



(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) 
1-0020976

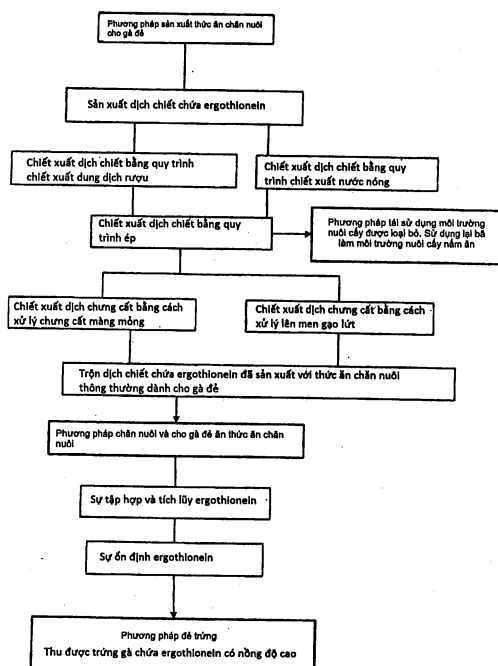
(51)⁷ **A23K 1/18, 1/00, 1/16, A23L 1/32,**
A61K 8/49, 8/98, A61Q 19/00, A23L
1/30

(13) **B**

- (21) 1-2016-02727 (22) 20.11.2014
(86) PCT/JP2014/080738 20.11.2014 (87) WO2015/098380A1 02.07.2015
(30) 2013-272754 27.12.2013 JP
(45) 27.05.2019 374 (43) 26.09.2016 342
(73) 1. Origin Biotechnology KABUSHIKIKAISHA (JP)
3329-1, Ohazakaize Sakuhomachi, Minamisaku-gun, Nagano 384-0503, Japan
2. KABUSHIKIKAISHA ASSOCIE (JP)
Associe building 201, 15-2 Sanzo-cho, Saiinnishi, Ukyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto-fu,
Japan
(72) ABE, Kazunari (JP), OHSHIMA, Toshiaki (JP), FUKUI, Rikuo (JP)
(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) **PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT THỨC ĂN CHO GÀ MÁI ĐỂ CHỨA
ERGOTHIONEIN VÀ TRỨNG GÀ CHỨA ERGOTHIONEIN**

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất thức ăn cho gà mái để chứa ergothionein và trứng gà chứa ergothionein. Trứng gà chứa ergothionein thu được từ gà mái đẻ được nuôi bằng cách cho ăn thức ăn dành cho gà mái đẻ trong khoảng thời gian cụ thể, thức ăn dành cho gà mái đẻ được sản xuất bằng cách tạo ra dung dịch chiết chứa ergothionein từ môi trường nuôi cấy phế phẩm được sử dụng để sản xuất nấm ăn và trộn một lượng cụ thể của dung dịch chiết này vào thức ăn thường được sử dụng cho gà mái đẻ.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến công nghệ sản xuất trứng gà ăn được chứa ergothionein có nồng độ cao, nhờ việc sử dụng môi trường nuôi cấy phế phẩm mà đã được sử dụng trong sản xuất nấm ăn để sản xuất thức ăn cho gà mái đẻ, bằng cách thu lấy trứng từ gà mái đẻ được cho ăn thức ăn chăn nuôi này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Đã biết rằng ergothionein có hoạt tính chống oxy hóa cao và thể các hiện chức năng như ngăn ngừa sự lão hóa nhờ việc đưa ergothionein vào trong cơ thể con người. Cũng biết rằng gà mái đẻ được cung cấp và nuôi bằng thức ăn mà được trộn các thành phần khác nhau sẽ đẻ ra trứng gà có hiệu quả đặc trưng.

Về thức ăn chăn nuôi và phương pháp chăn nuôi gà mái đẻ, và trứng gà tạo ra từ phương pháp đó, tài liệu sáng chế 1 bộc lộ thức ăn cho gà mái đẻ mà đẻ ra trứng có chứa thành phần DHA, phương pháp nuôi để cung cấp và cho gà ăn thức ăn này và trứng gà chứa thành phần DHA. Theo tài liệu sáng chế 1, thức ăn chăn nuôi này được bổ sung hỗn hợp thu được bằng cách trộn từ 5 đến 200 loại dầu được sản xuất bằng cách chiết hạt mầm và bã lọc của cây tía tô, tổng lượng thức ăn đã pha trộn là 1000 loại. Tài liệu sáng chế 1 dự định tạo ra trứng gà có thành phần DHA theo quan điểm là DHA làm giảm trị số cholesterol huyết thanh, DHA làm giảm nguy cơ mắc các bệnh về hệ tim mạch, kích thích sự phát triển não bộ và mô thần kinh. DHA là thành phần hữu ích được tạo ra trong trứng gà.

Tài liệu sáng chế 2 đề cập đến thức ăn chăn nuôi cho gà mái chứa dầu cọ để tạo ra trứng gà dùng cho bánh hay sản phẩm bột nhào làm bánh mì. Trong tài liệu sáng chế 2, thức ăn chăn nuôi chứa dầu cọ chứa từ 0,1 đến 0,2 phần trọng lượng của thành phần dầu cọ so với 100 phần trọng lượng của nguyên liệu mà bao gồm thành phần ngô, thành phần protein mà bao gồm bột cá, bột đậu nành và gluten ngô, thành phần chất béo và dầu bao gồm mỡ lợn và dầu đậu nành,

thành phần canxi bao gồm canxi cacbonat và vỏ sò, thành phần phospho của canxi phosphat, vitamin và khoáng chất. Tài liệu sáng chế 2 dự định tạo ra trứng gà có đặc tính đơn nhất, như protein trong lòng trắng trứng giàu khả năng tạo xốp, bằng cách cho gà mái ăn thức ăn chăn nuôi này. Ở đây, để tạo ra bánh mì và bánh ngọt được nướng mềm, cần phải có thành phần dầu cọ trong trứng. Trong những năm gần đây, dù được biết đến rộng rãi rằng oxy hoạt hóa quá mức bên trong cơ thể con người sẽ dẫn đến ảnh hưởng xấu với cơ thể, nhưng trứng gà trong các tài liệu sáng chế 1 và 2 nêu trên không chứa chất chống oxy hóa.

Trong thức ăn cho cá mà chứa dịch chiết từ *Flammulina velutipes*, phương pháp nuôi cá và cá được nuôi bằng phương pháp này, tài liệu sáng chế 3 mô tả thức ăn cho cá có chứa dịch chiết từ *Flammulina velutipes*, phương pháp nuôi và cá được nuôi bằng phương pháp này hoặc sản phẩm đã qua chế biến của nó. Giải pháp này nhằm đến phương pháp nuôi và thức ăn cho cá để có thể tạo ra những con cá mà sự biến đổi của màu sắc của thịt cá, đặc biệt là màu sắc của phần thịt cá có màu sẫm, không dễ dàng bị thay đổi trong suốt quá trình lưu thông hoặc bảo quản mà không cần chế biến thịt cá tươi. Thực phẩm dùng cho cá trong giải pháp này sử dụng dịch chiết từ *Flammulina velutipes*. Ở đây, mặc dù hiệu quả ngăn chặn sự biến đổi màu sắc của thịt cá đạt được bằng cách bổ sung dịch chiết từ *Flammulina velutipes* vào trong thức ăn của cá, nhưng vì có rất ít chất chống oxy hóa có nguồn gốc từ *Flammulina velutipes* có trong thịt cá, nên không thể đưa nhiều chất chống oxy hóa vào cơ thể con người từ thịt cá dưới dạng thành phần ăn được. Vì các thành phần này không phù hợp để ăn được với ergothionein được chứa trong môi trường nuôi cấy phế phẩm sau quy trình sản xuất nấm ăn, nên ergothionein ăn được không thể được tạo ra từ môi trường nuôi cấy phế phẩm sau quy trình sản xuất nấm ăn.

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: Công bố KOKAI của đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản số 2009-201472;

Tài liệu sáng chế 2: Công bố KOKAI của đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản số 2008-148717;

Tài liệu sáng chế 3: Công bố KOKAI của đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản số 2009-219377.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề được giải quyết bởi sáng chế

Để giải quyết vấn đề nêu trên, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất trứng gà ăn được mà có hoạt tính chống oxy hóa và chứa đủ ergothionein bằng cách sử dụng quá trình cô ergothionein sinh học đối với trứng gà.

Cách thức giải quyết vấn đề

Các tác giả sáng chế hiểu rằng để có thể chiết xuất hiệu quả ergothionein từ nấm ăn như *Flammulina velutipes*, họ đã xem xét việc sử dụng môi trường nuôi cấy thải bỏ được dùng để sản xuất nấm ăn mà thường gây ra những khó khăn bởi việc loại bỏ môi trường này. Dưới tình huống này, các tác giả sáng chế trộn dung dịch chiết được chiết từ môi trường nuôi cấy thải bỏ được dùng để sản xuất nấm *Flammulina velutipes* vào thức ăn chăn nuôi thường được sử dụng cho gà mái đẻ, tạo ra thức ăn chăn nuôi cho gà mái đẻ và nuôi chúng, phân tích thành phần của trứng mà được gà mái đẻ ra, nhận thấy rằng ergothionein được tập trung và tích lũy một cách hiệu quả trong trứng gà và nhiều ergothionein có trong lòng trắng và lòng đỏ trứng gà. Quá trình nghiên cứu công nghệ sản xuất trứng gà ăn được mà chứa ergothionein được lặp lại bằng cách áp dụng nguyên lý nồng độ sinh học, và sáng chế được hoàn thành. Trong sáng chế, các loại nấm ăn được như *Flammulina velutipes*, *Pleurotus eryngii*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus cornucopiae* var. *citirinopoileatus*, *Hypsizigus marmoreus*, *Coprinus comatus*, v.v., được kể đến.

Sáng chế theo điểm 1 yêu cầu bảo hộ là phương pháp sản xuất thức ăn cho gà mái đẻ chứa ergothionein bao gồm các bước: bổ sung nước, nước nóng, hoặc hơi nước vào môi trường nuôi cấy phế phẩm được dùng để sản xuất nấm ăn và gia nhiệt môi trường nuôi cấy phế phẩm này, tiến hành chiết bằng nước nóng trong 30 đến 90 phút sau khi đạt tới nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50°C đến 110°C để thu được dịch chiết, tách chất rắn ở dạng bã ra khỏi dịch chiết đã chiết bằng cách xử lý ép để thu được dung dịch chiết, tách và loại bỏ hơi ẩm ra khỏi

dung dịch chiết để thu được dung dịch chiết chứa ergothionein mà được cô từ 1/10 đến 1/30, và trộn dung dịch chiết chứa ergothionein từ 4 đến 20% trọng lượng theo tỷ lệ trọng lượng vào thức ăn hỗn hợp. Trong sáng chế theo điểm 2 yêu cầu bảo hộ, nấm ăn được chọn từ *Flammulina velutipes*, *Pleurotus eryngii* và *Lentinula edodes*. Theo sáng chế, có thể sử dụng môi trường nuôi cấy phế phẩm được dùng để sản xuất nấm *Lentinula edodes*, *Pleurotus cornucopiae* var. *citirinoileatus*, *Hypsizygus marmoreus*, *Coprinus comatus* làm môi trường nuôi cấy.

Trong dung dịch chiết chứa ergothionein theo sáng chế, dung dịch rượu mà chứa etanol với lượng từ 60 đến 80% (tốt hơn là khoảng 70%) và nước với lượng từ 40 đến 20% (tốt hơn là khoảng 30%) được thêm vào môi trường nuôi cấy phế phẩm, và dung dịch rượu được gia nhiệt, và sau khi đạt tới nhiệt độ từ 40°C đến 60°C (tốt hơn là khoảng 50°C), quá trình chiết có thể được thực hiện trong 80 đến 100 phút (tốt hơn là khoảng 90 phút), dung dịch chiết thu được bằng cách xử lý ép để tách chất rắn ở dạng bã ra khỏi dịch chiết. Theo sáng chế, dịch chiết được ép ra mà không cần gia nhiệt và thu được bằng cách thêm nước vào môi trường nuôi cấy phế phẩm được dùng để sản xuất nấm ăn cũng được sử dụng. Theo sáng chế, phần bã được tách ra khỏi dịch chiết bằng cách xử lý ép dịch chiết mà được chiết từ dung dịch rượu hoặc nước nóng được tái sử dụng làm môi trường nuôi cấy phế phẩm cho quá trình sản xuất nấm.

Theo sáng chế, dung dịch chiết chứa ergothionein được bổ sung từ 10 đến 40% (tốt hơn là khoảng từ 20 đến 30%) theo tỷ lệ trọng lượng đối với gạo lứt hoặc gạo lứt được trộn với vỏ nghiền mịn, được gia nhiệt, và duy trì ở nhiệt độ từ 70 đến 90°C (tốt hơn là khoảng 80°C), quá trình xử lý lên men được thực hiện trong 44 đến 52 giờ (tốt hơn là khoảng 48 giờ), và dung dịch chiết thu được bằng cách ngưng tụ từ 1/10 đến 1/30 (tốt hơn là khoảng 1/20) để loại bỏ hơi ẩm. Dung dịch chiết chứa ergothionein được trộn từ 4 đến 20% (tốt hơn là khoảng từ 10 đến 13%) theo tỷ lệ trọng lượng cho thức ăn của cho gà mái đẻ thường được sử dụng.

Theo sáng chế, thức ăn với lượng từ 60 đến 180g (tốt hơn là khoảng từ 100 đến 140g, tốt hơn nữa là khoảng 120g) cho mỗi lần cho gà ăn hoặc được chia thành hai đến sáu lần trong một ngày và cho ăn liên tục từ 10 ngày đến 30 ngày. Có thể thu lấy trứng gà chứa ergothionein theo cách như vậy. Trứng này có thể được chế biến bằng cách luộc và rán, v.v..

Sáng chế theo điểm 3 yêu cầu bảo hộ là trứng gà bao gồm lòng trắng trứng chứa ergothionein với lượng từ 5 đến 13 μ g/g, và lòng đỏ trứng chứa ergothionein với lượng từ 3 đến 13 μ g/g, và khả năng khử gốc trên mỗi đơn vị trọng lượng của ergothionein có trong lòng trắng trứng là 1,4 lần hoặc cao hơn khả năng khử gốc trên mỗi đơn vị trọng lượng của ergothionein có trong lòng đỏ trứng. Theo sáng chế, thực phẩm đã chế biến của lòng trắng trứng bao gồm thực phẩm bổ sung, pate cá, mỹ phẩm và dược phẩm mà trong đó lòng trắng trứng là nguyên liệu thô. Thực phẩm được chế biến của lòng đỏ trứng bao gồm nước sốt mayonnaise trong đó lòng đỏ trứng là nguyên liệu thô.

Hiệu quả của sáng chế

Trong sáng chế, dung dịch chiết chứa ergothionein mà được sản xuất từ môi trường nuôi cấy phế phẩm mà trở nên không cần thiết sau khi sử dụng để sản xuất nấm ăn, được trộn với một lượng cụ thể vào thức ăn cho gà mái đẻ thường được sử dụng, thức ăn này được gọi là thức ăn cho gà mái đẻ trứng. Ergothionein được đưa vào trong cơ thể gà mái đẻ bằng cách cho gà ăn thức ăn mà đã được tập hợp và tích lũy đến lòng đỏ từ lòng trắng của trứng gà, Tiến trình gia tăng hàm lượng ergothionein trong lòng đỏ và lòng trắng trứng của trứng gà của gà mái đẻ sau khi cho ăn trong một khoảng thời gian nhất định thì dừng lại và hàm lượng ergothionein ổn định ở nồng độ cao. Trứng gà chứa ergothionein ở nồng độ cao thu được tại thời điểm này, đặc biệt là trứng gà mà lòng trắng trứng có hoạt tính chống oxy hóa cao có thể được sinh ra.

Dung dịch đậm đặc chứa ergothionein thu được bằng cách ngưng tụ dung dịch chiết được trộn lẫn trong thức ăn của gà mái đẻ thường được sử dụng đến nồng độ định trước bằng cách xử lý ngưng tụ màng mỏng và xử lý lên men gạo lứt, nhờ đó, thức ăn có thể được điều chỉnh đến tỷ lệ phần trăm độ ẩm mà phù

hợp với gà mái đẻ, và gà mái đẻ có thể được cho dùng thức ăn chứa ergothionein một cách hiệu quả.

Vì quy trình sản xuất thức ăn chăn nuôi cho gà mái đẻ theo sáng chế sử dụng môi trường nuôi cấy phế phẩm đã dùng để sản xuất nấm ăn, nên trứng gà có hoạt tính chống oxy hóa cao có thể sản xuất với giá thành thấp. Phần bã sau khi tách dung dịch chiết chứa ergothionein từ dịch chiết chứa ergothionein thu được bằng cách chiết nước nóng được tái sử dụng làm môi trường nuôi cấy cho quá trình sản xuất nấm ăn. Việc sử dụng hiệu quả môi trường nuôi cấy phế phẩm đã sử dụng để sản xuất nấm ăn mà thường gây khó khăn bởi sự thải loại là có thể thực hiện được.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là sơ đồ mô tả quy trình sản xuất cho đến khi thu được trứng gà mà gà mái đẻ đẻ ra bắt đầu từ sự sản xuất thức ăn cho gà mái đẻ mà chứa dung dịch chiết chứa ergothionein theo sáng chế.

Fig.2 là sơ đồ thể hiện dây chuyền thiết bị sản xuất thức ăn cho gà mái đẻ theo sáng chế.

Fig.3 là biểu đồ thể hiện mối liên quan giữa các ngày nuôi gà mái đẻ và cho gà mái đẻ ăn thức ăn theo sáng chế, và hàm lượng ergothionein trong lòng trắng trứng gà.

Fig.4 là biểu đồ thể hiện mối liên quan giữa các ngày nuôi gà mái đẻ và cho gà mái đẻ ăn thức ăn theo sáng chế, và hàm lượng ergothionein trong lòng đỏ trứng gà.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, với sự tham khảo hình vẽ được đính kèm, trứng gà chứa ergothionein và phương pháp cho ăn và nuôi và thức ăn cho gà để gà mái đẻ ra trứng chứa ergothionein theo phương án của sáng chế được mô tả. Fig.1 là sơ đồ mô tả quy trình sản xuất trứng gà mà chứa ergothionein nồng độ cao theo sáng chế. Như thể hiện trong Fig.1, phương pháp sản xuất trứng gà chứa ergothionein trong sáng chế bao gồm bước tạo ra dung dịch chiết chứa ergothionein từ môi

trường nuôi cấy được thải bỏ (sau đây được gọi là "môi trường nuôi cấy phế phẩm") mà trở nên không cần thiết sau khi được dùng để sản xuất nấm ăn, để sản xuất thức ăn cho gà mái đẻ trong sáng chế (sau đây gọi là "thức ăn cho gà mái đẻ") bằng cách trộn hàm lượng nhất định dung dịch chiết đã được tạo ra vào thức ăn cho gà mái đẻ thường được sử dụng (sau đây gọi là "thức ăn thông thường cho gà mái đẻ") (quy trình sản xuất thức ăn cho gà mái đẻ), việc cho ăn và chăn nuôi bằng thức ăn chăn nuôi được sản xuất cho gà mái đẻ trong thời gian quy định (quy trình cho ăn và chăn nuôi), tạo ra trứng gà chứa ergothionein từ gà mái đẻ được chăn nuôi (quy trình chăn nuôi).

Trong quy trình sản xuất dịch chiết chứa ergothionein, bã tách ra từ dịch chiết chứa ergothionein thu được từ hỗn hợp chiết chứa ergothionein mà chiết từ dung dịch rượu hay nước nóng được tái sử dụng là môi trường nuôi cấy phế phẩm sử dụng trong quy trình sản xuất nấm ăn (quy trình tái chế môi trường nuôi cấy phế phẩm). Trong quy trình cho ăn và chăn nuôi, ergothionein đưa vào bên trong cơ thể gà mái đẻ được tập hợp và tích lũy từ lòng trắng trứng gà tới lòng đỏ trứng gà (tập hợp và tích lũy ergothionein). Sau khi cho ăn trong khoảng thời gian nhất định, sự gia tăng hàm lượng ergothionein trong lòng trắng và lòng đỏ trứng gà dừng lại và hàm lượng ergothionein ổn định ở nồng độ cao (sự ổn định ergothionein). Trứng gà chứa ergothionein ở nồng độ cao thu được từ gà mái đẻ chăn nuôi ở thời điểm này (quy trình chăn nuôi).

Trong quá trình sản xuất dung dịch chiết chứa ergothionein, quá trình chiết dung dịch rượu và quá trình chiết nước nóng được dùng như là phương pháp xử lý để chiết dung dịch chiết chứa ergothionein trong sáng chế này. Trong quá trình chiết dung dịch rượu, dung dịch rượu mà có nồng độ etanol từ 60 đến 80% (tốt hơn là khoảng 70%) và nước từ 40 đến 20% (tốt hơn là khoảng 30%) được bổ sung vào môi trường nuôi cấy phế phẩm đã được dùng để sản xuất nấm ăn, và gia nhiệt dung dịch rượu, và quá trình chiết có thể được thực hiện trong 80 đến 100 phút (tốt hơn là 90 phút) ở nhiệt độ từ 40 đến 60°C (tốt hơn là khoảng 50°C). Dung dịch chiết chứa ergothionein thu được bằng cách xử lý nén để tách chất rắn dưới dạng bã khỏi dịch chiết đã chiết. Mặc dù hầu hết lượng rượu bay hơi từ dung dịch chiết trong công đoạn chiết dung dịch rượu và công

đoạn ép được đề cập dưới đây, trong trường hợp còn lại gốc rượu trong dung dịch chiết, quá trình chưng cất và thu hồi gốc rượu còn lại được thực hiện ngoài quá trình ép. Dung dịch chiết chứa ergothionein mà được tạo ra bởi lượng ẩm nhất định cũng có thể thu được mà không cần quá trình ép bằng cách bay hơi gốc rượu.

Trong quá trình chiết nước nóng, nước, nước nóng, hoặc hơi nước được bổ sung vào môi trường nuôi cấy phế phẩm và môi trường nuôi cấy phế phẩm này được gia nhiệt, và quá trình chiết nước nóng diễn ra trong 30 đến 90 phút (tốt hơn là 60 phút) sau khi đạt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50 đến 110°C (tốt hơn là nằm trong khoảng từ 70 đến 90°C) để chiết dịch chiết. Dung dịch chiết chứa ergothionein thu được bằng cách xử lý ép để tách chất rắn dưới dạng bã khỏi dịch chiết. Trong quá trình chiết nước nóng, quá trình chiết nước nóng cũng có thể được thực hiện bằng cách bổ sung nước nóng hoặc hơi nước vào môi trường nuôi cấy phế phẩm thay vì bổ sung nước. Mặc dù môi trường nuôi cấy phế phẩm đã được sử dụng trong quá trình chiết dung dịch rượu và quá trình chiết nước nóng được ưu tiên sử dụng để sản xuất *Flammulina velutipes* và *Pleurotus eryngii*, nhưng môi trường nuôi cấy phế phẩm mà được sử dụng trong sản xuất nấm ăn như *Lentinula edodes*, *Pleurotus cornucopiae* var. *Citrinopileatus*, *Hypsizygus marmoreus* là môi trường nuôi cấy phế phẩm cũng có thể được sử dụng một cách hiệu quả. Theo sáng chế, dịch chiết hoặc dung dịch chiết được ép ra mà không cần gia nhiệt và thu được bằng cách bổ sung nước vào môi trường nuôi cấy phế phẩm đã được sử dụng để sản xuất nấm ăn, và quá trình gia nhiệt cũng có thể được sử dụng.

Quá trình ép tách bã cho dịch chiết được chiết từ quá trình chiết dung dịch rượu hoặc quá trình chiết nước nóng, và thu được dung dịch chiết chứa ergothionein (quy trình ép). Quá trình xử lý ngưng tụ màng mỏng và xử lý lên men gạo lứt được áp dụng như phương pháp xử lý ngưng tụ để điều chỉnh hàm lượng ẩm của dịch chiết chứa ergothionein thu được bằng cách ép trong sáng chế. Trong quá trình xử lý ngưng tụ màng mỏng, dung dịch ngưng tụ chứa ergothionein thu được bằng cách ngưng tụ đến khoảng từ 1/10 đến 1/30 (tốt hơn

là 1/20) để tách và loại bỏ hơi ẩm khỏi dung dịch chiết thu được bằng cách xử lý ép dịch chiết mà được chiết từ dung dịch rượu hoặc nước nóng.

Trong quá trình lên men gạo lứt, khoảng 300 lít dung dịch chiết thu được bằng cách xử lý ép từ dịch chiết mà được chiết từ dung dịch rượu hoặc nước nóng được bổ sung từ 1 đến 1,5t đối với gạo lứt hoặc gạo lứt trộn với vỏ nghiền, được gia nhiệt và duy trì ở nhiệt độ từ 70 đến 90°C (tốt hơn là khoảng 80°C), quá trình xử lý lên men được thực hiện trong 44 đến 52 giờ (tốt hơn là 48 giờ) và dung dịch ngưng tụ chứa ergothionein thu được bằng cách ngưng tụ đến khoảng từ 1/10 đến 1/30 (tốt hơn là 1/20) để loại bỏ hơi ẩm. Hơi ẩm được hấp thụ vào gạo lứt bằng cách lên men, và hơi ẩm bốc hơi ở nhiệt độ cao khoảng 80°C, và được đưa về độ ẩm nhất định. Mặc dù vỏ sò là phù hợp để làm vỏ được trộn trong gạo lứt trong bản mô tả này, nhưng vỏ của loài động vật có vỏ không bị giới hạn ở đó, nhiều loại vỏ khác nhau được nghiền mịn như nghêu nước ngọt hoặc ngao asari, đều có thể sử dụng.

Trong quá trình xử lý ép, bã đã tách dung dịch chiết chứa ergothionein khỏi dịch chiết được tái sử dụng làm môi trường nuôi cấy phế phẩm dùng để sản xuất nấm ăn (quá trình tái sử dụng môi trường nuôi cấy phế phẩm). Các chất mà ức chế sự sinh trưởng của nấm, các enzym như RNaza và enzym phân hủy amin và polyme có nguồn gốc từ cơ thể sống được tích lũy trong môi trường nuôi cấy thải bỏ được sử dụng để sản xuất nấm ăn. Theo đó, một số phế phẩm chuyển sang dung dịch chiết chứa ergothionein tại thời điểm tách chiết của dịch chiết trong quá trình chiết nước nóng, hàm lượng chất mà ức chế sự sinh trưởng của nấm trong phần bã được giảm sau khi dung dịch chiết được tách ra nhờ quá trình ép. Do vậy, có thể sử dụng lại bã mà đã tách dịch chiết làm môi trường nuôi cấy cho quá trình sản xuất nấm. Công bố KOKAI của đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản số 2011-83206 bộc lộ rằng phương pháp tái tạo môi trường nuôi cấy nấm phế phẩm là tăng vi khuẩn mới. Trong công bố KOKAI của đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản số 2011-83206, chất độc hại phân hủy từ môi trường nuôi cấy nấm được loại bỏ, người ta tách ra, loại bỏ và khử trùng, chất mà ức chế sự sinh trưởng của nấm bị bất hoạt và được sấy khô thích hợp bởi cách cho đi qua hơi

nước đến môi trường nuôi cây phế phẩm được sử dụng một lần cho quá trình sản xuất nấm ăn.

Thức ăn chăn nuôi cho gà mái đẻ được tạo ra bằng cách pha trộn với một số lượng nhất định dung dịch chiết chứa ergothionein được chiết bằng cách xử lý ép hoặc dung dịch ngưng tụ chứa ergothionein được chiết xuất bằng cách xử lý lên men gạo lứt vào thức ăn cho gà thường được sử dụng (thức ăn thông thường cho gà mái). Mặc dù thức ăn thông thường của gà mái đẻ còn được gọi là thức ăn hỗn hợp, và một phần trong đó có bột ngô, bánh đậu nành, bánh dầu, bột cá, v.v., dưới dạng nguyên liệu, thức ăn thông thường cho gà mái trong sáng chế không bị giới hạn ở đó và thức ăn này chứa nhiều loại nguyên liệu khác nhau hoặc thức ăn thông thường đều có thể được sử dụng. Mặc dù dựa vào các loại thức ăn thông thường cho gà mái, dung dịch chiết chứa ergothionein hoặc dung dịch ngưng tụ chứa ergothionein được trộn từ 4 đến 20% (tốt hơn là khoảng từ 10 đến 13%) theo tỷ lệ trọng lượng của thức ăn thông thường cho gà mái. Gà mái đẻ có thể hợp với một số thức ăn có tỷ lệ phần trăm độ ẩm cao, và có thể điều chỉnh để thức ăn có tỷ lệ phần trăm độ ẩm phù hợp với gà mái đẻ bằng cách tiến hành bổ sung định lượng cụ thể dung dịch chiết mà là đối tượng được hóa lỏng trong sáng chế.

Mặc dù thức ăn chăn nuôi thu được bằng cách trộn định lượng riêng dung dịch chiết chứa ergothionein được chiết từ quá trình xử lý ép với thức ăn thông thường cho gà mái ở đây có thể được sử dụng như là thức ăn chăn nuôi cho gà mái đẻ, dung dịch đậm đặc chứa ergothionein mà được ngưng tụ từ dung dịch chiết được trộn trong thức ăn thông thường cho gà mái bằng cách xử lý ngưng tụ màng mỏng và xử lý lên men gạo lứt đến nồng độ định trước, ví dụ, 1/10 đến 1/30, tốt hơn là khoảng 1/20 trong thức ăn thông thường dành cho gà mái, trộn với thức ăn thông thường dành cho gà mái, nhờ đó, thức ăn có thể được điều chỉnh đến tỷ lệ phần trăm độ ẩm phù hợp với gà mái, và gà mái đẻ có thể được nuôi bằng thức ăn chứa ergothionein một cách hiệu quả.

Dung dịch chiết chứa ergothionein thu được bằng cách ngưng tụ đến khoảng 1/20 nhờ quá trình xử lý ép hoặc dung dịch ngưng tụ thu được bằng cách

xử lý ngưng tụ màng mỏng hoặc xử lý lên men gạo lứt được trộn từ 4 đến 20% (tốt hơn là 10 đến 13%) theo tỷ lệ trọng lượng của thức ăn thường được sử dụng cho gà mái đẻ (thức ăn thông thường cho gà mái). Việc cho ăn và chăn nuôi bằng thức ăn với lượng từ 60 đến 180g (tốt hơn là từ 100 đến 140g, tốt hơn nữa là 120g) đối với một con gà trong một lần ăn hoặc chia thành hai đến sáu lần trong một ngày và gà mái đẻ được cho ăn liên tục trong vòng từ 10 đến 30 ngày (ít nhất là 26 ngày) (quy trình cho ăn và chăn nuôi) như thức ăn cho gà mái đẻ. Ngày này qua ngày khác, hàm lượng ergothionein bắt đầu đạt đến giá trị cực đại (khoảng 26 ngày sau khi cho ăn), lượng trộn của dung dịch chiết với thức ăn thông thường cho gà mái có thể bị giảm xuống, và cũng có thể được tạo ra sao cho mức tối đa có thể được duy trì. Có thể trứng là trứng được thu hoạch nếu như trứng chứa ergothionein sau hơn hai ngày kể từ ngày cho gà ăn. Nhưng mong muốn rằng trứng mà có hàm lượng ergothionein nằm trong khoảng thời điểm không sớm hơn 5 ngày và sau 26 ngày kể từ khi cho ăn bắt đầu đạt đến mức cực đại hoặc có giá trị gần ở mức cực đại và ổn định. Trứng gà được chế biến bằng cách luộc hoặc chiên. Thực phẩm được chế biến từ trứng có mayonaisse, thực phẩm bổ sung, pate cá, và mỹ phẩm, v.v..

Trứng của gà mái đẻ mà được cho ăn và chăn nuôi bằng thức ăn chứa ergothionein được đề cập ở trên có chứa ergothionein. Lòng trắng trứng gà và thực phẩm được chế biến từ lòng trắng trứng gà chứa ergothionein với lượng từ 5 đến 13 μ g/g. Lòng đỏ trứng gà và thực phẩm được chế biến từ lòng đỏ trứng gà chứa ergothionein với lượng từ 3 đến 13 μ g/g. Trứng gà được chế biến theo cách luộc hoặc chiên. Thực phẩm được chế biến từ lòng trắng trứng gồm thực phẩm bổ sung, pate cá và mỹ phẩm, v.v. trong đó lòng trắng trứng là nguyên liệu thô. Thực phẩm được chế biến từ lòng đỏ trứng gồm nước sốt mayonaisse trong đó lòng đỏ trứng là nguyên liệu thô.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Quy trình sản xuất dịch chiết chứa ergothionein mà được trộn trong thức ăn thông thường dành cho gà mái, sự sản xuất và cho ăn thức ăn dành cho gà

mái đẻ được thực hiện như sau. Ví dụ này được mô tả có tham khảo Fig.2. Trong hình vẽ này, 1 là thiết bị chiết nước nóng (thiết bị chiết dung dịch rượu), 2 là thiết bị ép, 3 là thiết bị ngưng tụ màng mỏng (máy lên men gạo lứt), 4 là máy khuấy trộn, 11 là môi trường nuôi cấy phế phẩm cho *Flammulina velutipes*, 12 là nước, 13 là dịch chiết, 21 là dung dịch chiết chứa ergothionein, 22 là bã, 31 là dịch cô chứa ergothionein, 32 là nước ngưng tụ, 41 là thức ăn cho gà mái đẻ, tương ứng với sơ đồ. Về quá trình chiết dung dịch rượu và xử lý lên men gạo lứt, các quá trình này đã được mô tả ở phần mô tả chi tiết sáng chế.

2200kg môi trường nuôi cấy phế phẩm cho *Flammulina velutipes* 11 và 11000kg nước 12 được đưa vào thiết bị chiết nước nóng 1, hỗn hợp chiết nước nóng được xử lý ở khoảng 97°C trong một giờ, và hỗn hợp chiết 13 được tạo ra. Hỗn hợp chiết 13 được ép trong máy nén 2, 9200kg dịch chiết chứa ergothionein 21 và bã 22 sau khi tách dịch chiết được tạo ra. Máy ngưng tụ màng mỏng 3 tách nước ngưng tụ 32 từ 9200kg dịch chiết chứa ergothionein 21, và 460kg dịch đậm đặc chứa ergothionein được tạo ra. Như vậy, 14ml dung dịch đậm đặc thu được chứa ergothionein được trộn vào 120g thức ăn cho gà mái thường được sử dụng, hỗn hợp được trộn bằng máy trộn 4, và thu được thức ăn cho gà mái đẻ 41. 120g thức ăn cho gà mái đẻ 41 cho một con gà được cho ăn liên tục trong 36 ngày, chia làm 4 lần trong một ngày.

Ví dụ 2

Việc cho ăn và chăn nuôi gà mái đẻ, và phương pháp đo hàm lượng ergothionein trong lòng trắng trứng gà được chiết xuất trong thời gian thực được thực hiện theo cách sau đây. Việc đánh số được thực hiện trên mười con gà mái, và giữ lấy một con gà mái trong thiết bị chăn nuôi có máy đo, và một quả trứng (tổng số là mười quả trứng) mà mỗi con gà sẽ đẻ ra trong một ngày được thu lấy, việc đánh số được thực hiện trên từng quả trứng, và hàm lượng ergothionein trong lòng trắng trứng của mỗi quả trứng được xác định. Ở lượng ergothionein cố định, sắc ký đồ của chất nội chuẩn và ergothionein thu được từ lòng trắng trứng mà được bổ sung trước chất nội chuẩn vào với lượng đã biết bằng cách sắc

ký hiệu năng cao, lượng ergothionein được đo từ tỷ lệ của phần đỉnh của ergothionein với phần đỉnh của chất nội chuẩn.

Trong quá trình đo hàm lượng ergothionein trong lòng trắng trứng, thức ăn cho gà mái đẻ thường được sử dụng (thức ăn thông thường cho gà mái) được cho ăn trong 5 ngày (trừ ngày thứ 5 cho ngày đầu tiên), thức ăn cho gà mái đẻ được trộn với dung dịch đậm đặc chứa ergothionein được cho ăn liên tục trong 36 ngày (từ 0 ngày cho đến ngày thứ 36), việc cho gà mái đẻ ăn thức ăn được dừng lại sau đó, bắt đầu cho gà ăn thức ăn thông thường, cho ăn liên tục đến ngày thứ 71. Kết quả được thể hiện trong đồ thị của Fig.3. Trên Fig.3, một quả trứng (tổng số 10 quả) mà mỗi con gà trong số mười con gà mái sẽ đẻ vào ngày 1 được lấy ra vào mỗi ngày kể từ khi bắt đầu cho gà mái đẻ ăn thức ăn thông thường, bắt đầu cho ăn thức ăn chăn nuôi của gà mái đẻ, bắt đầu cho ăn thức ăn thông thường cho gà mái đẻ dừng việc cho ăn thức ăn dành cho gà mái đẻ và liên tục đến ngày thứ 71. Hàm lượng ergothionein trong lòng trắng trứng được xác định, và giá trị trung bình của hàm lượng ergothionein trong lòng trắng trứng của mười quả trứng được biểu thị bằng đồ thị.

Đồ thị của Fig.3 thể hiện những số liệu sau. Nồng độ ergothionein của thức ăn chăn nuôi cho gà mái đẻ trong lòng trắng trứng (thức ăn cho gà mái đẻ) mà được trộn với dung dịch đậm đặc chứa ergothionein bắt đầu từ ngày đầu tiên khi bắt đầu cho ăn. Sau khi lượng ergothionein gia tăng tuyến tính, sẽ tăng khoảng 12,8 lần như $8,86\mu\text{g/g}$ từ giá trị ban đầu $0,69\mu\text{g/g}$ (trừ ngày thứ năm) vào ngày thứ 26 sau khi bắt đầu cho ăn, và sau đó sự gia tăng của nồng độ ergothionein trong lòng trắng trứng dừng lại. Việc cho ăn thức ăn dành cho gà mái đẻ được dừng lại vào ngày thứ 36 sau khi bắt đầu cho ăn và chăn nuôi gà mái đẻ, sau đó khi thức ăn thông thường được sử dụng cho gà mái đẻ, hàm lượng ergothionein giảm. Hàm lượng ergothionein trở về giá trị (giá trị ban đầu) trước khi cho ăn thức ăn dành cho gà mái đẻ mà được trộn với dung dịch đậm đặc chứa ergothionein trong ngày thứ 71.

Ví dụ 3

Việc cho ăn và chăn nuôi gà mái đẻ, và phương pháp đo hàm lượng ergothionein chứa trong lòng đỏ trứng gà chiết xuất ra trong thời gian thực được thực hiện theo cách giống như ví dụ 2. Trong một lượng nhất định ergothionein trong phương pháp đo hàm lượng ergothionein trong lòng đỏ của mỗi quả trứng gà ở đây, sắc ký đồ của chất nội chuẩn và ergotionin thu được từ lòng đỏ trứng mà được thêm vào chất nội chuẩn với lượng đã biết bằng cách sắc ký hiệu suất cao, lượng ergothionein được đo từ tỷ lệ của vùng đỉnh của ergothionein so với vùng đỉnh của chất nội chuẩn.

Kết quả của sự đo hàm lượng ergothionein trong lòng đỏ trứng gà được thể hiện trong đồ thị của Fig.4. Trên Fig.4, một quả trứng gà (tổng số mười quả trứng) mà mỗi con gà trong số mười con gà sẽ đẻ trong một ngày được lấy ra từng ngày từ khi bắt đầu cho ăn thức ăn thông thường cho gà mái đẻ, bắt đầu cho ăn thức ăn dành cho gà mái đẻ, bắt đầu cho ăn thức ăn thông thường cho gà mái đẻ để dừng việc cho gà mái ăn thức ăn thông thường và tiếp tục đến ngày thứ 71. Hàm lượng ergothionein trong lòng đỏ trứng được xác định, và giá trị trung bình của hàm lượng ergothionein trong lòng đỏ của mười quả trứng được thể hiện trên đồ thị.

Đồ thị trên Fig.4 thể hiện các số liệu sau. Nồng độ ergothionein trong lòng đỏ trứng gà của gà mái đẻ được cho ăn thức ăn mà được trộn với dung dịch đậm đặc chứa ergothionein bắt đầu từ ngày thứ hai cho ăn bắt đầu tăng nhanh. Nồng độ này gấp khoảng 8,5 lần giá trị ban đầu từ 1,02 μ g/g lên đến 8,7 μ g/g (trừ ngày thứ năm) vào ngày thứ 26 sau khi bắt đầu cho ăn, và sự gia tăng nồng độ ergothionein dừng lại sau đó. Việc cho gà mái đẻ ăn thức ăn chăn nuôi được dừng lại ở ngày thứ 36 sau khi bắt đầu cho ăn, khi sử dụng thức ăn thông thường cho gà mái đẻ (thức ăn thông thường cho gà mái đẻ), hàm lượng ergothionein giảm. Hàm lượng ergothionein quay trở lại giá trị (giá trị ban đầu) trước khi cho ăn thức ăn dành cho gà mái đẻ ở ngày thứ 58.

Ergothionein tiến vào bên trong cơ thể gà mái đẻ mà được cho ăn thức ăn dành cho gà mái đẻ theo sáng chế tích tụ trong lòng đỏ trứng từ lòng trắng trứng

như thấy rõ từ các ví dụ 1, 2 và 3, được tích lũy. Hàm lượng ergothionein trong lòng trắng và lòng đỏ trứng gà mà gà mái sau khi ăn thức ăn dành cho gà mái đẻ trong thời gian đẻ cố định, sự gia tăng hàm lượng dừng lại, và ổn định ở nồng độ cao. Trứng chứa ergothionein ở nồng độ cao tại thời điểm này được hình thành.

Bảng 1 thể hiện hàm lượng ergothionein trong lòng trắng và lòng đỏ của trứng theo sáng chế, giá trị khả năng khử gốc (giá trị loại bỏ oxy hoạt hóa), và cả giá trị phân chia. Phân tích về mối tương quan giữa hàm lượng ergothionin trong lòng trắng và lòng đỏ của trứng gà theo sáng chế, và khả năng khử gốc DPPH, và kết quả được tính toán của cả hai giá trị được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1

Mục	Lòng trắng trứng gà	Lòng đỏ trứng gà
Hàm lượng ergothionein (E) mAbs	114,7	69,3
Khả năng khử gốc (R) mAbs	155,2	55,2
Tỷ lệ R/E	1,4	0,8

Giá trị (tỷ lệ R/E) thu được bằng cách chia giá trị khử gốc DPPH đo bằng phương pháp sắc ký hiệu năng cao cho giá trị hàm lượng ergothionein chứa trong trứng gà theo sáng chế là khoảng 1,4 ở lòng trắng trứng và 0,8 ở lòng đỏ trứng, như được thể hiện ở bảng 1. Trong trứng gà của gà mái đẻ mà được cho ăn thức ăn dành cho gà mái đẻ theo sáng chế, ergothionein trong lòng trắng trứng linh hoạt hơn ergothionin trong lòng đỏ trứng. Ergothionein trong lòng trắng trứng có khả năng khử gốc cao hơn so với ergothionein trong lòng đỏ trứng. Khả năng khử gốc trên một đơn vị trọng lượng của ergothionein chứa trong lòng trắng trứng là gấp 1,4 lần hoặc nhiều hơn nữa so với ergothionein trong lòng đỏ trứng. Vì khả năng loại bỏ oxy hoạt tính của lòng trắng trứng là cao, đặc biệt là lòng trắng trứng có tác dụng chống oxy hóa cao, lòng trắng trứng thường có xu hướng không trở thành phần hữu ích, và do vậy dẫn đến gia tăng nhu cầu về trứng gà mái đẻ.

Trong sáng chế, dung dịch chiết chứa ergothionein thu được bằng cách xử lý ép môi trường nuôi cấy phế phẩm cho nấm ăn từ dịch chiết được chiết bằng dung dịch rượu hoặc quá trình chiết nước nóng, hoặc dung dịch ngưng tụ chứa

ergothionein mà thu được bởi quá trình ngưng tụ dịch chiết đã được trộn với lượng cụ thể vào thức ăn thông thường cho gà mái. Thức ăn được sản xuất để gà mái đẻ ăn liên tục trong thời gian quy định. Có thể tiến hành sự cô và tích tụ ergothionein trong trứng gà mái đẻ. Đặc biệt, trứng gà có lòng trắng trứng có hoạt tính chống oxy hóa cao có thể được tạo ra. Vì môi trường nuôi cấy phế phẩm được dùng cho quá trình sản xuất nấm ăn được sử dụng làm nguyên liệu, trứng gà giá rẻ có hoạt tính chống oxy hóa có thể sản xuất được. Ngoài ra còn có tác dụng là bã sau khi chiết xuất nước nóng có thể được tái sử dụng để sản xuất nấm ăn.

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

Theo sáng chế, vì thức ăn mà sử dụng dung dịch chiết chứa ergothionein được tạo ra từ môi trường nuôi cấy phế phẩm mà trở nên không cần thiết bằng việc sử dụng cho quá trình sản xuất nấm ăn được sử dụng làm thức ăn cho gà mái đẻ, trứng gà có hoạt tính chống oxy hóa cao có thể sản xuất với chi phí thấp, có thể sử dụng hiệu quả môi trường nuôi cấy phế phẩm được dùng trong quá trình sản xuất nấm ăn mà thường gặp khó khăn trong việc loại bỏ môi trường này. Sáng chế có thể đóng góp cho các ngành công nghiệp lớn, như ngành nấm, và ngành chăn nuôi gia cầm và ngành sản xuất và bán thức ăn chăn nuôi.

Mô tả các số chỉ dẫn

- 1 Thiết bị chiết nước nóng (thiết bị chiết xuất dịch rượu)
- 2 Máy nén
- 3 Thiết bị ngưng tụ màng mỏng (máy lên men gạo lức)
- 4 Máy khuấy trộn
- 11 Môi trường nuôi cấy *Flammulina velutipes*
- 12 Nước
- 13 Dịch chiết
- 21 Dung dịch chiết chứa ergothionein
- 22 Bã
- 31 Dung dịch đậm đặc chứa ergothionein
- 32 Nước ngưng tụ
- 41 Thức ăn cho gà mái đẻ

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp sản xuất thức ăn cho gà đẻ chứa ergothionein bao gồm các bước:

bổ sung nước, nước nóng, hoặc hơi nước vào môi trường nuôi cấy phế phẩm mà đã được sử dụng để sản xuất nấm ăn và gia nhiệt cho môi trường nuôi cấy phế phẩm này,

tiến hành chiết bằng nước nóng trong 30 đến 90 phút sau khi đạt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50°C đến 110°C để thu dịch chiết,

tách chất rắn ở dạng bã ra khỏi dịch chiết đã chiết bằng cách xử lý ép để thu dung dịch chiết,

tách và loại bỏ hơi ẩm ra khỏi dung dịch chiết để thu dung dịch chiết chứa ergothionein mà được cô đến mức từ 1/10 đến 1/30 thể tích của dịch chiết này, và

trộn dung dịch chiết với lượng từ 4 đến 20% theo tỷ lệ trọng lượng vào thức ăn hỗn hợp.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó nấm ăn được chọn từ các nấm *Flammulina velutipes*, *Pleurotus eryngii* và *Lentinula edodes*.

3. Trứng gà được đẻ bởi gà mái đẻ mà được nuôi bằng thức ăn được sản xuất bằng phương pháp theo điểm 1 hoặc 2, trứng gà này bao gồm lòng trắng trứng chứa ergothionein với lượng từ 5 đến 13µg/g, và lòng đỏ trứng chứa ergothionein với lượng từ 3 đến 13µg/g, và

trong đó khả năng khử gốc trên một đơn vị trọng lượng của ergothionein có trong lòng trắng trứng là bằng hoặc lớn hơn 1,4 lần so với khả năng khử gốc trên một đơn vị trọng lượng của ergothionein có trong lòng đỏ trứng.

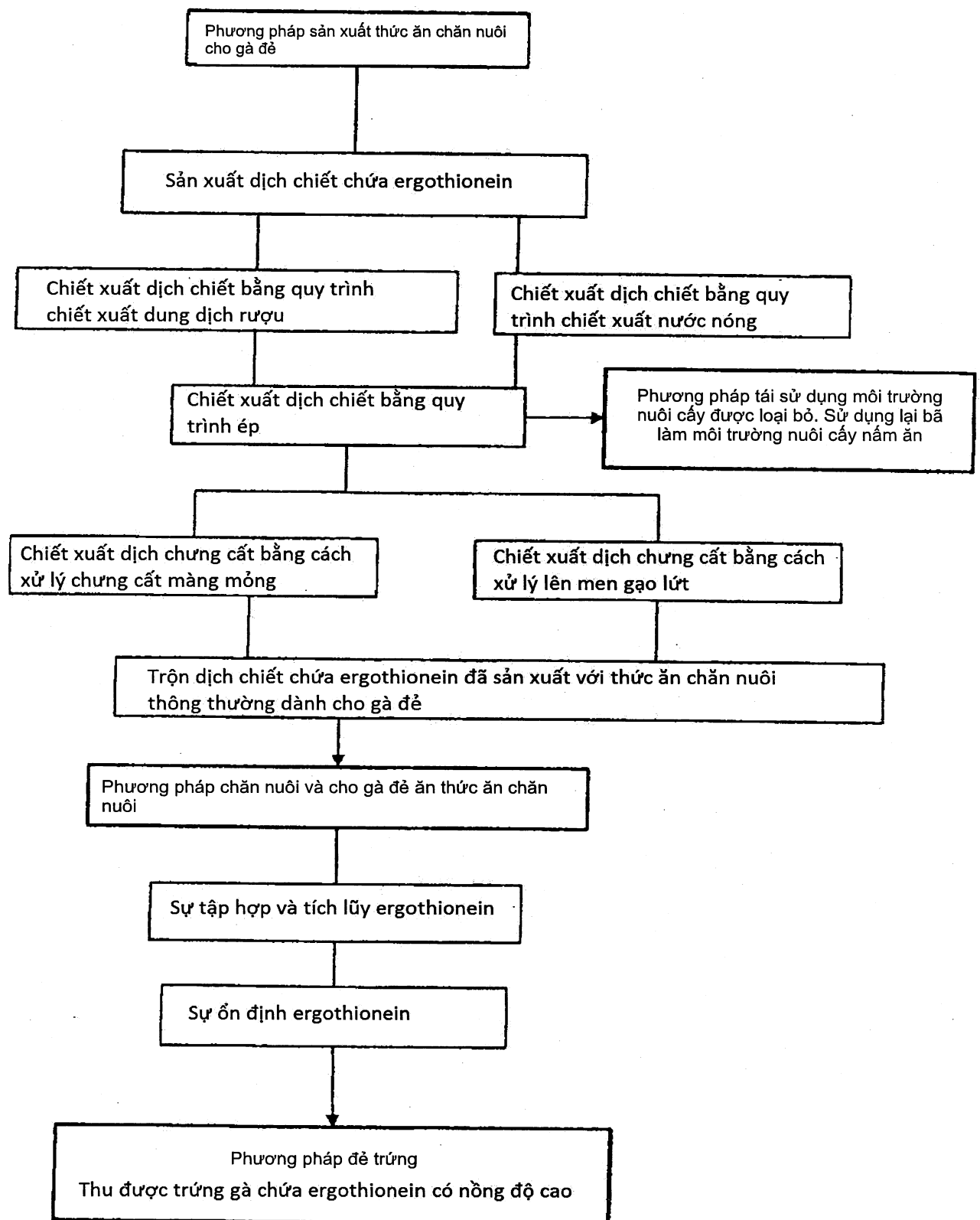


Fig. 1

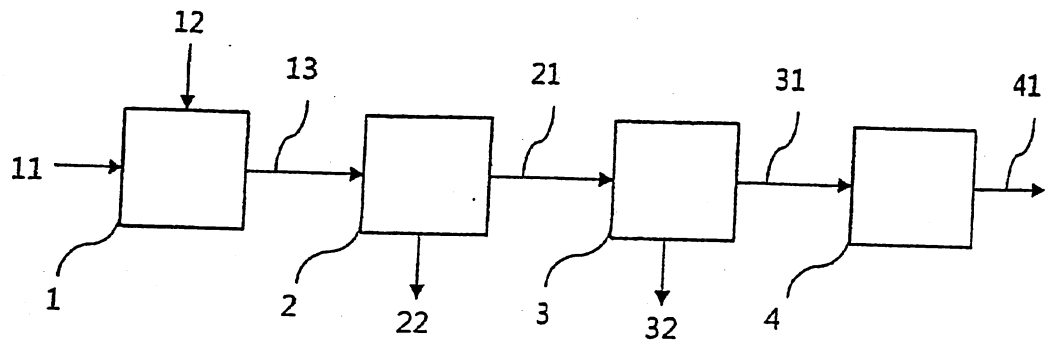


Fig. 2

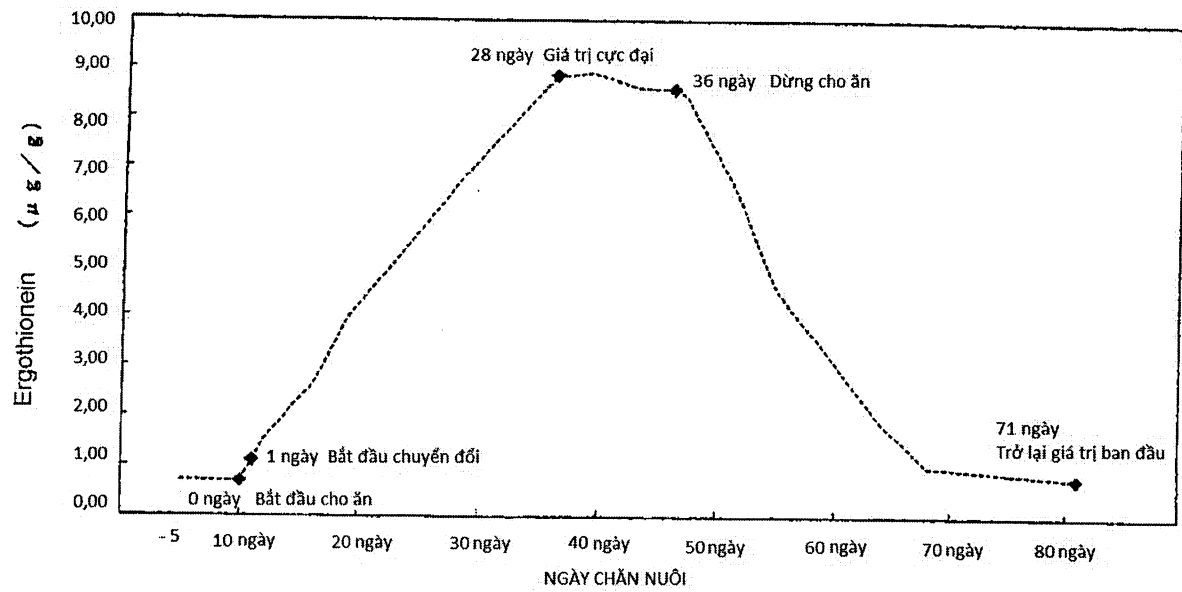


Fig. 3

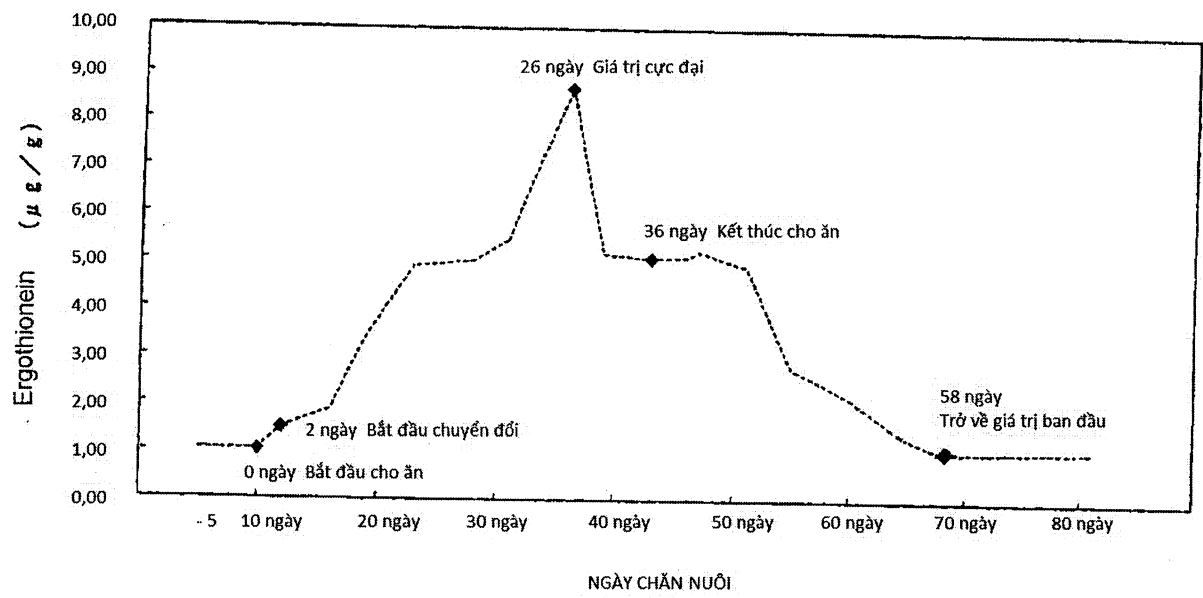


Fig. 4