



(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)



1-0029843

(51)⁷ A23L 1/211

(13) B

-
- (21) 1-2014-04114 (22) 15/05/2013
(86) PCT/EP2013/060025 15/05/2013 (87) WO 2013/171259 A3 21/11/2013
(30) 12168274.4 16/05/2012 EP; 61/647,667 16/05/2012 US; 61/777,938 12/03/2013 US
(45) 25/10/2021 403 (43) 25/05/2015 326A
(73) HAMLET PROTEIN A/S (DK)
Saturnvej 51 DK-8700 Horsens (DK)
(72) ELLEGÅRD, Katrine, Hvid (DK); THOMSEN, Karl, Kristian (DK); HANSEN, Ole,
Kaae (DK).
(74) Công ty Cổ phần Sở hữu công nghiệp INVESTIP (INVESTIP)
-

(54) PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT SẢN PHẨM SINH HỌC DẠNG RẮN, SẢN PHẨM DẠNG RẮN THU ĐƯỢC BẰNG PHƯƠNG PHÁP NÀY VÀ CÁC SẢN PHẨM THỰC PHẨM, THỨC ĂN, MỸ PHẨM, DƯỢC PHẨM, CHẤT BỔ SUNG DINH DƯỠNG CHỨA SẢN PHẨM SINH HỌC DẠNG RẮN NÀY

(57) Sáng chế đề cập phương pháp sản xuất sản phẩm sinh học dạng rắn trong đó ít nhất 80% hàm lượng oligosacarit khó tiêu hóa ban đầu (raffinosa, stachyoza và verbascoza) được phân hủy thành mono- và disacarit tiêu hóa được, bao gồm các bước sau đây: (1) tạo ra hỗn hợp sinh khối được nghiền hoặc được tán hoặc được phân hủy theo cách khác, bao gồm oligosacarit và tùy ý là polysacarit và còn bao gồm các phần thực vật có protein, nước và một hoặc nhiều hơn chế phẩm enzym chứa α -galactosidaza; (2) hỗn hợp phản ứng thu được từ bước (1) trong điều kiện trộn liên tục và trong điều kiện mà hàm lượng nước trong hỗn hợp ban đầu không vượt quá 65% theo trọng lượng, trong khoảng 0,15-36 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng 20-65°C; (3) ủ hỗn hợp phản ứng từ bước (2) ở nhiệt độ và trong khoảng thời gian mà làm bất hoạt α -galactosidaza, cũng như các sản phẩm sinh học dạng rắn có thể thu được bằng phương pháp này. Sáng chế còn đề cập đến sản phẩm thực phẩm, thức ăn, mỹ phẩm hoặc dược phẩm hoặc cung cấp dinh dưỡng chứa sản phẩm sinh học dạng rắn.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất sản phẩm sinh học với tập hợp đường bị biến đổi được làm giàu trong hàm lượng monosacarit và sucroza và làm giảm hàm lượng oligosacarit khó tiêu hóa. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp, trong đó đường lên men ban đầu có mặt hoặc được tạo ra bởi galactosidaza, có thể còn được chuyển hóa bằng nấm hoặc vi khuẩn.

Hơn nữa, sáng chế đề cập đến các sản phẩm có thể thu được bằng các phương pháp cũng như sử dụng các sản phẩm đạt được.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Có nhu cầu đối với các sản phẩm sinh học chủ yếu có thể được sử dụng làm các thành phần trong thực phẩm hoặc thức ăn. Các thành phần cơ bản trong các sản phẩm như protein, chất béo và cacbohydrat.

Sinh khối thích hợp cho các sản phẩm như cỏ và các cây chứa dầu, như các hạt, ngũ cốc và các loại đậu. Ngũ cốc có hàm lượng protein lên đến 15% ví dụ, lúa mì, và các loại đậu có hàm lượng lên đến 45% ví dụ, đậu nành, dựa trên chất khô.

Vấn đề chung đặc biệt liên quan đến các loại đậu là hàm lượng oligosacarit khó tiêu hóa gây đầy hơi khi được lên men trong ruột. Sự có mặt của oligosacarit raffinosa, stachyosa và verbascosa có thể được làm giảm bằng cách ngâm nước hoặc các enzym bằng thủy phân với galactosidaza. Vấn đề liên quan đến điều này làm tăng thêm chi phí của sản phẩm cuối cùng do sử dụng nước trong ngâm hoặc bằng cách xử lý enzym mà đã được thực hiện tại hàm lượng nước tương đối cao nằm trong khoảng 80% hoặc nhiều hơn.

US 6,238,725 B1 bộc lộ phương pháp dùng cho việc pha chế cây họ đậu trong đó việc đầy hơi do oligosacarit được loại bỏ bằng cách ngâm nước.

WO 02/15712 A2 bộc lộ phương pháp sản xuất sản phẩm protein đậu nành bằng cách sử dụng α -galactosidaza trong đó, hàm lượng nước trong quá trình này là

80 - 90%. Sản phẩm đậu nành đạt được có hàm lượng protein tối thiểu là 60% và hàm lượng tổng của raffinosa và stachyoza ít hơn 5%.

US 2003/019041 A1 bộc lộ phương pháp sản xuất khối đặc protein đậu nành bằng cách sử dụng glycosidaza enzym (galactosidaza) trong đó, hàm lượng nước trong quá trình theo các ví dụ là xấp xỉ 90%. Sau khi thủy phân cacbohydrat và muối được loại bỏ bằng cách lọc qua máy siêu lọc. Khối đặc đậu nành đạt được có hàm lượng protein tối thiểu là 65% và hàm lượng được kết hợp của raffinosa và stachyoza ít hơn 4%.

WO 2009/143591 bộc lộ phương pháp dùng cho chế biến đậu nành bằng cách sử dụng Enzym có khả năng chuyển hóa các polysacarit không tan vào đường hòa tan được và thủy phân hóa protein tại hàm lượng nước tối đa 35%. Mức độ thoái biến không được bộc lộ.

Mục đích của Sáng chế đề cập phương pháp được cải thiện dùng cho sản xuất các sản phẩm sinh học với tập hợp đường bị biến đổi được làm giàu trong hàm lượng monosacarit và sucroza và làm giảm hàm lượng oligosacarit khó tiêu hóa, có thể được thực hiện ở chi phí thấp do hàm lượng nước thấp trong quá trình này.

Tuy nhiên, mục đích khác theo Sáng chế đề cập phương pháp trong đó đường lên men ban đầu có mặt hoặc được tạo ra bằng α -galactosidaza, có thể còn được chuyển hóa bằng nấm ví dụ, nấm men và/hoặc vi khuẩn ví dụ, vi khuẩn sữa.

Các mục đích này được thực hiện bằng quy trình và các sản phẩm theo sáng chế.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo đó, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất sản phẩm sinh học dạng rắn trong đó ít nhất 80% hàm lượng oligosacarit khó tiêu hóa (raffinosa, stachyoza và verbascoza) có nguồn gốc thực vật được phân hủy thành mono- và disacarit tiêu hóa được bao gồm các bước sau đây:

1) tạo ra hỗn hợp sinh khối được nghiền hoặc được tán hoặc được phân hủy theo cách khác,

bao gồm oligosacarit và tùy ý là polysacarit, và còn bao gồm các phần thực vật có protein, nước và một hoặc nhiều hơn chế phẩm enzym chứa α -galactosidaza;

2) hỗn hợp phản ứng thu được từ bước (1) trong điều kiện trộn liên tục và trong điều kiện mà hàm lượng nước trong hỗn hợp ban đầu không vượt quá 65% theo trọng lượng, trong khoảng 0,15-36 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng 20-65°C;

3) ủ hỗn hợp phản ứng từ bước (2) ở nhiệt độ và trong khoảng thời gian làm bất hoạt α -galactosidaza.

Ngạc nhiên là sự thủy phân enzym, ví dụ, phân hủy xúc tác bằng phản ứng với nước có thể được thực hiện ở hàm lượng nước không vượt quá 65% theo trọng lượng. Thông thường, hàm lượng thấp của nước có xu hướng làm chậm phản ứng do các vấn đề tiếp xúc cơ học với chất nền. Để đưa ra lời giải thích khoa học ở giai đoạn này sẽ là suy lý luận. Sự kết hợp của việc sử lý trước chất nền, hoạt tính của α -galactosidaza và cách tiến hành trộn trong quá trình phản ứng được cho là yếu tố quan trọng.

Ưu điểm là ở chỗ sản phẩm thu được từ phương pháp này chỉ chứa lượng nhỏ của nước do hàm lượng nước thấp trong quá trình này, và theo đó, việc sấy khô sản phẩm có thể được thực hiện ở chi phí thấp do lượng nhỏ của nước được loại bỏ.

Sáng chế còn đề cập đến sản phẩm sinh học dạng rắn có thể thu được bằng quy trình theo sáng chế này bao gồm protein ở thực vật theo lượng lên đến khoảng 60% và tùy ý là glyxerit lên đến 25% theo trọng lượng của chất khô.

Sáng chế cũng đề xuất đến sản phẩm sinh học dạng rắn có thể thu được bằng phương pháp như được xác định trong yêu cầu bảo hộ 13 - 20.

Cuối cùng, sáng chế đề cập đến sản phẩm thực phẩm, thức ăn, mỹ phẩm hoặc dược phẩm hoặc cung cấp dinh dưỡng chứa khoảng từ 1 đến 99% theo trọng lượng của sản phẩm sinh học dạng rắn theo sáng chế này.

Các định nghĩa

Theo ngữ cảnh theo sáng chế, các thuật ngữ dưới đây có nghĩa là để bao gồm như sau, trừ khi được xác định ở những nơi khác trong bản mô tả.

Thuật ngữ "khoảng", "xung quanh", "khoảng chừng", hoặc "~" có nghĩa là để chỉ ví dụ, phép đo không ổn định thường được xác định trong kỹ thuật này, có thể theo thứ tự tầm quan trọng của ví dụ, +/- 1, 2, 5, 10, 20, hoặc thậm chí 50%.

Thuật ngữ "bao gồm" là được giải thích như chỉ ra sự có mặt của các phần đã nêu, các bước, các đặc tính, chế phẩm, hóa chất, hoặc thành phần, nhưng không loại trừ sự có mặt của một hoặc nhiều hơn các phần, các bước, các đặc tính, chế phẩm,

hóa chất hoặc thành phần bổ sung. Ví dụ, chế phẩm bao gồm hợp chất hóa học do đó có thể bao gồm các hợp chất hóa học bổ sung, v.v.

Thuật ngữ khó tiêu hóa là để giải thích là không tiêu hóa được của con người và dạ dày đơn/động vật không nhai lại.

Thuật ngữ "ít nhất 80% hàm lượng oligosacarit khó tiêu hóa ban đầu được phân hủy" để giải thích như chỉ ra hàm lượng tổng của oligosacarit khó tiêu hóa được phân hủy bởi ít nhất 80% và cũng bao gồm các sản phẩm trong đó, một loại của oligosacarit có thể được phân hủy đến mức độ lớn hơn so với loại khác của oligosacarit, và ngay cả trong đó, một loại của oligosacarit có thể được phân hủy chỉ trong phạm vi nhỏ, miễn là hàm lượng tổng của oligosacarit ban đầu - bắt đầu - đã được làm giảm như được dự định bởi ít nhất 80%.

Sinh khối:

Bao gồm vật liệu sinh học được sản xuất bằng cách quang tổng hợp và có thể được sử dụng làm nguyên liệu trong sản xuất công nghiệp.

Trong bối cảnh này, sinh khối liên quan đến vật liệu thực vật ở dạng cỏ, ngũ cốc, các hạt, hạnh nhân, hạt đậu và đậu hà lan, v.v., và hỗn hợp của chúng.

Hơn nữa, sinh khối bao gồm các loại đậu được ưa thích do hàm lượng protein và chế phẩm. Chúng cũng chứa cacbohydrat bao gồm alpha-galactosides. Thông thường, alpha-galactoside chủ yếu là stachyosa trừ đậu hà lan trong đó oligosacarit chủ yếu là verbascosa.

Được tán nhỏ theo cách khác:

Có nghĩa là được tán nhỏ bằng cách nấu và/hoặc ngâm và/hoặc nấu áp cao bằng axit hoặc kiềm, hoặc xử lý siêu âm.

Cacbohydrat:

Bao gồm mono-, di-, oligo- và polysacarit.

Đường C5 (pentoza) là cacbohydrat, trong đó thành phần monome của đường được cấu tạo từ vòng có năm nguyên tử cacbon, ví dụ, arabinoza.

Đường C6 (hexoza) là cacbohydrat, trong đó thành phần monome của đường được cấu tạo từ vòng có sáu nguyên tử cacbon, ví dụ, galactoza.

Oligosacarit và polysacarit:

Oligosacarit là polyme của sacarit chứa một lượng nhỏ (bao gồm lên đến, ví dụ, 8-10) thành phần monome của đường, cũng được biết đến là đường đơn. Các ví

dụ cụ thể là trisacarit rafinoza (D-galactosa-al,6-D-glucoza-al, 2-D-fructoza), tetrasacarit stachyoza (D-galactosa-al,6-D-galactosa-al,6-D-glucoza-al, 2-D-fructoza) và pentasacarit verbascoza (D-galactosa-al,6-D-galactosa-al,6-D-galactosa-al,6-D-glucoza-al, 2-D-fructoza).

Polysacarit là polyme của sacarit chứa một lượng lớn thành phần monome của đường, cũng được gọi là cacbohydrat phức. Nếu monome của đường là cùng loại, polysacarit được gọi là homopolysacarit, nhưng khi có nhiều hơn một loại, chúng được gọi là heteropolysacarit.

Các ví dụ bao gồm polysacarit lưu trữ như tinh bột và polysacarit cấu trúc như xenluloza và arabinoxylan.

Các vật liệu có protein:

Bao gồm các hợp chất hữu cơ được làm từ các axit amin được sắp xếp trong mạch thẳng và được kết hợp với nhau bằng một liên kết gọi là liên kết peptit. Khi độ dài mạch lên đến khoảng 50 axit amin, hợp chất này được gọi là peptit; khi trọng lượng phân tử cao hơn, hợp chất hữu cơ này được gọi là polypeptit hoặc protein.

Chất béo:

Bao gồm các este giữa các axit béo và glyxerol. Một phân tử của glyxerol được este hóa thành một, hai và ba phân tử axit béo theo thứ tự tạo thành monoglyxerit, diglyxerit hoặc triglyxerit. Thông thường, chất béo chủ yếu bao gồm triglyxerit và lượng rất nhỏ lecithin, sterol, v.v.. Nếu chất béo là chất lỏng ở nhiệt độ trong phòng, nó thường được gọi là dầu. Đối với dầu, chất béo và các sản phẩm liên quan trong phạm vi này, tham khảo tài liệu "Lipid Glossary 2", F.D. Gunstone, The Oily Press, 2004.

Glyxerit:

Bao gồm mono-, di- và triglyxerit.

Các hỗ trợ xử lý:

1. Enzym

(Các) Enzym là loại chất có protein rất lớn hoạt động như là các chất xúc tác. Nói chung, chúng được chia thành sáu loại, và các loại chính nằm trong phạm vi của sáng chế có thể là các transferaza mà truyền các nhóm chức và hydrolaza mà thủy phân các liên kết khác nhau.

Trong phạm vi của sáng chế, các enzym hydrolaza của glycosit đóng vai trò quan trọng và đặc biệt là galactosidaza mà là enzym thủy phân alpha-galactoza cuối trong alpha-galactosit, bao gồm galactoza oligosacarit và galacto-mannan, giải phóng các gốc D-galactoza.

Hoạt tính của α -galactosidaza trong chế phẩm được biểu hiện theo đơn vị/g của sản phẩm enzym thực tế và được thử nghiệm bằng phản ứng p-nitrophenyl- α -D-galactopyranosit với nước và enzym trong 10 phút ở nhiệt độ 25°C để tạo ra D-galactoza và p-nitrophenyl mà được giám sát bằng phổ quang kế ở 410nm.

Một đơn vị α -galactosidaza là hoạt tính Enzym giải phóng một micromol (10⁻⁶ mol) p-nitrophenyl trong mỗi phút.

Các ví dụ khác về enzym bao gồm: (các) proteaza, (các) peptidaza, -galactosidaza, (các) amylaza, (các) glucanaza, (các) pectinaza, (các) hemixenluloza, (các) phytaza, (các) lipaza, (các) phospholipaza và (các) oxido-reductaza.

2. Các thành phần thực vật và chất chế biến hữu cơ

Một số tính chất chức năng đóng vai trò quan trọng trong phạm vi của sáng chế là: chất chống oxy hóa, hoạt tính kháng khuẩn, các tính chất làm ướt và sự kích ứng của enzym.

Danh sách các thành phần dựa trên thực vật là lớn, nhưng quan trọng nhất là các thành phần sau: hương thảo, xạ hương, kinh giới đại, các flavonoid, axit phenolic, saponin và các axit dạng α và β từ các cây hoa bia, ví dụ, từ humulon và lupolon, để điều biến cacbohydrat hòa tan được.

Hơn nữa, các axit hữu cơ, ví dụ, axit sorbic, propionic, lactic, xitric và ascorbic và muối của chúng để điều chỉnh chỉ số độ pH, bảo quản và các tính chất chelat hóa là một phần của nhóm các chất hỗ trợ chế biến này.

3. Chất chế biến vô cơ

Bao gồm chế phẩm vô cơ mà có thể bảo quản hỗn hợp lên men chống lại sự tấn công của vi khuẩn trong khi chế biến, ví dụ, natri bisulfit, v.v..

Chất cải thiện chống đông bánh và chất cải thiện dòng chảy trong thành phẩm, ví dụ, kali nhôm silicat, v.v.

Các sản phẩm thực phẩm được chế biến:

Bao gồm các sản phẩm bơ sữa, các sản phẩm thịt được chế biến, kẹo, món tráng miệng, món tráng miệng có kem, các sản phẩm đóng hộp; bột sấy đông lạnh, gia vị, súp, thực phẩm ăn liền, bánh mỳ, bánh, v.v..

Các sản phẩm cung ứng được chế biến:

Bao gồm các thành phần cung ứng dùng ngay hoặc thành phần cung ứng dùng cho động vật như lợn, bê, gia cầm, động vật có lông, cừu, mèo, chó, cá và loài giáp xác, v.v.

Dược phẩm:

Bao gồm các sản phẩm, cụ thể là ở dạng viên nén hoặc ở dạng hạt, chứa một hoặc nhiều các hoạt chất sinh học nhằm để chữa và/hoặc làm giảm các triệu chứng của bệnh hoặc tình trạng bệnh. Dược phẩm này còn bao gồm các tá dược dược dụng và/hoặc các chất mang dược dụng. Các sản phẩm sinh học dạng rắn được bọc lộ trong bản mô tả này rất thích hợp để sử dụng làm thành phần dược dụng trong viên nén hoặc hạt.

Mỹ phẩm:

Bao gồm các sản phẩm nhằm vệ sinh cá nhân cũng như cải thiện vẻ bên ngoài như dầu xả và sữa tắm.

Mô tả chi tiết sáng chế

Oligosacarit khó tiêu hóa có nguồn gốc thực vật, hàm lượng của nó được phân hủy bởi quá trình theo sáng chế chủ yếu là raffinosa, stachyoza, và verbascoza.

Hàm lượng nước trong hỗn hợp phản ứng ban đầu không vượt quá 65% theo trọng lượng, điều này có nghĩa rằng hàm lượng chất khô trong hỗn hợp ít nhất là 35%.

Thời gian phản ứng là 0,15-36 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng 20-65°C. Nhiệt độ có thể ví dụ, thay đổi từ 25-60°C, 30-55°C, từ 35 đến 50°C, từ 40 đến 45°C; thời gian phản ứng có thể ví dụ, thay đổi từ 10 phút đến 36 giờ, từ 20 phút đến 30 giờ, từ 1 đến 24 giờ, từ 2 đến 20 giờ, từ 4 đến 18 giờ, từ 8 đến 16 giờ hoặc từ 12 đến 14 giờ.

Theo một phương án của phương pháp theo sáng chế còn bao gồm nấm, như nấm men sống, và/hoặc vi khuẩn được bổ sung với sinh khối bao gồm oligosacarit và/hoặc polysacarit và các phần thực vật có protein theo tỷ lệ chất khô giữa nấm/vi

khuẩn và sinh khối nằm trong khoảng từ 1:2 đến 1:400, và việc ủ trong bước (3) được thực hiện ở nhiệt độ và trong khoảng thời gian làm bất hoạt α -galactosidaza và nấm và/hoặc vi khuẩn. Do đó, tỷ lệ chất khô như: 1:2; 1:3; 1:4; 1:5; 1:6; 1:7; 1:8; 1:9; 1:10; 1:20; 1:30; 1:40; 1:50; 1:60; 1:70; 1:80; 1:90; 1:100, 1:200 và 1:300 là được bảo gồm. Ủ hỗn hợp phản ứng có thể được thực hiện ở khoảng 70-150°C, ví dụ, 85-150°C, bao gồm 70, 75, 80, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150°C for 0,5-240 phút, ví dụ, 6-240 phút, bao gồm 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 90, 120, 150, 180, 210, và 240 phút.

Khi chọn điều kiện để ủ bởi những người có kinh nghiệm đã biết rằng khi sử dụng ở nhiệt độ rất cao, thời gian ủ tương đối ngắn là cần thiết.

Theo phương án này bước phản ứng (2) có thể được thực hiện dưới điều kiện kỵ khí và/hoặc ưa khí.

Theo phương án thứ hai lượng chế phẩm α -galactosidaza nằm trong khoảng từ 0,001 đến 1,0% theo trọng lượng của sinh khối trong hỗn hợp ban đầu, trong đó, chế phẩm α -galactosidaza có hoạt tính khoảng 5,000 đơn vị α -galactosidaza/g sản phẩm enzym, và/hoặc phản ứng trong bước (2) được thực hiện dưới điều kiện, trong đó, hàm lượng nước trong hỗn hợp ban đầu nằm trong khoảng từ 30 đến 65% theo trọng lượng, điều này có nghĩa rằng hàm lượng chất khô trong hỗn hợp nằm trong khoảng từ 35 đến 70 theo % trọng lượng.

Do đó, hàm lượng nước có thể thay đổi, ví dụ, từ 35 đến 60%, từ 40 đến 55% hoặc từ 45 đến 50%. Do đó, hàm lượng chất khô trong hỗn hợp phản ứng được tạo ra trong bước (1) có thay đổi tương ứng, ví dụ, từ 40 đến 65%, từ 45 đến 60% hoặc từ 50 đến 55%, ví dụ, 45%, 50%, 55%, 57,5%, 60%, 62,5%, 65% hoặc 67,5%.

Lượng theo một hoặc nhiều chế phẩm α -galactosidaza có thể thay đổi ví dụ, từ 0,01 đến 1,0%, từ 0,025 đến 0,75%, từ 0,05 đến 0,5%, từ 0,075 đến 0,25% hoặc từ 0,1 đến 0,125% của chế phẩm α -galactosidaza có hoạt tính khoảng 5,000 đơn vị α -galactosidaza/g sản phẩm enzym. Hoạt tính của chế phẩm α -galactosidaza có thể cũng thấp hơn hoặc cao hơn 5,000 đơn vị α -galactosidaza/g sản phẩm enzym, ví dụ, từ 5 đến 200,000, hoặc từ 100,000 đến 150,000, 50 đến 50,000 hoặc từ 500 đến 10,000 đơn vị/g sản phẩm enzym, miễn là lượng enzym được áp dụng thích hợp với độ bền của sản phẩm enzym. Cao hơn lượng và hoạt tính của chế phẩm α -

galactosidaza thời gian phản ứng thấp hơn thường là cần thiết và ngược lại. Những người có kinh nghiệm trong kỹ thuật enzym sẽ nhận biết về điều này.

Theo phương án thứ ba phản ứng trong bước (2) được thực hiện trong một hoặc nhiều hơn guồng xoắn dạng cánh quạt được nối với nhau hoặc bằng tải guồng xoắn liên tục không thẳng đứng với thiết bị đầu vào cho hỗn hợp phản ứng và chất phụ gia và thiết bị đầu ra cho sản phẩm cũng như thiết bị kiểm soát cho tốc độ quay, nhiệt độ và độ pH. Phương án thứ ba có thể thay đổi trong đó, băng tải guồng xoắn liên tục có thể tùy ý thay đổi kiểu của lưỡi dao đơn hoặc nhiều guồng xoắn dạng lưỡi dao hoặc băng tải guồng xoắn được giao nhau được thiết kế để chuyển hỗn hợp phản ứng và đồng thời nâng vật liệu để nó được chuyển và được khuấy mà không kết khối nó. Bước phản ứng (2) cũng có thể được thực hiện trong máy trộn kiểu guồng xoắn thẳng đứng, ví dụ, máy trộn Nauta.

Theo phương án thứ tư của phương pháp theo sáng chế một hoặc nhiều hơn các hỗ trợ chế biến, như các sản phẩm cây hoa bia chứa các axit dạng α và β từ các cây hoa bia, được bổ sung bất kỳ trong bước (1), (2) và/hoặc (3). Một hoặc nhiều hơn các hỗ trợ chế biến có thể cũng là enzym, thành phần thực vật và/hoặc chất xử lý hữu cơ và/hoặc chất xử lý vô cơ như được xác định nêu trên trong phần định nghĩa của đơn sáng chế.

Theo phương án thứ năm năm và/hoặc vi khuẩn có thể được bổ sung vào sinh khối là nấm men sống được chọn giữa các chủng *saccharomyces cerevisiae*, bao gồm nấm men bia và nấm men chưng cất và men đã sử dụng từ sản xuất rượu và nấm men bánh mì, cũng như các chủng *Bacillus cereus* và nấm men được sử dụng lên men đường C5. Nấm men sống có thể ví dụ, được bổ sung theo lượng nằm trong khoảng từ 0,25 đến 10%, như 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5%, 5%, 6%, 7%, 8% hoặc 9%.

Các phần thực vật có protein bao gồm trong sinh khối có thể theo phương án thứ 6 các loại đậu, như đậu nành, đậu hà lan, hạt đậu, đậu lupin, và/hoặc ngũ cốc, như lúa mì, và/hoặc cỏ và còn được xác định trong phần định nghĩa của đơn sáng chế. Sinh khối có thể trong phương án thứ 7 còn bao gồm dầu và chất béo, ví dụ, từ các hạt của cây mang dầu, ví dụ, hạt cải dầu và đậu nành, và còn được xác định nêu trên trong phần định nghĩa của đơn sáng chế.

Theo phương án thứ 8 hỗn hợp phản ứng thu được từ bước (3) được sấy khô để hàm lượng nước không lớn hơn 10% theo trọng lượng.

Theo phương án khác lượng của một hoặc nhiều hơn chế phẩm α -galactosidaza nằm trong khoảng từ 0,25 đến 1,0% theo trọng lượng của chất khô của sinh khối trong hỗn hợp ban đầu, trong đó, chế phẩm α -galactosidaza có hoạt tính khoảng 5,000 đơn vị α -galactosidaza pr. g của sản phẩm enzym, và phản ứng trong bước (2) được thực hiện trong khoảng từ 4-36 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30-60°C; hoặc lượng của một hoặc nhiều hơn chế phẩm α -galactosidaza nằm trong khoảng từ 0,25 đến 1,0% theo trọng lượng của chất khô của sinh khối trong hỗn hợp ban đầu, trong đó, chế phẩm α -galactosidaza có hoạt tính khoảng 5,000 đơn vị α -galactosidaza pr. g của sản phẩm enzym, và phản ứng trong bước (2) được thực hiện trong khoảng từ 4-36 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50-60°C; hoặc lượng của một hoặc nhiều hơn chế phẩm α -galactosidaza nằm trong khoảng từ 0,01 đến 1,0% theo trọng lượng của chất khô của sinh khối trong hỗn hợp ban đầu, trong đó, chế phẩm α -galactosidaza có hoạt tính khoảng 5,000 đơn vị α -galactosidaza pr. g của sản phẩm enzym, và phản ứng trong bước (2) được thực hiện trong khoảng 8-36 giờ ở nhiệt độ 50-60°C; hoặc lượng của một hoặc nhiều hơn chế phẩm α -galactosidaza nằm trong khoảng từ 0,05 đến 1,0% theo trọng lượng của chất khô của sinh khối trong hỗn hợp ban đầu, trong đó, chế phẩm α -galactosidaza có hoạt tính khoảng 5,000 đơn vị α -galactosidaza pr. g của sản phẩm enzym, phản ứng trong bước (2) được thực hiện dưới điều kiện, trong đó, hàm lượng nước trong hỗn hợp ban đầu nằm trong khoảng từ 40-65% và ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50-60°C; hoặc nấm và/hoặc vi khuẩn là nấm men sống được bổ sung theo lượng nằm trong khoảng từ 0,25% đến 10%.

Theo phương án cuối cùng phương pháp được thực hiện là quy trình theo mẻ, quy trình được dẫn theo mẻ hoặc quy trình liên tục.

Sản phẩm sinh học dạng rắn có thể thu được bởi quá trình được xác định theo điểm 1 đến 16 bao gồm protein theo lượng lên đến khoảng 60% theo trọng lượng; lượng có thể ít hơn 60%, ví dụ, 10-59%, 40-59%, 45-58%, 48-55% hoặc 50-53% theo trọng lượng của chất khô. Lượng glyxerit ví dụ có thể, 0-20%, 2-20%, 5-18% hoặc 10-15% theo trọng lượng của chất khô.

Sản phẩm sinh học dạng rắn được xác định theo điểm 22 có thể bao gồm lên đến khoảng 75% protein, ví dụ, từ 40-75%, từ 45-70%, từ 48 đến 65%, từ 50-60% hoặc từ 53-55% protein theo trọng lượng. Có thể còn bao gồm glyxerit theo lượng lên đến 25% theo trọng lượng của chất khô, ví dụ, 0-20%, 2-20%, 5-18% hoặc 10-15% theo trọng lượng của chất khô.

Sản phẩm sinh học dạng rắn có thể thu được bởi quá trình theo điểm 11-16 có thể bao gồm lên đến 60% protein theo trọng lượng hoặc có thể bao gồm nhiều hơn 60% protein theo trọng lượng, ví dụ, từ 40-75%, từ 45-70%, từ 48 đến 65%, từ 50-60% hoặc từ 53-55% protein theo trọng lượng. Chúng có thể còn bao gồm glyxerit theo lượng lên đến 25% theo trọng lượng của chất khô, ví dụ, 0-20%, 2-20%, 5-18% or 10-15% theo trọng lượng của chất khô.

Lượng protein có thể đặc biệt cao khi sinh khối được lên men bằng nấm men sống theo quy trình theo điểm 2.

Oligosacarit raffinosa, stachyoza và verbascoza được phân hủy bằng phương pháp theo sáng chế để mono- và disacarit, như galactose và sucroza. Sucroza là sản phẩm thu được đáng quan tâm của phương pháp, do hàm lượng cao của sucroza trong sản phẩm sinh học thu được sẽ góp phần thỏa mãn sau khi tiêu thụ. Lượng sucroza có thể cao khoảng 15-20% theo trọng lượng của chất khô.

Theo một phương án sản phẩm sinh học dạng rắn theo sáng chế bao gồm lượng tổng của raffinosa, stachyoza và verbascoza ít hơn 8% theo trọng lượng; ví dụ, ít hơn 6%, ít hơn 5%, ít hơn 4%, ít hơn 3%, ít hơn 2 hoặc ít hơn 1% theo trọng lượng.

Theo phương án khác sản phẩm sinh học dạng rắn theo sáng chế bao gồm lượng tổng của raffinosa ít hơn 3,0%, ví dụ, ít hơn 2%, ít hơn 1,5%, ít hơn 1% hoặc ít hơn 0,75% hoặc ít hơn 0,5% hoặc ít hơn 0,25%.

Theo phương án khác hơn nữa, sản phẩm sinh học dạng rắn theo sáng chế bao gồm lượng tổng của stachyoza ít hơn 1,0%, ví dụ, ít hơn 0,75% hoặc ít hơn 0,5% hoặc ít hơn 0,25%.

Sáng chế cũng đề cập đến việc sử dụng sản phẩm sinh học dạng rắn theo sáng chế này trong sản phẩm thức ăn đã được chế biến dùng cho người và/hoặc hoặc dùng cho động vật; làm thành phần được sử dụng trong sản phẩm thực phẩm

hoặc thức ăn; hoặc là thành phần của sản phẩm mỹ phẩm hoặc dược phẩm hoặc cung cấp dinh dưỡng.

Cuối cùng, sáng chế đề cập đến sản phẩm thực phẩm, thức ăn, mỹ phẩm hoặc dược phẩm hoặc cung cấp dinh dưỡng chứa khoảng từ 1 đến 99% theo trọng lượng của sản phẩm sinh học dạng rắn theo sáng chế này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Thủy phân enzym trong quy trình quy mô phòng thí nghiệm của sinh khối bao gồm oligosacarit từ đậu nành

1.1 Vật liệu và phương pháp:

Thủy phân enzym của oligosacarit stachyoza và raffinosa được thực hiện trong 10g sinh khối của đậu nành đã khử chất béo và nước chứa α -galactosidaza enzym được bổ sung theo lượng để đạt được hàm lượng chất khô (DM) của hỗn hợp, và nồng độ enzym nhất định.

Trộn được thực hiện để đảm bảo tính đồng nhất của hỗn hợp.

Enzym được sử dụng trong nồng độ khác nhau dựa trên chất khô của hạt đậu nành là sản phẩm có sẵn trên thị trường từ Advanced Enzym Technologies, Maharashtra, India, thị trường với tên thương hiệu SEBSoy 5,0 L.

Hoạt tính của SEBSoy 5,0 L được chuẩn hóa đến 5,000U/g.

Thủy phân enzym được thực hiện trong bình chứa thủy tinh nhỏ ở 34°C và 55°C trong 4 đến 16 giờ sau đó xử lý nhiệt ở 100°C để bất hoạt enzym.

Sau khi Thủy phân enzym đã kết thúc hàm lượng của cacbohydrat hòa tan được chiết bằng cách khuấy cạn huyền phù có nước khoảng 10% DM trong 30 phút sau đó được ly tâm trong 10 phút ở 3,000 $\times$ g.

Mono- và oligosacarit trong dịch chiết có nước của sinh khối được phân tích bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng trên 60 tấm silica gel TLC (Merck). Các thành phần khác nhau đã được định lượng bằng cách so sánh với các tiêu chuẩn của nồng độ đã biết. (Cacbohydrat analysis - practical approach; IRL Press, Oxford. Ed. M.F. Chaplan & J.F. Kennedy, 1986).

1.2 Kết quả:

1.2-a. Đáp ứng liều ở nhiệt độ khác nhau

Kết quả được liệt kê trong bảng dưới đây đã thu được sau một thời gian phản ứng trong khoảng 4 giờ, ở 45% DM:

Liều SEBSoy	Nhiệt độ 34 °C		Nhiệt độ 55 °C	
	Stachyoza	Raffinoza	Stachyoza	Raffinoza
Tham chiếu	6,0%	2,0%	6,0%	2,0%
0,05%	-	-	4,0%	3,0%
0,10%	2,5%	3,5%	1,5%	2,5%
0,25%	1,5%	3,0%	<0,25%	0,75%
0,50%	0,25%	1,0%	-	-

Từ kết quả có thể thấy rằng stachyoza được làm giảm ở nồng độ enzym thấp như stachyoza sản xuất một phân tử D-galactose và một phân tử raffinosa trong bước thứ nhất trong thủy phân.

Giảm tổng hàm lượng được kết hợp vừa stachyoza và raffinosa gần như hàm tuyến tính của nồng độ enzym.

Hơn nữa có thể thấy rằng sự gia tăng nhiệt độ từ 34°C đến 55°C tương ứng với các hiệu quả tương tự ở liều tăng theo hệ số khoảng từ 2 đến 3.

1.2-b. Hiệu quả đặc trưng của thời gian phản ứng

Kết quả được liệt kê trong bảng dưới đây thu được với liều khoảng 0,05% SEBSoy, và ở nhiệt độ phản ứng khoảng 55°C, ở 45% DM:

Thời gian phản ứng Stachyoza Raffinoza Stacchyoza

Theo giờ + Raffinoza

4 3,50% 4,00% 7,50%

8 0,75% 2,00% 2,75%

16 <0,25% 0,75% <1,00%

Từ kết quả có thể thấy rằng khi tăng thời gian phản ứng bởi hệ số 2 làm giảm hàm lượng được kết hợp của stachyoza và raffinosa bởi hệ số gần 3.

1.2-c. Hiệu quả đặc trưng của hàm lượng chất khô trong hỗn hợp phản ứng

Kết quả được liệt kê trong bảng dưới đây thu được với liều khoảng 0,25% SEBSoy, và ở thời gian phản ứng khoảng 4 giờ ở nhiệt độ khoảng 55°C:

Chất khô theo % trọng lượng	Stachyoza	Raffinoza	Stacchoza + Raffinoza
50	0,25%	1,00%	1,25%
55	0,50%	1,25%	1,75%
60	0,75%	1,50%	2,25%
65	1,50%	1,75%	3,25%

Từ kết quả có thể thấy rằng sự gia tăng hàm lượng tổng của stachyoza và raffinoza như chức năng của chất khô và trong khoảng 50 đến 60% tăng khoảng cách đều nhau.

Ví dụ 2

Thủy phân enzym trong quy trình quy mô phòng thí nghiệm của sinh khối bao gồm oligosacarit từ đậu hà lan

2.1 Vật liệu và phương pháp:

Thủy phân enzym của oligosacarit stachyoza, raffinoza và verbascoza được thực hiện trong 10g sinh khối của đậu hà lan được tán và nước chứa α -galactosidaza enzym được bổ sung theo lượng để đạt được hàm lượng chất khô (DM) của hỗn hợp khoảng 50%, và nồng độ enzym nhất định.

Chế phẩm enzym và phương pháp như được mô tả trong ví dụ 1 dưới đoạn

1.1

2.2 Kết quả:

2.2 Đáp ứng liều ở nhiệt độ khác nhau

Kết quả được liệt kê trong bảng dưới đây đã thu được sau một thời gian phản ứng khoảng 4 giờ, at 50% DM:

Liều SEBSoy	Nhiệt độ 34 °C			
	Stachyoza	Raffinoza	Verbasscoza	Tổng oligo saccarit
Tham chiếu	4,5 %	0,5%	3,0%	8,0%
0,05%	3,5%	2,0%	2,5%	8,0%
0,10%	3,0%	3,0%	2,0%	8,0%
0,25%	2,0%	2,0%	1,5%	5,5%
0,50%	0,5%	1,5%	0,5%	2,5%

Từ kết quả có thể thấy rằng sử dụng thời gian phản ứng trong 4 giờ ở 34°C cần liều khoảng 0,25% để làm giảm hàm lượng tổng của oligosacarit.

Liều SEBSoy nhiệt độ 55 °C

Stachyoza Raffinoza Verbasscoza tổng oligosacarit

Tham chiếu 4,5% 0,5% 3,0% 8,0%

0,05% 2,0% 1,5% 1,5% 5,0%

0,10% 0,5% 1,5% 0,5% 2,5%

0,25% <0,25% 0,25% <0,25% <0,75%

0,50% <0,25% <0,25% <0,25% <0,75%

Từ kết quả có thể thấy rằng bằng cách sử dụng thời gian phản ứng trong 4 giờ ở 55°C liều duy nhất 0,05% là cần thiết để có giảm hàm lượng tổng của oligosacarit. Điều này tương ứng với sự gia tăng hoạt tính enzym bằng yếu tố khoảng năm khi nhiệt độ phản ứng được nâng lên từ 34°C đến 55°.

Ví dụ 3

Thủy phân enzym theo quy trình theo mẻ của sinh khối bao gồm oligosacarit và protein từ đậu nành

3.1 Vật liệu và phương pháp:

200 kg đậu nành tán được tách dung môi nhanh dẫn tiến đến băng tải guồng xoắn lưỡi dao đơn được đóng có thể vận chuyển, nâng lên và trọng vật liệu. Ở cùng thời gian 170 lít nước và 200ml SEBSoy 5,0 L enzym (0,1% liều chế phẩm có hoạt tính 5,000 đơn vị α -galactosidaza pr. g của sản phẩm enzym) được bổ sung để đạt được hàm lượng chất khô nằm trong khoảng 50% theo trọng lượng trong hỗn hợp.

Hỗn hợp được thủy phân trong 16 giờ ở 34°C và được sấy khô đến hàm lượng nước khoảng 5,6%. Dịch chiết có nước của sinh khối được phân tích cho hàm lượng cacbohydrat bằng phương pháp axit sulphuric phenol và oligosacarit được định lượng sau khi tách bằng TLC (Cacbohydrat analysis - A practical approach; IRL Press, Oxford. Ed. M.F. Chaplan & J.F. Kennedy, 1986).

3.2 Kết quả:

Kết quả được trình bày trong bảng sau đây:

Đối tượng	Giá trị phân tích
Protein trong DM	59,6%
Cacbohydrat hòa tan	10,3%
Stachyoza	<0,25%
Raffinoza	<0,25%

Từ kết quả có thể thấy rằng sản phẩm theo sáng chế có hàm lượng protein khoảng 60% theo trọng lượng của chất khô và hàm lượng thấp của oligosacarit.

Ví dụ 4

Thủy phân enzym và lên men bằng nấm men khác nhau theo quy trình theo mẻ của sinh khối bao gồm oligosacarit và protein từ đậu nành

4.1 Vật liệu và phương pháp:

200 kg đậu nành được tách dung môi nhanh dẫn tiến đến băng tải guồng xoắn lưỡi dao đơn được đóng có thể chuyển, nâng lên và trọng vật liệu. Ở cùng thời gian 170 lít nước và cặn của nấm men bia đã sử dụng hoặc nấm men bánh mỳ và 200ml của enzym SEBSoy 5,0 L (0,1% liều chế phẩm có hoạt tính khoảng 5,000 đơn vị α -galactosidaza pr. g của sản phẩm enzym) mà được bổ sung để đạt được hàm lượng chất khô khoảng 50% theo trọng lượng trong hỗn hợp.

Hai hỗn hợp được thủy phân trong 16 giờ ở 34°C và được sấy khô đến hàm lượng chất khô khoảng $95 \pm 0.3\%$.

Sản phẩm được phân tích như trong ví dụ trước.

4.2 Kết quả:

Kết quả được trình bày trong bảng sau đây:

Đối tượng	Giá trị phân tích	Giá trị phân tích
	Quá trình với 3,5% nấm men bia đã sử dụng được bổ sung	Quá trình với 1,0% nấm men bia được bổ sung
Protein trong DM	62,2%	61,9 %
Cacbohydrat hòa tan	8,2%	7,2 %
stachyoza	<0,25	<0,25%
Raffinoza	<0,25	<0,25%

Từ kết quả có thể thấy rằng sản phẩm theo sáng chế có hàm lượng protein cao hơn 60% theo trọng lượng của chất khô khi quy trình được thực hiện dưới sự lên men của nấm men. Sản phẩm thu được có hàm lượng thấp của oligosacarit.

Ví dụ 5

So sánh quá trình thủy phân enzym trong quy trình quy mô phòng thí nghiệm của sinh khối bao gồm oligosacarit từ đậu nành

Trong ví dụ này các hiệu quả làm giảm của oligosacarit bằng α -galactosidaza dưới thông số chế biến (nhiệt độ và chất khô) theo sáng chế so với WO 2009/143591 được minh họa.

Trong WO 2009/143591 hàm lượng nước được yêu cầu tối đa khoảng 35% hoặc tốt hơn là 30% hoặc thậm chí tốt hơn là 25%. Nhiệt độ tối ưu cho quá trình thủy phân enzym được đề cập đến là giữa 60 và 80°C.

5.1 Vật liệu và phương pháp:

Thủy phân enzym của oligosacarit stachyoza và raffinosa được thực hiện trong 10g sinh khối của đậu nành đã khử chất béo và toàn chất béo bột hạt đậu nành và nước chứa α -galactosidaza enzym được bổ sung theo lượng để đạt được hàm lượng chất khô (DM) của hỗn hợp, và nồng độ enzym nhất định.

Trộn được thực hiện để đảm bảo tính đồng nhất của hỗn hợp.

Enzyms được sử dụng trong nồng độ khác nhau dựa trên chất khô của đậu nành đã khử chất béo hoặc của bột hạt đậu nành là sản phẩm thương mại có sẵn trên thị trường từ Advanced Enzyme Technologies, Maharashtra, India, thị trường với tên thương hiệu SEBSoy, và α -galactosidaza từ Enzyme Development Corporation (EDC) New York, USA.

Hoạt tính của chế phẩm enzym được chuẩn hóa đến 5,000U/g.

Thủy phân enzym được thực hiện trong bình chứa thủy tinh nhỏ ở 55°C hoặc 70°C trong 4 và 16 giờ sau đó xử lý nhiệt ở 100°C để bất hoạt enzym.

Sau khi Thủy phân enzym đã kết thúc hàm lượng của cacbohydrat hòa tan được chiết bằng cách khuấy cận huyền phù có nước khoảng 10% DM trong 30 phút sau đó được ly tâm trong 10 phút ở 3,000 $\times$ g.

Mono- và oligosacarit hàm lượng trong dịch chiết có nước của sinh khối được phân tích bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng trong 60 tấm silica gel TLC (Merck). Các thành phần khác nhau đã được định lượng bằng cách so sánh với các tiêu chuẩn của nồng độ đã biết (Cacbohydrat analysis - A practical approach; IRL Press, Oxford. Ed. M.F. Chaplan & J.F. Kennedy, 1986).

5.2 Kết quả:

A. Thông số theo sáng chế: DM 45%, nhiệt độ 55°C và thời gian phản ứng 16 giờ

Sinh khối	Enzym	Stachyoza	Raffinoza	Stachyoza + Raffinoza	oligosacchati giảm theo %
Đậu nành được khử chất béo	-	6,0%	3,0%	9,0%	0
Đậu nành được khử chất béo	0,05% SEBSoy	0,25%	0,75%	<1,0%	>89
Đậu nành được khử chất béo	0,05% EDC	<0,25%	0,5%	<0,75%	>92
Đậu nành còn toàn bộ chất béo	-	0,5%	2,0%	7,0%	0
Đậu nành còn toàn bộ chất béo	0,05% SEBSoy	<0,25%	0,5%	<0,75%	>89
Đậu nành còn toàn bộ chất béo	0,05% EDC	<0,25%	<0,25%	<0,5%	>92

Từ kết quả này có thể thấy rằng, ở các tham số chế biến theo sáng chế, việc khử oligosacarit trong sinh khối cao hơn 89% sau thời gian phản ứng là 16 giờ với liều enzym là 0,05%.

B. Các tham số theo sáng chế: DM 45%, nhiệt độ 55°C và thời gian phản ứng 4 giờ

Sinh khối	Enzym	Stachyoza	Raffinoza	Stachyoza + Raffinoza	oligosacchati giảm theo %
Đậu nành được khử chất béo	-	6,0%	3,0%	9,0%	0
Đậu nành được khử chất béo	0,25% SEBSoy	<0,25%	<0,25%	<0,5%	>94
Đậu nành được khử chất béo	0,25% EDC	<0,25%	<0,25%	<0, 5%	>94
Đậu nành còn toàn bộ chất béo	-	0,5%	2,0%	7,0%	0
Đậu nành còn toàn bộ chất béo	0,25% SEBSoy	<0,25%	<0,25%	<0, 5%	>93
Đậu nành còn toàn bộ chất béo	0,25% EDC	<0,25%	<0,25%	<0,5%	>93

Từ kết quả này có thể thấy rằng, ở các tham số chế biến theo sáng chế, việc khử oligosaccharit trong sinh khối cao hơn 93% sau thời gian phản ứng là 4 giờ với liều enzym là 0,25%.

C. Các tham số theo WO 2009/143591: DM 70%, nhiệt độ 70°C và thời gian phản ứng 4 giờ

Sinh khối	Enzym	Stachyoza	Raffinoza	Stachyoza + Raffinoza	oligosacchati giảm theo %
Đậu nành được khử chất béo	-	6,0%	3,0%	9,0%	0
Đậu nành được khử chất béo	0,25% SEBSoy	4,0%	3,0%	7,0%	22
Đậu nành được khử chất béo	0,25% EDC	2,5%	3,0%	5, 5%	39
Đậu nành còn toàn bộ chất béo	-	5,0%	2,0%	7,0%	0
Đậu nành còn toàn bộ chất béo	0,25% SEBSoy	3,0%	2,5%	5, 5%	21
Đậu nành	0,25% EDC	3,0%	2,0%	5,0%	28

còn toàn bộ chất béo					
-------------------------	--	--	--	--	--

Từ kết quả này có thể thấy rằng, ở các tham số chế biến theo WO 2009/143591, việc giảm oligosaccharit trong sinh khối nằm trong khoảng từ 21 đến 39% sau thời gian phản ứng là 4 giờ với liều enzym là 0,25%.

D. Các tham số theo WO 2009/143591: DM 70%, nhiệt độ 70°C và thời gian phản ứng 16 giờ

Sinh khối	Enzym	Stachyoza	Raffinoza	Stachyoza + Raffinoza	oligosacchariti giảm theo %
Đậu nành được khử chất béo	-	6,0%	3,0%	9,0%	0
Đậu nành được khử chất béo	0,05% SEBSoy	6,0%	3,0%	9,0%	0
Đậu nành được khử chất béo	0,05% EDC	3,5%	3,0%	6,5%	28
Đậu nành còn toàn bộ chất béo	-	5,0	2,0%	7,0%	0
Đậu nành còn toàn bộ chất béo	0,05% SEBSoy	5,0%	2,0%	7,0%	0
Đậu nành còn toàn bộ chất béo	0,05% EDC	4,0%	2,0%	6,0%	14

Từ kết quả này có thể thấy rằng, ở các tham số chế biến theo WO 2009/143591, việc giảm oligosaccharit trong sinh khối nằm trong khoảng từ 0 đến 28% sau thời gian phản ứng là 16 giờ với liều enzym là 0,05%.

5.3 Kết luận:

Từ các kết quả cho thấy rằng, các tham số chế biến được sử dụng trong WO 2009/143591 (nhiệt độ và hàm lượng chất khô) không thể dẫn đến sự biến nạp của 80% oligosaccharit hoặc nhiều hơn có mặt trong sinh khối bắt nguồn từ đậu nành; do đó không thể đạt được cùng mức biến chất cao vào mono- và disaccharit tiêu hóa được như có thể đạt được bằng phương pháp theo sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp sản xuất sản phẩm sinh học dạng rắn trong đó, ít nhất 80% hàm lượng oligosacarit khó tiêu hóa ban đầu được phân hủy thành mono- và disacarit tiêu hóa được, bao gồm các bước sau đây:

(1) tạo ra hỗn hợp sinh khối được nghiền hoặc được tán hoặc được phân hủy theo cách khác, bao gồm oligosacarit và tùy ý là polysacarit, và còn bao gồm các phần thực vật có protein, nước và một hoặc nhiều chế phẩm enzyme chứa α -galactosidaza;

(2) phản ứng hỗn hợp thu được từ bước (1) trong điều kiện trộn liên tục và trong điều kiện mà hàm lượng nước trong hỗn hợp ban đầu không vượt quá 65% theo trọng lượng, trong khoảng 0,15-36 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng 20-65°C;

(3) ủ hỗn hợp đã phản ứng từ bước (2) ở nhiệt độ và trong khoảng thời gian làm bất hoạt α -galactosidaza.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó phương pháp này còn bao gồm việc bổ sung nấm và/hoặc vi khuẩn vào sinh khối nêu trên với lượng sao cho tỷ lệ chất khô của nấm/vi khuẩn so với sinh khối nằm trong khoảng từ 1:2 đến 1:400, trong đó, việc ủ trong bước (3) được thực hiện ở nhiệt độ và trong khoảng thời gian làm bất hoạt α -galactosidaza và nấm và/hoặc vi khuẩn.

3. Phương pháp theo điểm 2, trong đó phản ứng trong bước (2) được thực hiện dưới điều kiện kỵ khí và/hoặc ưa khí.

4. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó lượng chế phẩm α -galactosidaza nêu trên nằm trong khoảng từ 0,001 đến 1,0% theo trọng lượng của chất khô của sinh khối trong hỗn hợp ban đầu, trong đó, chế phẩm α -galactosidaza nêu trên có hoạt tính khoảng 5,000 đơn vị α -galactosidaza pr. g của sản phẩm enzyme, và/hoặc phản ứng trong bước (2) được thực hiện dưới điều kiện, trong đó hàm lượng nước trong hỗn hợp ban đầu nằm trong khoảng từ 30 đến 65% theo trọng lượng.

5. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, phương pháp này còn bao gồm phản ứng trong bước (2) được thực hiện trong một hoặc nhiều guồng xoắn dạng cánh quạt được nối với nhau hoặc bằng tải guồng xoắn liên tục không

thăng đứng với thiết bị đầu vào cho hỗn hợp phản ứng và chất phụ gia và thiết bị đầu ra cho sản phẩm cũng như thiết bị kiểm soát tốc độ quay, nhiệt độ và độ pH hoặc trong máy trộn kiểu guồng xoắn thăng đứng.

6. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, phương pháp này còn bao gồm phản ứng trong bước (2) được thực hiện trong một hoặc nhiều guồng xoắn dạng cánh quạt được nối với nhau hoặc băng tải guồng xoắn liên tục không thăng đứng với thiết bị đầu vào cho hỗn hợp phản ứng và chất phụ gia và thiết bị đầu ra cho sản phẩm cũng như thiết bị kiểm soát tốc độ quay, nhiệt độ và độ pH hoặc trong máy trộn Nauta.

7. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 5 đến 6, trong đó băng tải guồng xoắn liên tục nêu trên là kiểu được thay đổi tùy ý của lưỡi dao đơn hoặc nhiều guồng xoắn dạng lưỡi dao hoặc băng tải guồng xoắn được giao nhau được thiết kế để chuyển hỗn hợp phản ứng và đồng thời nâng vật liệu để nó được chuyển và được khuấy mà không kết khối nó.

8. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó một hoặc nhiều chất hỗ trợ chế biến như các sản phẩm cây hoa bia chứa các axit dạng α và β từ các cây hoa bia, được bổ sung trong bước các bất kỳ (1) và (2).

9. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 8, trong đó nấm và/hoặc vi khuẩn nêu trên là nấm men sống được chọn trong số các chủng *Saccharomyces cerevisiae*, bao gồm nấm men bia và nấm men chưng cất và men đã sử dụng từ sản xuất rượu và nấm men bánh mỳ, cũng như men được sử dụng lên men đường C5.

10. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó các phần thực vật có protein nêu trên là các loại đậu, và/hoặc ngũ cốc, và/hoặc các hạt thực vật, và/hoặc cỏ mà bộ phận của cây có thể được khử chất béo.

11. Phương pháp theo điểm 10, trong đó các loại đậu được chọn từ nhóm bao gồm đậu nành, hạt đậu, đậu hà lan, và đậu lupin.

12. Phương pháp theo điểm 10, trong đó ngũ cốc là lúa mì.

13. Phương pháp theo điểm 10, trong đó các hạt thực vật là các hạt cải dầu.

14. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó sinh khối nêu trên còn bao gồm dầu và chất béo.
15. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó sinh khối nêu trên còn bao gồm dầu và chất béo từ các hạt của cây mang dầu.
16. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó sinh khối nêu trên còn bao gồm dầu và chất béo từ hạt cải dầu và đậu nành.
17. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó sản phẩm sinh học thu được từ bước (3) được sấy khô để hàm lượng nước không lớn hơn 10% theo trọng lượng.
18. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó phản ứng của hỗn hợp trong bước (2) xảy ra ở 20-55°C.
19. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó lượng chế phẩm α -galactosidaza nêu trên nằm trong khoảng từ 0,25 đến 1,0% theo trọng lượng của chất khô của sinh khối trong hỗn hợp ban đầu, trong đó chế phẩm α -galactosidaza nêu trên có hoạt tính khoảng 5,000 đơn vị α -galactosidaza pr. g của sản phẩm enzym, và phản ứng trong bước (2) được thực hiện trong khoảng từ 4-36 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30-60°C.
20. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 18, trong đó lượng chế phẩm α -galactosidaza nêu trên nằm trong khoảng từ 0,25 đến 1,0% theo trọng lượng của chất khô của sinh khối trong hỗn hợp ban đầu, trong đó, chế phẩm α -galactosidaza nêu trên có hoạt tính khoảng 5,000 đơn vị α -galactosidaza pr. g của sản phẩm enzym, và phản ứng trong bước (2) được thực hiện trong khoảng từ 4-36 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50-60°C.
21. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 18, trong đó lượng chế phẩm α -galactosidaza nêu trên nằm trong khoảng từ 0,01 đến 1,0% theo trọng lượng của chất khô của sinh khối trong hỗn hợp ban đầu, trong đó chế phẩm α -galactosidaza nêu trên có hoạt tính khoảng 5,000 đơn vị α -galactosidaza pr. g của sản phẩm enzym, và phản ứng trong bước (2) được thực hiện trong khoảng 8-36 giờ ở nhiệt độ 50-60°C.

22. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 18, trong đó lượng chế phẩm α -galactosidaza nêu trên nằm trong khoảng từ 0,05 đến 1,0% theo trọng lượng của chất khô của sinh khối trong hỗn hợp ban đầu, trong đó chế phẩm α -galactosidaza nêu trên có hoạt tính khoảng 5,000 đơn vị α -galactosidaza pr. g của sản phẩm enzym, phản ứng trong bước (2) được thực hiện dưới điều kiện, trong đó hàm lượng nước trong hỗn hợp ban đầu nằm trong khoảng từ 40-65% và ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50-60°C.

23. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 22, trong đó nấm và/hoặc vi khuẩn là nấm men sống được bổ sung theo lượng nằm trong khoảng từ 0,25% đến 10%.

24. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên được thực hiện ở dạng quy trình theo mẻ, quy trình được dẫn theo mẻ hoặc quy trình liên tục.

25. Sản phẩm sinh học dạng rắn có thể thu được bằng phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 19 đến 24.

26. Sản phẩm sinh học dạng rắn có thể thu được bằng phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 24 bao gồm protein ở thực vật theo lượng lên đến khoảng 60% theo trọng lượng và tùy ý là glyxerit theo lượng lên đến 25% theo trọng lượng của chất khô.

27. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm 26 bao gồm protein ở thực vật theo lượng ít hơn khoảng 60% theo trọng lượng.

28. Sản phẩm sinh học dạng rắn có thể thu được bằng phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 24 bao gồm protein ở thực vật theo lượng lên đến khoảng 75% theo trọng lượng và tùy ý là glyxerit theo lượng lên đến 25% theo trọng lượng của chất khô.

29. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 28, trong đó lượng tổng của raffinosa, stachyzoa và verbascoza là ít hơn 8% theo trọng lượng.

30. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 28, trong đó lượng tổng của raffinosa, stachyzoa và verbascoza là ít hơn 5% theo trọng lượng.

31. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 28, trong đó lượng tổng của raffinosa, stachyoza và verbascoza là ít hơn 2% theo trọng lượng.
32. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 31, trong đó lượng của raffinosa là ít hơn 3,0%.
33. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 31, trong đó lượng của raffinosa là ít hơn 2%.
34. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 31, trong đó lượng của raffinosa là ít hơn 1,5%.
35. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 31, trong đó lượng của raffinosa là ít hơn 1%.
36. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 31, trong đó lượng của raffinosa ít hơn 0,75%.
37. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 31, trong đó lượng của raffinosa ít hơn 0,5%.
38. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 31, trong đó lượng của raffinosa là ít hơn 0,25%.
39. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 31, trong đó lượng của stachyoza là ít hơn 1,0%.
40. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 31, trong đó lượng của stachyoza là ít hơn 0,75%.
41. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 31, trong đó lượng của stachyoza là ít hơn 0,5%.
42. Sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 31, trong đó lượng của stachyoza là ít hơn 0,25%.
43. Sản phẩm thực phẩm chứa từ 1 đến 99% theo trọng lượng của sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm 25-42.
44. Sản phẩm thức ăn chứa từ 1 đến 99% theo trọng lượng của sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm 25-42.

45. Sản phẩm mỹ phẩm chứa từ 1 đến 99% theo trọng lượng của sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm 25-42.
46. Sản phẩm dược phẩm chứa từ 1 đến 99% theo trọng lượng của sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm 25-42.
47. Chất bổ sung dinh dưỡng chứa từ 1 đến 99% theo trọng lượng của sản phẩm sinh học dạng rắn theo điểm bất kỳ trong số các điểm 25-42.