy phân tinh bột một phần; (b) để glycosyltransferaza phản ứng với dung dịch nước tạo thành để tạo ra glycosyl hesperetin chứa α -glucosyl hesperidin; và (c) thu gom glycosyl hesperetin tạo thành; trong đó một hoặc nhiều bước từ (a) đến (c) được thực hiện với sự có mặt của tác nhân khử hoặc tác nhân khử được thêm vào nguyên liệu ban đầu trước khi thực hiện một hoặc nhiều bước từ (a) đến (c) và/hoặc được thêm vào sản phẩm tạo thành của bước bất kỳ trên đây. Sau đây là giải thích tuần tự về nguyên liệu điều chế, các phản ứng enzym như phản ứng chuyển saccarit/chuyển glycosyl hóa, xử lý bằng tác nhân khử, và phương pháp tinh chế được sử dụng trong phương pháp điều chế trên đây.

Nguyên liệu điều chế:

Ví dụ về hesperidin làm nguyên liệu điều chế được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm loại hesperidin bất kỳ được sử dụng trong việc điều chế sản phẩm thông thường và các chất có độ hesperidin tinh khiết tương đối cao, cũng như các chất khác, có độ hesperidin tinh khiết tương đối thấp, như dịch chiết, dịch hoa quả, và sản phẩm được tinh chế một phần có nguồn gốc từ thực vật chứa hesperidin, một hoặc nhiều chất này có thể được sử dụng kết hợp một cách thích hợp. Ví dụ về thực vật chứa

hesperidin nêu trên bao gồm, ví dụ, Cam chanh thuộc về chi *Citrus* của họ *Rutaceae* (Cửu ly hương) như quýt, cam, họ cam quýt chứa axit mùi hương, họ cam quýt giống hỗn hợp, tangors, bưởi lai quýt, bưởi, kim quất, và cam đắng; trong đó phần chứa hesperidin là phần quả, vỏ, hạt, quả chưa chín, v.v..

Ví dụ về dịch tinh bột thủy phân một phần làm nguyên liệu điều chế được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm các chất mà có thể chuyển glycosyl hóa thành hesperidin để tạo ra α -glycosyl hesperidin dưới dạng glycosyl hesperetin, khi described glycosyltransferaza được mô tả sau đây được cho phù với chúng; dịch tinh bột thủy phân một phần như amyloza, dextrin, cyclodextrin, maltooligosaccarit, cũng như tinh bột hóa lỏng và tinh bột gelatin hóa, một hoặc nhiều chất này có thể được lựa chọn một cách tùy ý.

Lượng dịch thủy phân tinh bột một phần được sử dụng trong phản ứng enzym được mô tả sau đây thường nằm trong khoảng từ 0,1 đến 150 lần, tốt hơn là khoảng 1 đến 100 lần, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 2 đến 50 lần lượng hesperin nguyên liệu tính theo khối lượng. Trong phản ứng enzym, saccarit bắt nguồn từ dịch tinh bột thủy phân một phần được chuyển glycosyl hóa thành hesperidin để tạo ra một cách hiệu quả α -glycosyl hesperidin, trong đó dịch tinh bột thủy phân một phần tốt hơn là e được sử dụng với lượng dư so với hesperidin sao cho không còn lại hesperidin không phản ứng trong hệ phản ứng enzym ở mức càng thấp càng tốt. Lý do là ở chỗ, trong bước tinh chế được mô tả dưới đây, dịch tinh bột thủy phân một phần và saccarit thu được từ đó có thể được phân tách tương đối dễ dàng ra khỏi α -glycosyl

hesperidin; tuy nhiên, do hesperidin cho thấy động học giống với α -glycosyl hesperidin và rất khó để tách ra khỏi α -glycosyl hesperidin, độ hòa tan trong nước của glycosyl hesperetin tạo thành sẽ giảm hoàn toàn một cách khó khăn, khi hesperidin nguyên vẹn có độ hòa tan trong nước khá thấp vẫn còn lại với lượng khá lớn.

Phản ứng enzym:

Thuật ngữ “phản ứng enzym” được dùng trong sáng chế là để chỉ phản ứng enzym cho phép glycosyltransferaza phản ứng với hesperidin và dịch thủy phân tinh bột một phần làm nguyên liệu điều chế nêu trên đây để tạo ra α -glycosyl hesperidin.

Ví dụ về glycosyltransferaza được sử dụng trong phản ứng enzym bao gồm α -glucosidaza (EC 3.2.1.20), xylomaltodextrin glucanotransferaza (EC 2.4.1.19, sau đây được gọi là “CGTaza”), và α -amylaza (EC 3.2.1.1) v.v.. Ví dụ về α -glucosidaza trên đây bao gồm các chất mà có nguồn gốc từ mô động vật và thực vật như gan lợn và hạt kiều mạch; và các chất mà có nguồn gốc từ dịch nuôi cấy nấm thuộc Chủng *Mucor*, *Penicillium*, và *Aspergillus* bao gồm *Aspergillus niger*, v.v., hoặc dịch nuôi cấy khác thu được trong quá trình nuôi cấy nấm men thuộc chủng *Saccharomyces* trong môi trường nuôi cấy dinh dưỡng. Ví dụ về CGTaza bao gồm các chất mà có nguồn gốc từ Chủng *Bacillus*, *Geobacillus*, *Klebsiella*, *Paenibacillus*, *Thermococcus*, *Thermoanaerobacter*, *Brevibacterium*, *Pyrococcus*, *Brevibacillus*, và *Saccharomyces*. Ví dụ về α -amylaza bao gồm các chất mà có nguồn gốc từ dịch nuôi cấy vi khuẩn thuộc chủng *Geobacillus* hoặc nấm thuộc chủng

Aspergillus bao gồm cả *Aspergillus niger*, một hoặc nhiều chất này có thể được sử dụng trong hỗn hợp thích hợp. Glycosyltransferaza tự nhiên hoặc tái tổ hợp bất kỳ có thể được sử dụng làm glycosyltransferaza như nêu trên miễn là chúng đạt được mục đích của sáng chế, và nếu sản phẩm thương mại hóa của nó là sẵn có, chúng có thể được sử dụng thích hợp. Tất cả các glycosyltransferaza trên đây không cần thiết phải được sử dụng sau khi tinh chế, và chúng thường được sử dụng thậm chí ở dạng enzym thô miễn là đạt được mục đích của sáng chế.

Khi sử dụng glycosyltransferaza tự nhiên hoặc tái tổ hợp trên đây, hiệu suất tạo thành của α -glycosyl hesperidin có thể được gia tăng do việc lựa chọn dịch thủy phân tinh bột một phần thích hợp với enzym trên đây.

Trong trường hợp sử dụng α -glucosidaza trên đây, maltooligosaccarit như maltoza, maltotrioza, và maltotetraoza hoặc dịch tinh bột thủy phân một phần có đương lượng dextroza (DE) nằm trong khoảng từ 10 đến 70 có thể được sử dụng một cách thích hợp; trong trường hợp sử dụng CGTaza trên đây, α -, β - hoặc γ -cyclodextrin hoặc các chất mà được xếp loại từ tinh bột lỏng hóa có DE là 1 hoặc thấp hơn cho đến dịch tinh bột thủy phân một phần có DE là khoảng 60 có thể được sử dụng một cách thích hợp; và trong trường hợp sử dụng α -amylaza trên đây, dịch tinh bột thủy phân một phần mà được xếp loại từ tinh bột lỏng hóa có DE là 1 hoặc thấp hơn cho đến dextrin có DE là khoảng 30 có thể được sử dụng một cách thích hợp.

Ví dụ về dung dịch chứa hesperidin được sử dụng trong phản ứng enzym bao gồm các chất mà chứa hesperidin càng nhiều càng tốt; tốt hơn là,

được sử dụng là huyền phù chứa hesperidin hoặc dung dịch chứa hesperidin ở nồng độ tương đối cao, được điều chế bằng cách hòa tan hesperidin trong môi trường như nước ở nhiệt độ tương đối cao hoặc trong môi trường pH kiềm lớn hơn 7,0 bằng cách sử dụng tác nhân kiềm. Về tác nhân kiềm này, các chất sau đây được sử dụng một cách thích hợp; một hoặc nhiều chất là dung dịch nước kiềm mạnh có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1,0N chứa natri hydroxit, kali hydroxit, natri cacbonat, canxi hydroxit, và nước amoniac.

Nồng độ của hesperidin trong dung dịch, được điều chế bằng hesperidin và tác nhân kiềm, thường là khoảng 0,005% trọng lượng/thể tích hoặc cao hơn, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,05 đến 10% trọng lượng/thể tích, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10% trọng lượng/thể tích, và còn tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1 đến 10% trọng lượng/thể tích.

Khi được sử dụng ở dạng huyền phù được điều chế mà không sử dụng tác nhân kiềm bất kỳ, hesperidin được tạo hỗn dịch trong môi trường như nước để tạo thành dạng huyền phù, trong đó nồng độ của hesperidin thường nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2% trọng lượng/thể tích, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,2 đến 2% trọng lượng/thể tích, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,3 đến 2% trọng lượng/thể tích.

Mặc dù nhiệt độ và thời gian, mà tại thời điểm đó glycosyltransferaza được phản ứng với hesperidin và dịch thủy phân tinh bột một phần, sẽ biến đổi tùy theo nồng độ của hesperidin và dịch thủy phân tinh bột một phần được sử dụng trong phản ứng enzym này, cũng như phụ thuộc vào loại, nhiệt độ tối ưu, độ pH tối ưu, hoặc lượng enzym được sử dụng, nhiệt độ thường nằm trong

khoảng từ 50 đến 100°C, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 60 đến 90°C, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 70 đến 90°C; và thời gian nằm trong khoảng từ 5 đến 100 giờ, tốt hơn là từ 10 đến 80 giờ, và tốt hơn nữa là từ 20 đến 70 giờ.

Mặc dù độ pH và nhiệt độ, mà tại đó glycosyltransferaza được phản ứng với dung dịch kiềm có nồng độ hesperidin tương đối cao, sẽ thay đổi tùy thuộc vào loại, độ pH tối ưu, nhiệt độ tối ưu, hoặc lượng enzym được sử dụng, cũng như tùy thuộc vào nồng độ của hesperidin, chúng có thể được điều chỉnh đến độ pH cao nhất có thể và nhiệt độ mà tại đó enzym là có khả năng nhất; trong đó độ pH nằm trong khoảng từ 7,5 đến 10, và tốt hơn là từ 8 đến 10; và nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 80°C, và tốt hơn là nằm trong khoảng từ 50 đến 80°C. Do bản thân hesperidin dễ bị phân hủy trong dung dịch kiềm, tốt hơn là nó nên được giữ trong các điều kiện được che chắn ánh sáng và yếm khí càng nhiều càng tốt để tránh sự phân hủy.

Khi glycosyltransferaza được cho phản ứng với hesperidin ở dạng hỗn dịch, độ pH của enzym được sử dụng sẽ thay đổi tùy thuộc vào loại, enzym, nhiệt độ tối ưu, độ pH tối ưu, hoặc lượng enzym được sử dụng, cũng như nồng độ của hesperidin trong hỗn dịch; tuy nhiên, thường là độ pH sẽ nằm trong khoảng từ 4 đến 7, tốt hơn là khoảng từ 4,5 đến 6,5.

Ngoài ra, nếu cần, phản ứng chuyển glycosyl hóa hoặc phản ứng chuyển saccarit hesperidin có thể được tạo điều kiện dễ dàng một cách tùy ý bằng cách tăng độ hòa tan của hesperidin trước phản ứng enzym được mô tả trên đây theo cách cho phép lượng một hoặc nhiều dung môi hữu cơ có thể tương hợp với nước cao như rượu thấp hoặc keton thấp bao gồm metanol,

etanol, *n*-propanol, isopropanol, *n*-butanol, axetol, và axeton để cùng tồn tại trong dung dịch có hàm lượng hesperidin cao, đặc biệt là dung dịch nước có hàm lượng hesperidin cao.

Trong các thuật ngữ về khía cạnh kinh tế, lượng và thời gian phản ứng của enzym là gần như tương đương nhau, và do đó lượng glycosyltransferaza thường được thiết lập thích hợp đến mức độ đủ để kết thúc phản ứng enzym trong thời gian từ 5 đến 150 giờ, tốt hơn là từ 10 đến 100 giờ, tốt hơn nữa là từ 20 đến 80 giờ, tùy thuộc vào loại enzym được sử dụng. Bằng cách sử dụng glycosyltransferaza không di động, phản ứng enzym mong muốn có thể được thực hiện một cách thích hợp lặp lại nhiều lần trong một mẻ hoặc theo cách liên tục.

Tùy thuộc vào việc sử dụng, dung dịch phản ứng enzym chứa hesperidin và α -glycosyl hesperidin, thu được sau phản ứng chuyển glycosyl hóa trên đây, có thể được sử dụng nguyên vẹn như thế hoặc được đưa vào tinh chế liên tục bằng cách sử dụng nhựa hấp thụ xốp tổng hợp và đưa vào thủy phân một phần bằng amylaza như glucoamylaza (EC 3.2.1.3) hoặc β -amylaza (EC 3.2.1.2) để làm giảm số gốc α -D-glucosyl của α -glycosyl hesperidin. Ví dụ, trong trường hợp sử dụng glucoamylaza trên đây trong phản ứng enzym, α -maltosyl hesperidin hoặc các phân tử cao hơn có thể được thủy phân để tạo ra và tích tụ α -glucosyl hesperidin cùng với glucoza. Trong khi đó, trong trường hợp sử dụng β -amylaza trên đây, α -maltotriosyl hesperidin và các phân tử cao hơn có thể được thủy phân để tạo ra và tích tụ hỗn hợp của α -glucosyl hesperidin và α -maltosyl hesperidin cùng với maltoza.

Glycosyl hesperetin có độ hòa tan trong nước tương đối cao được điều chế bằng cách để glucoamylaza và α -L-rhamnosidaza phản ứng đồng thời hoặc liên tục theo trình tự ngẫu nhiên với dung dịch phản ứng enzym chứa hesperidin và α -glycosyl hesperidin thu được sau phản ứng chuyển glycosyl hóa, nhờ đó đương lượng mol hoặc nhiều glucoza được liên kết qua liên kết α trong cấu trúc rutinoza của α -glycosyl hesperidin sẽ được giải phóng ra để chuyển hóa α -glycosyl hesperidin thành α -glucosyl hesperidin, dẫn đến sự gia tăng hàm lượng của α -glucosyl hesperidin và việc chuyển hóa hesperidin có độ hòa tan trong nước thấp thành 7-O- β -monoglucosyl hesperetin có độ hòa tan trong nước tương đối cao.

Tương tự với glycosyltransferaza, glucoamylaza và α -L-rhamnosidaza có mối liên hệ mật thiết giữa lượng enzym của chúng và thời gian phản ứng enzym, và do đó, dựa trên khía cạnh kinh tế, lượng enzym nêu trên tốt hơn là được thiết lập đến mức đủ để làm chấm dứt phản ứng enzym của nó trong vòng từ 5 đến 150 giờ, tốt hơn là từ 10 đến 100 giờ, tốt hơn nữa là từ 20 đến 80 giờ, tùy thuộc vào loại enzym được sử dụng. Bằng cách sử dụng α -L-rhamnosidaza không di động, phản ứng enzym mong muốn có thể được thực hiện một cách thuận lợi lặp lại nhiều lần hoặc liên tục trong một mẻ hoặc theo cách liên tục

Xử lý bằng tác nhân khử:

Thuật ngữ “xử lý bằng tác nhân khử” như được đề cập đến trong bản mô tả này tức là việc xử lý vị pha tạp giảm đáng kể của glycosyl hesperetin bằng tác nhân khử; hoặc một lượng quy định trước tác nhân khử được mô tả

sau đây được sử dụng trong một hoặc nhiều bước sau đây (a) điều chế dung dịch nước chứa hesperidin và dịch tinh bột thủy phân một phần, (b) để glycosyltransferaza phản ứng với dung dịch nước tạo thành để tạo ra glycosyl hesperetin chứa α -glucosyl hesperidin, và (c) thu gom glycosyl hesperetin tạo thành; hoặc được thêm vào một hoặc nhiều nguyên liệu ban đầu bất kỳ trước các bước từ (a) đến (c) trên đây và/hoặc của sản phẩm tạo thành trong các bước này.

Tác nhân khử có thể được sử dụng trong sáng chế không bị giới hạn đặc biệt miễn là chúng đạt được mục đích của sáng chế, và có thể được sử dụng tác nhân khử hữu cơ hoặc vô cơ thông thường bất kỳ có sẵn trong lĩnh vực kỹ thuật này. Tuy nhiên, do glycosyl hesperetin theo sáng chế được dự định để sử dụng chủ yếu cho người, việc sử dụng mong muốn là việc sử dụng mà có độ an toàn cao và có độ ổn định và khả năng thực hiện tốt.

Ví dụ cụ thể về tác nhân khử được ưu tiên sử dụng trong sáng chế bao gồm tác nhân khử vô cơ như hydroxylamin, hợp chất hydrazin, clo dioxit, hydro, hợp chất hydro (hydro sulfua, natri bohydrua, lithi nhôm hydrua, kali nhôm hydrua, v.v.), hợp chất lưu huỳnh (lưu huỳnh dioxit, thioure dioxit, thiosulfat, sulfit, sắt (II) sulfat, natri persulfat, kali persulfat, amoni persulfat, canxi sulfit, v.v.), nitrit, thiếc clorua, sắt (II) clorua, kali iodua, hydro peroxit, benzoyl peroxit loãng, hydroperoxit, và clorit như natri clorit; và tác nhân khử hữu cơ như phenol, amin, quinon, polyamin, axit formic và muối của nó, axit oxalic và muối của nó, axit xitric và muối của nó, thioure dioxit, saccarit khử, benzoyl peroxit, benzoyl persulfat, diisobutyl nhôm hydrua, catechin, quercetin, tocopherol, axit galic và este của nó,

etylendiaminetetraaxetat (EDTA), dithiothreitol, glutathion đã khử, và polyphenol. Một hoặc nhiều tác nhân khử hữu cơ và vô cơ trên đây có thể được sử dụng trong hỗn hợp thích hợp.

Trong số các tác nhân khử vô cơ và tác nhân khử hữu cơ trên đây, loại vô cơ được sử dụng ưu tiên hơn bởi vì nó làm giảm đáng kể vị pha tạp vốn có của sản phẩm thông thường và tạo ra glycosyl hesperetin có chất lượng cao với mùi vị được giảm. Mặc dù lý do này không chắc chắn, có thể ước đoán như sau: tác nhân khử hữu cơ là hợp chất hữu cơ và do đó chúng có thể tạo ra vị pha tạp hoặc màu sắc và bản thân các chất này hoặc các thành phần phân hủy của chúng vẫn còn lại trong quá trình tạo ra glycosyl hesperetin theo sáng chế mà không được loại bỏ hoàn toàn, tạo ra ảnh hưởng tiêu cực lên chất lượng của glycosyl hesperetin.

Trong số các tác nhân khử vô cơ, những chất được gọi là subsulfat phụ (có thể được gọi là sulfit), là chất mà chứa ion kim loại và ion SO_2^- , HSO_3^- , SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$, hoặc $\text{S}_2\text{O}_7^{2-}$ là siêu an toàn, ổn định và có khả năng thực hiện, là thích hợp hơn để sử dụng làm tác nhân khử khi thực hiện sáng chế. Cụ thể, các tác nhân khử vô cơ sau đây có thể là thích hợp nhất để sử dụng trong sáng chế: Subsulfat như natri sulfit, kali sulfit, natri hydro sulfit, natri hyposulfit, kali hyposulfit, natri pyrosulfit, kali pyrosulfit, natri metasulfit, kali metasulfit, natri metabisulfit, và kali metabisulfit.

Các tác nhân khử nêu trên đây được sử dụng trong bước bất kỳ của quá trình tạo ra glycosyl hesperetin hoặc được sử dụng trong nguyên liệu ban đầu và/hoặc sản phẩm tạo thành của các bước này; tuy nhiên, mục đích chính của

sáng chế có thể đạt được với lượng tác nhân khử thấp hơn nhiều khi tác nhân này được sử dụng làm nhiều lần trong hai hoặc nhiều bước hoặc được thêm vào nguyên liệu ban đầu trước khi thực hiện một hoặc nhiều bước và/hoặc được thêm vào sản phẩm tạo thành ở bước bất kỳ.

Tổng lượng chất phụ trợ của tác nhân khử trên đây được sử dụng trong mỗi bước từ (a) đến (c) trên đây thường ít nhất là 0,001%, tốt hơn là từ 0,01 đến 3%, tốt hơn nữa là từ 0,01 đến 1%, và còn tốt hơn nữa là từ 0,01 đến 0,5% so với khối lượng của dung dịch phản ứng enzym, thu được sau bước (b) trên đây, hoặc so với chất thu được sau khi hoàn thành tất cả các phản ứng enzym, khi enzym bất kỳ khác không phải là glycosyltransferaza được sử dụng. Trong trường hợp sử dụng tác nhân khử trước bước (c), tác nhân còn lại thường được loại bỏ hầu hết trong bước tinh chế; theo đó hầu như không phát hiện được tác nhân khử nào trong glycosyl hesperetin tạo thành thu được là sản phẩm cuối cùng. Tổng lượng tác nhân khử, được thêm vào một lần hoặc nhiều lần trong các bước trên đây, thường ít nhất là 0,001%, tốt hơn là ít nhất 0,01%, và tốt hơn nữa là 0,01 đến 1% khối lượng so với khối lượng của dung dịch phản ứng enzym thu được sau phản ứng enzym trên đây. Về nhiệt độ mà tại đó tác nhân khử được thêm vào, chúng thường là nhiệt độ được sử dụng trong các bước từ (a) đến (c) trên đây, hoặc tùy ý là nhiệt độ khác vượt quá nhiệt độ trên. Ví dụ cụ thể về nhiệt độ này là không thấp hơn nhiệt độ môi trường, tốt hơn là ít nhất 50°C, tốt hơn nữa là ít nhất 70°C, tốt hơn nữa là ít nhất 80°C, và còn tốt hơn nữa là từ 90 đến 120°C.

Phương pháp tinh chế:

Dung dịch phản ứng enzym vừa thu được có thể được sử dụng nguyên như thế dưới dạng glycosyl hesperetin theo sáng chế; tuy nhiên, chúng thường được điều chế thành glycosyl hesperetin ở dạng lỏng, chất rắn, hoặc dạng bột bằng cách sử dụng một cách thích hợp, một mình hoặc kết hợp với, một hoặc nhiều phương pháp trong số các phương pháp tách, phương pháp lọc, phương pháp tinh chế sử dụng nhựa xốp tổng hợp, phương pháp cô đặc, phương pháp phụ mùi, phương pháp sấy khô, v.v., tất cả các phương pháp này đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Ví dụ về nhựa xốp tổng hợp nêu trên bao gồm nhựa tổng hợp như styren-divinyl benzen copolyme không ion, nhựa phenol-formalin, nhựa acrylat, và nhựa metacrylat, tất cả các nhựa này không có tính ion nhưng có độ xốp và bề mặt hấp thụ lớn: Nhựa có tên thương mại là AMBERLITE XAD-1, AMBERLITE XAD-2, AMBERLITE XAD-4, AMBERLITE XAD-7, AMBERLITE XAD-8, AMBERLITE XAD-11, AMBERLITE XAD-12, v.v., được phân phối thương mại bởi Công ty Rohm & Hass Company, Philadelphia, USA.; nhựa có tên thương mại là DIAION HP-10, DIAION HP-20, DIAION HP-30, DIAION HP-40, DIAION HP-50, DIAION HP-2MG, SEPABEADS SP70, SEPABEADS SP207, SEPABEADS SP700, SEPABEADS SP800, v.v., được phân phối thương mại bởi Công ty Mitsubishi Chemical Industries Ltd., Tokyo, Nhật Bản; và nhựa khác có tên thương mại là IMACTI Syn-42, IMACTI Syn-44, IMACTI Syn-46, v.v., được phân phối thương mại bởi Công ty IMACTI Company, Amsterdam, the Kingdom of the Netherlands.

Theo phương pháp tinh chế bằng cách sử dụng nhựa xốp tổng hợp, glycosyl hesperetin hấp thụ vào nhựa xốp tổng hợp, trong khi dịch tinh bột thủy

phân một phần còn lại, saccarit hòa tan trong nước, v.v., được rửa giải từ cột kèm theo nhựa mà không hấp thụ vào nhựa, khi dung dịch phản ứng enzym được nạp vào cột. Trong trường hợp này, hesperidin, 7-O- β -glucosyl hesperetin, và α -glycosyl hesperetin dưới dạng glycosyl hesperetin thường tương tự nhau, và do đó, chúng có thể không bị tách riêng bằng cách sử dụng nhựa xốp tổng hợp; tuy nhiên, mặc dù việc thực hiện trở nên khó khăn và hiệu suất giảm, glycosyl hesperetin, mà hấp thụ chọn lọc vào cột có kèm theo nhựa xốp tổng hợp, sẽ được rửa ra khỏi dung môi kiềm loãng hoặc nước, và tiếp theo nạp một lượng tương đối nhỏ dung môi hữu cơ hoặc dung dịch hỗn hợp của dung môi hữu cơ và nước, tức là, dung dịch metanol hoặc etanol trong nước, để trước hết rửa giải α -glycosyl hesperidin ra khỏi cột và tiếp đó hesperidin còn nguyên vẹn được rửa giải bằng cách gia tăng thể tích nạp vào hoặc gia tăng nồng độ của dung môi hữu cơ. Dung dịch tạo thành chứa glycosyl hesperetin được xác định bằng cách làm bay hơi, tiếp đó loại bỏ dung môi hữu cơ còn lại và cô dung dịch tạo thành đến nồng độ xác định trước để thu được glycosyl hesperetin theo sáng chế có hàm lượng hesperidin giảm. Do bước rửa giải glycosyl hesperetin bằng dung môi hữu cơ nêu trên đây còn ảnh hưởng đến bước tái tạo ra nhựa xốp tổng hợp, có thể lặp lại việc sử dụng nhựa một cách thích hợp.

Glycosyl hesperetin có hàm lượng glycosyl hesperetin gia tăng ở dạng lỏng theo sáng chế có thể được tạo ra theo cách mà, sau khi hoàn thành phản ứng enzym và trước khi cho dung dịch phản ứng enzym tạo thành tiếp xúc với nhựa xốp tổng hợp, ví dụ, loại bỏ các chất không hòa tan được tạo ra khi dung dịch phản ứng enzym được đun nóng, loại bỏ các chất protein trong dung dịch phản ứng bằng cách xử lý chúng bằng magie nhôm silicat, magie aluminat, v.v.; hoặc

khử muối dung dịch bằng nhựa trao đổi ion axit mạnh (dạng H), nhựa trao đổi ion bazơ vừa phải/bazơ yếu (dạng OH) hoặc các chất tương tự thế.

Ngoài ra, glycosyl hesperetin dạng lỏng nêu trên đây có thể được sấy khô tùy ý và được nghiền thành chế phẩm dạng hạt chứa glycosyl hesperetin bằng phương pháp sấy khô thông thường.

Theo cách này, glycosyl hesperetin có thể được tạo ra trong đó vị pha tạp, đặc trưng của sản phẩm thông thường như là một khiếm khuyết, được làm giảm một cách hiệu quả và đáng kể. Trong khi đó, Tác giả sáng chế khẳng định rằng vị pha tạp của sản phẩm thông thường mà không cần xử lý bất kỳ tác nhân khử hầu như không bị thay đổi với việc sử dụng không đáng kể phương pháp tinh chế được nêu trên đây: Phương pháp tinh chế thông thường, mà sử dụng, ví dụ, nhựa xốp tổng hợp nêu trên đây thường được sử dụng trong việc điều chế sản phẩm thông thường, sẽ loại bỏ một cách thuận lợi, đồng thời các chất kèm theo như muối hòa tan trong nước, cũng như dịch tinh bột thủy phân một phần và saccarit hòa tan trong nước; tuy nhiên, rất khó để làm giảm một cách đáng kể vị pha tạp đặc trưng của sản phẩm thông thường, bất chấp cách sử dụng phương pháp tinh chế trên đây. Có thể ước đoán rằng, chất nguyên nhân bất kỳ gây ra vị pha tạp, chứa trong glycosyl hesperetin, có động lực học hấp thụ vào và khử thấm hút từ nhựa xốp tổng hợp tương tự với các đặc tính này của glycosyl hesperetin, và do đó chất nguyên nhân này không thể bị tách ra khỏi glycosyl hesperetin.

So với sản phẩm thông thường, glycosyl hesperetin theo sáng chế được làm giảm đáng kể vị pha tạp cũng như về cả độ dẫn điện và hàm lượng của hợp

chất ion liên quan đến độ dẫn điện. Ví dụ về hợp chất ion này bao gồm các hợp chất như narirutin, diosmin, và neoponxirin, là các chất về cơ bản là cùng tồn tại trong hesperidin như là chất cho glycosyl hesperetin; glucosyl narirutin, glucosyl neoponxirin, v.v., là sản phẩm phụ của phản ứng enzym, cũng như các sản phẩm phân hủy của nó và các hợp chất liên quan chặt chẽ với các sản phẩm phân hủy này; furfural như furfural được sử dụng làm chỉ số thực hiệu sáng chế, rượu furfurylic, và hydroxymetyl furfural, cũng như muối của nó; và các hợp chất khác mà giải phóng ra các cation kim loại canxi, kali, magie, natri, v.v., khi ở dạng dung dịch; tất cả các chất này có nguồn gốc từ nguyên liệu điều chế glycosyl hesperetin hoặc được tạo ra như là sản phẩm phụ trong các bước thực hiện quy trình này. Thông thường, glycosyl hesperetin theo sáng chế chỉ chứa ít các thành phần nêu trên như narirutin, diosmin, neoponxirin, glucosyl narirutin, và glucosyl neoponxirin được xác định trên đây.

Như đã nêu trên đây, glycosyl hesperetin, mà được làm giảm đáng kể về hàm lượng furfural, theo sáng chế là glycosyl hesperetin có chất lượng cao mà vị pha tạp của nó được làm giảm một cách đáng kể so với sản phẩm thông thường.

Cơ chế làm sao để glycosyl hesperetin mà vị pha tạp được làm giảm một cách đáng kể, thu được theo phương pháp tạo ra glycosyl hesperetin theo sáng chế là không chắc chắn, tuy nhiên, có thể được ước đoán như sau:

(1) Trong việc điều chế glycosyl hesperetin theo sáng chế, tác nhân khử xác định trước tác động lên chất mà là nguyên nhân gây ra vị pha tạp bắt nguồn từ nguyên liệu điều chế, để che đi, phân hủy, hoặc làm biến đổi chúng để

thu được glycosyl hesperetin mong muốn mà được làm giảm đáng kể vị pha tạp;

(2) Trong các bước tạo ra glycosyl hesperetin theo sáng chế, tác nhân khử xác định trước làm giảm hoặc ức chế sự hình thành chất là nguyên nhân gây ra vị pha tạp; hoặc để che đi, phân hủy, hoặc làm biến đổi chúng để thu được glycosyl hesperetin mong muốn mà được làm giảm đáng kể vị pha tạp; hoặc

(3) Các chất như được thể hiện trong các mục (1) và (2) trên đây được làm biến đổi bằng tác nhân khử xác định trước để tạo thuận lợi cho việc tách glycosyl hesperetin trong bước tinh chế bằng cách sử dụng chất hấp thụ xấp xỉ tổng hợp, v.v., và để thu được glycosyl hesperetin mong muốn mà được làm giảm đáng kể vị pha tạp.

Phương pháp làm giảm vị pha tạp của chế phẩm chứa glycosyl hesperetin theo sáng chế là phương pháp bao gồm bước để chế phẩm này tiếp xúc với tác nhân khử xác định trước. Thuật ngữ “chế phẩm chứa glycosyl hesperetin”, như được đề cập đến trong phương pháp theo sáng chế tức là chế phẩm mà thường chứa glycosyl hesperetin làm thành phần chính. Theo phương pháp này, màu sắc của chế phẩm chứa glycosyl hesperetin còn có thể được làm giảm một cách hiệu quả, rõ rệt. Điều kiện để cho chế phẩm chứa glycosyl hesperetin tiếp xúc với tác nhân khử xác định trước should tốt hơn là nó được thực hiện ở trạng thái dung dịch hoặc hỗn dịch hơn là ở trạng thái rắn, bằng cách sử dụng dung môi thích hợp như nước. Ví dụ về glycosyl hesperetin được cho tiếp xúc với tác nhân khử bao gồm glycosyl hesperetin chứa một hoặc

nhieu hesperidin, α -glycosyl hesperidin, và 7-O- β -glucosyl hesperetin. Ví dụ về các chế phẩm chứa glycosyl hesperetin này bao gồm các chất mà chứa glycosyl hesperetin với lượng, thường ít nhất 70% nhưng nhỏ hơn 100%, tốt hơn là ít nhất 80% nhưng nhỏ hơn 100%, và tốt hơn nữa là ít nhất 90% nhưng nhỏ hơn 100%.

Tác nhân khử được sử dụng trong phương pháp làm giảm vị pha tạp của glycosyl hesperetin theo sáng chế là tương tự với các tác nhân được sử dụng trong phương pháp để tạo ra glycosyl hesperetin theo sáng chế. Lượng tác nhân khử tương ứng được thêm vào glycosyl hesperetin thường là ít nhất 0,00001%, tốt hơn là từ 0,0001 đến 0,5%, tốt hơn nữa là từ 0,001 đến 0,4%, và còn tốt hơn nữa là từ 0,001 đến 0,3% khối lượng so với khối lượng của glycosyl hesperetin tính theo d.s.b., trong đó hỗn hợp tạo thành được trộn đến đồng nhất để cho phép glycosyl hesperetin tiếp xúc với tác nhân khử, dẫn đến làm giảm đáng kể vị pha tạp đặc trưng của sản phẩm thông thường.

Glycosyl hesperetin theo sáng chế vừa thu được có thể được tạo ra, ví dụ, ở các dạng khác nhau như chất lỏng, dạng bột nhão, dạng rắn, dạng viên cứng hoặc dạng bột.

Vì glycosyl hesperetin, thu được theo phương pháp tạo ra glycosyl hesperetin và phương pháp làm giảm vị pha tạp của chế phẩm chứa glycosyl hesperetin theo sáng chế, tự bản thân nó đã được làm giảm đáng kể vị pha tạp của nó và còn được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị của nó, cũng như được cải thiện về độ bền nhiệt của nó; nó có các dấu hiệu có lợi là được làm giảm đáng kể vị pha tạp của nó và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị của nó so với

của đặc tính này của sản phẩm thông thường, thậm chí khi được đun nóng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80 đến 100°C trong ít nhất 30 phút hoặc được bảo quản ở nhiệt độ môi trường hoặc ở nhiệt độ cao hơn một chút so với nhiệt độ môi trường trong hàng chục phút cho đến hàng tháng trong bước đưa nó vào, hoặc sau khi đưa nó vào sản phẩm thực phẩm, sản phẩm đặc sản bao gồm thuốc lá và xì gà, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân để làm giảm độ nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và vật liệu công nghiệp, đồ ăn, mồi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, hoặc sản phẩm nhựa. Do đó, vì glycosyl hesperetin theo sáng chế sẽ làm hài hòa bằng các chất có vị như axit, muối, vị se, vị ngon, hoặc vị đắng, và có độ dung nạp axit và độ ổn định nhiệt tương đối cao, nó có thể được sử dụng một cách rộng rãi và thuận lợi trong các sản phẩm thực phẩm nói chung, bao gồm cả các chất bổ sung và khẩu phần ăn cho những sử dụng đặc biệt cho sức khỏe: gia vị, bánh kẹo kiểu Nhật; bánh kẹo kiểu phương Tây; chất làm ngọt lạnh; đồ uống bao gồm trà như trà xanh, trà đen, trà thảo dược, nước hoa quả, đồ uống có ga, cà phê, ca cao, và nước uống tonic; rượu như rượu sake Nhật, rượu whisky, rượu vang, rượu mùi, và rượu mạnh; chất phết; bột nhào; đồ dầm; sản phẩm thực phẩm đóng chai và đóng hộp; thịt chế biến; các sản phẩm từ thịt cá/cá; sản phẩm chế biến từ sữa/trứng; sản phẩm rau quả chế biến; sản phẩm hoa quả chế biến; và sản phẩm ngũ cốc chế biến, v.v.. Ngoài ra, glycosyl hesperetin theo sáng chế có thể được sử dụng một cách thuận lợi trong đồ ăn và mồi bả làm thức ăn cho động vật như vật nuôi trong nhà, gia cầm, ong, tằm, và cá như tác nhân làm giàu vitamin P, tác nhân cải thiện đặc tính ưu tiên, v.v..

Ngoài ra, glycosyl hesperetin theo sáng chế có thể được sử dụng làm

thực phẩm cho sắc đẹp và được đưa một cách thích hợp vào thực phẩm cho sắc đẹp và các thực phẩm khác bao gồm cả đồ uống.

Glycosyl hesperetin theo sáng chế có thể được sử dụng trong các hạng mục sau đây: Mỹ phẩm làm sạch như xà phòng, xà phòng mỹ phẩm, xà phòng dạng thuốc Trung Quốc, bột rửa dành cho da, kem làm sạch, bột làm sạch, nước rửa mặt, dầu làm sạch cơ thể, nước làm sạch cơ thể, dầu gội đầu, nước rửa, và bột làm sạch tóc; sản phẩm mỹ phẩm chăm sóc tóc như nước tạo sóng, dịch làm bay tóc, thanh dưỡng tóc (tique), kem dưỡng tóc, sáp thơm cho tóc, dịch phun cho tóc, dịch lỏng cho tóc, nước tonic cho tóc, nước lotion cho tóc, chất phục hồi tóc, thuốc nhuộm tóc, và dầu bôi trơn tóc; các sản phẩm mỹ phẩm chăm sóc da cơ bản như nước rửa mỹ phẩm, kem làm tiêu, kem làm mềm, nước làm mềm, mỹ phẩm trộn bộ (bao gồm mỹ phẩm lột da dạng giống thạch, mỹ phẩm loại gạc giống thạch, mỹ phẩm loại rửa giống bột nhão, và mỹ phẩm dạng bột), kem rửa mặt, kem làm mát, kem bôi tay, nước lotion cho tay, nước lotion thể sữa, nước lotion làm ẩm, nước lotion sau khi cạo râu, nước lotion để cạo râu, kem trước khi cạo râu, kem sau khi cạo râu, bột sau khi cạo râu, kem trước khi cạo râu, dầu dùng cho mỹ phẩm, và dầu cho trẻ em; các sản phẩm trang điểm như kem nền ở dạng lỏng, kem, rắn, hoặc dạng tương tự thể, bột talc, bột dùng cho trẻ em, bột dùng cho cơ thể, bột có hương thơm, chất nền trang điểm, phấn bột dùng cho mặt ở dạng kem, dịch đặc, dịch lỏng, chất rắn, bột, hoặc dạng tương tự khác, phấn mắt, kem mắt, mascara, bút chì, mỹ phẩm cho lông mi, phấn hồng hoặc chất làm ẩm dùng cho vùng má; mỹ phẩm có hương thơm như nước hoa, nước hoa khô, nước hoa dạng bột; nước thơm nhẹ (*eau de colognes*), nước hoa (*perfume colognes*), hoặc nước hoa nhẹ (*eau de toilettes*); mỹ phẩm

nhuộm da hoặc mỹ phẩm chống nắng như kem nhuộm da, nước lotion nhuộm da, dầu nhuộm da, kem chống nắng, nước lotion chống nắng, hoặc dầu chống nắng; mỹ phẩm dùng cho móng như chất dưỡng móng tay, chất dưỡng móng chân, dầu đánh móng, sơn móng, chất tẩy men, kem dùng cho móng, hoặc mỹ phẩm dùng cho móng; mỹ phẩm cho mi mắt; mỹ phẩm dùng cho môi/tô môi như son, dầu sáp cho môi, son môi hoặc chất bôi môi có màu xỉn hoặc son bóng môi; mỹ phẩm cho răng miệng như chất ngăn ngừa mùi ở miệng, thuốc đánh răng/bột chải răng, hoặc nước súc miệng; mỹ phẩm dùng để tắm như muối tắm, dầu tắm, hoặc xà phòng tắm; chất làm đẹp da; chất làm trắng da; và chất ức chế và chất ngăn ngừa chống lão hóa. Ngoài ra, glycosyl hesperetin theo sáng chế có thể được sử dụng ưu tiên trong các sản phẩm nhựa như là tác nhân hấp thụ tử ngoại hoặc tác nhân ức chế sự hư hỏng. Ngoài ra, glycosyl hesperetin theo sáng chế còn có thể được đưa tùy ý và các sản phẩm đặc sản và tác nhân đối với các bệnh nhạy cảm như tác nhân phòng ngừa và tác nhân điều trị cho các bệnh nhạy cảm ở dạng, ví dụ, dạng rắn, dạng bột nhão, hoặc dạng lỏng, như thuốc lá, viên thuốc dẹt, thuốc giọt dạng dầu dùng cho gan, phức vitamin, chất làm lạnh dùng cho miệng, kẹo cao su, thuốc súc miệng, các chất dinh dưỡng đưa vào khí quản, thuốc nội, hoặc dịch tiêm truyền. Ngoài ra, glycosyl hesperetin theo sáng chế còn có thể được sử dụng ưu tiên trong hóa chất, nguyên liệu và vật liệu công nghiệp, đồ ăn, môi bảo, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, hoặc sản phẩm nhựa.

Glycosyl hesperetin theo sáng chế được sử dụng với lượng, thường ít nhất khoảng 0,0001%, tốt hơn là, khoảng 0,001 đến 50%, tốt hơn nữa là từ 0,01 đến 30%, còn tốt hơn nữa là từ 0,01 đến 20%, và tốt hơn nữa là từ 0,01 đến

10% tổng khối lượng của chất bất kỳ trong số các chế phẩm hoặc vật phẩm nêu trên đây.

Thuật ngữ “bệnh nhạy cảm” như được đề cập đến trong bản mô tả này tức là bệnh thường có thể được ngăn ngừa hoặc điều trị bằng glycosyl hesperetin; ví dụ về bệnh nhạy với glycosyl hesperetin này bao gồm, ví dụ, bệnh do virus, bệnh do vi khuẩn, bệnh do chấn thương, bệnh miễn dịch, bệnh thấp khớp, bệnh đái tháo đường, bệnh dị ứng, bất thường về cơ chế chuyển hóa lipid, bệnh thuộc hệ tuần hoàn, và khối u ác tính, các bệnh này có thể được ngăn ngừa hoặc điều trị bằng glycosyl hesperetin. Dạng tác nhân điều trị dự phòng/điều trị đối với bệnh nhạy với glycosyl hesperetin có thể được chọn một cách thích hợp trong số các dạng sau đây, tùy thuộc vào mục đích sử dụng của nó; dạng lỏng như dạng thuốc nước để phun, dung dịch dùng cho mắt, dung dịch truyền vào mũi, thuốc súc miệng, hoặc dịch tiêm; dạng bột nhào mềm như thuốc bôi dẻo, thuốc đắp, hoặc kem; và dạng rắn như bột, thuốc dạng bột, viên cứng, viên nén hoặc viên nang. Trong việc bào chế dược phẩm, các thành phần khác như thành phần y, hoạt chất sinh lý, chất kháng sinh, tá dược, chất đệm, chất làm ổn định, chất màu, chất điều vị, chất bảo quản, chất khử trùng hoặc chất kìm hãm vi khuẩn, một hoặc nhiều chất này có thể được sử dụng tùy ý trong hỗn hợp, nếu cần.

Mức liều glycosyl hesperetin theo sáng chế có thể được kiểm soát thích hợp tùy thuộc vào hàm lượng, đường dùng thuốc và tần số sử dụng glycosyl hesperetin, cũng như các triệu chứng của đối tượng đang được dùng thuốc. Glycosyl hesperetin theo sáng chế thường được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,001 đến 10g/người lớn/ngày, tốt hơn là từ 0,01 đến 5g/người

lớn/ngày, và tốt hơn nữa là từ 0,05 đến 1g/người lớn/ngày tính theo d.s.b.

Ví dụ về phương pháp để đưa glycosyl hesperetin theo sáng chế vào các chế phẩm khác nhau bao gồm một hoặc nhiều phương pháp trộn, nhào, hòa tan, ngâm, thấm, phân tán, phết, phun, truyền thông thường, v.v., một hoặc nhiều phương pháp này có thể được sử dụng riêng rẽ hoặc kết hợp thích hợp trước khi hoàn thành mỗi chế phẩm. Chế phẩm này là, ví dụ, sản phẩm thực phẩm, sản phẩm đặc sản, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân đối với bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu/vật liệu công nghiệp, đồ ăn, môi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, hoặc sản phẩm nhựa. Chế phẩm trên đây được kết hợp với glycosyl hesperetin theo sáng chế có tác dụng có lợi thực tế ở chỗ, mùi vị cũng như vị pha tạp và màu sắc của chế phẩm này được làm giảm một cách hiệu quả, rõ rệt thậm chí khi được bảo quản ở nhiệt độ như được nêu trên đây trong hàng chục phút đến hàng tháng, so với các chế phẩm được đưa vào sản phẩm thông thường. Tương tự với sản phẩm thông thường, glycosyl hesperetin theo sáng chế có thể được sử dụng một cách thuận lợi trong các hợp chất hoặc chế phẩm khác nhau không chỉ ở dạng tác nhân làm giàu vitamin P mà còn ở dạng chất chống oxy hóa tự nhiên, chất làm ổn định, chất cải thiện chất lượng, tác nhân điều trị dự phòng, tác nhân điều trị, hoặc tác nhân hấp thụ tử ngoại.

Các thử nghiệm sau đây sẽ giải thích về glycosyl hesperetin theo sáng chế chi tiết hơn:

Ví dụ thử nghiệm 1: Đặc tính của glycosyl hesperetin dạng hạt

Trừ việc sử dụng 0,1, 0,09, 0,07, hoặc 0,04% natri pyrosulfit làm tác nhân khử trong Ví dụ 1 được mô tả sau đây, 4 loại glycosyl hesperetin đã nghiền (mẫu thử nghiệm 5 đến 8: sáng chế) được điều chế tương tự với phương pháp của Ví dụ 1. Trong khi đó, để làm đối chứng, trừ khi không sử dụng tác nhân khử bất kỳ trong các phương pháp của các Ví dụ 1, 3, 4, và 5, bốn loại glycosyl hesperetin đã nghiền (mẫu thử nghiệm 1 đến 4: sản phẩm thông thường) được điều chế tương tự với phương pháp nêu trên. Trong số các mẫu thử nghiệm từ 1 đến 4, mẫu thử nghiệm 1 là tương đương với glycosyl hesperetin đã nghiền, thu được trong Ví dụ tham khảo 1 được mô tả sau đây.

(1) Hàm lượng furfural

Mẫu thử nghiệm từ 1 đến 8 được xác định tương ứng về hàm lượng furfural của chúng bằng các quy trình và thiết bị sau đây:

A. Điều chế mẫu:

(a) Một nửa gam tính theo d.s.b., chất bất kỳ trong số glycosyl hesperetin đã nghiên trên đây làm mẫu thử nghiệm được đưa vào bình Erlenmeyer được đậy kín dung tích 50ml;

(b) Mỗi loại glycosyl hesperetin đã nghiên được thêm vào cùng và được hòa tan trong 5,0ml nước đã khử ion và được thêm cùng 20 μ l xyclohexanol 0,0025% làm chất thay thế để sử dụng làm chất chỉ thị để xác định tỷ lệ thu hồi của mỗi mẫu thử nghiệm sau khi phân tích;

(c) 1,5g natri clorua được thêm tiếp vào và được hòa tan trong mỗi dung dịch tạo thành trên đây, tiếp theo mỗi hỗn hợp tạo thành được thêm vào cùng với 3ml dietyl ete, chất phản ứng loại đặc biệt, được phân phối thương mại bởi Công ty Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Nhật Bản, và được khuấy ở 700 vòng/phút trong 10 phút;

(d) Mỗi hỗn hợp tạo thành được đưa toàn bộ vào phễu tách và được để yên trong 10 phút, tiếp theo thu gom lớp dietyl ete, loại nước lớp này bằng natri sulfat khan, và cô dung dịch đã loại nước trong dòng khí nitơ tới đa để thu được thể tích là khoảng 200 μ l;

(e) 1microlit dịch cô thu được được thu gom và được đưa vào phép phân tích GC/MS; và

(f) Để làm đối chứng, trừ việc sử dụng furfural loại phản ứng, một chất loại đặc biệt, được phân phối thương mại bởi Công ty Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo, Nhật Bản, thay cho glycosyl hesperetin đã nghiên,

được xử lý theo các mục từ (a) đến (e) trên đây tương tự như trong mẫu thử nghiệm.

Điều kiện phân tích GC/MS

- Thiết bị phân tích GC/MS: “Clarus SQ8T GC/MS”, được phân phối thương mại bởi Công ty PerkinElmer, Inc., MA, USA.
- Cột: VF-WAXms, có độ dài là 30 m, đường kính trong là 0,25mm, và độ dày là 0,25 μ m, được phân phối thương mại bởi Công ty Agilent Technologies Inc., CA, USA.
- Detector: thiết bị phân tích khối lượng
- Khí mang: khí heli
- Vận tốc tuyến tính: 35cm/giây
- Điều kiện nhiệt độ gia tăng: Giữ cho nhiệt độ cột ở 40°C trong 3 phút, gia tăng nhiệt độ cột từ 40°C đến 80°C ở tốc độ 5°C/phút, gia tăng nhiệt độ cột từ 80°C đến 200°C ở tốc độ 10°C/phút, giữ nhiệt độ cột ở 200°C trong 7 phút, gia tăng nhiệt độ cột từ 200°C đến 220°C ở tốc độ 10°C/phút, và tiếp theo giữ nhiệt độ cột ở 220°C trong 8 phút.
- Chất thay thế: xyclohexanol, chất phản ứng loại 1, được phân phối thương mại bởi Công ty Katayama Chemical Industries Co., Ltd, Osaka, Nhật Bản.

- Chất chuẩn nội: heneicosan, chất chuẩn nội đối với GC, được phân phối thương mại bởi Công ty Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo, Nhật Bản.

- Dung môi chiết: diethyl ete, chất phản ứng loại đặc biệt, được phân phối thương mại bởi Công ty Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Nhật Bản.

B. Xác định lượng furfural trong mẫu

Đồ thị hiệu chỉnh được vẽ từ dữ liệu về furfural, để làm đối chứng, chất phản ứng loại đặc biệt, được phân phối thương mại bởi Công ty Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Nhật Bản, được xác định bằng phép phân tích GC/MS; trên cơ sở này, mẫu thử nghiệm được xác định hàm lượng furfural của chúng.

(2) Hàm lượng 4-VA

Mẫu thử nghiệm từ 1 đến 8 được xác định tương ứng về Hàm lượng 4-VA của chúng bằng cách sử dụng các chất phản ứng, phương thức và thiết bị sau đây. Phương pháp xác định được xác định theo “Khoảng benzen trong đồ uống có ga” của Thông báo số 0728008, ngày 28.07.2006, do Trưởng Ban Đánh giá và Đăng ký, Phòng An toàn Thực phẩm, Tiêu chuẩn và Đánh giá, Hiệp hội An toàn Dược phẩm và Thực phẩm, Cơ quan thuộc Bộ Sức khỏe, Lao động và Trợ cấp xã hội ban hành.

A. Chất phản ứng và điều chế dung dịch

(a) Natri clorua, một loại chất cho thử nghiệm chất lượng nước, được phân phối thương mại bởi Công ty Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Nhật Bản.

(b) Điều chế dung dịch gốc tiêu chuẩn chứa xyclohexanol

Xyclohexanol, chất phản ứng loại 1, được phân phối thương mại bởi Katayama Chemical Industries, Co., Ltd., Osaka, Nhật Bản, được hòa tan trong metanol để sử dụng trong các thử nghiệm, quy trình và thiết bị nói chung của Dược điển Nhật (*Japanese Pharmacopoeia*: JP), thành dung dịch xyclohexanol 0,01% trọng lượng (sau đây được gọi là “dung dịch gốc tiêu chuẩn chứa xyclohexanol”,).

(c) Dung dịch chuẩn nội

Bằng cách sử dụng dung dịch gốc tiêu chuẩn chứa xyclohexanol và metanol trên đây, dung dịch xyclohexanol 0,0004% trọng lượng (sau đây được gọi là “dung dịch chuẩn nội 1”) và dung dịch xyclohexanol 0,00004% trọng lượng (sau đây được gọi là “dung dịch chuẩn nội 2”, sau đây) được điều chế.

(d) Điều chế dung dịch gốc tiêu chuẩn

4-VA, được phân phối thương mại bởi Công ty Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Nhật Bản, được hòa tan trong metanol thành dung dịch 4-VA 0,0005% trọng lượng (sau đây được gọi là “dung dịch tiêu chuẩn

A”) hoặc dung dịch 4-VA 0,00005% trọng lượng (sau đây được gọi là “dung dịch tiêu chuẩn B”).

(e) Điều chế dung dịch gốc tiêu chuẩn cho đồ thị hiệu chỉnh

Năm dung dịch hỗn hợp gốc tiêu chuẩn khác nhau cho đồ thị hiệu chỉnh, có nồng độ 4-VA lần lượt là 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, và 1,0 μ g/ml, được điều chế bằng cách sử dụng dung dịch tiêu chuẩn A và B trên đây, dung dịch chuẩn nội 1 trên đây, và metanol.

(f) Điều chế dung dịch tiêu chuẩn cho đồ thị hiệu chỉnh

Năm dung dịch tiêu chuẩn khác nhau cho đồ thị hiệu chỉnh được điều chế như sau:

Các phần phân ước 10ml của nước siêu tinh khiết được đưa vào 5 lọ nhỏ có khoảng không bên trong dung tích 20ml, được thêm cùng 10 μ l chất bất kỳ trong số 5 dung dịch hỗn hợp gốc tiêu chuẩn khác nhau cho đồ thị hiệu chỉnh trên đây, và được trộn với 3,0g natri clorua, tiếp theo đây ngay lọ lại và khuấy dung dịch trong mỗi lọ để hòa tan.

B. Điều chế mẫu thử nghiệm:

Mẫu thử nghiệm từ 1 đến 8 lần lượt được cân chính xác, 0,20g tính theo d.s.b., rồi được đưa vào 8 lọ có khoảng không bên trong dung tích 20ml, được thêm cùng nước siêu tinh khiết để thu được tổng khối lượng là 10,0g, và được khuấy để hòa tan. 10 μ l dung dịch chuẩn nội 2 trên đây và 3,0g natri

clorua được thêm vào mỗi loại dung dịch thu được, tiếp theo đây ngay lọ lại, hòa tan dung dịch trong lọ bằng cách khuấy để thu được 8 mẫu thử nghiệm khác nhau chứa mẫu thử nghiệm bất kỳ từ 1 đến 8.

C. Phương pháp định lượng đối với 4-VA

(a) Điều kiện xác định

Điều kiện phân tích GC/MS:

- Thiết bị phân tích GC/MS: “Clarus SQ8T GC/MS”, được phân phối thương mại bởi Công ty PerkinElmer Co., Ltd., Kanagawa, Nhật Bản.
- Thiết bị lấy mẫu có khoảng không: “TurboMatrix Trap 40”
- Cột: VF-WAXms, có chiều dài cột là 30m, đường kính trong là 0,25mm, và độ dày của màng là 0,25 μ m, được phân phối thương mại bởi Công ty Agilent Technologies Inc., CA, USA.
- Detector: thiết bị phân tích khối lượng
- Khí mang: khí heli
- Vận tốc tuyến tính: 35cm/giây
- Nhiệt độ cột dẫn truyền: 200°C

- Điều kiện nhiệt độ gia tăng: Giữ nhiệt độ cột ở 40°C trong 3 phút, gia tăng nhiệt độ cột từ 40°C đến 80°C ở tốc độ 5°C/phút , gia tăng nhiệt độ cột từ 80°C đến 200°C ở tốc độ 10°C/phút , giữ nhiệt độ cột ở 200°C trong 7 phút, gia tăng nhiệt độ cột từ 200°C đến 220°C ở tốc độ 10°C/phút , và tiếp theo giữ nhiệt độ cột ở 220°C trong 8 phút.

- Nhiệt độ lò: 60°C
- Nhiệt độ kim truyền: 140°C
- Nhiệt độ dòng vận chuyển: 205°C
- Thời gian đun nóng lọ: 30 phút

Phương pháp phát hiện:

- Phương pháp ion hóa (Va chạm điện tử (*Electron impact*: EI))
- Theo dõi ion đã chọn lọc (*Selected ion monitoring*: SIM)

m/z 134, 119 (4-VA)

m/z 82, 57 (xyclohexanol, chất loại một, được phân phối thương mại bởi Công ty Katayama Chemical Industries Co., Ltd, Osaka, Nhật Bản)

(b) Xác định lượng 4-VA

Dựa trên tỷ lệ của độ cao đỉnh của 4-VA và xyclohexanol làm chuẩn nội đối với mỗi loại mẫu thử nghiệm trong số 8 mẫu thử nghiệm trên đây và 5 dung dịch hỗn hợp tiêu chuẩn để tạo ra đồ thị hiệu chỉnh, cũng như dựa vào đồ thị hiệu chỉnh của 4-VA được tạo ra riêng biệt, các mẫu thử nghiệm từ 1 đến 8 được xác định đối với nồng độ 4-VA để tính toán hàm lượng 4-VA của nó.

(3) Tông màu và cấp độ màu

Dung dịch nước chứa mẫu thử nghiệm từ 1 đến 8 được quan sát lần lượt bằng kính hiển vi về cấp độ màu của nó bằng quy trình sau đây: Mẫu thử nghiệm từ 1 đến 8 lần lượt được điều chế thành các dung dịch trong nước 1% trọng lượng, và 40ml mỗi loại được đưa vào đồ chứa đầy kín dung tích 50ml

và được đun nóng ở 100°C trong 30 phút. Sau đó, mỗi loại dung dịch thu được được điều chỉnh đến 27°C, được đưa vào ô có chiều rộng 1cm, và được đo độ hấp thụ OD_{420nm} và OD_{720nm} ở bước sóng là 420nm và 720nm bằng cách sử dụng “UV-2600”, tên sản phẩm của quang phổ kế, được phân phối thương mại bởi Công ty Shimadzu Corporation, Kyoto, Nhật Bản, tiếp theo xác định sự khác biệt giữa hai hệ số hấp thụ ($OD_{420nm} - OD_{720nm}$) để sử dụng làm cấp độ màu.

(4) Độ dẫn điện

Mẫu thử nghiệm từ 1 đến 8 lần lượt được hòa tan trong nước tinh khiết thành dung dịch nước 1% trọng lượng, tiếp theo các dung dịch này lần lượt được đun nóng ở 100°C trong 30 phút trong một đồ chứa đậy kín, làm nguội đến 20°C, và được xác định độ dẫn điện ở 20°C bằng cách sử dụng “CM-50AT”, tên sản phẩm của thiết bị đo độ dẫn điện, được phân phối thương mại bởi Công ty DKK Toa Corporation, Tokyo, Nhật Bản.

(5) Hàm lượng hợp chất ion

Hợp chất ion không thể được định lượng một cách dễ dàng, nhưng chúng được xác định về hàm lượng cả các yếu tố kim loại cation theo quy trình sau đây là một phương pháp dễ dàng: Mỗi loại mẫu thử nghiệm từ 1 đến 8 được cân một cách chính xác khoảng 0,5 g trong “Ống Falcon”, tên sản phẩm của đồ chứa có dung tích 50ml, được phân phối thương mại bởi Công ty Becton Dickinson, Nhật Bản và Company, Tokyo, Nhật Bản, được thêm cùng và được hòa tan trong 20ml nước siêu tinh khiết bằng cách đun nóng, được

thêm cùng 0,54ml 60% trọng lượng dung dịch axit nitric trong nước cho thử nghiệm chính xác, được đun nóng ở 70°C trong 14 giờ, làm nguội đến nhiệt độ môi trường, được điều chỉnh để thu được tổng thể tích là 50ml nước siêu tinh khiết, và được định lượng về hàm lượng của các thành phần kim loại bằng cách sử dụng thiết bị phân tích sau đây trong các điều kiện dưới đây. Để làm đối chứng, mẫu chứa nước siêu tinh khiết được sử dụng.

Thiết bị và điều kiện xác định

- Quang phổ kế phát xạ plasma ngẫu hợp cảm ứng: “CIROS-120”, được phân phối thương mại bởi Công ty SPECTRO Analytical Instruments GmbH, Boschstrasse, Germany
- Công suất plasma: 1,400W
- Khí plasma (Ar): 13,0l/phút
- Khí phụ trợ (Ar): 1,0l/phút
- Khí khí dung (Ar): 1,0l/phút
- Vận hành bơm: 1,0ml/phút
- Phương pháp tính toán hàm lượng của thành phần kim loại (ppm): $\{(\text{Giá trị xác định được của mẫu thử nghiệm}) - (\text{giá trị xác định được của đối chứng})\} \times \text{Tỷ lệ pha loãng}$

Bảng 1 thể hiện kết quả của các mục từ (1) đến (5) trên đây. Do thành phần của glycosyl hesperetin của các mẫu thử nghiệm từ 1 đến 8 hầu như giống nhau như được thể hiện trong các Ví dụ 1, 3, 4, và 5, chúng sẽ được loại ra khỏi bảng này.

	Mẫu thử nghiệm	Hàm lượng furfural (ppb)	Hàm lượng 4-VA (ppb)	Tông màu	Cấp độ màu (OD _{420nm} -OD _{720nm})	Độ dẫn điện ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Hàm lượng thành phần kim loại (ppm)			
							Ca	K	Mg	Na
Đối chứng	1*	308	40,2	Vàng nhạt	0,24	10,59	2,948	0,172	0,464	0,975
	2	322	46,6	Vàng nhạt	0,26	11,77	3,038	0,186	0,560	1,175
	3	343	55,1	Vàng nhạt	0,26	10,94	3,248	0,192	0,564	1,205
	4	385	63,8	Vàng nhạt ^{**}	0,26	11,46	4,538	0,242	0,732	1,205
Mẫu theo sáng ché	5	8	1,2	Vàng nhạt ^{**}	0,15	2,86	0,374	0,039	0,052	0,072
	6	10	1,5	Vàng nhạt ^{**}	0,17	4,54	0,385	0,042	0,063	0,088
	7	11	1,8	Vàng nhạt ^{**}	0,20	6,19	0,400	0,043	0,063	0,087
	8	12	2,1	Vàng nhạt ^{**}	0,20	6,59	0,455	0,050	0,077	0,092

Bảng 1

Lưu ý: Ký hiệu “*” tức là gần như giống sản phẩm thông thường chứa glycosyl hesperetin được điều chế bằng phương pháp trong Ví dụ tham khảo 1.

Ký hiệu “**” tức là nó có tông màu vàng nhạt hơn tông màu của mẫu thử nghiệm từ 1 đến 4 làm đối chứng.

Như được thấy rõ từ Bảng 1, tất cả các mẫu thử nghiệm từ 1 đến 4 có hàm lượng furfural vượt quá 300ppb, trong khi đó tất cả các mẫu thử nghiệm từ 5 đến 8 có hàm lượng khoảng 10ppb. Ngoài ra, tất cả các mẫu thử nghiệm từ 1 đến 4 có hàm lượng 4-VA vượt quá 40ppb, trong khi đó tất cả các mẫu thử nghiệm từ 5 đến 8 có hàm lượng khoảng 2ppb hoặc thấp hơn.

Hơn nữa, như được thể hiện trong mục Bảng 1, mẫu thử nghiệm từ 1 đến 4 (Đối chứng) ở dạng dung dịch nước sẽ tạo ra tông màu vàng nhạt nhìn bằng mắt thường, trong khi đó mẫu thử nghiệm từ 5 đến 8 ở dạng dung dịch nước (Mẫu theo sáng chế) có tông màu vàng nhạt rõ rệt so với Đối chứng. Tất cả các mẫu thử nghiệm từ 1 đến 4 ở dạng dung dịch nước có cấp độ màu là 0,24 hoặc cao hơn, trong khi đó tất cả các mẫu thử nghiệm từ 5 đến 8 ở dạng dung dịch nước có cấp độ màu thấp hơn nữa là 0,20 hoặc thấp hơn. Cấp độ màu của mẫu thử nghiệm từ 5 đến 8 ở dạng dung dịch nước sẽ trở nên thấp hơn nữa do sự gia tăng của lượng tác nhân khử được sử dụng.

Như được thấy rõ từ Bảng 1, mẫu thử nghiệm từ 1 đến 4 ở dạng dung dịch nước có độ dẫn điện nằm trong khoảng từ 11 đến 12 μ S/cm là vượt quá 10 μ S/cm, trong khi đó mẫu thử nghiệm từ 5 đến 8 ở dạng dung dịch nước có độ dẫn điện là nằm trong khoảng từ 3 đến 7 μ S/cm là nhỏ hơn 10 μ S/cm.

Ngoài ra, như được thấy rõ từ Bảng 1, hàm lượng bất kỳ của các thành phần kim loại của canxi, kali magie, và natri trong mẫu thử nghiệm từ 5 đến 8 là thấp hơn hẳn so với mẫu thử nghiệm từ 1 đến 4, và các kết quả là trùng khớp với độ dẫn điện đo được của chúng.

Các kết quả này cho thấy rằng, so với sản phẩm thông thường, glycosyl hesperetin theo sáng chế được điều chế bằng tác nhân khử xác định trước được

giảm đáng kể về hàm lượng furfural, hàm lượng 4-VA, và cấp độ màu, cũng như độ dẫn điện và hàm lượng của thành phần kim loại.

Ví dụ thử nghiệm 2: Thử nghiệm cảm quan

Thử nghiệm cảm quan như được thể hiện dưới đây được thực hiện bằng sản phẩm thông thường và glycosyl hesperetin theo sáng chế.

(1) Nguyên tắc chung của thử nghiệm cảm quan và điều chế mẫu thử nghiệm

Thử nghiệm cảm quan được thể hiện trong mục (2) dưới đây được thực hiện bằng 8 người tình nguyện khỏe mạnh, bao gồm 2 phụ nữ và 6 nam giới, từ 28 đến 59 tuổi, bằng cách sử dụng, mẫu thử nghiệm 6 mà có các giá trị hàm lượng furfural, cấp độ màu, độ dẫn điện vừa phải, và hàm lượng thành phần kim loại của mẫu thử nghiệm từ 5 đến 8 như được sử dụng trong Ví dụ thử nghiệm 1, làm ví dụ tiêu biểu của glycosyl hesperetin theo sáng chế; mẫu thử nghiệm 1 mà có các giá trị hàm lượng furfural, cấp độ màu, độ dẫn điện tối thiểu, và hàm lượng thành phần kim loại của mẫu thử nghiệm từ 1 đến 4 như được sử dụng trong Ví dụ thử nghiệm 1, làm ví dụ tiêu biểu của sản phẩm thông thường. Mẫu thử nghiệm 1 là sản phẩm thông dụng và mẫu thử nghiệm 6 là glycosyl hesperetin theo sáng chế lần lượt được hòa tan ở nhiệt độ môi trường trong nước RO, thu được qua màng thẩm thấu ngược, để sử dụng làm mẫu thử nghiệm 1 và 6 chưa được đun nóng, tiếp theo, các mẫu này lần lượt được bảo quản trong các đồ chứa đậy kín cho đến khi được đưa vào thử nghiệm sau đây. Trong khi đó, mẫu thử nghiệm 1 và 6 mà không được đun nóng (sau đây được gọi là “mẫu thử nghiệm không được đun nóng 1 và 6”) lần lượt được đưa vào đồ chứa, đậy kín lại, được đun nóng trong thùng nước sôi trong 30 phút (sau đây được gọi là “xử lý nhiệt”), và tiếp theo làm nguội đến nhiệt độ môi trường

để sử dụng làm mẫu thử nghiệm 1 và 6 có xử lý nhiệt (sau đây được gọi là “mẫu thử nghiệm được đun nóng 1 và 6”).

(2) Thử nghiệm cảm quan

Mỗi người tình nguyện được hỏi về đánh giá cá nhân về (a) màu sắc và (b) mùi vị của các phần phân ước 10ml mẫu thử nghiệm không được đun nóng 1 và 6 và mẫu thử nghiệm được đun nóng 1 và 6, tất cả các mẫu này thu được trong mục (1) trên đây và được điều chỉnh để đưa về nhiệt độ môi trường trước khi thử chúng. Sau đó, mỗi người tình nguyện được súc miệng bằng nước trắng đã đun sôi trước khi thử mỗi mẫu thử nghiệm và được đánh giá cá nhân về (c) vị đắng (bao gồm cả độ thô ráp, độ cứng, hoặc độ se), (d) hậu vị, và (e) mùi vị khi thử. Mỗi người tình nguyện được yêu cầu đánh giá mẫu thử nghiệm không được đun nóng và được đun nóng 1 và 6 về các mục đánh giá từ (a) đến (3), trong đó tiêu chuẩn đánh giá như được thể hiện trong Bảng 2 sau đây, trong đó thuật ngữ “sản phẩm thông thường” tức là “mẫu thử nghiệm 1”, và mẫu thử nghiệm không được đun nóng 1 và mẫu thử nghiệm được đun nóng 1 lần lượt được đưa ra làm đối chứng cho mẫu thử nghiệm không được đun nóng 6 và mẫu thử nghiệm được đun nóng 6. Các kết quả lần lượt được thể hiện trong Bảng 3 và 4.

Bảng 2

Tiêu chuẩn đánh giá

		Điểm đánh giá (dựa trên thang đánh giá 5 điểm)	
Trước khi thử nghiệm	(a) Màu sắc	So với sản phẩm thông thường	1: Thấp rõ rệt
			2: Hơi thấp
			3: So sánh được
			4: Hơi cao
			5: Cao rõ rệt
	(b) Mùi vị	So với sản phẩm thông thường	1: Yếu rõ rệt
			2: Hơi yếu
			3: So sánh được
			4: Hơi hắc
			5: Hắc rõ rệt
Khi thử	(c) Vị đắng	So với sản phẩm thông thường	1: Rất thích hợp
			2: Khá thích hợp
			3: Không rõ rệt
			4: Không dễ chịu
			5: Rất không dễ chịu
	(d) Hậu vị	So với sản phẩm thông thường	1: Rất thích hợp
			2: Khá thích hợp
			3: Không rõ rệt
			4: Không dễ chịu
			5: Rất không dễ chịu
	(e) Mùi vị	So với sản phẩm thông thường	1: Yếu rõ rệt
			2: Hơi yếu
			3: So sánh được
			4: Hơi hắc
			5: Hắc rõ rệt

(3) Kết quả thử nghiệm cảm quan

Bảng 3

Phân loại theo điểm số của mẫu thử nghiệm không được đun nóng 6:

	Số người tình nguyện				
	Trước khi thử nghiệm		Khi thử		
Điểm số	(a) Màu sắc	(b) Mùi vị	(c) Vị đắng	(d) Hậu vị	(e) Mùi vị
1	4	3	0	3	4
2	4	5	7	4	4
3	0	0	1	1	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0

Bảng 4

Phân loại theo điểm số của mẫu thử nghiệm được đun nóng 6:

	Số người tình nguyện				
	Trước khi thử nghiệm		Khi thử		
Điểm số	(a) Màu sắc	(b) Mùi vị	(c) Vị đắng	(d) Hậu vị	(e) Mùi vị
1	6	4	3	4	5
2	2	3	4	1	1
3	0	1	1	3	2
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0

Kết quả đánh giá trong Bảng 3 và 4 không thể hiện kết quả đánh giá về (a) màu sắc, (b) mùi vị, (c) vị đắng, (d) hậu vị, và (e) mùi vị đối sản phẩm thông thường (mẫu thử nghiệm được đun nóng/không được đun nóng 1 để làm đối chứng) về mặt bản chất; tuy nhiên, như được chỉ ra trong tiêu chuẩn đánh giá, kết quả đánh giá trong Bảng 3 và 4 là đối với glycosyl hesperetin theo sáng chế được đánh giá dựa trên các đặc tính này của sản phẩm thông thường, và do đó kết quả đánh giá của sản phẩm thông thường tương ứng với điểm trung bình là “3” cho mỗi loại điểm số, được đánh giá dựa trên thang đánh giá 5 điểm, như được thể hiện trong tiêu chuẩn đánh giá.

Ngược lại, như được thấy rõ từ kết quả đánh giá trong Bảng 3, mẫu thử nghiệm không được đun nóng 6, tức là, glycosyl hesperetin theo sáng chế không được xử lý nhiệt sẽ đưa lại cho số người tình nguyện, người được đánh giá là “điểm 1” là điểm cao nhất trên thang đánh giá 5 điểm để đánh giá các mục về (a) màu sắc, (b) mùi vị, (c) vị đắng, (d) hậu vị, và (e) mùi vị, lần lượt là 4, 3, 0, 3 và 4 (tổng cộng có 14 đối tượng), trong số 8 người tình nguyện. Trong khi đó, mẫu thử nghiệm được đun nóng 6 được thể hiện trong kết quả đánh giá trong Bảng 4, tức là, glycosyl hesperetin theo sáng chế được xử lý nhiệt có số người tình nguyện, là người được coi là “điểm 1” là điểm số cao nhất trong thang đánh giá 5 điểm để đánh giá các mục (a) màu sắc, (b) mùi vị, (c) vị đắng, (d) hậu vị, và (e) mùi vị, lần lượt là 4, 5, 7, 4 và 4 (tổng cộng có 24 đối tượng), trong số 8 người tình nguyện. Các kết quả này chỉ ra rằng glycosyl hesperetin theo sáng chế là glycosyl hesperetin có chất lượng tương đối cao, được làm giảm hiệu quả ở mùi vị, cũng như in vị pha tạp và màu sắc, so với sản phẩm thông thường.

Tương tự, như được thấy rõ từ kết quả đánh giá trong Bảng 3, mẫu thử nghiệm không được đun nóng 6, tức là, glycosyl hesperetin theo sáng chế không được xử lý nhiệt sẽ tạo ra số người tình nguyện, là người được coi là “điểm 4” là cao hơn 1 điểm so với mức điểm thấp nhất là điểm 5 dựa trên thang đánh giá 5 điểm để đánh giá các mục (a) màu sắc, (b) mùi vị, (c) vị đắng, (d) hậu vị, và (e) mùi vị, đều là 0 (toàn bộ là 0). Trong khi đó, như được thấy rõ từ kết quả đánh giá trong Bảng 4, mẫu thử nghiệm được đun nóng 6, tức là, glycosyl hesperetin theo sáng chế được xử lý nhiệt sẽ tạo ra số người tình nguyện, người được đánh giá là “điểm 4” cao hơn 1 điểm so với mức thấp nhất 5 điểm theo thang đánh giá 5 điểm để đánh giá các mục (a) màu sắc, (b) mùi vị, (c) vị đắng, (d) hậu vị, và (e) mùi vị, đều là 0 (toàn bộ là 0). Các kết quả này cho thấy rằng glycosyl hesperetin theo sáng chế là

glycosyl hesperetin có chất lượng tương đối cao, được làm giảm một cách hữu hiệu về mùi vị, cũng như in vị pha tạp và màu sắc, so với sản phẩm thông thường.

Dựa trên các kết quả này, so với sản phẩm thông thường, glycosyl hesperetin theo sáng chế, bất chấp được đun nóng hoặc không được đun nóng, là có lợi rõ rệt về tất cả các hạng mục được đánh giá là (a) màu sắc, (b) mùi vị, (c) vị đắng, (d) hậu vị, và (e) mùi vị, trong đó sự khác biệt về chất lượng giữa glycosyl hesperetin được đun nóng và glycosyl hesperetin không được đun nóng sẽ trở nên rõ rệt hơn khi chúng được đun nóng.

Khi được đưa vào thử nghiệm cảm quan tương tự với “Thử nghiệm cảm quan (2)” như được nêu trong Ví dụ thử nghiệm 2 nêu trên, mẫu thử nghiệm 5, 7, và 8, mà được thể hiện trong mục “(1) Điều chế mẫu thử nghiệm” như trong Ví dụ thử nghiệm 2, sẽ tạo ra các kết quả gần như giống với kết quả trong mẫu thử nghiệm 6 trên đây.

Do đó, thấy rằng glycosyl hesperetin theo sáng chế được làm giảm đáng kể vị đắng bao gồm cả vị chát, vị đắng, vị se, và hậu vị; hoặc nó đã được làm giảm đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc. Ngoài ra, còn thấy rằng glycosyl hesperetin được giảm rõ rệt về mùi vị so với sản phẩm thông thường.

Ví dụ thử nghiệm 3:

Mối quan hệ giữa (a) vị pha tạp và màu sắc của glycosyl hesperetin và (b) hàm lượng của furfural và 4-VA

Các thử nghiệm sau đây được thực hiện để đánh giá mối quan hệ giữa (a) vị pha tạp và màu sắc của glycosyl hesperetin và (b) hàm lượng của furfural và 4-VA.

(1) Điều chế mẫu thử nghiệm

Theo phương pháp được nêu trong Ví dụ 4 và Ví dụ tham khảo 1 được mô tả dưới đây, mẫu glycosyl hesperetin theo sáng chế (sau đây được gọi là “Mẫu A”) và mẫu khác làm đại diện cho sản phẩm thông thường (sau đây được gọi là “Mẫu B”). Để thuận tiện, các Mẫu A và B được trộn với tỷ lệ thích hợp để thu được 3 loại mẫu glycosyl hesperetin với hàm lượng furfural khác nhau một chút ít (được gọi là “mẫu thử nghiệm 9 đến 11”) như được thể hiện trong mục Bảng 5.

(2) Hàm lượng của furfural và 4-VA

Hàm lượng của furfural và 4-VA trong mẫu thử nghiệm từ 9 đến 11 lần lượt được xác định theo phương pháp xác định được thể hiện trong mục (1) và (2) trong Ví dụ thử nghiệm 1.

(3) Thử nghiệm đánh giá về màu sắc:

9 người phụ nữ và đàn ông khỏe mạnh, bao gồm 2 phụ nữ và 7 đàn ông, từ 28 đến 57 tuổi, làm người tình nguyện, được đưa vào thử nghiệm đánh giá màu sắc bằng cách sử dụng mẫu thử nghiệm từ 9 đến 11 và Mẫu B (sau đây được gọi là “Đối chứng”). Các mẫu thử nghiệm từ 9 đến 11 này và Đối chứng lần lượt được hòa tan trong nước cất ở nhiệt độ môi trường thành dung dịch nước 1% trọng lượng, tiếp theo được quan sát bằng mắt thường và sẽ được phán xét bởi người tình nguyện như sau:

Được đánh giá là “Kết quả đánh giá A1”, khi dung dịch được đánh giá và sẽ được phán xét bởi người tình nguyện là “được giảm về màu sắc” so với đối chứng; và được đánh giá là “Kết quả đánh giá B1”, khi dung dịch được đánh giá và được phán xét là “được giảm về màu sắc”. Các kết quả được nêu trong Bảng 5.

(4) Thử nghiệm cảm quan

9 người phụ nữ và đàn ông làm người tình nguyện như trên đây được đưa

vào thử nghiệm cảm quan về vị pha tạp của mẫu thử nghiệm từ 9 đến 11 nêu trên và Đối chứng. Các mẫu thử nghiệm từ 9 đến 11 này và Đối chứng lần lượt được hòa tan trong nước cất ở nhiệt độ môi trường thành dung dịch nước 1% trọng lượng, tiếp theo chúng được người tình nguyện uống và được phán xét kết quả là “Kết quả đánh giá A2” khi dung dịch nước được đánh giá là “được cải thiện về vị pha tạp”, và được phán xét là “Kết quả đánh giá B2” khi dung dịch được đánh giá là “không được cải thiện về vị pha tạp”. Các kết quả được nêu trong Bảng 5.

Bảng 5

Mẫu thử nghiệm	Hàm lượng furfural (ppb)	Hàm lượng 4-VA (ppb)	Số người tình nguyện			
			Thử nghiệm đánh giá về màu sắc		Thử nghiệm cảm quan	
			Kết quả đánh giá A1	Kết quả đánh giá B1	Kết quả đánh giá A2	Kết quả đánh giá B2
Mẫu B (Đối chứng)	330	45,0				
9	234	39,4	4	5	4	5
10	171	21,9	9	0	8	1
11	108	10,2	9	0	9	0
Mẫu A	56	2,0				

Lưu ý: “Kết quả đánh giá A1” và “Kết quả đánh giá B1” tức là, trong thử nghiệm đánh giá về màu sắc, người tình nguyện sẽ đánh giá mẫu thử nghiệm lần lượt là “được giảm về màu sắc” và “không được giảm về màu sắc” so với Đối chứng. Trong khi đó, “Kết quả đánh giá A2” và “Kết quả đánh giá B2” tức là, trong thử nghiệm cảm quan, người tình nguyện đánh giá mẫu thử nghiệm lần lượt là “được cải thiện về vị pha tạp” và “không được cải thiện về vị pha tạp” so với Đối chứng.

Như được thấy rõ từ các kết quả trong Bảng 5, vị pha tạp của glycosyl hesperetin được cải thiện rõ rệt và đáng kể ở hàm lượng furfural ở khoảng 200ppb như là ranh giới và được cải thiện rõ rệt và đáng kể ở hàm lượng 4-VA ở khoảng 30ppb là một ranh giới khác. Thực hiện thử nghiệm tương tự với màu sắc của glycosyl hesperetin. Các kết quả này cho gợi ý rằng hàm lượng furfural và hàm lượng 4-VA có thể được sử dụng làm chỉ số để phân biệt rõ ràng glycosyl hesperetin mà được làm giảm một cách đáng kể ở vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc theo cách lựa chọn một chất có hàm lượng furfural không cao hơn 200ppb và hàm lượng 4-VA không cao hơn 30ppb để thu được glycosyl hesperetin mong muốn mà được làm giảm một cách đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc so với sản phẩm thông thường.

Bảng 6 sau đây thể hiện mối quan hệ giữa (a) vị pha tạp của glycosyl hesperetin dạng hạt khác nhau và (b) hàm lượng của furfural và 4-VA như được bộc lộ trong Bảng 1 trong Ví dụ thử nghiệm 1 trên đây, Ví dụ từ 1 đến 7 được mô tả sau đây, và Ví dụ tham khảo 1. Trong Bảng 6, mẫu thử nghiệm từ 5 đến 8 là glycosyl hesperetin theo sáng chế và glycosyl hesperetin đã nghiên cứu trong Ví dụ từ 1 đến 7 (sau đây tất cả đều được gọi là “mẫu thử nghiệm theo sáng chế”) có hàm lượng furfural không cao hơn 191ppb và hàm lượng 4-VA của không cao hơn 28,7ppb, tức là mẫu thử nghiệm theo sáng chế được giảm đáng kể vị pha tạp đặc trưng của sản phẩm thông thường. Ngược lại, mẫu thử nghiệm từ 1 đến 4 và glycosyl hesperetin đã nghiên cứu trong Ví dụ tham khảo 1 làm Đối chứng từ 1 đến 5 (sau đây tất cả đều được gọi là “đối chứng mẫu thử nghiệm”) có hàm lượng furfural là 308ppb hoặc cao hơn và hàm lượng 4-VA là 40,0ppb hoặc cao hơn, và chúng đều có vị pha tạp đặc trưng của sản phẩm thông thường.

Kết quả của các Thử nghiệm, Ví dụ, và Ví dụ tham khảo này được tóm tắt

trong Bảng 6 sau đây là trùng khớp với các kết quả trong Ví dụ thử nghiệm 3; và dựa trên các kết quả này, có thể kết luận rằng việc lựa chọn glycosyl hesperetin có hàm lượng furfural nhỏ hơn 200ppb và/hoặc hàm lượng 4-VA nhỏ hơn 30ppb, mà được thực hiện bằng cách sử dụng hàm lượng furfural và/hoặc hàm lượng 4-VA làm chỉ số, dẫn đến thu được glycosyl hesperetin mong muốn mà được làm giảm một cách đáng kể vị pha tạp so với sản phẩm thông thường.

Bảng 6

Mẫu thử nghiệm		Hàm lượng furfural (ppb)	Hàm lượng 4- VA (ppb)	Vị pha tạp
Đối chứng 1	1*	308	40,2	x
Đối chứng 2	2*	322	46,6	x
Đối chứng 3	3*	343	55,1	x
Đối chứng 4	4*	385	63,8	x
Đối chứng 5	Ví dụ tham khảo 1	310	40,0	x
Mẫu theo sáng chế	Ví dụ 7	191	28,7	○
Mẫu theo sáng chế	Ví dụ 6	180	20,0	○
Mẫu theo sáng chế	8*	12	2,1	○
Mẫu theo sáng chế	Ví dụ 1	12	2,0	○
Mẫu theo sáng chế	7*	11	1,8	○
Mẫu theo sáng chế	Ví dụ 2	11	1,5	○
Mẫu theo sáng chế	Ví dụ 3	10	3,0	○
Mẫu theo sáng chế	6*	10	1,5	○
Mẫu theo sáng chế	Ví dụ 5	10	1,5	○
Mẫu theo sáng chế	Ví dụ 4	9	2,0	○
Mẫu theo sáng chế	5*	8	1,2	○

Lưu ý: Trong bảng này, mẫu thử nghiệm được gắn với ký hiệu “*” là được trích dẫn từ Bảng 1 trong bản mô tả này. Mẫu thử nghiệm được gắn với ký

hiệu "o" và "x" tức là vị pha tạp đặc trưng của sản phẩm thông thường được làm giảm một cách đáng kể và như thế vị pha tạp đặc trưng của sản phẩm thông thường vẫn còn lại.

Từ các kết quả thử nghiệm trên đây, do glycosyl hesperetin theo sáng chế được làm giảm một cách đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị so với sản phẩm thông thường, tự bản thân chúng là đặc biệt hữu hiệu làm sản phẩm thực phẩm mà được làm giảm một cách đáng kể ở vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị, và chúng trở nên hữu hiệu mà không có bất kỳ sự bất tiện nào thậm chí nếu được sử dụng trong sản phẩm thực phẩm, sản phẩm cao cấp, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân chống bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và vật liệu công nghiệp, đồ ăn, môi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, sản phẩm nhựa, v.v., trong đó sản phẩm thông thường không thể được sử dụng do vị pha tạp của riêng nó hoặc cùng với màu sắc của nó, cũng như mùi vị của nó; hoặc trong đó sự hư hỏng chắc chắn sẽ xảy ra.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Phần sau đây sẽ giải thích sáng chế chi tiết hơn kèm theo Ví dụ và Ví dụ tham khảo, nhưng chúng không làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1

Glycosyl hesperetin dạng hạt

Bốn phần tính theo khối lượng của dung dịch natri hydroxit 1N trong nước được đun nóng 80°C và được thêm vào một phần tính theo khối lượng hesperidin và bảy phần tính theo khối lượng dextrin (đương lượng dextroza (DE) là 20), tiếp theo hòa tan các chất của hỗn hợp trong điều kiện khuấy trong 30

phút, điều chỉnh dung dịch đến độ pH = 9,0, thêm 30 đơn vị/g dextrin của CGTaza, thu được từ chủng *Geobacillus stearothermophilus* Tc-91 (FERM BP-11273) được tạo ra vào ngày 30.07.1973, và được dùng cho Phòng gửi nhận cơ quan Sáng chế quốc tế (*International Patent Organism Depositary*) của Viện Khoa học và Công nghệ cao cấp quốc gia (*National Institute of Advanced Industrial Science and Technology*), Tsukuba Central 6, 1-1, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaraki-ken, 305-8566 Japan, và được đưa vào phản ứng enzym trong 18 giờ trong khi vẫn giữ độ pH ở 6,9 và nhiệt độ ở 50°C để chuyển hóa khoảng 70% hesperidin thành α -glycosyl hesperidin. Dung dịch natri pyrosulfit 0,05% được thêm làm tác nhân khử vào dung dịch phản ứng enzym tạo thành, tiếp theo đun nóng dung dịch ở 100°C trong 30 phút, làm bất hoạt enzym còn lại trong dung dịch, thêm “GLUCOZYME”, tên sản phẩm của glucoamylaza, được phân phối thương mại bởi Công ty Nagaza ChemteX Corporation, Osaka, Japan, với lượng 100 đơn vị trên mỗi gam dung dịch phản ứng enzym, và cho hỗn hợp tạo thành phản ứng được xúc tác enzym trong 5 giờ trong khi vẫn giữ độ pH ở 5,0 và nhiệt độ ở 55°C để tạo ra α -glucosyl hesperidin. Dung dịch phản ứng enzym tạo thành được đun nóng để bất hoạt enzym còn lại và được lọc, tiếp theo cho dịch lọc tạo thành nạp vào cột được phủ “DIAION HP-10”, tên sản phẩm của chất hấp thụ tổng hợp dạng xốp, được phân phối thương mại bởi Công ty Mitsubishi Chemical Corporation, Tokyo, Japan, ở vận tốc không gian (SV) là 2. Kết quả là, α -glucosyl hesperidin và hesperidin nguyên vẹn trong dung dịch được hấp thụ vào chất hấp thụ tổng hợp dạng xốp, nhưng D-glucoza, muối, và các chất tương tự khác còn lại được rửa giải ra khỏi cột mà không hấp thụ. Sau đó, cột được nạp nước tinh khiết để rửa và được nạp tiếp dung dịch etanol trong nước trong khi vẫn gia tăng từng bước nồng độ của etanol để thu được các phân đoạn chứa α -glucosyl hesperidin,

tiếp theo thu gom các phân đoạn, cô các phân đoạn đã được thu gom *trong chân không*, và nghiền dịch cô đặc để thu được glycosyl hesperetin dạng hạt màu vàng nhạt với hiệu suất khoảng 70% tính theo d.s.b., so với khối lượng rắn của hesperin nguyên liệu. Glycosyl hesperetin dạng hạt tạo thành chứa 80,0% α -glucosyl hesperidin, 12,3% hesperidin, và 7,7% các thành phần khác.

Sản phẩm vừa thu được có hàm lượng furfural là 12ppb, hàm lượng 4-VA 2ppb, cấp độ màu là 0,19, và độ dẫn điện là khoảng 6 μ S/cm. Ngoài ra, sản phẩm chứa canxi, kali, magie, và natri với lượng tương ứng là khoảng 0,4ppm, khoảng 0,05ppm, khoảng 0,1ppm, và khoảng 0,1ppm.

So với sản phẩm thông thường, sản phẩm trên đây có các dấu hiệu đặc trưng có lợi: Được làm giảm đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị, và vị pha tạp được làm giảm một cách đáng kể và màu sắc và mùi vị cũng được giảm một cách hữu hiệu, rõ rệt thậm chí khi được đun nóng trong 30 phút trong điều kiện nhiệt độ tương đối cao là từ 90 đến 100°C. Theo đó, sản phẩm thực phẩm, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân đối với bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và vật liệu công nghiệp, đồ ăn, môi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, hoặc sản phẩm nhựa, tất cả các loại chất này, chứa sản phẩm, được làm giảm một cách đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị như là tác dụng có lợi, thậm chí khi được giữ hoặc bảo quản ở nhiệt độ trong khoảng hoặc thấp hơn khoảng nhiệt độ trên đây trong hàng chục phút đến hàng tháng, so với trường hợp sử dụng sản phẩm thông thường. Tương tự với sản phẩm thông thường, sản phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng một cách thuận lợi làm tác nhân làm giàu vitamin P, cũng như chất oxy hóa tự nhiên an toàn, chất làm ổn định, tác nhân cải thiện chất lượng, chất bảo quản, tác nhân điều trị, hoặc tác nhân hấp thụ tử ngoại trong các

chế phẩm khác nhau như sản phẩm thực phẩm, vật phẩm cao cấp, đồ ăn, mồi bả, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân đối với bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và vật liệu công nghiệp, đồ ăn, mồi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, sản phẩm nhựa, v.v..

Ví dụ 2

Glycosyl hesperetin dạng hạt

Bốn phần tính theo khối lượng dung dịch natri hydroxit 1N trong nước được đun nóng đến 80°C và, trong khi vẫn giữ nhiệt độ này, dung dịch phản ứng được thêm cẩn thận một phần tính theo khối lượng hesperidin, 4 phần tính theo khối lượng dextrin (DE 10), và 0,06 phần tính theo khối lượng natri sulfit, tiếp theo hòa tan các chất của hỗn hợp trong khi vẫn khuấy trong 30 phút, trung hòa dung dịch phản ứng bằng dung dịch axit clohydric 0,01N, thêm 20 đơn vị/g dextrin của CGTaza, thu được từ chủng *Geobacillus stearothermophilus* Tc-91 (FERM BP-11273) được đặt hàng cho International Patent Organism Depositary, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Tsukuba Central 6, 1-1, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaraki-ken, 305-8566 Japan, và giữ hỗn hợp phản ứng này ở độ pH = 6,0 và 75°C trong 24 giờ trong điều kiện khuấy để thực hiện phản ứng enzym. Dung dịch phản ứng enzym tạo thành được lấy mẫu để phân tích bằng phép sắc ký lỏng tính năng cao (*high-performance liquid chromatography*: HPLC), sẽ cho thấy rằng khoảng 69% hesperidin được chuyển hóa thành α -glycosyl hesperidin. Dung dịch phản ứng enzym được thêm natri pyrosulfit làm tác nhân khử để thu được nồng độ là 0,03%, được đun nóng ở 90°C trong 120 phút, thêm 50 đơn vị/g sản phẩm chất trung gian trên đây chứa α -glycosyl hesperidin, và được đưa vào phản ứng enzym trong 10 giờ trong khi vẫn

giữ độ pH ở 5,0 và nhiệt độ ở 55°C để tạo ra α -glucosyl hesperidin. Dung dịch phản ứng enzym tạo thành được đun nóng để làm bất hoạt enzym còn lại và được lọc, tiếp theo cho dịch lọc tạo thành nạp vào cột được phủ “DIAION HP-10”, tên sản phẩm của chất hấp thụ tổng hợp dạng xốp, được phân phối thương mại bởi Công ty Mitsubishi Chemical Corporation, Tokyo, Japan, ở SV 2. Kết quả là, α -glucosyl hesperidin và hesperidin nguyên vẹn trong dung dịch được hấp thụ vào chất hấp thụ tổng hợp dạng xốp, nhưng saccarit, muối, và các chất tương tự khác còn lại được rửa giải ra khỏi cột mà không hấp thụ. Sau đó, cột được nạp nước tinh khiết để rửa và được nạp tiếp dung dịch etanol trong nước trong khi đó gia tăng từng bước nồng độ của etanol để thu được các phân đoạn chứa α -glucosyl hesperidin, tiếp theo thu gom các phân đoạn, cô các phân đoạn đã được thu gom *trong chân không*, và nghiền dịch cô đặc để thu được glycosyl hesperetin dạng hạt màu vàng nhạt với hiệu suất khoảng 68% tính theo d.s.b., so với khối lượng rắn của hesperin nguyên liệu. Glycosyl hesperetin dạng hạt tạo thành chứa 77,0% α -glucosyl hesperidin, 15,5% hesperidin, và 7,5% các thành phần khác.

Sản phẩm vừa thu được có hàm lượng furfural là 11ppb, hàm lượng 4-VA là 1,5ppb, cấp độ màu là 0,14, và độ dẫn điện là khoảng 4 μ S/cm. Ngoài ra, sản phẩm chứa canxi, kali, magie, và natri với lượng tương ứng là khoảng 0,4ppm, khoảng 0,06ppm, khoảng 0,1ppm, và khoảng 0,1ppm.

So với sản phẩm thông thường, sản phẩm trên đây có các dấu hiệu đặc trưng có lợi: Được làm giảm đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị, và vị pha tạp của chúng được làm giảm một cách đáng kể và màu sắc và mùi vị được giảm một cách hiệu quả, rõ rệt thậm chí khi được đun nóng trong 30 phút trong điều kiện nhiệt độ tương đối cao là từ 90 đến 100°C. Theo đó, sản phẩm thực phẩm, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân chống bệnh nhạy cảm, sản

phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và vật liệu công nghiệp, đồ ăn, môi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, hoặc sản phẩm nhựa, tất cả các loại chất này, chứa sản phẩm, được làm giảm một cách đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị như là tác dụng có lợi, khi được giữ hoặc bảo quản ở nhiệt độ trong khoảng hoặc thấp hơn khoảng nhiệt độ trên đây trong hàng chục phút đến hàng tháng, khi so với sản phẩm thông thường. Tương tự với sản phẩm thông thường, sản phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng một cách thuận lợi làm tác nhân làm giàu vitamin P, cũng như chất oxy hóa tự nhiên an toàn, chất làm ổn định, tác nhân cải thiện chất lượng, chất bảo quản, tác nhân điều trị, hoặc tác nhân hấp thụ tử ngoại trong các chế phẩm khác nhau như sản phẩm thực phẩm, vật phẩm cao cấp, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân chống bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và vật liệu công nghiệp, đồ ăn, môi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, sản phẩm nhựa, v.v..

Ví dụ 3

Glycosyl hesperetin dạng hạt

4 phần tính theo khối lượng dung dịch natri hydroxit 1N trong nước được đun nóng 80°C và, trong khi vẫn giữ nhiệt độ này, dung dịch phản ứng được thêm cẩn thận 0,1 phần tính theo khối lượng natri sulfit, một phần tính theo khối lượng hesperidin, và bốn phần tính theo khối lượng dextrin (DE 10), tiếp theo hòa tan các chất của hỗn hợp trong khi vẫn khuấy trong 30 phút, trung hòa dung dịch tạo thành bằng dung dịch axit clohydric 0,01N, promptly thêm 20 đơn vị/g dextrin của CGTaza, thu được từ chủng *Geobacillus stearothermophilus* Tc-91 (FERM BP-11273) được đặt hàng cho International Patent Organism Depositary, National

Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Tsukuba Central 6, 1-1, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaraki-ken, 305-8566 Japan, và giữ hỗn hợp phản ứng này ở độ pH = 6,0 và 75°C trong 24 giờ trong điều kiện khuấy để thực hiện phản ứng enzym, nhờ đó khoảng 72% hesperidin được chuyển hóa thành α -glycosyl hesperidin. Dung dịch phản ứng enzym vừa thu được được đun nóng để làm bất hoạt enzym còn lại và được lọc, tiếp theo cho dịch lọc tạo thành nạp vào cột được phủ “DIAION HP-20”, tên sản phẩm của chất hấp thụ tổng hợp dạng xốp, được phân phối thương mại bởi Công ty Mitsubishi Chemical Corporation, Tokyo, Japan, ở SV 2. Kết quả là, α -glycosyl hesperidin và hesperidin nguyên vẹn trong dung dịch được hấp thụ vào chất hấp thụ tổng hợp dạng xốp, nhưng D-glucosa, muối, và các chất tương tự khác còn lại được rửa giải ra khỏi cột mà không hấp thụ. Sau đó, cột được nạp nước tinh khiết để rửa và được nạp tiếp dung dịch etanol trong nước trong khi đó gia tăng từng bước nồng độ của etanol để thu được các phân đoạn chứa α -glycosyl hesperidin, tiếp theo thu gom các phân đoạn, cô các phân đoạn đã được thu gom *trong chân không*, và nghiền dịch cô đặc để thu được glycosyl hesperetin dạng hạt màu vàng nhạt với hiệu suất khoảng 71% tính theo d.s.b., so với khối lượng rắn của hesperin nguyên liệu. Glycosyl hesperetin dạng hạt vừa thu được chứa 76,0% α -glycosyl hesperidin, 18,5% hesperidin, và 5,5% các thành phần khác.

Sản phẩm vừa thu được có hàm lượng furfural là 10ppb, hàm lượng 4-VA là 3,0ppb, cấp độ màu là 0,17, và độ dẫn điện là khoảng 4 μ S/cm. Ngoài ra, sản phẩm chứa canxi, kali, magie, và natri với lượng tương ứng là khoảng 0,3ppm, khoảng 0,04ppm, khoảng 0,1ppm, và khoảng 0,05ppm.

So với sản phẩm thông thường, sản phẩm trên đây có các dấu hiệu đặc trưng có lợi: Được làm giảm đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và

mùi vị, và vị pha tạp của nó được làm giảm một cách đáng kể và màu sắc và mùi vị được giảm một cách hiệu quả, rõ rệt thậm chí khi được đun nóng trong 30 phút trong điều kiện nhiệt độ tương đối cao là từ 90 đến 100°C. Theo đó, sản phẩm thực phẩm, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân chống bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và vật liệu công nghiệp, đồ ăn, mồi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, hoặc sản phẩm nhựa, tất cả các loại chất này, chứa sản phẩm, được làm giảm một cách đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị như là tác dụng có lợi, khi được giữ hoặc bảo quản ở nhiệt độ trong khoảng hoặc thấp hơn khoảng nhiệt độ trên đây trong hàng chục phút đến hàng tháng, so với sản phẩm thông thường. Tương tự với sản phẩm thông thường, sản phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng một cách thuận lợi làm tác nhân làm giàu vitamin P, cũng như chất oxy hóa tự nhiên an toàn, chất làm ổn định, tác nhân cải thiện chất lượng, chất bảo quản, tác nhân điều trị, hoặc tác nhân hấp thụ tử ngoại trong các chế phẩm khác nhau như sản phẩm thực phẩm, vật phẩm cao cấp, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân chống bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và vật liệu công nghiệp, đồ ăn, mồi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, sản phẩm nhựa, v.v..

Ví dụ 4

Glycosyl hesperetin dạng hạt

Một phần tính theo khối lượng hesperidin, 10 phần tính theo khối lượng dextrin (DE 8), và 0,05 phần tính theo khối lượng natri pyrosulfit làm tác nhân khử được thêm vào 50 phần tính theo khối lượng nước. Hỗn hợp tạo thành được đun nóng ở độ pH = 9,5 và 90°C trong 70 phút, rồi được thêm 30 đơn vị/g dextrin

của CGTaza, thu được từ chủng *Geobacillus stearothermophilus* Tc-91 (FERM BP-11273) được đặt hàng cho International Patent Organism Depositary, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Tsukuba Central 6, 1-1, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaraki-ken, 305-8566 Japan, được giữ trong 40 giờ trong khi vẫn giữ độ pH ở 8,2 và nhiệt độ ở 65°C trong điều kiện khuấy, được thêm cùng natri pyrosulfit làm tác nhân khử để thu được dung dịch phản ứng enzym 0,05% ngay trước khi hoàn thành phản ứng enzym, được đun nóng ở 85°C để làm bất hoạt enzym còn lại, rồi thêm 100 đơn vị/g rắn của dung dịch phản ứng “GLUCOZYME”, một mẫu chất glucoamylaza, được phân phối thương mại bởi Công ty Nagaza ChemteX Corporation, Osaka, Japan, và được cho phản ứng trong 5 giờ trong khi vẫn giữ độ pH ở 5,0 và nhiệt độ ở 55°C để tạo ra α -glucosyl hesperidin. Dung dịch phản ứng enzym vừa thu được được đun nóng để bất hoạt enzym còn lại. Dung dịch phản ứng enzym tạo thành được thêm 0,5 phần trọng lượng “SOLUBLE HESPERIDINASE <Tanabe> Số 2”, dịch điều chế hesperidinaza, được phân phối thương mại bởi Công ty Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, Osaka, Japan, được điều chỉnh đến độ pH = 4, và được đưa vào phản ứng enzym ở 55°C trong 24 giờ. Dung dịch phản ứng enzym tạo thành được thêm cùng 0,01 phần tính theo khối lượng natri pyrosulfit, được đun nóng để làm bất hoạt enzym còn lại, và được lọc, tiếp theo nạp dịch lọc vào cột được phủ “DIAION HP-10”, tên sản phẩm của chất hấp thụ tổng hợp dạng xốp, được phân phối thương mại bởi Công ty Mitsubishi Chemical Corporation, Tokyo, Japan, ở SV 2. Kết quả là, α -glucosyl hesperidin, 7-O- β -glucosyl hesperetin, và hesperidin nguyên vẹn trong dung dịch được hấp thụ vào chất hấp thụ tổng hợp dạng xốp, nhưng D-glucosa, muối, và các chất tương tự khác còn lại được rửa giải ra khỏi cột mà không hấp thụ. Sau đó, cột được nạp nước tinh khiết để rửa và được nạp

tiếp dung dịch etanol trong nước trong khi vẫn gia tăng từng bước nồng độ của etanol để thu được các phân đoạn chứa α -glucosyl hesperidin, tiếp theo thu gom các phân đoạn, cô các phân đoạn đã được thu gom *trong chân không*, và nghiền dịch cô đặc để thu được glycosyl hesperetin dạng hạt màu vàng nhạt với hiệu suất khoảng 70% tính theo d.s.b., so với khối lượng rắn của hesperin nguyên liệu. Glycosyl hesperetin dạng hạt vừa thu được chứa 81,9% α -glucosyl hesperidin, 0,5% hesperidin, 8,9% 7-O- β -glucosyl hesperetin, và 8,7% các thành phần khác.

Sản phẩm vừa thu được có hàm lượng furfural là 9ppb, hàm lượng 4-VA là 2,0ppb, cấp độ màu là 0,16, và độ dẫn điện là khoảng 4 μ S/cm. Ngoài ra, sản phẩm chứa canxi, kali, magie, và natri với lượng tương ứng là khoảng 0,3ppm, khoảng 0,03ppm, khoảng 0,05ppm, và khoảng 0,05ppm.

So với sản phẩm thông thường, sản phẩm trên đây có các dấu hiệu đặc trưng có lợi: Được làm giảm đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị, và ngoài ra vị pha tạp được làm giảm một cách đáng kể và màu sắc và mùi vị được giảm một cách hiệu quả, rõ rệt thậm chí khi được đun nóng trong 30 phút trong điều kiện nhiệt độ tương đối cao là từ 90 đến 100°C. Theo đó, sản phẩm thực phẩm, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân chống bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và thành phần công nghiệp, đồ ăn, môi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, hoặc sản phẩm nhựa, tất cả các loại chất này, chứa sản phẩm, được làm giảm một cách đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị như là tác dụng có lợi, khi được giữ hoặc bảo quản ở nhiệt độ trong khoảng hoặc thấp hơn khoảng nhiệt độ trên đây trong hàng chục phút đến hàng tháng, so với các đặc tính này của sản phẩm thông thường. Tương tự với sản phẩm thông thường, sản phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng một cách thuận lợi làm tác nhân làm giàu vitamin P, cũng như

chất oxy hóa tự nhiên an toàn, chất làm ổn định, tác nhân cải thiện chất lượng, chất bảo quản, tác nhân điều trị, hoặc tác nhân hấp thụ tử ngoại trong các chế phẩm khác nhau như sản phẩm thực phẩm, vật phẩm cao cấp, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân chống bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và thành phần công nghiệp, đồ ăn, môi bả, vật liệu may mặc, các sản phẩm khác bao gồm cả sản phẩm sữa, sản phẩm nhựa, v.v..

Ví dụ 5

Glycosyl hesperetin dạng hạt

50 phần tính theo khối lượng hesperidin và một phần tính theo khối lượng natri hyposulfit làm tác nhân khử được hòa tan bằng cách đun nóng trong 90 phần tính theo khối lượng dung dịch natri hydroxit 0,25N trong nước ở 80°C. 100 và 50 phần tính theo khối lượng dextrin có DE=8 được thêm vào và được hòa tan trong dung dịch trên, tiếp theo điều chỉnh dung dịch tạo thành đến độ pH = 9,0, thêm 15 đơn vị của CGTaza, thu được từ chủng *Geobacillus stearothermophilus* Tc-91 (FERM BP-11273) được đặt hàng cho International Patent Organism Depositary in National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Tsukuba Central 6, 1-1, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaraki-ken, 305-8566 Japan, thành dung dịch phản ứng trên một phần tính theo khối lượng dextrin, điều chỉnh hỗn hợp phản ứng này đến độ pH = 8,3 trong khi đó đun nóng hỗn hợp đến tối đa 60°C, và đưa hỗn hợp tạo thành vào phản ứng enzym trong 6 giờ. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh đến pH=7,0, được đun nóng 68°C, và được cho phản ứng có xúc tác enzym trong 40 giờ. Sau khi hoàn thành phản ứng enzym, hỗn hợp phản ứng enzym tạo thành được đun nóng để làm bất hoạt enzym còn lại và được lọc để thu được dung dịch phản ứng enzym. Phân tích HPLC dung dịch phản ứng

enzym cho thấy rằng 72% hesperidin trong dung dịch trước phản ứng enzym được chuyển hóa thành α -glucosyl hesperidin và 28% hesperidin còn lại vẫn được giữ nguyên vẹn. Dung dịch phản ứng enzym được trộn với 2 phần tính theo khối lượng “Hesperidinaza hòa tan <TANABE> 2”, tên sản phẩm của hesperidinaza là α -L-rhamnosidaza, được phân phối thương mại bởi Công ty Tanabe Seiyaku Co., Ltd., Tokyo, Japan, được điều chỉnh đến độ pH = 4, được cho phản ứng có xúc tác enzym ở 55°C trong 24 giờ, được thêm cùng một phần tính theo khối lượng “GLUCOZYME”, tên sản phẩm của glucoamylaza, được phân phối thương mại bởi Công ty Nagaza ChemteX Corporation, Osaka, Japan, và được cho phản ứng có xúc tác enzym tiếp ở 55°C trong 24 giờ. Sau khi hoàn thành phản ứng enzym, dung dịch phản ứng enzym tạo thành được đun nóng để làm bất hoạt enzym còn lại, nạp vào cột được phủ “AMBERLITE XAD-7”, tên sản phẩm của nhựa hấp thụ xốp có độ phân cực trung bình, được phân phối thương mại bởi Công ty Rohm & Hass Company, Philadelphia, USA., tiếp theo rửa cột bằng nước, và rửa giải hết các thành phần được hấp thụ trên nhựa bằng dung dịch etanol 80% thể tích trong nước. Sau khi loại bỏ etanol trong dịch rửa giải, dịch rửa giải thu được được làm khô lạnh để thu được glycosyl hesperetin dạng hạt chứa 82,0% α -glucosyl hesperidin, 8,0% 7-O- β -glucosyl hesperetin, 1,0% hesperidin, và 9,0% các thành phần khác.

Sản phẩm vừa thu được có hàm lượng furfural là 10ppb, hàm lượng 4-VA là 1,5ppb, cấp độ màu là 0,15, và độ dẫn điện là nhỏ hơn 10 μ S/cm. Ngoài ra, sản phẩm chứa canxi, kali, magie, và natri với lượng tương ứng là khoảng 0,4ppm, khoảng 0,04ppm, khoảng 0,1ppm, và khoảng 0,2ppm.

So với sản phẩm thông thường, sản phẩm trên đây có các dấu hiệu đặc trưng có lợi: Được làm giảm đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và

mùi vị, và ngoài ra vị pha tạp được làm giảm một cách đáng kể và màu sắc và mùi vị được giảm một cách hiệu quả, rõ rệt thậm chí sau khi được đun nóng trong 30 phút trong điều kiện nhiệt độ tương đối cao là từ 90 đến 100°C. Theo đó, sản phẩm thực phẩm, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân chống bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và thành phần công nghiệp, đồ ăn, môi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, hoặc sản phẩm nhựa, tất cả các loại chất này, chứa sản phẩm, được làm giảm một cách đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị như là tác dụng có lợi, khi được giữ hoặc bảo quản ở nhiệt độ trong khoảng hoặc thấp hơn khoảng nhiệt độ trên đây trong hàng chục phút đến hàng tháng, so với các đặc tính này của sản phẩm thông thường. Tương tự với sản phẩm thông thường, sản phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng một cách thuận lợi làm tác nhân làm giàu vitamin P, cũng như chất oxy hóa tự nhiên an toàn, chất làm ổn định, tác nhân cải thiện chất lượng, chất bảo quản, tác nhân điều trị, hoặc tác nhân hấp thụ tử ngoại trong các chế phẩm khác nhau như sản phẩm thực phẩm, vật phẩm cao cấp, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân chống bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và thành phần công nghiệp, đồ ăn, môi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, sản phẩm nhựa, v.v..

Ví dụ 6

Glycosyl hesperetin dạng hạt

Trừ bước thêm kali hyposulfit 0,001% làm tác nhân khử vào dung dịch phản ứng enzym, glycosyl hesperetin dạng hạt màu vàng nhạt thu được tương tự như trong Ví dụ 1 với hiệu suất khoảng 69% tính theo d.s.b., so với khối lượng rắn của hesperin nguyên liệu. Glycosyl hesperetin dạng hạt chứa 79,5% α -

glucosyl hesperidin, 13,8% hesperidin, và 6,7% các thành phần khác.

Sản phẩm vừa thu được có hàm lượng furfural là 180ppb, hàm lượng 4-VA là 20ppb, cấp độ màu là 0,23, và độ dẫn điện là nhỏ hơn $10\mu\text{S}/\text{cm}$. Ngoài ra, sản phẩm chứa canxi, kali, magie, và natri với lượng tương ứng là khoảng 0,5ppm, khoảng 0,08ppm, khoảng 0,1ppm, và khoảng 0,3ppm.

Mặc dù thấp cấp hơn glycosyl hesperetin dạng hạt thu được trong Ví dụ từ 1 đến 5, sản phẩm trên đây có các dấu hiệu đặc trưng có lợi so với sản phẩm thông thường: Được làm giảm đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị, và ngoài ra vị pha tạp được làm giảm một cách đáng kể và màu sắc và mùi vị được giảm một cách hiệu quả, rõ rệt thậm chí sau khi được đun nóng trong 30 phút trong điều kiện nhiệt độ tương đối cao là từ 90 đến 100°C . Theo đó, sản phẩm thực phẩm, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân chống bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và thành phần công nghiệp, đồ ăn, môi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, hoặc sản phẩm nhựa, tất cả các loại chất này, chứa sản phẩm, được làm giảm một cách đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị như là tác dụng có lợi, khi được giữ hoặc bảo quản ở nhiệt độ trong khoảng hoặc thấp hơn khoảng nhiệt độ trên đây trong hàng chục phút đến hàng tháng, so với các đặc tính của sản phẩm thông thường. Tương tự với sản phẩm thông thường, sản phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng một cách thuận lợi làm tác nhân làm giàu vitamin P, cũng như chất oxy hóa tự nhiên an toàn, chất làm ổn định, tác nhân cải thiện chất lượng, chất bảo quản, tác nhân điều trị, hoặc tác nhân hấp thụ tử ngoại trong các chế phẩm khác nhau như sản phẩm thực phẩm, vật phẩm cao cấp, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân chống bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và thành phần công nghiệp, đồ ăn, môi bả, vật liệu may mặc, những

sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, sản phẩm nhựa, v.v..

Ví dụ 7

Glycosyl hesperetin dạng hạt

Trừ bước thay thế kali hyposulfit bằng natri hydro sulfit, glycosyl hesperetin dạng hạt màu vàng nhạt thu được tương tự như trong Ví dụ 6 với hiệu suất khoảng 65% tính theo d.s.b., so với khối lượng rắn của hesperin nguyên liệu. Glycosyl hesperetin dạng hạt vừa thu được chứa 77,2% α -glucosyl hesperidin, 16,5% hesperidin, và 6,3% các thành phần khác.

Sản phẩm vừa thu được có hàm lượng furfural là 191ppb, hàm lượng 4-VA là 28,7ppb, cấp độ màu là 0,23, và độ dẫn điện là nhỏ hơn $10\mu\text{S}/\text{cm}$. Ngoài ra, sản phẩm chứa canxi, kali, magie, và natri với lượng tương ứng là khoảng 0,5ppm, khoảng 0,07ppm, khoảng 0,09ppm, và khoảng 0,4ppm.

Mặc dù sản phẩm này là thấp cấp hơn so với glycosyl hesperetin dạng hạt thu được trong Ví dụ từ 1 đến 5, nó có các dấu hiệu đặc trưng có lợi so với sản phẩm thông thường: Được làm giảm đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị, và ngoài ra vị pha tạp được làm giảm một cách đáng kể và màu sắc và mùi vị được giảm một cách hiệu quả, rõ rệt thậm chí sau khi được đun nóng trong 30 phút trong điều kiện nhiệt độ tương đối cao là từ 90 đến 100°C . Theo đó, sản phẩm thực phẩm, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân chống bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và vật liệu công nghiệp, đồ ăn, mồi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, hoặc sản phẩm nhựa, tất cả các loại chất này, chứa sản phẩm, được làm giảm một cách đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị như là tác dụng có lợi, khi được giữ hoặc bảo quản ở nhiệt độ trong khoảng hoặc thấp hơn

khoảng nhiệt độ trên đây trong hàng chục phút đến hàng tháng, so với các đặc tính này của sản phẩm thông thường. Tương tự với sản phẩm thông thường, sản phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng một cách thuận lợi làm tác nhân làm giàu vitamin P, cũng như chất oxy hóa tự nhiên an toàn, chất làm ổn định, tác nhân cải thiện chất lượng, chất bảo quản, tác nhân điều trị, hoặc tác nhân hấp thụ tử ngoại trong các chế phẩm khác nhau như sản phẩm thực phẩm, vật phẩm cao cấp, mỹ phẩm, dược phẩm như tác nhân chống bệnh nhạy cảm, sản phẩm giống thuốc, hóa chất, nguyên liệu và vật liệu công nghiệp, đồ ăn, mồi bả, vật liệu may mặc, những sản phẩm linh tinh khác bao gồm cả tạp hóa, sản phẩm nhựa, v.v..

Ví dụ 8

Phương pháp làm giảm vị pha tạp của sản phẩm chứa glycosyl-hesperetin

Glycosyl hesperetin dạng hạt thu được bằng cách thêm natri sulfit, natri hyposulfit, kali hyposulfit, hoặc natri pyrosulfit vào glycosyl hesperetin dạng hạt được mô tả sau đây, thu được trong Ví dụ tham khảo 1, với lượng 0,03% tính theo d.s.b., bằng cách trộn hỗn hợp phản ứng này đến đồng nhất, đun nóng hỗn hợp tạo thành, và tiếp theo tinh chế chất thu được.

Phương pháp này là kỹ thuật khá đơn giản là chỉ thêm tác nhân khử bất kỳ trên đây vào glycosyl hesperetin dạng hạt thu được trong Ví dụ tham khảo 1, tuy nhiên, nó có lợi thế là làm giảm đáng kể vị pha tạp vốn có của sản phẩm thông thường. Do glycosyl hesperetin dạng hạt thu được theo phương pháp này không chỉ được giảm đáng kể vị pha tạp mà còn được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị, vị pha tạp gây ra bởi sản phẩm được giảm đáng kể, và màu sắc và mùi vị mà cũng bị gây ra bởi sản phẩm được làm giảm một cách hiệu quả và rõ rệt thậm chí khi được đưa vào sản phẩm thực phẩm và tiếp theo được xử lý bằng cách đun nóng hoặc bảo

quản ở dạng dung dịch trong các điều kiện đun nóng trong thời gian tương đối dài.

Ví dụ 9

Chất tạo ngọt hỗn hợp

Chất tạo ngọt hỗn hợp được làm giàu vitamin P dạng lỏng thu được bằng cách đưa 100 phần tính theo khối lượng đường đã được đồng phân hóa, 2 phần tính theo khối lượng sucroza, và một phần tính theo khối lượng glycosyl hesperetin dạng hạt, thu được theo phương pháp trong Ví dụ 1, vào xử lý nhiệt trong 30 phút ở 80°C.

Sản phẩm là chất tạo ngọt hỗn hợp được làm giàu vitamin P dạng lỏng mà được làm giảm hữu hiệu về vị pha tạp, màu sắc, và mùi vị đặc trưng của sản phẩm thông thường. Theo đó, khi sản phẩm thực phẩm được nấu với sản phẩm tạo ngọt này, vị pha tạp, màu sắc, và mùi vị gây ra bởi sản phẩm không mong muốn này không cần phải quan tâm, nó không làm phá hủy vị, mùi và tông màu của các sản phẩm thực phẩm được sử dụng làm nguyên liệu.

Ví dụ 10

Kẹo cứng

Kẹo cứng được làm giàu vitamin P thu được bằng cách cô dung dịch chứa 20 phần tính theo khối lượng nước và 10 phần tính theo khối lượng “TREHA”, một nhãn hiệu đã đăng ký của α,α -trehaloza, được phân phối thương mại bởi Công ty Hayashibara Co., Ltd., Okayama, Japan, *trong chân không* ở 155°C để thu được hàm lượng ẩm là khoảng 2% hoặc thấp hơn; làm nguội dịch cô đặc đến 120°C; trộn chất thu được với 0,5 phần tính theo khối lượng axit xitric, 0,01 phần tính theo khối lượng glycosyl hesperetin dạng hạt thu được theo phương pháp trong Ví dụ 2, và lượng vừa đủ chất điều vị chanh; và tạo hình và bao gói hỗn hợp

tạo thành theo cách thông thường để thu được sản phẩm nêu ở đề mục này.

Không giống với kẹo cứng được điều chế bằng sản phẩm thông thường, sản phẩm theo sáng chế được làm giảm hữu hiệu về vị pha tạp, màu sắc, và mùi vị đặc trưng của kẹo cứng thông thường, và do đó nó là kẹo cứng được làm giàu vitamin P không bị hư hỏng bởi chất điều vị chanh và độ trong suốt của nó.

Ví dụ 11

Chế phẩm bao nang

Chế phẩm được bao nang có trọng lượng tịnh là 150mg/viên nang thu được bằng cách trộn đến đồng nhất 10 phần tính theo khối lượng canxi axetat monohydrate, 50 phần tính theo khối lượng magie L-lactat trihydrat, 57 phần tính theo khối lượng maltoza, 20 phần tính theo khối lượng glycosyl hesperetin dạng hạt thu được theo phương pháp trong Ví dụ 3, và 12 phần tính theo khối lượng hợp chất mang γ -cyclodextrin chứa 20% axit eicosapentaenoic, đưa hỗn hợp tạo thành vào máy tạo hạt, và bao nang chất thu được thành viên nang gelatin theo cách thông thường.

Thậm chí sau khi để yên ở nhiệt độ môi trường hoặc cao hơn trong thời gian tương đối dài, sản phẩm có thể được sử dụng một cách thuận lợi, ví dụ, làm tác nhân làm giảm cholesterol huyết chất lượng cao, chất kích hoạt hệ miễn dịch, hoặc tác nhân làm đẹp da là tác nhân điều trị dự phòng hoặc tác nhân điều trị bệnh nhạy cảm hoặc sản phẩm thực phẩm tăng cường sức khỏe, tất cả các loại chất này hầu như không bị tăng hoặc giảm vị pha tạp, màu sắc, hoặc mùi vị gây ra bởi sản phẩm.

Ví dụ 12

Chất phụ gia sản phẩm tắm gội

Chất phụ gia sản phẩm tắm gội thu được theo bằng cách trộn 21 phần tính theo khối lượng natri DL-lactat, 8 phần tính theo khối lượng natri pyruvat, 5 phần tính theo khối lượng glycosyl hesperetin dạng hạt thu được theo phương pháp trong Ví dụ 4, và lượng vừa đủ chất tạo màu và chất điều vị.

Sản phẩm được pha loãng bằng nước ấm trong bồn tắm từ 100 đến 10.000 lần. Thậm chí sau khi chấm dứt 1 giờ hoặc lâu hơn việc thêm sản phẩm vào nước ấm lưu thông trong bồn tắm, sản phẩm hầu như không gia tăng hoặc không thay đổi màu sắc và mùi vị vốn có của sản phẩm, so với các đặc tính này ngay sau khi thêm vào nước ấm, cũng như không suy giảm mùi thơm của chất điều vị chứa trong sản phẩm, tức là sản phẩm là chất phụ gia sản phẩm tắm gội có chất lượng cao.

Ví dụ 13

Nước rửa thể sữa

0,5 phần tính theo khối lượng polyoxyetylen behenyl ete, 1 phần tính theo khối lượng polyoxyetylen sorbitol tetraoleat, một phần tính theo khối lượng glyxeryl monostearat ưa mỡ, 0,5 phần tính theo khối lượng axit pyruvic, 0,5 phần tính theo khối lượng rượu behenyllic, một phần tính theo khối lượng dầu bơ, 1 phần tính theo khối lượng glycosyl hesperetin dạng hạt thu được theo phương pháp trong Ví dụ 1, và lượng vừa đủ vitamin E và chất kháng khuẩn được hòa tan bằng cách đun nóng theo cách thông thường. 1 phần tính theo khối lượng natri L-lactat, 5 phần tính theo khối lượng 1,3-butylen glycol, 0,1 phần tính theo khối lượng carboxyvinylpolyme, và 85,3 phần tính theo khối lượng nước tinh khiết được thêm vào dung dịch tạo thành, tiếp theo nhũ hóa hỗn hợp phản ứng này bằng chất làm đồng nhất, thêm lượng vừa đủ chất điều vị vào sản phẩm đã được làm

đồng nhất, và trộn chất thu được để thu được nước rửa thể sữa.

Thậm chí sau khi để yên ở nhiệt độ môi trường hoặc nhiệt độ cao hơn một chút trong thời gian tương đối dài, sản phẩm là nước rửa thể sữa có chất lượng cao, chất này hầu như không bị tăng hoặc giảm vị pha tạp, màu sắc, và mùi vị gây ra bởi sản phẩm, cũng như không bị giảm mùi thơm của chất điều vị được đưa vào.

Ví dụ 14

Tác nhân làm giàu vitamin P

Một hoặc nhiều loại chất natri sulfit, natri hyposulfit, kali hyposulfit, và natri pyrosulfit với lượng tổng cộng 0,0005 phần tính theo khối lượng được thêm vào một phần tính theo khối lượng glycosyl hesperidin dạng hạt, thu được theo phương pháp trong Ví dụ 4; và được trộn đến đồng nhất để thu được 15 loại tác nhân làm giàu vitamin P khác nhau làm chất bổ sung cho thực phẩm phục vụ sức khỏe.

Thậm chí sau khi để yên ở nhiệt độ môi trường hoặc các điều kiện nhiệt độ cao hơn tương đối trong hàng chục phút đến hàng tháng và tiếp theo được thêm vào đồ uống như trà xanh, trà đen, cà phê và cô-ca trước khi uống, tất cả các sản phẩm này đều không tăng hoặc giảm vị pha tạp, màu sắc, và mùi vị gây ra bởi chúng, tức là chúng tác nhân làm giàu vitamin P có độ ổn định và độ bền nhiệt khi bảo quản được cải thiện.

Ví dụ 15

Thực phẩm phục vụ sắc đẹp

10 phần tính theo khối lượng chất bất kỳ trong số glycosyl hesperetin

dạng hạt thu được trong Ví dụ từ 1 đến 7, 3 phần tính theo khối lượng sucroza, 1 phần tính theo khối lượng maltitol, và 15 phần tính theo khối lượng dextrin được trộn với nhau bằng cách khuấy, và các phần phân ước 5g của hỗn hợp tạo thành được đưa vào đồ chứa dạng thanh dài có vỏ ngoài che ánh sáng và chống ẩm để thu được 8 loại khác nhau của thực phẩm phục vụ sắc đẹp dạng hạt theo sáng chế.

Do sản phẩm được làm giảm hữu hiệu về vị pha tạp, màu sắc, và mùi vị, chúng có thể được nhai bằng miệng hàng ngày mà không gây khó chịu. Chúng có thể được dùng qua đường miệng hàng ngày bằng cách thêm 1 hoặc 2 gói mỗi loại vào các đồ uống khác nhau như nước, trà, trà đen và cà phê, cũng như các sản phẩm thực phẩm khác.

Ví dụ 16

Thực phẩm phục vụ sắc đẹp

15 loại thực phẩm dùng cho mỹ phẩm dạng lỏng theo sáng chế khác nhau thu được bằng cách trộn 2 phần được khuấy tính theo khối lượng chất bất kỳ trong số 15 loại tác nhân làm giàu vitamin P khác nhau thu được trong Ví dụ 14, 2 phần tính theo khối lượng maltoza, 20 phần tính theo khối lượng nước tinh khiết, và lượng vừa đủ tác nhân không chế độ pH; điều chỉnh hỗn hợp tạo thành đến độ pH = 7,2; đưa hỗn hợp phản ứng này vào lọc màng; nạp theo cách vô trùng dịch lọc vào đồ chứa vô trùng để thu được 15 loại thực phẩm phục vụ sắc đẹp dạng lỏng khác nhau theo sáng chế.

Do sản phẩm được giảm về vị pha tạp, màu sắc, và mùi vị, chúng có thể được nhai bằng miệng mà không có sự khó chịu bất kỳ. Chúng có thể được dùng qua đường miệng với lượng từ 50 đến 200ml/ngày để duy trì tình trạng khỏe mạnh cho da.

Ví dụ tham khảo 1

Glycosyl hesperetin dạng hạt

Glycosyl hesperetin dạng hạt thu được tương tự như trong Ví dụ 1, trừ bước không sử dụng natri hyposulfit làm tác nhân khử được sử dụng trong phương pháp để tạo ra glycosyl hesperetin dạng hạt của Ví dụ 1, là phương pháp tạo ra glycosyl hesperetin dạng hạt thông thường. Glycosyl hesperetin dạng hạt, thu được trong ví dụ này, chứa 77,0% α -glucosyl hesperidin, 15,5% hesperidin, và 7,5% các thành phần khác.

Sản phẩm có hàm lượng furfural là 310ppb, hàm lượng 4-VA là 40ppb, cấp độ màu là 0,24, và độ dẫn điện là khoảng 11 μ S/cm. Ngoài ra, sản phẩm chứa canxi, kali, magie, và natri với lượng tương ứng là khoảng 3ppm, khoảng 0,2ppm, khoảng 0,4ppm, và khoảng 1ppm.

Glycosyl hesperetin dạng hạt vừa thu được được hòa tan trong lượng vừa đủ nước và được nếm, sẽ cho thấy rằng nó có vị pha tạp và màu sắc đặc trưng của sản phẩm thông thường và thậm chí có mùi vị khó chịu rất nặng.

Theo đó, glycosyl hesperetin, được điều chế mà không sử dụng tác nhân khử bất kỳ được sử dụng trong thực tiễn sáng chế, rõ ràng là thấp cấp hơn so với chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế ở ít nhất là vị pha tạp, màu sắc, và mùi vị.

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

Chế phẩm glycosyl hesperetin theo sáng chế, mà được làm giảm đáng kể vị pha tạp và được giảm rõ rệt về màu sắc và mùi vị so với sản phẩm thông thường, có thể được cung cấp một cách ổn định ở quy mô công nghiệp và ở mức giá thành tương đối thấp; và do đó nó được sử dụng dễ dàng mà không gặp khó

khăn gì trong các lĩnh vực mà sản phẩm thông thường không thể được sử dụng hoặc sẽ gặp phải vấn đề do vị pha tạp đặc trưng kèm theo hoặc không kèm theo màu sắc cũng như mùi vị. Theo đó, sáng chế sẽ tạo ra ảnh hưởng tuyệt vời trong lĩnh vực kỹ thuật này và có khả năng áp dụng công nghiệp rõ rệt.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm glycosyl hesperetin, trong đó chế phẩm này bao gồm α -glycosyl hesperidin và một hoặc cả hai hesperidin và 7-O- β -glucosyl hesperetin ở lượng 90% hoặc lớn hơn tính theo khối lượng nhưng nhỏ hơn 100% khối lượng, trên cơ sở chất rắn khô, trong đó lượng α -glucosyl hesperidin là 90% hoặc nhỏ hơn tính theo khối lượng, dựa trên cơ sở chất rắn khô, và trong đó lượng furfural khi được xác định dựa trên phép phân tích phổ khối sắc ký khí (GC/MS) nhỏ hơn 200ppb, trên cơ sở chất rắn khô.
2. Chế phẩm glycosyl hesperetin theo điểm 1, trong đó hàm lượng của 4-metoxystylen được xác định dựa trên phép phân tích GC/MS là nhỏ hơn 30ppb, trên cơ sở chất rắn khô.
3. Chế phẩm glycosyl hesperetin theo điểm 1 hoặc 2, trong đó hàm lượng α -glucosyl hesperidin nằm trong khoảng từ 60% hoặc lớn hơn tính theo khối lượng đến 90% hoặc nhỏ hơn tính theo khối lượng trên cơ sở chất rắn khô.
4. Chế phẩm glycosyl hesperetin theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó chế phẩm này có giá trị khác biệt độ hấp thụ giữa độ hấp thụ ở các bước sóng 420nm và 720nm là nhỏ hơn 0,24, khi được xác định dựa trên quang phổ kế theo cách tạo ra dung dịch chứa thành phần glycosyl hesperetin bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3 với lượng 1% trọng lượng trong nước, đun nóng dung dịch nước trong đồ chứa đậy kín ở 100°C trong 30 phút, điều chỉnh dung dịch phản ứng đến 27°C, đưa dung dịch tạo thành vào ô có chiều rộng 1cm, và

xác định hệ số hấp thụ của dung dịch phản ứng ở bước sóng là 420nm và 720nm bằng cách sử dụng quang phổ kế.

5. Chế phẩm glycosyl hesperetin theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó chế phẩm này có độ dẫn điện nhỏ hơn $10\mu\text{S}/\text{cm}$, khi được xác định bằng cách tạo ra dung dịch nước chứa thành phần glycosyl hesperetin 1% theo trọng lượng trong nước, đun nóng dung dịch nước trong đồ chứa đậy kín ở 100°C trong 30 phút, và điều chỉnh dung dịch phản ứng đến 20°C để xác định độ dẫn điện.

6. Chế phẩm glycosyl hesperetin theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó hàm lượng của canxi, kali, magie, và natri lần lượt là 1ppm hoặc thấp hơn, 0,1ppm hoặc thấp hơn, 0,2ppm hoặc thấp hơn, và 0,4ppm hoặc thấp hơn, trên cơ sở chất rắn khô, khi được xác định bằng phương pháp phân tích phổ phát xạ plasma ngẫu hợp cảm ứng có tần số cao.

7. Phương pháp tạo ra chế phẩm glycosyl hesperetin theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6 bao gồm các bước:

(a) tạo ra dung dịch nước chứa hesperidin và dịch thủy phân tinh bột một phần;

(b) để glycosyltransferaza phản ứng trong dung dịch nước thu được để tạo ra glycosyl hesperetin chứa α -glucosyl hesperidin; và

(c) thu gom glycosyl hesperetin tạo thành để thu được chế phẩm glycosyl

hesperetin theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6,

trong đó một hoặc nhiều bước trong số các bước từ (a) đến (c) được thực hiện với sự có mặt của sulfit làm chất khử, hoặc sulfit được thêm vào nguyên liệu ban đầu trước khi thực hiện một hoặc nhiều bước từ (a) đến (c) và/hoặc vào sản phẩm tạo thành sau khi thực hiện một hoặc nhiều bước từ (a) đến (c).

8. Phương pháp theo điểm 7, trong đó glycosyltransferaza được sử dụng trong bước (b) này là một hoặc nhiều thành phần được chọn từ nhóm bao gồm xyclomaltodextrin glucanotransferaza, α -glucosidaza, và α -amylaza.

9. Phương pháp theo điểm 7 hoặc 8, trong đó dung dịch phản ứng enzym thu được ở bước (b) được đưa vào phản ứng của glucoamylaza và/hoặc α -L-rhamnosidaza.

10. Phương pháp làm giảm vị pha tạp của chế phẩm glycosyl hesperetin, phương pháp này bao gồm bước cho chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-6 tiếp xúc với tác nhân khử.

11. Phương pháp theo điểm 10, trong đó chế phẩm glycosyl hesperetin này chứa α -glycosyl hesperidin và một hoặc cả hai thành phần gồm hesperidin và 7-O- β -glucosyl hesperetin.

12. Phương pháp theo điểm 10 hoặc 11, trong đó α -glycosyl hesperidin nêu trên

là α -glucosyl hesperidin.

13. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 10 đến 12, trong đó hàm lượng α -glycosyl hesperidin nằm trong khoảng từ 50% hoặc lớn hơn tính theo khối lượng đến nhỏ hơn 100% khối lượng so với chế phẩm glycosyl hesperetin này trên cơ sở chất rắn khô.

14. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 10 đến 13, trong đó tác nhân khử là một hoặc nhiều thành phần được chọn từ nhóm bao gồm tác nhân khử hữu cơ và tác nhân khử vô cơ.

15. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 10 đến 14, trong đó tác nhân khử vô cơ là sulfit.

16. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 10 đến 15, trong đó phương pháp này còn làm giảm màu sắc của chế phẩm glycosyl hesperetin.