



(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)



1-0023937

(51)⁷ A23L 1/212; A23L 3/28; A23L 1/29; (13) B
A23B 7/155

(21) 1-2013-01408

(22) 13/12/2010

(86) PCT/KR2010/008885 13/12/2010

(87) WO2012/074159A1 07/06/2012

(30) 10-2010-0122763 03/12/2010 KR

(45) 25/06/2020 387

(43) 25/09/2013 306A

(76) AN, Jun Min (KR)

204-3, Sinlim2ri, Sinlimmyun, Wonju-si, Gangwon-do, Republic of KOREA

(74) Công ty TNHH Trường Xuân (AGELESS CO.,LTD.)

(54) PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT NHÂN SÂM ĐEN

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất nhân sâm đen, bao gồm: chung sơ bộ nhân sâm tươi được làm sạch bằng hơi nước trong khoảng nhiệt độ từ 70 đến 150°C trong thời gian từ 3 đến 10 giờ; phủ toàn bộ nhân sâm bởi dung dịch phủ nhót, dung dịch phủ này được điều chế bằng cách trộn tác nhân phủ có thể ăn được trong nước ở nhiệt độ cao; chung bằng hơi nước lần hai nhân sâm được phủ trong khoảng nhiệt độ từ 70 đến 150°C trong thời gian từ 3 đến 10 giờ, tiếp theo được chiếu xạ bằng tia UV trong khoảng thời gian từ 7 đến 20 giờ; chiết xuất nhân sâm được chiếu xạ bằng tia UV với nước được gia nhiệt đến từ 70 đến 100°C để tạo ra chất chiết xuất; xử lý enzym chất chiết xuất bởi α -amilaza và xenluloza trong khoảng nhiệt độ từ 25 đến 65°C trong khoảng thời gian từ 2 đến 7 giờ; và lên men chất chiết xuất được xử lý enzym trong khoảng nhiệt độ từ 20 đến 40°C trong khoảng thời gian từ 10 đến 48 giờ với sự tham gia của nấm men *Saccharomyces cerevisiae*.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất nhân sâm đen. Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất nhân sâm đen, bao gồm quá trình lên men, quá trình phủ và chiếu xạ tia UV, qua đó làm giàu tinh chất saponin thô và các hợp chất ginsenosit mà không tạo ra benzopyren.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Nhân sâm là dược thảo nổi tiếng đã được biết đến với hiệu quả y học của nó suốt hàng ngàn năm qua. Nhân sâm có thể được sử dụng tươi hoặc sau khi được sấy khô. Ngoài ra, nhân sâm có thể được chế biến thành nhân sâm đỏ mà có hiệu quả y học cao hơn nhờ phương pháp chưng bằng hơi nước.

Đã có báo cáo cho thấy quá trình chưng bằng hơi nước khiến cho nhân sâm trải qua sự thay đổi về dược tính bởi vì các thành phần mới được tạo ra hoặc các thành phần tồn tại trước đó được làm giàu thêm.

Để chiếm lĩnh thị trường nhân sâm, mà chiếm tới 3,5 tỷ đôla, các công ty kinh doanh dược phẩm Hàn Quốc đang tiến hành nghiên cứu sâu về sự phát triển của các nguyên liệu liên quan đến nhân sâm mới. Pharmaton SA, một chi nhánh tại Thụy Sĩ của Boehringer Ingelheim GmbH, đã chuẩn hóa nhân sâm làm thực phẩm chức năng và thực hiện buôn bán quy mô lớn trên thị trường thế giới. Tại Hàn Quốc, nghiên cứu cấp quốc gia về nhân sâm đã được tiến hành, và các sản phẩm được phát triển bởi các doanh nghiệp kinh doanh đã được thương mại hóa thành công liên tiếp.

Đã có các ghi nhận trong lịch sử rằng nhân sâm đỏ Hàn Quốc đã được điều chế trong khoảng thời gian ít nhất là 1.000 năm (hồ sơ minh chứng của Đại sứ quán Hàn Quốc ở thời kỳ Xuân-Thu, được ghi chép bởi Xu Jing thời nhà Tống). Nhân sâm đỏ Hàn Quốc là thuốc thảo dược được sản xuất bằng phương pháp ngâm, phương pháp sản xuất thảo dược truyền thống. Thông thường, quá trình ngâm (sắc) các thảo dược nhằm mục đích: 1) giảm các tác dụng phụ chẳng hạn như độc tố, 2) biến đổi và làm tăng cường hoạt tính dược, 3) cải thiện khả năng bảo quản, và 4) thay đổi vị và mùi. Trong quá trình xử lý nhiệt, sự thay đổi thành phần thứ cấp xuất hiện, do đó các thành phần có hiệu quả y học mới mà vốn là đặc tính của nhân sâm đỏ, không được thấy trong nhân sâm tươi hoặc nhân sâm trắng, được tạo ra. Một số thành phần hoạt tính

được làm giàu thêm nhờ xử lý nhiệt. Theo cách này, quá trình xử lý nhiệt tạo ra các thành phần mới mà không có trong nhân sâm tươi, và có thể giúp cho nhân sâm thể hiện hoạt tính sinh lý học cao bao gồm hoạt tính chống ung thư, so với nhân sâm chưa xử lý (Okamura N. et al., Biol. Pharm. Bull., 17(2), trang 270, 1994).

Ở Trung Quốc, Rg3, tinh chất saponin nhân sâm hiện có hàm lượng rất ít trong nhân sâm đỏ, và không được tìm thấy trong nhân sâm trắng, được thương mại hóa theo nhãn hiệu “Shenyi” để chữa trị ung thư là kết quả của việc phát triển phương pháp điều chế tinh chất saponin nhân sâm có số lượng lớn. Ginseng Science, doanh nghiệp kinh doanh dược phẩm Hàn Quốc, đã phát triển và thương mại hóa sản phẩm nhân sâm với tên gọi “Sun Ginseng” vào năm 1998, và viên nén nhân sâm với tên gọi “viên nén Sun Ginseng” vào năm 2001 (Keum Y. S. et al., các hoạt chất tăng cường sự chống oxi hóa và chống ung thư của metanol chiết xuất từ nhân sâm được xử lý nhiệt, Cancer Lett., 150(1), pp. 41-48, 2000).

Các sản phẩm nhân sâm được chế biến theo các phương pháp khác nhau, ví dụ, “Hwangsam EX” được phát triển bởi doanh nghiệp kinh doanh dược phẩm BTGin hợp tác với Viện nghiên cứu Hàn Quốc về công nghệ sinh học và khoa học áp dụng sinh học, “nhân sâm đỏ dạng hút” được phát triển bởi doanh nghiệp kinh doanh dược phẩm GreenBio hợp tác với Ginseng Agriculture Union of Namil Farm, “Biomax” được phát triển bởi Unigen, một chi nhánh của Namyang Aloe Corp., và UPI, “Sixplus” được phát triển bởi CJ, và “Hwangsam” được phát triển bởi Il-dong Pharmaceuticals.

Nghiên cứu sâu về nhân sâm đã được tiến hành, quan tâm cụ thể đến quá trình sản xuất nhân sâm đen có các thành phần hoạt tính lớn hơn rất nhiều so với nhân sâm đỏ, mặc dù các vòng của các quá trình chưng bằng hơi nước và sấy khô có thời gian dài hơn.

Tuy nhiên, hầu hết các phương pháp sản xuất nhân sâm đen được biết đến hiện nay đều phức tạp và cần thời gian sản xuất dài. Vì những bất lợi này, nên tồn tại khả năng thất bại trong việc sản xuất nhân sâm đen. Ngoài ra, nhân sâm đen, ngay cả khi sản xuất được, thì cũng rất đắt tiền. Các giải pháp khác nhau cho các vấn đề này sẽ được bộc lộ dưới đây.

Bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-0543862 (Nhân sâm đen có hàm lượng các thành

phần hoạt tính cao và quá trình cô đặc nhân sâm đen) bộc lộ nhân sâm đen được làm giàu theo thành phần hợp chất ginsenosit đặc hiệu, được sản xuất thông qua 9 vòng chưng bằng hơi nước và 10 vòng sấy khô trong phòng sấy khô đất vàng, và quá trình cô đặc nhân sâm đen.

Trong bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-0529475 (phương pháp sản xuất nhân sâm đen), nhân sâm được rửa sạch và được sấy khô và sau đó được trải qua 9 vòng chưng bằng hơi nước và sấy khô.

Trong bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-0496418 (phương pháp sản xuất các rễ nhân sâm đen và các rễ nhân sâm đen được sản xuất theo phương pháp này), các rễ nhân sâm, mà vốn giàu hàm lượng saponin, được trải qua 10 vòng các quá trình chưng bằng hơi nước và sấy khô.

Các phương pháp sản xuất này hướng đến việc làm giàu tinh chất saponin thô và các hợp chất ginsenosit đặc hiệu nhờ thay đổi nhiệt độ và số vòng chưng bằng hơi nước. Tuy nhiên, hàm lượng saponin thô và hợp chất ginsenosit là không đủ nếu sản xuất theo các phương pháp truyền thống.

Vào năm 2007, Cơ quan quản lý thực phẩm và dược phẩm Hàn Quốc đã kiểm tra hàm lượng benzopyren trong các sản phẩm nhân sâm đen hiện có trên thị trường. Kết quả là, Cơ quan quản lý thực phẩm và dược phẩm KFDA này đã thi hành biện pháp quản lý để tịch thu các sản phẩm có hàm lượng benzopyren chưa đảm bảo và đã ra lệnh các công ty này thu hồi các sản phẩm đã phân phối bởi chính họ.

Benzopyren là hydrocacbon thơm (polycyclic aromatic hydrocarbon PAH), là chất ô nhiễm môi trường, mà có thể được tạo ra bởi quá trình nấu hoặc quá trình chế biến ở nhiệt độ cao. Hợp chất này được liệt kê trong nhóm chất gây ung thư loại 1 bởi IARC, và mức độ độc chất cao nhất của nó được giới hạn ở 2 ppb trong dầu nấu ăn.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế được tạo ra có xét đến các vấn đề nêu trên trên mà xảy ra trong lĩnh vực kỹ thuật đã biết, và mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp sản xuất nhân sâm đen được làm giàu tinh chất saponin thô và các hợp chất ginsenosit có khả dụng sinh học được tăng cường và không có benzopyren.

Để đạt được mục đích trên, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất nhân sâm đen, bao gồm:

chung sơ bộ nhân sâm tươi được làm sạch bằng hơi nước trong khoảng nhiệt độ từ 70 đến 150°C trong thời gian từ 3 đến 10 giờ;

phủ toàn bộ nhân sâm bằng dung dịch phủ nhót, dung dịch phủ nói trên được điều chế bằng cách trộn tác nhân phủ có thể ăn được vào nước ở nhiệt độ cao;

chung bằng hơi nước lần hai nhân sâm được phủ trong khoảng nhiệt độ từ 70 đến 150°C trong thời gian từ 3 đến 10 giờ, tiếp theo được chiếu xạ bằng tia UV trong thời gian từ 7 đến 20 giờ;

chiết xuất nhân sâm được chiếu xạ tia UV bằng nước được gia nhiệt đến nhiệt độ từ 70 đến 100°C để tạo ra chất chiết xuất;

xử lý enzym chất chiết xuất bằng α -amilaza và xenluloza trong khoảng nhiệt độ từ 25 đến 65°C trong thời gian từ 2 đến 7 giờ; và

lên men chất chiết xuất được xử lý enzym ở 20 ~ 40°C trong khoảng thời gian từ 10 đến 48 giờ với sự tham gia của nấm men *Saccharomyces cerevisiae*.

Theo phương án ưu tiên của sáng chế, tác nhân phủ có thể ăn được được chọn từ nhóm bao gồm hồ dán, gelatin, chất làm đông agar, casein, natri anginat, chất gồm xanthan, chất gồm từ hạt giống cây mọc qua, hydroxit xenluloza, và natri cacboxit metyl xenluloza. Dung dịch phủ tốt hơn là được điều chế từ 100 đến 500 g tác nhân phủ có thể ăn được trên một lít nước.

Theo phương án ưu tiên khác của sáng chế, giai đoạn chung bằng hơi nước lần hai được lặp lại từ 2 đến 8 lần.

Theo phương án ưu tiên khác của sáng chế, phương pháp này có thể còn bao gồm giai đoạn gia nhiệt chất chiết xuất được xử lý enzym đến nhiệt độ từ 80 đến 95°C và duy trì nhiệt độ này trong khoảng thời gian từ 3 đến 9 giờ để khử hoạt tính α -amilaza và xenluloza giữa bước xử lý enzym và bước lên men.

Như được mô tả, phương pháp sản xuất nhân sâm đen theo sáng chế có mục đích là làm giàu tinh chất saponin thô và các hợp chất ginsenosit và cải thiện sự hấp thụ của cơ thể tinh chất saponin thô, mà không tạo ra các chất gây ung thư như benzopyren. Về điều này, khi được phủ lên nhân sâm, tác nhân phủ có thể ăn được được sử dụng trong sáng chế đóng vai trò ngăn không cho tinh chất saponin tồn tại khỏi nhân sâm và bảo vệ nhân sâm không tiếp xúc trực tiếp với nhiệt để ngăn sự tạo thành các chất gây ung thư chẳng hạn như benzopyren. Ngoài ra, tác nhân phủ có thể

ăn được đóng vai trò là nguồn amino axit cho nấm men *Saccharomyces cerevisiae* trong bước lên men để gia tăng độ chuẩn lên men, để sự hấp thụ của saponin thô và các hợp chất ginsenosit của cơ thể được tăng lên nhờ quá trình làm giàu đồng thời các thành phần có lợi.

Ngoài ra, nhờ vào quá trình xử lý enzym, α -amilaza và xenluloza tách 1,4-liên kết α và 1,4-liên kết β của tinh bột nhân sâm đen, tách tinh chất saponin khỏi tinh bột và cải thiện sự hấp thụ cơ thể tinh chất saponin.

Ngoài ra, quá trình chiếu xạ tia UV và lên men sau quá trình chiết xuất làm tăng hàm lượng saponin thô và các hợp chất ginsenosit.

Mô tả chi tiết sáng chế

Dưới đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết.

Theo phương án của sáng chế, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất nhân sâm đen, bao gồm:

chưng sơ bộ nhân sâm tươi được làm sạch bằng hơi nước ở khoảng nhiệt độ từ 70 đến 150°C trong thời gian từ 3 đến 10 giờ;

phủ toàn bộ nhân sâm bằng dung dịch phủ nhót, dung dịch phủ nói trên được điều chế bằng quá trình trộn tác nhân phủ có thể ăn được vào nước ở nhiệt độ cao;

chưng bằng hơi nước lần hai nhân sâm được phủ trong khoảng nhiệt độ từ 70 đến 150°C trong thời gian từ 3 đến 10 giờ, tiếp theo được chiếu xạ bằng tia UV trong thời gian từ 7 đến 20 giờ;

chiết xuất nhân sâm được chiếu xạ tia UV bằng nước được gia nhiệt đến nhiệt độ từ 70 đến 100°C để tạo ra chất chiết xuất;

xử lý enzym chất chiết xuất bằng α -amilaza và xenluloza trong khoảng thời gian từ 25 đến 65°C trong thời gian từ 2 đến 7 giờ; và

lên men chất chiết xuất được xử lý enzym trong khoảng thời gian từ 20 đến 40°C trong thời gian từ 10 đến 48 giờ với sự tham gia của nấm men *Saccharomyces cerevisiae*.

Bước chưng sơ bộ bằng hơi nước về cơ bản là giống với phương pháp truyền thống đã biết, ví dụ như, các bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-0543862, 10-0529475 và 10-0496418 ở trên, hay các bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-0617330, 10-0729214, 10-0754253 và 10-0844990.

Bước phủ sau bước chung sơ bộ bằng hơi nước là rất quan trọng theo sáng chế, và được giải thích chi tiết dưới đây.

Lớp phủ trên nhân sâm được chung sơ bộ bằng hơi nước đóng vai trò làm lớp chắn chống loại sự thoát ra của các thành phần hoạt tính khỏi củ nhân sâm và sự tạo thành benzopyren trong củ nhân sâm. Nước thường có thể được sử dụng trong quá trình điều chế dung dịch phủ, nhưng tốt hơn là sử dụng nước còn lại trong bể chung bằng hơi nước sau quá trình chung sơ bộ bằng hơi nước.

Bởi vì các thành phần có lợi như saponin thô và các hợp chất ginsenosit được chứa trong nước còn lại trong bể chung bằng hơi nước, do đó, chúng có thể được tái chế nhờ sử dụng nước này.

Như được mô tả ở trên, lớp phủ được hình thành trên củ nhân sâm ngăn không cho sự thoát ra của saponin thô và các hợp chất ginsenosit khỏi củ nhân sâm trong suốt quá trình chung bằng hơi nước, và đóng vai trò là chất cách nhiệt để chắn chiếu xạ trực tiếp vào củ nhân sâm để gia nhiệt để kìm hãm sự tạo thành benzopyren mà có khả năng cao xảy ra do sự chiếu xạ trực tiếp để gia nhiệt trong thời gian dài trong rất nhiều vòng của các quá trình chung bằng hơi nước.

Dung dịch phủ được điều chế bằng cách hòa tan tác nhân phủ có thể ăn được vào nước, thích hợp hơn là thích hợp hơn là nước còn lại trong bể chung bằng hơi nước sau bước chung sơ bộ bằng hơi nước, và sau đó gia nhiệt để tăng độ nhớt của dung dịch. Dung dịch phủ được phủ đều lên toàn bộ nhân sâm được làm khô sau bước chung sơ bộ bằng hơi nước.

Lớp phủ có thể được tạo ra nhờ sử dụng các phương pháp khác nhau, ví dụ, bằng cách nhúng lặp đi lặp lại nhân sâm trong dung dịch phủ hoặc phủ dung dịch phủ lên nhân sâm bằng cách sử dụng chổi quét.

Lý do cho việc bước phủ được thực hiện giữa bước chung sơ bộ bằng hơi nước và bước chung bằng hơi nước lần hai là ở chỗ lớp phủ được hình thành trên củ nhân sâm có thể thực hiện chức năng với hiệu quả cao nhất để ngăn sự thoát saponin thô và các hợp chất ginsenosit khỏi củ nhân sâm trong quá trình chung bằng hơi nước, và để chắn sự chiếu xạ trực tiếp củ nhân sâm để gia nhiệt để do đó ngăn sự hình thành benzopyren có thể có khả năng cao xảy ra do sự chiếu xạ trực tiếp để gia nhiệt trong thời gian dài trong rất nhiều vòng của các quá trình chung bằng hơi nước.

Chỉ cần đáp ứng điều kiện là có thể ăn được và có đủ độ nhớt khi được hòa tan trong nước để cho phép dung dịch phủ được phủ, thì bất kỳ chất phủ nào cũng có thể được sử dụng trong sáng chế. Các thí nghiệm khác nhau của các tác giả sáng chế đã chứng minh rằng chất phủ hữu dụng trong sáng chế được lựa chọn thích hợp hơn từ nhóm bao gồm hồ dán, gelatin, chất làm đông agar, casein, natri anginat, chất gồm xanthan, chất gồm từ hạt giống cây mọc qua, hydroxit xenluloza, và natri cacboxit methyl xenluloza, và các kết hợp của chúng.

Như được đề cập ở trên, tác nhân phủ có thể ăn được đóng vai trò như là chất dinh dưỡng chất tạo ra các amino axit cho nấm men *Saccharomyces cerevisiae* được sử dụng trong bước lên men tiếp theo, do đó làm tăng độ chuẩn lên men. Kết quả là, saponin thô và các hợp chất ginsenosit được tăng cường cho sự hấp thụ của cơ thể, có sự gia tăng đồng thời về các hàm lượng của các thành phần có lợi.

Dung dịch phủ được điều chế bằng quá trình trộn tác nhân phủ có thể ăn được và nước. Thích hợp hơn là, tác nhân phủ có thể ăn được được sử dụng với lượng từ 100 đến 500g trên một lít của nước còn lại trong bể chưng bằng hơi nước.

Đối với bước chưng bằng hơi nước lần hai tiếp sau bước phủ, tiến trình của nó tương tự như được mô tả trong các phương pháp truyền thống, giống như bước chưng sơ bộ bằng hơi nước. Tuy nhiên, nó khác biệt lớn với các phương pháp truyền thống ở chỗ nó bao gồm quá trình chiếu xạ tia UV trong thời gian từ 7 đến 20 giờ sau quá trình chưng bằng hơi nước.

Tia UV là bức xạ điện từ không nhìn thấy có quang phổ chứa các sóng điện từ có các tần số cao hơn quang phổ nhìn thấy được chẳng hạn màu tím. Trong vùng phạm vi của tia UV là tia UVA có tần số từ 320 đến 400 nm tia UV-B có tần số từ 280 đến 320 nm, và tia UV-C có tần số từ 100 đến 280 nm. Bất kỳ tia UV nào cũng có thể được sử dụng trong sáng chế.

Thời gian chiếu xạ tia UV được xác định sau một số thí nghiệm khác nhau được tiến hành. Cần thiết ít nhất là 7 giờ để chiếu xạ tia UV để tăng các hàm lượng của saponin thô và các hợp chất ginsenosit. Các hàm lượng của saponin thô và tinh chất ginsenosit tăng lên nhờ thời gian chiếu xạ, tuy nhiên thời gian chiếu xạ vượt quá 20 giờ sẽ làm tăng vô nghĩa tốc độ tăng này, và gây cho quá trình sản xuất nói chung bị kéo dài quá mức.

Khi xét đến sự hình thành benzopyren và việc giảm bớt các thành phần có lợi, bước chưng bằng hơi nước lần hai thích hợp hơn là được thực hiện ở nhiệt độ trong khoảng nhiệt độ từ 88 đến 90°C, và thích hợp hơn là được lặp lại đến 8 vòng. Điều này là trùng khớp với tổng 9 vòng của quá trình chưng bằng hơi nước trong các phương pháp truyền thống.

Tiếp theo, bước chiết xuất sẽ được mô tả và giải thích.

Sau 9 vòng chưng bằng hơi nước, phương pháp sản xuất truyền thống thường được kết thúc bằng việc chiết xuất bởi nước nóng. Ngoài ra, khi bước lên men được triển khai, nó được thực hiện bởi men sau một trong số các vòng chưng bằng hơi nước bất kỳ, và việc chiết xuất bằng nước nóng là bước cuối cùng sau khi hoàn tất 9 vòng chưng bằng hơi nước. Ngược lại, phương pháp theo sáng chế được kết thúc bởi bước lên men tiếp sau bước xử lý enzym sau bước chưng bằng hơi nước lần hai và sự chiết xuất bằng nước nóng được thực hiện theo thứ tự đó.

So với các phương pháp truyền thống, phương pháp của sáng chế có hiệu quả lên men cao hơn bởi vì quá trình lên men không được thực hiện trên củ nhân sâm, mà là thực hiện trên chất chiết xuất. Quá trình chiết xuất nhờ nước nóng về cơ bản là tương tự như trong phương pháp truyền thống.

Trở lại bước xử lý enzym tiếp sau bước chiết xuất, nó được thực hiện bằng cách xử lý chất chiết xuất bằng nước nóng có α -amilaza và xenluloza ở nhiệt độ từ 25 đến 65°C trong thời gian từ 2 đến 7 giờ.

Nhiệt độ và các điều kiện thời gian được xác định sau các thí nghiệm khác nhau được tiến hành bởi các tác giả sáng chế. α -amilaza và xenluloza hiện có bán trên thị trường cũng có thể được sử dụng. Ví dụ, α -amilaza và xenluloza hiện có bán trên thị trường với nhãn hiệu FURGAMYL và VISCOZYME, tương ứng.

Thông qua xử lý enzym với α -amilaza và xenluloza tách 1,4-liên kết α và 1,4-liên kết β của tinh bột nhân sâm đen, phương pháp của sáng chế có được các ưu điểm đảm bảo sự tăng lên về độ chuẩn lên men và saponin thoát ra từ tinh bột để tăng sự hấp thụ của ruột tinh chất saponin.

Tiếp theo, bước lên men sẽ được mô tả và giải thích.

Với mục đích cải thiện sự hấp thụ của ruột các thành phần có lợi được tạo ra trong quá trình sản xuất nhân sâm đen và mục đích làm tăng hàm lượng của các thành

phần có lợi như saponin thô và các hợp chất ginsenosit, bước lên men được thực hiện bằng các chất chiết xuất được xử lý enzym ở nhiệt độ từ 20 đến 40°C trong khoảng thời gian từ 10 đến 48 giờ với sự tham gia của nấm men *Saccharomyces cerevisiae*.

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* được lựa chọn sau khi quá trình lên men được tiến hành với các chủng men khác nhau do kết quả tối ưu của nó. Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* có thể được sử dụng mà không có sự giới hạn. Trong sáng chế, sản phẩm FERMIVIN hiện có bán trên thị trường, xuất xứ từ Pháp, được sử dụng.

Trước bước lên men, củ nhân sâm được gia nhiệt đến từ 80 đến 95°C và được duy trì ở nhiệt độ này trong thời gian từ 3 đến 9 giờ để khử hoạt tính α -amilaza và xenluloza cũng như loại bỏ các vi sinh vật khác.

Thùng chứa được sử dụng làm bể lên men. Thùng chứa này được tiệt trùng bằng cồn, và được bịt kín bằng giấy oxi thấm qua được trên đó than hoạt tính từ gỗ cứng được bố trí để ngăn không cho các vi trùng và mùi thâm nhập vào thùng chứa. Sau đó, thùng chứa được đậy bằng vải sợi bông đã khử trùng được gấp nhiều lớp để duy trì nhiệt độ.

Các ví dụ được trình bày dưới đây nhằm mục đích để sáng chế có thể được hiểu một cách rõ ràng hơn; tuy nhiên, sáng chế sẽ không bị giới hạn trong các ví dụ này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sản xuất nhân sâm đen bằng phương pháp truyền thống:

Nhân sâm 5 năm tuổi được trồng ở Keumsan, Hàn Quốc, được mua và được rửa sạch qua trong nước để loại bỏ đất bám dính trên đó. Sau đó, nó được chưng sơ bộ bằng hơi nước ở 123°C trong thời gian 5 giờ dưới điều kiện áp suất trong nồi hơi. Tiếp theo, nhân sâm được chưng bằng hơi nước được sấy khô trong 12 giờ trong phòng sấy khô được duy trì ở 60°C.

Như được mô tả ở trên, 8 vòng các quá trình chưng bằng hơi nước và sấy khô còn được thực hiện theo cách tương tự để tạo ra nhân sâm đen, ngoại trừ việc nhân sâm được chưng bằng hơi nước ở nhiệt độ 82°C.

Sau tổng 9 vòng của các quá trình chưng bằng hơi nước và sấy khô, 20 g nhân sâm đen được nghiền nhỏ và được chưng bằng hơi nước trong 100 ml nước ở nhiệt độ phòng trong thời gian 5 giờ, được theo sau bởi 3 vòng chiết suất hồi lưu với 1 lít

metanol trong thời gian 3 giờ mỗi vòng.

Dung dịch chất chiết xuất được làm lạnh đến nhiệt độ phòng, được lọc, và được cô đặc ở áp suất được giảm bớt để loại bỏ metanol. Chất chiết xuất thu được như vậy được khuấy trong 200 ml nước và được bổ sung 200ml ete để loại bỏ các chất không phân cực.

Đối với lớp dung dịch còn thừa được bổ sung thêm 200ml butanola chứa nước bão hòa để chiết xuất các thành phần có lợi, tiếp theo là quá trình tách bỏ butanola dưới điều kiện chân không. Chất chiết xuất thành phẩm được sử dụng trong thí nghiệm sau đây.

Sản xuất nhân sâm đen theo phương pháp của sáng chế:

Nhân sâm 5 năm tuổi được trồng ở Keumsan, Hàn Quốc, được mua và được rửa sạch qua trong nước để loại bỏ đất bám dính trên đó. Sau đó, nó được chưng sơ bộ bằng hơi nước ở nhiệt độ 123°C trong thời gian 5 giờ dưới điều kiện áp suất trong nồi hơi. Tiếp theo, nhân sâm được chưng bằng hơi nước được sấy khô trong 12 giờ trong phòng sấy khô được duy trì ở 60°C.

Sau đó, nước được bổ sung thêm để nước còn lại trong nồi hơi cho đến khi có tổng thể tích là 1 lít, và được trộn với 300g gelatin. Hỗn hợp trộn này được gia nhiệt để hòa tan tốt tác nhân phủ có thể ăn được, trong quá trình khuấy, và sau đó được làm lạnh xuống khoảng 40°C. Nhân sâm được chưng sơ bộ bằng hơi nước được phủ hoàn toàn bằng tác nhân phủ có thể ăn được thông qua việc nhúng toàn bộ nhân sâm vào dung dịch phủ, và được làm khô qua. Quá trình nhúng và sấy khô này được lặp lại 4 lần.

Tiếp theo, nhân sâm được phủ được chưng bằng hơi nước ở nhiệt độ 82°C trong 9 giờ và được chiếu xạ bằng tia UV trong 14 giờ, và quá trình này được thực hiện lặp lại 8 lần.

Sau tổng 9 vòng của quá trình chưng bằng hơi nước lần hai, nhân sâm được nghiền nhỏ, được chiết xuất với 5 lít nước nóng 85°C trong 72 giờ, và được làm lạnh xuống 55°C, tiếp theo được xử lý enzym bằng 30 g của mỗi loại α -amilaza và xenluloza trong 3 giờ.

Sau đó, chất chiết xuất được gia nhiệt đến 85°C và được duy trì ở nhiệt độ này trong 6 giờ để khử hoạt tính các enzym, cùng với quá trình khử trùng đồng thời chất

chiết xuất.

Sau đó, chất chiết xuất được làm lạnh xuống 34°C, được lên men trong 24 giờ bằng nấm men *Saccharomyces cerevisiae*, được gia nhiệt đến 85°C và được duy trì ở nhiệt độ này trong 24 giờ để khử trùng.

Chất chiết xuất được sử dụng trong thí nghiệm sau đây.

Phân tích thành phần Saponin và hàm lượng Benzopyren:

Các chất chiết xuất nhân sâm đen thu được ở trên được phân tích về các thành phần saponin. Để làm được điều đó, các chất chiết xuất được hòa tan trong metanol và được lọc qua bộ lọc, và phần lọc ra được trải qua phân tích HPLC. Các kết quả được tổng hợp trong Bảng 1, dưới đây.

Bảng 1

	Saponin thô (mg/g)	Rb1 (mg/g)	Rb2 (mg/g)	Rc (mg/g)	Re (mg/g)	Rg1 (mg/g)	Rg3 (mg/g)	Rh1 (mg/g)	Benzo-pyren (ppb)
Truyền thống	38,72	0,16	0,11	0,69	0,96	0,45	0,66	0,26	3,75
Sáng chế	205,6	8,21	8,339	9,25	8,63	8,71	10,85	11,65	Không phát hiện được

Như được thể hiện trong Bảng 1, nhân sâm đen được sản xuất bằng phương pháp theo sáng chế chứa tinh chất saponin với hàm lượng lớn hơn rất nhiều, so với nhân sâm được sản xuất bằng phương pháp truyền thống.

Ngoài ra, benzopyren được phát hiện ở mức cao đến 3,75 ppb trong nhân sâm đen được sản xuất bằng phương pháp truyền thống, tuy nhiên không được phát hiện trong nhân sâm đen được sản xuất bằng phương pháp theo sáng chế.

Mặc dù các phương án thích hợp của sáng chế đã được bộc lộ trên đây nhằm mục đích minh họa, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng các sửa đổi, các bổ sung và các thay thế khác nhau có thể được thực hiện, mà không tách khỏi phạm vi của sáng chế mà được xác định bởi các điểm yêu cầu bảo hộ đi kèm.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp sản xuất nhân sâm đen, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

chung sơ bộ nhân sâm tươi được làm sạch bằng hơi nước trong khoảng nhiệt độ từ 70 đến 150°C trong thời gian từ 3 đến 10 giờ;

phủ toàn bộ nhân sâm bởi dung dịch phủ nhót, dung dịch phủ nói trên được điều chế bằng cách trộn tác nhân phủ có thể ăn được vào nước ở nhiệt độ cao;

chung bằng hơi nước lần hai nhân sâm được phủ trong khoảng nhiệt độ từ 70 đến 150°C trong thời gian từ 3 đến 10 giờ, tiếp theo chiếu xạ bằng tia UV trong thời gian từ 7 đến 20 giờ;

chiết xuất nhân sâm được chiếu xạ tia UV bằng nước được gia nhiệt đến từ 70 đến 100°C để tạo ra chất chiết xuất;

xử lý enzym chất chiết xuất bằng α -amilaza và xenluloza trong khoảng nhiệt độ từ 25 đến 65°C trong thời gian từ 2 đến 7 giờ; và

lên men chất chiết xuất được xử lý enzym trong khoảng nhiệt độ từ 20 đến 40°C trong thời gian từ 10 đến 48 giờ với sự tham gia của nấm men *Saccharomyces cerevisiae*.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó tác nhân phủ có thể ăn được được lựa chọn từ nhóm bao gồm hồ dán, gelatin, chất làm đông agar, casein, natri anginat, chất gồm xanthan, chất gồm từ hạt giống cây mọc qua, hydroxit xenluloza, và natri cacboxit metyl xenluloza.

3. Phương pháp theo điểm 1 hoặc 2, trong đó dung dịch phủ được điều chế từ 100 đến 500 g của tác nhân phủ có thể ăn được trên một lít nước.

4. Phương pháp theo điểm 1 hoặc 2, trong đó quá trình chung bằng hơi nước lần hai và chiếu xạ tia UV được thực hiện lặp lại hai hoặc tám lần.

5. Phương pháp theo điểm 1 hoặc 2, phương pháp này còn bao gồm quá trình gia nhiệt chất chiết xuất được xử lý enzym đến nhiệt độ từ 80 đến 95°C và quá trình duy trì nhiệt độ này trong thời gian từ 3 đến 9 giờ để khử hoạt tính α -amilaza và xenluloza, cùng với quá trình khử trùng đồng thời chất chiết xuất, giữa bước xử lý enzym và bước lên men.