



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



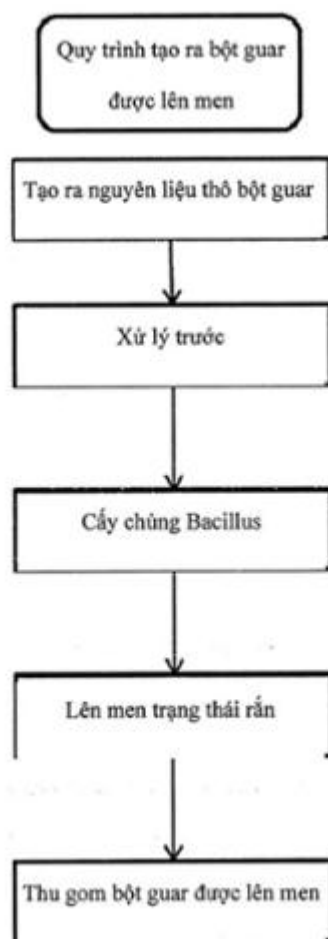
1-0038105

(51)⁷ A23K 10/16; A23K 10/30; A23K 10/14 (13) B

-
- (21) 1-2019-05083 (22) 28/02/2018
(86) PCT/KR2018/002457 28/02/2018 (87) WO 2018/160000 07/09/2018
(30) 10-2017-0026703 28/02/2017 KR
(45) 25/01/2024 430 (43) 25/12/2019 381A
(73) CJ CHEILJEDANG CORPORATION (KR)
330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 04560, Republic of Korea
(72) KANG, Kyeongil (KR); CHO, Seong Jun (KR); RYU, Jehoon (KR); CHANG,
Kyung Hoon (KR); PARK, Seung Won (KR).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)
-

(54) PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT BỘT GUAR ĐƯỢC LÊN MEN

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất bột Guar được lên men, và cụ thể là, phương pháp sản xuất bột Guar được lên men, phương pháp bao gồm các bước của xử lý trước bột guar; cấy chủng *Bacillus* trong bột Guar được xử lý trước; và lên men ở trạng thái rắn chủng được cấy trong bột Guar để thu được bột Guar được lên men, bột Guar được lên men được tạo ra bằng phương pháp nêu trên, và thức ăn chăn nuôi bao gồm bột Guar được lên men.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất bột Guar được lên men, bột Guar được lên men được tạo ra bằng phương pháp, và thức ăn chăn nuôi bao gồm bột Guar được lên men.

Tình trạng kỹ thuật được đề cập

Guar (*Cyamopsis tetragonoloba*) thuộc họ *fabaceae*, và được sử dụng thay thế cho gôm đậu locust.

Hạt giống Guar được biết là bao gồm 14% đến 18% trấu, 34% đến 42% phôi nhũ, và 43% đến 47% bào tử. Cụ thể là, phôi nhũ guar bao gồm lượng lớn gôm galactomanan (gôm guar), và nó được biết rằng phôi nhũ guar được sử dụng làm phụ gia thức ăn như chất nhũ tương, chất cô đặc, và chất kết dính thức ăn cũng như được sử dụng trong kỹ thuật nứt vỡ thủy lực (fracking) của dầu đá phiến và khí.

Bào tử guar và trấu guar đã được tạo ra làm sản phẩm phụ trong quá trình sản xuất gôm guar. Bột guar dùng để chỉ hỗn hợp chứa bào tử và trấu, và thường được sử dụng làm nguyên liệu thô cho thức ăn. Tuy nhiên, bột guar có hàm lượng protein tương đối thấp, như được so sánh với protein động vật, và là kém trong hàm lượng axit amin, vitamin, khoáng chất, và UGF (Yếu tố tăng trưởng không xác định) cần thiết, như được so sánh với protein động vật trong thức ăn cho vật nuôi con, như bột cá, sữa, v.v., và bao gồm các yếu tố kháng dinh dưỡng (ANF) như chất ức chế trypsin, saponin, gôm guar thừa, và tanin. Vì lý do này, khi bột guar được sử dụng làm thức ăn, nó có thể làm giảm khả năng tiêu hóa được của vật nuôi. Cụ thể là, vì các yếu tố kháng dinh dưỡng như chất ức chế trypsin (TI) và saponin có thể làm giảm khả năng tiêu hóa được của vật nuôi con và có thể ức chế sự phát triển của chúng, nó có thể không được bổ sung vào thức ăn cho vật nuôi con và việc sử dụng của nó trong thức ăn để phát triển lợn hoặc gia súc cũng rất hạn chế.

Để giải quyết các vấn đề này của bột guar, protein guar cô đặc đã được phát triển, nhưng có một nhược điểm là chi phí sản xuất cao. Ngoài ra, phương pháp lên

men bột guar của việc sử dụng các chủng phức hợp và phương pháp lên men trạng thái rắn kỵ khí của việc sử dụng vi khuẩn axit lactic và nấm men đã được gởi ý (công bố patent Trung Quốc số 2015-10384290 và 2010-10228079). Tuy nhiên, các phương pháp này có các vấn đề khác nhau trong đó cần thời gian lên men dài và quy trình làm khô và cũng đòi hỏi kiểm soát chất lượng do việc sử dụng chủng phức hợp kỵ khí và thiết bị vận chuyển liên tục.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Trong phần này, các tác giả sáng chế đã nỗ lực hết sức để giải quyết các vấn đề nêu trên, và kết quả là, họ phát hiện ra rằng khi bột guar được lên men bằng chủng *Bacillus*, các thành phần dinh dưỡng và khả năng tiêu hóa có thể được cải thiện, do đó hoàn thành sáng chế.

Giải pháp kỹ thuật

Mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp sản xuất bột Guar được lên men, phương pháp bao gồm các bước (1) xử lý trước bột guar; (2) cấy chủng *Bacillus* trong bột Guar được xử lý trước; và (3) lên men ở trạng thái rắn chủng được cấy trong bột Guar để thu được bột Guar được lên men.

Mục đích khác theo sáng chế là đề xuất bột Guar được lên men được sản xuất bằng phương pháp nêu trên.

Mục đích khác nữa theo sáng chế là đề xuất thức ăn chăn nuôi bao gồm bột Guar được lên men.

Tác dụng có lợi

Phương pháp sản xuất bột Guar được lên men theo sáng chế có thể được sử dụng để sản xuất bột Guar được lên men là nguồn protein thực vật chất lượng cao có các thành phần dinh dưỡng và khả năng tiêu hóa được cải thiện, nhờ đó tạo ra thức ăn chăn nuôi protein bao gồm bột Guar được lên men, thức ăn chăn nuôi protein có tỷ lệ trộn thức ăn và tác dụng probiotic giảm. Ngoài ra, độ nhớt của gôm guar trong bột Guar có thể bị giảm, và cụ thể là, hàm lượng oligosacarit khó tiêu và chất ức chế

trypsin (TI) trong bột Guar có thể bị giảm đáng kể, do đó tạo ra bột guar được lên men có chất lượng cao có nhiều khả năng tiêu hóa được được cải thiện.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 là biểu đồ dòng chảy minh họa từng bước của phương pháp sản xuất bột Guar được lên men theo sáng chế;

Fig. 2 là biểu đồ dòng chảy minh họa cụ thể bước xử lý trước trong phương pháp sản xuất bột Guar được lên men theo sáng chế;

Fig. 3 là đồ thị thể hiện sự thay đổi trong độ nhớt của gôm guar theo loại và nồng độ của enzym; và

Fig. 4 là đồ thị thể hiện mức độ thủy phân của protein bột Guar theo loại của các chủng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả cụ thể là như sau. Trong đó, phần mô tả và phương án được bộc lộ ở đây cũng có thể được áp dụng cho phần mô tả và phương án khác. Nghĩa là, toàn bộ sự kết hợp của các yếu tố khác nhau nằm trong phạm vi theo sáng chế. Ngoài ra, phạm vi của sáng chế không bị giới hạn bởi phần mô tả chi tiết được mô tả bên dưới.

Theo một khía cạnh để đạt được mục đích nêu trên, sáng chế đề cập phương pháp sản xuất bột Guar được lên men, phương pháp bao gồm các bước (1) xử lý trước bột guar; (2) cấy chủng *Bacillus* trong bột Guar được xử lý trước; và (3) lên men ở trạng thái rắn chủng được cấy trong bột Guar để thu được bột Guar lên men.

Guar (*Cyamopsis tetragonoloba*), cũng được gọi là cây đậu chùm, là một loại cây thuộc họ *fabaceae*, và cao tới 2 m đến 3 m và sống cộng sinh với vi khuẩn cố định nitơ. Guar thành thực chủ yếu được sử dụng làm thức ăn cho vật nuôi, và cũng được sử dụng làm phân bón xanh để cung cấp các thành phần dinh dưỡng cho đất. Đậu của guar chứa nhiều chất dinh dưỡng, nhưng nó không dễ dàng để sử dụng đậu guar cho thức ăn, trừ khi các yếu tố kháng dinh dưỡng như chất ức chế trypsin được loại bỏ ra khỏi đó.

Gôm guar, cũng được gọi là guaran, dùng để chỉ galactomanan được chứa trong guar. Gôm guar là polysacarit gồm galactoza và mannoza, và là một chất được sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực hóa học và y tế.

Bột guar là sản phẩm phụ được tạo ra trong quá trình sản xuất gôm guar, và là hỗn hợp chứa khoảng 25% và khoảng 75% trấu. Mặc dù bột guar có thể được sử dụng làm thức ăn chăn nuôi do dư thừa protein, có một vấn đề về khả năng tiêu hóa được thấp do các yếu tố kháng dinh dưỡng, v.v..

Trong sáng chế này, để giải quyết vấn đề được tạo ra khi bột guar được sử dụng làm thức ăn chăn nuôi, đã được chứng minh rằng khi bột Guar được lên men với chủng *Bacillus*, hàm lượng của protein thô có thể được tăng, oligosacarit khó tiêu có thể bị giảm, và các yếu tố kháng dinh dưỡng như chất ức chế trypsin có thể bị giảm để tăng khả năng tiêu hóa được, và do đó, bột Guar đã lên men được lên men bằng chủng *Bacillus* có thể được sử dụng làm thức ăn chăn nuôi.

Bước xử lý trước bột Guar của bước (1) có thể bao gồm các bước (1-1) bổ sung nước vào bột Guar để kiểm soát hàm lượng nước của nó; (1-2) xử lý nhiệt bột guar được kiểm soát bởi hàm lượng nước; và (1-3) làm lạnh bột guar được xử lý nhiệt.

Bước (1-1) là bước bổ sung nước của việc bổ sung nước vào bột Guar để kiểm soát hàm lượng nước của nó, và đối với mục đích theo sáng chế, bước tương ứng với bước xử lý trước cần thiết cho quá trình lên men của bột Guar bằng cách cấy vi khuẩn trong bột Guar. Phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể được sử dụng không bị giới hạn là phương pháp bổ sung nước vào bột Guar.

Cụ thể là, bột guar được kiểm soát bởi hàm lượng nước của bước (1-1) có thể có hàm lượng nước là 30% đến 60% (khối lượng/khối lượng), cụ thể là 35% đến 50% (khối lượng/khối lượng), và cụ thể hơn là 40% đến 45% (khối lượng/khối lượng), nhưng không bị giới hạn ở đó. Bột Guar có hàm lượng nước trong phạm vi nêu trên có thể ngăn chặn sự chậm trễ của quá trình lên men do độ ẩm thấp, có thể cải thiện vấn đề đòi hỏi chi phí cao trong quy trình làm khô sau khi vận chuyển và lên men bột Guar, và có thể là lợi thế về hiệu suất nhiệt.

Khi hàm lượng nước là quá thấp, quá trình lên men đủ của bột Guar không xảy

ra, do đó gây ra vấn đề suy giảm chất lượng do các tạp chất. Khi hàm lượng nước quá cao, ví dụ, hàm lượng nước là 50% hoặc lớn hơn, không có vấn đề gì về chất lượng, nhưng khó để thiết kế quy trình, và khả năng gia công và khả năng cạnh tranh về chi phí sản xuất có thể bị giảm đi đáng kể trong quá trình lên men trạng thái rắn.

Bước (1-2) là bước gia nhiệt của bước xử lý nhiệt bột guar được kiểm soát bởi hàm lượng nước, và mục đích của bước xử lý nhiệt là để diệt bào tử trong bột guar thô, để phá hủy thành tế bào của bột Guar, và để làm biến tính protein, nhờ đó cung cấp môi trường trong đó vi sinh vật được mong muốn có khả năng phát triển mạnh mẽ. Bước xử lý nhiệt có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Khi nhiệt độ xử lý nhiệt là thấp hoặc khi thời gian xử lý là ngắn, có một vấn đề là tác dụng diệt khuẩn lên bào tử có thể bị làm giảm và quy trình lên men tiếp theo không được tiến hành một cách thuận lợi. Khi nhiệt độ xử lý nhiệt là cao hoặc khi thời gian xử lý dài, khả năng tiêu hóa được có thể bị làm giảm do sự làm biến tính của protein trong bột Guar, và do đó, có một vấn đề trong đó là chất lượng của sản phẩm cuối cùng có thể bị giảm.

Thông qua quy trình xử lý nhiệt này, hầu hết các tạp chất có trong bột Guar bị diệt, môi trường hóa học trong quy trình lên men tiếp theo có thể được tiến hành thuận lợi có thể được sản xuất, và nó được hi vọng để làm giảm các yếu tố kháng dinh dưỡng như chất ức chế trypsin (TI) ức chế khả năng tiêu hóa được. Khi nhiệt độ xử lý nhiệt là thấp hoặc khi thời gian xử lý là ngắn, có vấn đề trong việc làm giảm các yếu tố kháng dinh dưỡng như TI có thể không xảy ra, và các vi sinh vật trong nguyên liệu thô bột Guar, ví dụ, chủng *Bacillus* khác loại, nấm, và mầm bệnh không thể bị giết.

Cụ thể là, bước xử lý nhiệt của bước (1-2) là để xử lý bột Guar ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 85°C đến 95°C, và cụ thể hơn là ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 90°C đến 95°C, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Cụ thể là, bước xử lý nhiệt của bước (1-2) là để xử lý bột Guar ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 85°C đến 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 20 phút đến 35 phút, và cụ thể là ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 90°C đến 95°C trong thời gian nằm

trong khoảng từ 25 phút đến 30 phút. Bột Guar có thể được xử lý ở nhiệt độ là 100°C hoặc nhỏ hơn không có quá trình điều áp nhiệt động.

Bước (1-3) là để làm lạnh bột guar được xử lý nhiệt và để gieo chủng *Bacillus* trong bột Guar, và là quy trình cần thiết để gây ra quá trình lên men bằng cách làm lạnh nhiệt độ của bột Guar được tăng lên trong bước gia nhiệt và bằng cách cấy chủng *Bacillus* làm chủng lên men.

Việc làm lạnh có thể được thực hiện một cách tự nhiên sau khi kết thúc bước xử lý nhiệt. Để ngăn chặn gia nhiệt quá mức bằng cách làm tăng tốc độ làm lạnh và để thực hiện làm mát đồng đều, việc làm mát có thể được thực hiện một cách dễ dàng thông qua quá trình vận chuyển bằng cách sử dụng thiết bị làm mát kiểu thiết bị bằng chuyên.

Cụ thể là, việc làm lạnh của bước (1-3) có thể được thực hiện tại nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 60°C, và cụ thể hơn là ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30°C đến 50°C, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Chủng *Bacillus* của bước (1-3) có thể là *Bacillus subtilis* hoặc *Bacillus amyloliquefaciens*, và cụ thể hơn là, một loại của *Bacillus subtilis* (ATCC21770), và bốn loại của *Bacillus amyloliquefaciens* (*Bacillus amyloliquefaciens* K2G (patent Hàn Quốc số 10-1517326), ATCC 23842, ATCC 23843, và ATCC 23845). Phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể được sử dụng không bị giới hạn, và cụ thể là, phương pháp có thể là nuôi cấy trạng thái lỏng làm phương pháp nuôi cấy chủng *Bacillus*.

Chủng *Bacillus* có thể được cấy với lượng nằm trong khoảng từ 5% khối lượng đến 20% khối lượng dựa trên khối lượng của bột Guar, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Trong sáng chế này, bước (3) là bước chủng lên men trạng thái rắn được cấy trong bột Guar để thu được bột Guar được lên men, và bước này tương ứng với các bước nuôi cấy và lên men trong phương pháp sản xuất bột Guar được lên men theo sáng chế.

Việc nuôi cấy có thể được thực hiện ở trạng thái rắn, và ví dụ, việc nuôi cấy có

thể được thực hiện lên men bằng cách sử dụng lò lên men kiểu tăng xúc tác, v.v..

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “lên men trạng thái rắn” dùng để chỉ việc nuôi cấy vi sinh vật hoặc các tế bào của động vật hoặc thực vật trên môi trường rắn như aga, gelatin, v.v., và như phương pháp, phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể được sử dụng không bị giới hạn.

Lò lên men kiểu tăng xúc tác có thể bao gồm các loại khác nhau như lò lên men thông gió gián đoạn, lò lên men kiểu đóng kín, lò lên men thông gió liên tục, v.v., và bất kỳ loại nào có thể được sử dụng không bị giới hạn cụ thể trong phương pháp theo sáng chế, miễn là nó hữu ích cho quá trình lên men trạng thái rắn của bột Guar. Thiết bị thích hợp có thể được chọn theo quy mô sản xuất và sau đó được sử dụng.

Quy trình lên men chung có thể liên quan đến quy trình lên men rắn nằm trong khoảng từ 48 giờ đến 72 giờ khi nấm men, vi khuẩn axit lactic, hoặc nấm được sử dụng, vì các hoạt tính sinh học như chuyển hóa và các hoạt tính enzym có thể khác theo mỗi chủng. Tuy nhiên, khi chủng *Bacillus* được sử dụng, quy trình lên men có thể được kết thúc trong 24 giờ, và cụ thể là, có thể được thực hiện trong khoảng 16 giờ.

Cụ thể là, việc lên men trạng thái rắn của bước (3) có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30°C đến 50°C trong khoảng thời gian từ 15 giờ đến 25 giờ, và cụ thể hơn là, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 37°C đến 45°C trong khoảng thời gian từ 14 giờ đến 16 giờ.

Trong bột Guar được lên men được tạo ra trong bước (3), số lượng đáng kể của vi khuẩn sống có thể tồn tại, từ đó thể hiện tác dụng probiotic. Số lượng vi khuẩn sống cụ thể có thể là 10^7 CFU/g đến 10^8 CFU/g, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “probiotic” dùng để chỉ vi sinh vật sống đi vào cơ thể để thể hiện tác dụng có lợi cho sức khỏe.

Phương pháp theo sáng chế có thể cũng bao gồm bước (4) làm khô và tán thành bột bột Guar được lên men sau bước (3) nêu trên.

Trong quá trình lên men, một phần của nước trong bột Guar bị bay hơi, nhưng hàm lượng của nước còn lại ngay sau khi kết thúc quá trình lên men cao một cách

đáng kể. Tuy nhiên, để kiểm soát hàm lượng nước cuối cùng trong sản phẩm bột Guar được lên men, cũng có thể cần quy trình làm khô.

Ngoài ra, khi quá trình lên men trạng thái rắn được thực hiện bằng cách sử dụng chủng *Bacillus amyloliquefaciens* theo sáng chế, các điều kiện của bột Guar được lên men rất thuận lợi, nhưng nó tạo thành khối kết tụ xốp một phần. Do đó, cần thiết để tán thành bột bột Guar được lên men đến kích thước hạt đồng đều sau khi làm khô.

Việc làm khô và tán thành bột có thể được thực hiện bằng các phương pháp khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Tuy nhiên, khi việc làm khô được thực hiện ở nhiệt độ quá cao, hầu hết vi khuẩn sống trong bột Guar được lên men có thể bị diệt, và do đó, nó đòi hỏi sự thận trọng. Vì lý do này, việc làm khô phải được thực hiện ở nhiệt độ thấp mà tại đó vi khuẩn sống không bị diệt, và có thể được thực hiện bằng cách sử dụng khí nóng với nhiệt độ thấp và độ ẩm thấp, nhưng không bị giới hạn ở đó. Việc tán thành bột có thể được thực hiện để tán thành bột bột Guar được lên men trong các kích cỡ khác nhau tùy thuộc vào mục đích sử dụng. Phương pháp tán thành bột có thể được thực hiện bằng cách sử dụng, ví dụ, búa nghiền.

Theo khía cạnh khác theo sáng chế, sáng chế đề cập đến bột Guar được lên men được sản xuất bằng phương pháp sản xuất bột Guar được lên men.

Cụ thể là, bột Guar được lên men có thể bao gồm chủng *Bacillus*, và cụ thể hơn là, chủng *Bacillus* có thể là *Bacillus amyloliquefaciens*, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Khi bột guar được lên men bằng cách sử dụng chủng *Bacillus amyloliquefaciens* theo phương pháp được mô tả nêu trên theo sáng chế, có khả năng để thu được bột Guar được lên men trong đó các yếu tố kháng dinh dưỡng khác nhau bao gồm TI trong bột Guar có thể bị giảm, khả năng tiêu hóa được có thể được cải thiện do sự thủy phân và phân tử hóa thấp protein, và hàm lượng của protein thô có thể được tăng. Khi bột guar được lên men này có một giá trị tuyệt đối được cải thiện làm thức ăn, nó là nguyên liệu thức ăn chất lượng cao làm chất thay thế cho protein động vật, và do đó, độ khả dụng của nó là rất cao.

Ngoài ra, bột Guar bao gồm 4% đến 6% oligosacarit. Trong oligosacarit, rafinoza và stachyoza là oligosacarit khó tiêu, tức là, galacto-oligosacarit (sau đây,

được gọi là GOS) chiếm 2% đến 3%. Oligosacarit khó tiêu có vấn đề ở chỗ chúng có thể được sử dụng làm nguồn dinh dưỡng của vi sinh vật trong ruột có hại hoặc có thể gây ra tiêu chảy. Tuy nhiên, hàm lượng của oligosacarit khó tiêu trong bột Guar được lên men theo phương pháp theo sáng chế được giảm đáng kể. Do đó, khi bột Guar được lên men được sử dụng làm thức ăn chăn nuôi, nó có thể thể hiện khả năng tiêu hóa được rất tốt.

Cụ thể là, hàm lượng của chất ức chế trypsin trong bột Guar được lên men được sản xuất bằng phương pháp theo sáng chế có thể nằm trong khoảng từ khoảng 30% đến khoảng 50%, dựa trên hàm lượng của chất ức chế trypsins (TI) trong bột guar không trải qua các bước (1) đến (3). Ngoài ra, hàm lượng của oligosacarit khó tiêu trong bột Guar được lên men được sản xuất bằng phương pháp theo sáng chế có thể nằm trong khoảng từ khoảng 10% đến khoảng 40%, dựa trên hàm lượng của oligosacarit khó tiêu trong bột guar không trải qua các bước (1) đến (3).

Ngoài ra, bột Guar được lên men theo sáng chế không có vấn đề về khẩu vị, và tỷ lệ chuyển đổi thức ăn của nó cũng tương tự như tỷ lệ chuyển đổi thức ăn của bột đậu nành, và do đó, bột Guar được lên men có thể được sử dụng rộng rãi làm nguồn protein để thay thế bột đậu nành.

Theo khía cạnh khác nữa theo sáng chế, sáng chế đề cập đến thức ăn chăn nuôi bao gồm bột Guar được lên men được sản xuất bằng phương pháp sản xuất bột Guar được lên men.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “thức ăn chăn nuôi” dùng để chỉ nguyên liệu cung cấp dinh dưỡng hữu cơ hoặc vô cơ cần thiết để duy trì sự sống của đối tượng hoặc để nuôi đối tượng. Thức ăn chăn nuôi có thể bao gồm chất dinh dưỡng như năng lượng, protein, lipid, vitamin, khoáng chất, v.v. được yêu cầu bởi một đối tượng tiêu thụ thức ăn. Thức ăn chăn nuôi có thể là, nhưng không bị giới hạn ở, thức ăn gốc thực vật như thóc lúa, quả hạch, sản phẩm phụ thực phẩm, tảo, xơ, dầu, tinh bột, bột, sản phẩm phụ thóc lúa, v.v., hoặc thức ăn gốc động vật như protein, các chất vô cơ, chất béo, khoáng chất, protein tế bào đơn, động vật nổi, bột cá, v.v.. Trong sáng chế này, thức ăn chăn nuôi là một khái niệm bao gồm một chất được thêm vào thức ăn (tức là,

phụ gia thức ăn), nguyên liệu thô thức ăn, hoặc thức ăn cấp cho chính đối tượng.

Đối tượng dùng để chỉ đối tượng được nuôi, và có thể bao gồm bất kỳ vi sinh vật sống không bị giới hạn, miễn là nó có thể ăn thức ăn theo sáng chế. Do đó, thức ăn chăn nuôi theo sáng chế có thể được áp dụng cho chế độ ăn, tức là, thức ăn cho lượng lớn động vật bao gồm động vật có vú, gia cầm, cá, và động vật vỏ giáp. Nó có thể được sử dụng cho động vật có vú như lợn, gia súc, dê, v.v. là quan trọng về mặt thương mại, động vật vườn thú như voi, lạc đà, v.v., vật nuôi như chó, mèo, v.v.. Gia cầm quan trọng về mặt thương mại có thể bao gồm gà, vịt, ngỗng, v.v.. Cá và động vật vỏ giáp được nuôi cho thương mại như cá hồi và tôm cũng có thể được bao gồm.

Hàm lượng bột Guar được lên men trong thức ăn chăn nuôi theo sáng chế có thể được kiểm soát một cách thích hợp theo giống và tuổi của vật nuôi, loại áp dụng, các tác dụng mong muốn, v.v., và hàm lượng có thể là, ví dụ, 1% đến 99% khối lượng, cụ thể là 10% đến 90% khối lượng, và cụ thể hơn là 20% đến 80% khối lượng, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Để sử dụng, thức ăn chăn nuôi theo sáng chế có thể bao gồm hỗn hợp chứa một hoặc nhiều axit hữu cơ như axit xitric, axit fumaric, axit adipic, axit lactic, v.v.; phosphat như kali phosphat, natri phosphat, polyphosphat, v.v.; chất chống oxy hóa tự nhiên như polyphenol, catechin, tocopherol, vitamin C, chiết xuất trà xanh, chitosan, axit tannic, v.v., ngoài bột Guar được lên men. Khi cần, thức ăn chăn nuôi có thể bao gồm các chất phụ gia thông thường khác như chất kháng bệnh cúm, chất đệm, chất kìm vi khuẩn, v.v.. Ngoài ra, thức ăn chăn nuôi cũng có thể được bào chế thành chế phẩm có thể tiêm như dung dịch nước, hỗn dịch, nhũ tương, v.v., viên nang, viên cứng, hoặc viên nén bằng cách bổ sung thêm chất pha loãng, chất phân tán, chất nổi bề mặt, chất liên kết, hoặc chất bôi trơn.

Ngoài ra, thức ăn chăn nuôi theo sáng chế có thể bao gồm các loại khác nhau của các chất bổ sung như axit amin, muối vô cơ, vitamin, chất chống oxy hóa, chất chống nấm, chất kháng vi sinh vật, v.v., các thành phần chính như thức ăn protein gốc thực vật như lúa mì, lúa mạch, ngô được tán thành bột hoặc được nghiền nát, v.v., thức ăn protein gốc động vật như bột máu, bột thịt, bột cá, v.v., mỡ động vật và dầu thực vật,

cũng như thực phẩm bổ sung dinh dưỡng, chất trợ xúc tác phát triển, chất trợ xúc tác khả năng tiêu hóa được và chất phòng bệnh.

Khi thức ăn chăn nuôi theo sáng chế được sử dụng làm phụ gia thức ăn, thức ăn chăn nuôi có thể được bổ sung trực tiếp hoặc được sử dụng cùng với các thành phần khác, và có thể được sử dụng một cách thích hợp theo phương pháp thông thường. Dạng sử dụng của thức ăn chăn nuôi có thể được tạo ra trong một chế phẩm giải phóng ngay lập tức hoặc trong chế phẩm giải phóng duy trì kết hợp với chất mang được dụng không gây độc. Chất mang có thể ăn được này có thể là tinh bột ngô, lactoza, sucroza, hoặc propylen glycol. Trong trường hợp của chất mang rắn, nó có thể được sử dụng ở dạng viên nén, bột, viên ngậm dẹt, v.v.. Trong trường hợp của chất mang lỏng, nó có thể được sử dụng ở dạng sirô, hỗn dịch lỏng, nhũ tương, dung dịch, v.v.. Ngoài ra, chất sử dụng có thể bao gồm chất bảo quản, chất bôi trơn, chất trợ xúc tác dung dịch, chất làm ổn định, và có thể bao gồm các chất khác để cải thiện bệnh viêm và các chất hữu ích để ngăn ngừa virus.

Thức ăn chăn nuôi theo sáng chế có thể được trộn với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 10 g đến 500 g mỗi 1 kg, và cụ thể là, 10 g đến 100 g mỗi 1 kg, dựa trên khối lượng khô của thức ăn cho vật nuôi. Sau khi trộn hoàn toàn, thức ăn chăn nuôi có thể cung cấp cho rây hoặc có thể được đưa vào quy trình đóng viên, giãn nở, và ép đùn thông qua quy trình bổ sung, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Ngoài ra, thức ăn chăn nuôi có thể cũng bao gồm bất kỳ một enzym được chọn từ nhóm gồm galactomananaza, cellulast, và viscozym.

Cụ thể là, enzym có thể được bao gồm với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% (khối lượng/khối lượng) đến 1,0% (khối lượng/khối lượng), cụ thể hơn là 0,1% đến 0,5% (khối lượng/khối lượng), và cụ thể hơn là 0,2% (khối lượng/khối lượng) đối với khối lượng của bột Guar được lên men, xem xét hàm lượng của gồm guar trong bột Guar được lên men theo sáng chế, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Enzym có thể là enzym có khả năng làm giảm độ nhớt của gồm guar trong bột Guar. Khi enzym cũng được bao gồm trong thức ăn chăn nuôi, 1% đến 3% gồm guar có trong bột Guar có thể bị làm biến chất, từ đó cải thiện khả năng tiêu hóa.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn bằng cách tham chiếu tới các ví dụ. Tuy nhiên, các ví dụ này chỉ nhằm mục đích minh họa, và sáng chế không bị giới hạn bởi các ví dụ này.

Ví dụ 1-1: Sự thay đổi trong thành phần dinh dưỡng của bột guar theo nhiệt độ xử lý nhiệt của bột guar

Phương pháp sản xuất bột Guar được lên men theo sáng chế có thể bao gồm bước xử lý nhiệt bột guar được kiểm soát bởi hàm lượng nước. Số đếm vi khuẩn và chất ức chế trypsin (TI) trong bột Guar được lên men theo nhiệt độ xử lý nhiệt được đo.

Cụ thể là, 100 g bột guar được chuẩn bị, và nước được bổ sung sao cho hàm lượng nước là bột Guar là 42% (khối lượng/khối lượng). Rồi sau đó, bột Guar được xử lý nhiệt ở nhiệt độ 70°C, 80°C, 90°C, và 95°C trong 30 phút, lần lượt.

Sau khi xử lý nhiệt ở các nhiệt độ khác nhau, số đếm vi khuẩn và chất ức chế trypsin (TI) trong bột Guar được đo, và tỷ số tương quan (%) của nó đối với bột guar không được xử lý nhiệt làm nhóm đối chứng được tính và được thể hiện trong bảng 1 bên dưới.

Bảng 1

Sự thay đổi trong số đếm vi khuẩn và hàm lượng TI theo bước xử lý nhiệt ở các nhiệt độ khác nhau (30 phút, dựa trên hàm lượng nước là 42%)

Nhiệt độ xử lý nhiệt (°C)	Số đếm vi khuẩn		Hàm lượng TI	
	CFU/g	Tỷ số tương quan (%)	mg/g	Tỷ số tương quan (%)
-	4,0 X 10 ⁴	-	2,7	-
70	3,5 X 10 ³	9	2,1	79
80	1,7 X 10 ³	4	1,7	64
90	5,0 X 10 ²	1	1,5	57
95	7,0 X 10 ¹	0	0,9	35

Tham khảo bảng 1 ở trên, khi nhiệt độ xử lý nhiệt tăng, số đếm vi khuẩn và hàm

lượng TI trong bột Guar bị giảm. Cụ thể là, khi bước xử lý nhiệt được thực hiện ở nhiệt độ 90°C, bột Guar thể hiện số đếm vi khuẩn là $5,0 \times 10^2$ CFU/g và hàm lượng TI là 1,5 mg/g, và khi bước xử lý nhiệt được thực hiện ở nhiệt độ 95°C, bột Guar thể hiện số đếm vi khuẩn là $7,0 \times 10^1$ CFU/g và hàm lượng TI là 0,9 mg/g.

Bột guar không được xử lý nhiệt thể hiện số đếm vi khuẩn là $4,0 \times 10^4$ CFU/g và hàm lượng TI là 2,7 mg/g. Khi bước xử lý nhiệt được thực hiện ở nhiệt độ 70°C, bột Guar thể hiện số đếm vi khuẩn là $3,5 \times 10^3$ CFU/g và hàm lượng TI là 2,1 mg/g, đạt tới tỷ số tương quan là 79%. Dưới điều kiện nhiệt độ tương đối thấp, số đếm vi khuẩn và hàm lượng TI cao, thể hiện độ khả dụng thấp làm thức ăn.

Ngược lại, khi nhiệt độ xử lý nhiệt của bột Guar tăng, số đếm vi khuẩn và hàm lượng TI bị giảm. Cụ thể là, khi nhiệt độ xử lý nhiệt của bột Guar nằm trong khoảng từ 80°C đến 95°C, hiệu quả rất tốt được quan sát, và khi nhiệt độ xử lý nhiệt của bột Guar nằm trong khoảng từ 90°C đến 95°C, hiệu quả tốt hơn nữa được quan sát. Theo kết quả dưới các điều kiện xử lý nhiệt nêu trên, dự kiến sẽ đạt được hiệu quả kinh tế và rất hiệu quả trong sản xuất hàng loạt của bột Guar được lên men.

Ví dụ 1-2: Sự thay đổi trong thành phần dinh dưỡng của bột guar theo nhiệt độ lên men và hàm lượng nước là bột guar

Các thành phần dinh dưỡng trong bột Guar được lên men theo hàm lượng nước và nhiệt độ lên men của bột guar được đo.

Cụ thể là, 100 g bột guar được chuẩn bị, và nước được bổ sung sao cho hàm lượng nước là bột Guar là 40% (khối lượng/khối lượng), 45% (khối lượng/khối lượng), và 50% (khối lượng/khối lượng), lần lượt. Rồi sau đó, bột Guar được xử lý nhiệt trước ở nhiệt độ 90°C trong 30 phút, và sau đó làm mát xuống 40°C, lần lượt.

Sự nuôi cấy của *Bacillus amyloliquefaciens* K2G được cấy trong mỗi bột Guar có hàm lượng nước khác nhau với lượng là 10 % khối lượng dựa trên khối lượng của bột Guar, và được trộn đều sao cho hàm lượng nước là 40% (khối lượng/khối lượng), 45% (khối lượng/khối lượng), và 50% (khối lượng/khối lượng), lần lượt. Sau đó, bột Guar được lên men ở nhiệt độ 35°C, 40°C, 45°C, và 50°C trong 16 giờ trong các điều kiện nhiệt độ và độ ẩm được duy trì liên tục. Nhóm nguyên liệu thô bột Guar không

trải qua bước kiểm soát hàm lượng nước, bước xử lý nhiệt, và bước lên men theo sáng chế được sử dụng làm nhóm đối chứng.

Hàm lượng protein trong bột Guar theo hàm lượng nước và nhiệt độ lên men được đo, và tỷ lệ tăng và tỷ số tương quan của hàm lượng protein đối với nhóm nguyên liệu thô bột Guar được tính và được thể hiện trong bảng 2 bên dưới.

Bảng 2

Sự thay đổi trong các thành phần dinh dưỡng theo nhiệt độ lên men và hàm lượng nước (*Bacillus amyloliquefaciens* K2G, thời gian lên men là 16 giờ)

Nhiệt độ lên men (°C)	Hàm lượng nước (%)	Hàm lượng protein (%), dựa trên ds)		
			Tỷ lệ tăng (%)	Tỷ số tương quan (%)
-	-	57,2	-	-
35°C	40	58,9	1,7	103
	45	61,7	4,5	108
	50	62,2	5,0	109
40°C	40	61,0	3,8	107
	45	63,2	6,0	110
	50	63,5	6,3	111
45°C	40	60,0	2,8	105
	45	62,9	5,7	110
	50	62,5	5,3	109
50°C	40	58,7	1,5	103
	45	60,0	2,8	105
	50	60,6	3,4	106

Tham khảo đến bảng 2, dưới các nhiệt độ của nhiệt độ lên men là 40°C và hàm lượng nước là 50%, hàm lượng protein cao nhất là 63,5% và tỷ lệ tăng cao nhất là 110% được quan sát. Nói cách khác, được xác nhận rằng khi bột Guar được lên men ở nhiệt độ 35°C đến 50°C, hoặc 40°C đến 45°C, chúng có hàm lượng protein cao. Cũng được xác nhận rằng khi bột Guar được lên men sau khi xử lý để có hàm lượng nước là

40% đến 50% hoặc 45% đến 50%, chúng có hàm lượng protein cao.

Ví dụ 1-3: Sự thay đổi trong thành phần dinh dưỡng của bột guar đã lên men theo chủng

100 g bột guar được chuẩn bị, và nước được bổ sung sao cho hàm lượng nước là bột Guar là 40% (khối lượng/khối lượng) đến 45% (khối lượng/khối lượng). Rồi sau đó, bột Guar được xử lý nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 95°C trong 30 phút, và sau đó làm lạnh xuống 40°C. Mỗi môi trường của một loại của *Bacillus subtilis* (*Bacillus subtilis* ATCC 21770) và bốn loại của *Bacillus amyloliquefaciens* (*Bacillus amyloliquefaciens* K2G, ATCC 23842, ATCC 23843, và ATCC 23845) được cấy trong bột guar đã làm lạnh với lượng là 10% khối lượng dựa trên khối lượng của bột Guar, và được trộn đều sao cho hàm lượng nước lên men cuối cùng là 45% (khối lượng/khối lượng) đến 50% (khối lượng/khối lượng). Sau đó, bột Guar được lên men ở nhiệt độ 37°C đến 45°C trong khoảng thời gian từ 14 giờ đến 16 giờ dưới các điều kiện nhiệt độ và độ ẩm được duy trì liên tục. Nhóm nguyên liệu thô bột Guar không trải qua bước kiểm soát hàm lượng nước, bước xử lý nhiệt, và bước lên men theo sáng chế được sử dụng làm nhóm đối chứng.

Hàm lượng protein, số đếm vi khuẩn sống, và pH của bột Guar được lên men được đo, và tỷ lệ tăng và tỷ số tương quan của hàm lượng protein đối với nhóm nguyên liệu thô bột Guar được tính và được thể hiện trong bảng 3 bên dưới.

Bảng 3

Sự thay đổi trong các thành phần dinh dưỡng theo quy trình xử lý chủng (dựa trên thời gian lên men là 16 giờ)

Nguyên liệu thô và chủng	Hàm lượng protein (%), dựa trên ds			Số đếm vi khuẩn sống (CFU/g)	pH
		Tỷ lệ tăng (%)	Tỷ số tương quan (%)		
Bột guar	57,2	-	-	-	6,6
<i>Bacillus subtilis</i>	62,3	5,1	88	8,9 X 10 ⁹	7,1

ATCC 21770					
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ATCC 23842	62,3	5,1	88	$1,2 \times 10^{10}$	7,4
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ATCC 23845	62,5	5,3	91	$1,2 \times 10^{10}$	7,5
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ATCC 23843	62,9	5,7	98	$1,2 \times 10^{10}$	7,5
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> K2G	63,0	5,8	100	$1,2 \times 10^{10}$	7,6

Tham khảo đến bảng 3, bột Guar được lên men bằng cách cấy chủng *Bacillus* được tìm thấy bao gồm 62% hoặc lớn hơn protein thô, là 5% hoặc cao hơn của bột Guar của nhóm đối chứng trong đó chủng *Bacillus* không được cấy. Do đó, khi bột Guar được lên men được bổ sung vào thức ăn, tỷ lệ trộn thức ăn có thể bị giảm. Ngoài ra, số đếm vi khuẩn sống trong bột Guar được lên men đạt tới 10^7 CFU/g đến 10^8 CFU/g. Do đó, khi bột Guar được lên men được bổ sung vào thức ăn, hiệu quả probiotic có thể được mong đợi.

Ví dụ 2: Sự biến chất của gồm guar trong bột guar và sự thay đổi của độ nhớt của nó 1% đến 3% gồm guar có trong bột guar, và độ nhớt của gồm guar được biết là tiêu hóa chậm trong các cơ quan tiêu hóa, nhờ đó ức chế khả năng tiêu hóa được. Do đó, enzym có khả năng làm giảm độ nhớt của gồm guar trong bột Guar có thể được bổ sung vào bột Guar được lên men theo sáng chế.

Sự biến chất của gồm guar (galactomanan) hoặc việc làm giảm độ nhớt của nó theo loại và nồng độ của enzym được kiểm tra. Cụ thể là, gồm guar được hòa tan trong nước vô trùng để điều chế 1% gồm guar pha loãng. Mỗi enzym của galactomananaza (sau đây, được gọi là GM), celluclast (sau đây, gọi là CE), và viscozym (sau đây, được

gọi là VI) được bổ sung ở các nồng độ khác nhau đối với việc pha loãng gồm guar, và sự thay đổi trong độ nhớt của gồm guar dung dịch theo sự biến chất của gồm guar được kiểm tra (Fig. 3).

Kết quả là, được xác nhận rằng toàn bộ GM, CE, và VI làm giảm độ nhớt của gồm guar, và cụ thể là, GM và VI thể hiện tác dụng rất tốt của việc làm giảm độ nhớt của gồm guar. Do đó, khi enzym cũng được bao gồm trong thức ăn chăn nuôi bao gồm bột Guar được lên men được tạo ra bằng phương pháp tạo ra theo sáng chế, có thể cung cấp thức ăn chăn nuôi có khả năng cải thiện khả năng tiêu hóa được và tỷ lệ hấp thụ của thức ăn.

Ví dụ 3: Sự thay đổi trong hàm lượng đường trong bột guar theo quá trình lên men với *Bacillus*

Bột guar bao gồm 4% đến 6% oligosacarit. Trong số các oligosacarit này, rafinoza và stachyoza là oligosacarit khó tiêu, tức là, galacto-oligosacarit (sau đây, được gọi là GOS) chiếm 2% đến 3%. Oligosacarit khó tiêu có thể được sử dụng làm nguồn dinh dưỡng của vi sinh vật ở ruột có hại hoặc có thể gây ra tiêu chảy. Do đó, nó cần thiết để làm giảm hàm lượng của nó trong bột Guar.

100 g bột guar được chuẩn bị, và nước được bổ sung sao cho hàm lượng nước là bột Guar là 40% (khối lượng/khối lượng) đến 45% (khối lượng/khối lượng). Rồi sau đó, bột Guar được xử lý nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 95°C trong 30 phút, và sau đó làm lạnh xuống 40°C. Mỗi môi trường nuôi cấy của một loại của *Bacillus subtilis* (*Bacillus subtilis* ATCC 21770) và bốn loại của *Bacillus amyloliquefaciens* (*Bacillus amyloliquefaciens* K2G, ATCC 23842, ATCC 23843, và ATCC 23845), *Saccharomyces cerevisiae*, và *Lactobacillus acidophilus*, và môi trường đã trộn của *Saccharomyces* và *Lactobacillus acidophilus* được cấy trong với lượng là 10% dựa trên khối lượng của bột Guar, lần lượt. Sau đó, bột Guar tại đó mỗi chủng được cấy được trộn đều, và sau đó được lên men ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 37°C đến 45°C trong khoảng thời gian từ 14 giờ đến 16 giờ dưới các điều kiện nhiệt độ và độ ẩm được duy trì liên tục. Tuy nhiên, bột Guar mà tại đó môi trường nuôi cấy của *Saccharomyces cerevisiae*, môi trường nuôi cấy của *Lactobacillus acidophilus*, hoặc

môi trường nuôi cấy đã trộn của *Saccharomyces* và *Lactobacillus acidophilus* được cấy được lên men dưới các điều kiện kỵ khí.

Việc tách nước được thực hiện cho mỗi bột Guar đã lên men được lên men trong cùng một khoảng thời gian, và được lọc qua bộ lọc 0,22 μm . Hàm lượng oligosacarit khó tiêu được đo bằng cách sử dụng Carbo PA-1 (nhiệt độ cột là 30°C). Nhóm nguyên liệu thô bột Guar không trải qua bước kiểm soát hàm lượng nước, bước xử lý nhiệt, và bước lên men theo sáng chế được sử dụng làm nhóm đối chứng. Hàm lượng oligosacarit khó tiêu trong bột Guar được lên men được đo, và tỷ số tương quan của nó đối với nhóm nguyên liệu thô bột Guar được tính và được thể hiện trong bảng 4 bên dưới.

Bảng 4

Hàm lượng oligosacarit khó tiêu dư theo quy trình xử lý chủng

Nguyên liệu thô và chủng	Tỷ số tương quan (%)	Oligosacarit khó tiêu		
		Rafinoza (%)	Stachyoza (%)	Total (%)
Bột guar	100	1,71	0,51	2,22
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 21770	39,6	0,20	0,68	0,88
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ATCC 23842	30,2	0,02	0,65	0,67
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ATCC 23845	19,4	0,02	0,41	0,43
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ATCC 23843	15,3	ND ¹⁾	0,34	0,34
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	10,4	ND	0,23	0,23

K2G				
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	71,2	1,00	0,58	1,58
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	89,2	1,46	0,52	1,98
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> + <i>Lactobacillus acidophilus</i>	71,2	1,11	0,47	1,58

¹⁾ND: không được phát hiện

Tham khảo đến bảng 4, hàm lượng oligosacarit khó tiêu trong bột Guar được lên men tại đó chủng *Bacillus* được cấy thể hiện độ giảm trung bình 80% hoặc nhiều hơn, như được so sánh với nhóm đối chứng. Cụ thể là, bột Guar được lên men bằng *Bacillus amyloliquefaciens* K2G thể hiện hàm lượng oligosacarit khó tiêu rất thấp. Ngược lại, từ bột Guar được lên men bằng môi trường nuôi cấy của *Saccharomyces cerevisiae*, môi trường nuôi cấy của *Lactobacillus acidophilus*, hoặc môi trường nuôi cấy đã trộn của nó dưới các điều kiện kỵ khí, GOS bị loại bỏ đến trung bình 20% đến 30%. Do đó, khi bột Guar được lên men theo sáng chế có hàm lượng oligosacarit khó tiêu thấp, chúng có thể được sử dụng làm thức ăn để cải thiện khả năng tiêu hóa được của vật nuôi.

Ví dụ 4: Sự thay đổi trong hàm lượng TI và khả năng tiêu hóa được *in vitro* theo quá trình lên men với *Bacillus*

Hàm lượng của chất ức chế trypsin (sau đây, được gọi là TI) trong bột Guar được lên men được tạo ra theo sáng chế và khả năng tiêu hóa được *in vitro* được đo.

Cụ thể là, 100 g bột guar được chuẩn bị, và nước được bổ sung sao cho hàm lượng nước là bột Guar nằm trong khoảng từ 40% (khối lượng/khối lượng) đến 45% (khối lượng/khối lượng). Rồi sau đó, bột Guar được xử lý nhiệt ở nhiệt độ 90°C trong 30 phút, và làm lạnh xuống 40°C. Mỗi môi trường nuôi cấy của một loại của *Bacillus subtilis* (*Bacillus subtilis* ATCC 21770), bốn loại của *Bacillus amyloliquefaciens*

(*Bacillus amyloliquefaciens* K2G, ATCC 23842, ATCC 23843, và ATCC 23845), *Saccharomyces cerevisiae*, và *Lactobacillus acidophilus*, và môi trường nuôi cấy được trộn của *Saccharomyces* và *Lactobacillus acidophilus* được cấy trong bột Guar với lượng là 10 % khối lượng dựa trên khối lượng của bột Guar. Bột Guar mà mỗi chủng được cấy được trộn đều vào, lần lượt và được lên men ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 37°C đến 45°C trong 16 giờ dưới các điều kiện nhiệt độ và độ ẩm được duy trì liên tục. Tuy nhiên, bột Guar mà môi trường nuôi cấy của *Saccharomyces cerevisiae*, môi trường nuôi cấy của *Lactobacillus acidophilus*, hoặc môi trường nuôi cấy đã trộn của *Saccharomyces* và *Lactobacillus acidophilus* được cấy được lên men dưới các điều kiện kỵ khí. Nhóm nguyên liệu thô bột Guar không trải qua bước kiểm soát hàm lượng nước, bước xử lý nhiệt, và bước lên men theo sáng chế được sử dụng làm nhóm đối chứng.

Hàm lượng TI trong bột Guar được lên men bằng phương pháp và trong nhóm đối chứng được đo theo AOAC Ba 12-75 (American Oil Chemists' Society), và khả năng tiêu hóa được *in vitro* được đo theo bước Biosen et al(1997) 2. Hàm lượng TI đã đo (mg/g) được thể hiện trong bảng 5 bên dưới, và khả năng tiêu hóa được *in vitro* được thể hiện trong bảng 6 bên dưới.

Bảng 5

Hàm lượng yếu tố kháng dinh dưỡng TI theo quy trình xử lý chủng

Nguyên liệu thô và chủng	Hàm lượng TI (mg/g)	
		Tỷ số tương quan (%)
Bột guar	2,5	100
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 21770	1,1	45
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ATCC 23842	1,1	45
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ATCC 23845	1,1	45
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ATCC 23843	0,9	36

<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> K2G	0,9	36
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,6	65
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,9	77
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> + <i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,6	65

Tham khảo đến bảng 5, bột Guar được lên men bằng chủng *Bacillus* theo sáng chế có hàm lượng TI là trung bình 1,0 mg/g, chỉ ra độ giảm trung bình 60%, như được so sánh với nguyên liệu thô bột Guar. Ngược lại, tác dụng của việc làm giảm hàm lượng TI bằng quá trình lên men không đáng kể trong bột Guar được lên men bằng môi trường nuôi cấy của *Saccharomyces cerevisiae*, môi trường nuôi cấy của *Lactobacillus acidophilus*, và môi trường nuôi cấy đã trộn của nó dưới các điều kiện kỵ khí, như được so sánh với bột Guar được lên men bằng môi trường nuôi cấy của chủng *Bacillus*. Do đó, phương pháp sản xuất bột Guar được lên men theo sáng chế, phương pháp bao gồm bước lên men bột Guar với môi trường nuôi cấy của chủng *Bacillus*, có thể làm giảm hàm lượng TI trong bột Guar. Do đó, khi bột Guar được lên men theo sáng chế có thể được sử dụng làm thức ăn, khả năng tiêu hóa được protein của vật nuôi có thể được cải thiện.

Bảng 6

Sự thay đổi trong khả năng tiêu hóa được *in vitro* (%) theo quy trình xử lý chủng

Nguyên liệu thô và chủng	Khả năng tiêu hóa được <i>in vitro</i> (%)		
	1 bước (pepsin)	2 bước (pepsin + pancreatin)	Tỷ số tương quan (%)
Bột guar	81,0	87	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 21770	85,0	91	105
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ATCC 23843	84,0	90	103

<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> K2G	89,0	95	109
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	81,0	87	100
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	82,0	86	99

Tham khảo đến bảng 6, bột Guar được lên men bằng môi trường nuôi cấy của chủng *Bacillus* thể hiện khả năng tiêu hóa được *in vitro* cao, như được so sánh với bột Guar được lên men bằng môi trường nuôi cấy của *Lactobacillus acidophilus*, bột Guar được lên men bằng môi trường nuôi cấy đã trộn của *Saccharomyces* và *Lactobacillus acidophilus*, và bột guar đối chứng, và điều này có thể được cho là do sự phân tử hóa thấp của protein bột Guar trong bước lên men bột Guar với môi trường nuôi cấy của chủng *Bacillus*. Tuy nhiên, *Saccharomyces cerevisiae* và *Lactobacillus acidophilus* không thể gây ra sự phân tử hóa thấp của protein bột Guar, không giống chủng *Bacillus*. Do đó, khi bột Guar được lên men được sản xuất bằng phương pháp sản xuất bột Guar được lên men theo sáng chế được sử dụng làm thức ăn, khả năng tiêu hóa được protein của vật nuôi có thể được cải thiện.

Ví dụ 5: Sự thay đổi trong sự thủy phân của bột guar protein theo quá trình lên men với *Bacillus*

Bột guar có hàm lượng protein tương tự hoặc cao hơn hàm lượng protein của bột đậu nành. Tuy nhiên, khi bột Guar bao gồm lượng lớn của các yếu tố kháng dinh dưỡng và protein khối lượng phân tử cao với khả năng tiêu hóa được thấp, nó có nhược điểm là sử dụng cho vật nuôi con là khó do khả năng tiêu hóa được thấp. Protein với khả năng tiêu hóa được thấp có thể được cải thiện bằng cách chuyển hóa protein thành peptit được thủy phân hoặc làm suy biến protein thành protein khối lượng phân tử thấp để tiêu hóa.

Do đó, để kiểm tra sự cải thiện của khả năng tiêu hóa được của bột Guar được lên men được sản xuất theo phương pháp theo sáng chế, mức độ thủy phân hoặc khối

lượng phân tử của protein của bột Guar được lên men được đo.

Cụ thể là, 100 g bột guar được chuẩn bị, và nước được bổ sung sao cho hàm lượng nước là bột Guar nằm trong khoảng từ 40 % (khối lượng/khối lượng) đến 45 % (khối lượng/khối lượng). Rồi sau đó, bột Guar được xử lý nhiệt ở nhiệt độ 90°C trong 30 phút, và sau đó làm lạnh xuống 40°C. Mỗi môi trường nuôi cấy của *Bacillus amyloliquefaciens* K2G, *Saccharomyces cerevisiae*, và *Lactobacillus acidophilus*, hoặc môi trường nuôi cấy được trộn của *Saccharomyces* và *Lactobacillus acidophilus* được cấy trong bột Guar với lượng là 10 % khối lượng dựa trên khối lượng của bột Guar. Bột Guar mà mỗi chủng được cấy được trộn đều vào, lần lượt và được lên men ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 37°C đến 45°C trong 16 giờ dưới các điều kiện nhiệt độ và độ ẩm được duy trì liên tục. Tuy nhiên, bột Guar mà môi trường nuôi cấy của *Saccharomyces cerevisiae*, môi trường nuôi cấy của *Lactobacillus acidophilus*, hoặc môi trường nuôi cấy đã trộn của *Saccharomyces* và *Lactobacillus acidophilus* được cấy được lên men dưới các điều kiện kỵ khí.

5,0 mL dung dịch ure 8 M được bổ sung vào và được trộn với 0,1 g mẫu khô của mỗi bột guar được lên men thu được, và được ly tâm tại nhiệt độ 25°C và 13000 rpm trong 5 phút để tách mỗi chất nổi bề mặt. Mỗi chất nổi bề mặt được tách được nhuộm và biến tính bằng đệm nhuộm, và 10 µl của nó được đưa vào SDS-PAGE để kiểm tra độ chảy protein theo khối lượng phân tử.

Fig. 4 là đồ thị thể hiện mức độ thủy phân của protein bột Guar theo loại của chủng. Từ bên trái, dòng 1 thể hiện việc tách chất nổi bề mặt của nhóm nguyên liệu thô bột Guar không trải qua bước kiểm soát hàm lượng nước, bước xử lý nhiệt, và bước lên men theo sáng chế, dòng 2 thể hiện việc tách chất nổi bề mặt của bột Guar được lên men bằng *Saccharomyces cerevisiae*, dòng 3 thể hiện việc tách chất nổi bề mặt của bột Guar được lên men bằng *Lactobacillus acidophilus*, và dòng 4 thể hiện việc tách chất nổi bề mặt của bột Guar được lên men bằng *Bacillus amyloliquefaciens* K2G.

Kết quả là, bột Guar được lên men được tạo ra bằng cách sử dụng *Bacillus amyloliquefaciens* K2G cho thấy việc giảm đáng kể trong khối lượng phân tử, như

được so sánh với nhóm nguyên liệu thô bột Guar hoặc bột Guar được lên men được tạo ra bằng cách sử dụng các chủng khác. Chủng *Bacillus* thủy phân protein khối lượng phân tử cao của bột Guar thành peptit có kích cỡ nhỏ, và do đó, bột Guar được lên men theo sáng chế có thể được sử dụng làm nguồn protein cho vật nuôi con.

Ví dụ 6: Sự thay đổi trong thành phần dinh dưỡng của hỗn hợp chứa bột guar và bột đậu nành theo quá trình lên men bằng *Bacillus*

Bột guar (GM) và bột đậu nành (SBM) được pha trộn theo tỷ lệ 1:9, 5:5, và 9:1 để tạo ra hỗn hợp, và nước được bổ sung sao cho hàm lượng nước của mỗi hỗn hợp nằm trong khoảng từ 40 % (khối lượng/khối lượng) đến 45 % (khối lượng/khối lượng). Rồi sau đó, mỗi hỗn hợp được trộn đều, và sau đó được xử lý nhiệt trước ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 90°C đến 95°C trong 25 phút đến 30 phút. Sau khi xử lý nhiệt, mỗi hỗn hợp được làm lạnh. Mỗi môi trường nuôi cấy của hai loại của *Bacillus amyloliquefaciens* (*Bacillus amyloliquefaciens* K2G và ATCC 23843) được cấy trong hỗn hợp được làm lạnh của bột guar/bột đậu nành với lượng là 5% đến 20 % khối lượng, và sau đó được trộn đều, lần lượt và được lên men ở nhiệt độ 37°C đến 45°C trong khoảng thời gian từ 14 giờ đến 16 giờ dưới các điều kiện nhiệt độ và độ ẩm được duy trì liên tục. Thành phần dinh dưỡng của hỗn hợp bột Guar được lên men/bột đậu nành được thể hiện trong bảng 7 bên dưới.

Bảng 7

Sự thay đổi trong các thành phần dinh dưỡng sau khi lên men theo tỷ lệ trộn của bột guar và bột đậu nành

Nguyên liệu thô (tỷ lệ) và chủng	Hàm lượng protein (% , dựa trên ds)			Số đếm vi khuẩn sống (CFU/g)	pH	TI (mg/g)	GOS (%, R.+S.*)
		Tỷ lệ tăng (%)	Tỷ số tương quan (%)				
<i>Nguyên liệu thô</i>							
GM1:SBM9	54,6	-	-	-	6,6	4,1	5,2

GM5:SBM5	55,8	-	-	-	6,2	3,5	3,9
GM9:SBM1	56,9	-	-	-	6,5	2,9	2,5
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ATCC 23843							
GM1:SBM9	60,7	6,1	93,8	$1,1 \times 10^{10}$	7,2	0,6	0,4
GM5:SBM5	61,5	5,7	87,7	$9,7 \times 10^9$	7,2	0,5	0,6
GM9:SBM1	62,3	5,4	83,1	$1,1 \times 10^{10}$	6,9	0,6	0,5
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> K2G							
GM1:SBM9	61,1	6,5	100,0	$1,4 \times 10^{10}$	7,4	0,5	0,3
GM5:SBM5	62,2	6,4	98,5	$1,2 \times 10^{10}$	7,2	0,5	0,4
GM9:SBM1	62,8	5,9	90,8	$1,1 \times 10^{10}$	7,2	0,8	0,4

***Hàm lượng Rafinoza và Stachyoza**

Kết quả là, bột Guar được lên men bằng *Bacillus amyloliquefaciens* (K2G hoặc ATCC23843) thể hiện 5,4% đến 6,5% tăng trong hàm lượng của protein thô, như được so sánh với hàm lượng của nguyên liệu thô bột guar, và các chủng *Bacillus* có thể được phát triển bằng số đếm vi khuẩn sống là 10 log. Ngoài ra, hàm lượng yếu tố kháng dinh dưỡng TI và GOS bị giảm, như được so sánh với hàm lượng của nguyên liệu thô. Toàn bộ chúng thể hiện độ pH tăng, được cho là do amoniac được sản xuất trong quá trình trao đổi chất theo hoạt tính proteaza của *Bacillus*.

Do đó, hỗn hợp bột Guar được lên men/bột đậu nành theo sáng chế có thể rất phù hợp để lên men *Bacillus*, và thông qua quá trình lên men, hàm lượng của protein thô được tăng lên và hàm lượng yếu tố kháng dinh dưỡng TI và GOS bị giảm, do đó cải thiện đáng kể khả năng tiêu hóa được.

Ví dụ 7: Đánh giá bột guar được lên men bằng thử nghiệm nuôi gà giò

Để đánh giá hiệu quả của bột Guar được lên men, thử nghiệm nuôi gà giò được thực hiện. Để thực hiện thử nghiệm nuôi, broilers được thích nghi trong 4 ngày, và cho ăn trong tổng cộng 21 ngày (3 tuần) với bột đậu nành hoặc thức ăn trong đó 3%, 5%, hoặc 7% của bột đậu nành được thay thế bằng bột Guar được lên men, và trọng lượng cơ thể của gà giò và thức ăn cho ăn được kiểm tra. Thử nghiệm được thiết kế bằng cách sử dụng tổng cộng 80 con gà giò của 4 phương pháp xử lý X 4 lần lặp lại X 5 con

chim.

Cụ thể là, 100 g bột guar được chuẩn bị, và nước được bổ sung sao cho hàm lượng nước là bột Guar nằm trong khoảng từ 40 % (khối lượng/khối lượng) đến 45 % (khối lượng/khối lượng). Rồi sau đó, bột Guar được xử lý nhiệt ở nhiệt độ 90°C trong 30 phút, và sau đó làm lạnh xuống 40°C. Môi trường nuôi cấy của *Bacillus amyloliquefaciens* K2G được cấy trong bột Guar với lượng là 10 % khối lượng dựa trên khối lượng của bột Guar. Bột Guar mà chủng được cấy được trộn đều vào, và được lên men ở nhiệt độ 37°C đến 45°C trong khoảng thời gian từ 14 giờ đến 16 giờ dưới các điều kiện nhiệt độ và độ ẩm được duy trì liên tục, sau đó làm khô. Gà giò được cho ăn bằng mỗi mẫu thử nghiệm được tạo ra bằng cách trộn bột đậu nành với bột Guar được lên men theo mức độ thay thế. Các kết quả của thử nghiệm nuôi gà giò theo việc cho ăn bột Guar được lên men được thể hiện trong bảng 8 bên dưới.

Bảng 8

Các kết quả của thử nghiệm nuôi gà giò của bột guar được lên men

Nhóm được xử lý	T1	T2	T3	T4
	Chế độ ăn Basal	Bột guar được lên men		
	(CP 22%)			
Mức độ thay thế, %	-	3%	5%	7%
BW, g/con chim				
5 ngày tuổi	71,7	72	72,1	72,1
21 ngày tuổi	458,9	486	485,9	452,7
5 đến 21 ngày tuổi				
BWG, g/con chim	387	414	414	381
FI, g/con chim	629	680	699	673
FCR	1,64	1,65	1,69	1,78

Kết quả là, khi bột Guar được lên men được tạo ra bằng cách sử dụng *Bacillus amyloliquefaciens* K2G được thay thế bằng 5%, trọng lượng cơ thể của gà giò và lượng thức ăn hấp thụ (FI) được tăng, như được so sánh với các con gà được cho ăn với chỉ bột đậu nành. Nghĩa là, các kết quả này chỉ không có vấn đề gì về khẩu vị đối

với bột Guar được lên men, và mùi cỏ mạnh là mùi riêng của bột guar thô được giảm, và tỷ số chuyển đổi thức ăn của nó (FCR) cũng tương tự như tỷ số của bột đậu nành. Do đó, bột Guar được lên men được tạo ra theo sáng chế có thể được sử dụng rộng rãi trong tương lai làm nguồn protein để thay thế bột đậu nành.

Dựa trên phần mô tả nêu trên, sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà sáng chế có thể được thực hiện ở các dạng cụ thể khác nhau mà không làm thay đổi tinh thần kỹ thuật hoặc các đặc điểm thiết yếu của nó. Do đó, nên được hiểu là phương án nêu trên không bị giới hạn, nhưng minh họa về toàn bộ các khía cạnh. Phạm vi theo sáng chế được định nghĩa bằng bộ yêu cầu bảo hộ đính kèm chứ không phải bởi phần mô tả trước đó, và do đó toàn bộ sự thay đổi và sự cải biến nằm trong phạm vi của bộ yêu cầu bảo hộ, hoặc đương lượng của phạm vi bảo hộ này do đó được dự định được chấp nhận bởi bộ yêu cầu bảo hộ.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp sản xuất bột Guar được lên men, phương pháp bao gồm các bước sau:
 - (1) xử lý trước bột guar;
 - (2) cấy chủng *Bacillus* trong bột Guar được xử lý trước; và
 - (3) lên men ở trạng thái rắn chủng được cấy trong bột Guar để thu được bột Guar được lên men, trong đó chủng *Bacillus* là *Bacillus amyloliquefaciens*.
2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bước xử lý trước của bước (1) bao gồm các bước (1-1) bổ sung nước vào bột Guar để kiểm soát hàm lượng nước của nó; (1-2) xử lý nhiệt bột guar được kiểm soát bởi hàm lượng nước; và (1-3) làm lạnh bột guar được xử lý nhiệt.
3. Phương pháp theo điểm 2, trong đó hàm lượng nước là bột Guar sau bước (1-1) nằm trong khoảng từ 40% đến 45%.
4. Phương pháp theo điểm 2, trong đó bước xử lý nhiệt của bước (1-2) được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 90°C đến 95°C.
5. Phương pháp theo điểm 2, trong đó việc làm lạnh của bước (1-3) là để thực hiện làm lạnh đến nhiệt độ mà tại đó có thể lên men trạng thái rắn.
6. Phương pháp theo điểm 1, trong đó lên men trạng thái rắn của bước (3) được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30°C đến 50°C trong khoảng thời gian từ 15 giờ đến 25 giờ.
7. Phương pháp theo điểm 1, ngoài ra bao gồm bước (4) làm khô và tán thành bột bột Guar được lên men sau bước (3).
8. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bột Guar được lên men bao gồm chất ức chế trypsin (TI) nằm trong khoảng từ 30% đến 50%, dựa trên hàm lượng chất ức chế trypsin trong bột guar không trải qua bước (1) đến (3), hoặc bột Guar được lên men bao gồm oligosacarit khó tiêu nằm trong khoảng từ 10% đến 40%, dựa trên hàm lượng oligosacarit khó tiêu trong bột Guar không trải qua bước (1) đến (3).
9. Bột Guar được lên men được tạo ra bằng phương pháp theo điểm bất kỳ trong số

các điểm từ 1 đến 8.

10. Bột Guar được lên men theo điểm 9, bao gồm chủng *Bacillus*, trong đó chủng *Bacillus* là *Bacillus amyloliquefaciens*.

11. Bột Guar được lên men theo điểm 9, trong đó bột Guar được lên men bao gồm chất ức chế trypsin (TI) nằm trong khoảng từ 30% đến 50%, dựa trên hàm lượng chất ức chế trypsin trong bột guar không trải qua bước (1) đến (3) theo điểm 1, hoặc bột Guar được lên men bao gồm oligosacarit khó tiêu nằm trong khoảng từ 10% đến 40%, dựa trên hàm lượng oligosacarit khó tiêu trong bột Guar không trải qua bước (1) đến (3) theo điểm 1.

12. Thức ăn chăn nuôi bao gồm bột Guar được lên men được tạo ra bằng phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8.

13. Thức ăn chăn nuôi theo điểm 12, ngoài ra bao gồm một enzym bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm galactomananaza, cellulclast, và viscozym.

14. Thức ăn chăn nuôi theo điểm 12, trong đó enzym là được bao gồm với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 % (khối lượng/khối lượng) đến 1,0 % (khối lượng/khối lượng), dựa trên khối lượng của bột Guar được lên men.

Fig. 1

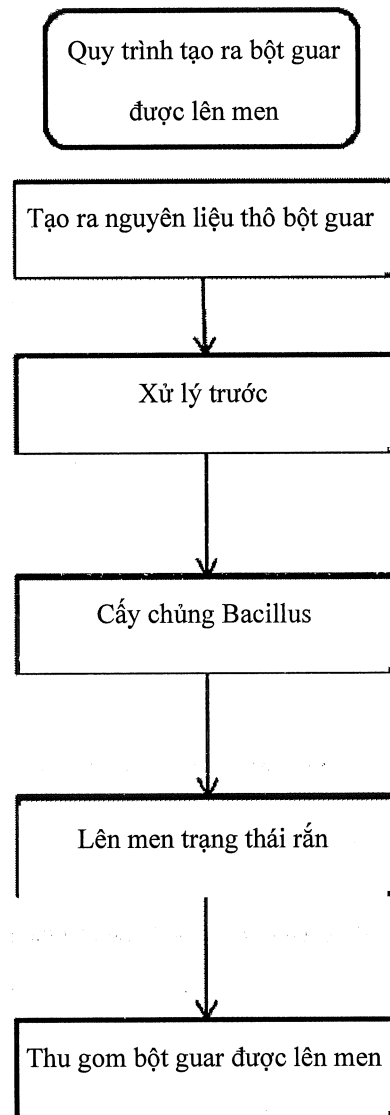


Fig. 2

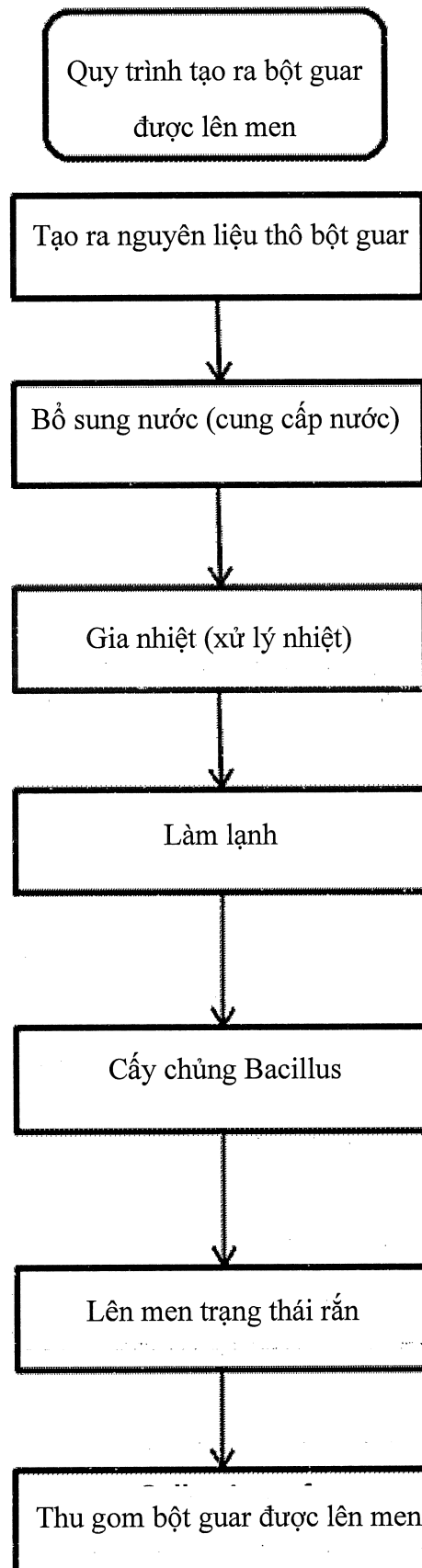


Fig. 3

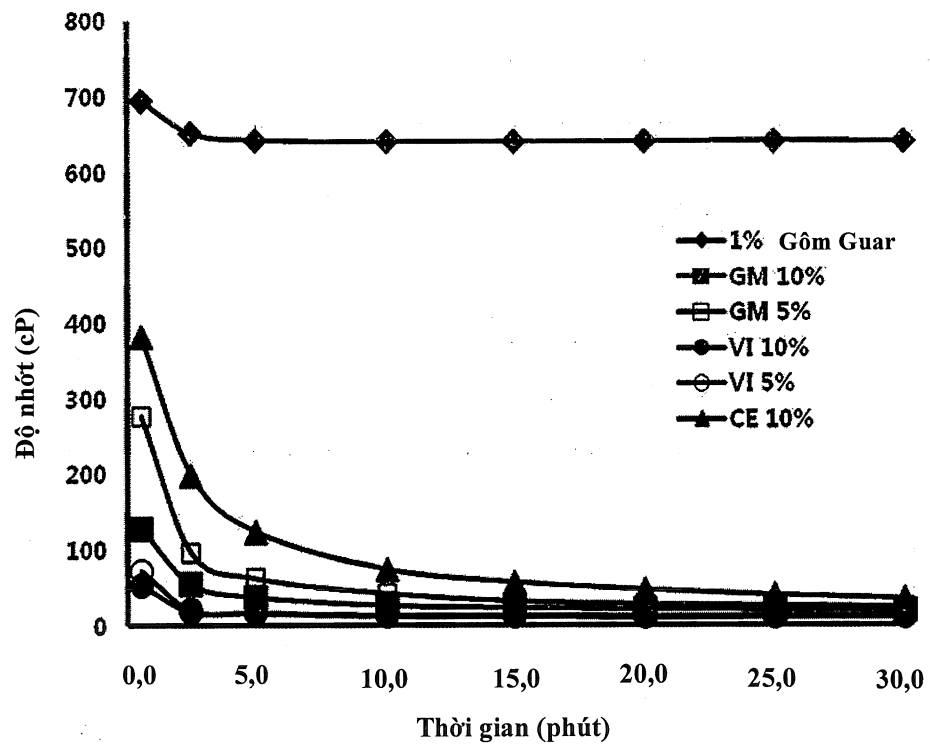


Fig. 4

