



(12) **BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ**

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

(11) 
1-0020843

(51)⁷ **C12N 1/04**

(13) **B**

-
- | | | | | | |
|------|---|------------|------------|---------------|------------|
| (21) | 1-2011-00534 | (22) | 27.08.2009 | | |
| (86) | PCT/EP2009/061085 | 27.08.2009 | (87) | WO2010/023248 | 04.03.2010 |
| (30) | PA 2008 01181 | 28.08.2008 | DK | | |
| | 08170439.7 | 02.12.2008 | EP | | |
| (45) | 27.05.2019 | 374 | (43) | 25.04.2012 | 289 |
| (73) | CHR. HANSEN A/S (DK)
Boege Alle 10-12, DK-2970 Hoersholm, Denmark | | | | |
| (72) | Abrahamsen, Susanne (DK), Stuer-Lauridsen, Birgitte (DK), Winning, Mette (DK),
Joergensen, Lasse Vigel (DK), Jeppesen, Iben (DK), Wagner, Peter (DK) | | | | |
| (74) | Văn phòng luật sư Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES) | | | | |
-

(54) **QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ CHẾ PHẨM VI KHUẨN, CHẾ PHẨM VI KHUẨN THU ĐƯỢC TỪ QUY TRÌNH NÀY VÀ THỰC PHẨM CHỨA CHẾ PHẨM NÀY**

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình điều chế chế phẩm vi khuẩn có thời hạn sử dụng dài và chế phẩm thu được từ quy trình này. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến các thực phẩm chứa chế phẩm vi khuẩn này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình điều chế chế phẩm vi khuẩn có thời hạn sử dụng dài và chế phẩm thu được từ quy trình này. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến thực phẩm chứa chế phẩm vi khuẩn này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Một số tài liệu patent mô tả chế phẩm vi khuẩn được bào chế cùng với tá dược hoặc chất mang đặc trưng để tăng cường khả năng lưu giữ các chế phẩm vi khuẩn đó. Các tài liệu patent khác cũng đã mô tả cách giảm hoạt độ nước (water activity-aw) của chế phẩm vi khuẩn, ví dụ, bằng cách bổ sung SiO₂, chất này sẽ liên kết với một phần nước. Chất làm khô cũng sử dụng ở các dạng khác nhau để loại bỏ nước.

US4956295 mô tả *Lactobacilli* đã làm khô được trộn với chất hấp thụ silicagel. Hỗn hợp này có thể được lưu giữ mà không cần giữ lạnh.

US7122370B và US7229818B mô tả chế phẩm chứa vi khuẩn probiotic với muối alginat hóa trị một, trong đó chế phẩm này có hoạt độ nước nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,07, và trong đó, khi tiếp xúc với môi trường axit, gel axit alginic được tạo ra sẽ bảo vệ vi khuẩn probiotic khỏi tác dụng kháng khuẩn của môi trường axit. Muối alginat được làm khô đến khi hàm lượng ẩm có giá trị dưới 5% trước khi trộn với vi khuẩn.

EP1482811B mô tả quy trình sản xuất thực phẩm bao gồm các bước:

- a. trộn chế phẩm chứa vi sinh vật sống và các thành phần khác;
- b. làm khô hỗn hợp này đến hoạt độ nước dưới 0,3;
- c. nén chặt hỗn hợp;
- d. bọc; và
- e. trộn với thực phẩm.

US2005/0100559 mô tả chế phẩm vi khuẩn khô có hoạt độ nước nhỏ hơn 0,5.

US6953592B mô tả nền trên cơ sở carbohydrat không tạo bọt, tan trong nước hoặc dễ phân tán trong nước chứa khí được nhốt trong các lỗ

rõ kín với lượng đủ để tăng khả năng hòa tan hoặc phân tán của nền này khi tiếp xúc với nước.

US2005/0266069 yêu cầu bảo hộ chế phẩm probiotic sống và bền trong đường ruột chứa nhiều vi cầu probiotic, mỗi vi cầu này gồm lõi chứa một hoặc nhiều vi khuẩn probiotic, tá dược xenluloza, chất làm rã và một hoặc nhiều chất phụ gia; và lớp bọc tan trong ruột có khả năng chịu được dịch vị, có độ ẩm dư nhỏ hơn 5% và hoạt độ nước (aw) nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,5.

WO 2005/063200 mô tả viên nén probiotic chứa vi sinh vật probiotic (ví dụ, *Lactobacillus* GG) và thành phần hoạt tính dinh dưỡng khác trong hai vùng; vùng thứ nhất chứa vi sinh vật probiotic này và vùng thứ hai chứa ít nhất một thành phần hoạt tính khác. Hoạt độ nước trong vùng thứ nhất phải không lớn hơn 0,2. Nhờ đó, thu được khả năng sống cao của vi sinh vật, mặc dù tổng hàm lượng ẩm tương đối lớn.

WO08048731A yêu cầu bảo hộ phương pháp kéo dài thời hạn sử dụng của chế phẩm dinh dưỡng dạng bột chứa LGG bằng cách giảm hoạt độ nước của chế phẩm chứa LGG này tới mức nhỏ hơn 0,16 và giữ nhiệt độ của chế phẩm này ở mức bằng hoặc nhỏ hơn 25°C.

US7037708B mô tả chế phẩm chứa ít nhất một *Lactobacillus plantarum* ở dạng liên kết với chất mang, trong đó chế phẩm này a) có cỡ hạt nhỏ nhất bằng khoảng 0,1 mm và b) chứa từ 10^{10} đến 10^{12} cfu/g ít nhất một loài vi sinh vật; c) có hoạt độ nước (aw) nhỏ hơn 0,15 và d) được nén. Tài liệu này mô tả rằng canh trường có thể chứa chất phụ gia tạo bột.

Tuy nhiên, chưa có chế phẩm vi khuẩn nào đáp ứng được các yêu cầu về mặt thương mại, nhất là đối với tế bào *Bifidobacterium*. Vì thế, cần tìm ra chế phẩm chứa tế bào vi khuẩn, có độ ổn định cải thiện và vận chuyển được số lượng tế bào vi khuẩn sống tăng.

Cụ thể, cần tìm ra chế phẩm ổn định chứa các chủng *Bifidobacterium*, là chủng trước đây rất khó có thể lưu giữ trong thời gian dài ở nhiệt độ phòng.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các tác giả sáng chế đã bất ngờ phát hiện ra rằng viên nén chứa tế bào của chủng *Bifidobacterium* và muối của axit cacbonic, natri bicacbonat, có độ ổn định cao đặc biệt khi được lưu giữ trong môi trường được bảo vệ chống tiếp xúc với hơi ẩm môi trường xung quanh, ví dụ, trong túi hoặc bao nhôm đóng kín, hoặc trong bình thủy tinh kín. Độ bền

ưu việt được thể hiện rõ rệt nhất khi viên nén đã được bảo vệ được cho tiếp xúc với nhiệt độ cao trong một khoảng thời gian dài hơn.

Ngoài ra, các tác giả sáng chế cũng phát hiện thấy việc bổ sung muối của axit cacbonic vào chế phẩm chứa tế bào thuộc chủng *Bifidobacterium* sẽ ngăn ngừa hoặc làm giảm mức độ biến màu (chuyển thành màu đỏ) thường xảy ra trong quá trình lưu giữ.

Dựa trên phát hiện này, sáng chế đề xuất quy trình làm tăng độ ổn định (ví dụ, tăng độ ổn định và/hoặc giảm/tránh sự biến màu) của chế phẩm chứa tế bào sống thuộc chủng *Bifidobacterium* bằng cách bổ sung muối của axit cacbonic vào chế phẩm này. Cụ thể, sáng chế đề xuất quy trình cải thiện độ ổn định màu của chế phẩm chứa tế bào vi khuẩn, quy trình này bao gồm bước trộn tế bào vi khuẩn với muối của axit cacbonic.

Sáng chế dựa trên quy trình cải thiện độ ổn định/thời hạn sử dụng của chế phẩm vi khuẩn, vì thế sáng chế cũng đề xuất quy trình điều chế chế phẩm vi khuẩn có độ ổn định/thời hạn sử dụng kéo dài/tăng/cải thiện, bao gồm các bước sau:

- a) chuẩn bị bột bằng cách trộn tế bào vi khuẩn, tốt hơn là vi khuẩn thuộc giống *Bifidobacterium*, và chất mang chứa muối của axit cacbonic; và
- b) tùy ý nén bột để tạo thành dạng viên nén hoặc viên tròn.

Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm được làm ổn định và thực phẩm chứa chế phẩm được làm ổn định này, chế phẩm này được kết hợp vào trong thực phẩm, hoặc được đóng gói cùng với thực phẩm.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig 1 là biểu đồ thể hiện khả năng sống sót của BB-12® trong bột H1069 và H1071 khi lưu giữ ở nhiệt độ 37°C trong 3 tháng.

Fig 2 là ảnh của 4 chế phẩm dạng bột H1184 A (A), H1184 B (B), H1184 C (C) và H1184 D (D) sau hai tuần ở nhiệt độ phòng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến quy trình điều chế chế phẩm vi khuẩn (ví dụ để cải thiện khả năng sống của tế bào và/hoặc giảm sự biến màu của chế phẩm), bao gồm các bước sau:

- a) chuẩn bị bột bằng cách trộn tế bào vi khuẩn và chất mang chứa muối của axit cacbonic (hoặc muối cacbonat); và
- b) tùy ý nén bột.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến quy trình giúp i) tăng thời gian sống của tế bào vi khuẩn trong chế phẩm, hoặc ii) tránh hoặc giảm sự biến màu của chế phẩm vi khuẩn, hoặc iii) tăng thời hạn sử dụng của chế phẩm vi khuẩn, hoặc iv) tăng độ ổn định của chế phẩm vi khuẩn, các quy trình này bao gồm các bước sau:

- a) chuẩn bị bột bằng cách trộn tế bào vi khuẩn và chất mang chứa muối của axit cacbonic (hoặc muối cacbonat); và
- b) tùy ý nén bột.

Theo một phương án ưu tiên của sáng chế, quy trình được sử dụng để cải thiện độ ổn định (bao gồm độ ổn định màu) của chế phẩm chứa tế bào vi khuẩn, bao gồm bước trộn tế bào vi khuẩn với muối của axit cacbonic.

Nên hiểu rằng mục đích của bước trộn a) là nhằm cho tế bào vi khuẩn tiếp xúc với muối, vì thế thứ tự trộn không quan trọng. Do vậy, có thể trộn tế bào vi khuẩn với chất mang trước và/hoặc sau và/hoặc trong khi trộn với muối. Tốt hơn, nếu trộn tất cả các thành phần cùng lúc.

Bằng cách nén bột, sản phẩm của quy trình theo sáng chế có thể là chế phẩm vi khuẩn dạng bột, hoặc dạng rắn như viên nén hoặc viên tròn.

Tốt hơn, nếu muối của axit cacbonic được chọn từ nhóm bao gồm natri cacbonat, natri bicarbonat, natri sesquicarbonat, kali cacbonat, kali bicarbonat, kali sesquicarbonat, magie cacbonat, natri glyxin cacbonat, L-lysin cacbonat, arginin cacbonat, canxi cacbonat vô định hình, amoni cacbonat, amoni bicarbonat và dạng kết hợp của chúng, và tốt nhất nếu muối là natri bicarbonat.

Chất mang ở bước a) có thể còn bao gồm thành phần axit, như axit hữu cơ, tốt hơn, nếu là ở dạng bột.

Tốt hơn, nếu thành phần axit được chọn từ nhóm bao gồm axit xitric, axit tartaric, axit amallic, axit fumaric, axit adipic, axit lactic, axit succinic, dinatri hydro phosphat, natri dihydro phosphat và dạng kết hợp của chúng.

Theo một phương án của sáng chế, quy trình này có thể còn bao gồm bước làm khô, như đông khô, làm khô trong chân không, làm khô bằng chất làm khô, hoặc bằng nhiệt. Bước làm khô này có thể được tiến hành như sau:

- i) trước bước trộn (tức là làm khô một hoặc nhiều tế bào vi khuẩn hoặc chất mang); và/hoặc

- ii) sau bước trộn (tức là làm khô chế phẩm); và/hoặc
- iii) sau bước nén tùy ý (tức là làm khô viên nén hoặc viên tròn).

Tốt hơn, nếu tế bào vi khuẩn là tế bào sản xuất ra axit lactic và/hoặc tế bào probiotic như tế bào vi khuẩn thuộc giống được chọn từ nhóm bao gồm *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, và *Streptococcus*. Tốt hơn, nếu tế bào vi khuẩn thuộc loài được chọn từ nhóm bao gồm *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus bifidum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus crispatus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium brevis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium infantis*, *Streptococcus thermophilus* và *Lactococcus lactis*, như tế bào vi khuẩn thuộc chủng được chọn từ nhóm bao gồm BB-12®, LA-1, LA-5, BB-02, chủng *Bifidobacterium animalis* DSM15954, chủng *Bifidobacterium longum subsp. infantis* DSM15953, chủng *Bifidobacterium longum subsp. longum* DSM15955, chủng *Enterococcus faecium* DSM15958, chủng *Lactobacillus acidophilus* DSM13241, chủng *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* DSM15956, chủng *Lactobacillus helveticus* DSM14998, chủng *Lactobacillus helveticus* DSM14997, chủng *Lactococcus lactis* DSM14797, chủng *Streptococcus thermophilus* DSM15957, chủng *Lactobacillus fermentum* ATCC55845, và chủng *Lactobacillus rhamnosus* ATCC55826, và các thể đột biến và các biến thể của chúng. Tốt nhất, nếu tế bào vi khuẩn thuộc chủng *Bifidobacterium* BB-12® hoặc BB-12® tự do.

Chất mang có thể còn là thành phần được chọn từ nhóm bao gồm axit vô cơ hoặc muối của chúng, axit hữu cơ hoặc muối của chúng, carbohydrat, lactoza, hoặc rượu đường, chất xơ hòa tan và tinh bột.

Quy trình theo sáng chế có thể còn bao gồm các bước tiếp theo như bước bọc (trong đó, ví dụ viên nén/viên tròn theo sáng chế được bọc theo cách người có hiểu biết trong lĩnh vực kỹ thuật này), và/hoặc bước đóng gói, ví dụ, bao gồm việc cho bột hoặc bột đã được nén (viên nén/viên tròn) vào trong hộp kín được làm từ, ví dụ, nhôm và/hoặc polyme.

Phương án tiếp theo của sáng chế là quy trình điều chế chế phẩm vi khuẩn không biến màu hoặc có mức độ biến màu hạn chế, bao gồm các bước sau:

- a) chuẩn bị bột bằng cách trộn tế bào vi khuẩn và chất mang chứa muối của axit cacbonic; và
- b) tùy ý nén bột để tạo thành dạng viên nén hoặc viên tròn.

Phương án tiếp theo của sáng chế là quy trình điều chế chế phẩm vi khuẩn có khả năng sống của tế bào được cải thiện và/hoặc thời hạn sử dụng tăng, và/hoặc độ ổn định tăng, bao gồm các bước sau:

- a) chuẩn bị bột bằng cách trộn tế bào vi khuẩn và chất mang chứa muối của axit cacbonic; và
- b) tùy ý nén bột để tạo thành dạng viên nén hoặc viên tròn.

Phương án tiếp theo của sáng chế là quy trình cải thiện khả năng sống của tế bào trong chế phẩm chứa tế bào vi khuẩn, bao gồm bước trộn tế bào vi khuẩn với muối của axit cacbonic.

Phương án tiếp theo của sáng chế là quy trình cải thiện độ ổn định màu của chế phẩm chứa tế bào vi khuẩn, bao gồm bước trộn tế bào vi khuẩn với muối của axit cacbonic.

Tiếp theo, sáng chế đề xuất chế phẩm có thể thu được bằng quy trình theo sáng chế. Chế phẩm theo sáng chế bao gồm tế bào vi khuẩn và chất mang chứa muối của axit cacbonic (hoặc muối cacbonat). Tế bào vi khuẩn này có thể thuộc các loài hoặc các chủng bất kỳ nêu trên. Theo một phương án ưu tiên, tốt hơn, nếu tế bào này thuộc chủng *Bifidobacterium* BB-12®. Chế phẩm này có thể chứa ít nhất 10^5 CFU/mg, như ít nhất 10^7 CFU/mg hoặc ít nhất 10^9 CFU/mg, CFU là đơn vị tạo thành tế bào (cell forming units) của tế bào vi khuẩn.

Tiếp theo, sáng chế mô tả việc sử dụng chế phẩm theo sáng chế làm thức ăn, chất phụ gia thực phẩm, dược phẩm, thực phẩm bổ sung, hoặc probiotic. Thức ăn hoặc thực phẩm chứa chế phẩm theo sáng chế cũng là một khía cạnh của sáng chế, và bao gồm các sản phẩm như thức ăn làm từ sữa, như sữa hoặc sữa lên men, và nước ép trái cây, như sinh tố.

Thức ăn/thực phẩm có thể được trộn với chế phẩm theo sáng chế, hoặc khi chế biến thức ăn/thực phẩm một cách dễ dàng, hoặc bởi người sử dụng. Vì thế, sáng chế cũng đề cập đến kit, chứa thức ăn/thực phẩm và chế phẩm theo sáng chế, ví dụ, kit bao gồm hộp chứa cùng với thực phẩm và hộp chứa chế phẩm theo sáng chế.

Tiếp theo, sáng chế mô tả việc sử dụng muối của axit cacbonic (ví dụ, các muối nêu trên) làm i) chất ổn định, như chất ổn định màu, ii) để tăng thời hạn sử dụng, iii) để tăng độ ổn định, hoặc iv) tăng khả năng sống của tế bào, trong chế phẩm vi khuẩn, cụ thể là chế phẩm vi khuẩn chứa tế bào vi khuẩn thuộc giống *Bifidobacterium* (ví dụ, thuộc các loài được chọn từ nhóm bao gồm *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium brevis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium infantis*).

Định nghĩa các thuật ngữ

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “viên nén” được dùng để chỉ bột được nén. Thuật ngữ này bao gồm tất cả các dạng vật lý và các kích cỡ, như viên nhỏ, viên tròn, viên nén, v.v.

Thuật ngữ “chế phẩm vi khuẩn” nên được hiểu là chế phẩm chứa tế bào vi khuẩn, hoặc canh trường tế bào. Tốt hơn, nếu tế bào này là tế bào sống hoặc ở tế bào ở trạng thái ngủ (dormant), và tốt hơn nếu chế phẩm này chứa ít nhất 10^5 đơn vị tạo thành tế bào trong mỗi gam. Các tế bào vi khuẩn này có thể thuộc một chủng, hoặc là chế phẩm của các tế bào thuộc nhiều chủng khác nhau.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “thể đột biến” nên được hiểu là chủng thu được từ chủng theo sáng chế theo cách áp dụng, ví dụ, kỹ thuật di truyền, phóng xạ và/hoặc xử lý hóa học. Tốt hơn, nếu thể đột biến này là thể đột biến tương đương về mặt chức năng, ví dụ, thể đột biến có các đặc tính gần như tương tự, hoặc được cải thiện hơn so với chủng ban đầu, ví dụ, probiotic. Thể đột biến này là một phần của sáng chế. Cụ thể, thuật ngữ “thể đột biến” được dùng để chỉ chủng thu được bằng cách xử lý chủng đột biến theo sáng chế theo cách thông thường bất kỳ bao gồm xử lý bằng hóa chất gây đột biến như etan metan sulphonat (EMS) hoặc N-metyl-N'-nitro-N-nitroguanidin (NTG), ánh sáng UV hoặc chất đột biến tự sinh.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “biến thể” được hiểu là chủng tương đương về mặt chức năng với chủng theo sáng chế, ví dụ, chủng có các đặc tính gần như tương tự hoặc cải thiện, ví dụ, probiotic. Các biến thể này, có thể xác định được bằng cách sử dụng kỹ thuật sàng lọc, là một phần của sáng chế.

Sử dụng thuật ngữ “một” và “này” và các từ ám chỉ tương tự trong nội dung mô tả sáng chế (đặc biệt trong phạm vi của yêu cầu bảo hộ dưới

đây) được hiểu là bao gồm cả số ít và số nhiều, trừ khi có quy định khác hoặc mâu thuẫn rõ ràng với ngữ cảnh. Thuật ngữ “bao gồm”, “có”, “gồm có” và “chứa” được hiểu là các thuật ngữ mở (tức là, có nghĩa là "bao gồm, nhưng không giới hạn phạm vi của sáng chế,") trừ khi có quy định khác. Việc liệt kê các khoảng giá trị trong bản mô tả này chỉ đơn thuần được sử dụng một cách ngắn gọn để nói cụ thể đến mỗi giá trị riêng biệt nằm trong khoảng này, trừ khi có quy định khác, và mỗi giá trị riêng biệt được kết hợp vào phân mô tả nếu nó được viện dẫn cụ thể trong bản mô tả này. Các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này có thể được thực hiện theo thứ tự thích hợp, trừ khi có quy định khác hoặc mâu thuẫn rõ ràng với ngữ cảnh. Việc sử dụng một và các ví dụ, hoặc cụm từ được lấy làm ví dụ (ví dụ "như") trong bản mô tả này chỉ nhằm mục đích giải thích sáng chế chứ không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế, trừ khi có quy định khác. Không từ ngữ nào trong bản mô tả được cho là ám chỉ yếu tố không được liệt kê bất kỳ là cần thiết để thực hiện sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1:

Chuẩn bị hai chế phẩm, chế phẩm dạng bột H1069 chứa BB-12® HA đã được nghiền: 5,1% khối lượng/khối lượng (w/w), tá dược: mannitol; 10% w/w, lactoza: 84,4%(w/w), magie stearat: 0,5% w/w, không chứa natri bicacbonat, và chế phẩm dạng bột H1071 chứa BB-12® HA đã được nghiền: 5,1% w/w, và tá dược: mannitol; 10% w/w, lactoza: 54,4% w/w, magie stearat: 0,5% w/w và natri bicacbonat: 30% w/w. Nồng độ của natri bicacbonat thu được bằng cách thay thế phần lactoza của tá dược bằng natri bicacbonat để tất các thành phần khác còn lại có nồng độ trong bột như ban đầu.

Bột được gói trong túi màng nhôm (20-30g) và lưu giữ ở nhiệt độ 37°C trong 3 tháng. Các túi này được lấy ra để phân tích xác định đơn vị tạo khuẩn lạc (cfu/g) và hoạt độ nước (aw) tại thời điểm ngay sau khi đóng gói (0 tháng), 1 tháng và 3 tháng lưu giữ.

Kết quả: Hoạt độ nước trong các bột H1069 và H1071 là tương đương, aw (H1069) = 0,19 và aw (H1071) = 0,19 ngay sau khi đóng gói. Sau khi lưu giữ trong thời gian 1 và 3 tháng, hoạt độ nước của bột tăng đến giá trị aw = 0,27-0,31. Kết quả xác định đơn vị tạo khuẩn lạc cho thấy cfu/g ở thời điểm 0 và 1 tháng là tương đương nhưng lại thể hiện sự khác biệt rõ rệt về khả năng sống của BB-12® sau 3 tháng (Fig. 1).

Kết luận: Việc thay thế tá dược đextroza bằng natri bicacbonat đã cải thiện tỷ lệ sống của BB-12® trong quá trình lưu giữ. Kết quả này cho thấy natri bicacbonat cải thiện được tỷ lệ sống của *Bifidobacterium animalis* trong bột trong quá trình lưu giữ.

Ví dụ 2: Thử nghiệm xác định ảnh hưởng của natri bicacbonat đến sự tạo ra màu đỏ trong các chế phẩm *Bifidobacterium* chứa ascorbat.

Hàm lượng của các chế phẩm dạng bột (w/w)

- H1184 A: 24% canh trường BB-12® HA đã được nghiền, 51% mannitol & 25% inulin
- H1184 B: 24% canh trường BB-12® HA đã được nghiền, 51% mannitol & 25% natri bicacbonat
- H1184 C: 12% canh trường BB-12® HA đã được nghiền, 63% mannitol & 25% inulin
- H1184 D: 12% canh trường BB-12® HA đã được nghiền, 63% mannitol & 25% natri bicacbonat

Canh trường BB-12® HA đã được nghiền chứa ascorbat là chất bảo vệ cryo. Ascorbat phản ứng với phần còn lại của quá trình lên men và cho màu đỏ. Phản ứng được thúc đẩy bằng cách tăng nhiệt độ và độ ẩm.

Bột được giữ trong túi màng nhôm kín khí. Các bột thử nghiệm được cho vào các túi nhôm với lượng từ 5 đến 8g và được đặt trong các hộp nhựa nhỏ (do Rotronic sản xuất dùng để đo aw). Các hộp nhựa này được để ở nhiệt độ phòng và sau hai tuần sự khác biệt về màu sắc có thể quan sát thấy như trong Fig. 2. Các bột có giá trị aw xấp xỉ bằng 0,4. Fig. 2 cho thấy các bột A và C có sự thay đổi màu sắc sang màu đỏ nhạt, trong khi bột B và D vẫn giữ được màu vàng nhạt ban đầu.

Kết luận: Sự có mặt của natri bicacbonat trong chế phẩm dạng bột có ảnh hưởng đến sự hình thành màu đỏ. Màu đỏ không xuất hiện là do sự có mặt của natri bicacbonat trong các chế phẩm dạng bột này.

Các phương án ưu tiên của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này bao gồm các phương án tốt nhất để thực hiện sáng chế mà các tác giả sáng chế đã biết. Các biến thể của các phương án ưu tiên này là hiển nhiên với người có hiểu biết trong lĩnh vực khi đọc phần mô tả trước đó. Các tác giả sáng chế cho rằng người có hiểu biết trong lĩnh vực có thể áp dụng các biến thể này một cách thích hợp, và các tác giả sáng chế dự định sáng chế này được thực hiện theo cách khác với cách được mô tả cụ thể trong bản

mô tả này. Ngoài ra, sáng chế này bao gồm toàn bộ các cải biến và các phương án tương đương của đối tượng được nêu trong phần yêu cầu bảo hộ dưới đây trong phạm vi luật áp dụng cho phép. Hơn nữa, mọi tổ hợp của các yếu tố nêu trên theo các biến thể có thể của chúng cũng bao hàm trong sáng chế, trừ khi có quy định khác hoặc mâu thuẫn rõ ràng với ngữ cảnh.

Tài liệu tham khảo

US2004175389, WO03075676, US2005100559, US6953592, WO03012819, WO05266069, WO05063200

Tất cả các tài liệu được trích dẫn trong tài liệu patent này được kết hợp vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình điều chế chế phẩm vi khuẩn, trong đó quy trình này bao gồm các bước sau:
 - a) chuẩn bị bột bằng cách trộn tế bào vi khuẩn thuộc giống *Bifidobacterium* và chất mang chứa muối của axit cacbonic; và
 - b) tùy ý nén bột để tạo thành dạng viên nén hoặc viên tròn.
2. Quy trình theo điểm 1, trong đó chế phẩm vi khuẩn này ở dạng bột, hạt, viên nén hoặc viên tròn.
3. Quy trình theo điểm 1, trong đó muối của axit cacbonic được chọn từ nhóm bao gồm natri cacbonat, natri bicacbonat, natri sesquicacbonat, kali cacbonat, kali bicacbonat, kali sesquicacbonat, magie cacbonat, natri glyxin cacbonat, L-lysin cacbonat, arginin cacbonat, canxi cacbonat vô định hình, amoni cacbonat, amoni bicacbonat và dạng kết hợp của chúng.
4. Quy trình theo điểm 1, trong đó chất mang ở bước a) còn chứa thành phần axit.
5. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này còn bao gồm bước làm khô.
6. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này còn bao gồm bước làm khô được thực hiện trước khi trộn.
7. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này còn bao gồm bước làm khô được thực hiện sau khi trộn.
8. Quy trình theo điểm 1, trong đó bước làm khô được thực hiện tùy ý sau khi nén.
9. Quy trình theo điểm 1, trong đó tế bào vi khuẩn thuộc loài được chọn từ nhóm bao gồm *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium brevis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium infantis*.
10. Quy trình theo điểm 1, trong đó chất mang còn chứa thành phần được chọn từ nhóm bao gồm axit vô cơ hoặc muối của chúng, axit hữu cơ hoặc muối của chúng, carbohydrat, lactoza, rượu đường và chất xơ hòa tan.
11. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này còn bao gồm bước bọc.
12. Chế phẩm vi khuẩn thu được bằng quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11.

13. Chế phẩm theo điểm 12, trong đó chế phẩm này chứa tế bào vi khuẩn thuộc loài được chọn từ nhóm bao gồm *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium brevis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium infantis*.
14. Chế phẩm dạng bột, trong đó chế phẩm này chứa các tế bào vi khuẩn thuộc giống *Bifidobacterium* và chất mang chứa muối của axit cacbonic.
15. Chế phẩm theo điểm 14, trong đó tế bào vi khuẩn thuộc loài được chọn từ nhóm bao gồm *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium brevis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium infantis*.
16. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 12 đến 15, trong đó tế bào vi khuẩn thuộc chủng *Bifidobacterium* BB-12®.
17. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 12 đến 15, trong đó chế phẩm này chứa ít nhất 10^5 CFU/mg tế bào vi khuẩn thuộc giống *Bifidobacterium*.
18. Thức ăn, trong đó thức ăn này chứa chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 12 đến 17.
19. Thực phẩm, trong đó thực phẩm này chứa chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 12 đến 17.
20. Bộ kit bao gồm chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 12 đến 15 và thực phẩm.

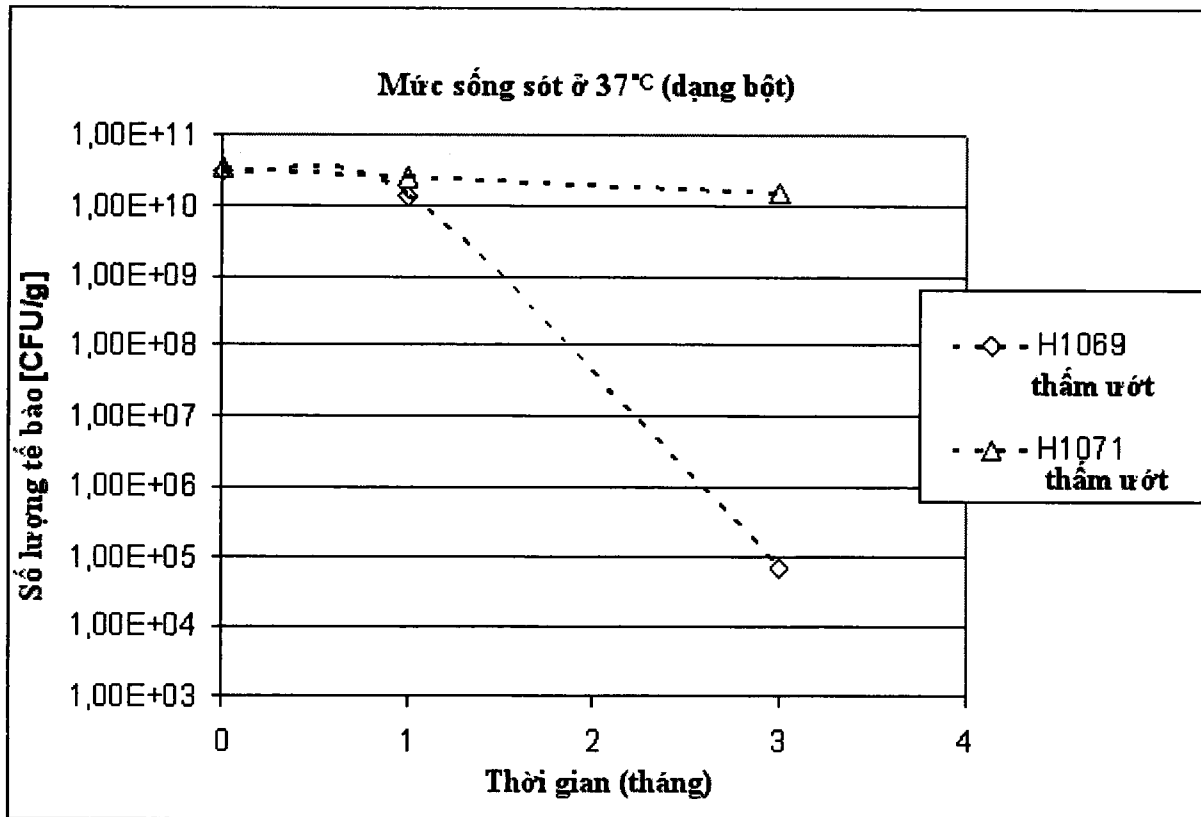


FIG 1



FIG 2