



- (12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) 
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
1-0045912
(51)^{2020.01} A23K 10/12; A23L 33/135; A23K 10/14; A23J 1/14 (13) B

-
- (21) 1-2020-03474 (22) 20/12/2018
(86) PCT/EP2018/086282 20/12/2018 (87) WO2019/122181 27/06/2019
(30) 17210105.7 22/12/2017 EP
(45) 26/05/2025 446 (43) 25/12/2020 393A
(73) HAMLET PROTEIN A/S (DK)
Saturnvej 51, 8700 Horsens (DK)
(72) THIRUP, Laila (DK); DICKOW, Jonatan Ahrens (DK); ELLEGÅRD, Katrine Hvid (DK); PETERSEN, Stig Victor (DK); GELEFF, Svend Andreas (DK).
(74) Công ty Cổ phần Sở hữu công nghiệp INVESTIP (INVESTIP)
-

- (54) PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT SẢN PHẨM BIẾN ĐỔI DẠNG RẮN CỦA CƠ CHẤT SINH KHỐI

(21) 1-2020-03474

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất sản phẩm biến đổi dạng rắn của cơ chất bao gồm các bước sau đây: chuẩn bị cơ chất của sinh khối bao gồm hydrat cacbon và chất có protein có nguồn gốc từ đậu nành, hạt cải dầu, hoặc các hỗn hợp của chúng, tùy ý ở dạng hỗn hợp thêm với hydrat cacbon và chất có protein có nguồn gốc từ các loại đậu tằm, các loại đậu Hà Lan, các loại hạt hướng dương, đậu lupin, ngũ cốc, và/hoặc các loại cỏ; trộn cơ chất nêu trên với vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống, mà vi sinh vật sống hoặc hỗn hợp của các vi sinh vật sống không phải là nấm men sống, và bổ sung nước với lượng đề xuất hỗn hợp ủ ban đầu có hàm lượng nước từ 30 đến 70% theo trọng lượng, và tỷ lệ của mật độ khối ướt so với mật độ khối khô từ 0,60 đến 1,45 trong hỗn hợp thu được; ủ hỗn hợp ủ ban đầu trên khoảng 1-240 giờ ở nhiệt độ 15-70 °C; và sau đó thu hồi sản phẩm biến đổi dạng rắn ướt từ quy trình hỗn hợp ủ; còn bao gồm bước ủ được thực hiện dưới dạng quy trình dòng chảy cả khối liên tục theo chiều dọc, bể ủ không khuấy với lõi vào các phương tiện đầu vào cho hỗn hợp trên và các phụ gia và các phương tiện đầu ra cho sản phẩm biến đổi dạng rắn trên.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến cơ chất rắn, phương pháp chuyển hóa sinh học dùng để sản xuất sản phẩm biến đổi dạng rắn có giá trị của cơ chất trong đó chuyển hóa sinh học được thực hiện bằng cách sử dụng một hoặc nhiều vi sinh vật phù hợp bởi quy trình dòng chảy cả khối liên tục trong bể không khuấy theo chiều dọc, trong đó sự vận chuyển được trung gian bằng lực hấp dẫn.

Tình trạng kỹ thuật theo sáng chế

Có nhu cầu cho các sản phẩm sinh học mà chủ yếu có thể được dùng làm thực phẩm hoặc thức ăn hoặc như các nguyên liệu trong thực phẩm hoặc thức ăn. Các thành phần cơ bản trong các sản phẩm này là các protein, các chất béo, và các hydrat cacbon. Các sinh khối phù hợp cho các sản phẩm này là các cây trồng chứa dầu như các hạt chứa dầu, ngũ cốc, và các cây họ đậu. Ngũ cốc có hàm lượng protein lên đến 15% ví dụ trong lúa mì, và các cây họ đậu có hàm lượng protein lên đến 40% ví dụ trong đậu nành, dựa trên chất khô.

Có nhu cầu tương tự cho sự phát triển của các sản phẩm sinh học bao gồm các hợp chất hữu cơ, như các axit hữu cơ, ví dụ axit formic, axit axetic, axit propionic, axit butyric, axit lactic, và axit succinic, hoặc các rượu, như etanol, trong đó các sản phẩm sinh học và các hợp chất hữu cơ có thể được sản xuất theo cách hiệu quả về chi phí với các quy trình đã biết sử dụng các giống vi sinh vật mà sản xuất một hoặc nhiều hợp chất hữu cơ làm sản phẩm trao đổi chất của chuyển hóa sinh học hydrat cacbon.

Các giống vi khuẩn axit lactic sản xuất axit hữu cơ, cụ thể là axit lactic và axit axetic, làm sản phẩm cuối trao đổi chất chính của chuyển hóa sinh học hydrat cacbon. Các giống vi khuẩn axit lactic cụ thể nhưng không bị giới hạn ở *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, và *Weissella*.

Các giống vi sinh vật khác cũng sản xuất các axit như các sản phẩm cuối trao đổi chất chính của chuyển hóa sinh học hydrat cacbon. Các giống này sản xuất axit hữu cơ cụ thể, nhưng không bị giới hạn ở *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Brevibacillus*, *Propionibacterium*, *Candida*, *Clostridium*, và *Geobacillus* sản xuất axit.

Vấn đề chung đặc biệt liên quan đến các cây họ đậu và các loại quả và các hạt từ cây họ đậu như các nguồn của sản phẩm sinh học và các axit hữu cơ là hàm lượng của các oligosaccarit khó tiêu như stachyosa và raffinosa, gây đầy hơi và tiêu chảy khi đã lên men trong ruột kết.

Các phương pháp ủ chi phí thấp đã được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật này là các quy trình lên men ở trạng thái rắn hoặc cơ chất rắn (solid substrate or solid-state fermentation - SSF) được thực hiện với hàm lượng nước thấp. Quy trình bao gồm cơ chất ẩm, rắn được ủ với các vi sinh vật phù hợp và quy trình chuyển hóa sinh học được thực hiện dưới các điều kiện được kiểm soát về nhiệt độ trong một khoảng thời gian.

Thông thường, cơ chất được ủ theo mẻ trên các nền phẳng mà không cần khuấy; một ví dụ của quy trình này đã được biết đến là quy trình Koji. Các quy trình ủ theo mẻ cũng được thực hiện bằng cách sử dụng phương tiện khuấy.

Các quy trình SSF liên tục cũng được mô tả trong tài liệu mà sử dụng các lò phản ứng sinh học như sau: Bể khuấy, trống quay và các lò phản ứng dòng chảy hình ống. Một ví dụ của lò phản ứng dòng chảy hình ống là loại băng tải trực vít.

US 4 735 724 bộc lộ bể tiêu hủy kỵ khí dạng tháp theo chiều dọc không trộn và quy trình tiêu hủy phân phân hủy sinh học của nguyên liệu tạo ra cho nhà máy bằng các vi sinh vật sản xuất metan. Phương pháp này khác biệt ở chỗ có sự rút chất lỏng từ vùng giữa hoặc vùng thấp đến vùng đỉnh của tháp.

EP 2 453 004 B1 bộc lộ phương pháp lên men kỵ khí của nguyên liệu hữu cơ trong bể kín và thức ăn được đưa từ trên xuống dưới trong bể dưới tác dụng của trọng lực. Phương pháp này khác biệt ở chỗ khối lên men được khuấy bằng cách tăng áp suất luân phiên của khí sản phẩm và giảm áp suất đột ngột của khí sản phẩm.

Mục đích theo sáng chế là đề xuất phương pháp cải thiện sản xuất sản phẩm biến đổi dạng rắn của cơ chất sinh khối theo chiều dọc, quy trình dòng chảy cả khối chuyển đổi sinh học được thực hiện bằng cách sử dụng một hoặc nhiều vi sinh vật phù hợp.

Mục đích khác là đề xuất phương pháp, mà có thể được thực hiện trong thiết kế lò phản ứng đơn giản hơn nhưng lớn hơn thiết kế lò phản ứng đã được biết đến trước.

Mục đích nữa là đề xuất phương pháp nhanh và hiệu quả dùng cho chuyển hóa sinh học của các sinh khối, cụ thể là đậu nành hoặc hạt cải dầu hoặc hỗn hợp của chúng, để sản xuất các sản phẩm sinh học bao gồm các hợp chất hữu cơ, như các axit hữu cơ,

ví dụ axit formic, axit axetic, axit propionic, axit butyric, axit lactic, và axit succinic, và các rượu, từ các nguồn hydrat cacbon rẻ.

Các mục đích này được thực hiện bằng phương pháp theo sáng chế.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo đó, trong một khía cạnh theo sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất sản phẩm biến đổi dạng rắn của cơ chất bao gồm các bước sau:

- chuẩn bị cơ chất của sinh khối bao gồm các hydrat cacbon và chất có protein có nguồn gốc từ đậu nành, hạt cải dầu, hoặc các hỗn hợp của chúng, trộn một cách tùy ý các hydrat cacbon và chất có protein có nguồn gốc từ đậu tằm, đậu Hà Lan, hạt hướng dương, đậu lupin, ngũ cốc, và/hoặc cỏ,
- trộn cơ chất nêu trên với vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống, trong đó vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống không phải là nấm men sống, và bổ sung nước với lượng mà tạo ra cho hỗn hợp ủ ban đầu có hàm lượng nước từ 30% đến 70%, và tỷ lệ của mật độ khối ướt so với mật độ khối khô từ 0,60 đến 1,45 trong hỗn hợp thu được;
- ủ hỗn hợp ủ ban đầu trong khoảng 1-240 giờ ở nhiệt độ 15-70 °C; và thu hồi sản phẩm biến đổi dạng rắn ướt từ hỗn hợp đã được ủ;

phương pháp này còn bao gồm bước ủ được thực hiện dưới dạng quy trình dòng chảy cả khối liên tục theo chiều dọc, bể ủ không khuấy với các phương tiện đầu vào cho hỗn hợp và các phụ gia và các phương tiện đầu ra cho sản phẩm biến đổi rắn.

Phương pháp xử lý sinh khối sử dụng lực hấp dẫn để vận chuyển/di chuyển sinh khối trong suốt quy trình ủ/chuyển hóa sinh học. Mặc dù việc sử dụng trọng lực để vận chuyển nói chung là đơn giản, nó yêu cầu chọn một cách cẩn thận các điều kiện phản ứng cho mục đích cụ thể, như trong trường hợp của quy trình dòng chảy cả khối.

Thông thường, khi hàm lượng nước được tăng lên, hỗn hợp ủ có xu hướng đặc, bằng việc giảm thể tích rỗng, sao cho sự vận chuyển bị ảnh hưởng tiêu cực. Khi hàm lượng nước nhất định được thu hỗn hợp được nén đến mức độ nào đó sao cho sự vận chuyển bằng lực hấp dẫn bị ngừng lại. Nguyên liệu có thể gắn trên các thành của lò phản ứng, hoặc nó có thể tạo ra sự lắng đọng, và dòng chảy cả khối đồng nhất bị phá vỡ mà kết quả là thời gian duy trì của sinh khối không đồng nhất.

Hơn nữa, nếu chuyển hóa sinh học được thực hiện ở áp suất cao, mà có thể là trường hợp dưới tác động của trọng lực, phản ứng ủ có xu hướng bị chậm lại.

Dung dịch theo sáng chế đối với vấn đề liên quan đến vận chuyển bằng lực hấp dẫn của hỗn hợp ủ là để sử dụng bể như được xác định trong các điểm yêu cầu bảo hộ để ủ trong đó dòng chảy của nguyên liệu có thể được giữ ở mức cao và đồng nhất mà các điều kiện dòng chảy cả khối đạt được và duy trì. Tốc độ dòng chảy được điều chỉnh bởi các phương tiện đầu vào và đầu ra và bởi các kích thước (tỷ lệ chiều rộng so với chiều cao) của bể.

Hơn nữa, dung dịch theo sáng chế phải đảm bảo cân bằng hàm lượng nước trong hỗn hợp ủ sao cho hoạt tính của nước trên bề mặt hạt là đủ cho quy trình phản ứng. Điều này đạt được bằng cách giữ tỷ lệ mật độ khối ướt so với mật độ khối khô của cơ chất thấp và nằm trong các giới hạn nhất định như được xác định ở điểm 1 yêu cầu bảo hộ.

Cụ thể hơn, các tác giả sáng chế phát hiện ra rằng quy trình đồng nhất cần thiết có thể đạt được bằng cách sử dụng hỗn hợp ủ ban đầu có hàm lượng nước từ 30% đến 70% theo trọng lượng, và tỷ lệ của mật độ khối ướt so với mật độ khối khô từ 0,60 đến 1,45. Tổ hợp theo sáng chế, thiết kế theo chiều dọc đối với quy trình dòng chảy cả khối có thể chắc chắn dòng chảy cả khối đồng nhất và bảo đảm thời gian xử lý tương tự cho hỗn hợp ủ. Hơn nữa, phương pháp theo sáng chế được tiến hành mà không cần khuấy. Nếu hàm lượng nước vượt quá xấp xỉ 70% theo trọng lượng, sinh khối không thể giữ nước, và hỗn hợp ủ trở thành bùn lầy có pha nước và pha rắn. Hai pha này sẽ không chảy với các tốc độ chảy giống nhau, dòng chảy cả khối đồng nhất sẽ không thu được, và hỗn hợp ủ có thể gắn với các thành của máy ủ. Hàm lượng nước lớn hơn xấp xỉ 70% sẽ dẫn đến tỷ lệ của mật độ khối ướt so với mật độ khối khô, vượt quá 1,45 mà là giới hạn trên theo sáng chế.

Thiết kế theo chiều dọc là ít tốn chi phí hơn trong việc đầu tư so với thiết kế theo chiều ngang do sức chứa lớn hơn của chúng trong dây chuyền sản xuất riêng lẻ. Thiết kế này cũng ít tốn chi phí hơn để duy trì do ít các chuyển động cơ học hơn. Việc sử dụng bể không khuấy còn đóng góp để giảm chi phí vận hành.

Do đó, phương pháp theo sáng chế cho phép quy trình thiết lập nhanh và hiệu quả do đó vi sinh vật có thể tăng sinh trong pha lỏng và thực hiện chuyển hóa sinh học với các nguồn hydrat cacbon rẻ.

Phương pháp theo sáng chế, cụ thể là, sẽ hiệu quả nếu cơ chất của sinh khối được tiền xử lý trước khi nó được trộn với vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống, bởi vì tiền xử lý cải thiện sự thâm nhập của các vi sinh vật đến các thành phần

trong sinh khối mà sẽ được biến đổi. Tiền xử lý thường được thực hiện là tiền xử lý hóa học hoặc vật lý, ví dụ bằng các phương tiện phân rã, nghiền, đóng băng, xử lý nhiệt, xử lý áp suất, xử lý siêu âm, xử lý thủy nhiệt, hoặc xử lý axit hoặc kiềm.

Phương pháp theo sáng chế có thể được sử dụng để tạo ra sản phẩm biến đổi dạng rắn của cơ chất mà là sản phẩm của sự biến đổi các hydrat cacbon và/hoặc các protein có nguồn gốc từ sinh khối nêu trên. Các sản phẩm biến đổi dạng rắn này có thể được sử dụng, ví dụ trong sản phẩm thức ăn được xử lý hoặc như thành phần trong sản phẩm thực phẩm hoặc thức ăn hoặc như thành phần của sản phẩm mỹ phẩm hoặc dược phẩm, hoặc chất bổ sung dinh dưỡng.

Định nghĩa

Trong ngữ cảnh theo sáng chế, các thuật ngữ sau có nghĩa bao gồm dưới đây, trừ khi được định nghĩa khác đi trong bản mô tả.

Các thuật ngữ “khoảng”, “khoảng chừng”, “xấp xỉ”, hoặc “~” có nghĩa chỉ ra ví dụ độ không đảm bảo đo lường thường trong lĩnh vực kỹ thuật này, mà có thể là thứ tự trong độ lớn ví dụ +/- 1, 2, 5, 10, 20, hoặc thậm chí 50%.

Thuật ngữ "bao gồm" được giải thích dưới dạng sự có mặt của (các) phần đã nêu, (các) bước, (các) tính năng, (các) thành phần, (các) hóa chất, hoặc (các) thành phần, nhưng không loại trừ sự có mặt của một hoặc nhiều phần, các bước, các tính năng, các thành phần, các hóa chất hoặc các thành phần bổ sung. Ví dụ, chế phẩm mà bao gồm hợp chất hóa học, do đó, có thể bao gồm các hợp chất hóa học bổ sung, v.v...

Quy trình dòng chảy cả khối:

Trong loại quy trình liên tục này, hỗn hợp phản ứng chảy qua, ví dụ, lò phản ứng hình ống hoặc hình đa diện với việc trộn lại hạn chế. Dòng chảy là dòng chảy tầng trong đó hợp phần của hỗn hợp phản ứng thay đổi dọc theo hướng trục của lò phản ứng, hoặc dòng chảy khối đồng nhất.

Sinh khối:

Bao gồm nguyên liệu sinh học, mà được sản xuất bằng cách quang hợp và có thể được dùng như nguyên liệu thô trong sản xuất công nghiệp. Trong ngữ cảnh này, sinh khối đề cập đến nguyên liệu thực vật ở dạng của các hạt, các loại ngũ cốc, các cây họ đậu, các loại cỏ, ví dụ các loại đậu và các loại đậu Hà Lan, v.v..., và các hỗn hợp của chúng, và đặc biệt là các loại quả và các hạt của cây họ đậu. Hơn nữa, sinh khối bao

gồm các cây họ đậu được ứng dụng một cách đặc biệt do hàm lượng protein và chế phẩm.

Cơ chất của sinh khối có thể bị phân rã bằng tiền xử lý, như tiền xử lý hóa học hoặc vật lý, ví dụ bằng các phương tiện phân rã, nghiền, đóng băng, xử lý nhiệt, xử lý áp suất, xử lý siêu âm, xử lý thủy nhiệt, hoặc xử lý axit hoặc kiềm.

Chuyển hóa sinh học/quy trình ủ:

Là quy trình để ủ các mẫu vi sinh vật trên cơ chất cho mục đích cụ thể, ví dụ ủ vi sinh vật trên hydrat cacbon để sản xuất các axit hữu cơ hoặc các rượu.

Sản phẩm biến đổi dạng rắn của cơ chất:

Trong sự xử lý chung của sinh khối bằng cách ủ với các vi sinh vật có thể được phân chia thành bốn dạng:

- Sản xuất của sinh khối – nguyên liệu tế bào
- Sản xuất của các thành phần ngoại bào – các hợp chất hóa học, các chất chuyển hóa, như các axit, các enzym
- Sản xuất của các thành phần nội bào – các enzym, v.v..
- Sự biến đổi sản phẩm của cơ chất – cơ chất đã được biến đổi là sản phẩm

Trong ngữ cảnh theo sáng chế, sản phẩm biến đổi dạng rắn của cơ chất dùng để chỉ sản phẩm thu được từ quy trình ủ của sinh khối được chọn với vi sinh vật sống và các chất hỗ trợ sản xuất tùy ý.

Mật độ khối:

Mật độ khối là chỉ số quan trọng đối với tính chất vật lý của sinh khối mà có dạng bột, các hạt, và tương tự. Chỉ số được xác định dưới dạng trọng lượng trên thể tích, và có thể được đo lường, ví dụ, g/ml. Nó không phải là tính chất nội tại, nhưng có thể thay đổi phụ thuộc vào cách xử lý, và có thể được dùng làm chỉ số của các thay đổi cấu trúc. Mật độ của nguyên liệu được xác định bằng đặt thể tích cố định của nguyên liệu trong cốc chia độ và xác định trọng lượng hoặc bằng xác định trọng lượng của thể tích đo của bột. Bằng thử nghiệm này các tính năng sau đây có thể được xác định:

Mật độ khối (cũng được biết như mật độ đồ) = khối lượng/thể tích khô chưa khai thác theo g/mL hoặc kg/m³;

Mật độ khối ướt (cũng được biết như tổng mật độ) = tỷ lệ của tổng khối lượng ($M_s + M_l$) so với tổng thể tích của chúng;

M_s = khối lượng của các chất rắn và M_l = khối lượng của các chất lỏng.

Do đó, trong ngữ cảnh theo sáng chế, “mật độ khối khô” là mật độ khối được đo lường của sinh khối mà không cần bổ sung nước, nghĩa là. mật độ khối/mật độ đồ. “Mật độ khối ướt” là mật độ khối được đo lường sau khi bổ sung lượng nước nhất định.

Thông thường, mật độ khối được xác định phù hợp với các tiêu chuẩn quốc tế ISO 697 và ISO 60, nhưng do bản chất của các cơ chất nó không được ứng dụng trong ngữ cảnh theo sáng chế. Phương pháp riêng biệt mà sử dụng được mô tả trong các ví dụ.

Các oligosaccarit và các polysaccarit:

Oligosaccarit là polyme saccarit chứa ít nhất hai thành phần đường đơn. Các polysaccarit là các polyme saccarit chứa nhiều thành phần đường đơn, cũng được biết như hỗn hợp các hydrat cacbon. Các ví dụ bao gồm các polysaccarit lưu trữ như tinh bột và các polysaccarit cấu trúc như xenluloza.

Hydrat cacbon:

Bao gồm mono-, di-, oligo- và các polysaccarit.

Các nguyên liệu có protein:

Bao gồm các hợp chất hữu cơ với hàm lượng đáng kể của các protein được tạo thành từ các amino axit được sắp xếp trong một hoặc nhiều chuỗi. Ở độ dài chuỗi lên đến xấp xỉ 50 amino axit, hợp chất được gọi là peptit; ở trọng lượng phân tử cao hơn hợp chất hữu cơ được gọi là polypeptit hoặc protein.

Các chất béo:

Bao gồm các este giữa các axit béo và glycerol. Một phân tử của glycerol có thể bị este hóa thành một, hai và ba các phân tử axit béo tạo thành monoGlyxerit, a diGlyxerit hoặc triglyxerit tương ứng. Thông thường các chất béo chứa các triglyxerit là chính và các lượng nhỏ của các lexithin, các sterol, v.v... Nếu chất béo là chất lỏng ở nhiệt độ phòng thì thường được gọi là dầu. Đối với các loại dầu, các chất béo, và các sản phẩm liên quan trong ngữ cảnh này, tài liệu tham khảo được đề cập đến “Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats and Waxes”, AOCS, 1996, cũng như “Lipit Glossary 2”, F.D. Gunstone, The Oily Press, 2004.

Glyxerit:

Bao gồm mono-, di-, và các triglyxerit.

Các vi sinh vật

Các vi sinh vật là các sinh vật cực nhỏ, quá nhỏ để có thể nhìn thấy bằng mắt thường. Các vi sinh vật bao gồm vi khuẩn, nấm, vi khuẩn cổ, các sinh vật nguyên bào

và các vi rút. Phần lớn các vi sinh vật là các sinh vật một tế bào hoặc đơn bào nhưng các sinh vật nguyên bào đơn bào có thể nhìn bằng mắt thường, và một số loài sinh vật đa bào là cực nhỏ. Phần lớn các vi sinh vật sống ở mọi nơi trên trái đất tại nơi mà có nước lỏng bao gồm suối nước nóng dưới đáy đại dương và sâu bên trong các tầng đá bên trong lớp vỏ trái đất. Vi sinh vật sống trong các môi trường sống này một cách cực đoan.

Trong ngữ cảnh theo sáng chế các vi sinh vật không bao gồm nấm men sống.

Vi khuẩn axit lactic

(Hoặc Lactobacillales) là vi khuẩn Gram dương, GC thấp (hàm lượng guanin-xytosin thấp), dung nạp axit, nói chung không độc hại, không hô hấp, vi khuẩn hình que hoặc hình cầu mà có chung các đặc trưng sinh lý và chuyển hóa. Các vi khuẩn này, thường được tìm thấy trong các sản phẩm thực vật và sữa phân bị phân hủy, sản xuất axit lactic dưới dạng sản phẩm cuối trao đổi chất chính của chuyển hóa sinh học hydrat cacbon. Vi khuẩn axit lactic là các giống vi sinh vật mà sản xuất các axit hữu cơ, như axit lactic và axit axetic, làm các sản phẩm trao đổi chất của chuyển hóa sinh học hydrat cacbon. Các giống cụ thể là, nhưng không bị giới hạn ở, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Weisella*, *Streptococcus*, và *Leuconostoc*.

Các giống khác

Trong ngữ cảnh theo sáng chế, các giống khác dùng để chỉ phần lớn các giống vi khuẩn khác liên quan đến sáng chế. Chúng bao gồm một số giống mà cũng sản xuất các axit hữu cơ, như axit lactic và axit axetic, dưới dạng các sản phẩm trao đổi chất của chuyển hóa sinh học hydrat cacbon, nhưng thường ở mức độ thấp hơn vi khuẩn axit lactic.

Trong ngữ cảnh theo sáng chế, các giống khác ngoài các vi khuẩn axit lactic bao gồm, nhưng không bị giới hạn, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Brevibacillus*, *Propionibacterium*, *Clostridium*, và *Geobacillus*.

Bacillus là các giống trong các họ Bacillales. Vi khuẩn là gram dương, hình que, và dạng các nội bào tử dưới các điều kiện căng thẳng. Các chủng nhất định được sử dụng dưới dạng các men vi sinh.

Các chất hỗ trợ sản xuất:

1. Các enzym

(Các) enzym là lớp rất lớn của các cơ chất protein với khả năng hoạt động như các chất xúc tác. Thông thường, chúng được chia thành sáu lớp, và các lớp chính nằm

trong phạm vi theo sáng chế này có thể là các transferaza mà chuyển các nhóm chức hoặc các hydrolaza mà thủy phân nhiều liên kết. Các ví dụ cụ thể có thể bao gồm: (các) proteaza, (các) peptidaza, (các) (α -)galactosidaza, (các) amylaza, (các) glucanaza, (các) pectinaza, (các) hemixenlulaza, (các) phytaza, (các) lipaza, (các) phospholipaza, (các) transferaza, (các) xenlulaza, và (các) oxido-reductaza.

2. Các thành phần thực vật và các tác nhân sản xuất

Một số đặc tính chức năng mà quan trọng trong ngữ cảnh này là: hoạt tính chống oxy hóa, chống vi khuẩn, các đặc tính làm ướt và kích thích của hoạt động của enzym.

Danh sách của các thành phần thực vật là lớn, nhưng quan trọng nhất là các loài thực vật dưới đây: Cây hương thảo, húng tây, cây kinh giới cay, các flavonoid, các axit phenolic, các saponin, và các axit α – và β từ các hoa bia, ví dụ axit α -lupulic để điều chế các hydrat cacbon hòa tan.

Hơn nữa, các axit hữu cơ, ví dụ axit sorbic-, propionic-, lactic-, citric-, và ascorbic, và các muối của chúng để điều chỉnh giá trị pH, các đặc tính bảo tồn và chelating hóa là một phần của nhóm hỗ trợ chế biến.

3. Các tác nhân sản xuất vô cơ

Bao gồm các hợp phần vô cơ, ví dụ các tác nhân cải thiện dòng chảy và tác nhân chống đông bánh trong sản phẩm cuối cùng, ví dụ kali nhôm silicat, v.v...

Bao gồm axit vô cơ ví dụ axit hydrochloric.

Các sản phẩm thực phẩm được chế biến:

Bao gồm các sản phẩm hàng ngày, các sản phẩm thịt được chế biến, các đồ ngọt, các món tráng miệng, các món tráng miệng kem, các sản phẩm đóng hộp, các bữa ăn khô đông lạnh, các nước sốt, các súp, thực phẩm tiện lợi, các loại bánh mì, các loại bánh ngọt, v.v...

Các sản phẩm thức ăn được chế biến:

Bao gồm thức ăn sẵn sàng được sử dụng cho các loại động vật như các con heo con, các con bê, gia cầm, các động vật có lông, cừu, các con mèo, các con chó, cá và các động vật giáp xác, v.v...

Các sản phẩm dược phẩm:

Bao gồm các sản phẩm, thông thường ở dạng viên nén hoặc dạng kết hạt, chứa một hoặc nhiều thành phần hoạt tính sinh học có xu hướng chữa trị và/hoặc giảm bớt các triệu chứng của bệnh hoặc tình trạng bệnh. Các sản phẩm dược phẩm còn bao gồm

các tá được và/hoặc chất mang được dụng. Các sản phẩm sinh học dạng rắn ở đây được bọc lộ rất phù hợp để sử dụng thành phần được dụng ở dạng viên nén hoặc hạt.

Các sản phẩm mỹ phẩm:

Bao gồm các sản phẩm mà có xu hướng cho vệ sinh cá nhân cũng như cải thiện ngoại hình như các loại dầu xả và các chế phẩm tắm.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo phương án thứ nhất của phương pháp theo sáng chế ít nhất 20% theo trọng lượng của sinh khối, như ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 80%, hoặc ít nhất 90% theo trọng lượng, bao gồm chất có protein có nguồn gốc từ đậu nành được tách béo tùy ý. Đậu nành cũng đã được bóc vỏ.

Theo phương án thứ hai của phương pháp theo sáng chế ít nhất 20% theo trọng lượng của sinh khối, như ít nhất 30%, ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 80%, hoặc ít nhất 90% theo trọng lượng, bao gồm chất có protein có nguồn gốc từ các hạt cải dầu được tách béo tùy ý.

Theo phương án thứ ba của phương pháp theo sáng chế sinh khối bao gồm chất có protein có nguồn gốc từ đậu nành được tách béo tùy ý với lượng từ 5% đến 95% theo trọng lượng trong hỗn hợp với chất có protein có nguồn gốc từ hạt cải dầu được tách béo tùy ý với lượng từ 95% đến 5% theo trọng lượng tùy ý ở dạng hỗn hợp thêm với chất có protein có nguồn gốc từ các loại đậu tằm, các loại đậu Hà Lan, các loại hạt hướng dương và/hoặc ngũ cốc với lượng để tạo tổng lượng chất có protein 100% theo trọng lượng.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sinh khối bao gồm chất có protein có thể còn bao gồm các oligosaccarit, và/hoặc các polysaccarit, và/hoặc còn bao gồm các dầu và các chất béo, ví dụ từ các hạt của các cây chứa dầu.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, sản phẩm biến đổi dạng rắn của cơ chất có thể là sản phẩm của sự biến đổi hydrat cacbon, đặc biệt là các oligosaccarit và các polysaccarit, và/hoặc chất có protein có nguồn gốc từ sinh khối nêu trên, như sản phẩm biến đổi của các cây họ đậu, như đậu nành, đậu Hà Lan, đậu lupin, hạt hướng dương và/hoặc ngũ cốc, như lúa mì, hoặc ngô hoặc hạt của các cây chứa dầu, ví dụ: hạt cải dầu.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, vi sinh vật sống hoặc hỗn hợp của các vi sinh vật sống có thể là một hoặc nhiều vi sinh vật mà có thể tạo ra

một hoặc nhiều hợp chất hữu cơ, như các axit hữu cơ, ví dụ axit formic, axit axetic, axit propionic, axit butyric, axit lactic, và axit succinic, hoặc các rượu, ví dụ etanol, từ các hydrat cacbon.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống có thể là một hoặc nhiều (các) vi sinh vật axit hữu cơ sản xuất.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống có thể được chọn từ danh sách của các giống sau:

- *Lactobacillus*
- *Lactococcus*
- *Streptococcus*
- *Pediococcus*
- *Enterococcus*
- *Leuconostoc*
- *Weissella*
- *Bifidobacterium*
- *Bacillus*
- *Brevibacillus*
- *Propionibacterium*
- *Clostridium*
- *Trichoderma*
- *Candida*
- *Aspergillus*.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống có thể được chọn từ các chủng *Lactobacillus*, và hỗn hợp có thể được ủ ở nhiệt độ 15-50 °C.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống có thể được chọn từ các chủng *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, và *Weissella*, và hỗn hợp có thể được ủ ở nhiệt độ 15-50 °C.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống có thể được chọn từ các chủng *Bacillus*, và hỗn hợp có thể được ủ ở nhiệt độ 20-60 °C.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống có thể được chọn từ các chủng *Bifidobacterium*, và hỗn hợp có thể được ủ ở nhiệt độ 20-45 °C.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, nước được bổ sung vào cơ chất nêu trên của sinh khối với lượng mà tạo ra hỗn hợp ủ ban đầu có tỷ lệ của mật độ khối ướt so với mật độ khối khô từ 0,65 đến 1,40, là 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 1,00, 1,10, 1,15, 1,20, 1,25, 1,30, hoặc 1,35.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống được sử dụng với lượng từ 10^3 đến 10^{11} CFU (các đơn vị hình thành khuẩn lạc) mỗi g của cơ chất nêu trên của sinh khối, như 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , hoặc 10^{10} CFU/g cơ chất của sinh khối. Người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này biết làm thế nào để chọn lượng phù hợp, phụ thuộc vào các điều kiện xử lý được chọn, như kích thước lò phản ứng, thời gian xử lý và nhiệt độ, vi sinh vật ứng dụng và sản phẩm biến đổi được sản xuất.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, nước được bổ sung vào cơ chất với lượng để tạo ra tỷ lệ của mật độ khối ướt so với mật độ khối khô từ khoảng 0,60 đến khoảng 1,45 trong cơ chất, như từ khoảng 0,65 đến khoảng 1,40, ví dụ 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 1,00, 1,10, 1,15, 1,20, 1,25, 1,30, hoặc 1,35.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, ít nhất 40% theo trọng lượng của sinh khối, như ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 80% hoặc ít nhất 90% theo trọng lượng, có thể bao gồm chất có protein có nguồn gốc các hạt cải dầu đã tách béo tùy ý, trong khi đó nước có thể được bổ sung vào cơ chất với lượng để tạo ra tỷ lệ của mật độ khối ướt so với mật độ khối khô từ khoảng 0,65 đến khoảng 1,10, như 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 1,00, hoặc 1,05.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, một hoặc nhiều chất hỗ trợ sản xuất được chọn từ các enzym, các thành phần thực vật, và các tác nhân sản xuất vô cơ và hữu cơ có thể được bổ sung vào cơ chất của sinh khối và/hoặc vào hỗn hợp ủ ban đầu.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, mức độ làm đầy của bể ủ nêu trên có thể được giữ không đổi. Điều này sẽ dẫn đến dòng chảy đồng nhất.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, chất hỗ trợ sản xuất được chọn như α -galactosidaza có thể được bổ sung vào cơ chất của sinh khối và/hoặc hỗn hợp ủ ban đầu, ví dụ chế phẩm α -galactosidaza được bổ sung vào cơ chất của sinh khối và/hoặc vào hỗn hợp ủ ban đầu với lượng từ 0,05 đến 50 đơn vị α -galactosidaza trên mỗi gam chất khô của cơ chất của sinh khối, như từ 0,5 đến 25 đơn vị α -galactosidaza trên mỗi gam chất khô của cơ chất của sinh khối, ví dụ, từ 1 đến 10, từ 2 đến 8, từ 3 đến 6, hoặc từ 4 đến 5 đơn vị α -galactosidaza trên mỗi gam chất khô của cơ chất của sinh khối.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, quy trình ủ có thể được thực hiện dưới các điều kiện kỵ khí. Các điều kiện kỵ khí được tạo điều kiện thuận lợi bởi sáng chế.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, hàm lượng nước trong hỗn hợp ủ có thể từ 35% đến 70% theo trọng lượng, như 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, hoặc 65% theo trọng lượng. Do đó, hàm lượng nước trong hỗn hợp ban đầu không vượt quá 70% theo trọng lượng và nó có thể dao động từ 40% đến 65%, từ 45% đến 60%, từ 48% đến 52%, hoặc 50% đến 55%, như 49, 50, 51, 52, 53, hoặc 54%.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, hỗn hợp được ủ trong 1-240 giờ ở 15-70 °C. Người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ biết cách làm thế nào để tối ưu hóa thời gian phản ứng và nhiệt độ phản ứng bằng sự quan sát các điều kiện phản ứng khác, như chọn vi sinh vật. Do đó, nhiệt độ có thể dao động như ví dụ: 20-65 °C, 25-60 °C, 30-55 °C, 35-50 °C, hoặc 40-45 °C; và thời gian phản ứng có thể được chọn như ví dụ: từ 2 đến 180 giờ, từ 5 đến 150 giờ, từ 7 đến 120 giờ, từ 10 đến 80 giờ, từ 20 đến 60 giờ, hoặc từ 28 đến 48 giờ, ở mỗi khoảng thời gian nhiệt độ ở đây đề cập.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, sản phẩm biến đổi dạng rắn của cơ chất có thể được làm khô, sau đó tùy ý nghiền.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, nếu muốn hỗn hợp cơ chất có thể được ủ ở thời gian và nhiệt độ đủ để bất hoạt các vi sinh vật, các yếu tố kháng dinh dưỡng và (các) enzym nếu được sử dụng một phần hoặc toàn phần.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, bể ủ không khuấy có thể được đóng.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, bể ủ không khuấy có thể ở dạng hình trụ hoặc hình đa diện tròn theo chiều dọc. Ưu điểm của việc sử dụng loại bể này là nó tiết kiệm không gian và do nó không khuấy nên chi phí vận hành và chi phí bảo trì cho phương tiện trộn được tránh.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, diện tích phần phía trên của bể ủ không khuấy có thể nhỏ hơn diện tích phần phía dưới, nghĩa là bể là ở dạng hình nón. Ưu điểm của loại bể này là hiệu ứng trượt được tăng sao cho các sinh khối với lưu lượng giảm có thể được dùng.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, bể ủ không khuấy có thể có lớp phủ cách nhiệt hoặc vỏ có lỗ thoát nhiệt và các phương tiện để kiểm soát nhiệt độ bên trong bể ủ.

Sản phẩm biến đổi dạng rắn của cơ chất được đề xuất bởi trọng lượng có thể được làm khô đến hàm lượng nước không lớn hơn 15%, 13%, 10%, 6%, 4%, hoặc 2% theo trọng lượng và tùy ý ở dạng nghiền.

Sản phẩm rắn theo sáng chế có thể là sản phẩm của sự biến đổi của chất có protein và/hoặc các hydrat cacbon có nguồn gốc từ sinh khối nêu trên. Sản phẩm biến đổi dạng rắn có thể giảm hàm lượng của các tác nhân kháng dinh dưỡng, như các chất ức chế trypsin, các kháng nguyên, các oligosaccarit gây đầy hơi, ví dụ stachyzoa và raffinosa; axit phytic, và lectin.

Sản phẩm rắn theo sáng chế có thể bao gồm ít nhất 40% chất có protein theo trọng lượng của chất khô có nguồn gốc từ đậu nành.

Sản phẩm rắn theo sáng chế có thể bao gồm ít nhất 40% chất có protein theo trọng lượng của chất khô có nguồn gốc từ hạt cải dầu.

Sản phẩm rắn theo sáng chế có thể bao gồm các protein với lượng 30–65% theo trọng lượng trên cơ sở chất khô có nguồn gốc từ các phần thực vật của đậu nành, hạt cải dầu, hoặc hạt hướng dương, hoặc các hỗn hợp của chúng.

Cuối cùng, sáng chế đề cập đến thực phẩm, thức ăn, sản phẩm mỹ phẩm hoặc dược phẩm hoặc chất bổ sung dinh dưỡng mà chứa từ 1% đến 99% theo trọng lượng của sản phẩm biến đổi dạng rắn được sản xuất theo sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Tỷ lệ mật độ

Ví dụ 1:

Tỷ lệ của mật độ khối ướt / mật độ khối khô đối với các cơ chất được ưu tiên dựa trên các sinh khối khác nhau

1.1 Các sinh khối được sử dụng trong quy trình:

Đậu nành

Đậu nành được sử dụng là bột đậu nành được tách béo (SBM).

Ngô

Ngô được sử dụng là ngô nguyên hạt, nghiền trên máy nghiền búa qua rây 3,5 mm.

Lúa mì

Lúa mì được sử dụng là lúa mì nguyên hạt, nghiền trên máy nghiền búa qua rây 3,5 mm.

Hạt hướng dương

Hạt hướng dương được sử dụng là bột hạt hướng dương được tách béo (Sunflower Seed Meal - SSM).

Hạt cải dầu

Hạt cải dầu được sử dụng là bột hạt cải dầu được tách béo (Rape Seed Meal - RSM).

Các loại đậu tằm

Các loại đậu tằm được sử dụng là các loại đậu tằm nguyên hạt

Protein đậu

Protein đậu được sử dụng là nồng độ protein đậu.

1.2 Mô tả quy trình:

(Các) lượng sinh khối và nước được lập bảng sau đây được trộn trong 10 phút sau đó cân bằng trong 50 phút trong thùng chứa đã được đóng.

Sau khi nguyên liệu này được chia vào cốc chia độ dung tích 500 mL và khối lượng của chúng được xác định bằng cân cốc và trừ đi trọng lượng bì của cốc.

Mật độ khối được tính như khối lượng/thể tích chưa được khai thác theo đơn vị kg/m^3

Mật độ khối khô được sử dụng làm mật độ khối được đo lường của sinh khối mà không cần bổ sung nước.

Mật độ khối ướt là mật độ khối của sinh khối có bổ sung nước.

Tỷ lệ được tính như mật độ khối ướt chia mật độ khối khô.

Hàm lượng ẩm của sinh khối được xác định bằng cách làm khô đến trọng lượng không thay đổi.

Sau khi bổ sung nước độ ẩm trong hỗn hợp được xác định bằng tính toán.

1.3 Các kết quả:

Các kết quả cho 100% đậu nành và 80% các hỗn hợp với đậu nành được lập trong bảng sau:

Đậu nành	Ngô	Lúa mì	Hạt hướng dương	Cải dầu hạt	Đậu tằm	Đậu	Nước	Độ ẩm theo%	Mật độ khối kg/m ³	Tỷ lệ
1000 g							0 g	10,9	665	-
1000 g							100 g	19,0	638	0,96
1000 g							250 g	28,7	500	0,75
1000 g							450 g	38,6	476	0,72
1000 g							750 g	49,1	470	0,71
1000 g							900 g	53,1	572	0,86
1000 g							1100 g	57,6	655	0,98
1000 g							1400 g	62,9	715	1,07
1000 g							1900 g	69,3	889	1,34
800 g	200 g						0 g	11,4	703	-
800 g	200 g						450 g	38,9	617	0,88
800 g	200 g						900 g	53,4	634	0,90
800 g	200 g						1900 g	69,4	1008	1,43
800 g		200 g					0 g	11,7	694	-
800 g		200 g					450 g	39,1	580	0,84
800 g		200 g					900 g	53,5	623	0,90
800 g		200 g					1900 g	69,5	960	1,38
800 g			200 g				0 g	10,4	683	-
800 g			200 g				450 g	38,2	554	0,81
800 g			200 g				900 g	52,9	598	0,88
800 g			200 g				1900 g	69,1	926	1,36
800 g				200 g			0 g	11,3	711	-
800 g				200 g			100 g	19,4	576	0,81
800 g				200 g			250 g	29,0	514	0,72
800 g				200 g			450 g	38,8	483	0,68
800 g				200 g			750 g	49,3	490	0,69
800 g				200 g			900 g	53,3	597	0,84

800 g				200 g			1100 g	57,8	528	0,74
800 g				200 g			1900 g	69,4	908	1,28
800 g					200 g		0 g	11,1	691	-
800 g					200 g		450 g	38,7	569	0,82
800 g					200 g		900 g	53,2	605	0,88
800 g					200 g		1900 g	69,3	941	1,36
800 g						200 g	0 g	11,2	703	-
800 g						200 g	450 g	38,7	488	0,69
800 g						200 g	900 g	53,2	728	1,04
800 g						200 g	1900 g	69,4	964	1,37

Các kết quả cho 60% và 40% của hỗn hợp đậu nành với ngô, hạt hướng dương và hạt cải dầu cũng như 100% hạt cải dầu được lập trong bảng sau:

Đậu nành	Ngô	Hạt hướng dương	Hạt cải dầu	Nước	Độ ẩm Trong%	Mật độ khối kg/m ³	Tỷ lệ
600 g	400 g			0 g	11,8	703	-
600 g	400 g			250 g	29,5	651	0,93
600 g	400 g			450 g	39,2	626	0,89
600 g	400 g			750 g	49,6	631	0,90
600 g	400 g			900 g	53,6	666	0,95
600 g	400 g			1100 g	58,0	723	1,03
600 g	400 g			1400 g	63,3	796	1,13
600 g		400 g		0 g	10,0	644	-
600 g		400 g		100 g	18,2	530	0,82
600 g		400 g		250 g	28,0	435	0,68
600 g		400 g		450 g	37,9	433	0,67
600 g		400 g		750 g	48,6	436	0,68
600 g		400 g		900 g	52,6	480	0,75
600 g		400 g		1100 g	57,1	449	0,70
600 g		400 g		1400 g	62,5	616	0,96
600 g			400 g	0 g	11,7	643	-
600 g			400 g	100 g	19,7	560	0,82
600 g			400 g	250 g	29,4	502	0,78
600 g			400 g	450 g	39,1	503	0,78
600 g			400 g	750 g	49,5	492	0,77
600 g			400 g	900 g	53,5	516	0,80
600 g			400 g	1100 g	57,9	545	0,85
600 g			400 g	1400 g	63,2	655	1,02
400 g	600 g			0 g	12,3	718	-
400 g	600 g			250 g	29,9	636	0,89
400 g	600 g			450 g	39,5	638	0,89

400 g	600 g			750 g	49,9	666	0,93
400 g	600 g			900 g	53,8	721	1,00
400 g	600 g			1100 g	58,2	802	1,12
400 g	600 g			1400 g	63,5	988	1,38
400 g		600 g		0 g	9,5	654	-
400 g		600 g		100 g	17,7	535	0,82
400 g		600 g		250 g	27,6	422	0,65
400 g		600 g		450 g	37,6	487	0,74
400 g		600 g		750 g	48,3	491	0,75
400 g		600 g		900 g	52,4	512	0,78
400 g		600 g		1100 g	56,9	585	0,89
400 g		600 g		1400 g	62,3	612	0,94
400 g			600 g	0 g	12,1	658	-
400 g			600 g	100 g	20,1	556	0,84
400 g			600 g	250 g	29,7	471	0,72
400 g			600 g	450 g	39,4	458	0,70
400 g			600 g	750 g	49,8	486	0,74
400 g			600 g	900 g	53,7	486	0,74
400 g			600 g	1100 g	58,1	531	0,81
400 g			600 g	1400 g	63,4	605	0,92
0 g			1000 g	0 g	12,9	616	-
0 g			1000 g	100 g	20,8	484	0,79
0 g			1000 g	250 g	30,3	438	0,71
0 g			1000 g	450 g	39,9	457	0,74
0 g			1000 g	750 g	50,2	507	0,82
0 g			1000 g	900 g	54,1	535	0,87
0 g			1000 g	1100 g	58,5	585	0,95
0 g			1000 g	1400 g	63,7	688	1,12

Ví dụ 2

Tỷ lệ của mật độ khối ướt / mật độ khối khô đối với các cơ chất dựa trên các sinh khối và được sử dụng trong các thử nghiệm với các vi sinh vật khác nhau.

Việc xác định của mật độ khối được thực hiện bằng cách đo lượng nguyên liệu (xấp xỉ. 250 ml) vào cốc hình trụ chia độ dung tích 250 ml và đọc thể tích sau khi làm phẳng bề mặt bằng cách lắc nhẹ cốc hình trụ. Sau đây, trọng lượng của nguyên liệu được xác định. Các mật độ khối khô và các mật độ khối ướt được thực hiện ba lần.

Các kết quả được tóm tắt trong bảng sau đây:

Sinh khối	Chất khô trong % theo trọng lượng	Tỷ lệ mật độ = mật độ khối ướt/mật độ khối khô
100% SBM	35	1,13
100% SBM	40	0,95
100% SBM	42,5	0,86
100% SBM	52	0,85

100% SBM	55	0,84
80% SBM + 20% RSM	35	1,05
80% SBM + 20% RSM	42,5	0,88
80% SBM + 20% RSM	52	0,78
60% SBM + 40% SSM	35	0,94
60% SBM + 40% SSM	42,5	0,84
60% SBM + 40% SSM	52	0,73

Các thí nghiệm ủ quy mô phòng thí nghiệm theo phương pháp công nghệ mới

Các ví dụ sau từ 3 đến 9 là các thử nghiệm quy mô phòng thí nghiệm được tiến hành dưới các điều kiện sau:

Tình trạng:

Tình trạng cho các thử nghiệm ủ quy mô phòng thí nghiệm sau đã mô phỏng các điều kiện trong phương pháp theo sáng chế.

Các nguyên liệu và các phương pháp:

Các nguyên liệu

Các sinh khối: Bột đậu nành (Soya Bean Meal - SBM), bột hạt cải dầu (Rape Seed Meal - RSM) và bột hạt hướng dương (Sunflower Seed Meal - SSM) – như được mô tả trong phần 1.1.

Nước: nước máy bình thường

Các vi sinh vật: (Các) vi sinh vật được sử dụng cụ thể đối với mỗi ví dụ. Cho tất cả các thử nghiệm, trừ khi được chỉ ra trong ví dụ cụ thể, các vi sinh vật được định lượng với xấp xỉ 10^8 CFU/g DM. Vi khuẩn axit lactic và *Bifidobacteria* được phát triển trong canh trường MRS, được rửa trong NaCl 0,9%, và định lượng đến quy trình ủ dựa trên mối quan hệ giữa OD₆₀₀ và CFU/ml. Lượng ml mà cần để định lượng 10^8 CFU/g DM bị trừ từ tổng lượng nước lượng được nêu trong mỗi ví dụ. Đối với các chủng *Bacillus*, phần lớn chúng được định lượng trên các môi trường nuôi cấy được phối chế khô, nhưng *Geobacillus denitrificans* và *Bacillus smithii* được phát triển trong canh trường dinh dưỡng, và được rửa bằng cách tương tự, và được định lượng bằng cách tương tự, như được mô tả đối với các chủng vi khuẩn axit lactic.

Các vi sinh vật và nguồn gốc của chúng được sử dụng trong các ví dụ được thể hiện trong các bảng sau đây:

Chủng	Nguồn gốc
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Pangoo
<i>Lactobacillus paracasei</i> 5622	DSMZ
<i>Lactobacillus fermentum</i>	Bio Growing
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Bio Growing
<i>Lactobacillus delbrueckii bulgaricus</i>	Bio Growing
<i>Lactobacillus delbrueckii sunkii</i> 24966	DSMZ
<i>Lactobacillus farciminis</i>	Own isolate
<i>Lactobacillus formosensis</i>	Own isolate
<i>Lactobacillus salivarius</i> 20554	DSMZ
<i>Bacillus coagulans</i>	Pangoo
<i>Bacillus licheniformis</i>	BioCat
<i>Bacillus subtilis</i>	BioCat
<i>Bacillus smithii</i> 2319	DSMZ
<i>Lactococcus lactis</i>	Bio Growing
<i>Bifidobacterium animalis</i>	Bio Growing
<i>Pediococcus axitolactici</i>	Pangoo
<i>Enterococcus faecium</i>	Pangoo
<i>Enterococcus faecalis</i>	Pangoo
<i>Enterococcus durans</i>	Own isolate
<i>Weissella hellenica</i>	Own isolate
<i>Streptococcus thermophiles</i>	Bio Growing
<i>Geobacillus thermodenitrificans</i> 466	DSMZ

DSMZ: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen

Chất hỗ trợ sản xuất: α -galactosidaza từ Bio-Cat (12.500 U/g). α -galactosidaza được định lượng trong 1 ml nước, mà được tạo nên từ tổng lượng nước bổ sung được nêu trong bảng của mỗi ví dụ

Phương pháp thử nghiệm được sử dụng

Bể ủ:

Để mô phỏng các điều kiện chuyển hóa sinh học mà tại đó oxy không có sẵn, chuyển hóa sinh học được thực hiện trong các túi nhựa chắc chắn, được ép bằng tay để loại bỏ không khí và đóng chặt với nẹp, vẫn cho phép CO₂ được thoát ra.

Quy trình ủ:

Các mẫu được ủ ở các nhiệt độ khác nhau, các hàm lượng nước khác nhau và ở khoảng thời gian dài khác nhau, được nêu cụ thể ở mỗi ví dụ. Quy trình ủ được ngừng lại bằng cách làm nóng ở 100 °C trong khoảng 30 phút.

Các phương pháp phân tích:

Phân tích axit:

Việc phân tích được tiến hành bởi LUFA Oldenburg, Germany, sử dụng thủy phân nước với hệ thống lọc màng và sau đó đo lường bằng sắc ký ion.

Sucroza và Galactoza (các loại đường):

Hàm lượng của sucroza và galactoza được xác định bởi sắc kí lớp mỏng.

Pha tĩnh– Silica gel 60 (Merck 1.05553.0001)

Pha động– 120 mL n-butanol, 80 mL pyritin và 60 mL nước khử khoáng

Các điểm được nhìn thấy với chất lỏng chứa 8 g diphenylamin, 335 mL axeton 8 mL anilin và 60 mL axit phosphoric.

Các nồng độ đường được xác định bằng cách so sánh với các nồng độ tiêu chuẩn đã biết.

Độ pH:

độ pH được đo lường trong DM 10% pha loãng với HQ 411d từ HACH.

CFU:

CFU được xác định bằng cách cấy rìa trên đĩa, sử dụng các đĩa thạch MRS cho vi khuẩn axit lactic, và thạch dinh dưỡng cho các chủng *Bacillus*.

Ví dụ 3

Thí nghiệm các sinh vật sản xuất khác nhau (phòng thí nghiệm) ở 20 °C, ở các tỷ lệ chất khô khác nhau

Thiết kế thử nghiệm:

Chủng	Chất khô % theo trọng lượng	Cấp độ ủ CFU/g DM	SBM (DM 88%) g	α - galactosidaza mg	Nước ml
<i>Lactobacillus salivarius</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	122
<i>Lactobacillus debruckii sunkii</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	122
<i>Lactobacillus plantarum</i>	35	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	172
<i>Lactobacillus plantarum</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	122
<i>Lactobacillus plantarum</i>	52	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	79
<i>Lactobacillus paracasei</i>	35	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	172
<i>Lactobacillus paracasei</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	122

Các mẫu được ủ ở 20 °C trong bể nước ổn nhiệt.

Các kết quả:

Sau 44 giờ ủ, thu được các kết quả sau đây, thể hiện sự tăng trưởng, chuyển hóa đường và sản xuất axit:

Chủng	DM %	Axit lactic % của DM	Axit axetic % của DM	Tổng các axit % của DM	Độ pH	Cấp độ ủ CFU/g DM	Sucroza % của DM	Galactosa % của DM
<i>Lactobacillus plantarum</i>	35	4,9	1,2	6,1	4,9	$3 \cdot 10^{10}$	0	0
<i>Lactobacillus plantarum</i>	42,5	3,7	1,3	5,0	5,2	$2 \cdot 10^{10}$	0	0
<i>Lactobacillus Plantarum</i>	52	3,2	0,9	4,1	5,2	$2 \cdot 10^{10}$	0	0

Sau 116 giờ ủ, thu được các kết quả sau, thể hiện sự tăng trưởng, chuyển hóa đường và sản xuất axit:

Chủng	DM %	Axit lactic % của DM	Axit axetic % của DM	Tổng các axit % của DM	pH	Cấp độ ủ CFU/g DM	Sucroza % của DM	Galactosa % của DM
<i>Lactobacillus salivarius</i>	42,5	3,4	1,0	4,4	4,9	$9,5 \cdot 10^9$	0,5	1,6
<i>Lactobacillus debruckii sunkii</i>	42,5	3,7	0,5	4,2	4,9	$3,9 \cdot 10^9$	0	1,6
<i>Lactobacillus plantarum</i>	35	7,3	1,1	8,4	4,5	$2,0 \cdot 10^{10}$	0	0
<i>Lactobacillus plantarum</i>	42,5	5,7	1,1	6,8	4,7	$2,3 \cdot 10^{10}$	0	0
<i>Lactobacillus plantarum</i>	52	5,1	1,2	6,3	4,8	$2,2 \cdot 10^{10}$	0	0
<i>Lactobacillus paracasei</i>	35	4,7	0,8	5,5	4,8	$1,9 \cdot 10^{10}$	6	0
<i>Lactobacillus paracasei</i>	42,5	3,2	0,6	3,8	4,8	$1,8 \cdot 10^{10}$	6	0

Một phần của đường vẫn liên kết với oligosaccharit ở thử nghiệm này, ngay cả sau 166 giờ. Do đó, tiềm năng để sản xuất axit là lớn hơn so với kết quả thu được trong thí nghiệm này.

Ví dụ 4

Thí nghiệm các sinh vật sản xuất khác nhau (phòng thí nghiệm) ở 30 °C, ở DM 40%

Thiết kế thử nghiệm:

Chủng	Chất khô % theo trọng lượng	Cấp độ ủ CFU/g DM	SBM (DM 88%) G	α - galactosidaza mg	Nước Ml
<i>Lactobacillus plantarum</i>	40	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	82
<i>Lactococcus lactis</i>	40	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	82
<i>Enterococcus faecium</i>	40	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	82

Các mẫu được ủ ở 30 °C trong bể nước ổn nhiệt.

Các kết quả:

Sau 45 giờ ủ, thu được các kết quả sau đây, thể hiện sự tăng trưởng, chuyển hóa đường và sản xuất axit:

Chủng	DM %	Axit lactic % của DM	Axit axetic % của DM	Tổng các axit % của DM	Độ pH	Cấp độ ủ CFU/g DM	Sucroza % của DM	Galactosa % của DM
<i>Lactobacillus plantarum</i>	40	6,2	1,1	7,3	4,6	$1 \cdot 10^{10}$	0	1,4
<i>Lactococcus lactis</i>	40	3,7	0,9	4,6	4,8	$1 \cdot 10^{10}$	1,8	1,8
<i>Enterococcus faecium</i>	40	5,1	1,4	6,5	4,8	$2 \cdot 10^{10}$	0,4	1,4

Sau 69 giờ ủ, thu được các kết quả sau đây, thể hiện sự chuyển hóa đường và sản xuất axit (CFU chưa được xác định):

Chủng	DM %	Axit lactic % của DM	Axit axetic % của DM	Tổng các axit % của DM	Độ pH	Cấp độ ủ CFU/g DM	Sucroza % của DM	Galactosa % của DM
<i>Lactobacillus plantarum</i>	40	7,0	1,0	8,0	4,5		0	0,5
<i>Lactococcus lactis</i>	40	4,3	1,2	5,5	4,6		1,8	1,2
<i>Enterococcus faecium</i>	40	5,8	1,3	7,1	4,6		0	0,6

Ví dụ 5

Thí nghiệm các sinh vật sản xuất khác nhau ở 37 °C, các tỷ lệ chất khô khác nhau

Thiết kế thử nghiệm:

Chủng	Ví dụ số	Chất khô % theo trọng lượng	Cấp độ ủ CFU/g DM	SBM (88% DM) g	α -galactosidaza mg	Nước ml
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1	35	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	172
<i>Lactobacillus plantarum</i>	2	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	122
<i>Lactobacillus plantarum</i>	3	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	Không được bổ sung	122
<i>Lactobacillus plantarum</i>	4	42,5	$1 \cdot 10^7$	68,2	72	73
<i>Lactobacillus plantarum</i>	5	42,5	$1 \cdot 10^9$	68,2	72	73
<i>Lactobacillus plantarum</i>	6	52	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	79
<i>Lactobacillus paracasei</i>	7	35	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	172
<i>Lactobacillus paracasei</i>	8	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	122
<i>Lactobacillus paracasei</i>	9	52	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	79

<i>Bacillus coagulans</i>	10	35	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	103
<i>Bacillus coagulans</i>	11	42,5	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	73
<i>Bacillus coagulans</i>	12	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	Không được bổ sung	122
<i>Bacillus coagulans</i>	13	42,5	$1 \cdot 10^7$	68,2	72	73
<i>Bacillus coagulans</i>	14	55	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	41
<i>Bacillus licheniformis</i>	15	35	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	103
<i>Bacillus licheniformis</i>	16	42,5	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	73
<i>Bacillus licheniformis</i>	17	55	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	41
<i>Bacillus subtilis</i>	18	35	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	103
<i>Bacillus subtilis</i>	19	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	122
<i>Bacillus subtilis</i>	20	55	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	41
<i>Lactobacillus fermentum</i>	21	42,5	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	73
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	22	42,5	$6 \cdot 10^7$	68,2	72	73
<i>Lactobacillus delbruckii bulgaricus</i>	23	42,5	$2 \cdot 10^7$	68,2	72	73
<i>Lactobacillus farciminis</i>	24	42,5	$6 \cdot 10^6$	68,2	72	73
<i>Lactobacillus formosensis</i>	25	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	122
<i>Lactococcus lactis</i>	26	42,5	$4 \cdot 10^7$	68,2	72	73
<i>Bifidobacterium animalis</i>	27	42,5	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	73
<i>Pediococcus acidolactici</i>	28	42,5	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	73
<i>Enterococcus faecium</i>	29	42,5	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	73
<i>Enterococcus faecalis</i>	30	42,5	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	73
<i>Enterococcus durans</i>	31	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	122
<i>Weissella hellenica</i>	32	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	122
<i>Lactobacillus salivarius</i> + <i>Lactobacillus paracasei</i>	33	42,5	$1 \cdot 10^8$ và $3 \cdot 10^7$	113,6	120	122
<i>Streptococcus thermophilus</i> + <i>Bifidobacterium animalis</i>	34	42,5	$5 \cdot 10^7$ và $5 \cdot 10^7$	113,6	120	122
<i>Pediococcus acidolactici</i> +	35	42,5	$5 \cdot 10^7$ và $5 \cdot 10^7$	113,6	120	122

<i>Lactobacillus plantarum</i>						
<i>Lactobacillus farciminis</i> + <i>Lactobacillus plantarum</i>	36	42,5	$5 \cdot 10^7$ và $5 \cdot 10^7$	113,6	120	122
<i>Lactobacillus plantarum</i> + <i>Sucroza</i> (5% của DM)	37	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	122

Các kết quả:

Sau 18,5 đến 20 giờ ủ, thu được các kết quả sau đây, mà thể hiện sự tăng trưởng, chuyển hóa đường và sản xuất axit

Chủng	Ví dụ số	DM %	Axit lactic % của DM	Axit axetic % của DM	Tổng axit % của DM	Độ pH	Ủ CFU/ g DM	Sucroza % của DM	Galactoza % của DM
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1	35	6,1	1,2	7,3	4,6	nd	1	2
<i>Lactobacillus plantarum</i> Inoc: 10^8 CFU/g	2	42,5	5,3	1,2	6,5	4,7	nd	1	2
<i>Lactobacillus plantarum</i> Inoc: 10^7 CFU/g	4	42,5	5,5	1,2	6,7	5,0	nd	2	2
<i>Lactobacillus plantarum</i> Inoc: 10^9 CFU/g	5	42,5	6,5	1,2	7,7	4,8	nd	1	2
<i>Lactobacillus plantarum</i>	6	52	4,7	1,1	5,8	4,8	nd	2	2
<i>Lactobacillus paracasei</i>	7	35	5,3	0,1	5,4	4,4	nd	2	2
<i>Lactobacillus paracasei</i>	8	42,5	4,5	0,1	4,6	4,5	nd	2,6	2
<i>Bacillus coagulans</i> Inoc: 10^8 CFU/g	11	42,5	4,5	1,4	5,9	5,3	$8 \cdot 10^9$	2,5	2
<i>Bacillus coagulans</i> Inoc: 10^7 CFU/g	13	42,5	3,6	1,4	5,0	5,4	$7 \cdot 10^9$	2,5	2
<i>Lactobacillus farciminis</i> (no 1)	24	42,5	4,2	0,1	4,3	4,8	nd	4	3,5
<i>Lactococcus lactis</i>	26	42,5	3,0	2,0	5,0	5,0	nd	2	2
<i>Bifidobacterium animalis</i>	27	42,5	4,1	2,0	6,1	5,0	nd	2	2

<i>Pediococcus acidolactici</i>	28	42,5	3,7	1,5	5,2	5,1	nd	2	2
<i>Enterococcus faecium</i>	29	42,5	5,4	1,4	6,8	5,1	nd	2	2
<i>Lactobacillus salivarius</i> + <i>Lactobacillus paracasei</i>	33	42,5	5,1	0,1	5,2	4,4	nd	2	2
<i>Streptococcus thermophiles</i> + <i>Bifidobacterium animalis</i>	34	42,5	4,1	1,9	6,0	4,9	nd	2	2
<i>Pediococcus acidolactici</i> + <i>Lactobacillus plantarum</i>	35	42,5	5,4	1,2	6,6	4,7	nd	1	2
<i>Lactobacillus farciminis</i> + <i>Lactobacillus plantarum</i>	36	42,5	6,0	0,9	6,9	4,5	nd	1	2
<i>Lactobacillus plantarum</i> + Sucroza	37	42,5	5,3	1,1	6,4	4,7	nd	6	2

nd: chưa được xác định

Sau 42,5 và 44 giờ ủ, thu được các kết quả sau đây, thể hiện sự tăng trưởng, chuyển hóa đường và sản xuất axit:

Chủng	Ví dụ số	DM %	Axit lactic % của DM	Axit axetic % của DM	Tổng axit % của DM	Độ pH	Ủ CFU/ g DM	Sucroza % của DM	Galactoza % của DM
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1	35	7,3	1,0	8,3	4,4	$1 \cdot 10^{10}$	0	1,4
<i>Lactobacillus plantarum</i> Inoc: 10^8 CFU/g	2	42,5	6,8	1,2	8,0	4,4	$1 \cdot 10^{10}$	0	1,8
<i>Lactobacillus plantarum</i> (không α -gal)	3	42,5	3,6	1,2	4,8	5,1	$5 \cdot 10^9$	0	0
<i>Lactobacillus plantarum</i> Inoc: 10^7 CFU/g	4	42,5	7,3	1,5	8,8	4,6	nd	0	1,1
<i>Lactobacillus plantarum</i> Inoc: 10^9 CFU/g	5	42,5	7,9	1,1	9,0	4,6	nd	0	1,25
<i>Lactobacillus plantarum</i>	6	52	6,6	1,2	7,8	4,5	$1 \cdot 10^{10}$	0	1,8
<i>Lactobacillus paracasei</i>	7	35	7,2	0,1	7,3	4,1	$3 \cdot 10^{10}$	0	2,4

<i>Lactobacillus paracasei</i>	8	42,5	6,6	0,1	6,7	4,2	$2 \cdot 10^{10}$	0,5	2,6
<i>Lactobacillus paracasei</i>	9	52	5,3	0,1	5,4	4,4	$2 \cdot 10^{10}$	3	3
<i>Bacillus coagulans</i>	10	35	6,9	1,2	8,1	4,5	nd	0	1,3
<i>Bacillus coagulans</i> Inoc: 10^8 CFU/g	11	42,5	8,2	1,3	9,5	4,6	$4 \cdot 10^9$	0,4	1
<i>Bacillus coagulans</i> (không α -gal)	12	42,5	5,5	1,2	6,7	4,7	$2 \cdot 10^9$	0	0
<i>Bacillus coagulans</i> Inoc: 10^7 CFU/g	13	42,5	7,3	1,3	8,6	4,7	$3 \cdot 10^9$	0,5	1
<i>Bacillus coagulans</i>	14	55	3,7	0,8	4,5	5,1	nd	2	2
<i>Bacillus licheniformis</i>	15	35	2,7	0,0	2,7	5,1	nd	2,5	4
<i>Bacillus licheniformis</i>	16	42,5	0,8	0,0	0,8	6,0	nd	2,5	4
<i>Bacillus licheniformis</i>	17	55	0,2	0,0	0,2	6,4	nd	2,7	3,3
<i>Bacillus subtilis</i>	18	35	2,4	0,1	2,5	5,1	nd	3	4
<i>Bacillus subtilis</i>	19	42,5	2,5	0,9	3,4	5,3	$3 \cdot 10^9$	3,6	2,6
<i>Bacillus subtilis</i>	20	55	0,5	0,1	0,6	6,0	nd	5	2
<i>Lactobacillus fermentum</i>	21	42,5	4,6	2,1	6,7	4,9	$5 \cdot 10^{10}$	1	1
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	22	42,5	4,2	0,2	4,4	4,7	$4 \cdot 10^9$	1	1
<i>Lactobacillus delbruckii bulgaricus</i>	23	42,5	3,7	1,7	5,4	5,2	$8 \cdot 10^9$	3,3	2,5
<i>Lactobacillus farciminis</i>	24	42,5	7,9	0,3	8,2	4,2	$5 \cdot 10^9$	0,8	2,8
<i>Lactobacillus formosensis</i>	25	42,5	6,5	0,2	6,7	4,2	$3 \cdot 10^9$	0,5	2
<i>Lactococcus lactis</i>	26	42,5	4,0	2,3	6,3	4,8	$8 \cdot 10^9$	0,8	1
<i>Bifidobacterium animalis</i>	27	42,5	4,5	2,1	6,6	4,9	$6 \cdot 10^9$	1	0,8
<i>Pediococcus axitolactici</i>	28	42,5	6,9	1,5	8,4	4,6	$9 \cdot 10^9$	0,5	0,7
<i>Enterococcus faecium</i>	29	42,5	7,6	1,5	9,1	4,6	$7 \cdot 10^9$	0,5	0,7
<i>Enterococcus faecalis</i>	30	42,5	5,8	1,5	7,3	4,7	$9 \cdot 10^9$	0,3	0,3
<i>Enterococcus durans</i>	31	42,5	2,7	0,2	2,9	4,9	$2 \cdot 10^9$	3	2
<i>Weisella hellenica</i>	32	42,5	4,1	1,6	5,7	4,9	$3 \cdot 10^9$	1	1

<i>Lactobacillus salivarius</i> + <i>Lactobacillus paracasei</i>	33	42,5	6,2	0,1	6,3	4,2	$1 \cdot 10^{10}$	1	1,9
<i>Streptococcus thermophiles</i> + <i>Bifidobacterium animalis</i>	34	42,5	5,1	2,0	7,1	4,8	$8 \cdot 10^{10}$	0,2	1
<i>Pediococcus axitolactici</i> + <i>Lactobacillus plantarum</i>	35	42,5	6,9	1,2	8,1	4,4	$1 \cdot 10^{10}$	0	1
<i>Lactobacillus farciminis</i> + <i>Lactobacillus plantarum</i>	36	42,5	7,4	1,0	8,4	4,4	$9 \cdot 10^9$	0	1,4
<i>Lactobacillus plantarum</i> + <i>Sucroza</i>	37	42,5	6,5	1,0	7,5	4,4	$1 \cdot 10^{10}$	4	2,2

nd: chưa được xác định

Sau 116 giờ ủ, thu được các kết quả sau đây, thể hiện sự chuyển hóa đường và sản xuất axit.

Chủng	Ví dụ số	DM %	Axit lactic % của DM	Axit axetic % của DM	Tổng axit % của DM	Độ pH	Sucroza % của DM	Galactosa % của DM
<i>Bacillus coagulans</i>	10	35	7,7	1,2	8,9	4,3	0	0
<i>Bacillus coagulans</i>	11	42,5	7,7	1,2	8,9	4,3	0,1	0,5
<i>Bacillus coagulans</i>	14	55	4,8	0,7	5,5	4,8	1,2	1,6
<i>Bacillus licheniformis</i>	15	35	2,5	0,1	2,6	4,8	0,3	3,5
<i>Bacillus licheniformis</i>	16	42,5	1,7	0,1	1,8	5,5	2	3,3
<i>Bacillus licheniformis</i>	17	55	0,4	0,1	0,5	6,3	2,9	3,3
<i>Bacillus subtilis</i>	18	35	1,6	0,1	1,7	4,9	0	3,5
<i>Bacillus subtilis</i>	19	42,5	1,4	0,1	1,5	5,1	1,5	3,5
<i>Bacillus subtilis</i>	20	55	0,8	0,2	1,0	5,9	5	3

Ví dụ 6

Thí nghiệm các sinh vật sản xuất khác nhau ở 44 °C, ở DM 40%

Thiết kế thử nghiệm:

Chủng	Chất khô % theo trọng lượng	Cấp độ ủ CFU/g DM	SBM 88% DM g	α - galactosidaza mg	Nước Ml
<i>Lactobacillus plantarum</i>	40	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	73
<i>Pediococcus acidolactici</i>	40	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	73
<i>Bacillus coagulans</i>	40	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	73
<i>Bacillus licheniformis</i>	40	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	73
<i>Bacillus subtilis</i>	40	$1 \cdot 10^8$	68,2	72	73

Các mẫu được ủ ở 44 °C trong bể nước ổn nhiệt.

Các kết quả:

Sau 20 giờ ủ, thu được các kết quả sau đây, thể hiện sự tăng trưởng, chuyển hóa đường và sản xuất axit:

Chủng	DM %	Axit lactic % của DM	Axit axetic % của DM	Tổng các axit % của DM	Độ pH	Cấp độ ủ CFU/g DM	Sucroza % của DM	Galactoza % của DM
<i>Lactobacillus plantarum</i>	40	5,1	0,2	5,3	4,8	Nd	3	2,5
<i>Pediococcus acidolactici</i>	40	4,7	0,2	4,9	4,8	Nd	3	3
<i>Bacillus coagulans</i>	40	4,4	0,1	4,5	5,0	$2 \cdot 10^{10}$	2	2,5
<i>Bacillus licheniformis</i>	40	1,1	0,0	1,1	6,0	$2 \cdot 10^8$	2,5	3,6
<i>Bacillus subtilis</i>	40	0,7	0,2	0,9	6,0	$1 \cdot 10^9$	6,5	3,8

nd: chưa được xác định

Sau 44 giờ ủ, thu được các kết quả sau đây, thể hiện sự chuyển hóa đường và sản xuất axit (CFU chưa được xác định):

Chủng	DM %	Axit lactic % của DM	Axit axetic % của DM	Tổng các axit % của DM	Độ pH	Sucroza % của DM	Galactoza % của DM
<i>Lactobacillus plantarum</i>	40	6,8	0,3	7,1	4,4	3	2,2
<i>Pediococcus acidolactici</i>	40	6,6	0,3	6,9	4,4	2	1,5
<i>Bacillus coagulans</i>	40	7,2	0,2	7,4	4,4	0,5	1,0
<i>Bacillus licheniformis</i>	40	1,5	0,1	1,6	5,9	1	2,9
<i>Bacillus subtilis</i>	40	1,3	0,1	1,4	5,7	4,5	2,9

Ví dụ 7

Thí nghiệm các sinh vật sản xuất khác nhau ở 52 °C, ở 52% DM

Thiết kế thử nghiệm:

Chủng	Chất khô % theo trọng lượng	Cấp độ ủ CFU/g DM	SBM (88% DM) g	α -galactosidaza mg	Nước Ml
<i>Bacillus smithii</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	172
<i>Bacillus smithii</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	Không bổ sung	172
<i>Bacillus licheniformis</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	172
<i>Bacillus licheniformis</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	Không bổ sung	172
<i>Bacillus coagulans</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	172

Các mẫu được ủ ở 52 °C trong bể nước ổn nhiệt

Các kết quả:

Sau 116,5 giờ ủ, thu được các kết quả sau đây, thể hiện sự tăng trưởng, chuyển hóa đường và sản xuất axit

Chủng	DM %	Axit lactic % của DM	Axit axetic % của DM	Tổng axit % của DM	Độ pH	Cấp độ ủ CFU/ g DM	Sucroza % của DM	Galactosa % của DM
<i>Bacillus smithii</i>	42,5	3,3	0,1	3,4	5,2	$1 \cdot 10^6$	4	2
<i>Bacillus smithii</i> (không α -gal)	42,5	2,2	0,1	2,3	5,3	Nd	2	0
<i>Bacillus licheniformis</i>	42,5	3,8	0	3,8	5,4	$5 \cdot 10^7$	3	2
<i>Bacillus licheniformis</i> (không α -gal)	42,5	2,7	0	2,7	5,5	Nd	0,5	0
<i>Bacillus coagulans</i>	42,5	1,8	0,2	2,0	4,9	$4 \cdot 10^8$	1,5	1,5

nd: chưa được xác định

Ví dụ 8

Thí nghiệm các sinh vật sản xuất khác nhau ở 60 °C

Thiết kế thử nghiệm:

Chủng	Chất khô % theo trọng lượng	Cấp độ ủ CFU/g DM	SBM (88% DM) g	α -galactosidaza mg	Nước Ml
<i>Bacillus coagulans</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	122
<i>Bacillus smithii</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	122
<i>Geobacillus thermodenitrificans</i>	35	$1 \cdot 10^8$	113,6	120	172

Các mẫu được ủ ở 60 °C trong phương tiện ủ

Các kết quả:

Sau 44,5 và 116,5 giờ ủ, thu được các kết quả sau đây, thể hiện sự tăng trưởng, chuyển hóa đường và sản xuất axit

Chủng	Quy trình ủ Thời gian Giờ	DM %	Axit lactic % của DM	Axit axetic % của DM	Tổng axit % của DM	Độ pH	Cấp độ ủ CFU/g DM	Sucroza % của DM	Galactoza % của DM
<i>Bacillus coagulans</i>	116,5	42,5	1,3	0,2	1,5	5,3	$6 \cdot 10^6$	7	4
<i>Bacillus smithii</i>	116,5	42,5	0,8	0,4	1,2	5,7	$5 \cdot 10^6$	7	4
<i>Geobacillus thermodenit rificans</i>	44,5	35	2,0	0,2	2,2	5,2	$9 \cdot 10^7$	8	4

Ví dụ 9

Chuyển hóa sinh học với các sinh khối thay thế

Quy trình ủ ở 37 °C từ 42,5 đến 45,5 giờ

Chủng	Chất khô % theo trọng lượng	Cấp độ ủ CFU/g DM	SBM (88% DM) g	RSM (88% DM) g	SSM (91% DM) g	α -galactosi daza mg	Nước Ml
<i>Lactobacillus plantarum</i>	35	$1 \cdot 10^8$	113,6	-	-	120	172
<i>Lactobacillus plantarum</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	-	-	120	122
<i>Lactobacillus plantarum</i>	52	$1 \cdot 10^8$	113,6	-	-	120	79
<i>Lactobacillus plantarum</i>	35	$1 \cdot 10^8$	90,1	22,8	-	120	172
<i>Lactobacillus plantarum</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	90,1	22,8	-	120	122
<i>Lactobacillus plantarum</i>	52	$1 \cdot 10^8$	90,1	22,8	-	120	79
<i>Lactobacillus plantarum</i>	35	$1 \cdot 10^8$	67,8	-	43,8	120	174
<i>Lactobacillus plantarum</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	67,8	-	43,8	120	124
<i>Lactobacillus plantarum</i>	52	$1 \cdot 10^8$	67,8	-	43,8	120	81
<i>Bacillus coagulans</i>	35	$1 \cdot 10^8$	68,2	-	-	72	103
<i>Bacillus coagulans</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	113,6	-	-	120	122
<i>Bacillus coagulans</i>	55	$1 \cdot 10^8$	68,2	-	-	72	41
<i>Bacillus coagulans</i>	35	$1 \cdot 10^8$	90,1	22,8	-	120	172
<i>Bacillus coagulans</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	90,1	22,8	-	120	122
<i>Bacillus coagulans</i>	52	$1 \cdot 10^8$	90,1	22,8	-	120	79
<i>Bacillus coagulans</i>	35	$1 \cdot 10^8$	67,8	-	43,8	120	174

<i>Bacillus coagulans</i>	42,5	$1 \cdot 10^8$	67,8	-	43,8	120	124
<i>Bacillus coagulans</i>	52	$1 \cdot 10^8$	67,8	-	43,8	120	81

Các kết quả:

Sau 42,5 đến 45,5 giờ ủ, thu được các kết quả sau đây, thể hiện sự tăng trưởng, chuyển hóa đường và sản xuất axit

Chủng	DM %	Sinh khối	Axit lactic % của DM	Axit axetic % của DM	Tổng các axit % của DM	pH	Cấp độ ủ CFU/g DM	Sucro za % của DM	Galact oza % của DM
<i>Lactobacillus plantarum</i>	35	SBM	7,2	0,1	7,3	4,1	$3 \cdot 10^{10}$	0	2,4
<i>Lactobacillus plantarum</i>	42,5	SBM	6,8	1,2	8,0	4,4	$1 \cdot 10^{10}$	0	1,8
<i>Lactobacillus plantarum</i>	52	SBM	6,6	1,2	7,8	4,5	$1 \cdot 10^{10}$	0	1,8
<i>Lactobacillus plantarum</i>	35	SBM/ RSM	7,3	0,9	8,2	4,4	$5 \cdot 10^9$	0	1
<i>Lactobacillus plantarum</i>	42,5	SBM/ RSM	6,8	1,0	7,8	4,4	$5 \cdot 10^9$	0	1
<i>Lactobacillus plantarum</i>	52	SBM/ RSM	5,9	0,9	6,8	4,5	$7 \cdot 10^9$	0,8	1
<i>Lactobacillus plantarum</i>	35	SBM/ SSM	6,5	0,7	7,2	4,4	$4 \cdot 10^9$	0	1
<i>Lactobacillus plantarum</i>	42,5	SBM/ SSM	6,3	0,7	7,0	4,4	$4 \cdot 10^9$	0	1
<i>Lactobacillus plantarum</i>	52	SBM/ SSM	5,7	0,7	6,4	4,4	$4 \cdot 10^9$	0,8	1
<i>Bacillus coagulans</i>	35	SBM	6,9	1,2	8,1	4,5	nd	0	1,3
<i>Bacillus coagulans</i>	42,5	SBM	6,5	1,3	7,8	4,5	$7 \cdot 10^9$	0	0,5
<i>Bacillus coagulans</i>	55	SBM	3,7	0,8	4,5	5,1	nd	2	2
<i>Bacillus coagulans</i>	35	SBM/ RSM	7,2	0,9	8,1	4,4	$2 \cdot 10^9$	0	0,5
<i>Bacillus coagulans</i>	42,5	SBM/ RSM	6,3	1,0	7,3	4,4	$3 \cdot 10^9$	0,3	0,8
<i>Bacillus coagulans</i>	52	SBM/ RSM	5,6	0,9	6,5	4,5	$2 \cdot 10^9$	1	1
<i>Bacillus coagulans</i>	35	SBM/ SSM	6,1	0,7	6,8	4,4	$2 \cdot 10^9$	0	0
<i>Bacillus coagulans</i>	42,5	SBM/ SSM	5,8	0,7	6,5	4,4	$5 \cdot 10^9$	0,3	0,5
<i>Bacillus coagulans</i>	52	SBM/ SSM	4,7	0,7	5,4	4,6	$3 \cdot 10^9$	1	1

Ví dụ 10

Chuyển hóa sinh học mức độ thí nghiệm

Phương tiện ủ:

Phương tiện ủ là lò phản ứng theo chiều dọc mức độ thí nghiệm với tổng thể tích 2,0 m². Phương tiện ủ được trang bị với đầu dò nhiệt độ ở đầu vào cũng như ở đầu ra.

Hỗn hợp ủ:

Phương tiện ủ được ủ với hỗn hợp đã được làm nóng trước gồm 250 kg bột đậu nành (DM 88%); 264 g α -galactosidaza từ Bio-Cat (12.500 U/g), chế phẩm dạng khô của *Bacillus coagulans* để đạt đến mức độ cấy cuối cùng 1×10^7 tế bào /g DM, và nước máy có dung tích 268 lít. Tỷ lệ mật độ khối ướt / mật độ khối khô của hỗn hợp ủ là 0,88. Điều này dẫn đến DM là 42,5% của hỗn hợp ủ.

Quy trình thử nghiệm:

Sau khi làm đầy lò phản ứng, hỗn hợp được rửa với khí N₂, để loại bỏ O₂. Sinh khối được ủ trong 60 giờ ở 37 °C.

Các kết quả:

Sau 60 giờ thu được sản phẩm bao gồm axit lactic DM 7,5% và axit axetic DM 1,3%.

Độ pH bị giảm đến 4,6.

Ví dụ 11

Chuyển hóa sinh học quy mô lớn

Phương tiện ủ:

Lò phản ứng mà được sử dụng là hình trụ theo chiều dọc với chiều cao hữu hiệu 7,3 m và đường kính 4,3 m.

Ở vùng đỉnh của lò phản ứng theo chiều dọc, hỗn hợp thức ăn rơi vào vị trí gần trung tâm của lò phản ứng. Để phân phối, lưỡi cào hoặc cánh tay đòn bẩy phân bố hỗn hợp thức ăn đều vào toàn bộ bên trong của lò phản ứng.

Trong phần đáy của lò phản ứng, sản phẩm được chiết ra bằng các phương tiện để đạt được thời gian ổn định đồng nhất cho bất cứ các hạt trải trên đỉnh của lò phản ứng

Thử nghiệm dòng chảy cả khối đồng nhất

Các phương tiện đầu vào và đầu ra của lò phản ứng được điều chỉnh để đạt được thời gian ổn định mong muốn trong 12 giờ. Để chứng minh thời gian phân bố đồng nhất, chất đánh dấu tracer được bổ sung vào hỗn hợp thức ăn. Hỗn hợp thức ăn được sử dụng trong thử nghiệm có hàm lượng tự nhiên của sắt khoảng 143 mg/kg chất khô (= nồng độ chênh lệch); do đó, sắt sulphat (FeSO₄) được sử dụng là chất đánh dấu ở nồng độ 1167 mg FeSO₄/kg chất khô hỗn hợp thức ăn bằng với tổng hàm lượng sắt của 572 mg Fe/kg

tổng chất khô. Ở 0 giờ, FeSO_4 được bổ sung vào hỗn hợp thức ăn mà được định lượng trong lò phản ứng trong khoảng 60 phút. Các mẫu được lấy ra sau 20 phút, được làm khô, và được phân tích hàm lượng của sắt, và đã phát hiện ra rằng sản phẩm giàu FeSO_4 rời lò phản ứng 12-13 giờ sau khi định lượng FeSO_4 đến hỗn hợp thức ăn đầu vào, và nồng độ tối đa của Fe ở 355 mg/kg được tìm thấy ở 12,5 giờ sau khi bắt đầu.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp sản xuất sản phẩm biến đổi dạng rắn của cơ chất sinh khối, trong đó sản phẩm biến đổi dạng rắn là sản phẩm của sự biến đổi của một hoặc nhiều chất có protein và/hoặc các hydrat cacbon có nguồn gốc từ cơ chất sinh khối, phương pháp này bao gồm:

(a) chuẩn bị cơ chất của sinh khối bao gồm các hydrat cacbon và chất có protein có nguồn gốc từ hạt đậu nành, hạt cải dầu, hoặc các hỗn hợp của chúng, trong đó ít nhất 20% theo trọng lượng của sinh khối bao gồm các hydrat cacbon và các chất có protein có nguồn gốc từ các hạt đậu nành, các hạt cải dầu hoặc hỗn hợp của chúng, tùy ý ở dạng hỗn hợp thêm với hydrat cacbon và chất có protein có nguồn gốc từ một hoặc nhiều hạt đậu tằm, các hạt đậu Hà Lan, các hạt hướng dương, các hạt đậu lupin, ngũ cốc, và các loại cỏ;

(b) trộn cơ chất với vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống, mà vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống không là, và không bao gồm, nấm men sống, và bổ sung nước với lượng mà tạo ra hỗn hợp ủ ban đầu có hàm lượng nước từ 30% đến 70% theo trọng lượng, và tỷ lệ của mật độ khối ướt so với mật độ khối khô từ 0,60 đến 1,45;

(c) ủ hỗn hợp ủ ban đầu trong khoảng 1-240 giờ ở nhiệt độ 15-70 °C, và

(d) thu hồi sản phẩm biến đổi dạng rắn từ hỗn hợp đã được ủ;

trong đó bước ủ được thực hiện dưới dạng quy trình dòng chảy cả khối liên tục theo chiều dọc, bể ủ không khuấy với đầu vào đối với hỗn hợp và các phụ gia và đầu ra đối với sản phẩm biến đổi dạng rắn và

trong đó việc vận chuyển sinh khối được thực hiện nhờ lực hấp dẫn.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước tiền xử lý cơ chất trước khi trộn với vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống, bằng một hoặc nhiều phương pháp được chọn từ phân rã, nghiền, đóng băng, xử lý nhiệt, xử lý áp suất, xử lý siêu âm, xử lý thủy nhiệt, xử lý axit và xử lý kiềm.

3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó ít nhất 30% theo trọng lượng của sinh khối, bao gồm các hydrat cacbon và chất có protein có nguồn gốc từ một hoặc nhiều hạt đậu nành được bóc vỏ tùy ý và/hoặc được tách béo tùy ý, các hạt cải dầu đã tách béo tùy ý, hoặc các hỗn hợp của chúng.

4. Phương pháp theo điểm 3, trong đó trọng lượng của sinh khối bao gồm các hydrat cacbon và chất có protein có nguồn gốc từ các hạt đậu nành được bóc vỏ tùy ý và/hoặc được tách béo tùy ý, các hạt cải dầu đã tách béo tùy ý, hoặc các hỗn hợp của chúng được chọn từ ít nhất 40%, ít nhất 50%, ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 80%, và ít nhất 90% theo trọng lượng của sinh khối.
5. Phương pháp theo điểm 1, trong đó sinh khối bao gồm một hoặc nhiều các oligosaccarit và các polysaccarit và tùy ý còn bao gồm các loại dầu và các chất béo.
6. Phương pháp theo điểm 1, trong đó sản phẩm biến đổi dạng rắn của cơ chất là sản phẩm của sự biến đổi của chất có protein, hoặc của sự biến đổi của các hydrat cacbon, hoặc của sự biến đổi của chất có protein và hydrat cacbon có nguồn gốc từ các hạt của đậu nành, đậu Hà Lan, đậu lupin, hoặc hướng dương, hoặc từ lúa mì, ngô, hoặc hạt cải dầu.
7. Phương pháp theo điểm 1, trong đó vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống là một hoặc nhiều vi sinh vật mà có thể tạo ra một hoặc nhiều axit hữu cơ, từ hydrat cacbon được chọn từ axit formic, axit axetic, axit propionic, axit butyric, axit lactic, và axit succinic.
8. Phương pháp theo điểm 1, trong đó vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống là một hoặc nhiều vi sinh vật mà có thể tạo ra một hoặc nhiều rượu, từ các hydrat cacbon.
9. Phương pháp theo điểm 1, trong đó vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống là chỉ được chọn từ:

Lactobacillus

Lactococcus

Streptococcus

Pediococcus

Enterococcus

Leuconostoc

Weisella

Bifidobacterium

Bacillus

Brevibacillus

Propionibacterium

Clostridium

Trichoderma

và

Aspergillus.

10. Phương pháp theo điểm 1, trong đó vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống được chọn từ một hoặc nhiều chủng *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, và *Weisella*, và trong đó hỗn hợp ủ ban đầu được ủ ở nhiệt độ 15-50 °C.

11. Phương pháp theo điểm 1, trong đó vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống được chọn từ các chủng *Bacillus*, và trong đó hỗn hợp ủ ban đầu được ủ ở nhiệt độ 20-60 °C.

12. Phương pháp theo điểm 1, trong đó vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống được chọn từ các chủng *Bifidobacterium*, và trong đó hỗn hợp ủ ban đầu được ủ ở nhiệt độ của 20-45 °C.

13. Phương pháp theo điểm 1, trong đó hỗn hợp ủ ban đầu được ủ trong 2 đến 180 giờ.

14. Phương pháp theo điểm 1, trong đó nước được bổ sung vào cơ chất với lượng mà tạo ra hỗn hợp ủ ban đầu có tỷ lệ của mật độ khối ướt so với mật độ khối khô từ 0,65 đến 1,40.

15. Phương pháp theo điểm 1, trong đó nước được bổ sung vào cơ chất của sinh khối với lượng mà tạo ra hỗn hợp ủ ban đầu có tỷ lệ của mật độ khối ướt so với mật độ khối khô được chọn từ 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 1,00, 1,10, 1,15, 1,20, 1,25, 1,30, và 1,35.

16. Phương pháp theo điểm 1, trong đó hàm lượng nước trong hỗn hợp ủ ban đầu là từ 35% đến 70% theo trọng lượng.

17. Phương pháp theo điểm 1, trong đó hàm lượng nước trong hỗn hợp ủ ban đầu được chọn từ 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, và 65%.

18. Phương pháp theo điểm 1, trong đó vi sinh vật sống hoặc sự kết hợp của các vi sinh vật sống trên được sử dụng với lượng từ 10^3 đến 10^{11} CFU (các đơn vị hình thành khuẩn lạc) trên mỗi g cơ chất nêu trên.

19. Phương pháp theo điểm 1, còn bao gồm bổ sung một hoặc nhiều chất hỗ trợ sản xuất được chọn từ các enzym, các thành phần thực vật, và các tác nhân sản xuất vô cơ và hữu cơ vào một hoặc nhiều cơ chất và hỗn hợp ủ ban đầu.

20. Phương pháp theo điểm 1, còn bao gồm bổ sung α -galactosidaza vào một hoặc nhiều cơ chất và hỗn hợp ủ ban đầu.
21. Phương pháp theo điểm 1, còn bao gồm bổ sung chế phẩm α -galactosidaza vào một hoặc nhiều cơ chất và hỗn hợp ủ ban đầu với lượng từ 0,05 đến 50 đơn vị α -galactosidaza trên mỗi gam chất khô của cơ chất của sinh khối.
22. Phương pháp theo điểm 1, còn bao gồm bể ủ không khuấy theo chiều dọc được đóng.
23. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bước ủ trên được thực hiện dưới các điều kiện kỵ khí.
24. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bể ủ không khuấy là loại bể theo chiều dọc, dạng hình trụ hoặc đa diện tròn.
25. Phương pháp theo điểm 1, trong đó diện tích phần trên của bể ủ không khuấy là nhỏ hơn diện tích phần dưới.
26. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bể ủ không khuấy có tấm cách nhiệt hoặc vỏ có lỗ thoát nhiệt.
27. Phương pháp theo điểm 1, trong đó độ đầy của bể ủ được giữ không đổi.