



(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)



1-0025171

(51)⁷ C10L 1/02; C12N 1/12; C12P 7/64;
C11B 1/00

(13) B

(21) 1-2013-03949

(22) 13/07/2012

(86) PCT/US2012/046696 13/07/2012

(87) WO2013/010090 17/01/2013

(30) 61/507,390 13/07/2011 US

(45) 25/08/2020 389

(43) 26/05/2014 314A

(73) ALLTECH, INC. (US)

3031 Catnip Hill Pike, Nicholasville, Kentucky 40356, United States of America

(72) RANEY, Kyle, A. (US); TIMMONS, Rebecca, A. (US).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT SINH KHỐI TẢO

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất sinh khối tảo, chế phẩm chứa tảo có hàm lượng lipid cao, phương pháp sản xuất và sử dụng chúng. Cụ thể, sáng chế đề cập đến sinh khối tảo có hàm lượng lipid cao và nguyên liệu lipid của tảo có nguồn gốc từ sinh khối, quy trình sản xuất sinh khối tảo này, cũng như nhiên liệu sinh học (ví dụ, diesel sinh học) và chế phẩm dinh dưỡng (ví dụ, thức ăn cho động vật) chứa sinh khối tảo hoặc được tạo ra từ đó. Chế phẩm và phương pháp theo sáng chế được sử dụng trong nhiều ứng dụng bao gồm nhiên liệu sinh học, chế độ dinh dưỡng (ví dụ, dinh dưỡng cho người và động vật), trị liệu cũng như các ứng dụng dùng cho nghiên cứu.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa tảo có hàm lượng lipit cao, phương pháp sản xuất và sử dụng chúng. Cụ thể, sáng chế đề cập đến sinh khối tảo có hàm lượng lipit cao và nguyên liệu lipit của tảo có nguồn gốc từ sinh khối này, phương pháp sản xuất sinh khối này, cũng như đề cập đến nhiên liệu sinh học (ví dụ, diesel sinh học) và chế phẩm dinh dưỡng (ví dụ, thức ăn cho động vật) chứa sinh khối này hoặc được tạo ra từ đó. Chế phẩm và phương pháp theo sáng chế được sử dụng trong nhiều ứng dụng bao gồm nhiên liệu sinh học, chế độ dinh dưỡng (ví dụ, dinh dưỡng cho người và động vật), trị liệu cũng như các ứng dụng dùng cho nghiên cứu.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Trong một vài năm trước đây, việc sản xuất nhiên liệu sinh học (ví dụ, diesel sinh học) từ tảo là lĩnh vực được quan tâm. Điều này một phần là do đất nông nghiệp chất lượng cao không cần cho sự sinh trưởng của tảo (sinh khối tảo). Tuy nhiên, việc sản xuất thương mại của nhiên liệu sinh học (ví dụ, diesel sinh học) từ tảo vẫn còn có các thách thức.

Ngoài ra, trong năm mươi năm trước đây, các phương pháp hướng đến việc cung cấp dinh dưỡng cho động vật đã thay đổi. Các động vật không còn được cho ăn bất cứ thức ăn cho súc vật nào hoặc nguyên liệu khác mà có thể có sẵn. Thay vào đó, chế độ thức ăn của các động vật được theo dõi kỹ lưỡng về giá trị dinh dưỡng tổng và chi phí. Các động vật với chế độ thức ăn đặc trưng thường xuyên được kiểm tra về các đặc tính chất lượng và năng suất với các thành phần dinh dưỡng của thức ăn cho súc vật được điều chỉnh để tối đa hóa giá trị dinh dưỡng của thức ăn cho súc vật và tối ưu hóa đặc tính năng suất của động vật.

Tuy nhiên, giá thành là yếu tố quyết định. Do đó, vẫn có nhu cầu đối với các nguồn thức ăn cho động vật có hiệu quả kinh tế, không những duy trì các động vật, mà trong nhiều trường hợp còn tăng cường sự sinh trưởng và giá trị.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa tảo có hàm lượng lipit cao, phương pháp sản xuất và sử dụng chúng. Cụ thể, sáng chế đề cập đến sinh khối tảo có hàm lượng

lipit cao và nguyên liệu lipit của tảo có nguồn gốc từ sinh khối này, phương pháp sản xuất sinh khối này, cũng như đến nhiên liệu sinh học (ví dụ, diesel sinh học) và chế phẩm dinh dưỡng (ví dụ, thức ăn cho động vật) chứa sinh khối này hoặc được tạo ra từ đó. Chế phẩm và phương pháp theo sáng chế được sử dụng trong nhiều ứng dụng bao gồm nhiên liệu sinh học, chế độ dinh dưỡng (ví dụ, dinh dưỡng cho người và động vật), trị liệu cũng như các ứng dụng dùng cho nghiên cứu.

Do đó, sáng chế đề xuất quy trình sản xuất sinh khối tảo chứa hàm lượng chất béo cao, mong muốn (ví dụ, ít nhất 67% tổng lượng chất béo), trong đó quy trình này bao gồm bước nuôi cấy tảo trong các điều kiện nuôi cấy đủ để tạo ra sinh khối tảo chứa hàm lượng chất béo cao, mong muốn. Sáng chế đã xác định được các điều kiện nuôi cấy mà dưới các điều kiện này có thể thu được sinh khối tảo chứa tổng lượng chất béo mong muốn (ví dụ, ít nhất 67% tổng lượng chất béo). Sáng chế không bị giới hạn ở tổng hàm lượng chất béo (ví dụ, theo khối lượng) của sinh khối tảo được tạo thành theo sáng chế. Theo phương án ưu tiên, sinh khối tảo được tạo thành và/hoặc được sử dụng theo sáng chế chứa hàm lượng chất béo ít nhất 67% khối lượng. Tuy nhiên, sáng chế còn đề xuất chế phẩm và phương pháp tạo thành sinh khối tảo chứa nhiều hơn (ví dụ, nhiều hơn 68%, nhiều hơn 69%, nhiều hơn 70%, nhiều hơn 71%, nhiều hơn 72%, nhiều hơn 73%, nhiều hơn 74%, nhiều hơn 75%, nhiều hơn 76%, nhiều hơn 77%, nhiều hơn 78%, nhiều hơn 79%, nhiều hơn 80%, nhiều hơn 81%, nhiều hơn 82%, nhiều hơn 85%, hoặc nhiều hơn) hoặc nhỏ hơn (ví dụ, khoảng 66%, khoảng 65%, khoảng 64%, khoảng 63%, khoảng 62%, khoảng 61%, khoảng 60%, khoảng 59%, khoảng 58%, khoảng 57%, khoảng 56%, khoảng 55%, khoảng 54%, hoặc nhỏ hơn) tổng lượng chất béo. Cụ thể, phương pháp và chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng để tạo ra sinh khối tảo chứa mức mong muốn bất kỳ của tổng hàm lượng chất béo. Theo một số phương án, sinh khối tảo được nuôi cấy trong hai hoặc nhiều loại môi trường nuôi cấy theo cách liên tục. Ví dụ, theo một số phương án, một môi trường nuôi cấy trong số hai hoặc nhiều môi trường nuôi cấy chứa 50g/l nguồn cacbon, khoảng 7,5g/l chiết xuất nấm men, khoảng 0,15g/l magie sulfat, khoảng 0,15g/l canxi clorua và 0,15g/l magie clorua. Sáng chế không bị giới hạn bởi nguồn cacbon. Thực vậy, nhiều nguồn cacbon có thể được sử dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các hydrat cacbon như glucoza, fructoza, xyloza, sacaroza, maltoza hoặc tinh bột hòa tan cũng như axit oleic, các chất béo như dầu đậu tương, ri đường,

glyxerol, manitol và natri axetat, bột hạt bông, glyxerol, ri đường và dịch ngâm ngô. Theo một số phương án, một môi trường nuôi cấy khác trong số hai hoặc nhiều môi trường nuôi cấy chứa 50g/l nguồn cacbon, khoảng 7,5g/l chiết xuất nấm men, khoảng 4,0g/l magie sulfat, khoảng 1g/l ure, khoảng 2g/l canxi clorua, khoảng 2g/l magie clorua và khoảng 0,25g/l monokali phosphat. Theo một số phương án, môi trường nuôi cấy trong số hai hoặc nhiều môi trường nuôi cấy chứa nguồn cacbon, chiết xuất nấm men và muối biển. Theo một số phương án, và như được mô tả trong bản mô tả này, tảo được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy thứ nhất (ví dụ, chứa glucoza, chiết xuất nấm men và muối biển); được chuyển vào và được ủ trong môi trường nuôi cấy thứ hai (ví dụ, chứa glucoza, chiết xuất nấm men, magie sulfat, canxi clorua và magie clorua); và được chuyển vào và được ủ trong môi trường nuôi cấy thứ ba (ví dụ, chứa glucoza, chiết xuất nấm men, magie sulfat, ure, canxi clorua, magie clorua và monokali phosphat). Theo một số phương án, một trong số các môi trường nuôi cấy được bổ sung thức ăn để nuôi cấy mẹ có cung cấp dinh dưỡng. Theo phương án ưu tiên, môi trường nuôi cấy thứ ba được bổ sung thức ăn để nuôi cấy mẹ có cung cấp dinh dưỡng. Sáng chế không bị giới hạn bởi loại, hoặc thời gian, của thức ăn để nuôi cấy mẹ có cung cấp dinh dưỡng được sử dụng. Theo một số phương án, thức ăn để nuôi cấy mẹ có cung cấp dinh dưỡng chứa ure và monokali phosphat. Sáng chế không bị giới hạn bởi lượng và/hoặc tỷ lệ của các thành phần môi trường được sử dụng trong các môi trường nuôi cấy. Ví dụ mà có thể được sử dụng làm các thành phần của một trong số các môi trường khác nhau (ví dụ, môi trường nuôi cấy thứ nhất, môi trường nuôi cấy thứ hai, môi trường theo mẹ và môi trường theo mẹ có cung cấp dinh dưỡng) được mô tả chi tiết trong bản mô tả này. Theo một số phương án, sinh khối tảo được thu hoạch từ môi trường nuôi cấy (ví dụ, từ môi trường nuôi cấy thứ ba) trong 12-24 giờ sau khi ngừng quy trình nuôi cấy theo mẹ có cung cấp dinh dưỡng. Theo một số phương án, sinh khối tảo được thu hoạch từ môi trường nuôi cấy thứ ba sau khi tất cả các dưỡng chất đã được loại bỏ/tiêu thụ từ môi trường. Sáng chế không bị giới hạn bởi cách trong đó sinh khối tảo được thu hoạch. Thực vậy, nhiều cách có thể được sử dụng để thu hoạch sinh khối bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, sinh khối tảo được thu hoạch bằng cách ly tâm. Theo một số phương án, môi trường nuôi cấy chứa sinh khối tảo được làm lạnh trước khi thu hoạch sinh khối tảo. Sáng chế không bị giới hạn bởi nhiệt độ mà môi

trường nuôi cấy chứa sinh khối tảo được làm lạnh trước khi thu hoạch. Thực vậy, nhiệt độ khác nhau có thể được sử dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các nhiệt độ được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, môi trường nuôi cấy chứa sinh khối tảo được làm lạnh xuống nhiệt độ nằm trong khoảng từ 5 đến 25°C. Sáng chế không bị giới hạn bởi loại tảo được sử dụng trong sáng chế. Thực vậy, các loại tảo khác nhau có thể được sử dụng (ví dụ, một cách riêng rẽ hoặc trong hỗn hợp) bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các loại tảo được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, tảo là chủng hoặc loài từ giống *Chlorella*, giống *Schizochytrium* hoặc giống *Cryptocodinium*. Theo phương án ưu tiên, tảo là *Schizochytrium limacinum*. Theo một số phương án, môi trường nuôi cấy thứ nhất chứa khoảng 50g/l glucoza, khoảng 10g/l chiết xuất nấm men và khoảng 4g/l muối biển. Theo một số phương án, môi trường nuôi cấy thứ hai chứa khoảng 50g/l glucoza, khoảng 7,5g/l chiết xuất nấm men, khoảng 0,15g/l magie sulfat, khoảng 0,15g/l canxi clorua và 0,15g/l magie clorua. Theo một số phương án, môi trường nuôi cấy thứ ba chứa khoảng 50g/l glucoza, khoảng 7,5g/l chiết xuất nấm men, khoảng 4,0g/l magie sulfat, khoảng 1g/l ure, khoảng 2g/l canxi clorua, khoảng 2g/l magie clorua và khoảng 0,25g/l monokali phosphat. Theo một số phương án, các điều kiện nuôi cấy bao gồm việc thực hiện nuôi cấy tảo ở nhiệt độ 30°C trong dòng khí và các điều kiện khuấy để duy trì mức oxy hòa tan ở khoảng 10%. Theo một số phương án, môi trường nuôi cấy thứ ba (ví dụ, môi trường nuôi cấy có mặt tại thời điểm nuôi cấy của bình lên men chính (ví dụ, bình dung tích 70.000l, 120.000l, 256.000l) chứa môi trường với tỷ lệ ban đầu của nitơ (N):phospho (P):kali (K) bằng 46:13:8,5. Theo phương án ưu tiên, tỷ lệ N:P:K là giống nhau trong các cách thức nuôi cấy theo mẻ và nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng. Theo một số phương án, tỷ lệ của magie (Mg):canxi (Ca) là 3:1 trong môi trường nuôi cấy được sử dụng theo cả cách thức theo mẻ và theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng, mặc dù có thể sử dụng các tỷ lệ cao hơn (ví dụ, 4:1, 4,5:1, hoặc lớn hơn) và thấp hơn (ví dụ 2,5:1, 2:1, 1,5:1, hoặc thấp hơn). Theo phương án khác, tỷ lệ của clorua (Cl₂):sulfat (SO₄) bằng 1:1 được sử dụng trong môi trường nuôi cấy được sử dụng theo cả cách thức theo mẻ và mẻ có cung cấp dinh dưỡng, mặc dù có thể sử dụng các tỷ lệ cao hơn (ví dụ, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1 hoặc lớn hơn) và thấp hơn (ví dụ, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 hoặc thấp hơn). Theo một số phương án, tỷ lệ của sulfat (SO₄):phosphat (PO₄) trong môi trường tại thời điểm nuôi cấy của bình lên men chính (ví dụ, bình dung tích

70.000l, 120.000l, 256.000l) là 16:1, mặc dù có thể sử dụng các tỷ lệ cao hơn (ví dụ, 20:1, 25:1, 30:1, 32:1 hoặc lớn hơn) và thấp hơn (ví dụ, 10:1, 8:1, 5:1, 3:1 hoặc thấp hơn). Theo một số phương án, tổng tỷ lệ của sulfat (SO_4):phosphat (PO_4) mà có thể được sử dụng theo mẻ và được sử dụng vào cuối quá trình nuôi cấy hoàn toàn (ví dụ, bao gồm nguyên liệu nuôi cấy, giai đoạn nhân giống thứ nhất, giai đoạn nhân giống thứ hai và quá trình nuôi cấy của bình lên men chính) mà tạo ra sinh khối tảo chứa hàm lượng chất béo mong muốn (ví dụ, nhiều hơn 67% chất béo) là 5,3:1, mặc dù có thể sử dụng các tỷ lệ cao hơn (ví dụ, 5,5:1, 5,7:1, 6:1, 7:1, 8:1 hoặc cao hơn) và thấp hơn (ví dụ 5:1, 4,5:1, 4:1, 3:1, hoặc thấp hơn). Theo một số phương án, tỷ lệ của clorua (Cl_2):phosphat (PO_4) trong môi trường tại thời điểm nuôi cấy của bình lên men chính (ví dụ, bình dung tích 70.000l, 120.000l, 256.000l) là 16:1, mặc dù có thể sử dụng các tỷ lệ cao hơn (ví dụ, 20:1, 25:1, 30:1, 32:1 hoặc lớn hơn) và thấp hơn (ví dụ, 10:1, 8:1, 5:1, 3:1 hoặc thấp hơn). Theo một số phương án, tổng tỷ lệ của clorua (Cl_2):phosphat (PO_4) mà có thể được sử dụng theo mẻ và được sử dụng vào cuối quá trình nuôi cấy hoàn toàn (ví dụ, bao gồm nguyên liệu nuôi cấy, giai đoạn nhân giống thứ nhất, giai đoạn nhân giống thứ hai và quá trình nuôi cấy của bình lên men chính) mà tạo ra sinh khối tảo chứa hàm lượng chất béo mong muốn (ví dụ, nhiều hơn 67% chất béo) là 5,3:1, mặc dù có thể sử dụng các tỷ lệ cao hơn (ví dụ, 5,5:1, 5,7:1, 6:1, 7:1, 8:1 hoặc cao hơn) và thấp hơn (ví dụ 5:1, 4,5:1, 4:1, 3:1 hoặc thấp hơn).

Sáng chế còn đề xuất sinh khối tảo có hàm lượng chất béo cao, mong muốn (ví dụ, tổng hàm lượng chất béo ít nhất 67% khối lượng). Theo một số phương án, sinh khối chứa khoảng 170-250mg/g axit docosahexaenoic (DHA) và/hoặc khoảng 150-400mg/g axit palmitic. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm lipid, sản phẩm thực phẩm hoặc nguyên liệu khác chứa sinh khối tảo (ví dụ, sinh khối tảo được làm khô) hoặc thành phần của chúng (ví dụ, thành phần axit béo của chúng). Theo một số phương án, sinh khối tảo (ví dụ, sinh khối tảo được làm khô (ví dụ, được tạo thành theo phương pháp được mô tả trong bản mô tả này)) chứa lượng mong muốn của tổng lượng chất béo và/hoặc các thành phần khác (ví dụ, lớn hơn khoảng 68% tổng lượng chất béo, lớn hơn khoảng 69% tổng lượng chất béo, lớn hơn khoảng 70% tổng lượng chất béo, lớn hơn khoảng 71% tổng lượng chất béo, lớn hơn khoảng 72% tổng lượng chất béo, lớn hơn khoảng 73% tổng lượng chất béo, lớn hơn khoảng 74% tổng lượng chất béo, lớn hơn khoảng 75% tổng lượng chất béo, lớn hơn khoảng 76% tổng lượng

chất béo, lớn hơn khoảng 77% tổng lượng chất béo hoặc lớn hơn khoảng 78% tổng lượng chất béo). Theo một số phương án, sinh khối tảo theo sáng chế (ví dụ, chứa nhiều hơn 67% tổng lượng chất béo) được làm khô sao cho sinh khối chứa độ ẩm nhỏ hơn 5% (ví dụ, độ ẩm nhỏ hơn 4,5%, độ ẩm nhỏ hơn 4%, độ ẩm nhỏ hơn 3,5%, độ ẩm nhỏ hơn 3%, độ ẩm nhỏ hơn 2,5%, độ ẩm nhỏ hơn 2% hoặc độ ẩm nhỏ hơn 1,5%). Theo một số phương án, sinh khối tảo theo sáng chế (ví dụ, sinh khối được làm khô chứa độ ẩm nhỏ hơn 5%) chứa khoảng 170-250mg/g axit docosahexaenoic (DHA) hoặc lớn hơn (ví dụ, khoảng 170-180mg/g DHA, khoảng 180-190mg/g DHA, khoảng 190-200mg/g DHA, khoảng 200-210mg/g DHA, khoảng 210-220mg/g DHA, khoảng 220-230mg/g DHA, khoảng 230-240mg/g DHA, khoảng 240-250mg/g DHA hoặc lớn hơn 250mg/g DHA). Theo một số phương án, sinh khối tảo theo sáng chế (ví dụ, sinh khối được làm khô chứa độ ẩm nhỏ hơn 5%) chứa khoảng 150-400mg/g axit palmitic hoặc lớn hơn (tên IUPAC: axit hexadecanoic (ví dụ, khoảng 150-200mg/g, khoảng 200-225mg/g, khoảng 225-250mg/g, khoảng 250-275mg/g, khoảng 275-300mg/g, khoảng 300-325mg/g, khoảng 325-350mg/g, khoảng 350-375mg/g, khoảng 375-400mg/g hoặc lớn hơn 400mg/g). Theo một số phương án, sinh khối tảo theo sáng chế (ví dụ, sinh khối được làm khô chứa độ ẩm nhỏ hơn 5%) chứa khoảng 300-600mg/g tổng lượng axit béo hoặc lớn hơn (ví dụ, khoảng 300-350mg/g, khoảng 350-400mg/g, khoảng 400-450mg/g, khoảng 450-500mg/g, khoảng 500-550mg/g, khoảng 550-600mg/g hoặc lớn hơn 600mg/g axit béo). Theo một số phương án, sinh khối tảo theo sáng chế (ví dụ, sinh khối được làm khô chứa độ ẩm nhỏ hơn 5%) chứa nhỏ hơn khoảng 15% protein (ví dụ, nhỏ hơn khoảng 14% protein, nhỏ hơn khoảng 13% protein, nhỏ hơn khoảng 12% protein, nhỏ hơn khoảng 11% protein, nhỏ hơn khoảng 10% protein, nhỏ hơn khoảng 9% protein, hoặc nhỏ hơn khoảng 8% protein). Theo một số phương án, sinh khối tảo hoặc thành phần của chúng theo sáng chế được sử dụng để điều chế nhiên liệu sinh học (ví dụ, diesel sinh học). Theo một số phương án, sinh khối tảo hoặc thành phần của chúng theo sáng chế được sử dụng để điều chế sản phẩm thực phẩm (ví dụ, thức ăn động vật hoặc thành phần thức ăn).

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 mô tả số liệu được tạo thành trong quá trình sản xuất sinh khối tảo dị dưỡng, quy mô lớn theo các khía cạnh của sáng chế.

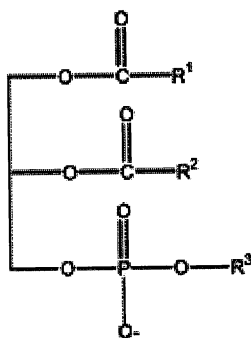
Fig.2 thể hiện profin axit béo của sinh khối tảo được thu hoạch từ một vài môi trường nuôi cấy tảo quy mô lớn, độc lập.

Fig.3 thể hiện profin axit béo hỗn hợp của sinh khối đã được thu hoạch sử dụng nguyên liệu và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các định nghĩa

Trong bản mô tả này, "phospholipit" chỉ hợp chất hữu cơ có cấu trúc chung sau:



trong đó R1 là gốc axit béo, R2 là gốc axit béo hoặc -OH, và R3 là -H hoặc hợp chất chứa nitơ cholin ($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{OH}^-$), etanolamin ($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), inositol hoặc serin. R1 và R2 không thể đồng thời là OH. Nếu R3 là -OH, thì hợp chất là diacylglycerophosphat, trong khi nếu R3 là hợp chất chứa nitơ, thì hợp chất là phosphatit như lexitin, xephalin, phosphatidyl serin hoặc plasmalogen.

"Ete phospholipit" trong bản mô tả này chỉ phospholipit có liên kết ete ở vị trí 1 của mạch chính glyxerol. Ví dụ về ete phospholipit bao gồm, nhưng không giới hạn ở, alkylaxylphosphatidylcholin (AAPC), lyso-alkylaxylphosphatidylcholin (LAAPC), và alkylaxylphosphatidyletanolamin (AAPE). "Phospholipit không ete" là phospholipit mà không có liên kết ete ở vị trí 1 của mạch chính glyxerol.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "axit béo omega-3" chỉ axit béo chưa no nhiều lần có liên kết đôi cuối cùng trong mạch hydrocacbon giữa nguyên tử cacbon thứ ba và thứ tư từ đầu methyl của phân tử. Ví dụ về axit béo omega-3 bao gồm, nhưng không giới hạn ở, axit 5,8,11,14,17-eicosapentaenoic (EPA), axit 4,7,10,13,16,19-docosahexanoic (DHA) và axit 7,10,13,16,19-docosapentanoic (DPA).

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "triaxylglyxerit", "triglyxerit" và "triaxylglyxerol" và "TAG" chỉ este được tạo ra từ glyxerol và ba axit béo, trong đó

"axit béo" chỉ axit carboxylic với đuôi (mạch) béo không phân nhánh dài, no hoặc không no. Axit palmitic là một ví dụ về triaxylglyxerit, tuy nhiên sáng chế không bị giới hạn ở axit này.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "% khối lượng (khối lượng/khối lượng)" và "% khối lượng/khối lượng" và các thuật ngữ tương đương về mặt ngữ pháp chỉ lượng (phần trăm) của chất cụ thể trong chế phẩm trên cơ sở khối lượng:khối lượng. Ví dụ, chế phẩm chứa 50% khối lượng phospholipit nghĩa là khối lượng của phospholipit là 50% của tổng khối lượng của chế phẩm (tức là, 50 gam phospholipit trong 100 gam chế phẩm, như dầu).

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "tảo" chỉ sinh vật đơn bào hoặc đa bào trước đây được phân loại là thực vật, có mặt trong nước ngọt hoặc nước biển, tự dưỡng hoặc dị dưỡng, nhưng không có thân, rễ, và lá thực. Trong bản mô tả này, thuật ngữ "dị dưỡng" chỉ sinh vật mà không thể tổng hợp thức ăn của chính nó và phụ thuộc vào các chất hữu cơ (ví dụ, phức chất và/hoặc các chất hữu cơ đơn giản) để dinh dưỡng. Do vậy, thuật ngữ "tảo dị dưỡng" chỉ tảo mà không thể tổng hợp thức ăn của chính nó và phụ thuộc vào các chất hữu cơ để dinh dưỡng. Trong bản mô tả này, thuật ngữ "tự dưỡng" chỉ cơ thể có khả năng tổng hợp thức ăn của chính nó từ các chất vô cơ, sử dụng năng lượng ánh sáng hoặc hóa học. Thuật ngữ "tảo" còn được dùng để đề cập đến vi tảo và do đó bao gồm nghĩa "vi tảo". Thuật ngữ "chế phẩm tảo" chỉ hỗn hợp thành phần bất kỳ mà chứa tảo, như hỗn hợp thành phần chứa nước, và không giới hạn ở thể nước hoặc môi trường nuôi cấy, trong đó tảo được trồng. Chế phẩm tảo có thể là môi trường nuôi cấy tảo, sinh khối tảo, môi trường nuôi cấy tảo được cô, hoặc khối tảo được loại nước, và có thể ở dạng lỏng, bán rắn, hoặc rắn. Chế phẩm tảo không phải dạng lỏng có thể được mô tả liên quan đến mức hơi ẩm hoặc phần trăm khối lượng của các chất rắn. "Môi trường nuôi cấy tảo" là chế phẩm tảo mà chứa tảo sống. Thuật ngữ "tảo" bao gồm tảo lớn (thường được gọi là tảo biển) và vi tảo.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "sinh khối tảo" hoặc "sinh khối" chỉ sự thu gom hoặc khối của các tế bào tảo được sinh trưởng trong vùng hoặc hệ sinh thái cụ thể tại thời điểm cụ thể. Vùng hoặc hệ sinh thái này có thể là môi trường có trong tự nhiên (ví dụ, thể nước) hoặc môi trường tổng hợp (ví dụ, trong bình bên men hoặc thiết bị phản ứng sinh học (ví dụ, mở hoặc kín)).

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "tổng lượng chất béo" chỉ tổng của các triglyxerit, phospholipit, sáp este, và sterol có mặt trong nguyên liệu. Ví dụ, hàm lượng "tổng lượng chất béo" của sinh khối tảo chỉ tổng của các triglyxerit, phospholipit, sáp este, và sterol có mặt trong sinh khối. Ngoài ra, tổng lượng chất béo bao gồm cả chất béo no và không no.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "chất bảo quản" chỉ chất mà kéo dài thời gian bảo quản của sản phẩm thực phẩm hoặc không phải thực phẩm bằng cách làm chậm hoặc ngăn ngừa sự thoái biến hương vị, mùi, màu sắc, kết cấu, vẻ bề ngoài, giá trị dinh dưỡng, hoặc độ an toàn. Chất bảo quản cần không tạo ra tác động độc hại, không thể đảo ngược dẫn đến sự thoái biến hoặc làm mất khả năng một phần hoặc hoàn toàn của tế bào vi khuẩn. Chất gây vô sinh, chất khử trùng, chất tẩy uế, thuốc diệt bào tử, thuốc diệt virus và chất diệt trực khuẩn lao tạo ra cách thức tác động không thể đảo ngược như vậy, đôi khi được gọi là tác dụng "diệt vi khuẩn". Trái lại, chất bảo quản có thể tạo ra tác dụng ức chế hoặc kìm hãm vi khuẩn mà có thể đảo ngược, ở chỗ các vi khuẩn đích có thể hồi phục lại theo cấp số nhân nếu chất bảo quản được loại bỏ. Sự khác biệt chủ yếu giữa chất bảo quản và chất khử trùng chủ yếu liên quan đến cách thức tác động (chất bảo quản ngăn ngừa sự sinh trưởng chứ không tiêu diệt vi sinh vật) và thời gian tiếp xúc (chất bảo quản có thời gian tác động từ nhiều ngày đến nhiều tháng, trong khi đó chất khử trùng có tối đa một vài phút để tác động).

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "nấm men" và "tế bào nấm men" chỉ vi sinh vật có nhân điển hình được phân loại trong giới Nấm, có thành tế bào, màng tế bào và các thành phần nội bào. Nấm men không tạo thành nhóm phân loại hoặc phát sinh loài đặc trưng. Hiện nay, khoảng 1500 loài là đã biết; ước tính rằng chỉ 1% trong số tất cả các loài nấm men đã được mô tả. Thuật ngữ "nấm men" thường được hiểu là từ đồng nghĩa với *S. cerevisiae*, nhưng tính đa dạng phát sinh loài của nấm men được thể hiện bởi vị trí của chúng trong cả hai ngành Ascomycota và Basidiomycota. Nấm men nảy chồi ("nấm men thực") được phân loại thuộc bộ *Saccharomycetales*. Hầu hết các loài nấm men sinh sản vô tính bằng cách nảy chồi, mặc dù một số sinh sản bằng sự sinh sản phân đôi nhị nguyên. Nấm men là đơn bào, mặc dù một số loài trở thành đa bào thông qua sự tạo thành chuỗi được nối các tế bào nảy chồi đã biết là *pseudohyphae*, hoặc *false hyphae*. Kích thước nấm men có thể thay đổi nhiều tùy thuộc vào loài,

thông thường đường kính xác định là 3-4 μm , mặc dù một số nấm men có thể đạt đến hơn 40 μm .

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "nấm men được làm giàu selen" và "nấm men được selen hóa" chỉ nấm men bất kỳ (ví dụ, *Saccharomyces cerevisiae*) mà được nuôi cấy trong môi trường chứa các muối selen vô cơ. Sáng chế không bị giới hạn bởi muối selen được sử dụng. Thực vậy, nhiều muối selen được xem là hữu dụng trong sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, natri selenit, natri selenat, coban selenit hoặc coban selenat. Selenomethionin tự do (ví dụ, không có liên quan đến tế bào hoặc nấm men) cũng có thể được dùng làm nguồn selen cho nấm men được làm giàu selen vì nấm men kết hợp dạng selen này. Trong quá trình nuôi cấy, vì tính tương đồng hóa học giữa selen và lưu huỳnh, nấm men kết hợp selen thay vì lưu huỳnh trong những hợp chất mà thường là hợp chất hữu cơ chứa lưu huỳnh trong tế bào. Hợp chất chứa selen trong chế phẩm nấm men này là selenomethionin mà sẽ có mặt ở dạng được kết hợp vào trong polypeptit/protein. Lượng selen tổng cộng trong tế bào có mặt ở dạng selenomethionin trong chế phẩm này sẽ thay đổi, nhưng có thể nằm trong khoảng từ 10 đến 100%, 20-60%, 50-75% và từ 60 đến 75%. Phần còn lại của selen hữu cơ trong chế phẩm nấm men được selen hóa chủ yếu được tạo nên bởi các hợp chất trung gian trong con đường sinh tổng hợp selenomethionin. Các hợp chất này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, selenoxystein, selenoxystathionin, selenohomoxystein và seleno-adenosylselenomethionin. Lượng muối selen vô cơ còn lại trong thành phẩm thường khá thấp (< 2%). Tuy nhiên, sáng chế không bị giới hạn bởi tỷ lệ phần trăm này, vì chế phẩm chứa nhiều hơn (ví dụ, từ 2 đến 70%) hoặc nhỏ hơn (ví dụ, từ 0,1 đến 2%) so với tỷ lệ phần trăm này cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "SEL-PLEX" chỉ nấm men được làm giàu selen được làm khô, không sống (ví dụ, *Saccharomyces cerevisiae* có mã số nhận biết đặc hiệu CNCM I-3060, Collection Nationale De Cultures De Microorganismes (CNCM), Institut Pasteur, Paris, France) được nuôi cấy trong quá trình lên men mà có cung cấp dinh dưỡng mà tạo ra lượng gia tăng của ri đường mía và các muối selen theo cách làm giảm đến mức tối thiểu các tác động bất lợi của các muối selen đến tốc độ sinh trưởng của nấm men và cho phép kết hợp tối ưu selen vô cơ vào nguyên liệu hữu cơ của tế bào. Selen vô cơ còn lại được loại bỏ (ví dụ, bằng cách sử dụng quy trình rửa mạnh) và không vượt quá 2% của hàm lượng selen tổng.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "selen hữu cơ" chỉ hợp chất hữu cơ bất kỳ trong đó selen thay thế lưu huỳnh. Do vậy, selen hữu cơ có thể chỉ hợp chất bất kỳ này được sinh tổng hợp bởi nấm men, hoặc nó có thể chỉ hợp chất seleno hữu cơ tự do được tổng hợp theo cách hóa học. Ví dụ về hợp chất seleno hữu cơ tự do được tổng hợp theo cách hóa học là selenometionin tự do.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "selen vô cơ" nhìn chung chỉ muối selen bất kỳ (ví dụ, natri selenit, natri selenat, coban selenit và coban selenat). Cũng có nhiều nguồn selen vô cơ khác (Xem, ví dụ, các nguồn được liệt kê trong bảng chú dẫn Merck).

Nấm men được selen hóa có thể được tạo thành bằng cách sử dụng nguồn selen vô cơ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, natri selenit, natri selenat, coban selenit, coban selenat, axit selenic, axit selenơ, selen bromua, selen clorua, selen hexaflorua, selen oxit, selen oxybromua, selen oxycolorua, selen oxyflorua, selen sulfua, selen tetrabromua, selen tetracolorua và selen tetraflorua.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "thành tế bào nấm men" còn được gọi là "YCW" chỉ thành tế bào của sinh vật nấm men mà bao quanh màng huyết tương và các thành phần nội bào của nấm men. Thành tế bào nấm men bao gồm cả lớp ngoài (chủ yếu là mannan) và lớp trong (chủ yếu là glucan và chitin) của thành tế bào nấm men. Chức năng của thành tế bào là tạo ra cấu trúc và bảo vệ bào chất có hoạt tính trao đổi chất. Các con đường truyền tín hiệu và nhận biết xảy ra trong thành tế bào nấm men. Hợp phần của thành tế bào nấm men thay đổi theo chủng và theo các điều kiện sinh trưởng của nấm men.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "được tinh chế" hoặc "tinh chế" chỉ việc loại bỏ các hợp phần ra khỏi mẫu. Ví dụ, thành tế bào nấm men hoặc các phần chiết thành tế bào nấm men được tinh chế bằng việc loại bỏ các thành phần không phải thành tế bào nấm men (ví dụ, màng huyết tương và/hoặc các thành phần nội bào nấm men); chúng cũng được tinh chế bằng cách loại bỏ các chất nhiễm tạp hoặc các chất khác không phải là thành tế bào nấm men. Việc loại bỏ các thành phần không phải thành tế bào nấm men và/hoặc các chất nhiễm tạp không phải thành tế bào nấm men làm tăng tỷ lệ phần trăm của thành tế bào nấm men hoặc các thành phần của chúng trong mẫu.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "*in vivo*" chỉ các nghiên cứu và/hoặc các thử nghiệm được tiến hành trong cơ thể sống, xảy ra trong cơ thể sinh học.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "*in vitro*" chỉ môi trường nhân tạo bên ngoài cơ thể sống và các quy trình hoặc phản ứng sinh học mà sẽ thường xảy ra trong cơ thể nhưng được làm cho xảy ra trong môi trường nhân tạo. Các môi trường *in vitro* có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ống nghiệm và môi trường nuôi cấy tế bào.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "sắc ký lỏng hiệu năng cao" và thuật ngữ "HPLC" chỉ dạng sắc ký lỏng để tách các hợp chất. Các hợp chất được hòa tan trong dung dịch. Hợp chất được tách bằng cách phun đầu vòi mẫu hỗn hợp lên trên cột. Thiết bị HPLC bao gồm ống chứa pha động, bơm, thiết bị phun, cột phân tách, và bộ dò. Sự có mặt của các chất phân tích trong dòng chảy cột được ghi lại bằng cách phát hiện định lượng sự thay đổi trong chỉ số khúc xạ, mức độ hấp thụ UV-VIS ở bước sóng đã được thiết lập, sự phát huỳnh quang sau khi kích thích với bước sóng thích hợp, hoặc đáp ứng điện hóa.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "kính hiển vi quét điện tử" và thuật ngữ "SEM" chỉ việc sử dụng loại kính hiển vi điện tử mà chụp ảnh bề mặt mẫu bằng cách quét nó với chùm năng lượng cao của các electron trong mẫu quét của trường quét. Các điện tử tương tác với nguyên tử cấu thành mẫu, tạo ra các tín hiệu chứa thông tin về sự định vị bề mặt của mẫu, hợp phần và các tính chất khác như độ dẫn điện.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "chất cố định" chỉ hóa chất mà có khả năng cố định một chất với chất khác để "cố định", làm ổn định, hoặc theo cách khác bảo quản chất ở dạng hiện tại của nó để ngăn cho chất không phân rã hoặc theo cách khác thay đổi. Thông thường, chất cố định được sử dụng trong kính hiển vi quét điện tử (SEM) để điều chế mẫu. Chất cố định bậc một: Trong bản mô tả này, thuật ngữ "chất cố định bậc một" chỉ chất cố định thứ nhất được sử dụng để "cố định" chất. Chất cố định bậc hai: Trong bản mô tả này, thuật ngữ "chất cố định bậc hai" chỉ chất cố định thứ hai được sử dụng để "cố định" chất. Chất cố định bậc ba: Trong bản mô tả này, thuật ngữ "chất cố định bậc ba" chỉ chất cố định thứ ba được sử dụng để "cố định" chất.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "chất phân tích" chỉ nguyên tử, phân tử, nhóm nguyên tử và/hoặc phân tử, chất, hoặc thành phần hóa học. Chất phân tích, tự nó và chính nó không thể được xác định; đúng hơn là, các khía cạnh hoặc các tính chất (vật

lý, hóa học, sinh học, v.v.) của chất phân tích có thể được xác định bằng cách sử dụng quy trình phân tích, như HPLC. Ví dụ, không thể xác định "ghế" (chất phân tích-thành phần) tự nó và chính nó, nhưng, chiều cao, chiều dày, v.v. của ghế có thể được xác định. Tương tự, không thể xác định độc tố nấm nhưng có thể xác định được sự phát huỳnh quang của độc tố nấm mà có liên quan đến nồng độ của nó.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "tín hiệu" được sử dụng nhìn chung liên quan đến quy trình bất kỳ có thể phát hiện được mà chỉ ra rằng phản ứng đã xảy ra (ví dụ, sự liên kết kháng thể với kháng nguyên). Tín hiệu có thể được đánh giá định tính cũng như định lượng. Ví dụ về loại "tín hiệu" bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tín hiệu phóng xạ, tín hiệu của phép xác định hàm lượng flo hoặc tín hiệu chất phản ứng/sản phẩm so màu.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "độ sinh khả dụng" chỉ phân đoạn của phân tử hoặc thành phần mà có sẵn với cơ thể hoặc đạt đến hệ tuần hoàn toàn thân. Khi phân tử hoặc thành phần được sử dụng trong tĩnh mạch, độ sinh khả dụng của nó là 100%. Tuy nhiên, khi phân tử hoặc thành phần được sử dụng thông qua các con đường khác (như qua đường miệng), độ sinh khả dụng của nó giảm (do mức độ hấp thu không đầy đủ và chuyển hóa lần đầu qua gan). Trong mô hình dinh dưỡng, độ sinh khả dụng chỉ tốc độ hấp thu và sử dụng dưỡng chất. Các dạng khác nhau của cùng dưỡng chất, chẳng hạn, có thể có độ sinh khả dụng khác nhau.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "lượng hữu hiệu" chỉ lượng chế phẩm đủ để tạo ra các kết quả có lợi hoặc mong muốn. Lượng hữu hiệu có thể được sử dụng và/hoặc kết hợp với nguyên liệu khác trong một hoặc nhiều ứng dụng, áp dụng hoặc liều lượng và không được xem là bị giới hạn ở chế phẩm hoặc đường dùng cụ thể.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "tiêu hóa" chỉ sự chuyển hóa thực phẩm, thức ăn, hoặc các hợp chất hữu cơ khác thành dạng hấp thụ được; để làm mềm, phân hủy, hoặc phá vỡ bởi tác động của nhiệt và hơi ẩm hoặc hóa chất.

Trong bản mô tả này, "hệ tiêu hóa" chỉ hệ (bao gồm hệ đường dạ dày-ruột non) trong đó sự tiêu hóa có thể xảy ra hoặc sẽ xảy ra.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "thức ăn" chỉ (các) nguyên liệu mà được tiêu thụ bởi động vật có vú (ví dụ, người và động vật) và đóng góp năng lượng và/hoặc dưỡng chất cho chế độ ăn của động vật có vú. Ví dụ về thức ăn bao gồm, nhưng không

giới hạn ở, khẩu phần hỗn hợp hoàn chỉnh (TMR), thức ăn cho súc vật, viên tròn, sản phẩm cô, hỗn hợp trộn sơ bộ, đồng sản phẩm, hạt, hạt phụ phẩm quá trình chưng cất ngũ cốc, ri đường, sợi, cỏ khô (cho súc vật ăn), cỏ, cỏ khô, hạt, lá, bột, chất hòa tan, và chất bổ sung.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "chất bổ sung cho thực phẩm", "chất bổ sung dinh dưỡng", "chế phẩm chất bổ sung dinh dưỡng" và các thuật ngữ tương tự chỉ sản phẩm thực phẩm được bào chế dưới dạng chất bổ sung dinh dưỡng hoặc chất bổ sung cho khẩu phần ăn được sử dụng ở dạng một phần của khẩu phần ăn. Chế phẩm chất bổ sung dinh dưỡng lấy làm ví dụ được mô tả trong bản mô tả này.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "động vật" chỉ các động vật thuộc giới động vật (Animalia). Thuật ngữ này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, vật nuôi, động vật nông trại, động vật trong nhà, động vật nuôi kiếng, động vật biển và động vật nước ngọt, và các động vật hoang dã.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "sử dụng" và thuật ngữ "dùng" chỉ hoạt động đưa chất, bao gồm thuốc, tiền dược chất, hoặc chất khác, hoặc điều trị trị liệu cho đối tượng (ví dụ, đối tượng hoặc các tế bào, các mô, và các cơ quan *in vivo*, *in vitro*, hoặc *ex vivo*).

Các đường dùng lấy làm ví dụ có thể là thông qua mắt (ở mắt), miệng (qua đường miệng), da (tại chỗ hoặc qua da), mũi (ở mũi), phổi (xông hít), niêm mạc miệng (má), tai, trực tràng, âm đạo, bằng cách tiêm (ví dụ, trong tĩnh mạch, dưới da, trong khối u, trong màng bụng, v.v.) và các đường dùng tương tự.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "việc đồng sử dụng" và thuật ngữ "đồng sử dụng" chỉ việc sử dụng ít nhất hai chất hoặc hai phương pháp điều trị cho đối tượng và/hoặc nguyên liệu (ví dụ, thức ăn). Việc đồng sử dụng hai hoặc nhiều chất hoặc phương pháp điều trị có thể là đồng thời, hoặc chất/trị liệu thứ nhất có thể được sử dụng trước khi áp dụng chất/trị liệu thứ hai.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "điều trị" chỉ các biện pháp được thực hiện mà tạo điều kiện dễ dàng cho sự cải thiện và/hoặc đảo ngược các triệu chứng của bệnh. Thuật ngữ "điều trị" chỉ cả các biện pháp điều trị trị liệu và phòng bệnh hoặc ngăn ngừa. Ví dụ, các đối tượng mà có thể có lợi từ việc điều trị bằng chế phẩm và phương pháp theo sáng chế bao gồm các đối tượng đã có bệnh và/hoặc rối loạn cũng như các

đối tượng trong đó bệnh và/hoặc rối loạn cần được ngăn ngừa (ví dụ, bằng cách sử dụng điều trị phòng ngừa theo sáng chế).

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "có nguy cơ mắc bệnh" chỉ đối tượng có khả năng mắc bệnh cụ thể. Khả năng mắc bệnh này có thể là di truyền (ví dụ, xu hướng di truyền cụ thể để truyền bệnh, như các rối loạn di truyền), hoặc do các yếu tố khác (ví dụ, độ tuổi, khối lượng, các điều kiện môi trường, tiếp xúc với các hợp chất có hại có mặt trong môi trường, v.v.).

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "bệnh", thuật ngữ "nhiễm khuẩn" và thuật ngữ "tình trạng hoặc đáp ứng bệnh lý" chỉ trạng thái, dấu hiệu, và/hoặc triệu chứng có liên quan đến sự suy yếu của trạng thái bình thường của động vật sống hoặc của bất kỳ trong số các cơ quan hoặc mô của nó mà phá vỡ hoặc biến đổi đặc tính của các chức năng bình thường, và có thể là đáp ứng với các yếu tố môi trường (như sự kém dinh dưỡng, các mối nguy hiểm của ngành công nghiệp, hoặc khí hậu, bao gồm chứng nhiễm độc nấm), các chất lây nhiễm đặc trưng (như sâu, vi khuẩn, hoặc virus), với khuyết tật cố hữu của cơ thể (như các dị tật di truyền khác nhau), hoặc tổ hợp của các yếu tố này và các yếu tố khác.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "mắc bệnh" chỉ đối tượng (ví dụ, động vật hoặc đối tượng là người) mắc bệnh cụ thể và không giới hạn ở các dấu hiệu hoặc các triệu chứng, hoặc bệnh cụ thể bất kỳ.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "độc" chỉ tác động có hại, bất lợi, gây hại bất kỳ, hoặc theo cách khác (các) tác động tiêu cực đến đối tượng, tế bào, hoặc mô so với cùng tế bào hoặc mô trước khi tiếp xúc hoặc sử dụng độc tố/chất độc.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "được phẩm" chỉ sự kết hợp của hoạt chất với chất mang, trợ hoặc hoạt động, làm cho được phẩm đặc biệt thích hợp để sử dụng trong chẩn đoán hoặc trị liệu *in vitro*, *in vivo* hoặc *ex vivo*.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "được dụng" và thuật ngữ "chấp nhận được về mặt được lý" chỉ chế phẩm mà về cơ bản không gây ra các phản ứng bất lợi đã biết hơn so với phản ứng có lợi đã biết.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "nuôi cấy" chỉ hoạt động đưa vi sinh vật hoặc hỗn dịch của các vi sinh vật (ví dụ, tảo, nấm men, nấm, vi khuẩn, v.v.) vào môi trường

nuôi cấy. Nuôi cấy là hoạt động hoặc quy trình đưa một số thứ vào môi trường trong đó nó sẽ sinh trưởng hoặc sinh sản.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "nguyên liệu nuôi cấy" và thuật ngữ "tiền nguyên liệu nuôi cấy" chỉ các tế bào được sử dụng trong quá trình nuôi cấy, như các tế bào được bổ sung để bắt đầu nuôi cấy.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "sự ly tâm" chỉ sự phân tách các phân tử theo kích thước hoặc mật độ bằng cách sử dụng lực ly tâm được tạo ra bởi rôto quay mà đặt đối tượng quay xung quanh trục cố định, áp dụng lực vuông góc với trục. Thiết bị ly tâm hoạt động bằng cách sử dụng nguyên lý lắng đọng, trong đó gia tốc hướng tâm được sử dụng để phân phối đồng đều các chất có mật độ lớn hơn và nhỏ hơn vào các lớp có mật độ khác nhau.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "nồng độ" chỉ lượng chất cho mỗi khoảng không xác định. Nồng độ thường được biểu hiện dưới dạng khối lượng cho mỗi đơn vị thể tích. Để pha loãng dung dịch, phải bổ sung nhiều dung môi hơn, hoặc làm giảm lượng chất tan (ví dụ, bằng cách làm bay hơi chọn lọc, sấy phun, sấy khô, ví dụ, chiết xuất thành tế bào nấm men được cô hoặc chiết xuất thành tế bào nấm men được cải biến được cô). Trái lại, để cô đặc dung dịch, phải bổ sung nhiều chất tan hơn, hoặc làm giảm lượng dung môi.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "lớp" chỉ chất lắng phủ thường là theo chiều nằm ngang được sắp xếp trong tầng nguyên liệu tạo thành phần hoặc phân đoạn phủ lên thu được sau khi tách bằng cách ly tâm có liên quan đến các tính chất về mật độ của nguyên liệu.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "thu hoạch" chỉ hoạt động thu gom hoặc thu các nguyên liệu đã được sản xuất cùng với nhau (ví dụ, thu các nguyên liệu đã được sản xuất trong quá trình sản xuất nấm men cùng với nhau).

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "làm khô" chỉ sự sấy phun, sấy khô, làm khô bằng không khí, làm khô chân không hoặc loại bất kỳ khác của quy trình mà làm giảm hoặc loại bỏ chất lỏng trong vật chất.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "sấy phun" chỉ phương pháp thường được sử dụng để làm khô vật chất chứa chất lỏng bằng cách sử dụng khí nóng để làm bay hơi chất lỏng để làm giảm hoặc loại bỏ chất lỏng trong vật chất. Theo cách khác, nguyên

liệu được làm khô bằng cách phun hoặc phun bụi thành dòng khí của không khí khô đã được gia nhiệt.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "sấy khô" và thuật ngữ "làm đông khô nhanh" và thuật ngữ "sấy thăng hoa" chỉ việc loại bỏ dung môi khỏi chất ở trạng thái được làm đông lạnh bằng cách thăng hoa. Điều này được thực hiện bằng cách làm đông lạnh nguyên liệu cần được làm khô dưới điểm orecti của nó và sau đó cung cấp ẩn nhiệt thăng hoa. Việc kiểm soát chính xác nhiệt đầu vào cho phép làm khô từ trạng thái được làm đông lạnh mà không làm tan chảy ngược sản phẩm. Trong ứng dụng thực tiễn, quy trình này được tăng tốc và được kiểm soát một cách chính xác dưới các điều kiện áp suất giảm.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "bột khô chảy tự do" chỉ bột chảy tự do khô, ví dụ, bột mà có thể được rót từ đồ chứa, túi, bình, v.v., mà không có sự cản trở của các cục lớn.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "nghiên" chỉ việc làm giảm cỡ hạt bằng cách nén, cắt, hoặc mài mòn.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "mẫu" được sử dụng theo nghĩa rộng bao gồm mẫu xét nghiệm hoặc môi trường nuôi cấy thu được từ nguồn bất kỳ, cũng như mẫu sinh học và mẫu môi trường. Mẫu sinh học có thể thu được từ các động vật (bao gồm người) và bao gồm các chất lỏng, chất rắn, mô, và chất khí. Mẫu sinh học bao gồm sản phẩm máu, như huyết tương, huyết thanh và các dạng tương tự. Mẫu môi trường bao gồm nguyên liệu môi trường như chất bề mặt, đất, nước, tinh thể và mẫu công nghiệp.

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa tảo có hàm lượng lipit cao và phương pháp sản xuất và sử dụng chúng. Cụ thể, sáng chế đề cập đến sinh khối tảo có hàm lượng lipit cao và nguyên liệu lipit của tảo có nguồn gốc từ sinh khối này, phương pháp sản xuất sinh khối tảo này, cũng như đến nhiên liệu sinh học (ví dụ, diesel sinh học) và chế phẩm dinh dưỡng (ví dụ, thức ăn cho động vật) chứa sinh khối tảo này hoặc được tạo ra từ đó. Chế phẩm và phương pháp theo sáng chế được sử dụng trong nhiều ứng dụng bao gồm nhiên liệu sinh học, chế độ dinh dưỡng (ví dụ, dinh dưỡng cho người và động vật), trị liệu cũng như các ứng dụng dùng cho nghiên cứu.

Do đó, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất quy trình điều chế sinh khối tảo chứa lượng cao (ví dụ tính theo khối lượng) của tổng lượng chất béo. Ví dụ, như được

mô tả trong bản mô tả này, theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tạo thành sinh khối tảo chứa mức cao, mong muốn của hàm lượng tổng lượng chất béo (ví dụ, lớn hơn 60% tổng lượng chất béo, trái với các phương pháp thông thường mà tạo ra sinh khối tảo chứa mức thấp hơn một cách đáng kể của hàm lượng tổng lượng chất béo (ví dụ, 60% hoặc nhỏ hơn tổng lượng chất béo)). Thách thức lớn của nhiên liệu sinh học trên cơ sở tảo (ví dụ, diesel sinh học) là đảm bảo rằng sinh khối không được tạo ra với chi phí năng lượng cao hơn so với thu được trong sản phẩm nhiên liệu cuối cùng. Do đó, theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tạo thành sinh khối tảo chứa nhiều hơn 65% tổng lượng chất béo. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tạo thành sinh khối tảo chứa nhiều hơn 66% tổng lượng chất béo. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tạo thành sinh khối tảo chứa nhiều hơn 67% tổng lượng chất béo. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tạo thành sinh khối tảo chứa nhiều hơn 68% tổng lượng chất béo. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tạo thành sinh khối tảo chứa nhiều hơn 69% tổng lượng chất béo. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tạo thành sinh khối tảo chứa nhiều hơn 70% tổng lượng chất béo. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tạo thành sinh khối tảo chứa nhiều hơn 70% (ví dụ, nhiều hơn 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90% hoặc hơn) tổng lượng chất béo tính theo khối lượng.

Theo một số phương án, phương pháp theo sáng chế sử dụng hệ thiết bị phản ứng sinh học kín (ví dụ, bình bên men), mặc dù sáng chế không bị giới hạn ở hệ thiết bị này (ví dụ, theo một số phương án, thiết bị phản ứng sinh học mở có thể được sử dụng). Theo phương án ưu tiên, sự sinh trưởng của sinh khối tảo theo sáng chế được tiến hành trong các điều kiện vô trùng. Theo phương án được ưu tiên khác, tảo được sinh trưởng (ví dụ, để tạo ra sinh khối tảo chứa hàm lượng chất béo cao (ví dụ, nhiều hơn 67% chất béo)) trong quy trình nuôi cấy mẻ có cung cấp dinh dưỡng.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp nuôi cấy tảo để tạo ra sinh khối tảo chứa hàm lượng chất béo tổng cao, mong muốn (ví dụ 67% hoặc nhiều hơn tổng lượng chất béo) như được mô tả trong các Ví dụ 1 và 2. Ví dụ, theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp nuôi cấy tảo bao gồm bước nuôi cấy tảo theo từng bước để sản xuất sinh khối tảo chứa hàm lượng chất béo tổng cao, mong muốn (ví dụ 67% hoặc nhiều hơn tổng lượng chất béo). Theo một số phương án, quy

trình theo từng bước để nuôi cấy tảo bao gồm bước làm tan đông chủng tảo đã được cất giữ và bổ sung (ví dụ, theo cách vô trùng) tảo đã được làm tan đông vào bình cầu lắc dung tích 1L chứa môi trường chứa nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), chiết xuất nấm men và muối biển. Theo một số phương án, nguồn cacbon có mặt ở nồng độ bằng 50 g/L, chiết xuất nấm men có mặt ở nồng độ bằng 10 g/L và/hoặc muối biển có mặt ở nồng độ bằng 4 g/L. Theo một số phương án, bình cầu lắc dung tích 1L chứa tảo và môi trường được duy trì ở nhiệt độ 30°C và lắc (ví dụ, ở khoảng 100-400 vòng/phút) cho đến thời điểm sao cho tảo đi vào pha sinh trưởng theo hàm mũ nhưng không tiêu thụ hoàn toàn nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)). Các thử nghiệm được tiến hành trong quá trình phát triển các phương án của sáng chế đã xác định rằng tảo đi vào pha sinh trưởng theo hàm mũ nhưng không tiêu thụ hoàn toàn nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)) ở khoảng thời gian nằm trong khoảng 72-144 giờ. Do vậy, theo một số phương án, tảo được nuôi cấy trong bình cầu nuôi cấy dung tích 1L ở nhiệt độ 30°C trong 72-144 giờ ở khoảng 100-400 vòng/phút (ví dụ, 250 vòng/phút) trong môi trường chứa nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), chiết xuất nấm men và muối biển được sử dụng để thực hiện việc nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ nhất (ví dụ, trong bình lớn hơn (ví dụ, bình dung tích 40, 27 hoặc 18 L)). Theo một số phương án, môi trường nuôi cấy được sử dụng trong giai đoạn nhân giống thứ nhất chứa nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), chiết xuất nấm men, magie sulfat, canxi clorua và/hoặc magie clorua. Theo phương án ưu tiên, môi trường nuôi cấy được sử dụng trong giai đoạn nhân giống thứ nhất chứa khoảng 50 g/L nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), khoảng 7,5 g/L chiết xuất nấm men, khoảng 0,15 g/L magie sulfat, khoảng 0,15 g/L canxi clorua và/hoặc 0,15 g/L magie clorua. Theo một số phương án, quá trình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ nhất được thực hiện ở nhiệt độ 30°C trong dòng khí và các điều kiện khuấy để duy trì mức oxy hòa tan ở khoảng 7-15% (ví dụ, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14%), mặc dù các điều kiện mức oxy hòa tan thấp hơn và cao hơn có thể được sử dụng. Theo phương án ưu tiên, quá trình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ nhất được thực hiện ở nhiệt độ 30°C trong dòng khí và các điều kiện khuấy để duy trì mức oxy hòa tan ở khoảng 10%. Theo một số phương án, quá trình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ nhất chứa tảo và môi trường được duy trì ở nhiệt độ 30°C và được nuôi cấy cho đến thời điểm sao cho tảo đi vào pha sinh trưởng theo hàm mũ và ít nhất 20 g/L nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ,

glucoza)) đã được tiêu thụ nhưng nguồn cacbon không bị tiêu thụ hoàn toàn. Các thử nghiệm được tiến hành trong quá trình phát triển các phương án của sáng chế đã xác định được rằng tảo đi vào pha sinh trưởng theo hàm mũ, tiêu thụ ít nhất 20 g/L nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)) nhưng không tiêu thụ hoàn toàn nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)) ở khoảng thời gian nằm trong khoảng 24-48 giờ sau quá trình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ nhất. Theo một số phương án, tảo được nuôi cấy trong quá trình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ nhất ở nhiệt độ 30°C trong 24-48 giờ trong môi trường chứa nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), chiết xuất nấm men, magie sulfat, canxi clorua và magie clorua được sử dụng để cấy quá trình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ hai trong bình lớn hơn nữa (ví dụ, bình dung tích 2000 L). Theo một số phương án, môi trường nuôi cấy được sử dụng trong quá trình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ hai chứa nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), chiết xuất nấm men, magie sulfat, canxi clorua và/hoặc magie clorua. Theo phương án ưu tiên, môi trường nuôi cấy được sử dụng trong quá trình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ hai chứa khoảng 50 g/L nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), khoảng 7,5 g/L chiết xuất nấm men, khoảng 0,15 g/L magie sulfat, khoảng 0,15 g/L canxi clorua và/hoặc 0,15 g/L magie clorua. Theo một số phương án, quá trình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ hai được thực hiện ở nhiệt độ 30°C trong dòng khí và các điều kiện khuấy để duy trì mức oxy hòa tan ở khoảng 7-15% (ví dụ, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14%), mặc dù các điều kiện mức oxy hòa tan thấp hơn và cao hơn có thể được sử dụng. Theo phương án ưu tiên, quá trình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ hai được thực hiện ở nhiệt độ 30°C trong dòng khí và các điều kiện khuấy để duy trì mức oxy hòa tan ở khoảng 10%. Theo một số phương án, quá trình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ hai chứa tảo và môi trường được duy trì ở nhiệt độ 30°C và được nuôi cấy cho đến thời điểm sao cho tảo đi vào pha sinh trưởng theo hàm mũ, và ít nhất 20 g/L nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)) đã được tiêu thụ, nhưng nguồn cacbon không bị tiêu thụ hoàn toàn. Các thử nghiệm được tiến hành trong quá trình phát triển các phương án của sáng chế đã xác định được rằng tảo đi vào pha sinh trưởng theo hàm mũ, tiêu thụ ít nhất 20 g/L nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)) nhưng không tiêu thụ hoàn toàn nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)) ở khoảng thời gian nằm trong khoảng 24-48 giờ sau quá trình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ hai. Theo một số phương án, tảo được nuôi cấy trong quá trình

nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ hai ở nhiệt độ 30°C trong 24-48 giờ trong môi trường chứa nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), chiết xuất nấm men, magie sulfat, canxi clorua và magie clorua được sử dụng để cấy bình quy mô lớn (ví dụ, bình dung tích 70.000 L, 120.000 L, 220.000 L hoặc bình lớn hơn (ví dụ, bình lên men chính)) chứa môi trường được sử dụng để nuôi cấy/lên men tiếp tạo. Theo một số phương án, trong quá trình chuyển môi trường nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ hai đến bình quy mô lớn (ví dụ, bình lên men chính), môi trường nuôi cấy (ví dụ, môi trường theo mẻ) có mặt trong bình quy mô lớn (ví dụ, bình lên men chính) chứa nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), chiết xuất nấm men, magie sulfat, ure, canxi clorua, magie clorua và/hoặc monokali phosphat. Theo phương án ưu tiên, môi trường nuôi cấy được sử dụng trong bình quy mô lớn (ví dụ, bình dung tích 70.000 L, 120.000 L, 220.000 L hoặc bình lớn hơn (ví dụ, bình lên men chính)) là môi trường nuôi cấy bao gồm khoảng 50 g/L nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), khoảng 7,5 g/L chiết xuất nấm men, khoảng 4,0 g/L magie sulfat, khoảng 1 g/L ure, khoảng 2 g/L canxi clorua, khoảng 2 g/L magie clorua và/hoặc khoảng 0,25 g/L monokali phosphat. Theo một số phương án, quá trình nuôi cấy quy mô lớn được thực hiện ở nhiệt độ 30°C trong dòng khí và các điều kiện khuấy để duy trì mức oxy hòa tan ở khoảng 7-15% (ví dụ, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14%), mặc dù các điều kiện mức oxy hòa tan thấp hơn và cao hơn có thể được sử dụng. Theo phương án ưu tiên, quá trình nuôi cấy quy mô lớn được thực hiện ở nhiệt độ 30°C trong dòng khí và các điều kiện khuấy để duy trì mức oxy hòa tan ở khoảng 10%. Theo phương án ưu tiên, nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)) được duy trì ở 10 g/L trong khoảng thời gian (ví dụ, 1 ngày hoặc lâu hơn (ví dụ, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 ngày hoặc lâu hơn (ví dụ, bằng cách sử dụng quy trình nuôi cấy mẻ có cung cấp dinh dưỡng))). Ví dụ, theo một số phương án, sau khi lượng mong muốn của glucoza được tiêu thụ bởi tảo trong bình quy mô lớn (ví dụ, sau khi khoảng 20-30 g/L glucoza được tiêu thụ bởi tảo trong bình quy mô lớn (ví dụ, sau khi 30 g/L glucoza đã được tiêu thụ)), glucoza và thức ăn để nuôi cấy mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bắt đầu. Các thử nghiệm được tiến hành trong quá trình phát triển các phương án của sáng chế đã xác định được rằng thức ăn để nuôi cấy mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng 34 giờ, mặc dù các khoảng thời gian ngắn hơn (ví dụ, khoảng 32, 28, 24, 20 giờ hoặc nhỏ hơn) và lâu hơn (ví dụ, 36, 38, 42, 46, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 132, 144, 156, 168 giờ hoặc lâu hơn) có thể được sử dụng.

Theo các phương án ưu tiên khác, khi hoàn thành quy trình nuôi cấy mẹ có cung cấp dinh dưỡng, việc nuôi cấy tảo được thực hiện liên tục trong bình quy mô lớn cho đến khi tất cả các dưỡng chất đều được loại bỏ/được tiêu thụ từ môi trường. Các thử nghiệm được tiến hành trong quá trình phát triển các phương án của sáng chế đã xác định được rằng dưỡng chất được tiêu thụ từ môi trường trong khoảng 12 đến 24 giờ sau khi ngừng quy trình nuôi cấy mẹ có cung cấp dinh dưỡng. Theo một số phương án, sinh khối tảo được thu hoạch từ môi trường nuôi cấy/nước xuyết quy mô lớn và được sử dụng như được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, nước xuyết nuôi cấy quy mô lớn được ly tâm để thu được sinh khối tảo. Theo một số phương án, nước xuyết nuôi cấy quy mô lớn được làm nguội trước khi ly tâm. Mặc dù việc hiểu cơ chế không cần thiết để thực hiện sáng chế, và sáng chế không bị giới hạn ở cơ chế tác dụng cụ thể bất kỳ, theo một số phương án, việc làm lạnh nước xuyết nuôi cấy làm tăng mật độ sinh khối tảo chứa mức cao của tổng lượng chất béo (ví dụ, lipit/dầu) và cho phép thu hồi sinh khối lớn hơn so với đạt được khi không làm lạnh nước xuyết nuôi cấy (Xem, chẳng hạn, Ví dụ 3). Sáng chế không bị giới hạn bởi nhiệt độ mà môi trường nuôi cấy quy mô lớn được làm lạnh trước khi ly tâm. Theo một số phương án, môi trường nuôi cấy quy mô lớn được làm lạnh xuống nhiệt độ nằm trong khoảng 0-50°C, nằm trong khoảng 5-40°C, 5-25°C, 5-15°C hoặc 5-10°C.

Do vậy, sáng chế sử dụng cả cách thức theo mẹ và mẹ có cung cấp dinh dưỡng để nuôi cấy tảo (ví dụ, một cách riêng rẽ và/hoặc tiếp theo giai đoạn nhân giống thứ nhất và/hoặc thứ hai) để tạo ra sinh khối tảo chứa hàm lượng chất béo mong muốn (ví dụ, hàm lượng chất béo nhiều hơn 67%). Sáng chế không bị giới hạn bởi các thành phần riêng rẽ có mặt trong môi trường được sử dụng trong cách thức theo mẹ hoặc mẹ có cung cấp dinh dưỡng. Theo một số phương án, môi trường nuôi cấy có mặt tại thời điểm nuôi cấy của bình lên men chính (ví dụ, bình dung tích 70.000 L, 120.000 L, 220.000 L) chứa môi trường với tỷ lệ ban đầu của nitơ (N):phospho (P):kali (K) bằng 46:13:8,5. Theo phương án ưu tiên, tỷ lệ N:P:K là giống nhau trong các cách thức nuôi cấy mẹ và nuôi cấy mẹ có cung cấp dinh dưỡng. Theo một số phương án, tỷ lệ của magie (Mg):canxi (Ca) là 3:1 trong môi trường nuôi cấy được sử dụng theo cả cách thức theo mẹ và mẹ có cung cấp dinh dưỡng. Theo phương án khác, tỷ lệ của clorua (Cl₂):sulfat (SO₄) là 1:1 trong môi trường nuôi cấy được sử dụng theo cả cách thức theo mẹ và mẹ có cung cấp dinh dưỡng. Theo một số phương án, tỷ lệ của sulfat

(SO₄):phosphat (PO₄) trong môi trường tại thời điểm nuôi cấy của bình lên men chính (ví dụ, bình dung tích 70.000 L, 120.000 L, 220.000 L) là 16:1. Theo một số phương án, tổng tỷ lệ của sulfat (SO₄):phosphat (PO₄) mà có thể được sử dụng theo mẻ và được sử dụng vào cuối quá trình nuôi cấy hoàn toàn (ví dụ, bao gồm nguyên liệu nuôi cấy, giai đoạn nhân giống thứ nhất, giai đoạn nhân giống thứ hai và quá trình nuôi cấy của bình lên men chính) mà tạo ra sinh khối tảo chứa hàm lượng chất béo mong muốn (ví dụ, nhiều hơn 67% chất béo) là 5,3:1. Theo một số phương án, tỷ lệ của clorua (Cl₂):phosphat (PO₄) trong môi trường tại thời điểm nuôi cấy của bình lên men chính (ví dụ, bình dung tích 70.000 L, 120.000 L, 220.000 L) là 16:1. Theo một số phương án, tổng tỷ lệ của clorua (Cl₂):phosphat (PO₄) mà có thể được sử dụng theo mẻ và được sử dụng vào cuối quá trình nuôi cấy hoàn toàn (ví dụ, bao gồm nguyên liệu nuôi cấy, giai đoạn nhân giống thứ nhất, giai đoạn nhân giống thứ hai và quá trình nuôi cấy của bình lên men chính) mà tạo ra sinh khối tảo chứa hàm lượng chất béo mong muốn (ví dụ, nhiều hơn 67% chất béo) là 5,3: 1.

Như được mô tả trong Ví dụ 2 dưới đây, sáng chế còn đề xuất chế phẩm chứa sinh khối tảo (ví dụ, sinh khối tảo được làm khô (ví dụ, được tạo thành theo phương pháp được mô tả trong bản mô tả này)) chứa lượng mong muốn của tổng lượng chất béo và/hoặc các thành phần khác. Ví dụ, theo một số phương án, sáng chế đề xuất sinh khối tảo (ví dụ, sinh khối được làm khô) chứa nhiều hơn 67% tổng lượng chất béo (ví dụ, nhiều hơn khoảng 68% tổng lượng chất béo, nhiều hơn khoảng 69% tổng lượng chất béo, nhiều hơn khoảng 70% tổng lượng chất béo, nhiều hơn khoảng 71% tổng lượng chất béo, nhiều hơn khoảng 72% tổng lượng chất béo, nhiều hơn khoảng 73% tổng lượng chất béo, nhiều hơn khoảng 74% tổng lượng chất béo, nhiều hơn khoảng 75% tổng lượng chất béo, nhiều hơn khoảng 76% tổng lượng chất béo, nhiều hơn khoảng 77% tổng lượng chất béo, nhiều hơn khoảng 78% tổng lượng chất béo hoặc cao hơn lượng của tổng lượng chất béo). Theo một số phương án, sinh khối tảo (ví dụ, chứa nhiều hơn 67% tổng lượng chất béo) được làm khô sao cho sinh khối chứa độ ẩm nhỏ hơn 5% (ví dụ, độ ẩm nhỏ hơn 4,5%, độ ẩm nhỏ hơn 4%, độ ẩm nhỏ hơn 3,5%, độ ẩm nhỏ hơn 3%, độ ẩm nhỏ hơn 2,5%, độ ẩm nhỏ hơn 2%, hoặc độ ẩm nhỏ hơn 1,5%). Theo một số phương án, sinh khối tảo theo sáng chế (ví dụ, sinh khối được làm khô chứa độ ẩm nhỏ hơn 5%) chứa khoảng 170-250 mg/g axit docosahexaenoic (DHA) hoặc lớn hơn (ví dụ, khoảng 170-180 mg/g DHA, khoảng 180-190 mg/g DHA, khoảng

190-200 mg/g DHA, khoảng 200-210 mg/g DHA, khoảng 210-220 mg/g DHA, khoảng 220-230 mg/g DHA, khoảng 230-240 mg/g DHA, khoảng 240-250 mg/g DHA, hoặc lớn hơn 250 mg/g DHA). Theo một số phương án, sinh khối tảo theo sáng chế (ví dụ, sinh khối được làm khô chứa độ ẩm nhỏ hơn 5%) chứa khoảng 150-400 mg/g axit palmitic hoặc lớn hơn (tên IUPAC: axit hexadecanoic (ví dụ, khoảng 150-200 mg/g, khoảng 200-225 mg/g, khoảng 225-250 mg/g, khoảng 250-275 mg/g, khoảng 275-300 mg/g, khoảng 300-325 mg/g, khoảng 325-350 mg/g, khoảng 350-375 mg/g, khoảng 375-400 mg/g, hoặc lớn hơn 400 mg/g)). Theo một số phương án, sinh khối tảo theo sáng chế (ví dụ, sinh khối được làm khô chứa độ ẩm nhỏ hơn 5%) chứa khoảng 300-600 mg/g axit béo tổng cộng hoặc lớn hơn (ví dụ, khoảng 300-350 mg/g, khoảng 350-400 mg/g, khoảng 400-450 mg/g, khoảng 450-500 mg/g, khoảng 500-550 mg/g, khoảng 550-600 mg/g, hoặc lớn hơn 600 mg/g axit béo)). Theo một số phương án, sinh khối tảo theo sáng chế (ví dụ, sinh khối được làm khô chứa độ ẩm nhỏ hơn 5%) chứa nhỏ hơn khoảng 15% protein (ví dụ, nhỏ hơn khoảng 14% protein, nhỏ hơn khoảng 13% protein, nhỏ hơn khoảng 12% protein, nhỏ hơn khoảng 11% protein, nhỏ hơn khoảng 10% protein, nhỏ hơn khoảng 9% protein, hoặc nhỏ hơn khoảng 8% protein).

Sáng chế không bị giới hạn bởi chủng hoặc loài tảo được sử dụng trong phương pháp và chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này. Thực vậy, nhiều tảo được sử dụng theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, một hoặc nhiều loài thuộc giống *Thraustochytrium*. Theo một số phương án, tảo là loài thuộc giống *Chlorella*. Theo một số phương án, tảo là loài thuộc giống *Schizochytrium*. Theo một số phương án, tảo là loài thuộc giống *Cryptocodinium*. Theo một số phương án, tảo là *Thraustochytrium striatum*, *Thraustochytrium roseum*, *Thraustochytrium aureum*, *Cryptocodinium cohnii*, và/hoặc *Aurantiochytrium sp.* Theo phương án ưu tiên, *Schizochytrium limacinum* được sử dụng trong phương pháp và chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này. Sáng chế không bị giới hạn bởi loại của lipid được sản xuất bởi quy trình để tạo ra sinh khối tảo với mức cao của lipid được bộc lộ trong bản mô tả này. Theo một số phương án, lipid được tạo thành bởi quy trình theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, axit myristic, axit palmitic, axit oleic, axit linoleic, axit docosapentaenoic (DPA), axit docosahexaenoic (DHA), và axit stearic. Các lipid này là hữu ích cho cả sức khỏe của động vật và người, để ngăn ngừa các bệnh khác nhau như bệnh tim mạch

và các bệnh viêm và trong dinh dưỡng của trẻ sơ sinh đối với sự phát triển thích hợp của não và thị giác võng mạc ở trẻ.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình sản xuất sinh khối tảo chứa mức cao (ví dụ, nhiều hơn 67%) của tổng lượng chất béo từ loài tảo (ví dụ, *Schizochytrium limacinum*), trong đó quy trình này bao gồm bước nuôi cấy tảo trong bình nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng thứ nhất chứa môi trường (ví dụ, chứa khoảng 50 g/L nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), khoảng 7,5 g/L chiết xuất nấm men, khoảng 0,15 g/L magie sulfat, khoảng 0,15 g/L canxi clorua và/hoặc 0,15 g/L magie clorua), chuyển (ví dụ, theo cách vô trùng) môi trường nuôi cấy mẻ có cung cấp dinh dưỡng thứ nhất đến môi trường nuôi cấy mẻ nhân giống thứ hai (ví dụ, chứa khoảng 50 g/L nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), khoảng 7,5 g/L chiết xuất nấm men, khoảng 0,15 g/L magie sulfat, khoảng 0,15 g/L canxi clorua và/hoặc 0,15 g/L magie clorua), chuyển (ví dụ, theo cách vô trùng) môi trường nuôi cấy mẻ nhân giống thứ hai đến bình nuôi cấy quy mô lớn chứa môi trường (ví dụ, bình lên men chính (ví dụ, bình dung tích 70.000 L, 120.000 L, 220.000 L, chứa, ví dụ, môi trường chứa khoảng 50 g/L nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), khoảng 7,5 g/L chiết xuất nấm men, khoảng 4,0 g/L magie sulfat, khoảng 1 g/L ure, khoảng 2 g/L canxi clorua, khoảng 2 g/L magie clorua và/hoặc khoảng 0,25 g/L monokali phosphat), trong đó mức glucoza của bình nuôi cấy quy mô lớn được duy trì ở 10 g/L sử dụng quy trình nuôi cấy mẻ có cung cấp dinh dưỡng, trong đó các tế bào tảo được thu hoạch từ quy mô lớn môi trường nuôi cấy trong 12-24 giờ sau khi ngừng quy trình nuôi cấy mẻ có cung cấp dinh dưỡng sau khi tất cả các dưỡng chất đã được loại bỏ/tiêu thụ từ môi trường.

Phương án khác của sáng chế đề xuất quy trình sản xuất sinh khối tảo chứa mức cao (ví dụ, nhiều hơn 67%) của tổng lượng chất béo từ loài tảo (ví dụ, *Schizochytrium limacinum*), trong đó môi trường nuôi cấy (ví dụ, trong mỗi giai đoạn lên men (ví dụ, giai đoạn nhân giống thứ nhất, giai đoạn nhân giống thứ hai và/hoặc giai đoạn nuôi cấy (mẻ có cung cấp dinh dưỡng) theo mẻ)) chứa nguồn cacbon (ví dụ, đường), chiết xuất nấm men, nguồn phosphat (ví dụ, monokali phosphat, magie sulfat và/hoặc kẽm sulfat), nguồn nitơ (ví dụ, ure), magie clorua, và/hoặc canxi clorua. Theo phương án ưu tiên, sáng chế đề xuất quy trình sản xuất sinh khối tảo chứa mức cao (ví dụ, nhiều hơn 67%) của tổng lượng chất béo từ chủng tảo, trong đó môi trường nuôi cấy (ví dụ,

trong mỗi giai đoạn lên men (ví dụ, giai đoạn nuôi cấy (ví dụ, giai đoạn nhân giống thứ nhất, giai đoạn nhân giống thứ hai và/hoặc giai đoạn nuôi cấy (mê có cung cấp dinh dưỡng) theo mê)) chứa đường, chiết xuất nấm men, monokali phosphat, magie sulfat, kẽm sulfat), ure, magie clorua, và/hoặc canxi clorua. Tuy nhiên, sáng chế không bị giới hạn bởi loại dưỡng chất được sử dụng trong môi trường nuôi cấy trong đó tạo được sinh trưởng. Theo một số phương án, một hoặc nhiều nguồn cacbon được bổ sung vào môi trường. Ví dụ về nguồn cacbon bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các hydrat cacbon như glucoza, fructoza, xyloza, sacaroza, maltoza hoặc tinh bột hòa tan cũng như axit oleic, các chất béo như dầu đậu tương, ri đường, glyxerol, manitol, và natri axetat, bột hạt bông, glyxerol, ri đường và dịch ngâm ngô. Theo một số phương án, một hoặc nhiều nguồn nitơ được bổ sung vào môi trường. Ví dụ về nguồn nitơ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, nguồn nitơ tự nhiên như pepton, chiết xuất nấm men, chiết xuất mạch nha, chiết xuất thịt, axit casamino và dịch ngâm ngô, nguồn nitơ hữu cơ như natri glutamat và ure, hoặc nguồn nitơ vô cơ như amoni axetat, amoni sulfat, amoni clorua, amoni nitrat và natri sulfat. Theo một số phương án, một hoặc nhiều nguồn phosphat được bổ sung vào môi trường. Ví dụ về nguồn phosphat bao gồm, nhưng không giới hạn ở, kali phosphat và kali dihydro phosphat, muối vô cơ, như amoni sulfat, natri sulfat, magie sulfat, sắt sulfat, kẽm sulfat, và đồng sulfat. Theo một số phương án, magie clorua, canxi clorua, và/hoặc vitamin được bổ sung vào trong môi trường nuôi cấy.

Sáng chế không bị giới hạn bởi lượng (ví dụ, nồng độ) của mỗi trong số các thành phần trong môi trường nuôi cấy. Theo một số phương án, lượng được sử dụng không có hại cho sự sinh trưởng của tảo. Theo phương án ưu tiên, lượng (ví dụ, nồng độ và/hoặc tỷ lệ) của mỗi thành phần môi trường được điều chỉnh ở mức (ví dụ, trong mỗi giai đoạn lên men (ví dụ, giai đoạn nhân giống thứ nhất, giai đoạn nhân giống thứ hai và/hoặc giai đoạn nuôi cấy (mê có cung cấp dinh dưỡng) theo mê) mà thúc đẩy sự tạo thành tảo có hàm lượng chất béo cao (ví dụ, sinh khối tảo chứa 67% hoặc lớn hơn hàm lượng chất béo). Theo một số phương án, nguồn cacbon (ví dụ, đường) có mặt trong môi trường nuôi cấy ở khoảng 20 đến 120 gam cho mỗi lít môi trường. Theo các phương án khác, nguồn cacbon (ví dụ, đường) có mặt trong môi trường nuôi cấy ở khoảng 30-70 gam cho mỗi lít môi trường. Theo các phương án khác, nguồn cacbon (ví dụ, đường) có mặt trong môi trường nuôi cấy ở khoảng 40 đến 60 gam cho mỗi lít

môi trường. Theo phương án ưu tiên, nguồn cacbon (ví dụ, đường) có mặt trong môi trường nuôi cấy ở khoảng 50 gam cho mỗi lít môi trường. Theo một số phương án, tỷ lệ của ure so với monokali phosphat ($\text{ure}:\text{KH}_2\text{PO}_4$) nằm trong khoảng 5:0,1 (ví dụ, khoảng 4,5:0,1; 4:0,25; 3:0,25; 4:0,3; 5:0,3; 5:0,5; 4:0,5; 3:0,5; 2:0,5; hoặc 1:0,5); mặc dù các tỷ lệ cao hơn và thấp hơn có thể được sử dụng (ví dụ 1:1, 1:2, 1:3 v.v.). Theo phương án ưu tiên, tỷ lệ của ure so với monokali phosphat trong môi trường nuôi cấy là 4:1. Theo một số phương án, môi trường nuôi cấy không chứa natri clorua. Theo các phương án khác, môi trường nuôi cấy chứa natri clorua. Theo một số phương án, tỷ lệ của magie sulfat (MgSO_4):canxi clorua (CaCl_2) là 1:1. Theo một số phương án, tỷ lệ của magie sulfat (MgSO_4):canxi clorua (CaCl_2) là 1:2. Thực vậy, nhiều tỷ lệ của magie sulfat (MgSO_4):canxi clorua (CaCl_2) có thể được sử dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, 1:1; 1:1,125; 1:1,5; 1:1,75; 1:2; 1:2,125; 1:2,25; 1:2,5; 2,5:1; 2,25:1; 2:1; 1,75:1; 1,5:1; 1,25:1 hoặc 1,125:1. Theo phương án ưu tiên, tỷ lệ của magie sulfat (MgSO_4):canxi clorua (CaCl_2) môi trường nuôi cấy nhân giống thứ nhất là 1:1. Theo phương án được ưu tiên khác, tỷ lệ của magie sulfat (MgSO_4):canxi clorua (CaCl_2) trong môi trường nuôi cấy nhân giống thứ hai là 1:1. Theo phương án ưu tiên khác, tỷ lệ của magie sulfat (MgSO_4):canxi clorua (CaCl_2) trong môi trường nuôi cấy quy mô lớn (ví dụ, bình lên men chính (ví dụ, bình dung tích 70.000 L, 120.000 L, 220.000 L) còn được gọi là môi trường nuôi cấy thứ ba ở đây) là 1:2.

Theo phương án ưu tiên khác, sau khi điều chế môi trường, độ pH của môi trường không cần được điều chỉnh. Ví dụ, trong quy trình lên men theo từng bước theo sáng chế, độ pH của môi trường nuôi cấy trong đó tạo được sinh trưởng không cần được điều chỉnh. Mặc dù việc hiểu cơ chế không cần thiết để thực hiện sáng chế và sáng chế không bị giới hạn ở cơ chế tác dụng cụ thể bất kỳ, theo một số phương án, các điều kiện vô trùng và/hoặc vô khuẩn của quy trình lên men theo từng bước theo sáng chế giúp loại bỏ nhu cầu điều chỉnh độ pH của môi trường nuôi cấy trong quá trình lên men. Theo một số phương án, độ pH của môi trường nuôi cấy nằm trong khoảng từ 4,0 đến 6,5. Việc nuôi cấy tạo trong quy trình lên men theo từng bước theo sáng chế có thể được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10 đến 40°C, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 17 đến 35°C, và tốt nhất nếu xung quanh 30°C. Việc nuôi cấy có thể được tiến hành bằng cách nuôi cấy thông khí-khuấy, lắc môi trường nuôi cấy,

nuôi cấy tĩnh hoặc các dạng tương tự. Theo phương án ưu tiên, tảo được nuôi cấy trong các điều kiện sao cho mức oxy hòa tan được duy trì ở hoặc trên 10% một chút.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thực phẩm, thức ăn cho súc vật, chất bổ sung dinh dưỡng hoặc chất bổ sung cho trị liệu chứa tất cả hoặc một phần của sinh khối tảo (ví dụ, sinh khối tảo được làm khô được mô tả trong bản mô tả này và/hoặc được tạo thành theo phương pháp và chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này) chứa mức cao (ví dụ, nhiều hơn 67%) của tổng lượng chất béo. Ví dụ, theo một số phương án, sáng chế đề xuất thực phẩm, thức ăn cho súc vật, chất bổ sung dinh dưỡng hoặc chất bổ sung cho trị liệu chứa sinh khối tảo được sấy phun chứa mức cao (ví dụ, nhiều hơn 67%) của tổng lượng chất béo. Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất thực phẩm, thức ăn cho súc vật, chất bổ sung dinh dưỡng hoặc chất bổ sung cho trị liệu chứa lipit được chiết và/hoặc được tách ra từ sinh khối tảo chứa mức cao (ví dụ lớn hơn 67%) của tổng lượng chất béo. Sáng chế không bị giới hạn bởi loại của lipit được chiết và/hoặc được tách ra từ sinh khối tảo chứa mức cao (ví dụ lớn hơn 67%) của tổng lượng chất béo. Theo một số phương án, lipit bao gồm axit myristic, axit palmitic, axit oleic, axit linoleic, axit alpha-linolenic (ALA), axit stearidonic (SDA), axit eicosatrienoic, axit eicosatetraenoic, axit eicosapentaenoic (EPA), axit docosapentaenoic (DPA), axit clupanodonic, axit docosahexaenoic (DHA), axit tetracosapentaenoic, và/hoặc axit tetracosahexaenoic. Theo phương án ưu tiên, lipit chứa DHA và/hoặc axit palmitic.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất quy trình điều chế lipit (ví dụ, các lipit được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, axit docosahexaenoic)) bao gồm các bước: nuôi cấy chủng tảo (ví dụ, *Schizochytrium limacinum*) trong môi trường nuôi cấy thứ nhất (ví dụ, chứa 50 g/L nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), 10 g/L chiết xuất nấm men và 4 g/L muối biển) và ủ môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25-35°C trong khoảng thời gian khoảng 72-144 giờ; chuyển môi trường nuôi cấy này sang môi trường nuôi cấy thứ hai (ví dụ, chứa 50 g/L nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), khoảng 7,5 g/L chiết xuất nấm men, khoảng 0,15 g/L magie sulfat, khoảng 0,15 g/L canxi clorua và/hoặc 0,15 g/L magie clorua) và ủ môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25-35°C trong khoảng thời gian khoảng 24-48 giờ; chuyển môi trường nuôi cấy này sang môi trường nuôi cấy thứ ba (ví dụ, chứa 50 g/L nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), khoảng 7,5 g/L chiết

xuất nấm men, khoảng 0,15 g/L magie sulfat, khoảng 0,15 g/L canxi clorua và/hoặc 0,15 g/L magie clorua) và ủ môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25-35°C trong khoảng thời gian khoảng 24-48 giờ; chuyển môi trường nuôi cấy này sang môi trường nuôi cấy thứ tư (ví dụ, chứa 50 g/L nguồn cacbon (ví dụ, đường (ví dụ, glucoza)), khoảng 7,5 g/L chiết xuất nấm men, khoảng 4,0 g/L magie sulfat, khoảng 1 g/L ure, khoảng 2 g/L canxi clorua, khoảng 2 g/L magie clorua và/hoặc khoảng 0,25 g/L monokali phosphat) và ủ môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25-35°C (ví dụ 30°C) trong khoảng thời gian khoảng 24-192 giờ (ví dụ, khoảng 36, khoảng 38, khoảng 42, khoảng 46, khoảng 60, khoảng 72, khoảng 84, khoảng 96, khoảng 108, khoảng 120, khoảng 132, khoảng 144, khoảng 156, khoảng 168, khoảng 180 hoặc khoảng 192 giờ); tách sinh khối tế bào ra khỏi môi trường nuôi cấy; và chiết lipid từ sinh khối này.

Theo một số phương án, môi trường nuôi cấy tảo (ví dụ, được sinh trưởng để tạo ra sinh khối tảo) được phát triển trong các thể tích và bình thích hợp, nằm trong khoảng từ 100 ml đến hàng trăm hoặc hàng nghìn lít, trong bình cầu hoặc bình lên men lớn, sử dụng các môi trường dinh dưỡng khác nhau như được mô tả trong bản mô tả này.

Theo khía cạnh khác, việc phân tách sinh khối tế bào chứa lipid thu được bằng cách sử dụng kỹ thuật ly tâm, lọc và/hoặc keo tụ hoặc các kỹ thuật tương tự. Theo phương án ưu tiên, sinh khối tảo thu được từ môi trường nuôi cấy bằng cách ly tâm. Theo phương án ưu tiên khác, việc ly tâm được thực hiện sau khi môi trường nuôi cấy tế bào được làm nguội (ví dụ, để cho phép thu hồi các tế bào chứa mức cao của lipid). Theo một số phương án, sinh khối tảo thu được được sấy phun và được sử dụng (ví dụ, được sử dụng trực tiếp trong thức ăn cho động vật hoặc để sản xuất nhiên liệu sinh học).

Theo một phương án, tảo là hỗn hợp của các loài tảo khác nhau (ví dụ, một hoặc nhiều loài tảo được mô tả trong bản mô tả này). Theo một số phương án, sinh khối tảo chứa mức cao của tổng lượng chất béo và/hoặc lipid được chiết từ sinh khối tảo chứa mức cao của tổng lượng chất béo được bổ sung lipid (ví dụ, axit béo chưa no nhiều lần) từ các nguồn khác bao gồm, nhưng không giới hạn ở, nguồn thực vật.

Theo một số phương án, sinh khối tảo chứa mức cao của tổng lượng chất béo chứa lipit ở nồng độ (khối lượng/khối lượng) trong khoảng từ khoảng 60-90% (ví dụ, khoảng 65-90%, khoảng 66-89%, khoảng 67-88%, khoảng 68-87%, khoảng 68-86%, khoảng 69-85%, hoặc khoảng 70-80%). Do vậy, sinh khối tảo chứa mức cao của lipit có thể chứa lipit ở nồng độ bằng 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90% và các nồng độ tương tự. Theo một phương án, sinh khối tảo chứa mức cao của tổng lượng chất béo chứa lipit ở nồng độ ít nhất là 67%.

Theo một số phương án, DHA có mặt trong chế phẩm sinh khối tảo theo sáng chế trong khoảng từ 1% đến 75% của lipit/axit béo tổng. Do vậy, DHA có thể được cung cấp trong chế phẩm với tổng lượng axit béo bằng 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, khoảng 35%, khoảng 40%, khoảng 45%, khoảng 50%, khoảng 55%, khoảng 60%, khoảng 65%, khoảng 70%, khoảng 75%, và các lượng tương tự. Theo các phương án khác, DHA có thể có mặt trong chế phẩm với tổng lượng axit béo trong khoảng từ 1% đến 5%, 1% đến 10%, 1% đến 15%, 1% đến 20%, 1% đến 25%, 1% đến 30%, 5% đến 10%, 5% đến 15%, 5% đến 20%, 5% đến 25%, 5% đến 30%, 10% đến 15%, 10% đến 20%, 10% đến 25%, 10% đến 30%, 15% đến 20%, 15% đến 25%, 15% đến 30%, 20% đến 25%, 20% đến 30%, 25% đến 30%, 30% đến 35%, 35% đến 40%, 40% đến 45%, 45% đến 50%, 50% đến 55%, 55% đến 60%, 60% đến 65%, 65% đến 70%, 70% đến 75%, và các lượng tương tự.

Theo một số phương án, axit palmitic có mặt trong chế phẩm sinh khối tảo theo sáng chế trong khoảng từ 1% đến 75% của lipit/axit béo tổng. Do vậy, axit palmitic có thể được cung cấp trong chế phẩm với tổng lượng axit béo bằng 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, khoảng 35%, khoảng 40%, khoảng 45%, khoảng 50%, khoảng 55%, khoảng 60%, khoảng 65%, khoảng 70%, khoảng 75%, và các lượng tương tự. Theo các phương án khác, axit palmitic có thể có mặt trong chế phẩm với tổng lượng axit béo trong khoảng từ 1% đến 5%, 1% đến 10%, 1% đến 15%, 1% đến 20%, 1% đến 25%, 1% đến 30%, 5% đến 10%, 5% đến 15%, 5% đến 20%, 5% đến 25%, 5% đến 30%, 10% đến 15%, 10% đến 20%, 10% đến 25%, 10% đến 30%, 15% đến 20%, 15% đến 25%, 15% đến 30%, 20% đến 25%,

20% đến 30%, 25% đến 30%, 30% đến 35%, 35% đến 40%, 40% đến 45%, 45% đến 50%, 50% đến 55%, 55% đến 60%, 60% đến 65%, 65% đến 70%, 70% đến 75%, và các lượng tương tự.

Các phương án bổ sung của sáng chế bao gồm các quy trình sản xuất các chất phụ gia cho thức ăn động vật. Do vậy, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất quy trình sản xuất chất phụ gia cho thức ăn động vật chứa lipit từ tảo (ví dụ, sinh khối tảo), quy trình này bao gồm các bước: nuôi cấy tảo để tạo ra sinh khối tảo chứa mức cao, mong muốn của tổng lượng chất béo (ví dụ, nhiều hơn 67% tổng lượng chất béo); và chiết lipit tảo từ sinh khối tảo để tạo ra dầu tảo; và/hoặc loại nước từ sinh khối tảo để tạo ra sinh khối tảo với hàm lượng chất rắn nằm trong khoảng từ khoảng 5% đến 100% khối lượng; trong đó chất phụ gia cho thức ăn động vật chứa lipit từ tảo. Theo một số phương án, axit béo được thu gom từ tảo là axit béo omega-3 mạch ngắn, mạch trung bình hoặc mạch dài. Theo các phương án khác, lipit tảo được chiết từ sinh khối tảo được kết hợp với sinh khối tảo với hàm lượng chất rắn nằm trong khoảng từ khoảng 5% đến 100% khối lượng.

Chất phụ gia cho thức ăn cho súc vật theo sáng chế có thể được kết hợp với các thành phần thực phẩm khác để tạo ra sản phẩm thức ăn cho súc vật hoặc thực phẩm đã được xử lý (ví dụ, sản phẩm thức ăn cho động vật và/hoặc người). Các thành phần thực phẩm khác này bao gồm một hoặc nhiều chất bổ sung enzym, chất phụ gia thực phẩm vitamin và chất phụ gia thực phẩm khoáng chất. Chất phụ gia cho thức ăn cho súc vật (kết hợp) thu được có thể được trộn với lượng thích hợp với các thành phần thực phẩm khác như các protein ngũ cốc và thực vật để tạo ra sản phẩm thực phẩm đã được xử lý. Việc xử lý các thành phần này thành sản phẩm thực phẩm đã được xử lý có thể được tiến hành bằng cách sử dụng các thiết bị xử lý thường được sử dụng. Chất phụ gia cho thực phẩm/thức ăn cho súc vật theo sáng chế có thể được dùng làm chất bổ sung trong thực phẩm/thức ăn cho súc vật một cách riêng rẽ, ngoài vitamin, khoáng chất, các enzym thức ăn cho súc vật khác, đồng sản phẩm nông nghiệp (ví dụ, cám mì hoặc bột gluten ngô), hoặc hỗn hợp với chúng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất quy trình tạo ra động vật và/hoặc người có hàm lượng axit béo omega-3 trong mô tăng, quy trình này bao gồm bước cho động vật/người ăn chất phụ gia cho thức ăn cho súc vật chứa lipit/axit béo được thu gom từ

tảo, chất phụ gia cho thức ăn cho súc vật này còn chứa: (a) lipit tảo được chiết từ sinh khối tảo đã được nuôi cấy và/hoặc (b) sinh khối tảo từ tảo đã được nuôi cấy, trong đó nước được loại bỏ khỏi sinh khối tảo để đạt được hàm lượng chất rắn nằm trong khoảng từ khoảng 5 đến 100% khối lượng, trong đó động vật/người cho thấy hàm lượng axit béo omega-3 trong mô tăng. Sáng chế không bị giới hạn ở động vật có vú cụ thể bất kỳ (ví dụ, động vật hoặc người) mà có thể được lợi từ chế phẩm theo sáng chế. Thực vậy, các động vật theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, động vật bất kỳ mà trứng, thịt, sữa hoặc các sản phẩm khác của nó được tiêu thụ bởi người hoặc các động vật khác. Do vậy, các động vật theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, cá, gia cầm (gà, gà tây, vịt, v.v.), lợn, cừu, dê, thỏ, bò và bò sữa.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ở động vật có vú ở đối tượng cần điều trị bằng cách cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu trị liệu của chế phẩm theo sáng chế. Theo một số phương án, bệnh ở động vật có vú mà được điều trị bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bệnh tim mạch, bệnh viêm, và các bệnh ung thư khác nhau. Theo các phương án khác, bệnh tim mạch cần được điều trị bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chứng tăng triglyxerit huyết, bệnh tim hình vành, đột quy, bệnh nhồi máu cơ tim cấp và bệnh xơ vữa động mạch. Theo các phương án khác, bệnh viêm cần được điều trị bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bệnh hen, bệnh khớp, bệnh viêm mi dị ứng, bệnh vẩy nến, bệnh vẩy da dị ứng, bệnh viêm ruột, bệnh Crohn, và viêm giác mạc dị ứng. Theo các phương án khác, bệnh ung thư cần được điều trị bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư vú và ung thư ruột kết. Theo các phương án bổ sung, bệnh ở động vật có vú cần được điều trị bao gồm các rối loạn tâm thần. Các rối loạn tâm thần bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bệnh trầm cảm, bệnh lưỡng cực, bệnh tâm thần phân liệt. Ngoài ra, chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để duy trì và/hoặc tăng cường chức năng nhận thức.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ở động vật có vú ở đối tượng cần điều trị bằng cách cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu trị liệu của chế phẩm lipit được tạo ra bởi và/hoặc thu được từ sinh khối tảo chứa mức cao của tổng lượng chất béo (ví dụ, nhiều hơn 67% tổng lượng chất béo). Các đối tượng mà có thể có lợi từ việc điều trị bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các đối tượng chim và động vật có vú. Động vật có vú theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chó, mèo, bò, dê, ngựa, cừu, lợn, loài gặm nhấm (ví dụ, chuột và chuột nhắt), động vật gặm

nhấm, động vật linh trưởng (bao gồm động vật linh trưởng không phải người), người, và các loài tương tự, và động vật có vú trước khi sinh. Đối tượng động vật có vú bất kỳ cần được điều trị theo sáng chế là thích hợp. Động vật có vú theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chó, mèo, bò, dê, ngựa, cừu, lợn, loài gặm nhấm (ví dụ, chuột và chuột nhắt), động vật gặm nhấm, động vật linh trưởng (bao gồm động vật linh trưởng không phải người), người, và các động vật tương tự, và động vật có vú trước khi sinh. Theo một số phương án theo sáng chế, động vật có vú là động vật có vú không phải người. Theo một số phương án, động vật có vú là đối tượng là người. Các đối tượng động vật có vú thuộc cả hai giống và ở giai đoạn phát triển bất kỳ (ví dụ, mới sinh, trẻ sơ, vị thành niên, thanh thiếu niên, thành niên) có thể được điều trị theo sáng chế. Các loài chim lấy làm ví dụ theo sáng chế bao gồm gà, vịt, gà tây, ngỗng, chim cút, gà lôi, loại chim chạy (ví dụ, đà điểu châu Phi), các loài chim được thuần hóa (ví dụ, vịt và chim hoàng yến), và chim trong trứng.

Tảo

Tảo bất kỳ có khả năng sản xuất, sử dụng các quy trình được mô tả trong bản mô tả này, mức cao của tổng lượng chất béo hoặc sinh khối tảo chứa mức cao của tổng lượng chất béo có thể được sử dụng trong các quy trình, chế phẩm, chất bổ sung dinh dưỡng, nhiên liệu sinh học và/hoặc tiền chất nhiên liệu sinh học và/hoặc các chất phụ gia cho thức ăn cho súc vật theo sáng chế. Do vậy, theo một số phương án, tảo theo sáng chế được chọn từ *Thraustochytrium*, *Dinophyceae*, *Cryptophyceae*, *Trebouxiophyceae*, *Pinguiophyceae*, và hỗn hợp của chúng. Theo các phương án khác, tảo theo sáng chế được chọn từ *Thraustochytrium striatum*, *Thraustochytrium roseum*, *Thraustochytrium aureum*, *Cryptocodinium cohnii*, *Parietochloris* spp., *Rhodomonas* spp., *Cryptomonas* spp., *Parietochloris* spp., *Hemisehnis* spp., *Porphyridium* spp., *Glossomastix* spp., và hỗn hợp của chúng. Theo các phương án khác, tảo theo sáng chế được chọn từ *Parietochloris incise*, *Rhodomonas salina*, *Hemiselmis brunescens*, *Porphyridium cruentum* và *Glossomastix chrysoplata*, và hỗn hợp của chúng. Theo các phương án khác, tảo theo sáng chế là *Schizochytrium limacinum*.

Theo một số phương án của sáng chế, tảo là hỗn hợp của các loài tảo khác nhau. Theo các phương án khác, tảo là loài tảo đơn. Theo một số phương án của sáng chế, lipid/axit béo tảo được tạo ra dưới dạng dầu tảo. Theo các phương án khác, lipid/axit

béo tảo được tạo ra dưới dạng sinh khối tảo (ví dụ, sinh khối được làm khô (ví dụ, được nghiền thành bột)).

Hơn nữa, tảo theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tảo kiểu đại, đột biến (tự nhiên hoặc được kích thích) hoặc được tạo ra bằng kỹ thuật di truyền. Theo phương án ưu tiên, tảo được sử dụng trong các quy trình, chế phẩm, chất bổ sung dinh dưỡng, nhiên liệu sinh học hoặc tiền chất nhiên liệu sinh học và/hoặc các chất phụ gia cho thức ăn cho súc vật theo sáng chế là vi sinh vật không được cải biến về mặt di truyền. Trong bản mô tả này, thuật ngữ "biến thể được cải biến về mặt di truyền," và "vi sinh vật được cải biến về mặt di truyền" chỉ chung tảo mà có hệ gen được cải biến (ví dụ, được làm đột biến, được thay đổi) từ dạng bình thường của nó (ví dụ, kiểu đại, có trong tự nhiên) sao cho đạt được kết quả mong muốn.

Ngoài ra, tảo theo sáng chế bao gồm tảo có các tế bào với thành tế bào có độ dày được làm giảm so với các tế bào của tảo kiểu đại, nhờ đó thành tế bào có độ dày được làm giảm cải thiện khả năng chiết và/hoặc độ sinh khả dụng của phân đoạn lipit tảo (ví dụ, cải thiện độ dễ tiêu hóa của tảo và khả năng dễ chiết của lipit/axit béo tảo từ các tế bào của sinh khối tảo). Tảo có các tế bào với thành tế bào có độ dày được làm giảm so với các tế bào của tảo kiểu đại có thể là có trong tự nhiên, được làm đột biến và/hoặc được tạo ra bằng kỹ thuật di truyền để có thành tế bào có độ dày được làm giảm so với chủng kiểu đại. Do vậy, theo một phương án của sáng chế, tảo là tảo có thành tế bào có độ dày được làm giảm so với tảo kiểu đại, nhờ đó thành tế bào có độ dày được làm giảm cải thiện khả năng chiết và/hoặc độ sinh khả dụng phân đoạn lipit tảo. Phương pháp sản xuất tảo có thành tế bào được làm giảm bao gồm các phương pháp được mô tả trong WO 2006/107736 A1, tài liệu này được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn. Do vậy, tảo có thể được làm đột biến với các chất gây đột biến đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, hóa chất hoặc chiếu xạ. Theo các phương án cụ thể, các chất gây đột biến hóa học bao gồm, nhưng không giới hạn ở, etyl metansulfonat (EMS), metylmetan sulfonat (MMS), N-etyl-N-nitrosoure (ENU), trietylmelamin (TEM), N-metyl-N-nitrosoure (MNU), procabazin, clorambuxil, xyclophosphamit, đietyl sulfat, acrylamit monome, melphalan, mù tạc nitơ, vincristin, đimetylnitrosamin, N-metyl-N'-nitro-Nitrosoguanidin (MNNG), nitrosoguanidin, 2-aminopurin, 7,12 đimetylbenz(a)anthracen (DMBA), etylen oxit, hexametylphosphoramit, bisulfan, diepoxyalkan

(diepoxyoctan (DEO), diepoxybutan (BEB), và các chất tương tự), 2-metoxi-6-clo-9(3-(etyl-2-chlor-o-etylpaminopropylamino)acridin dihydroclorua (ICR-170), formaldehyt, và các chất tương tự.

Phương pháp phát sinh đột biến bằng chiếu xạ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tia X, chiếu xạ gama, ánh sáng tia cực tím, và các phương pháp tương tự.

Các thể đột biến thành tế bào có thể được chọn trên cơ sở độ nhạy tăng đối với các chất tẩy rửa hoặc nhờ sự quan sát bằng kính hiển vi các biến đổi trong độ dày thành tế bào (xem, ví dụ, WO 2006/107736 A1) hoặc phương pháp bất kỳ khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này để phát hiện độ dày thành tế bào được làm giảm hoặc tính toàn vẹn của thành tế bào được làm giảm.

Tảo theo sáng chế có thể được nuôi cấy theo kỹ thuật được mô tả trong các Ví dụ 1-3.

Do đó, theo một số phương án, tảo được nuôi cấy ở nhiệt độ trong khoảng từ 10°C đến 35°C. Do vậy, tảo có thể được nuôi cấy ở nhiệt độ 10°C, 11°C, 12°C, 13°C, 14°C, 15°C, 16°C, 17°C, 18°C, 19°C, 20°C, 21°C, 22°C, 23°C, 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C, 30°C, 31°C, 32°C, 33°C, 34°C, và các nhiệt độ tương tự. Theo các phương án khác, tảo có thể được sinh trưởng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 35°C, mặc dù nhiệt độ lạnh hơn (ví dụ, nhỏ hơn 20°C) và ấm hơn (ví dụ, lớn hơn 35°C) có thể được sử dụng. Theo phương án ưu tiên, tảo được sinh trưởng ở nhiệt độ khoảng 30°C.

Theo một số phương án, sau khi nuôi cấy, tảo được thu hoạch. Theo một số phương án, việc thu hoạch tảo được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, phương pháp ly tâm, keo tụ hoặc lọc. Theo phương án ưu tiên, trước khi thu hoạch, môi trường nuôi cấy tảo được làm lạnh, nhờ đó cho phép các tế bào tảo chứa mức cao của tổng lượng chất béo được thu hoạch thành công. Các tế bào tảo hoặc sinh khối tảo đã được thu hoạch sau đó có thể được sử dụng trực tiếp dưới dạng nguồn lipid/axit béo hoặc được chiết để thu được dầu tảo chứa lipid/axit béo. Theo một số phương án trong đó sinh khối tảo được sử dụng trực tiếp, nước được loại bỏ khỏi sinh khối tảo để đạt được hàm lượng chất rắn nằm trong khoảng từ khoảng 5 đến 100 phần trăm khối lượng. Theo các phương án bổ sung, sinh khối tảo

mà được sử dụng trực tiếp được tạo ra từ các tế bào tảo còn bao gồm thành tế bào mà được phá vỡ ít nhất một phần để làm tăng khả năng chiết và/hoặc độ sinh khả dụng của dầu tảo trong các tế bào. Sự phá vỡ các tế bào tảo có thể được tiến hành theo kỹ thuật đã biết bao gồm, nhưng không giới hạn ở, xử lý các tế bào bằng nước sôi hoặc bằng cách phá vỡ cơ học như nghiền, tán thành bột, khuấy âm, nén French, hoặc phương pháp bất kỳ khác đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Khi sinh khối tảo được sử dụng trực tiếp, nước được loại bỏ ra khỏi sinh khối tảo để đạt được hàm lượng chất rắn nằm trong khoảng từ khoảng 5 đến 100%. Do đó, theo một số phương án, nước được loại bỏ ra khỏi sinh khối tảo để đạt được hàm lượng chất rắn khoảng 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%, và các hàm lượng tương tự. Các phương án bổ sung, nước được loại bỏ ra khỏi sinh khối tảo để đạt được hàm lượng chất rắn nằm trong khoảng từ khoảng 5% đến 50%, 5% đến 60%, 5% đến 70%, 5% đến 80%, 5% đến 90%, 5% đến 95%, 10% đến 30%, 10% đến 40%, 10% đến 50%, 10% đến 60%, 10% đến 65%, 10% đến 70%, 10% đến 75%, 10% đến 80%, 10% đến 85%, 10% đến 90%, 10% đến 95%, 10% đến 100%, 15% đến 40%, 15% đến 50%, 15% đến 60%, 15% đến 65%, 15% đến 70%, 15% đến 75%, 15% đến 80%, 15% đến 85%, 15% đến 90%, 15% đến 95%, 15% đến 100%, 20% đến 50%, 20% đến 60%, 20% đến 65%, 20% đến 70%, 20% đến 75%, 20% đến 80%, 20% đến 85%, 20% đến 90%, 20% đến 95%, 20% đến 100%, 25% đến 50%, 25% đến 60%, 25% đến 70%, 25% đến 75%, 25% đến 80%, 25% đến 85%, 25% đến 90%, 25% đến 95%, 25% đến 100%, 30% đến 50%, 30% đến 60%, 30% đến 70%, 30% đến 75%, 30% đến 80%, 30% đến 85%, 30% đến 90%, 30% đến 95%, 45% đến 100%, 50% đến 70%, 50% đến 75%, 50% đến 80%, 50% đến 85%, 50% đến 90%, 50% đến 95%, 50% đến 100%, 55% đến 75%, 55% đến 80%, 55% đến 85%, 55% đến 90%, 55% đến 95%, 55% đến 100%, 60% đến 75%, 60% đến 80%, 60% đến 85%, 60% đến 90%, 60% đến 95%, 60% đến 100%, 70% đến 80%, 70% đến 85%, 70% đến 90%, 70% đến 95%, 70% đến 100%, 75% đến 85%, 75% đến 90%, 75% đến 95%, 75% đến 100%, 80% đến 85%, 80% đến 90%, 80% đến

95%, 80% đến 100%, 85% đến 90%, 85% đến 95%, 85% đến 100%, 90% đến 95%, 95% đến 100%, và các hàm lượng tương tự.

Theo một số phương án, các tế bào tảo của sinh khối được phá vỡ hoặc được làm tan và lipit tảo được chiết. Các tế bào tảo có thể được chiết uớt hoặc khô theo kỹ thuật thông thường để tạo ra chế phẩm chứa lipit/axit béo. Việc phá vỡ hoặc làm tan các tế bào tảo có thể được tiến hành theo kỹ thuật thông thường bao gồm, nhưng không giới hạn ở, xử lý các tế bào bằng nước sôi hoặc bằng cách phá vỡ cơ học như nghiền, tán thành bột, khuấy âm, nén French, hoặc phương pháp bất kỳ đã biết khác. Việc chiết lipit/axit béo từ các tế bào đã được làm tan theo các phương pháp chuẩn được sử dụng với tảo và các sinh vật khác mà đã được biết bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tách pha lỏng khỏi pha rắn sau khi làm tan tế bào, chiết lipit/axit béo trong pha lỏng bằng cách bổ sung dung môi, làm bay hơi dung môi, và thu hồi lipit/axit béo thu được từ pha lỏng của các tế bào đã được làm tan.

Sáng chế không bị giới hạn ở dung môi cụ thể bất kỳ được sử dụng để chiết. Dung môi bao gồm, nhưng không giới hạn ở, hexan, clorofom, etanol, metanol, isopropanol, dietyl ete, dioxan, isopropyl ete, điclotetan, tetrahydrofuran, ete dầu mỏ và hỗn hợp của chúng.

Theo một số phương án, lipit/axit béo được tạo ra từ sinh khối tảo theo sáng chế được cung cấp ở dạng axit béo tự do, cholesterol este, muối este, este của axit béo, monoglyxerit, diglyxerit, triglyxerit, điaxylglyxerol, monoglyxerol, sphingophospholipit, sphingoglycolipit, hoặc hỗn hợp bất kỳ của chúng (ví dụ, để sử dụng trong các quy trình, chế phẩm, nhiên liệu sinh học, sản phẩm thực phẩm, chất bổ sung dinh dưỡng, các chất phụ gia cho thức ăn cho súc vật hoặc các chế phẩm khác được mô tả trong bản mô tả này).

Phương pháp điều chế sinh khối tảo

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế sinh khối tảo chứa mức cao của tổng lượng chất béo (ví dụ, nhiều hơn 67% lipit), bao gồm bước: nuôi cấy tảo trong điều kiện nuôi cấy đủ để tạo ra sinh khối tảo chứa mức cao của tổng lượng chất béo (ví dụ, nhiều hơn 67% lipit), trong đó sinh khối tảo được thu hoạch khi kết thúc pha sinh trưởng lôgarit của tảo (Xem, chẳng hạn, Ví dụ 1 và 2). Trong bản mô tả này, thuật ngữ "pha sinh trưởng lôgarit" chỉ giai đoạn của việc nuôi cấy, đặc trưng ở

chỗ, số lượng tế bào tăng theo hàm mũ. Nhìn chung, trong hệ nuôi cấy, có kiểu sinh trưởng đặc trưng sau quá trình nuôi cấy mà bao gồm pha lag, pha sinh trưởng theo hàm mũ hoặc "pha sinh trưởng lôgarit", pha tăng tốc sinh trưởng âm tính, và trạng thái bình ổn hoặc "pha tĩnh." Ví dụ, trong pha sinh trưởng lôgarit, vì sự sinh trưởng của tảo diễn ra liên tục, các tế bào có thể đạt đến tốc độ phân chia tế bào cực đại của chúng và số lượng tế bào tăng trong mối quan hệ log với thời gian. Trong khoảng thời gian sau khi bắt đầu pha log, tốc độ phân chia tế bào có thể bắt đầu giảm và một số tế bào có thể bắt đầu chết. Điều này được phản ánh trên đường cong sinh trưởng bởi sự trải phẳng dần dần của đường. Cuối cùng, tỷ lệ của các tế bào chết về cơ bản bằng tỷ lệ của các tế bào phân chia, và toàn bộ quần thể sống sót có thể duy trì được trạng thái này trong một khoảng thời gian. Đây được biết là pha tĩnh hoặc pha trạng thái bình ổn và được biểu thị trên đường cong sinh trưởng dưới dạng sự trải phẳng của đường trong đó hệ số góc tiến đến không. Theo phương án ưu tiên, sinh khối tảo được nuôi cấy trong các điều kiện vô trùng (ví dụ, để ngăn ngừa sự nhiễm tạp và/hoặc sự sinh trưởng của các vi sinh vật làm nhiễm bẩn (ví dụ, nấm men, vi khuẩn, virus, v.v.) trong môi trường nuôi cấy).

Theo một số phương án, điều kiện nuôi cấy là đủ cho tảo tạo ra mức cao của tổng lượng chất béo (ví dụ, nhiều hơn 67% tính theo khối lượng). Các điều kiện nuôi cấy bao gồm môi trường nuôi cấy thích hợp cho sự sinh trưởng của tảo nhờ đó tạo ra sinh khối tảo bao gồm mức cao của tổng lượng chất béo (ví dụ, nhiều hơn 67% tính theo khối lượng). Môi trường nuôi cấy thích hợp được mô tả trong bản mô tả này. Môi trường cũng có thể bao gồm muối, vitamin, khoáng chất, kim loại, và các dưỡng chất khác. Tốt hơn là, điều kiện nuôi cấy là đủ để cung cấp lượng thích hợp của dưỡng chất và nhiệt độ cho tảo sinh trưởng trong các điều kiện mà tạo ra sinh khối tảo chứa mức cao của tổng lượng chất béo.

Theo một số phương án, việc nuôi cấy bao gồm việc hạn chế dưỡng chất (ví dụ nitơ, phospho) trong thời gian thích hợp để làm tăng tổng lượng chất béo. Ví dụ, môi trường nuôi cấy có thể được làm thiếu hụt một số dưỡng chất nhất định hoặc được chuyển tới môi trường nuôi cấy riêng rẽ không có dưỡng chất đặc hiệu (ví dụ, môi trường không có phospho hoặc không có nitơ, hoặc môi trường nuôi cấy chứa mức thấp hơn của dưỡng chất). Theo một số phương án, môi trường nuôi cấy chứa hàm lượng ban đầu của dưỡng chất sao cho dưỡng chất đó được tiêu thụ tại thời điểm sau

đó trong quá trình sinh trưởng theo hàm mũ nhưng trước khi tiêu thụ các dưỡng chất khác. Theo một số phương án, việc nuôi cấy không bao gồm việc hạn chế dưỡng chất (ví dụ, nitơ, phospho) trong quá trình nuôi cấy. Theo một số phương án, việc nuôi cấy sinh khối tảo đơn xảy ra trong hai hoặc nhiều loại môi trường theo cách liên tục. Theo một số phương án, việc nuôi cấy sinh khối tảo đơn xảy ra trong ba hoặc nhiều hơn ba loại môi trường theo cách liên tục. Theo cách tương tự, việc nuôi cấy sinh khối tảo đơn có thể xảy ra trong hai hoặc nhiều bình, trong đó bình thứ nhất được sử dụng để nuôi cấy bình tiếp theo, bình tiếp theo được sử dụng để nuôi cấy bình tiếp theo khác nữa, và cứ tiếp tục như vậy. Mặc dù việc hiểu cơ chế không cần thiết để thực hiện sáng chế, và sáng chế không bị giới hạn ở cơ chế tác dụng cụ thể bất kỳ, theo một số phương án, việc nuôi cấy liên tục sinh khối tảo đơn trong nhiều bình chứa nhiều loại môi trường cho phép sinh khối tảo sinh trưởng theo cách sao cho tổng lượng chất béo của sinh khối là cao so với sự sinh trưởng của sinh khối tảo (ví dụ, của cùng loài tảo) được sinh trưởng trong một bình và/hoặc một môi trường phát triển.

Việc nuôi cấy tảo có thể được thực hiện trong thiết bị phản ứng sinh học thông thường thích hợp cho việc nuôi cấy tảo để cung cấp sinh khối tảo. Ví dụ, tảo có thể được nuôi cấy bởi quy trình bao gồm, nhưng không giới hạn ở, theo mẻ, mẻ có cung cấp dinh dưỡng, tuần hoàn tế bào, và lên men liên tục. Theo phương án ưu tiên, tảo được nuôi cấy trong quy trình nuôi cấy mẻ có cung cấp dinh dưỡng.

Sáng chế không bị giới hạn ở cách hoặc phương pháp cụ thể bất kỳ để thu hoạch tảo từ môi trường nuôi cấy. Nhiều phương pháp có thể được sử dụng để thu hoạch các tế bào tảo từ môi trường nuôi cấy. Theo một phương án, việc thu hoạch bao gồm thu hồi sinh khối tảo từ môi trường nuôi cấy bằng cách phân tách, ví dụ bằng cách lọc (ví dụ, lọc đai ngang, lọc thùng quay) và/hoặc ly tâm. Nếu cần, các tế bào tảo đã được thu hoạch sau đó có thể được rửa, được làm đông lạnh, được làm đông khô nhanh, được sấy phun, và/hoặc được bảo quản trong môi trường khí không oxy hóa (ví dụ, CO₂, N₂) để làm giảm hoặc loại bỏ sự có mặt của O₂. Tùy ý, chất chống oxy hóa tổng hợp và/hoặc tự nhiên bao gồm, nhưng không giới hạn ở, hydroxytoluen được butyl hóa (BHT), hydroxyanisol được butyl hóa (BHA), tert-butylhydroquinon (TBHQ), etoxyquin, beta-caroten, vitamin E, và vitamin C cũng có thể được bổ sung vào các tế bào đã được thu hoạch.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế sinh khối tảo chứa mức cao của tổng lượng chất béo, phương pháp này bao gồm các bước: nuôi cấy tảo trong điều kiện nuôi cấy đủ để tạo ra sinh khối tảo chứa mức cao của tổng lượng chất béo và thu hoạch sinh khối tảo.

Sinh khối vi tảo

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất sinh khối tảo và/hoặc phân đoạn và/hoặc chiết xuất của chúng (ví dụ, để sử dụng trong sản xuất nhiên liệu sinh học và/hoặc để làm sản phẩm thực phẩm hoặc thức ăn cho súc vật).

Theo một số phương án, sinh khối tảo chứa chứa hàm lượng axit béo omega-3 là ít nhất 10% khối lượng khô của sinh khối, ví dụ, khoảng 10% đến khoảng 50%, khoảng 10% đến khoảng 40%, khoảng 10% đến khoảng 30%, khoảng 10% đến khoảng 20% khối lượng khô của sinh khối. Theo một phương án, sinh khối tảo được điều chế theo phương pháp theo sáng chế. Ví dụ, theo một số phương án, sinh khối tảo được điều chế bằng phương pháp bao gồm bước: nuôi cấy tảo trong điều kiện nuôi cấy đủ để tạo ra sinh khối tảo chứa mức tổng lượng chất béo cao (ví dụ, nhiều hơn 67% khối lượng), trong đó sinh khối tảo được thu hoạch ở pha tăng tốc sinh trưởng âm tính hoặc pha tĩnh. Theo phương án khác, sinh khối tảo được thu hoạch từ môi trường nuôi cấy trong pha sinh trưởng lôgarit, theo hàm mũ.

Chế phẩm lipit được điều chế từ sinh khối tảo

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế chiết xuất lipit/axit béo (ví dụ, chế phẩm lipit/axit béo) từ sinh khối tảo được sinh trưởng trong các điều kiện để chứa mức cao của tổng lượng chất béo, phương pháp này bao gồm thu được lipit từ sinh khối tảo được nuôi cấy trong điều kiện nuôi cấy đủ để tạo ra sinh khối tảo với hàm lượng tổng lượng chất béo cao (ví dụ, hàm lượng tổng lượng chất béo nhiều hơn 67% của sinh khối), trong đó sinh khối tảo được thu hoạch ở pha tăng tốc sinh trưởng âm tính hoặc pha tĩnh của tảo. Theo phương án khác, sinh khối tảo được thu hoạch trong pha sinh trưởng lôgarit của tảo.

Phương pháp để thu được chế phẩm lipit từ sinh khối tảo theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chiết, nhiệt, áp suất, xà phòng hóa, khuấy âm, làm đông lạnh, nghiền, trao đổi ion, sắc ký, phân tách màng, điện thẩm tích, thẩm thấu ngược, chưng cất, tạo dẫn xuất hóa học, kết tinh, v.v.. Ví dụ, lipit tảo có thể được chiết từ các

tế bào tảo bằng phương pháp thích hợp bất kỳ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chiết bằng dung môi bao gồm, nhưng không giới hạn ở, etanol, etyl axetat, rượu isopropylic, metanol, etyl axetat, hexan, metylen clorua, metanol, dầu mỏ, clorofom, và các chất tương tự, hoặc bằng các hydrocacbon lỏng đã được tăng áp như butan, pentan, propan, hoặc các chất khác (có hoặc không có chất đồng dung môi), hoặc thông qua việc chiết bằng chất lỏng siêu tới hạn (có hoặc không có chất đồng dung môi). Tùy ý, dầu lipit/axit béo đã được chiết được làm bay hơi dưới áp suất giảm để làm giảm hoặc loại bỏ dung môi và/hoặc tạo ra mẫu của nguyên liệu lipit đã được cô. Theo các phương án khác, các tế bào được phá vỡ hoặc được làm tan để thu được chế phẩm lipit, ví dụ, thành dạng dầu (ví dụ, để sử dụng làm nhiên liệu sinh học hoặc tiền chất nhiên liệu sinh học). Theo một số phương án, các dầu đã được chiết được tinh chế. Sáng chế không bị giới hạn bởi cách tinh chế. Theo một số phương án, các dầu đã được chiết được tinh chế theo cách hóa học. Theo một số phương án, các dầu đã được chiết được tinh chế theo cách vật lý. Theo một số phương án, các dầu đã được chiết được tinh chế cả theo cách hóa học và theo cách vật lý. Các dầu đã được chiết (ví dụ, từ sinh khối tảo được sinh trưởng trong các điều kiện để làm tăng tổng lượng chất béo của tế bào tảo (ví dụ, trên 67%)) có thể được tinh chế bằng cách sử dụng phương pháp tinh chế thông thường bất kỳ. Quy trình tinh chế có thể loại bỏ một số hoặc tất cả các tạp chất từ lipit/axit béo/dầu đã được chiết. Theo một số phương án, quy trình tinh chế bao gồm một hoặc nhiều bước để khử keo, tẩy trắng, lọc, khử mùi và/hoặc làm bóng lipit/axit béo/dầu đã được chiết.

Theo một số phương án, lipit/axit béo/dầu có mặt trong chế phẩm lipit đã được chiết được cô bằng cách thủy phân lipit để cô đặc phân đoạn lipit bằng cách sử dụng phương pháp như, ví dụ, tạo sản phẩm cộng ure, chưng cất phân đoạn, sắc ký cột, và/hoặc cất phân đoạn chất lỏng siêu tới hạn.

Do đó, theo một phương án, bước thu được chế phẩm lipit từ sinh khối tảo theo sáng chế bao gồm bước chiết chế phẩm lipit từ sinh khối. Theo phương án khác, bước thu được chế phẩm lipit từ sinh khối tảo theo sáng chế bao gồm bước cho sinh khối tiếp xúc với dung môi phân cực.

Ví dụ, theo một số phương án, lipit/axit béo/dầu được chiết từ sinh khối tảo để tạo ra chế phẩm lipit bằng cách sử dụng dung môi trong điều kiện chiết đủ để chiết

lipit và/hoặc axit béo nhưng không đủ để chiết hợp chất mà không tan trong dung môi. Theo một phương án, chế phẩm lipit/axit béo được chiết từ sinh khối tảo theo sáng chế, trong đó mảnh vụn tế bào và/hoặc hợp chất không tan đã được kết tủa được tách ra khỏi phân đoạn chứa lipit/axit béo và dung môi. Theo phương án khác, phương pháp này còn bao gồm bước tách pha mảnh vụn tế bào và hợp chất đã được kết tủa sử dụng phương pháp tách như lọc, ly tâm, và/hoặc sự kết hợp của các phương pháp này. Theo một số phương án, mảnh vụn tế bào và/hoặc hợp chất không tan đã được kết tủa (ví dụ, phần sinh khối tảo không tan trong dung môi (ví dụ, các protein, sợi, v.v.) được thu hồi và được sử dụng (ví dụ, trong sản phẩm thực phẩm hoặc thức ăn cho súc vật).

Theo một số phương án, dung môi là dung môi phân cực. Ví dụ về dung môi phân cực bao gồm, nhưng không giới hạn ở, etanol, etyl axetat, rượu isopropyllic, metanol, etyl axetat, và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án, dung môi phân cực là etanol. Việc chiết chế phẩm lipit với dung môi có thể được tiến hành theo nhiều cách. Ví dụ, việc chiết có thể là quy trình theo mẻ, quy trình liên tục, hoặc quy trình đảo dòng liên tục. Trong quy trình đảo dòng liên tục, việc cho dung môi tiếp xúc với vi tảo sẽ chiết dầu vào dung môi này, tạo ra phân đoạn dung môi-dầu càng ngày càng nhiều hơn.

Sau khi chiết, dung môi có thể được loại bỏ bằng cách sử dụng phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, chưng cất, làm bay hơi kiểu quay, hoặc thiết bị làm bay hơi kiểu màng nâng và cất phần nhẹ bằng hơi nước hoặc thiết bị tách dung môi thích hợp bất kỳ có thể được sử dụng để loại bỏ dung môi.

Theo một phương án, lipit/axit béo đã được chiết được cho tiếp xúc với quy trình hấp thụ (ví dụ, tẩy trắng) để loại bỏ một hoặc nhiều hợp chất không mong muốn như, ví dụ, các thể màu và/hoặc phosphatit mà có thể có mặt. Theo một số phương án, quy trình hấp thụ là quy trình tẩy trắng bao gồm việc cho phần chiết lipit/axit béo tiếp xúc với nguyên liệu tẩy trắng (ví dụ, đất trung tính (ví dụ, đất sét tự nhiên hoặc đất tẩy màu), đất được hoạt hóa bởi axit, than hoạt tính, đất sét được hoạt hóa, silicat, và hoặc hỗn hợp của chúng). Sáng chế không bị giới hạn bởi lượng nguyên liệu tẩy trắng được sử dụng.

Theo một phương án, lipit/axit béo đã được chiết được khử keo. Phương pháp khử keo là đã biết trong lĩnh vực này và bao gồm, ví dụ, khử keo bằng nước, khử keo

bằng axit, khử keo bằng enzym, và khử keo bằng màng. Theo một số phương án, chiết xuất lipid/axit béo được khử keo (ví dụ, sau quy trình hấp thụ), trong đó việc khử keo bao gồm việc cho chiết xuất lipid/axit béo tiếp xúc với hỗn hợp của dung dịch axit trong nước mà ở lượng hữu hiệu để kết tủa gôm và/hoặc hợp chất kiểu chất diệp lục mà có thể có mặt trong chế phẩm chiết xuất lipid/axit béo. Sáng chế không bị giới hạn bởi loại hoặc lượng của dung dịch axit trong nước được sử dụng. Theo một phương án, hỗn hợp của các dung dịch axit trong nước bao gồm axit sulfuric và/hoặc axit phosphoric. Theo phương án khác, các lượng bằng nhau của các dung dịch axit trong nước được trộn với chế phẩm lipid. Theo phương án ưu tiên, khi được trộn với dầu, dung dịch axit trong nước ở lượng đủ để tạo ra độ pH axit. Các chất kết tủa tạo thành sau khi trộn axit có thể được loại ra khỏi chế phẩm lipid, ví dụ bằng cách sử dụng phương pháp ly tâm và/hoặc lọc (ví dụ, lọc màng). Theo một số phương án, chế phẩm chiết xuất lipid/axit béo đã được khử keo được làm khô (ví dụ, để làm giảm hàm lượng hơi ẩm của chế phẩm). Sáng chế không bị giới hạn bởi điều kiện làm khô (ví dụ, thời gian, nhiệt độ, và/hoặc điều kiện chân không). Như được mô tả trong bản mô tả này, theo một số phương án, hàm lượng hơi ẩm của chế phẩm lipid/axit béo đã được làm khô là nhỏ hơn khoảng 10% khối lượng (ví dụ, nhỏ hơn khoảng 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05, hoặc 0,01% khối lượng).

Chế phẩm lipid

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm lipid được điều chế từ sinh khối tảo theo sáng chế. Theo một số phương án, chế phẩm lipid được điều chế theo phương pháp theo sáng chế. Ví dụ, theo một số phương án, chế phẩm lipid là sinh khối tảo hoặc phần/phân đoạn của chúng từ tảo thuộc giống *Thraustochytrium*. Theo một số phương án, sinh khối tảo chứa tảo được chọn từ *Dinophyceae*, *Cryptophyceae*, *Trebouxiophyceae*, *Pinguiophyceae*, và/hoặc hỗn hợp của chúng. Theo các phương án khác, sinh khối tảo chứa tảo được chọn từ *Thraustochytrium striatum*, *Thraustochytrium roseum*, *Thraustochytrium aureum*, *Cryptocodinium cohnii*, *Parietochloris* spp., *Rhodomonas* spp., *Cryptomonas* spp., *Parietochloris* spp., *Hemisebnis* spp., *Porphyridium* spp., *Glossomastix* spp., và/hoặc hỗn hợp của chúng. Theo các phương án khác, sinh khối tảo chứa tảo được chọn từ *Parietochloris incise*, *Rhodomonas saiina*, *Hemisebnis brimescens*, *Porphyridium cruentum* và *Glossomastix*

chrysoplata, và hỗn hợp của chúng. Theo phương án ưu tiên, sinh khối tảo chứa *Schizochytrium limacinum*.

Sản phẩm thực phẩm và các chất phụ gia cho thức ăn động vật

Theo một số phương án, sinh khối tảo tế bào hoàn chỉnh, phân đoạn, và/hoặc chiết xuất của chúng được sử dụng để tiêu thụ (ví dụ, bởi động vật có vú (ví dụ, sự tiêu thụ bởi người hoặc động vật)) hoặc để làm chất phụ gia cho thực phẩm (ví dụ, để làm tăng hàm lượng lipid và/hoặc các thành phần dinh dưỡng của thực phẩm). Ví dụ, theo một số phương án, khi được dùng làm thức ăn động vật (ví dụ, thức ăn cho gia súc, thức ăn cho bầy bò sữa, thức ăn cho nuôi trồng thủy sản, thức ăn cho gia cầm, v.v.), lipid/axit béo được sản xuất bởi sinh khối tảo theo sáng chế được đưa vào sản phẩm thực phẩm (ví dụ, thức ăn động vật). Theo một số phương án, sinh khối tảo tế bào hoàn chỉnh, phân đoạn, và/hoặc chiết xuất của chúng được sử dụng cho các mục đích được phẩm hoặc dinh dưỡng và/hoặc các ứng dụng công nghiệp.

Sinh khối tảo tế bào hoàn chỉnh, phân đoạn, và/hoặc chiết xuất của chúng có thể được cung cấp ở bất kỳ một trong số các dạng/chế phẩm khác nhau thích hợp cho ứng dụng hoặc sử dụng cụ thể. Theo một số phương án, sinh khối tảo tế bào hoàn chỉnh, phân đoạn, và/hoặc chiết xuất của chúng được tạo ra. Theo phương án khác, sinh khối tảo tế bào hoàn chỉnh, phân đoạn, và/hoặc chiết xuất của chúng được tạo ra ở dạng được nghiền thành bột hoặc dưới dạng dầu tự do được tạo ra ở dạng lỏng (ví dụ, chế phẩm lipid hoặc phân đoạn hoặc sản phẩm cô của chúng). Sinh khối tảo tế bào hoàn chỉnh, phân đoạn, và/hoặc chiết xuất của chúng có thể được sử dụng cho sự tiêu thụ của người và/hoặc động vật. Ví dụ, theo một số phương án, sinh khối tảo tế bào hoàn chỉnh, phân đoạn, và/hoặc chiết xuất của chúng được tạo ra dưới dạng hoặc được kết hợp vào thức ăn cho súc vật, chất bổ sung dinh dưỡng, thực phẩm, dược phẩm, sản phẩm sữa, và/hoặc sữa công thức dùng cho trẻ em.

Ví dụ, theo một phương án, sinh khối tảo tế bào hoàn chỉnh, phân đoạn, và/hoặc chiết xuất của chúng được làm khô (ví dụ, sấy phun, làm khô kiểu tunen, làm khô chân không) và được dùng làm chất bổ sung cho thức ăn cho súc vật hoặc thực phẩm cho động vật bất kỳ hoặc sinh vật nuôi trồng thủy sản (ví dụ, cá, tôm, cua, tôm hùm, v.v.) mà thịt và/hoặc sản phẩm của nó được tiêu thụ bởi người hoặc động vật (ví dụ, vật nuôi kiểng, vật nuôi). Theo phương án khác, sinh khối tảo tế bào hoàn chỉnh, phân

đoạn, và/hoặc chiết xuất của chúng được trộn với chất khử ẩm khô (ví dụ, hạt đã được nghiền như bột ngô).

Chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này có thể được dùng làm sản phẩm thực phẩm hoàn chỉnh, làm thành phần của sản phẩm thực phẩm, làm chất bổ sung dinh dưỡng hoặc làm một phần của chất bổ sung dinh dưỡng, làm chất phụ gia cho thức ăn cho súc vật và có thể ở dạng lỏng, bán rắn hoặc rắn. Ngoài ra, chế phẩm theo sáng chế có thể ở dạng dược phẩm. Chế phẩm, chất bổ sung dinh dưỡng, sản phẩm thực phẩm, sản phẩm thực phẩm cho trẻ em, các chất phụ gia cho thức ăn cho súc vật, và/hoặc dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng trong phương pháp để tăng cường sức khỏe của cá thể. Chế phẩm có thể là ở dạng lỏng, bán rắn hoặc rắn. Ví dụ, chế phẩm có thể được sử dụng dưới dạng viên nén, gói gel, viên nang, viên nang gelatin, thức uống được tạo hương, dưới dạng bột mà có thể được hoàn nguyên thành thức uống này, dầu ăn, dầu salad hoặc đồ gia vị, nước sốt, xi-rô, nước sốt mayonnaise, macgarin hoặc dạng tương tự. Hơn nữa, sản phẩm thực phẩm, chất bổ sung dinh dưỡng, và các dạng tương tự, theo sáng chế có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sản phẩm sữa, thực phẩm cho trẻ em, sữa công thức cho trẻ, đồ uống, thanh, bột, thực phẩm có lớp bọc, thức uống, ngũ cốc, kem, kẹo, hỗn hợp ăn nhanh, sản phẩm thực phẩm được nướng và sản phẩm thực phẩm được rán. Đồ uống theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, thức uống năng lượng, thức uống dưỡng dược, đồ uống làm từ hoa quả tươi, thức uống thể thao, nước cam và các thức uống trái cây khác. Thanh theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, đồ thay thế thức ăn, thanh dinh dưỡng, thanh dùng ăn nhanh và thanh cung cấp năng lượng, thanh được ép, và các dạng tương tự. Sản phẩm sữa theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sữa chua, thức uống sữa chua, phô mát và sữa. Chế phẩm được dự định để cấp qua đường miệng có thể được điều chế theo phương pháp bất kỳ đã biết để sản xuất chất bổ sung dinh dưỡng hoặc dược phẩm, và các chế phẩm này có thể bao gồm ít nhất một chất phụ gia được chọn từ nhóm bao gồm các chất cải thiện mùi vị, như chất làm ngọt hoặc hương liệu, chất làm ổn định, chất nhũ hoá, chất tạo màu và chất bảo quản để tạo ra chế phẩm dễ chịu về mặt dinh dưỡng hoặc dược phẩm. Vitamin, khoáng chất và yếu tố vết từ nguồn chất nhận được về mặt sinh lý bất kỳ cũng có thể có mặt trong chế phẩm theo sáng chế.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm chế phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu trị liệu. Chế phẩm theo sáng chế có thể được bào chế để sử

dụng theo các kỹ thuật được đã biết. Xem, ví dụ, Remington, The Science and Practice of Pharmacy (9th Ed. 1995). Trong sản xuất dược phẩm theo sáng chế, chế phẩm lipit (bao gồm muối chấp nhận được về mặt sinh lý của chúng) thường được trộn với, không kể những thành phần khác, chất mang chấp nhận được. Chất mang này sẽ tương thích với các thành phần bất kỳ khác trong chế phẩm và phải không có hại đối với đối tượng.

Nhiên liệu sinh học

Nhiều công nghệ hiện có để sản xuất nhiên liệu sinh học từ tảo là đắt tiền, không hiệu quả và không ổn định được khi được thực hiện ở quy mô mà cần phải thay thế được phân đoạn có ý nghĩa bất kỳ của diesel dầu mỏ trên thị trường. Nguồn cung cấp và phí tổn năng lượng để thu hoạch và xử lý tảo thường được đánh giá thấp. Để sản xuất diesel sinh học từ tảo thông thường, tảo thường được thu hoạch từ môi trường nuôi cấy ở nồng độ khoảng 0,2 g/L trong nước. Tảo đã được thu hoạch sau đó được loại nước, điều này làm tăng nồng độ tảo để tạo thành dạng bột nhão của tảo có hàm lượng chất rắn khoảng 15%. Dạng bột nhão này sau đó được làm khô hoàn toàn bằng cách làm bay hơi nước. Dầu sau đó được chiết từ tảo đã được làm khô bằng dung môi hữu cơ, như hexan, mà được loại bỏ bằng cách chưng cất từ dầu tảo. Phương pháp thông thường này để tạo ra diesel sinh học từ tảo là rất đắt.

Ví dụ, khi tảo sinh trưởng trong thể nước tự nhiên, sinh khối tảo là tương đối loãng xét theo thể tích của nước. Việc sản xuất một galông dầu cần xử lý khoảng 20.000 đến 40.000 galông nước. Chi phí năng lượng vận chuyển và xử lý thể tích nước lớn này là cao. Ví dụ, 2500 galông dầu/mẫu Anh/năm có thể được sản xuất nếu tảo với 25% khối lượng của nó dưới dạng lipit có thể được sản xuất ở 25 g/m.sup.2/ngày. Đối với ví dụ này, 50 triệu galông nước phải được xử lý để tạo ra 2500 galông dầu. Phương pháp chuẩn để bơm nước đến nhà máy trung tâm để loại nước là quá tốn năng lượng và tốn chi phí. Ví dụ, nhà máy dầu tảo tương đối nhỏ mà sản xuất 20 triệu gal/năm sẽ tiêu tốn năng lượng để bơm nước từ bể đến nhà máy trung tâm nhiều hơn so với năng lượng được chứa trong sản phẩm dầu, dẫn đến cân bằng năng lượng thực âm tính.

Do đó, theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế sinh khối tảo và/hoặc chiết xuất lipit/axit béo (ví dụ, chế phẩm lipit/axit béo) từ sinh khối tảo, được sinh trưởng trong các điều kiện để chứa mức cao của tổng lượng chất béo,

phương pháp này bao gồm bước tạo ra lipit từ sinh khối tảo được nuôi cấy trong điều kiện nuôi cấy đủ để tạo ra sinh khối tảo với hàm lượng tổng lượng chất béo cao (ví dụ, hàm lượng tổng lượng chất béo nhiều hơn 67% của sinh khối), trong đó sinh khối tảo được thu hoạch ở pha tăng tốc sinh trưởng âm tính hoặc pha tĩnh của tảo. Theo phương án khác, sinh khối tảo được thu hoạch trong pha sinh trưởng lôgarit của tảo. Phương pháp để thu được chế phẩm lipit từ sinh khối tảo theo sáng chế được mô tả trong bản mô tả này.

Do đó, theo một số phương án, sáng chế đề xuất nguyên liệu nhiên liệu sinh học hoặc nhiên liệu sinh học chứa lipit, hydrocacbon, hoặc cả hai, được tạo ra từ môi trường nuôi cấy tảo và/hoặc sinh khối tảo được tạo thành theo phương pháp theo sáng chế. Theo một số phương án, lipit hoặc chế phẩm tảo chứa chúng được phân chia theo độ phân cực: lipit trung tính và lipit phân cực. Lipit trung tính chủ yếu là các triglycerit và axit béo tự do no và chưa no. Lipit phân cực chính là axyl lipit, như glycolipit và phospholipit. Theo một số phương án, chế phẩm chứa lipit và các hydrocacbon theo sáng chế được mô tả và được phân biệt bởi loại và lượng tương đối của axit béo và/hoặc các hydrocacbon có mặt trong chế phẩm. Theo một số phương án, các hydrocacbon có mặt trong chế phẩm tảo theo sáng chế chủ yếu là alken và alken mạch thẳng, và có thể bao gồm parafin và các chất tương tự có lên đến 36 nguyên tử cacbon.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất nhiên liệu lỏng, phương pháp này bao gồm bước xử lý lipit được tạo ra từ môi trường nuôi cấy tảo và/hoặc sinh khối tảo hoặc phân đoạn lipit của chúng được mô tả trong bản mô tả này. Sản phẩm theo sáng chế được tạo ra bằng cách xử lý nguyên liệu nhiên liệu sinh học có nguồn gốc từ tảo có thể được kết hợp hoặc được sử dụng trong nhiều nhiên liệu lỏng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, diesel, diesel sinh học, dầu hỏa, nhiên liệu phản lực, xăng, JP-1, JP-4, JP-5, JP-6, JP-7, JP-8, nhiên liệu phản lực ổn nhiệt (Jet Propellant Thermally Stable - JPTS), các chất lỏng Fischer-Tropsch, nhiên liệu gốc rượu bao gồm nhiên liệu vận chuyển chứa etanol, các nhiên liệu lỏng gốc sinh khối khác bao gồm nhiên liệu vận chuyển gốc sinh khối xenluloza.

Theo một số phương án, triaxylglyxerit trong dầu tảo được chuyển hóa thành metyl este của axit béo (FAME hoặc diesel sinh học), ví dụ, bằng cách sử dụng quy

trình chuyển hóa este được xúc tác bởi bazơ (tổng quan, xem, ví dụ, K. Shaine Tyson, Joseph Bozell, Robert Wallace, Eugene Petersen, và Luc Moens, "Biomass Oil Analysis: Research Needs and Recommendations, NREL/TP-510-34796, June 2004, tài liệu này được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn). Theo một số phương án, triaxylglyxerit được phản ứng với metanol trong sự có mặt của NaOH ở nhiệt độ 60°C trong 2 giờ để tạo ra metyl este của axit béo (điesel sinh học) và glyxerol. Theo các phương án khác, đồng sản phẩm diesel sinh học và glyxerol là không trộn lẫn được và thường được tách ở phía dưới bằng cách lắng gạn hoặc ly tâm, tiếp đó là rửa và tinh chế. Axit béo tự do (FFA) là sản phẩm thủy phân tự nhiên của triglyxerit và được tạo thành bằng cách cho phản ứng triaxylglyxerit và nước. Theo một số phương án, phương pháp theo sáng chế còn bao gồm bước làm khô nhanh và phần lớn dầu tảo bằng kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này để hạn chế sự tạo thành các axit béo tự do, tốt hơn nếu ở mức nhỏ hơn 1%. Theo phương án khác của sáng chế, phương pháp này có thể còn bao gồm bước chuyển hóa hoặc loại bỏ axit béo tự do bởi kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Theo một số phương án, triaxylglyxerit trong dầu tảo được chuyển hóa thành metyl este của axit béo (FAME hoặc diesel sinh học) bằng sự chuyển hóa este được xúc tác bởi axit, sự chuyển hóa este được xúc tác bởi enzym, hoặc sự chuyển hóa este metanol siêu tới hạn. Sự chuyển hóa este metanol siêu tới hạn không cần dùng chất xúc tác (Xem, ví dụ, Kusdiana, D. and Saka, S., "Effects of water on biodiesel fuel production by supercritical methanol treatment," *Bioresource Technology* 91 (2004), 289-295; Kusdiana, D. and Saka, S., "Kinetics of transesterification in rapeseed oil to biodiesel as treated in supercritical methanol," *Fuel* 80 (2001), 693-698; Saka, S., và Kusdiana, D., "Biodiesel fuel from rapeseed oil as prepared in supercritical methanol," *Fuel* 80 (2001), 225-231). Phản ứng trong metanol siêu tới hạn làm giảm thời gian phản ứng từ 2 giờ xuống 5 phút. Ngoài ra, việc không có mặt chất xúc tác bazơ NaOH làm đơn giản hóa một cách đáng kể việc tinh chế về sau, làm giảm chi phí nguyên liệu thô, và giúp loại bỏ vấn đề với xà phòng từ axit béo tự do. Thay vì làm phát sinh vấn đề, axit béo tự do trở thành nguyên liệu có giá trị mà được chuyển hóa thành diesel sinh học trong metanol siêu tới hạn như sau.

Theo một số phương án, triaxylglyxerit được khử bằng hydro để tạo ra parafin, propan, cacbon đioxit và nước, sản phẩm nhìn chung được biết là diesel xanh. Parafin

có thể được đồng phân hóa để tạo ra diesel hoặc được trộn trực tiếp với diesel. Theo một số phương án, việc hydro hóa có các ưu điểm hơn so với việc chuyển hóa este được xúc tác bằng bazơ thông thường. Ví dụ, quy trình hydro hóa (còn được gọi là cracking bằng hydro) là nhiệt hóa và do đó xảy ra mạnh hơn nhiều đối với các tạp chất thức ăn cho súc vật so với các quy trình hóa sinh (ví dụ, cracking bằng hydro là tương đối không nhạy với axit béo tự do và nước). Axit béo tự do được chuyển hóa một cách dễ dàng thành parafin, và nước chỉ đơn thuần làm giảm hiệu suất nhiệt tổng của quy trình nhưng không làm biến đổi một cách đáng kể về hóa học. Trong ví dụ khác mà không làm giới hạn phạm vi của sáng chế, sản phẩm parafin là hydrocarbon tinh khiết, và do đó không thể phân biệt được với các hydrocarbon gốc dầu mỏ. Không giống như diesel sinh học mà có mức tích tụ năng lượng thấp hơn 15% và có thể đông lạnh trong thời tiết lạnh, diesel xanh có mức tích tụ năng lượng và đặc tính chảy (ví dụ, độ nhớt) tương tự với diesel gốc dầu mỏ. Theo các phương án khác nhau, phương pháp theo sáng chế bao gồm các bước cracking bằng hydro và đồng phân hóa, mà đã được biết trong lĩnh vực kỹ thuật này để tạo ra nhiên liệu lỏng, như nhiên liệu phản lực, diesel, dầu hỏa, xăng, JP-1, JP-4, JP-5, JP-6, JP-7, JP-8, và JPTS.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau được mô tả để chứng minh và minh họa thêm một số phương án và khía cạnh nhất định được ưu tiên theo sáng chế và không được hiểu là làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1

Sự sinh trưởng của sinh khối tảo có hàm lượng chất béo cao

Các thử nghiệm được tiến hành trong quá trình phát triển các phương án của sáng chế để xác định đặc điểm và thiết lập phương pháp sản xuất tảo dị dưỡng, và cụ thể, phương pháp nuôi cấy tảo để tạo ra sinh khối tảo chứa mức chất béo/lipid cao. Một loạt các nghiên cứu sản xuất tảo dị dưỡng thông thường được thực hiện và vận hành theo mẻ.

Chủng *Schizochytrium limacinum* thu được và được bảo quản trong lọ lạnh sâu dung tích 1,5mL ở nhiệt độ -80°C. Đối với mỗi thử nghiệm, quy trình được bắt đầu bằng cách làm tan đông lọ lạnh sâu và được bổ sung theo cách vô trùng vào bình lắc dung tích 1,0L chứa môi trường. Môi trường trong bình cầu dung tích 1 L chứa 50 g/L

đường, 10 g/L chiết xuất nấm men, và 4 g/L muối biển. Ba lít chủng bình lắc 3 đến 6 ngày tuổi được sử dụng để cấy bình dung tích 250 L chứa môi trường, được sinh trưởng trong 24-48 giờ, và sau đó được chuyển tới bình chính (17.000 đến 28.000L) và được thực hiện dưới dạng quy trình theo mẻ trong 36 đến 72 giờ. Nhiệt độ của các mẻ được duy trì nằm trong khoảng từ 25 đến 30°C. Khoảng nhiệt độ là lớn do thiếu sự kiểm soát hệ một cách chính xác. Môi trường được sử dụng trong các mẻ thực hiện nhân giống (250L) và theo mẻ (17.000 đến 28.000L) là như sau:

Nguyên liệu thô	Theo mẻ	
Đường	50	g/L
Chiết xuất nấm men	7,5	g/L
MgSO ₄	0,1538	g/L
Ure	2	g/L
CaCl ₂	0,1538	g/L
MgCl ₂	0,1538	g/L
Chất chống tạo bọt	0,3	ml

Bảng 1A. Môi trường được sử dụng trong quá trình nhân giống và nuôi cấy theo mẻ truyền thống

Tổng lượng chất béo của sinh khối tạo của các quá trình nuôi cấy theo mẻ được xác định bằng sắc ký khí (Xem, AOAC gravimetric method 922.06), sự thủy phân bằng axit (Xem, Total Fat by Acid Hydrolysis Ankom Technology Method 1, 02-10-09), và chiết bằng dung môi nhiệt độ cao (Xem, Ankom Technology Method 2, 01-30-09 và AOCS Method 5-04). Nói một cách ngắn gọn, quy trình phân tích tiêu biểu đối với nước xuyết lên men là như sau: Các mẫu nước xuyết được cô bằng cách ly tâm. Sau khi lắng gạn, mẫu được sấy đông khô trong 24 giờ với lượng hơi ẩm tạo ra nhỏ hơn một phần trăm. Các mẫu được cân trước khi thủy phân bằng axit, được rửa và được làm khô trong lò. Tiếp đó là quy trình chiết trong các điều kiện gradien nhiệt với ete dầu mỏ. Quy trình thủy phân và chiết thực hiện bằng cách sử dụng các thiết bị tự động hóa. Sau khi làm khô tiếp, các kết quả được xác định dựa trên cơ sở sự tổn thất khối lượng.

Như được thể hiện trong bảng 1B dưới đây, tổng lượng chất béo/lipit (khối lượng/khối lượng) đạt được trong các quy trình sản xuất theo mẻ ở nhiệt độ nằm trong khoảng 25-30 °C là 8-38%.

Mê số	Tổng lượng chất béo (%)
A-1-10	33,75
A-2-10	38,59
A-3-10	27,30
A-4-10	38,51
A-5-10	7,82
A-7-10	33,33
A-8-10	34,85
A-9-10	27,21

Bảng 1B. Hàm lượng tổng lượng chất béo của sinh khối tảo được sinh trưởng trong quy trình thực hiện theo mẻ ở nhiệt độ nằm trong khoảng 25-30 °C.

Các nỗ lực đã được thực hiện để làm tăng lượng của mức chất béo/lipit vì các lượng này được xem là có giá trị quá thấp và các thử nghiệm bổ sung đã được tiến hành để cố gắng làm tăng mức lipit được sản xuất bởi tảo đã được nuôi cấy.

Trong quá trình phát triển các phương án của sáng chế, các thử nghiệm được tiến hành để xác định xem các thay đổi trong thành phần và/hoặc lượng hoặc tỷ lệ của các thành phần trong môi trường có tạo ra các đặc tính sinh trưởng khác nhau của tảo hay không. Ngoài ra, các thử nghiệm được tiến hành để xác định xem việc thiết kế quy mô lớn hệ nuôi cấy tảo sẽ thay đổi các đặc tính sinh trưởng của tảo hay không. Cụ thể, lượng và tỷ lệ của $MgSO_4$, Ure, $CaCl_2$, $MgCl_2$ và KH_2PO_4 được cải biến để nỗ lực làm tăng mức lipit được sản xuất bởi tảo đã được nuôi cấy.

Các kết quả lên men được tạo ra trong thể tích của mẻ bằng 10L được mô tả trong bảng dưới đây:

Các mẻ thử nghiệm phòng thí nghiệm - 10L						
Các thành phần/số ghi nhận	NB4-030311	NB6-030311	NB4-032311	NB6-032311	NB3-032811	NB4-032811
(g/L)						
Đường	50	50	50	50	50	50
Chiết xuất nấm men	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
$MgSO_4$	0,1538	0,1538	0,1538	0,1538	0,5	1
NaCl	0	0	0	0	0	0

Ure	2	2	2	2	1	1
ZnSO ₄	0,1538	0,1538	0,1538	0,1538	0,1538	0,1538
CaCl ₂	0,1538	0,1538	0,1538	0,1538	1	2
MgCl ₂	0,1538	0,1538	0,1538	0,1538	0,5	1
KH ₂ PO ₄	-	-	1,5	1,5	0,5	1
Yếu tố vết (lỏng)- ml	10	10	10	10	20	20
Sắt(III) Clorua						
Zn sulfat						
Mn sulfat						
Axit boric						
Đồng sulfat						
Thức ăn cho súc vật						
Ure:KH ₂ PO ₄	ure 200g/L	ure 200g/L	2:1	2:1,5	2:0,5	2:0,5
Điểm điều chỉnh nhiệt độ	30	30	30	30	30	30
% chất béo	8,13	6,89	88,98	84,28	56,1	64,3
Lưu ý	mùi NH ₃ mạnh	mùi NH ₃ mạnh				
	Có vấn đề pH	Có vấn đề pH				
	nổi bọt	nổi bọt				

Bảng 2: Các điều kiện lên men dung tích 10L và kết quả.

Thành phần/số ghi nhận	NB6-032811	NB3-040711	NB4-040711	NB6-040711	NB3-041911	NB4041911	NB66041911
(g/L)							
Đường	50	50	50	50	50	50	50
Chiết xuất nấm men	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	6,25
MgSO ₄	2	2	2	2	2	2	2
NaCl	0	0	0	0	0	0	0
Ure	1	1	1	1	1	1	1
ZnSO ₄	0,1538	0,1538	0,1538	0,1538	0	0	0
CaCl ₂	4	4	4	4	4	4	4
MgCl ₂	2	2	2	2	2	2	2
KH ₂ PO ₄	2	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Yếu tố vết (lỏng) - ml	20	20	20	20	20	20	20
Sắt(III) Clorua							
Zn sulfat							

Axit boric							
Đồng sulfat							
Thức ăn cho súc vật							
Ure:KH ₂ PO ₄	2:0,5	2:0,5	2:0,5	2:0,5			
Điểm điều chỉnh nhiệt độ	30	30	30	30	30	30	30
% chất béo	73,7	71,16	73,49	73,88	68,69	76,56	72,56

Bảng 3: Các điều kiện lên men dung tích 10L bổ sung và kết quả.

Các thành phần/số ghi nhận	NB306 1411	NB4061 411	NB606 1411	NB3062 111	NB406 2111	NB603 2111	NB30 62811	NB406 2811	NB60 32811
(g/L)									
Đường	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Chiết xuất nấm men	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
MgSO ₄	0,1538	2	2	2	2	2	0,1538	2	2
NaCl	0	0	0	4	8	0	0	0	0
Ure	2	1	1	1	1	1	1	1	1
ZnSO ₄	0,1538	0,1538	0	0	0	0	0	0	0
CaCl ₂	0,1538	4	4	4	4	4	4	0,1538	4
MgCl ₂	0,1538	2	2	2	2	2	2	2	0,1538
KH ₂ PO ₄	2	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Yếu tố vết (lông) - ml	10	10	0	0	0	0	0	0	0
Sắt(III) Clorua									
Zn sulfat									
Mn sulfat									
Axit boric									
Đồng sulfat									
Thức ăn cho súc vật									
Ure: KH ₂ PO ₄	2:05	2:05	2:05	2:05	2:05	2:05	2:05	2:05	2:05
Điểm điều chỉnh nhiệt độ	30	30							
% chất béo	46,52	65,04	67,61	61,28	62,95	68,53	49,25	54,41	64,97
	Xác nhận công thức			Ảnh hưởng của NaCl			Ảnh hưởng của tỷ lệ muối		

Bảng 4: Các điều kiện lên men dung tích 10L bổ sung và kết quả.

Các thử nghiệm này, mà được tiến hành trong quá trình phát triển các phương án của sáng chế, cho thấy rằng các lượng/tỷ lệ nhất định của cơ chất có mặt trong môi

trường có ảnh hưởng trực tiếp đến các đặc tính sinh trưởng của tảo (ví dụ, tổng sinh khối đạt được cũng như lượng của chất béo và/hoặc hàm lượng của các thành phần khác trong chính sinh khối). Các thông số mà tạo ra sinh khối có hàm lượng chất béo cao trong các mẻ vận hành 10L, sau đó được sử dụng để xác định xem liệu chúng có thể được sản xuất quy mô lớn sinh khối có hàm lượng chất béo cao.

Ví dụ 2

Sự sản xuất quy mô lớn sinh khối tảo có hàm lượng chất béo cao

Các nỗ lực ban đầu để tạo ra sinh khối tảo dị dưỡng được mô tả trong Ví dụ 1 trên đây sử dụng các phương pháp dựa trên cơ sở các quy trình lên men nấm men. Các quy trình này được thực hiện theo mẻ do các hạn chế trong nhà máy sản xuất (Nicholasville, KY) và nhiệt độ mà có thể chỉ được kiểm soát nằm trong khoảng từ 25 đến 30°C. Khoảng nhiệt độ là lớn do thiếu sự kiểm soát hệ một cách chính xác. Như được mô tả trong bảng 1 trên đây, mức chất béo đạt được ở nhà máy Nicholasville, KY nằm trong khoảng 8-38%. Tuy nhiên, như nêu trên, các thử nghiệm bổ sung được tiến hành trong quá trình phát triển các phương án của sáng chế mà giúp nhận diện một số tỷ lệ/lượng nhất định của cơ chất mà có thể được sử dụng trong quá trình sản xuất sinh khối tảo dị dưỡng để thay đổi sự sinh trưởng của tảo và các tính chất/sự tạo ra sinh khối. Sự cải biến các mức và tỷ lệ của môi trường (ví dụ, MgSO_4 , Ure, CaCl_2 , MgCl_2 , và KH_2PO_4) trong quá trình lên men được nhận diện và được xác định đặc điểm để thay đổi sự sinh trưởng của tảo, và để tạo ra sinh khối với các tính chất khác nhau một cách đáng kể (ví dụ sinh khối có hàm lượng chất béo cao hơn một cách đáng kể). Như được mô tả dưới đây, quy trình (bao gồm môi trường chứa tỷ lệ/lượng cơ chất đã được xác định hữu hiệu trong việc tạo ra sinh khối tảo có hàm lượng chất béo cao (ví dụ, hàm lượng chất béo lớn hơn 67%)) được thử nghiệm tiếp và được thực hiện trên quy mô lớn và cả dưới dạng mẻ có cung cấp dinh dưỡng (nhờ đó cho phép biến đổi và kiểm soát lượng nitơ, phospho, kali, và cacbon trong quá trình thực hiện).

Chủng *Schizochytrium limacinum* thu được và được bảo quản trong lọ lạnh sâu dung tích 1,5mL ở nhiệt độ -80°C. Đối với mỗi quá trình nuôi cấy, lọ lạnh sâu được làm tan và được bổ sung theo cách vô trùng vào bình lắc dung tích 1,0L chứa môi trường. Môi trường trong bình cầu dung tích 1 L chứa các thành phần như được thể hiện trong bảng 5:

Thành phần	Theo mẻ	Nhà sản xuất
Đường	50 g/L	Cargill – Hammond, IN, USA
Chiết xuất nấm men	10 g/L	Sensient – Indianapolis, IN, USA
Muối biển	4 g/L	Sigma –Aldrich- St.Louis, MO USA

Bảng 5. Môi trường được sử dụng cho nuôi cấy dung tích 1,0L.

Nhiệt độ của bình lắc chứa *Schizochytrium limacinum* trong môi trường được duy trì ở nhiệt độ 30°C và lắc ở tốc độ 250 vòng/phút cho đến thời điểm sao cho tảo đã đi vào pha sinh trưởng theo hàm mũ/lôgarit nhưng trước khi tiêu thụ glucoza trong môi trường (thường là 72-144 giờ).

Các thành phần của bình cầu nuôi cấy dung tích 1 L sau đó được chuyển theo cách vô trùng vào các chai hút dung tích 2,0L với các bộ phận nối vô trùng mà được sử dụng để nối với các bình lớn hơn (bình dung tích 40L hoặc 27 L hoặc 18 L). Do vậy, các quá trình nuôi cấy bình nuôi cấy dung tích 1 L được sử dụng làm nguyên liệu nuôi cấy và được bổ sung theo cách vô trùng vào bình nhân giống (40L hoặc 27L hoặc 18L) chứa môi trường được mô tả trong Bảng 6 dưới đây:

Thành phần	g/L	Nhà sản xuất
Đường	50	Cargill - Hammond, IN, USA
Chiết xuất nấm men	7,5	Sensient - Indianapolis, IN, USA
MgSO ₄	0,1538	Norkem Limited - Kutahya, Turkey
CaCl ₂	0,1538	Occidental Chemical Company - Dallas, TX
MgCl ₂	0,1538	North American Salt Company - Overland Park, KS

Bảng 6. Môi trường được sử dụng cho các quá trình nhân giống đầu tiên, 18L hoặc 27L.

Giai đoạn nhân giống thứ nhất (40/18/27L) được thực hiện ở nhiệt độ 30°C, trong dòng khí và các điều kiện khuấy để duy trì mức oxy hòa tan ở 10% hoặc trên 10%, và cho đến khi ít nhất 20 g/L glucoza được tiêu thụ. Khi được sinh trưởng trong các điều kiện vô trùng, không cần kiểm soát độ pH. Đúng hơn là, độ pH nằm trong khoảng có lợi trong suốt quá trình lên men. Giai đoạn nhân giống thứ nhất (40/18/27L) được xem là hoàn thành khi sự sinh trưởng của tảo là trong giai đoạn sinh trưởng theo hàm log/theo hàm mũ, glucoza không bị tiêu thụ hết từ môi trường, nhưng ít nhất 20 g/L glucoza đã được tiêu thụ (nhìn chung, điều này xảy ra trong khoảng 24-48 giờ). Bình lớn hơn (4000/2000L) được chuẩn bị sẵn cho quá trình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ nhất (ví dụ, bình được nạp đầy môi trường và được đưa đến nhiệt độ 30°C trong các điều kiện vô trùng).

Khi hoàn thành quá trình nuôi cấy nhân giống thứ nhất, các thành phần của bình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ nhất (40/18/27L) được chuyển tới bình với ít nhất 2000L môi trường được mô tả trong Bảng 7 dưới đây:

Thành phần	g/L	Nhà sản xuất
Đường	50	Cargill – Hammond, IN, USA
Chiết xuất nấm men	7,5	Senient – Indianapolis, IN, USA
MgSO ₄	0,1538	Norkem Limited – Kutahya, Turkey
CaCl ₂	0,1538	Occidental Chemical Company – Dallas, TX
MgCl ₂	0,1538	North American Salt Company – Overland Park, KS

Bảng 7. Môi trường được sử dụng cho quá trình nuôi cấy nhân giống thứ hai 4000/2000L.

Quá trình nuôi cấy giai đoạn nhân giống thứ hai (4000/2000L) này được thực hiện ở nhiệt độ 30°C, trong dòng khí và các điều kiện khuấy để duy trì mức oxy hòa tan ở 10% hoặc trên 10%, và cho đến khi ít nhất 20 g/L glucoza được tiêu thụ. Khi được sinh trưởng trong các điều kiện vô trùng, không cần kiểm soát độ pH. Đúng hơn là, độ pH nằm trong khoảng có lợi trong suốt quá trình lên men. Giai đoạn nhân giống thứ hai (4000/2000L) được xem là hoàn thành khi sự sinh trưởng của tảo là trong giai đoạn sinh trưởng theo hàm log/theo hàm mũ, glucoza không bị tiêu thụ hết từ môi trường, nhưng ít nhất 20 g/L glucoza đã được tiêu thụ (nhìn chung, điều này xảy ra trong khoảng 24-48 giờ).

Khi hoàn thành quá trình nuôi cấy nhân giống thứ hai (4000/2000L), các thành phần của quá trình nuôi cấy nhân giống thứ hai được chuyển theo cách vô trùng vào bình nuôi cấy thứ ba với thể tích nằm trong khoảng từ 70.000 L đến 220.000 L môi trường vô trùng ở nhiệt độ 30°C như được mô tả trong Bảng 8 dưới đây:

Theo mẻ		
Nguyên liệu thô	Vận hành theo mẻ	Nhà sản xuất
Đường	50 g/L	Cargill – Hammond, IN, USA
Chiết xuất nấm men	7,5 g/L	Sensient – Indianapolis, IN, USA
MgSO ₄	4 g/L	Norkem Limited – Kutahya, Turkey
Ure	1 g/L	PSC Sales – Northbrook, IL
CaCl ₂	2 g/L	Occidental Chemical Company – Dallas, TX
MgCl ₂	2 g/L	North American Salt Company – Overland Park, KS

KH ₂ PO ₄	0,25 g/L	Lidochem – Hazlet, NJ
---------------------------------	----------	-----------------------

Khi 30 g/L glucoza đã được tiêu thụ bởi tảo có mặt trong bình nuôi cấy thứ ba (bình dung tích 70.000-220.000 L), glucoza và nguyên liệu cấp để nuôi cấy mẹ có cung cấp dinh dưỡng được bắt đầu. Glucoza được duy trì ở 10 g/L trong quá trình nuôi cấy tảo trên quy mô lớn trong bình nuôi cấy thứ ba (bình dung tích 70.000-220.000 L). Như được mô tả trong Bảng 9 dưới đây, nguyên liệu cấp được sử dụng cho quy trình nuôi cấy mẹ có cung cấp dinh dưỡng chứa:

Thức ăn cho súc vật		
Thành phần	g/L	Nhà sản xuất
Ure	2 g/L	PCS Sales – Northbrook, IL
KH ₂ PO ₄	0,5 g/L	Lidochem – Hazlet, NJ

Bảng 9. Nguyên liệu cấp được sử dụng cho quy trình nuôi cấy mẹ có cung cấp dinh dưỡng.

Nguyên liệu cấp để nuôi cấy theo mẹ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. Mặc dù việc hiểu cơ chế không cần thiết để thực hiện sáng chế, và mặc dù sáng chế không bị giới hạn ở cơ chế tác dụng cụ thể bất kỳ, theo một số phương án, khoảng thời gian này được xác định dựa trên quan sát rằng mất khoảng 20 giờ để nguyên liệu cấp bắt đầu (đối với 30 g/L glucoza được tiêu thụ bởi tảo có mặt trong bình nuôi cấy thứ ba). Sau đó, quá trình nạp liệu kết thúc (ví dụ, ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 54) để cho phép tất cả các dưỡng chất đều được loại bỏ (được tiêu thụ) từ môi trường. Việc thu hoạch sinh khối tảo được thực hiện khi kết thúc sự sinh trưởng theo hàm mũ, mà xảy ra nhìn chung giữa các khoảng thời gian ghi nhận là giờ 66-76.

Nước xuất nuôi cấy được ly tâm khử huyền phù trong các điều kiện để đạt được hàm lượng chất rắn là 15-30%, với sản phẩm cô được sấy phun để loại bỏ nước đến hàm lượng hơi ẩm cuối nhỏ hơn 5%.

Kết quả của một số quá trình nuôi cấy quy mô lớn, độc lập được thể hiện trong Fig. 1 và Bảng 10-12 dưới đây:

Số mẻ	% chất béo (mẫu thu hoạch)	sinh khối được điều chỉnh thể tích (g/L)	% thu hồi từ thiết bị ly tâm	% chất béo (sản phẩm được sấy phun)	% protein (sản phẩm được sấy)	% độ ẩm của sản phẩm được sấy
-------	----------------------------	--	------------------------------	-------------------------------------	-------------------------------	-------------------------------

					phun)	phun
F1-2-11	60,7*	86,2		75,7	11,66	1,47
F1-3-11	69,64	86,4	55	70,25	16,47	1,37
F1-4-11	74,76	66,5	67	71,56	15,92	2,11
F1-5-11	73,12	70,8	68	65,65	17,14	2,43
F1-6-11	62,77**	45,7	89	54,8	13,35	2,14
F2-1-11	72,59	50,9	87	65,89	17,64	2,72
F2-2-11	70,81	59,5	52	66,49	15,29	2,15

Bảng 10. Kết quả nuôi cấy sản xuất quy mô lớn

*mẫu thu hoạch tối

** các vấn đề kiểm soát quy trình với mẻ này

o F1-2-11

- Có thể tích mẻ bằng 70.000 L và thể tích thu hoạch bằng 93.700 L

o F1-3-11

- Có thể tích mẻ bằng 70.000 L và thể tích thu hoạch bằng 84.000 L.

o F1-4-11

- Có thể tích mẻ bằng 70.000 L và thể tích thu hoạch bằng 92.300 L

o F1-5-11

- Có thể tích mẻ bằng 70.000 L và thể tích thu hoạch bằng 82.300 L

o F1-6-11

- Có thể tích mẻ bằng 80.000 L và thể tích thu hoạch bằng 83.600 L

o F2-2-11

- Có thể tích mẻ bằng 110.000 L và thể tích thu hoạch bằng 113.000L

o F2-2-11

- Có thể tích mẻ bằng 110.000 L và thể tích thu hoạch bằng 125.600L

Sinh khối được tạo thành từ mỗi môi trường nuôi cấy mẻ có cung cấp dinh dưỡng, quy mô lớn được xác định đặc điểm, bao gồm phân tích tổng lượng chất béo (chất béo no và không no); hơi ẩm, hàm lượng axit docosahexaenoic (DHA), hàm lượng axit palmitic, hàm lượng protein thô và hàm lượng tro (Xem, ví dụ hàm lượng chất béo và/hơi ẩm - AOCS Am 5-04 “Rapid Determination of Oil/Fat Utilizing High Temperature Solvent Extraction” v. 3/31/10; DHA/Palmitic - AOCS Method Ce 1b-89

and AOAC Method of Analysis 991.39; Protein - AOAC 990.03; Tro - AOAC 942.05
 Vol adjusted Biomass (g/L) - Stone, et. al. Dry Weight Measurement of Microbial
 Biomass and Measurement Variability Analysis. Biotechnology Techniques. Vol 6:
 207- 212

Bảng 11						
Số mề/Chú thích	tổng lượng chất béo% (thu hoạch cuối cùng)	Hơi ẩm (%) cực đại 6%	DHA (mg/g)	Palmitic (mg/g)	Protein thô (%) ghi nhận khi giải phóng	Tro cực đại 10%
SL-F1-1-11	72,70	1,39	191,8	379	14,96	3,5
SL-F1-3-11	69,64	1,37	181,1	366,2	16,47	3,08
SL-F1-4-11	73,71	2,11	185,8	373,8	15,92	3,11
SL-F1-5-11	73,12	2,43	176,8	351,3	17,14	0,0373
SL-F2-1-11	72,59	2,72	252,4	360,9	17,64	0,0363
SL-F2-2-11	70,81	2,15	247,2	365	15,29	0,041
SL-F2-3-11	72,86	2,50	197,36	269,4	11,58	3,29
SL-F2-4-11	69,03	3,07	177,9	133,65	18,23	3,9
SL-F2-5-11	70,10	2,12%	203,24	193,99	10,93	0,0342
SL-F2-6-11	73,55	2,61	203,99	206,67	12,01	3,34
SL-F2-8-11	70,86	1,91	190,31	287,79	12,71	3,3
SL-F2-9-11	76,89	1,68	191,69	227,52	9,62	3
SL-F1-8-11	76,31	1,55	191,41	318	10,71	3,8
SL-F2-10-11	72,15	1,75	186,24	256,13	13,37	4,81
SL-F2-11-11	73,64	2,49	184,34	299,77	11,45	4,42
SL-F1-9-11	75,57	1,28	202,51	250,01	10,02	3,48
SL-F2-13-11	70,95	1,66	182,82	326,94	12,39	4,59
SL-F2-14-11	69,13	1,42	196	253,11	14,79	3,65
SL-F1-13-11	67,56	1,73	184,66	212,92	15,1	3,97
SL-F1-14-11	68,57	1,23	170,16	89,35	11,86	4,22
SL-F3-4-11	68,8	1,56	203,25	183,65	15,31	3,84
SL-F1-15-11	70,58%	1,14	175,58	147,37	9,8	3,56
SL-F1-16-11	72,72	1,31	175,28	91,4	10,43	4,06
SL-F3-8-11	71,75	1,8	207,95	138,37	14,32	3,65
SL-F5-5-11	68,7	1,23	189,07	119,72	11,68	3,42
SL-F1-25-11	74,80	1,54			9,16	3,68
SL-F3-14-11	76,24	1,90			8,41	3,08
SL-F3-15-11	75,80	1,08			7,3	3,26
SL-F1-1-12	70,24				8,3	3,51

Bảng 11. Xác định đặc điểm các quá trình nuôi cấy trên quy mô lớn

Bảng 12						
Số mề/Chú thích	% tổng lượng chất béo (thu hoạch cuối cùng)	Hơi ẩm (%) cực đại 6%	DHA (mg/g)	Palmitic (mg/g)	Protein thô (%) ghi nhận khi giải phóng	Tro cực đại 10%
SL-F1-25-11	74,80	1,54	170,63	355,6	9,16	3,68
SL-F3-14-11	76,24	1,90	179,85	346,41	8,41	3,08
SL-F3-15-11	75,80	1,08	182,81	367,01	7,3	3,26

SL-F1-1-12	70,24	1,81	160,84	336,77	8,3	được giải phóng
SL-F4-1-12	68,53	1,71	189,06	332,29	10,26	3,56
SL-F6-2-12	69,13	1,73	169,44	351,39	7,75	3,11
SL-F5-2-12	75,00	1,84	175,05	371,57	6,89	3,5
SL-F4-2-12	69,10	1,84	198,24	341,94	8,85	3,88
SL-F6-3-12	69,34	1,80	175,42	340,86	10,44	3,62
SL-F5-3-12	67,28	3,61	176,61	360,01	10,19	3,56
SL-F1-2-12	71,09	1,72	154,22	371,31	12,56	3,78
SL-F1-4-12	68,42	1,66	159,54	375,98	12,88	3,81
SL-F4-5-12	70,89	1,88	171,73	397,13	12,38	3,1
SL-F6-6-12	70,38	1,8	155,05	377,11	12,56	3,71
SL-F5-6-12	68,17	1,75	155,73	389,31	10,56	3,8
SL-F3-3-12	73,64	1,94%	156,25	393,08	12,13	3,52
SL-F1-7-12	71,97	1,58	164,05	362,4	8,75	3,98
SL-F3-4-12	70,93	2,37	183,88	366,83	10,13	2,23
SL-F6-7-12	70,95	2,66	176,68	366,29	10,56	4,31
SL-F1-8-12	72,08	1,94	172,91	407,2	9	3,62
SL-F3-6-12	72,15	1,85			10,56	7,56
SL-F3-7-12	69,63	2,42			10,57	3,67
SL-F3-8-12	71,77	1,78				
SL-F3-9-12	69,18	1,74				

Bảng 12. Xác định đặc điểm các quá trình nuôi cấy trên quy mô lớn

Ngoài ra, profin axit béo của sinh khối cũng được xác định đặc trưng. Như được thể hiện trên Fig. 2, profin axit béo của mỗi sinh khối tạo được tạo thành là tương tự/phù hợp cao, độc lập với tổng lượng chất béo của sinh khối. Profin axit béo hỗn hợp, so với profin chung của tất cả các mẫu được phân tích, được thể hiện trên Fig. 3.

Profin glyxerit cũng được xác định đối với mỗi sinh khối tạo. Trong tổng hàm lượng glyxerit của sinh khối, khoảng 4-8% là diglyxerit, nhỏ hơn 1% glyxerol, khoảng 3-7% monoglyxerit và khoảng 84-88% triglyxerit.

Ví dụ 3

Thu hoạch sinh khối

Các thử nghiệm được tiến hành trong quá trình phát triển các phương án của sáng chế đã xác định được rằng tổng lượng chất béo trong sinh khối tăng gây ra các vấn đề đáng kể đối với việc ly tâm sinh khối tạo. Việc thu hồi hàm lượng sinh khối sau khi ly tâm chỉ nằm trong khoảng từ khoảng 45-85% tổng khối lượng sinh khối. Điều này được thể hiện, ví dụ, trong Bảng 13 dưới đây:

Số mẻ	% chất béo (mẫu thu hoạch)	Sinh khối được điều chỉnh thể tích (g/L)	% protein (mẫu thu hoạch)	% thu hồi từ thiết bị ly tâm	% chất béo (sản phẩm được sấy phun)	% protein (sản phẩm được sấy phun)	% độ ẩm sản phẩm được sấy phun
F1-2-11	60,7*	86,2	NA	NA	75,7	11,66	1,47
F1-3-11	69,64	86,4	NA	55	70,25	16,47	1,37
F1-4-11	74,76	66,5	NA	67	71,56	15,92	2,11
F1-5-11	73,12	70,8	16,14	68	65,65	17,14	2,43
F1-6-11	62,77**	45,7	NA	89	54,8	13,35	2,14
F2-1-11	72,59	50,9	16,29	87	65,89	17,64	2,72
F2-2-11	70,81	59,5	12,58	52	66,49	15,29	2,15

Bảng 13. So sánh hiệu suất chất béo và protein từ mẫu thu hoạch trực tiếp so với sản phẩm được sấy phun.

*mẫu thu hoạch tồi** các vấn đề kiểm soát quy trình với mẻ này F1-2-11

- Có thể tích mẻ bằng 70.000 L và thể tích thu hoạch bằng 93.700 L

F1-3-11

- Có thể tích mẻ bằng 70.000 L và thể tích thu hoạch bằng 84.000 L

F1-4-11

- Có thể tích mẻ bằng 70.000 L và thể tích thu hoạch bằng 92.300 L

F1-5-11

- Có thể tích mẻ bằng 70.000 L và thể tích thu hoạch bằng 82.300 L

F1-6-11

- Có thể tích mẻ bằng 80.000 L và thể tích thu hoạch bằng 83.600 L

F2-1-11

- Có thể tích mẻ bằng 110.000 L và thể tích thu hoạch bằng 113.000L

F2-2-11

- Có thể tích mẻ bằng 110.000 L và thể tích thu hoạch bằng 125.600L

Các vấn đề về việc thu hồi được xác định có thể là do sự tăng lượng lipit/dầu tỷ trọng thấp trong sinh khối. Do vậy, các thử nghiệm được tiến hành trong các phương án của sáng chế để cố gắng khắc phục vấn đề này.

Một phương pháp mà cho thấy khả năng tăng cường việc thu hồi sinh khối là làm lạnh môi trường nuôi cấy chứa sinh khối tảo trước khi ly tâm. Mặc dù việc hiệu chỉnh chế không cần thiết để thực hiện sáng chế, và sáng chế không bị giới hạn ở cơ chế tác dụng cụ thể bất kỳ, theo một số phương án, việc làm lạnh môi trường nuôi cấy làm tăng mật độ lipit/dầu và cho phép thu hồi sinh khối lớn hơn.

Các thử nghiệm được tiến hành để xác định ảnh hưởng của việc làm lạnh sinh khối trước khi ly tâm.

Thử nghiệm trong phòng thí nghiệm 1: 2 galông nước xuyết được thu gom và được bảo quản ở nhiệt độ 7-8°C trong hơn 16 giờ. Tám ống ly tâm dung tích 50 ml được thu gom và được đặt trong bể đá để đạt đến nhiệt độ đích được mô tả trong bảng 14 dưới đây. Tất cả các mẫu đều được ly tâm ở tốc độ 5000 vòng/phút trong 5 phút.

Nhiệt độ (°C)	Quan sát trực quan
10	Phân tách tuyệt vời không có tế bào nổi. Dịch nổi bề mặt trong suốt
20	Phân tách tốt không có tế bào nổi. Vẫn đục hơn 10°C
25	Kết quả tương tự đối với ở 20°C; vẫn đục hơn
30	Phân tách tốt không có tế bào nổi; vẫn đục
35	Phân tách tốt không có tế bào nổi; rất vẫn đục
40	Vẫn phân tách; các tế bào nổi; dịch nổi bề mặt trắng đục như sữa
45	Phân tách kém
50	Hầu như không có sự phân tách với nhiều tế bào nổi

Bảng 14. Nhiệt độ nuôi cấy và kết quả ly tâm của thử nghiệm 1.

Thử nghiệm trong phòng thí nghiệm 2: Các mẫu nước xuyết mới được thu gom và được thử nghiệm trong khoảng nhiệt độ 10-30°C. Chúng không được làm lạnh qua đêm như trong thử nghiệm 1. Tất cả các mẫu đều được để yên trong bể nước đá đến nhiệt độ đích. Các mẫu được ly tâm ở tốc độ 5000 vòng/phút trong 5 phút.

Nhiệt độ (°C)	Quan sát trực quan	Mật độ (g/ml)
10	Phân tách tuyệt vời không có tế bào nổi. Dịch nổi bề mặt trong suốt.	1,01967
15	Phân tách tốt không có tế bào nổi. Dịch nổi trên bề mặt rất vẫn đục.	
20	Mẫu vẫn phân tách; nhìn thấy được sự keo tụ.	

25	Kết quả rất tương tự đối với ở 20°C; sự vắn đục tăng	
30	Vẫn phân tách tốt; sự vắn đục tăng	1,02915

Bảng 13. Nhiệt độ nuôi cấy và kết quả ly tâm của thử nghiệm 2.

Như được mô tả trong Ví dụ 2 và Fig. 1, trong quá trình sản xuất trên quy mô lớn, việc làm lạnh sinh khối trước khi thu hồi (ly tâm) làm tăng đáng kể tổng tỷ lệ thu hồi sinh khối. Nhiều mẻ quy mô lớn đã được hoàn thành với tổng tỷ lệ thu hồi xấp xỉ 95%.

Tất cả các tài liệu công bố và patent nêu trong bản mô tả này đều được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn. Rõ ràng là người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể thực hiện các cải biến và biến đổi khác nhau đối với chế phẩm và phương pháp đã được mô tả theo sáng chế mà không nằm ngoài phạm vi và nguyên lý của sáng chế. Mặc dù sáng chế đã được mô tả thông qua các phương án được ưu tiên cụ thể, tuy nhiên cần phải hiểu rằng sáng chế như được yêu cầu bảo hộ không bị giới hạn ở các phương án cụ thể này. Do đó, các cải biến khác nhau về các cách thức thực hiện sáng chế đã được mô tả mà rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong các lĩnh vực có liên quan được xem là nằm trong phạm vi của sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất sinh khối tảo chứa ít nhất 67% tổng lượng chất béo, trong đó quy trình này bao gồm bước nuôi cấy tảo trong hai hoặc nhiều loại môi trường nuôi cấy theo cách liên tục, và trong đó bước nuôi cấy này bao gồm:

nuôi cấy tảo trong môi trường nuôi cấy chứa nguồn cacbon, chiết xuất nấm men, nguồn magie và nguồn canxi; và sau đó, nuôi cấy tảo trong môi trường nuôi cấy chứa nguồn cacbon, chiết xuất nấm men, nguồn nitơ, nguồn phosphat, nguồn magie, nguồn canxi, và 4g/l natri clorua hoặc nhỏ hơn, trong đó nitơ và phosphat có tỷ lệ nằm trong khoảng từ 50:1 đến 4:1, và trong đó loại tảo được chọn từ nhóm bao gồm *Thraustochytrium*, *Schizochytrium* và *Aurantiochytrium*.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó một môi trường nuôi cấy trong số hai hoặc nhiều loại môi trường nuôi cấy chứa 50 g/l nguồn cacbon, 7,5 g/l chiết xuất nấm men, 0,15 g/l magie sulfat, 0,15 g/l canxi clorua và 0,15 g/l magie clorua.

3. Quy trình theo điểm 2, trong đó nguồn cacbon là đường.

4. Quy trình theo điểm 3, trong đó đường là glucoza.

5. Quy trình theo điểm 1, trong đó một môi trường nuôi cấy trong số hai hoặc nhiều môi trường nuôi cấy chứa 50 g/l nguồn cacbon, 7,5 g/l chiết xuất nấm men, 4,0 g/l magie sulfat, 1 g/l ure, 2 g/l canxi clorua, 2 g/l magie clorua và 0,25 g/l monokali phosphat.

6. Quy trình theo điểm 5, trong đó nguồn cacbon là đường.

7. Quy trình theo điểm 1, trong đó một môi trường nuôi cấy trong số hai hoặc nhiều môi trường nuôi cấy chứa nguồn cacbon, chiết xuất nấm men và muối biển.

8. Quy trình theo điểm 7, trong đó nguồn cacbon là đường.

9. Quy trình theo điểm 8, trong đó đường là glucoza.

10. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này còn bao gồm bước nuôi cấy tảo trong môi trường nuôi cấy chứa glucoza, chiết xuất nấm men và muối biển trước khi nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy chứa nguồn cacbon, chiết xuất nấm men, nguồn magie và nguồn canxi.

11. Quy trình theo điểm 1, trong đó môi trường nuôi cấy chứa nguồn cacbon, chiết xuất nấm men, nguồn nitơ, nguồn phosphat, nguồn magie, nguồn canxi và 4 g/l natri clorua hoặc nhỏ hơn, trong đó nitơ và phosphat có tỷ lệ nằm trong khoảng từ 50:1 đến 4:1 được bổ sung với nguyên liệu nạp để nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng.
12. Quy trình theo điểm 11, trong đó nguyên liệu nạp để nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng chứa ure và monokali phosphat.
13. Quy trình theo điểm 11, trong đó sinh khối tảo được thu hoạch từ môi trường nuôi cấy trong thời gian từ 12 đến 24 giờ sau khi ngừng quy trình nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng.
14. Quy trình theo điểm 13, trong đó sinh khối tảo được thu hoạch từ môi trường nuôi cấy sau khi tất cả các dưỡng chất đã được loại bỏ/tiêu thụ từ môi trường.
15. Quy trình theo điểm 13, trong đó sinh khối tảo được thu hoạch bằng cách ly tâm môi trường nuôi cấy chứa sinh khối tảo.
16. Quy trình theo điểm 15, trong đó môi trường nuôi cấy được làm lạnh trước khi thu hoạch sinh khối tảo.
17. Quy trình theo điểm 16, trong đó môi trường nuôi cấy được làm lạnh xuống nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 5 đến 25°C.
18. Quy trình theo điểm 1, trong đó tảo là *Schizochytrium limacinum*.
19. Quy trình theo điểm 10, trong đó môi trường nuôi cấy chứa 50 g/l glucoza, khoảng 10 g/l chiết xuất nấm men và khoảng 4 g/l muối biển.
20. Quy trình theo điểm 1, trong đó các điều kiện nuôi cấy bao gồm việc thực hiện quá trình nuôi cấy tảo ở nhiệt độ 30°C trong dòng khí và các điều kiện khuấy để duy trì mức oxy hòa tan ở 10%.
21. Quy trình theo điểm 1, trong đó tảo được nuôi cấy trong điều kiện vô trùng.
22. Quy trình theo điểm 1, trong đó môi trường nuôi cấy mà chứa nguồn cacbon, chiết xuất nấm men, nguồn nitơ, nguồn phosphat, nguồn magie, nguồn canxi và 4 g/l natri clorua hoặc nhỏ hơn, trong đó nitơ và phosphat có tỷ lệ nằm trong khoảng từ 50:1 đến 4:1, có magie và canxi với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 4,5:1 đến 1:1.

23. Quy trình theo điểm 1, trong đó nguồn nitơ là ít nhất một trong số các chất ure, pepton, chiết xuất mạch nha, chiết xuất thịt, axit casamino, dịch ngâm ngô, natri glutamat, amoni axetat, amoni sulfat, amoni clorua hoặc amoni nitrat.

FIG. 1

F2-2-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẹ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
8	20110609	313486	F2-2-11	Nhân giống	120000	123,600	53,71	55,32	70,81

(SL-F2-2-11) được cấy vào ngày 31/05/2011 (từ G1A ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 73). Quá trình nuôi cấy này được tiến hành theo mẻ đối với 110.000 lít có bổ sung môi trường trên cơ sở 120.000 lít.

1100 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 38 giờ giữa khoảng thời gian ghi nhận là giờ 24-62. **53.372** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu thu hoạch vào ngày 03/06/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 73. Mẻ này sạch và được sấy phun.

F2-3-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẹ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
10	20110705	314418	F2-3-11	Nhân giống	120,000	125,300	57,40	59,94	72,86

(SL-F2-3-11) được cấy vào ngày 23/06/2011 (từ G1A ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72). Quá trình nuôi cấy này được tiến hành theo mẻ đối với 110.000 lít có bổ sung môi trường trên cơ sở 120.000 lít.

1100 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ giữa khoảng thời gian ghi nhận là giờ 24 và 58. **64.693** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu thu hoạch vào ngày 27/06/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 89. Mẻ này sạch và được sấy phun.

F2-4-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẹ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
11	20110709	314682	F2-4-11	Nhân giống	120,000	114,700	29,11	27,82	69,03

FIG. 1 TIẾP

(SL-F2-4-11) được cấy vào ngày 01/07/2011 (từ G1A ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 52). 1100 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ giữa khoảng thời gian ghi nhận là giờ 34-68. 32.047 lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu thu hoạch vào ngày 05/07/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 86. Mẻ này sạch và được sấy phun.

F2-5-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mẻ #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
13	20110718	314973	F2-5-11	Nhân giống	120,000	131,200	64,15	70,14	70,1

(SL-F2-5-11) được cấy vào ngày 07/07/2011 (từ G1A ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 52). Quá trình nuôi cấy này được tiến hành theo mẻ đối với 110.000 lít có bổ sung môi trường trên cơ sở 120.000 lít.

1100 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 38 giờ giữa khoảng thời gian ghi nhận là giờ 24-62. 74.365 lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 77. Bắt đầu thu hoạch vào ngày 12/07/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 82. Mẻ này sạch và được sấy phun.

F2-6-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mẻ #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
14	20110725	315181	F2-6-11	Nhân giống	120,000	131000	57,19	62,43	73,55

(SL-F2-6-11) được cấy vào ngày 15/07/2011 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 84). Quá trình nuôi cấy này được tiến hành theo mẻ đối với 110.000 lít có bổ sung môi trường trên cơ sở 120.000 lít.

1100 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 37 giờ giữa khoảng thời gian ghi nhận là giờ 25 và 62. 65.520 lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 67. Bắt đầu thu hoạch vào ngày 18/07/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 77. Mẻ này sạch và được sấy phun.

FIG. 1 TIẾP

F2-8-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẹ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
16	20110804	315665	F2-8-11	Nhân giống	120,000	126,400	56,51	59,52	70,86

(SL-F2-8-11) được cấy vào ngày 25/07/2011 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 77). 1000 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 30 giờ giữa khoảng thời gian ghi nhận là giờ 24-54. **61.576** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F vào ngày 28/07/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 61 do sự nhiễm tạp. Bắt đầu thu hoạch vào ngày 28/07/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ. Mẻ này sạch và được sấy phun.

F2-9-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẹ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
18	20110811	315869	F2-9-11	Nhân giống	120,000	133,200	59,54	66,09	76,89

(SL-F2-9-11) được cấy vào ngày 03/08/2011 (từ GIA ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 89). 1200 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 40 giờ giữa khoảng thời gian ghi nhận là giờ 24-64. **74.300** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F vào ngày 06/08/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 69. Bắt đầu thu hoạch ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 79. Mẻ này sạch và được sấy phun.

F2-10-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẹ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
19	20110816	316416	F2-10-11	D/R	120,000	131,500	50,98	55,87	72,15

(SL-F2-10-11) được cấy vào ngày 08/08/2011 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 769). 1200 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 37 giờ giữa khoảng thời gian ghi nhận là giờ 24-56. **70.906** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F vào ngày 11/08/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72. Bắt đầu thu hoạch vào ngày 21/08/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 79. Mẻ này sạch và được sấy phun.

FIG. 1 TIẾP

F1-8-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
20	20110817	316266	F1-8-11	Nhân giống	80,000	87,000	70,40	76,56	76,31

(SL-F1-8-11) được cấy vào ngày 11/08/2011 (từ G1A ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 77). **800** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ giữa khoảng thời gian ghi nhận là giờ 24-58. **50.544** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F vào ngày 11/08/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72. Bắt đầu thu hoạch vào ngày 14/08/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 89. Mẻ này sạch và được sấy phun.

F2-11-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
21	20110822	316379	F2-11-11	Nhân giống	120,000	129,400	57,39	61,89	73,64

(SL-F2-11-11) được cấy vào ngày 14/08/2011 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 81). **1205,6** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 35 giờ giữa khoảng thời gian ghi nhận là giờ 24-59. **72.745** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F vào ngày 17/08/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72. Bắt đầu thu hoạch vào ngày 18/08/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 82. Mẻ này sạch và được sấy phun.

F1-9-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
22	20110823	316489	F1-9-11	Nhân giống	80,000	86,000	76,18	81,89	75,57

FIG. 1 TIẾP

(SL-F1-9-11) được cấy vào ngày 18/08/2011 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 69). **804** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 37 giờ giữa khoảng thời gian ghi nhận là giờ 24-61. **46.555** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F vào ngày 21/08/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72. Bắt đầu thu hoạch vào ngày 22/08/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 84. Mẻ này sạch và được sấy phun.

F2-13-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mẻ #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
25	20110908	316981	SL F2-13-11	Nhân giống	120.000	124.100	55,64	57,54	70,95

(SL-F2-13-11) được cấy vào ngày 03/09/2011 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 80). **1208,6** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. **59.864** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F vào ngày 06/09/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 70. Bắt đầu thu hoạch ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 84.

F2-14-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mẻ #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
28	20110920	317584	F2-14-11	Nhân giống	120.000	122.100	60,62	61,68	69,13

(SL-F2-14-11) được cấy vào ngày 12/09/2011 (từ G1A ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 77). **1207** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 38 giờ. **67.698** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F vào ngày 16/09/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 76. Bắt đầu thu hoạch ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 84.

- Độ lệch nhiệt độ do hồng máy bơm nước lạnh (Nhiệt độ bình đạt đến 91°F).
- Tồn thất không khí và sự phủ kín bình lên men do hồng máy bơm nước lạnh.

F1-13-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mẻ #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
29	20110922	317681	F1-13-11	Nhân giống	80.000	81.300	60,89	61,88	67,56

FIG. 1 TIẾP

(SL-F1-13-11) được cấy vào ngày 16/09/2011 (từ G1). **600** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. **27.732** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F vào ngày 19/09/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 65. Bắt đầu thu hoạch ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 74.

- Các vấn đề với van điều chỉnh lưu lượng mẻ có cung cấp dinh dưỡng - Màng chắn bị thay đổi khi tiếp xúc trong thời gian ngắn với bình. - Không phát hiện thấy sự nhiễm tạp trong quá trình nuôi cấy này.
- Bình ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 9 được gia nhiệt đến 93°F. Van nước lạnh bị đóng do van điều chỉnh bị rò.

F1-14-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mẻ #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
31	20110928	317961	F1-14-11	Nhân giống	80.000	91.000	86,88	98,83	68,57

(SL-F1-14-11) được cấy vào ngày 23/09/2011 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 64). **800** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. **45.590** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F vào ngày 26/09/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 70. Bắt đầu thu hoạch ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 83.

F3-4-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mẻ #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
32	20111003	318192	SL F3-4-11	Nhân giống	120.000	125.000	62,15	64,74	68,8

(SL-F3-4-11) được cấy vào ngày 27/09/2011 (từ G1A ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 90). **1205** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. **52.076** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F vào 30/09/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 70. Bắt đầu thu hoạch ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 84.

- Nồi bọt khoảng 4500 lít ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 18.

F1-15-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mẻ #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
34	20111010	318457	SL F1-15-11	Nhân giống	80.000	86.100	89,83	96,67	70,58

FIG. 1 TIẾP

(SL-F1-15-11) được cấy vào 05/10/2011 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 100). 800 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. 59.984 lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F vào ngày 10/10/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 70. Bắt đầu thu hoạch ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 78.

- Môi trường được cải biến.
- Môi trường mẻ có cung cấp dinh dưỡng được cải biến.

F1-16-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mẻ #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
36	20111017	318716	SL F1-16-11	Nhân giống	80.000	85.400	74,26	79,27	72,72

(SL-F1-16-11) được cấy vào ngày 10/10/2011 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 84,5). 800 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. 39.851 lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F vào ngày 13/10/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 70. Bắt đầu thu hoạch ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 77.

- Môi trường được cải biến.
- Môi trường mẻ có cung cấp dinh dưỡng được cải biến.
- Môi trường mẻ có cung cấp dinh dưỡng bình thường.

F3-8-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mẻ #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
46	20111111	319550	SL F3-8-11	Nhân giống	120.000	130.200	75,70	82,13	71,75

(SL-F3-8-11) được cấy vào ngày 03/11/2011 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 94). 1200 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. 67.800 lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh bình xuống 48°F vào ngày 06/11/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 75. Bắt đầu thu hoạch ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 91.

FIG. 1 TIẾP

F5-5-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
48	20111115	319771	SL F5-5-11	Nhân giống	220.000	233.560	69,81	74,11	68,7

(SL-F5-5-11) được cấy vào ngày 08/11/2011 (từ SV3 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 90). **2217** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. **45.836** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu chuyển 50% F4 sang F2 và làm lạnh xuống 48°F vào ngày 11/11/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 78. Bắt đầu thu hoạch dịch ly tâm từ F2 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 88.

F3-14-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
63	20111222	321061	SL F3-14-11	Nhân giống	120.000	132.400	73,30	80,87	76,24

(SL-F3-14-11) được cấy vào ngày 16/12/2011 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 106). **1202,7** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. **74.355** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 19/12/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72. Bắt đầu thu hoạch ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 87.

- pH được điều chỉnh bằng clorua với axit xitric trước khi lọc.

F1-25-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
64	20111223	321102	SL F1-25-11	Nhân giống	80.000	83.000	82,59	85,69	74,8

(SL-F1-25-11) được cấy vào ngày 18/12/2011 (từ G1A ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 91). **797,7** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. **43.673** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 21/12/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 68. Bắt đầu thu hoạch ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 94.

- pH được điều chỉnh bằng clorua trước khi lọc.

FIG. 1 TIẾP

F3-15-11

# 2011	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
66	20111228	321150	SL-F3-15-11	Nhân giống	120.000	131.000	71,15	77,67	75,8

(SL-F3-15-11) được cấy vào ngày 23/12/2011 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 82). **1192,1** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. **76.953** lbs glucosa được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 26/12/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 71. Bắt đầu thu hoạch ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 85.

- pH được điều chỉnh bằng clorua với axit xitric trước khi lọc.

F1-1-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
1	20120103	321175	SL F1-1-12	Nhân giống	80.000	83.600	76,18	79,61	79,24

(SL-F1-1-12) được cấy vào ngày 25/12/2011 (từ G1A ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 69). **806,4** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. **40.847** lbs glucosa được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 28/12/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 73. Bắt đầu thu hoạch ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 85.

- pH được điều chỉnh bằng clorua trước khi lọc.

F4-1-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
5	20120116	400538,1	SL F4-1-12	Nhân giống	220.000	231.400	68,69	72,25	68,53

(SL-F4-1-12) được cấy vào ngày 09/01/2012 (từ SV3). **2220,2** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 32 giờ. **42.343** lbs glucosa được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 12/01/2012 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 74 và chuyển một nửa sang F2 để hỗ trợ làm lạnh. Bắt đầu ly tâm ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 79 từ F4 trước tiên.

FIG. 1 TIẾP

F6-2-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẹ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
6	20120120	400684.1	SL-F6-2-12	Nhân giống	216.000	237.200	76,27	83,76	69,13

(SL-F6-2-12) được cấy vào ngày 12/01/2012 (từ SV3 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 43). 2223,4 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 32 giờ. 57.288 lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 15/01/2012 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 85 và chuyển một nửa sang F2 để hỗ trợ làm lạnh. Bắt đầu ly tâm ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 89 từ F6 trước tiên.

F5-2-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẹ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
7	20120126	400940.1	SL-F5-2-12	Nhân giống	224.000	241.120	76,62	82,48	75

(SL-F5-2-12) được cấy vào ngày 16/01/2012 (từ SL-F6-2-12 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 85). 2218,7 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 32 giờ. 55.998 lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 20/01/2012 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 97 và chuyển một nửa sang F2 để hỗ trợ làm lạnh. Bắt đầu ly tâm ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 117 từ F5 trước tiên.

F4-2-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẹ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
8	20120130	401149.1	SL-F4-2-12	Nhân giống	220.000	231.000	65,54	68,82	69,1

(SL-F4-2-12) được cấy vào ngày 20/01/2012 (từ SV-3 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 47). 2215,4 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 32 giờ. 40.744 lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 23/01/2012 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 73. Bắt đầu ly tâm ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 161.

FIG. 1 TIẾP

- Thu hoạch bị trễ do thiết bị sấy phun có vấn đề.

F6-3-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mẻ #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
9	20120209	401534.1	SL-F6-3-12	Nhân giống	220.000	229.720	56,16	58,64	69,34

(SL-F6-3-12) được cấy vào ngày 01/02/2012 (từ SV-3 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 46). **2215,6** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 32 giờ. **35.494** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh và thu hoạch vào ngày 04/02/2012 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 78. Thu hoạch trực tiếp đối với dịch ly tâm ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 94 và không sử dụng F2 làm thùng thu hoạch.

- Sai lệch nhiệt độ từ khoảng thời gian ghi nhận là giờ 13 đến 21 do sự kiểm soát nhiệt độ theo chế độ ROUT và không theo chế độ RCAS. Các cải biến được tiến hành đối với quy trình để đảm bảo sự kiểm soát nhiệt độ được đặt theo chế độ RCAS khi bắt đầu nuôi cấy theo mẻ.

F5-3-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mẻ #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
10	20120215	401824.1	SL-F5-3-12	Nhân giống	220.000	224.300	59,62	60,79	67,28

(SL-F5-3-12) được cấy vào ngày 07/02/2012 (từ SV-3 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 46). **2214,9** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 32 giờ. **36.746** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh và thu hoạch vào ngày 11/02/2012 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 93. Thu hoạch trực tiếp đối với dịch ly tâm và không sử dụng F2 làm thùng thu hoạch.

F1-2-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mẻ #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
11	20120229	402398.1	SL-F1-2-12	Nhân giống	80.000	83.600	89,65	93,68	71,09

FIG. 1 TIẾP

(SL-F1-2-12) được cấy vào ngày 22/02/2012 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 54). 797.9 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 32 giờ. 48.871 lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 28/12/2011 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72. Bắt đầu thu hoạch ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 81.

F1-4-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
18	20120328	403430.1	SL-F1-4-12	Nhân giống	80,000	89,200	90,29	100,67	68,42

(SL-F1-4-12) được cấy vào ngày 22/03/2012 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 71). 803.6 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. 59.067 lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 25/03/2012 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72. Bắt đầu ly tâm ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 83.

F3-4-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
27	20120501	404568.1	SL-F3-4-12	Nhân giống	120,000	129,200	85,00	91,52	70,93

(SL-F3-4-12) được cấy vào ngày 25/04/2012 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 67). 1193.8 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. 92.224 lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 28/04/2012 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72. Bắt đầu ly tâm ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 89.

F6-7-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
28	20120507	404695.1	SL-F6-7-12	Nhân giống	220,000	241,580	73,37	80,57	70,95

(SL-F6-7-12) được cấy vào ngày 27/04/2012 (từ SV-3 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 77). 2217.2 lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. 53.951 lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 30/04/2012 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 81. Bắt đầu ly tâm ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 108.

FIG. 1 TIẾP

F1-8-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẹ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
29	20120508	404849.1	SL-F1-8-12	Nhân giống	80,000	89,300	89,04	99,39	72,88

(**SL-F1-8-12**) được cấy vào ngày 30/04/2012 (từ G1A ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 74). **795,5** lít môi trường nuôi cấy theo mẹ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ: **53.393** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 03/05/2012 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72. Bắt đầu ly tâm ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 122.

- Vận hành sử dụng chất chống bọt ESP FC 131. Nó dường như hoạt động tốt ở F1.
- Các vấn đề xảy ra khi sấy phun. Sản phẩm rất dính và không chảy tốt. **260** kilo tang dầu bị mất trong dòng chảy tràn của máy sàng. Sản phẩm từ dòng chảy tràn của máy sàng không thể thu hồi được. Thiết bị sấy cũng có sự tích tụ sản phẩm dạng dầu.

F3-6-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẹ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
31	20120525	405450.1	SL-F3-6-12	Nhân giống	120,000	123,800	74,09	76,44	72,15

(**SL-F3-6-12**) được cấy vào ngày 18/05/2012 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 89). **1201,5** lít môi trường nuôi cấy theo mẹ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ: **78.211** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 21/05/2012 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72. Bắt đầu ly tâm ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 84.

- Sử dụng chất chống bọt ESP FC 131.

F3-7-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẹ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
32	20120531	405587.1	SL-F3-7-12	Nhân giống	120,000	126,800	78,12	82,55	69,63

(**SL-F3-7-12**) được cấy vào ngày 24/05/2012 (từ G1 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72). **1197** lít môi trường nuôi cấy theo mẹ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ: **80.494** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 21/05/2012 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72. Bắt đầu ly tâm ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 83.

FIG. 1 TIẾP

- Sử dụng chất chống bọt ESP FC 131.
- Nổ bọt ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 15-16. Mất khoảng 2000 lít.
- Mất lượng chưa biết trong quá trình thu hoạch do cửa mẫu CT-2 bị để mở. NCR có vấn đề.

F3-8-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
33	20120605	405739.1	SL-F3-8-12	Nhân giống	120,000	126,900	66,06	69,86	71,77

(SL-F3-8-12) được cấy vào ngày 30/05/2012 (từ GIA ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 73). **1209** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. **70.747** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 02/06/2012 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72. Bắt đầu ly tâm ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 81.

F3-9-12

# 2012	Ngày gửi dữ liệu	Đơn đặt hàng sản xuất #	Bình/Mé #	Nguồn gốc	Thể tích mẻ (L)	Thể tích thùng cuối cùng (L)	Sinh khối g/L	Thể tích được điều chỉnh g/L	% Chất béo
34	20120612	405946.1	SL-F3-9-12	Nhân giống	120,000	131,900	79,18	87,03	69,18

(SL-F3-9-12) được cấy vào ngày 05/06/2012 (từ GIA ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 73). **1199,5** lít môi trường nuôi cấy theo mẻ có cung cấp dinh dưỡng được bổ sung trong khoảng thời gian 34 giờ. **87.424** lbs glucoza được bổ sung trong quá trình nuôi cấy này. Bắt đầu làm lạnh xuống 48°F vào ngày 05/06/2012 ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 72. Bắt đầu ly tâm ở khoảng thời gian ghi nhận là giờ 86.

FIG. 2

a) F1-2-11

F1-2-11	
PROFIN AXIT BÉO	
THỬ NGHIỆM	KẾT QUẢ
C 06:0 (Axit Caproic)	<0,10%
C 07:0 (Axit Heptanoic)	<0,10%
C 08:0 (Axit Caprylic)	<0,10%
C 09:0 (Axit Nonanoic)	<0,10%
C 10:0 (Axit Capric)	<0,10%
C 11:0 (Axit Undecanoic)	<0,10%
C 12:0 (Axit Lauric)	<0,10%
C 13:0 (Axit Tridecanoic)	<0,10%
C 14:0 (Axit Myristic)	4,01%
C 14:1 (Axit Myristoleic)	1,35%
C 15:0 (Axit Pentadecanoic)	<0,10%
C 15:1 (Axit Pentadecenoic)	<0,10%
C 16:0 (Axit Palmitic)	54,42%
C 16:1 (Axit Palmitoleic)	<0,10%
C 17:0 (Axit Margaric)	0,51%
C 17:1 (Axit Margaroleic)	<0,10%
C 18:0 (Axit Stearic)	1,81%
C 18:1n7 (Axit Vaccenic)	<0,10%
C 18:1n9 (Axit Oleic)	<0,10%
C 18:1n9t (Axit Elaidic)	<0,10%
C 18:2n6 (Axit Linoleic)	<0,10%
C 18:2n6t (Axit Linolelaidic)	<0,10%
C 18:3n3 (alpha-Linolenic)	<0,10%
C 18:3n6 (gamma-Linolenic)	<0,10%
C 19:0 (Axit Nonadecanoic)	<0,10%
C 20:0 (Axit Arachidic)	0,31%
C 20:1 (Axit Eicosenoic)	<0,10%
C 20:2n6 (Axit Eicosadienoic)	<0,10%
C 20:3n3 (Axit Eicosatrienoic)	<0,10%
C 20:3n6 (Axit homo-gama-Linolenic)	<0,10%
C 20:4n6 (Axit Arachidonic)	<0,10%
C 20:5n3 (Axit Eicosapentaenoic)	0,37%
C 21:0 (Axit Heneicosanoic)	<0,10%
C 22:0 (Axit Behenic)	0,18%
C 22:1 (Axit Erucic)	0,63%
C 22:2n6 (Axit Docosadienoic)	0,45%

FIG. 2 TIẾP

C 22:5n3 (Axit Docosapentaenoic)	<0,10%
C 22:6n3 (Axit Docosahexaenoic)	27,22%
C 23:0 (Axit Tricosanoic)	<0,10%
C 24:0 (Axit Lignoceric)	<0,10%
C 24:1 (Axit Nervonic)	<0,10%
Các thành phần chưa biết	0,95%

b) F1-9-11

<u>F1-9-11</u>	
PROFIN AXIT BÉO	
THỬ NGHIỆM	KẾT QUẢ
C 06:0 (Axit Caproic)	<0,10%
C 07:0 (Axit Heptanoic)	<0,10%
C 08:0 (Axit Caprylic)	<0,10%
C 09:0 (Axit Nonanoic)	<0,10%
C 10:0 (Axit Capric)	<0,10%
C 11:0 (Axit Undecanoic)	<0,10%
C 12:0 (Axit Lauric)	<0,10%
C 13:0 (Axit Tridecanoic)	<0,10%
C 14:0 (Axit Myristic)	4,15%
C 14:1 (Axit Myristoleic)	1,51%
C 15:0 (Axit Pentadecanoic)	<0,10%
C 15:1 (Axit Pentadecenoic)	<0,10%
C 16:0 (Axit Palmitic)	55,50%
C 16:1 (Axit Palmitoleic)	<0,10%
C 17:0 (Axit Margaric)	0,53%
C 17:1 (Axit Margaroleic)	<0,10%
C 18:0 (Axit Stearic)	1,77%
C 18:1n7 (Axit Vaccenic)	<0,10%
C 18:1n9 (Axit Oleic)	<0,10%
C 18:1n9t (Axit Elaidic)	<0,10%
C 18:2n6 (Axit Linoleic)	<0,10%
C 18:2n6t (Axit Linolelaidic)	<0,10%
C 18:3n3 (alpha-Linolenic)	<0,10%
C 18:3n6 (gamma-Linolenic)	<0,10%
C 19:0 (Axit Nonadecanoic)	<0,10%
C 20:0 (Axit Arachidic)	0,30%
C 20:1 (Axit Eicosenoic)	<0,10%
C 20:2n6 (Axit Eicosadienoic)	<0,10%
C 20:3n3 (Axit Eicosatrienoic)	<0,10%
C 20:3n6 (Axit homo-gama-Linolenic)	<0,10%

FIG. 2 TIẾP

C 20:4n6 (Axit Arachidonic)	<0,10%
C 20:5n3 (Axit Eicosapentaenoic)	0,13%
C 21:0 (Axit Heneicosanoic)	<0,10%
C 22:0 (Axit Behenic)	<0,10%
C 22:1 (Axit Erucic)	0,58%
C 22:2n6 (Axit Docosadienoic)	0,43%
C 22:5n3 (Axit Docosapentaenoic)	<0,10%
C 22:6n3 (Axit Docosahexaenoic)	27,03%
C 23:0 (Axit Tricosanoic)	<0,10%
C 24:0 (Axit Lignoxeric)	<0,10%
C 24:1 (Axit Nervonic)	<0,10%
Các thành phần chưa biết	0,57%

c) F1-5-11

<u>F1-5-11</u>	
PROFIN AXIT BÉO	
THỬ NGHIỆM	KẾT QUẢ
C 06:0 (Axit Caproic)	<0,10%
C 07:0 (Axit Heptanoic)	<0,10%
C 08:0 (Axit Caprylic)	<0,10%
C 09:0 (Axit Nonanoic)	<0,10%
C 10:0 (Axit Capric)	<0,10%
C 11:0 (Axit Undecanoic)	<0,10%
C 12:0 (Axit Lauric)	<0,10%
C 13:0 (Axit Tridecanoic)	<0,10%
C 14:0 (Axit Myristic)	3,42%
C 14:1 (Axit Myristoleic)	1,92%
C 15:0 (Axit Pentadecanoic)	<0,10%
C 15:1 (Axit Pentadecenoic)	<0,10%
C 16:0 (Axit Palmitic)	54,15%
C 16:1 (Axit Palmitoleic)	<0,10%
C 17:0 (Axit Margaric)	0,85%
C 17:1 (Axit Margaroleic)	<0,10%
C 18:0 (Axit Stearic)	1,80%
C 18:1n7 (Axit Vaccenic)	<0,10%
C 18:1n9 (Axit Oleic)	<0,10%
C 18:1n9t (Axit Elaidic)	<0,10%
C 18:2n6 (Axit Linoleic)	<0,10%
C 18:2n6t (Axit Linolelaidic)	<0,10%
C 18:3n3 (alpha-Linolenic)	<0,10%
C 18:3n6 (gama-Linolenic)	<0,10%

FIG. 2 TIẾP

C 19:0 (Axit Nonadecanoic)	<0,10%
C 20:0 (Axit Arachidic)	0,23%
C 20:1 (Axit Eicosenoic)	<0,10%
C 20:2n6 (Axit Eicosadienoic)	<0,10%
C 20:3n3 (Axit Eicosatrienoic)	<0,10%
C 20:3n6 (Axit homo-gama-Linolenic)	<0,10%
C 20:4n6 (Axit Arachidonic)	<0,10%
C 20:5n3 (Axit Eicosapentaenoic)	0,33%
C 21:0 (Axit Heneicosanoic)	<0,10%
C 22:0 (Axit Behenic)	<0,10%
C 22:1 (Axit Erucic)	0,38%
C 22:2n6 (Axit Docosadienoic)	0,42%
C 22:5n3 (Axit Docosapentaenoic)	<0,10%
C 22:6n3 (Axit Docosahexaenoic)	27,34%
C 23:0 (Axit Tricosanoic)	<0,10%
C 24:0 (Axit Lignoxeric)	<0,10%
C 24:1 (Axit Nervonic)	<0,10%
Các thành phần chưa biết	0,62%

d) F1-14-11

F1-14-11	
PROFIN AXIT BÉO	
THỬ NGHIỆM	KẾT QUẢ
C 06:0 (Axit Caproic)	<0,10%
C 07:0 (Axit Heptanoic)	<0,10%
C 08:0 (Axit Caprylic)	<0,10%
C 09:0 (Axit Nonanoic)	<0,10%
C 10:0 (Axit Capric)	<0,10%
C 11:0 (Axit Undecanoic)	<0,10%
C 12:0 (Axit Lauric)	0,17%
C 13:0 (Axit Tridecanoic)	<0,10%
C 14:0 (Axit Myristic)	4,57%
C 14:1 (Axit Myristoleic)	<0,10%
C 15:0 (Axit Pentadecanoic)	1,44%
C 15:1 (Axit Pentadecenoic)	<0,10%
C 16:0 (Axit Palmitic)	53,49%
C 16:1 (Axit Palmitoleic)	0,14%
C 17:0 (Axit Margaric)	0,45%
C 17:1 (Axit Margaroleic)	<0,10%
C 18:0 (Axit Stearic)	1,67%
C 18:1n7 (Axit Vaccenic)	<0,10%

FIG. 2 TIẾP

C 18:1n9 (Axit Oleic)	0,11%
C 18:1n9t (Axit Elaidic)	<0,10%
C 18:2n6 (Axit Linoleic)	<0,10%
C 18:2n6t (Axit Linolelaidic)	<0,10%
C 18:3n3 (alpha-Linolenic)	<0,10%
C 18:3n6 (gama-Linolenic)	<0,10%
C 19:0 (Axit Nonadecanoic)	<0,10%
C 20:0 (Axit Arachidic)	0,31%
C 20:1 (Axit Eicosenoic)	<0,10%
C 20:2n6 (Axit Eicosadienoic)	<0,10%
C 20:3n3 (Axit Eicosatrienoic)	<0,10%
C 20:3n6 (Axit homo-gama-Linolenic)	0,15%
C 20:4n6 (Axit Arachidonic)	0,86%
C 20:5n3 (Axit Eicosapentaenoic)	0,31%
C 21:0 (Axit Heneicosanoic)	<0,10%
C 22:0 (Axit Behenic)	0,17%
C 22:1 (Axit Erucic)	<0,10%
C 22:2n6 (Axit Docosadienoic)	<0,10%
C 22:5n3 (Axit Docosapentaenoic)	<0,10%
C 22:6n3 (Axit Docosahexaenoic)	27,33%
C 23:0 (Axit Tricosanoic)	<0,10%
C 24:0 (Axit Lignoxeric)	0,14%
C 24:1 (Axit Nervonic)	0,22%
Các thành phần chưa biết	1,42%

e) F1-15-11

F1-15-11	
PROFIN AXIT BÉO	
THỬ NGHIỆM	KẾT QUẢ
C 06:0 (Axit Caproic)	<0,10%
C 07:0 (Axit Heptanoic)	<0,10%
C 08:0 (Axit Caprylic)	<0,10%
C 09:0 (Axit Nonanoic)	<0,10%
C 10:0 (Axit Capric)	<0,10%
C 11:0 (Axit Undecanoic)	<0,10%
C 12:0 (Axit Lauric)	0,16%
C 13:0 (Axit Tridecanoic)	<0,10%
C 14:0 (Axit Myristic)	4,43%
C 14:1 (Axit Myristoleic)	0,18%
C 15:0 (Axit Pentadecanoic)	1,17%
C 15:1 (Axit Pentadecenoic)	<0,10%

FIG. 2 TIẾP

C 16:0 (Axit Palmitic)	55,87%
C 16:1 (Axit Palmitoleic)	0,13%
C 17:0 (Axit Margaric)	0,40%
C 17:1 (Axit Margaroleic)	<0,10%
C 18:0 (Axit Stearic)	1,67%
C 18:1n7 (Axit Vaccenic)	<0,10%
C 18:1n9 (Axit Oleic)	<0,10%
C 18:1n9t (Axit Elaidic)	<0,10%
C 18:2n6 (Axit Linoleic)	<0,10%
C 18:2n6t (Axit Linolelaidic)	<0,10%
C 18:3n3 (alpha-Linolenic)	<0,10%
C 18:3n6 (gama-Linolenic)	<0,10%
C 19:0 (Axit Nonadecanoic)	<0,10%
C 20:0 (Axit Arachidic)	0,28%
C 20:1 (Axit Eicosenoic)	<0,10%
C 20:2n6 (Axit Eicosadienoic)	<0,10%
C 20:3n3 (Axit Eicosatrienoic)	0,90%
C 20:3n6 (Axit homo-gama-Linolenic)	0,13%
C 20:4n6 (Axit Arachidonic)	<0,10%
C 20:5n3 (Axit Eicosapentaenoic)	0,29%
C 21:0 (Axit Heneicosanoic)	<0,10%
C 22:0 (Axit Behenic)	0,15%
C 22:1 (Axit Erucic)	<0,10%
C 22:2n6 (Axit Docosadienoic)	0,43%
C 22:5n3 (Axit Docosapentaenoic)	<0,10%
C 22:6n3 (Axit Docosahexaenoic)	26,92%
C 23:0 (Axit Tricosanoic)	<0,10%
C 24:0 (Axit Lignoxeric)	<0,10%
C 24:1 (Axit Nervonic)	0,22%
Các thành phần chưa biết	0,65%

FIG. 3

CÁC PHÒNG THÍ NGHIỆM ĐẢM BẢO CHẤT LƯỢNG CỦA ALLTECH

Profin Axit Béo Tiêu Biểu Của Bột Algae-S

Axit Béo	Hàm lượng chất béo (%)
Axit Caproic	<0,10%
Axit Heptanoic	<0,10%
Axit Caprylic	<0,10%
Axit Nonanoic	<0,10%
Axit Capric	<0,10%
Axit Undecanoic	<0,10%
Axit Lauric	<0,10%
Axit Tridecanoic	<0,10%
Axit Myristic	3,86%
Axit Myristoleic	1,60%
Axit Pentadecanoic	<0,10%
Axit Palmitic	54,69%
Axit Palmitoleic	<0,10%
Axit Margaric	0,63%
Axit Margaroleic	<0,10%
Axit Stearic	1,80%
Axit Vaccenic	<0,10%
Axit Oleic	<0,10%
Axit Elaidic	<0,10%
Axit Linoleic	<0,10%
Axit Linolelaidic	<0,10%
Axit alpha-Linoleic	<0,10%
Axit gama-Linoleic	<0,10%
Axit Nonadecanoic	<0,10%
Axit Arachidic	0,28%
Axit Eicosenoic	<0,10%
Axit Eicosadienoic	<0,10%
Axit Eicosatrienoic	<0,10%
Axit homo-gama-Linoleic	<0,10%
Axit Arachidonic	<0,10%
Axit Eicosapentaenoic	0,28%
Axit Heneicosanoic	<0,10%
Axit Behenic	<0,10%
Axit Erucic	0,53%
Axit Docosadienoic	0,43%
Axit Docosapentaenoic	<0,10%
Axit Docosahexaenoic	27,20%
Axit Tricosanoic	<0,10%
Axit Lignoxeric	<0,10%
Axit Nervonic	<0,10%
Các thành phần chưa biết	0,71%