



(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)



1-0028674

(51)<sup>7</sup> C12P 21/04; C12R 1/07; A23K 1/00;  
C12N 1/20

(13) B

(21) 1-2014-01494

(22) 08/11/2012

(86) PCT/KR2012/009417 08/11/2012

(87) WO2013/069995 16/05/2013

(30) 10-2011-0116043 08/11/2011 KR

(45) 25/06/2021 399

(43) 25/12/2014 321A

(73) CJ CHEILJEDANG CORPORATION (KR)

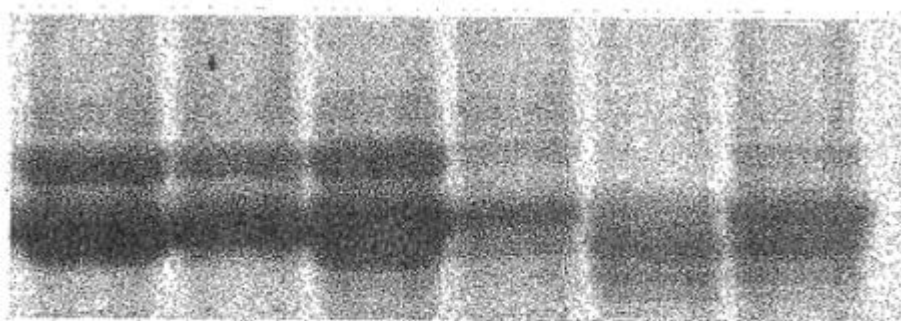
330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 100-400, Republic of Korea

(72) SEO, Sang Hyun (KR); CHO, Seong Jun (KR); KANG, Kyung Il (KR); PARK, Min Ju (KR); YANG, Tae Joo (KR); PARK, Seung Won (KR).

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

#### (54) PHƯƠNG PHÁP CHẾ BIẾN GLUTEN NGÔ LÊN MEN

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp chế biến gluten ngô lên men nhằm cải thiện chất lượng của gluten ngô, là nguồn protein thực vật, đến gluten ngô lên men được sản xuất bằng phương pháp này, và chất phụ gia thức ăn gia súc chứa nó. Sáng chế đề cập đến gluten ngô lên men chất lượng cao có các đặc tính cải thiện dùng làm nguồn protein trong thức ăn gia súc bằng cách cấy chủng *Bacillus* sp. vào gluten ngô, là nguồn có hàm lượng protein cao nhưng ít được sử dụng do có độ tiêu hoá thấp, và nuôi cấy pha rắn chủng *Bacillus* sp. này, và phương pháp chế biến nó.



(1)

(2)

(3)

(4)

(5)

(6)

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến phương pháp chế biến gluten ngô lên men để cải thiện chất lượng của gluten ngô, là nguồn protein thực vật, sáng chế cũng đề cập đến gluten ngô lên men được sản xuất bằng phương pháp này, và chất phụ gia thức ăn gia súc chứa nó.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Vì đã chứng minh được rằng các bệnh như bệnh não xốp ở bò (BSE: bovine spongiform encephalopathy), có thể gây tử vong người, là do thành phần protein động vật này được cho vào thức ăn gia súc, nên càng có xu thế thay thế protein có nguồn gốc động vật được cho vào thức ăn gia súc bằng protein thực vật.

Gluten ngô là một trong số các nguồn protein thực vật, và theo phân tích thành phần tổng quát gluten ngô có 8% hàm lượng ẩm, 60,4% protein thô, 7,7% xơ thô, 2% chất béo thô, và 6% tro thô. Đặc biệt là, protein trong gluten ngô có mặt với hàm lượng cao lên đến 65%, là hàm lượng protein cao nhất trong các nguồn thực vật có thể sử dụng làm thức ăn gia súc. Trong khi đó, trong số các nguồn protein động vật dùng làm thức ăn gia súc, bột cá có hàm lượng protein cao nhất lên đến khoảng 60 đến 65% protein.

Tuy nhiên, protein thực vật thường có độ tiêu hoá thấp hơn protein động vật,

và có thành phần các axit amin thiết yếu kém dồi dào, và hàm lượng một số loại vitamin, chất khoáng thấp và các yếu tố sinh trưởng nào đó chưa biết (UGF: unknown growth factor) thấp. Ngoài ra, vì gluten ngô chủ yếu bao gồm protein không tan biến tính tạo ra trong quá trình sản xuất, gluten ngô có độ tiêu hoá kém hơn các protein thực vật khác như bột đậu nành, nên lượng dùng làm thức ăn gia súc bị hạn chế.

Do đó, có nhu cầu phát triển phương pháp chế biến mới hữu hiệu và không đòi hỏi chi phí cao và có thể chế biến một lượng gluten ngô lớn, nhờ đó cải thiện chất lượng gluten ngô, tức là, độ tiêu hoá của phần protein để có thể sử dụng gluten ngô như là nguồn thức ăn gia súc chất lượng cao với hàm lượng protein cao.

Trong các nghiên cứu về gluten ngô, đã có nhiều nghiên cứu được thực hiện nhằm tăng ứng dụng thương mại của gluten ngô bằng cách sử dụng phương pháp xử lý gluten ngô bằng enzym hoặc axit, như phương pháp chế biến dịch thủy phân gluten ngô và dịch thủy phân gluten ngô được sản xuất bằng phương pháp này (công bố đơn yêu cầu cấp patent chưa xét nghiệm Hàn quốc số 2009-0121253); phương pháp chế biến peptit bằng cách sử dụng gluten từ ngô và lúa mì (công bố đơn yêu cầu cấp patent chưa xét nghiệm Hàn quốc số 1996-0022556) và phương pháp chế biến gia vị tự nhiên chứa nồng độ cao axit glutamic và các axit amin khác nhau (công bố đơn yêu cầu cấp patent chưa xét nghiệm Hàn quốc số 2009-0076428). Tuy nhiên, các nghiên cứu này có nhược điểm là do các phương pháp này chủ yếu bao gồm sử dụng quy trình như quy trình thủy phân bằng axit hoặc phân hủy bằng enzym để điều chế gia vị, nên có

thể được sử dụng để sản xuất thực phẩm nhưng không thể sử dụng để sản xuất thức ăn gia súc do giá thành sản xuất cao. Do đó, hiện nay không có nghiên cứu nào được thực hiện nhằm tăng ứng dụng thương mại của gluten ngô trong việc chế biến thức ăn gia súc.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

#### Vấn đề kỹ thuật sáng chế giải quyết

Các tác giả sáng chế đã cố gắng tìm ra hệ thống chế biến để cải thiện việc sử dụng thương mại gluten ngô bằng cách cải thiện gluten ngô, là nguồn protein trong thức ăn gia súc, và đã nhận thấy rằng có thể chế biến được gluten ngô lên men chất lượng cao có mức độ tiêu hoá và hiệu quả tăng lên để dùng làm thức ăn gia súc do protein đã chuyển thành các phân tử có phân tử lượng thấp, ngoài ra còn có hàm lượng protein tăng lên do quá trình lên men pha rắn gluten ngô bằng chủng *Bacillus* sp., nhờ đó hoàn thành sáng chế.

#### Giải pháp kỹ thuật

Mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp chế biến gluten ngô lên men bao gồm các bước (a) cấy chủng *Bacillus* sp. vào gluten ngô được làm ẩm; và (b) nuôi cấy pha rắn chủng *Bacillus* sp. được cấy vào gluten ngô để thu được gluten ngô lên men.

Một mục đích nữa của sáng chế là tạo ra gluten ngô lên men được chế biến bằng phương pháp nêu trên, chứa protein phân tử lượng thấp.

Còn một mục đích nữa của sáng chế là tạo ra chất phụ gia thức ăn gia súc chứa gluten ngô lên men.

#### Hiệu quả đạt được

(a) Sáng chế đề xuất gluten ngô lên men chất lượng cao với các đặc tính được cải thiện để dùng làm nguồn protein trong thức ăn gia súc bằng cách cấy chủng *Bacillus* sp. vào gluten ngô, là loại có hàm lượng protein cao nhưng ít được sử dụng do có độ tiêu hoá thấp, và nuôi cấy pha rắn chủng *Bacillus* sp. này, và phương pháp chế biến nó.

(b) Cụ thể là gluten ngô lên men theo sáng chế có khả năng ứng dụng và giá trị tuyệt vời vì gluten ngô lên men có hàm lượng protein cao hơn 15% so với dạng bột đậu nành lên men tương tự đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật liên quan. Vì bột đậu nành lên men thông thường có hàm lượng protein nằm trong khoảng từ 50 đến 55%, nên bột đậu nành lên men thông thường không được sử dụng trong thương mại một cách phổ biến dù nó có chất lượng tốt do đây là hàm lượng protein nằm trung gian giữa bột cá có hàm lượng protein cao (60 đến 65%) và bột đậu nành có hàm lượng protein thấp (45%). Tuy nhiên, gluten ngô lên men theo sáng chế được xem như có ứng dụng thương mại và giá trị rất lớn vì gluten ngô lên men có hàm lượng protein về cơ bản tương tự với bột cá có hàm lượng protein cao (60 đến 65%).

(c) Gluten ngô dùng làm các chất gia vị (thực phẩm) được chế biến bằng biện pháp xử lý bằng axit hoặc enzym thông thường không thể sử dụng làm thức ăn gia súc

do quy trình chế biến phức tạp và cần chi phí cao, nhưng gluten ngô lên men theo sáng chế có thể làm tăng ứng dụng thương mại gluten ngô làm thức ăn gia súc vì có thể chế biến ra gluten ngô lên men với chi phí sản xuất thấp.

(d) ngoài ra, gluten ngô lên men được chế biến theo sáng chế có thể là hữu ích trong việc nâng cao tối đa tác dụng tiêu hóa trong quá trình hấp thu thức ăn của gia súc vì chủng *Bacillus* sp. hữu hiệu như là probiotic vẫn còn lại trong sản phẩm cuối ở dạng bào tử, nhờ đó làm tăng giá trị sử dụng.

(e) Như đã nêu trên, gluten ngô lên men theo sáng chế có thể hữu ích trong việc cải thiện độ tiêu hoá do có mặt protein phân tử lượng thấp và các chất tương tự, và có thể được sử dụng rộng rãi làm protein trong thức ăn gia súc có nguồn gốc thực vật chất lượng cao vì gluten ngô lên men có hàm lượng protein về cơ bản tương tự với hàm lượng bột cá, là sản phẩm có lượng protein cao.

### **Mô tả vắn tắt các hình vẽ**

Các dấu hiệu, khía cạnh, và ưu điểm nêu trên và khác nữa của các phương án được ưu tiên theo sáng chế sẽ được mô tả đầy đủ hơn trong phần mô tả chi tiết sau, cùng với tham khảo các hình vẽ kèm theo. Trong các hình vẽ này:

FIG. 1 là sơ đồ thể hiện một phương pháp chế biến gluten ngô lên men theo một phương án của sáng chế;

FIG. 2 thể hiện các kết quả SDS-PAGE của gluten ngô; và

FIG. 3 thể hiện quá trình phân rã của protein trong quá trình lên men

gluten ngô.

(1) Gluten ngô (đối chứng)

(2) 50% ẩm được cho vào gluten ngô + *Lactobacillus plantarum* (được nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C trong thời gian 48 giờ)

(3) 70% ẩm được cho vào gluten ngô + *Bacillus subtilis* (được nuôi cấy ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 48 giờ)

(4) 40% ẩm được cho vào gluten ngô + *B. subtilis* (được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 24 giờ)

(5) 50% ẩm được cho vào gluten ngô + *B. subtilis* (được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 24 giờ)

(6) 50% ẩm được cho vào gluten ngô + *B. subtilis* (được nuôi cấy ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 24 giờ)

### Mô tả chi tiết sáng chế

Để khắc phục các nhược điểm nêu trên của tình trạng kỹ thuật, một khía cạnh của sáng chế là đề xuất phương pháp chế biến gluten ngô lên men, bao gồm các bước:

(a) cấy chủng *Bacillus* sp. vào gluten ngô được làm ẩm; và

(b) nuôi cấy pha rắn chủng *Bacillus* sp. được cấy vào gluten ngô để thu được gluten ngô lên men.

Các bước tương ứng của phương pháp chế biến gluten ngô lên men theo sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn, như sau.

**(a) Cây chủng *Bacillus* sp. vào gluten ngô được làm ẩm**

Tốt hơn là gluten ngô được sử dụng theo sáng chế thuộc cùng loại như gluten ngô được dùng trong lĩnh vực sao cho sản phẩm cuối của gluten ngô lên men có thể giữ nguyên chất lượng. Tuy nhiên, sự khác biệt về chất lượng của nguyên liệu thô như gluten ngô không ảnh hưởng đến chính quá trình lên men. Gluten ngô là bột màu vàng thu được thu được bằng cách tách và làm khô protein có trong ngô, và có ứng dụng thương mại ngày càng gia tăng như là thức ăn gia súc.

Dạng gluten ngô được làm ẩm theo sáng chế có thể được sử dụng mà không giới hạn miễn là nó chứa ẩm. Ví dụ, có thể thu nhận (hoặc mua) gluten ngô được xử lý sơ bộ để chứa ẩm để dùng, hoặc có thể chế biến thành gluten ngô được làm ẩm bằng cách đưa ẩm vào gluten ngô thu được như được sử dụng trong bản mô tả này. Trong trường hợp này, có thể thực hiện việc bổ sung ẩm bằng cách phun trực tiếp lượng nước định trước lên gluten ngô hoặc trộn một lượng nước định trước lên gluten ngô để điều chỉnh lượng ẩm.

Tốt hơn nếu, hàm lượng ẩm của gluten ngô được làm ẩm có thể nằm trong khoảng từ 30% đến 70% (thể tích/khối lượng), và, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 40 đến 60% (thể tích/khối lượng). Khi hàm lượng ẩm nhỏ hơn 30%, quá trình lên men chủng *Bacillus* sp. này có thể kéo dài do hàm lượng ẩm thấp, và đặc biệt là không thích hợp nếu hàm lượng ẩm đạt đến mức 20%, vì chủng *Bacillus* sp. này không thể phát triển sau quá trình lên men cuối vì ẩm bay hơi trong quá trình lên men. Khi hàm

lượng ẩm cao hơn 70%, có thể tốn chi phí cao trong quá trình làm khô, và gluten ngô có thể tạo thành tảng do cỡ hạt nhỏ, đó đó làm cho quá trình lên men không đồng đều.

Tốt hơn nếu, nhiệt độ nước được cho vào gluten ngô có thể nằm trong khoảng từ nhiệt độ trong phòng đến 100°C, và, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 15°C đến 100°C..

Theo một phương án ví dụ của sáng chế, quá trình lên men gluten ngô pha rắn nhờ xử lý nhiệt có hiệu quả được khẳng định. Kết quả là, khẳng định được rằng gluten ngô có thể được lên men đủ mà không phải thực hiện quá trình hấp (xử lý nhiệt) ban đầu với gluten ngô. Tuy nhiên, vì việc xử lý bằng nhiệt có thể được thực hiện đến một mức độ nhất định để làm giảm sự nhiễm tạp của các bào tử vi sinh vật khác nhau khi lượng chủng được cấy giảm đi với mục đích làm giảm chi phí chính, cũng có thể áp dụng bước xử lý bằng nhiệt gluten ngô sau khi thêm ẩm theo sáng chế.

Khi áp dụng biện pháp xử lý gluten ngô bằng nhiệt, tốt hơn nếu theo bản mô tả này, gluten ngô được xử lý bằng nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50 đến 120°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 5 đến 30 phút sau khi thêm ẩm.

Theo phương pháp của sáng chế, gluten ngô chứa ẩm được cấy bằng chủng *Bacillus* sp..

Khi gluten ngô được làm ẩm được cấy với chủng *Bacillus* sp. này, có thể cấy chủng *Bacillus* sp. trực tiếp trong canh trường nuôi cấy, hoặc có thể được cấy một cách đồng nhất có thể sau khi pha loãng thích hợp bằng nước cất.

Lượng chủng *Bacillus* sp. được cấy có thể nằm trong khoảng từ  $10^7$  đến  $10^9$  cfu/g. Trong trường hợp này, có thể tốt hơn nếu lượng chủng *Bacillus* sp. được cấy này nằm trong khoảng từ  $10^6$  đến  $10^9$  cfu/g vì gluten ngô xử lý bằng nhiệt cho hiệu quả thanh trùng khi gluten ngô được xử lý bằng nhiệt được cấy chủng *Bacillus* sp.. Khi lượng chủng *Bacillus* sp. được cấy là ít, thì giá trị kinh tế của hiệu suất có thể là thấp do thời gian lên men kéo dài, và canh trường nuôi cấy có thể nhiễm các bào tử vi sinh vật khác nhau. Khi chủng *Bacillus* sp. được cấy ở nồng độ cao hơn  $10^9$  cfu/g, chi phí sản xuất có thể tăng do cần đến điều kiện phức tạp để tạo ra chủng *Bacillus* sp. được cấy này và các thành phần môi trường khác nhau, do đó khó sử dụng chủng này để chế biến thức ăn gia súc.

Tốt hơn nếu, chủng *Bacillus* sp. này có thể là chủng *Bacillus* sp. không gây bệnh. Tốt hơn nữa nếu, chủng *Bacillus* sp. không gây bệnh này có thể là chủng *Bacillus* sp. được chọn từ nhóm bao gồm *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. toyoi*, *B. coagulans*, và *B. polyfermenticus*.

**(b) Nuôi cấy pha rắn chủng *Bacillus* sp. được cấy vào gluten ngô để thu được gluten ngô lên men**

Một trong số các đặc trưng của sáng chế là nhằm tăng khả năng phân cắt bằng cách nuôi cấy pha rắn chủng *Bacillus* sp. trong gluten ngô để chuyển hoá protein trong gluten ngô thành các phân tử có phân tử lượng thấp. Trước đây, ít sử dụng protein này làm nguồn thức ăn gia súc do gluten ngô có độ tiêu hoá thấp, và còn phương pháp xử

lý gluten ngô bằng cách thủy phân bằng axit hoặc phân hủy bằng enzym thông thường có thể dùng để chế biến thực phẩm (gia vị), nhưng có nhược điểm là có chi phí sản xuất cao nên không được dùng để sản xuất thức ăn gia súc. Trong điều kiện này, sáng chế đề xuất phương pháp chế biến gluten ngô bao gồm protein đã được chuyển hoá thành các phân tử có phân tử lượng thấp thông qua quá trình lên men pha rắn bằng cách sử dụng chủng *Bacillus* sp., do đó mở rộng đáng kể ứng dụng thương mại làm gluten ngô thức ăn gia súc là nguồn protein dồi dào.

Theo sáng chế, thuật ngữ “(quá trình lên men) nuôi cấy pha rắn” dùng để chỉ vi sinh vật được nuôi cấy bằng cách sử dụng gluten ngô còn lại sau khi chiết phần lớn tinh bột và chồi mầm ra khỏi ngô và tách cám ngô.

Tốt hơn nếu, nuôi cấy trên pha rắn này có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30 đến 45°C, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 35 đến 40°C, và tốt nhất nếu ở nhiệt độ 37°C.

Quá trình lên men có thể được thực hiện bằng cách sử dụng thùng lên men để chế biến xì dầu và bột đậu nành lên men thông thường, hoặc có thể được thực hiện bằng cách sử dụng thiết bị lên men dạng trống, nhưng sáng chế không chỉ giới hạn ở các phương pháp này. Ví dụ, khi gluten ngô có hàm lượng ẩm cao, quá trình lên men có thể được thực hiện bằng phương pháp sử dụng thùng nuôi cấy lỏng, v.v.

### **(c) Làm khô và nghiền gluten ngô lên men**

Tốt hơn nếu, phương pháp theo sáng chế có thể còn bao gồm bước (c) làm

khô và nghiền gluten ngô lên men sau bước (b). Khi quá trình lên men pha rắn được thực hiện bằng cách sử dụng bộ điều nhiệt-ẩm hoặc thùng lên men, lượng ẩm còn lại sau quá trình lên men ở hàm lượng rất cao là 20% đến 50% (thể tích/thể tích). Do đó, cần đến bước cuối là làm giảm hàm lượng ẩm.

Việc làm khô và nghiền có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp khác nhau đã biết trong lĩnh vực liên quan. Ví dụ, khi quá trình làm khô được thực hiện ở nhiệt độ rất cao, protein trong sản phẩm cuối có thể bị biến tính tiếp, do đó có ảnh hưởng không tốt đến tác dụng tiêu hóa. Tốt hơn nếu, có thể sử dụng máy nghiền búa trong phương pháp nghiền.

Sơ đồ của một phương pháp chế biến gluten ngô lên men theo một phương án ví dụ của sáng chế được thể hiện trên FIG. 1.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất gluten ngô lên men có protein phân tử lượng thấp được sản xuất bằng phương pháp chế biến theo sáng chế.

Về gluten ngô lên men, để đảm bảo tính rõ ràng của bản mô tả, không đưa ra mô tả về các hàm lượng mà đã được mô tả trong phương pháp chế biến gluten ngô lên men.

Theo sáng chế, thuật ngữ “protein phân tử lượng thấp” dùng để chỉ protein có phân tử lượng thấp hơn protein của gluten ngô mà không được lên men do có sự phân hủy protein ngô (tức là protein zein) có trong gluten ngô bởi enzym phân giải protein trong quá trình lên men pha rắn. Gluten ngô lên men theo sáng chế khác biệt ở chỗ

chứa protein phân tử lượng thấp như đã nêu trên.

Tốt hơn nếu, gluten ngô lên men có thể có hàm lượng protein nằm trong khoảng từ 62 đến 65% tính theo % khối lượng (w/w). Hàm lượng protein như vậy là tương đương với hàm lượng trong bột cá là nguồn cấp protein động vật chất lượng cao, và cao hơn hoặc bằng hàm lượng protein (từ 48 đến 55% (w/w)) bột đậu nành lên men, là nguồn cung cấp protein thực vật.

Theo một ví dụ phương án của sáng chế, gluten ngô được làm ẩm được nuôi cấy pha rắn với *B. subtilis*. Kết quả, đã khẳng định được rằng protein trong gluten ngô có thể phân huỷ thành các phân tử có phân tử lượng thấp, không giống như nuôi cấy pha rắn bằng cách sử dụng chủng *Lactobacillus* sp. (FIG. 3). Ngoài ra, khẳng định được rằng hàm lượng protein của gluten ngô lên men được sản xuất bằng phương pháp theo sáng chế tăng lên so với trước khi lên men (Bảng 3). Như đã nêu trên, sáng chế đề xuất gluten ngô lên men, có protein phân tử lượng thấp và có hàm lượng protein tăng lên, bằng cách lên men pha rắn gluten ngô bằng chủng *Bacillus* sp., nhờ đó cải thiện đáng kể ứng dụng thương mại của gluten ngô như là nguồn protein thực vật có chất lượng cao có khả năng thay thế protein động vật.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất chất phụ gia thức ăn gia súc chứa gluten ngô lên men theo sáng chế.

Theo sáng chế, thuật ngữ “chất phụ gia thức ăn gia súc” dùng để chỉ chất được cho vào thức ăn gia súc để cải thiện sản lượng của sinh vật đích và làm tăng sự

khỏe mạnh của chúng.

Chất phụ gia thức ăn gia súc có thể được điều chế ở các dạng khác nhau đã biết trong lĩnh vực liên quan, và có thể được sử dụng đơn lẻ hoặc kết hợp với chất phụ gia thức ăn gia súc thông thường đã biết trong lĩnh vực liên quan.

Chất phụ gia thức ăn gia súc có thể được bổ sung vào thức ăn gia súc ở tỷ lệ thành phần thích hợp vì nguồn cung cấp protein thực vật hàm lượng cao có khả năng thay thế protein động vật. Trong trường hợp này, tỷ lệ thành phần của chất phụ gia thức ăn gia súc có thể được chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này xác định một cách dễ dàng.

Chất phụ gia thức ăn gia súc theo sáng chế có thể được cho vào thức ăn gia súc cho động vật như gà, lợn, khỉ, chó, mèo, thỏ, bò, cừu và dê, nhưng sáng chế không chỉ giới hạn ở các động vật này. Đặc biệt là, chất phụ gia thức ăn gia súc theo sáng chế có thể có tác dụng cung cấp một lượng lớn protein thực vật và cải thiện khả năng tiêu hoá khi chất phụ gia thức ăn gia súc chứa gluten ngô lên men.

### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

#### **Phương án tốt nhất của sáng chế**

Sau đó, là mô tả chi tiết các phương án được ưu tiên theo sáng chế cùng với các hình vẽ kèm theo. Do đó, cần phải hiểu rằng mô tả được đưa ra trong bản mô tả này chỉ là ví dụ được ưu tiên dùng cho mục đích minh họa, và không nhằm giới hạn phạm vi sáng chế, vì thế cần hiểu rằng có thể thực hiện các thay đổi tương đương và

các cải biến mà không nằm ngoài phạm vi của sáng chế.

**Ví dụ 1: Hiệu quả của việc xử lý bằng nhiệt đối với quá trình lên men pha rắn gluten ngô**

Bổ sung cùng một lượng ẩm vào gluten ngô, và gluten ngô khi đó được xử lý bằng nhiệt ở nhiệt độ 60°C đến 120°C, và được làm nguội xuống nhiệt độ lên men tối ưu là 37°C. Sau đó, gluten ngô được cấy *B. subtilis* với mật độ chủng được cấy giống nhau đối với mỗi nhóm thử nghiệm.

Bảng 1

Hiệu quả lên men pha rắn gluten ngô theo xử lý nhiệt

| Hàm lượng ẩm sau khi bổ sung ẩm | Xử lý bằng nhiệt | Lượng chủng được cấy (cfu/g) | Số lượng chủng sau khi lên men 24 giờ (cfu/g) |
|---------------------------------|------------------|------------------------------|-----------------------------------------------|
| 50%                             | Không            | $1,5 \times 10^7$            | $1,2 \times 10^9$                             |
| 50%                             | 60°C, 10 phút    | $1,5 \times 10^7$            | $3,0 \times 10^9$                             |
| 50%                             | 60°C, 30 phút    | $1,5 \times 10^7$            | $2,2 \times 10^9$                             |
| 50%                             | 80°C, 10 phút    | $1,5 \times 10^7$            | $2,5 \times 10^9$                             |
| 50%                             | 80°C, 30 phút    | $1,5 \times 10^7$            | $2,8 \times 10^9$                             |
| 50%                             | 100°C, 10 phút   | $1,5 \times 10^7$            | $3,0 \times 10^9$                             |
| 50%                             | 100°C, 30 phút   | $1,5 \times 10^7$            | $3,6 \times 10^9$                             |
| 50%                             | 120°C, 10 phút   | $1,5 \times 10^7$            | $3,1 \times 10^9$                             |
| 50%                             | 120°C, 30 phút   | $1,5 \times 10^7$            | $3,2 \times 10^9$                             |

Như được nêu ra ở Bảng 1, có thể nhận thấy rằng chủng được cấy vẫn phát triển cho dù không có xử lý bằng nhiệt. Từ các kết quả nêu trên, khẳng định được rằng gluten ngô được lên men mà không cần thực hiện quá trình xử lý hấp ban đầu (xử lý

bằng nhiệt).

*Ví dụ 2: Xác định mức độ lên men gluten ngô theo hàm lượng ban đầu của ẩm được bổ sung*

Để xác định mức độ lên men của gluten ngô theo hàm lượng ẩm ban đầu, gluten ngô với hàm lượng ẩm sau khi bổ sung ẩm được điều chỉnh đến 30%, 40%, 50%, 60%, 70% và 80% được cấy tương ứng với mỗi trong số các chủng *Bacillus* sp. và *Lactobacillus* sp., được lên men trong thời gian 24 giờ, và đếm lượng vi khuẩn. Các kết quả được liệt kê trong Bảng 2 sau đây.

Bảng 2

Mức độ lên men gluten ngô theo hàm lượng ẩm ban đầu được bổ sung

| Hàm lượng ẩm sau bổ sung ẩm | Chủng                                                           | Lượng chủng sau khi lên men 24 giờ (cfu/g) |
|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| 30%                         | <i>L. plantarum</i>                                             | $8,2 \times 10^6$                          |
| 30%                         | <i>B. subtilis</i>                                              | $1,2 \times 10^7$                          |
| 40%                         | <i>L. plantarum</i>                                             | $7,0 \times 10^6$                          |
| 40%                         | <i>B. subtilis</i>                                              | $1,5 \times 10^9$                          |
| 50%                         | <i>L. plantarum</i>                                             | $2,8 \times 10^7$                          |
| 50%                         | <i>B. subtilis</i>                                              | $3,0 \times 10^9$                          |
| 60%                         | <i>L. plantarum</i>                                             | $3,6 \times 10^7$                          |
| 60%                         | <i>B. subtilis</i>                                              | $3,1 \times 10^9$                          |
| 70%                         | <i>L. plantarum</i>                                             | $3,6 \times 10^8$                          |
| 70%                         | <i>B. subtilis</i>                                              | $3,0 \times 10^9$                          |
| 80%                         | Không thể lên men đồng nhất do hiện tượng đóng cục nghiêm trọng | -                                          |

Kết quả, nhận thấy rằng chủng *Bacillus* sp. ( $1,2 \times 10^7$  cfu/g) phát triển ít và chủng *Lactobacillus* sp. ( $8,2 \times 10^6$  cfu/g) không phát triển khi gluten ngô có hàm lượng ẩm 30%, so với số lượng chủng được cấy ban đầu ( $1,0 \times 10^7$  cfu/g). Ngoài ra, có thể nhận thấy rằng chủng *Bacillus* sp. phát triển nhanh ở hàm lượng ẩm 40% hoặc cao hơn, điều này chứng tỏ rằng hàm lượng ẩm tối thiểu là cao hơn hoặc bằng 30% khi chủng *Bacillus* sp. này được nuôi cấy vào gluten ngô. Chủng *Lactobacillus* sp. được nuôi cấy chậm hơn chủng *Bacillus* sp., và phát triển kém, đặc biệt là ở hàm lượng ẩm 40% hoặc nhỏ hơn. Từ các kết quả này, có thể nhận thấy rằng chủng *Bacillus* sp. phát triển nhanh trong gluten ngô là thích hợp hơn chủng *Lactobacillus* sp. để tạo ra sản phẩm cuối.

***Ví dụ 3: Xác định quá trình phân rã protein theo điều kiện lên men gluten ngô***

Xác định các loại protein trong gluten ngô theo SDS-PAGE. Các kết quả này được thể hiện trên FIG. 2. Từ các kết quả này, có thể nhận thấy rằng gluten ngô đơn giản là bao gồm hai protein, như được thể hiện trên FIG. 2.

Khi các protein chính của gluten ngô như được thể hiện trên FIG. 2 được chuyển hoá thành các phân tử có phân tử lượng thấp thông qua quá trình lên men, tác dụng tiêu hóa của sản phẩm cuối được cải thiện, điều này cho thấy sự phân hủy của protein trong gluten ngô trong điều kiện lên men thực tế. Các kết quả sự phân rã của các protein cấu thành của gluten ngô sau khi gluten ngô có hàm lượng ẩm 50% được cấy *L. plantarum* sau khi bổ sung ẩm và được nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C trong thời gian

48 giờ (đường 2), các kết quả sự phân rã các protein cấu thành gluten ngô sau khi gluten ngô có hàm lượng ẩm 70% được cấy *B. subtilis* sau khi bổ sung ẩm và được nuôi cấy ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 48 giờ (đường 3), các kết quả sự phân rã các protein cấu thành gluten ngô sau khi gluten ngô có hàm lượng ẩm 40% được cấy *B. subtilis* sau khi bổ sung ẩm và được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 24 giờ (đường 4), và các kết quả sự phân rã các protein cấu thành gluten ngô sau khi gluten ngô có hàm lượng ẩm 50% được cấy *B. subtilis* sau khi bổ sung ẩm và nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C và 40°C trong thời gian 24 giờ (các đường 5 và 6) được thể hiện ở FIG. 3.

Kết quả, có thể nhận thấy rằng hai protein chủ yếu, protein zein, của gluten ngô không được phân cắt một cách dễ dàng khi gluten ngô được nuôi cấy với *L. plantarum* (tức là chủng *Lactobacillus* sp.) (đường 2), nhưng mức độ phân cắt protein là cao trong trường hợp *B. subtilis* (các đường 4 đến 6), như được thể hiện trên FIG. 3. Trong khi đó, trong trường hợp với nhóm thử nghiệm *Bacillus* thứ ba, nhận thấy rằng mức độ lên men là thấp, điều này chứng tỏ rằng gluten ngô được nuôi cấy với chủng *Bacillus* sp. ở nhiệt độ 50°C là cao hơn nhiệt độ tối ưu mà ở đó chủng *Bacillus* sp. này có thể phát triển. Từ các kết quả này, có thể nhận thấy rằng thu được các kết quả tối ưu khi quá trình lên men được thực hiện ở nhiệt độ lên đến 45°C trong điều kiện chế biến tạo ra sản phẩm cuối.

**Ví dụ 4: Xác định hàm lượng protein sau khi lên men gluten ngô**

Gluten ngô được lên men theo cùng cách thức như ở ví dụ 3, và đo hàm lượng

protein của gluten ngô lên men. Phương pháp thử nghiệm được thực hiện theo cùng cách thức như ở ví dụ 3, thử nghiệm đo hàm lượng protein được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp Kjeldahl, và thiết bị đo FOSS Kjelttec 8400. Về khía cạnh này, các kết quả thử nghiệm được liệt kê trong Bảng 3.

Bảng 3

| Nguồn và tỷ lệ bổ sung ảm         | Chủng và điều kiện nuôi cấy                                                | Hàm lượng protein (có tính hiệu chỉnh ảm 7%) |
|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Gluten ngô (đối chứng)            | đối chứng (không được nuôi cấy)                                            | 62%                                          |
| gluten ngô và 50% ảm được bổ sung | <i>L. plantarum</i> (được nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C trong thời gian 48 giờ) | 62%                                          |
| gluten ngô và 70% ảm được bổ sung | <i>B. subtilis</i> (được nuôi cấy ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 48 giờ)  | 63%                                          |
| gluten ngô và 40% ảm được bổ sung | <i>B. subtilis</i> (được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 24 giờ)  | 64%                                          |
| gluten ngô và 50% ảm được bổ sung | <i>B. subtilis</i> (được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 24 giờ)  | 65%                                          |
| gluten ngô và 50% ảm được bổ sung | <i>B. subtilis</i> (được nuôi cấy ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 24 giờ)  | 63%                                          |

Kết quả này khẳng định được rằng hàm lượng protein của gluten ngô sau quá trình lên men là nằm trong khoảng từ 62 đến 65%, là hơi cao hơn hàm lượng protein (khoảng 62%) gluten ngô trước khi lên men. Hàm lượng protein của gluten ngô lên men về cơ bản tương tự với hàm lượng của bột cá là sản phẩm protein động vật chất lượng cao. Các kết quả này chứng tỏ rằng gluten ngô lên men được chế biến bằng

phương pháp theo sáng chế được dùng hữu hiệu làm nguồn protein thực vật có chất lượng cao có khả năng thay thế nguồn protein động vật.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp chế biến gluten ngô lên men để làm thức ăn có hàm lượng protein gia tăng so với trước khi lên men, phương pháp này bao gồm các bước:

(a) cấy chủng *Bacillus* sp. vào gluten ngô được làm ẩm; và

(b) nuôi cấy pha rắn chủng *Bacillus* sp. được cấy vào gluten ngô để thu được gluten ngô lên men.

2. Phương pháp chế biến theo điểm 1, trong đó gluten ngô được làm ẩm có hàm lượng ẩm nằm trong khoảng từ 30% đến 70% (thể tích/khối lượng).

3. Phương pháp chế biến theo điểm 1, trong đó gluten ngô được làm ẩm được xử lý bằng nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50 đến 120°C trong thời gian từ 5 đến 30 phút sau khi bổ sung ẩm.

4. Phương pháp chế biến theo điểm 1, trong đó chủng *Bacillus* sp. này là chủng *Bacillus* sp. không gây bệnh.

5. Phương pháp chế biến theo điểm 4, trong đó chủng *Bacillus* sp. không gây bệnh này được chọn từ nhóm bao gồm *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *B. toyoi*, *B. coagulans*, và *B. polyfermenticus*.

6. Phương pháp chế biến theo điểm 1, trong đó nuôi cấy trên pha rắn này được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30 đến 45°C.

FIG. 1

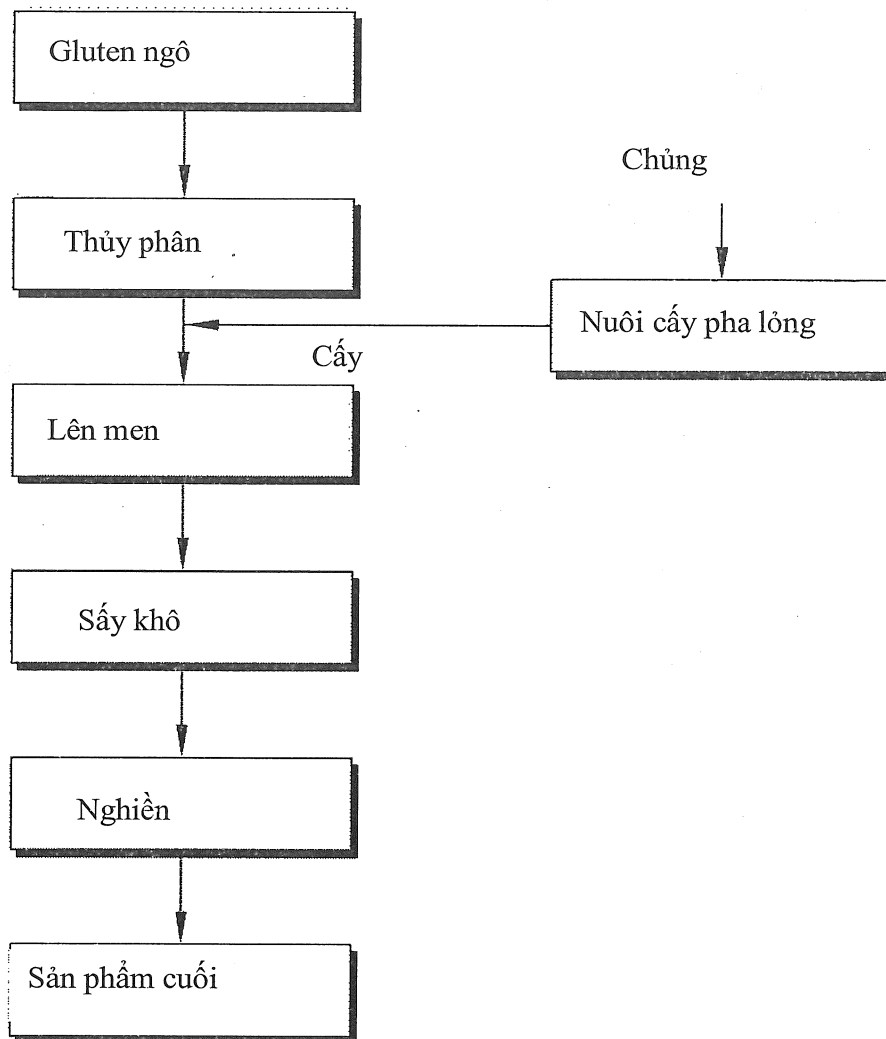


FIG. 2

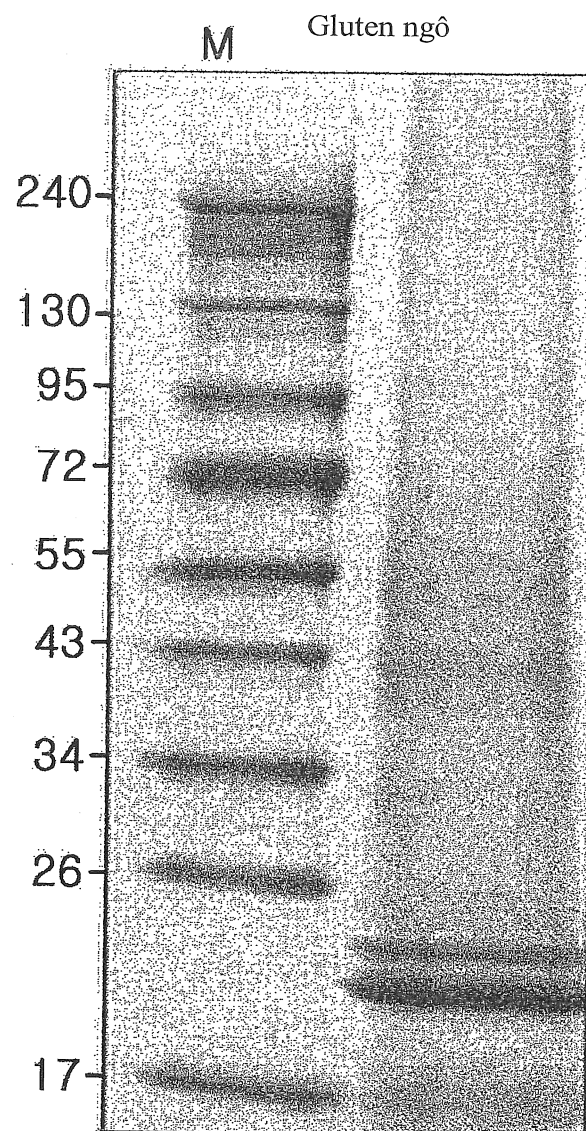


FIG. 3

