



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

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

(11)



2-0004520

(51) **A61K 35/00**
2024.01

(13) **Y**

(21) 2-2025-00402

(22) 07/04/2023

(67) 1-2023-02315

(45) 25/11/2025 452

(43) 25/05/2023 422A

(76) 1. Đinh Thị Kim Hoa (VN)

Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên, tổ 10 xã Quyết Thắng, thành phố
Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên

2. Đoàn Lan Phương (VN)

Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt
Nam, số 18, đường Hoàng Quốc Việt, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

(54) **QUY TRÌNH SẢN XUẤT BỘT TRÚNG CẦU GAI (ECHINOIDEA) THỦY PHÂN
BẰNG ENZYM ALCALAZA**

(21) 2-2025-00402

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất bột trứng cầu gai thủy phân bằng enzym alcalaza bao gồm các bước:

(a1) xử lý nguyên liệu: rửa sạch trứng cầu gai, bổ sung nước, nghiền nhỏ, xử lý với sóng siêu âm;

(a2) thủy phân trứng cầu gai: bổ sung enzym alcalaza, tiến hành thủy phân hoàn toàn khối dịch trứng cầu gai nêu trên;

(a3) diệt enzym và diệt vi sinh vật: nâng nhiệt độ của dịch sau thủy phân, sau đó để nguội tới nhiệt độ phòng;

(a4) lọc thô bán thành phẩm: bằng máy vắt ly tâm, thu được dịch lọc chứa các axit amin tự do, oligopeptit và protein hòa tan phân tử lượng thấp và pha dầu;

(a5) lọc tinh phần dịch lọc: cho dịch lọc thu được vào thùng chứa kín chịu áp suất, sử dụng bơm nén nâng áp suất thùng chứa, mở van đưa dịch lọc qua hệ thống các màng xenluloza axetat được bố trí liên hoàn, để thu được các oligopeptit hòa tan bị giữ lại trên màng lọc; và

(a6) thu hồi các axit amin tự do, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp được giữ lại trên màng lọc, sấy phun, thu được sản phẩm bột trứng cầu gai thủy phân giàu axit amin, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp, phù hợp cho mục đích tạo ra các sản phẩm chức năng giàu giá trị dinh dưỡng, dễ hấp thụ.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất bột trứng cầu gai thủy phân bằng enzym alcalaza (Alcalase).

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Cầu gai hay còn gọi là Nhum biển hay Nhím biển, có tên khoa học *Echinoidea*, là tên gọi chung của một lớp thuộc ngành Động vật da gai (*Echinodermata*), sinh sống ở các đại dương. Hiện nay, cầu gai có khoảng 800 loài đang sống và 2500 loài đã tuyệt chủng.

Vỏ của cầu gai có hình cầu và nhiều gai, do đó mà chúng được gọi là cầu gai. Khối lượng thịt cầu gai (còn gọi là trứng nhum) rất ít so với tổng thể khối vỏ của chúng. Các thớ thịt được cấu tạo thành hình sao từ 5-8 cánh, màu vàng hoặc cam, bám dọc theo vỏ gần như rộng.

Cầu gai có mặt ở hầu hết các vùng biển trên thế giới, sống trong rạn san hô, từ vùng thủy triều đến độ sâu khoảng 70 m, sống trên thềm biển, đáy đá và vùi trong cát biển.

Trong nước, cầu gai phân bố ở ven biển Miền Trung và Quần đảo Hoàng Sa. Ở vùng Côn Đảo: phát hiện được 13 loài thuộc 9 họ. Ở Vịnh Nha Trang phát hiện 7 loài. Tại vùng biển Vịnh Phong Vân - Bến Gò, Vịnh Thái Lan, Phú Yên, Khánh Hòa, Phan Thiết thường xuất hiện nhiều loài có giá trị kinh tế cao. Trên thế giới, cầu gai phân bố rộng ở vùng Ấn Độ-Tây Thái Bình Dương, vùng biển Bắc Đại Tây Dương từ eo biển Anh sang Mỹ.

Cầu gai là loài sinh vật có giá trị dược phẩm và thực phẩm rộng rãi ở các nước nhiệt đới và cận nhiệt đới. Theo các nghiên cứu của các nhà khoa học trên thế giới, cầu gai có nhiều hoạt tính như: chống ung thư, chống oxy hóa, kháng khuẩn.

Ở Việt Nam, cầu gai được sử dụng chủ yếu là để ăn tươi, các sản phẩm chế biến từ trứng cầu gai chưa phổ biến, mới chỉ một vài địa phương sử dụng trứng cầu gai để chế biến thành một số sản phẩm như: cháo cầu gai (Phan Thiết); mắm cầu gai, chả cầu gai (Trung Bộ)... Các nước phát triển trên thế giới chế biến và tiêu thụ

trứng cầu gai rất nhiều, các sản phẩm làm từ trứng cầu gai đã trở nên quen thuộc, đặc biệt là ở Nhật Bản, các nước Châu Âu, Nam Mỹ. Một số nghiên cứu về cầu gai cho thấy, thành phần ăn được của cầu gai (tuyến sinh dục hay thường gọi là trứng) có giá trị dinh dưỡng và giá trị dược học rất cao. Các nhà nghiên cứu hiện nay đang dùng cầu gai để tìm hiểu về các bệnh như ung thư, Alzheimer's, Parkinson và bệnh teo cơ (muscular dystrophy). Bởi vì có khá nhiều di thể trong cầu gai liên hệ đến các bệnh Alzheimer, Parkinson và một số di thể gây ung thư nơi người. Do có nhiều giá trị dinh dưỡng và dược liệu quý như trên nên cầu gai hiện nay mới được thu hoạch từ biển tự nhiên và chỉ lấy trứng để chế biến thành thực phẩm. Tuy nhiên, các phương pháp chế biến mới chỉ dừng lại ở các món sơ chế ăn trực tiếp hoặc làm nguyên liệu bổ trợ cho các sản phẩm thực phẩm khác.

Ở Việt Nam, các sản phẩm chế biến từ trứng cầu gai chưa trở nên phổ biến, mới chỉ có một số sản phẩm được chế biến ở một số vùng: Ở vùng ven biển Phan Thiết: Trứng cầu gai thường được ăn sống với mù tạt, sau đó vắt chanh vào, đánh kỹ rồi dùng ngay; hoặc nấu cháo chung với hải sản, cháo có vị ngọt như cháo trứng gà. Ăn trứng cầu gai theo cách Trung bộ: người miền Trung chế biến nhiều món ăn từ trứng cầu gai như: kho, chung với hột vịt để ăn cơm, nấu cháo cùng với hải sản khác (hàu, sò, nghêu); làm chả: cho trứng cầu gai tươi vào cái tô lớn, thêm một ít gia vị như tiêu, hành, nước mắm rồi đánh nhuyễn, sau đó đổ vào chảo dầu chiên; khi miếng chả chín vàng vớt ra, để ráo; dùng với bánh đa (bánh tráng dày nhiều mè), rau sống, chuối chát xắt mỏng. Tuy nhiên, ngon nhất là làm mắm. Để làm mắm, chọn cầu gai nhỏ, trứng chắc, màu đỏ thẫm ngả sang đen: cho trứng vào chum đất, rải lên lớp muối và tiêu rồi đập nắp lại. Muối chừng 15 ngày đã có mắm. Mắm đặc sền sệt màu hồng ăn với thịt ba chỉ heo cuốn bánh tráng và rau sống. Để có được hương vị riêng, đặc sắc của mắm cầu gai, người ta chỉ dùng tỏi và tiêu nguyên hạt. Tại Phú Quốc (Kiên Giang), cách thưởng thức cầu gai đơn giản và nhanh nhất là cắt đôi cầu gai, tách lấy trứng, ăn kèm với mù tạt. Cầu kỳ hơn một chút, có người thích thưởng thức cầu gai bằng cách múc trứng cho vào chén, rửa nước biển, sau đó cho mù tạt cùng một ít nước cốt chanh, đánh kỹ, dùng ngay.

Trứng cầu gai được chế biến rất phổ biến ở các nước phát triển trên thế giới, nó được coi là một món ăn thơm ngon, bổ dưỡng, một loại đặc sản rất đắt tiền.

Những sản phẩm chế biến từ trứng cầu gai là đông lạnh, muối hoặc các sản phẩm lên men. Quy trình sơ chế thường là:

Nguyên liệu cầu gai → Rửa → Xử lý phần vỏ → Bỏ nội tạng → Thu trứng → Làm sạch trứng → Phân loại, bao gói → Cấp đông → Bảo quản đông → Sử dụng sống.

Nếu sản xuất Mizu – uni (cầu gai tắm nước lên men): ở Nhật Bản, trứng cầu gai tươi sau khi làm sạch được trộn đều nồng độ muối 30 – 40%, sau đó cho vào chậu gỗ, đậy kín và cho lên men ở nhiệt độ thấp (lạnh).

Nếu sản xuất Dorouni (mắm cầu gai lên men): Trứng cầu gai tươi sau khi được làm sạch sẽ được rửa lần nữa bằng cồn loãng 6 – 9%, sau đó rút hết alcol. Đem trứng đã rút alcol trộn với 25 – 30% muối, cho vào chậu, đậy nắp lên men trong nhiệt độ thấp. Cầu gai đỏ tía là nguyên liệu tốt nhất cho loại sản phẩm này hoặc cầu gai đỏ cũng được sử dụng.

Nếu sản xuất Neri – uni (trứng cầu gai lên men): Loại sản phẩm này đắt tiền nhất trong các loại sản phẩm biển lên men ở Nhật. Nguyên liệu sản xuất loại sản phẩm này là cầu gai đỏ tía, ngoài ra có thể sử dụng cầu gai đỏ. Sau khi trứng được làm sạch, trộn với 20 – 30% muối rồi đặt trên phen tre vài giờ, cho vào thùng đậy kín, bổ sung đường và rượu ngọt Sake (rượu lúa Nhật), đảo trộn đều hoặc nhào bằng máy trộn. Tiếp tục cho lên men, sản phẩm được đóng vào chai thủy tinh.

Trứng cầu gai được sử dụng trong các món sushi Nhật: sushi cầu gai được gọi là Uni cầu gai, và có cả dạng đóng trong chai. Cầu gai được trộn với nước tương để ăn dưới dạng sashimi, trộn với lòng đỏ trứng phết trên các món hải sản nướng vỉ.

Tại Tây Ban Nha: món cầu gai (erizos de mar) ngon nhất là ăn tươi ngay khi đánh bắt tại các vùng bờ biển ven Địa Trung Hải và Đại Tây Dương; đôi khi phần trứng của cầu gai được nhúng nước sôi rồi chiên với trứng hay đút lò và dùng kèm với rượu nho hay rượu táo. Hiện nay tại vùng Asturias, các nhà sản xuất hải sản đã đưa ra thị trường những sản phẩm đóng hộp chế biến từ cầu gai như: Trứng cầu gai

đóng hộp (Caviar de orocios); Pa tê cầu gai (paté de orocios) làm bằng trứng cầu gai trộn thêm cá và bơ Asturian.

Tại Pháp: nước sốt “Oursinade” là loại sốt đặc biệt làm bằng trứng cầu gai trộn với lòng đỏ trứng gà và bơ. Sốt được dùng để làm các món cá hấp.

Ở Hoa Kỳ: Tiểu bang California có riêng một ủy ban: “California Sea Urchin Commission” để thẩm định chất lượng của cầu gai. Có 3 hạng riêng biệt:

California Gold: phần trứng màu vàng sáng hay cam đỏ, chắc và dạng như bơ, có mùi thơm của biển (mùi iot - rong biển), vị ngọt và mềm như bơ, khối lượng lớn và đầy đặn. Đây là loại có chất lượng thượng hạng, thường dùng để làm món sushi.

Premium California: trứng màu vàng, hay cam nhưng không sáng như hạng trên, chắc và có mùi thơm, vị của hạt 'nutty'. Phần trứng của loại này không được nguyên vẹn, có thể hơi nát. Loại này có thể dùng làm sushi, nấu súp, trộn trong salad.

Select California: trứng vàng xám, có khi hơi nâu, mùi thơm của biển, hơi nhão và vị hơi nhạt. Loại này thường đóng gói và gửi đi dưới dạng đông đá. Loại này dùng để nấu súp, làm sốt hay pha trộn với hải sản khác.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất quy trình sản xuất bột đậm thủy phân, giàu axit amin, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp, có khả năng hòa tan trong nước từ trứng cầu gai bằng phương pháp thủy phân sử dụng enzym alcalaza. Công nghệ này sẽ giải quyết vấn đề protein của trứng cầu gai khó hấp thụ, khó tiêu hóa. Bên cạnh đó, việc tạo ra sản phẩm bột đậm sấy khô sẽ giúp giải quyết vấn đề ứ đọng trứng cầu gai tươi, xử lý không kịp gây mất giá trị dinh dưỡng cho trứng cầu gai tươi. Sản phẩm bột cầu gai sấy khô sẽ bảo quản được 1 năm, tăng thêm giá trị thương mại cho cầu gai. Bột đậm cầu gai hoàn toàn có thể được sử dụng bổ sung vào các công thức chế biến thực phẩm chức năng cho người già và trẻ nhỏ do tính dễ hấp thụ và giàu dinh dưỡng của nó. Hơn thế nữa, việc nghiên cứu tối ưu hóa quy trình thủy phân đã tạo ra một quy trình công nghệ hoàn toàn tự động, có thể áp dụng vào dây truyền sản xuất công nghiệp tự động hóa.

Để đạt được mục đích này, sáng chế đề xuất quy trình sản xuất bột trứng cầu gai thủy phân bằng enzym alcalaza bao gồm các bước:

(a1) xử lý nguyên liệu:

rửa sạch trứng cầu gai (*Echinoidea*) bằng nước sạch, sau đó rửa tiếp bằng dung dịch muối NaCl 0,9%, để loại bỏ tạp chất, dịch, phần gân cơ thuộc khoang cơ thể của trứng cầu gai và khử mùi tanh,

bổ sung nước vào trứng cầu gai theo tỷ lệ 0,8-1,2/1 thể tích/khối lượng, lắc đều,

nghiền nhỏ trứng cầu gai trong nước bằng máy nghiền, xử lý với sóng siêu âm ở tần số 20-30 KHz trong một thời gian nhất định, để tăng hiệu quả thủy phân sau đó;

(a2) thủy phân trứng cầu gai:

bổ sung enzym alcalaza vào khối dịch trứng cầu gai (cơ chất) nêu trên với tỷ lệ enzym/cơ chất là 1,1-1,5% thể tích, trong đó enzym alcalaza được sản xuất từ *Bacillus licheniformis*, enzym này có hoạt tính 2,4 AU/g và nồng độ 1,18 g/mL,

tiến hành thủy phân hoàn toàn khối dịch trứng cầu gai nêu trên tại nhiệt độ nằm trong khoảng từ 45 đến 50°C, pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6 và thời gian nằm trong khoảng từ 6 đến 6,5 giờ, trong quá trình này, toàn bộ khối dịch được khuấy đảo liên tục với tốc độ nằm trong khoảng từ 960 đến 2500 vòng/phút;

(a3) diệt enzym và diệt vi sinh vật:

nâng nhiệt độ của dịch sau thủy phân đến 90-95°C và giữ ở nhiệt độ này trong thời gian 15-20 phút để tiêu diệt enzym và tiêu diệt vi sinh vật, sau đó để nguội hỗn hợp tới nhiệt độ phòng, thời gian làm nguội trong khoảng 60 đến 90 phút, thu được bán thành phẩm;

(a4) lọc thô bán thành phẩm:

bằng việc sử dụng máy vắt ly tâm ở tốc độ nằm trong khoảng từ 4000 đến 6500 vòng/phút trong thời gian 15-20 phút, thu được dịch lọc và bã rắn, trong đó dịch lọc chứa các axit amin tự do, oligopeptit và protein hòa tan phân tử lượng thấp và pha dầu, còn bã chứa các thành phần trứng cầu gai không thủy phân được, bã rắn này được sấy khô và được sử dụng trong thức ăn gia súc;

(a5) lọc tinh phần dịch lọc:

cho dịch lọc thu được ở bước (a4) vào thùng chứa kín chịu áp suất,

sử dụng bơm nén đưa áp suất thùng chứa lên tới 304-557,3 kPa (3-5,5 atm),

sau khi đạt đến áp suất này, tiến hành mở van đưa dịch lọc qua hệ thống các màng xenluloza axetat được bố trí liên hoàn với các kích thước lỗ của các màng lần lượt là 100 kDa, 30 kDa, 10 kDa, 5kDa và 1kDa, để thu được các axit amin tự do, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp hòa tan bị giữ lại trên màng lọc và dịch lọc tinh; và

(a6) thu hồi các axit amin tự do, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp được giữ lại trên màng lọc, sấy phun hỗn hợp của chúng ở nhiệt độ dưới 10°C cho tới khi đạt độ ẩm nhỏ hơn 10%, thu được sản phẩm bột trứng cầu gai thủy phân giàu axit amin, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp, phù hợp cho mục đích tạo ra các sản phẩm chức năng giàu giá trị dinh dưỡng, dễ hấp thụ,

tùy ý có thể bổ sung axit sorbic với tỷ lệ 0,2-0,4% theo khối lượng của sản phẩm bột để bảo quản.

Quy trình sản xuất bột trứng cầu gai thủy phân bằng enzym alcalaza theo sáng chế có các đặc trưng sau:

- Lần đầu tiên trên thế giới cũng như ở Việt Nam quy trình thủy phân trứng cầu gai được giới thiệu.
- Sản phẩm đã được loại bỏ lipit là thành phần dễ bị oxy hóa cũng như là thủy phân trong quá trình bảo quản, gây hư hỏng cho thực phẩm, tạo ra mùi khó chịu cũng như là điều kiện cho các vi sinh vật không mong muốn phát triển.
- Toàn bộ axit amin tự do, oligopeptit và các protein phân tử lượng thấp (khối lượng dưới 100kDa) đã được thu gom thông qua hệ thống siêu màng lọc, việc này đảm bảo sản phẩm thu được là bột đậm thủy phân dễ hấp thụ và dễ tiêu hóa, hoàn toàn phù hợp cho đối tượng trẻ nhỏ và người cao tuổi.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là sơ đồ của quy trình sản xuất bột trứng cầu gai thủy phân bằng enzym alcalaza công nghiệp theo một phương án thực hiện sáng chế để làm ví dụ.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, các khía cạnh theo sáng chế và các phương án thực hiện ưu tiên của chúng sẽ được mô tả một cách chi tiết hơn. Tuy nhiên, lưu ý rằng phạm vi của sáng chế không chỉ giới hạn ở các phương án cụ thể được mô tả dưới đây dưới dạng ví dụ minh họa cho sáng chế và cần hiểu rằng phạm vi của sáng chế sẽ bao gồm tất cả các cải biến, các thay đổi tương đương khác của chúng như được xác định bởi phần yêu cầu bảo hộ.

Như được minh họa trên Hình 1, quy trình sản xuất bột trứng cầu gai thủy phân bằng enzym alcalaza theo sáng chế bao gồm các bước:

(a1) Xử lý nguyên liệu:

Việc xử lý nguyên liệu được tiến hành theo phương pháp hóa học. Trứng cầu gai (*Echinoidea*) sau khi được loại bỏ khỏi vỏ và các bộ phận cơ thể khác được rửa sạch, ví dụ 3 lần, bằng nước sạch để loại bỏ tạp chất bao gồm bụi bẩn, cặn... bám trên bề mặt trứng, sau đó được rửa tiếp bằng dung dịch muối NaCl, ví dụ NaCl 0,9%, để loại bỏ hoàn toàn dịch, phần gân cơ thuộc khoang cơ thể của trứng cầu gai và khử mùi tanh. Trứng cầu gai được bảo quản lạnh, ví dụ ở -20°C , cũng có thể được sử dụng. Trứng cầu gai sau khi đã đông được rửa sạch theo cách như nêu trên.

Bổ sung nước vào trứng cầu gai theo tỷ lệ 0,8-1,2/1 thể tích/khối lượng, lắc đều. Tiếp đó, nghiền nhỏ trứng cầu gai trong nước bằng máy nghiền, xử lý với sóng siêu âm ở tần số 20-30KHz, chẳng hạn 25KHz trong một thời gian nhất định, chẳng hạn 20 phút, để tăng hiệu quả thủy phân sau đó. Mục đích của việc nghiền nhỏ là làm nhỏ kích thước nguyên liệu, tạo điều kiện tốt hơn cho sự thâm nhập của sóng siêu âm cũng như enzym được sử dụng ở công đoạn tiếp theo. Sóng siêu âm được sử dụng để tăng cường phá vỡ các liên kết của protein với protein và protein với các thành phần khác của nguyên liệu, tăng hiệu quả thủy phân ở bước tiếp theo.

Theo một phương án thực hiện, trong đó tỷ lệ nước được bổ sung nước vào trứng cầu gai (thể tích/khối lượng) là 0,8-0,85/1, 0,85-0,9/1, 0,9-0,95/1, 0,95-1/1, 1-1,05/1, 1,05-1,1/1, 1,1-1,15/1, hoặc 1,15-1,2/1, hoặc tỷ lệ bất kỳ được chọn ra từ các khoảng này.

(a2) Thủy phân trứng cầu gai:

Bổ sung enzym alcalaza vào khối dịch trứng cầu gai (cơ chất) nêu trên với tỷ lệ enzym/cơ chất là 1,1-1,5% thể tích. Theo một phương án thực hiện, enzym alcalaza được sử dụng là Alcalase thương mại (Alcalase[#] hoặc Alcalase[@]) được sản xuất từ *Bacillus licheniformis* và được cung cấp bởi Novozyme (Kopenhagen, Đan Mạch), enzym này có hoạt tính là 2,4 AU/g và nồng độ 1,18 g/mL.

Tiến hành thủy phân (hoàn toàn) khối dịch trứng cầu gai nêu trên tại nhiệt độ nằm trong khoảng từ 45 đến 50°C, pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6 và thời gian nằm trong khoảng từ 6 đến 6,5 giờ, trong quá trình này, toàn bộ khối dịch được khuấy đảo liên tục bằng cánh khuấy của thiết bị thủy phân tự động với tốc độ cánh khuấy nằm trong khoảng từ 960 đến 2500 vòng/phút.

Nhiệt độ và pH được lựa chọn dựa trên khoảng nhiệt độ và pH tối ưu của enzym alcalaza được nhà sản xuất khuyến cáo sử dụng. Thời gian thủy phân được xác định dựa trên hiệu quả thủy phân cũng như hàm lượng protein hòa tan tổng số thu được. Kết quả nghiên cứu cho thấy với các thông số công nghệ nêu trên, thì từ 6 tới 6,5 giờ hàm lượng protein hòa tan thu được là lớn nhất, bên cạnh đó nếu tiếp tục kéo dài thời gian thủy phân thì hàm lượng protein hòa tan thu được sẽ có xu hướng giảm, điều này có thể được giải thích là do sự tương tác của sản phẩm và enzym. Trong suốt quá trình thủy phân, toàn bộ khối dịch sẽ được khuấy đảo liên tục nhằm làm tăng sự tiếp xúc của enzym với cơ chất protein.

Theo một phương án thực hiện, trong đó tỷ lệ enzym/cơ chất (% thể tích) là 1,1-1,15%, 1,15-1,2%, 1,2-1,25%, 1,25-1,3%, 1,3-1,35%, 1,35-1,4%, 1,4-1,45%, hoặc 1,45-1,5%, hoặc tỷ lệ bất kỳ được chọn ra từ các khoảng này.

Theo một phương án thực hiện, trong đó nhiệt độ thủy phân là trị số bất kỳ được chọn ra từ khoảng 45-50°C, ví dụ 45, 46, 47, 48, 49, hoặc 50°C.

Theo một phương án thực hiện, trong đó pH thủy phân là trị số bất kỳ được chọn ra từ khoảng 5,5-6, ví dụ 5,5; 5,55; 5,6; 5,65; 5,7; 5,75; 5,8; 5,85; 5,9; 5,95; hoặc 6.

Theo một phương án thực hiện, trong đó thời gian thủy phân là trị số bất kỳ được chọn ra từ khoảng 6-6,5 giờ, ví dụ 6; 6,1; 6,2; 6,3; 6,4; hoặc 6,5 giờ.

Theo một phương án thực hiện, trong đó tốc độ khuấy trong suốt quá trình thủy phân là trị số bất kỳ được chọn ra từ khoảng 960 đến 2500 vòng/phút, ví dụ các trị số bằng $(960 + \text{bội số của } 5 \text{ hoặc của } 10)$ và nhỏ hơn hoặc bằng 2500 vòng/phút.

(a3) Diệt enzym và diệt vi sinh vật:

Dịch sau thủy phân được nâng nhiệt độ đến 90°C và giữ ở nhiệt độ này trong thời gian 15-20 phút để diệt (bất hoạt) enzym và vi sinh vật. Sau đó, hỗn hợp được để nguội tới nhiệt độ phòng (ví dụ, đến 25°C), thời gian làm nguội trong khoảng 60 đến 90 phút, thu được bán thành phẩm.

Việc bất hoạt enzym là rất cần thiết, vì nếu enzym còn hoạt động thì nó có thể tương tác với chính sản phẩm của quá trình thủy phân tạo ra sản phẩm không mong muốn. Bên cạnh đó dịch sau khi thủy phân gồm các axit amin, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp, đây là môi trường dinh dưỡng lý tưởng cho vi sinh vật phát triển, chính vì vậy cần phải gia nhiệt để tiêu diệt các vi sinh vật bất lợi có thể xâm nhập vào trong suốt quá trình thủy phân và xử lý nguyên liệu. Bên cạnh đó, cũng không thể gia nhiệt ở nhiệt độ cao hơn 90°C và thời gian dài hơn 15 phút vì như vậy có thể gây biến tính các oligopeptit cũng như các protein phân tử lượng thấp, gây mất giá trị dinh dưỡng của sản phẩm.

(a4) Lọc thô bán thành phẩm:

Sau khi đã thủy phân hoàn toàn bởi enzym alcalaza, diệt enzym và diệt vi sinh vật, bán thành phẩm thu được là một nhũ tương không đồng nhất bao gồm các axit amin tự do, oligopeptit và protein hòa tan phân tử lượng thấp, protein chưa được thủy phân, pha dầu và các thành phần dinh dưỡng khác có trong trứng cầu gai. Mục tiêu của quá trình lọc thô là chỉ thu các axit amin, oligopeptit cũng như các protein phân tử lượng thấp, chính vì vậy việc đầu tiên là phải tách những thành

phần này ra khỏi hỗn hợp các chất khác. Bằng việc sử dụng máy vắt ly tâm ở tốc độ nằm trong khoảng từ 4000 đến 6500 vòng/phút trong thời gian 15-20 phút, các axit amin, oligopeptit cũng như các protein phân tử lượng thấp sẽ tan trong nước và tách ra khỏi các thành phần không tan còn lại, thu được dịch lọc và bã riêng biệt. Dịch lọc thu được chứa axit amin tự do, oligopeptit và protein hòa tan phân tử lượng thấp và pha dầu. Phần bã chứa các thành phần trứng cầu gai không thủy phân được sẽ được loại bỏ. Thành phần pha dầu trong dịch lọc bao gồm lipit không tan trong nước và nhẹ hơn sẽ nằm trên lớp dịch trong, thành phần này sẽ được loại bỏ khỏi dịch lọc trong bước (a5).

Theo một phương án thực hiện, trong đó tốc độ ly tâm là trị số bất kỳ được chọn ra từ khoảng 4000-6500 vòng/phút, ví dụ các trị số bằng $(4000 + \text{bội số của } 5 \text{ hoặc của } 10)$ và nhỏ hơn hoặc bằng 6500 vòng/phút.

(a5) Lọc tinh phần dịch lọc thu được ở bước (a4):

Để tách các axit amin tự do, oligopeptit và protein hòa tan ra khỏi hỗn hợp dầu – nước có trong dịch lọc thu được ở bước (a4), thiết bị lọc áp suất cao và màng lọc siêu cấp được sử dụng. Trong đó, dịch lọc thu được ở bước (a4) được cho vào thùng chứa kín chịu áp suất, sau đó sử dụng bơm nén đưa áp suất thùng chứa lên tới 304-557,3 kPa (3-5,5 atm), sau khi đạt đến áp suất này, tiến hành mở van đưa dịch lọc qua hệ thống các màng xenluloza axetat được bố trí liên hoàn với các kích thước lỗ của các màng lần lượt là 100 kDa, 30 kDa, 10 kDa, 5kDa và 1kDa, để thu được các axit amin tự do, oligopeptit và protein hòa tan phân tử lượng thấp bị giữ lại trên màng lọc và dịch lọc tinh. Các tầng kích thước lỗ của các màng lọc nêu trên đảm bảo toàn bộ các axit amin tự do, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp được giữ lại trên các màng lọc.

Theo một phương án thực hiện, trong đó áp suất thùng chứa được nâng lên tới 304-354,6 kPa (3-3,5 atm), 354,6-405,3 kPa (3,5-4 atm), 405,3-456 kPa (4-4,5 atm), 456-506,6 kPa (4,5-5 atm), hoặc 506,6-557,3 kPa (5-5,5 atm), hoặc trị số bất kỳ được chọn ra từ các khoảng này.

(a6) Thu hồi các axit amin tự do, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp:

Những thành phần mong muốn có trong sản phẩm cuối cùng như các axit amin, oligopeptit, protein đều được giữ lại trên màng lọc. Dùng nước sạch rửa giải đầy toàn bộ các thành phần này ra khỏi màng lọc và sấy phun hỗn hợp của chúng ở nhiệt độ dưới 10°C cho tới khi đạt độ ẩm nhỏ hơn 10%, thu được sản phẩm bột trứng cầu gai thủy phân (bột đậm thủy phân) giàu axit amin, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp, phù hợp cho mục đích tạo ra các sản phẩm chức năng giàu giá trị dinh dưỡng, dễ hấp thụ. Tùy ý, có thể bổ sung axit sorbic với tỷ lệ 0,2-0,4% theo khối lượng của sản phẩm bột để bảo quản.

Theo một phương án thực hiện, trong đó tỷ lệ axit sorbic được bổ sung là trị số bất kỳ được chọn ra từ khoảng 0,2-0,4% nêu trên, ví dụ 0,2; 0,25; 0,3; 0,35 hoặc 0,4%.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất bột trứng cầu gai thủy phân, thu được bởi quy trình theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề xuất sản phẩm thực phẩm, sản phẩm dinh dưỡng hoặc sản phẩm chức năng, bao gồm hoặc được sản xuất từ bột trứng cầu gai thủy phân thu được bởi quy trình theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên hoặc bột trứng cầu gai thủy phân thu được bởi khía cạnh thứ hai nêu trên.

Lưu ý rằng, trong bản mô tả này, từ "khoảng" đi kèm với các trị số hoặc khoảng trị số để biểu thị sai số của trị số hoặc các trị số đầu mút của các khoảng trị số đó, sai số này có thể lên tới $\pm 5\%$.

Cũng lưu ý rằng, mặc dù các khoảng con của các khoảng đã nêu không được chỉ ra cụ thể, tuy nhiên đối với sáng chế này, phạm vi của các khoảng đã nêu có thể được điều chỉnh lại. Theo một cách thức, có thể điều chỉnh lại phạm vi của các khoảng đã nêu bằng cách loại trừ bớt một hoặc một số trị số bất kỳ là đầu mút hoặc nằm trong khoảng đã nêu đó, ví dụ phạm vi của khoảng nhiệt độ thủy phân 45-50°C đã nêu có thể được điều chỉnh lại bằng cách loại trừ trị số 45, 47 hoặc 50°C thuộc khoảng đó. Theo một cách thức khác, có thể điều chỉnh lại phạm vi của các khoảng đã nêu bằng cách lấy khoảng con bất kỳ trong khoảng đã nêu, mặc dù trước đó không chỉ ra các trị số đầu mút của khoảng con đó, ví dụ, có thể lấy

khoảng con từ 45 đến 47°C trong khoảng từ 45 đến 50°C nêu trên, hoặc có thể giới hạn lại phạm vi của khoảng đã nêu chỉ ở một hoặc một số trị số bất kỳ được chọn ra trong khoảng đã nêu đó.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “thể tích/khối lượng” được hiểu tương ứng với “mL/mg”, “L/kg” hoặc các quy đổi đơn vị tương đương khác.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Quy trình sản xuất bột trứng cầu gai thủy phân bằng enzym alcalaza bao gồm các bước:

(a1) Xử lý nguyên liệu:

1 kg trứng cầu gai cấp đông ở nhiệt độ -20°C được rã đông ở điều kiện nhiệt độ thường. Sau đó toàn bộ khối trứng được rửa qua 3 lần nước sạch để loại bỏ tạp chất bám trên bề mặt trứng cầu gai. Toàn bộ trứng cầu gai sau đó được nhúng ngập trong chậu nước chứa dung dịch muối NaCl 0,9% và tiến hành rửa nhẹ nhàng kết hợp loại bỏ toàn bộ phần gân cơ thuộc khoang cơ thể của trứng cầu gai. Sau đó trứng cầu gai được để trên khay có lỗ thoát nước và để ráo.

Trứng cầu gai sau khi để ráo được cho vào thiết bị nghiền trực vít và bổ sung 1 lít nước, bật máy nghiền để xay nhỏ nguyên liệu. Nguyên liệu sau khi nghiền nhỏ được đưa vào thiết bị phát sóng siêu âm dạng thanh ở tần số 25KHz trong 20 phút.

(a2) Thủy phân trứng cầu gai:

Sau đó, khối dịch trứng cầu gai được bổ sung 11 gam enzym alcalaza và được đưa vào thiết bị lên men tự động có cánh khuấy. Cài đặt các thông số cho thiết bị lên men bao gồm nhiệt độ 45°C, pH = 5,5 và thời gian là 6 giờ, tốc độ cánh khuấy 1200 vòng/phút.

(a3) Diệt enzym và diệt vi sinh vật:

Kết thúc quá trình thủy phân, tắt cánh khuấy và cài đặt nhiệt độ của thiết bị lên 90°C. Theo dõi khi nào máy báo nhiệt độ khối dịch đạt 90°C thì bắt đầu tính thời gian 15 phút. Sau 15 phút, tắt hoàn toàn thiết bị và để nguội ở nhiệt độ phòng, thu được bán thành phẩm.

(a4) Lọc thô bán thành phẩm:

Sau 60 phút, hỗn hợp thủy phân – bán thành phẩm đã đạt tới nhiệt độ 25°C, toàn bộ khối dịch được đưa vào máy vắt ly tâm. Tiến hành ly tâm với tốc độ 5000 vòng/phút trong 15 phút, thu được dịch lọc và bã rắn, trong đó dịch lọc chứa các axit amin tự do, oligopeptit và protein hòa tan phân tử lượng thấp và pha dầu, còn bã chứa các thành phần trứng cầu gai không thủy phân được, bã rắn này được sấy khô và được sử dụng trong thức ăn gia súc. Bã rắn thu được đem sấy khô, đóng gói sử dụng làm chất dẫn dụ bổ sung vào thức ăn gia súc.

(a5) Lọc tinh phần dịch lọc:

Dịch lọc thô nêu trên được đưa dần vào một thùng chứa kín chịu áp suất, sử dụng bơm nén đưa áp suất lên tới 304 kPa (3 atm). Sau khi áp suất đạt đến 304 kPa (3 atm), tiến hành mở van đưa dịch lọc qua hệ thống các màng xenluloza axetat được bố trí liên hoàn với các kích thước lỗ của các màng lần lượt là 100 kDa, 30 kDa, 10 kDa, 5kDa và 1kDa.

(a6) Thu hồi các axit amin tự do, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp:

Các axit amin tự do, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp hòa tan bị giữ lại trên màng theo định kỳ được thu hồi, sấy khô ở nhiệt độ dưới 10°C cho tới khi đạt độ ẩm nhỏ hơn 10%, thu được sản phẩm bột trứng cầu gai thủy phân giàu axit amin, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp.

Bột trứng cầu gai thủy phân thu được có thể được bổ sung axit sorbic với tỷ lệ bằng 0,2% so với khối lượng bột sau sấy để bảo quản được tốt hơn.

Bột trứng cầu gai thủy phân thu được có thể sử dụng làm thực phẩm bổ sung dinh dưỡng có tác dụng tăng cường sinh lực, bồi bổ cơ thể cho người suy nhược.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất bột trứng cầu gai (*Echinoidea*) thủy phân bằng enzym alcalaza bao gồm các bước:

(a1) xử lý nguyên liệu:

rửa sạch trứng cầu gai bằng nước sạch, sau đó rửa tiếp bằng dung dịch muối NaCl 0,9%, để loại bỏ tạp chất, dịch, phần gân cơ thuộc khoang cơ thể của trứng cầu gai và khử mùi tanh,

bổ sung nước vào trứng cầu gai theo tỷ lệ 0,8-1,2/1 thể tích/khối lượng, lắc đều,

nghiền nhỏ trứng cầu gai trong nước bằng máy nghiền, xử lý với sóng siêu âm ở tần số 20-30 KHz trong 20 phút, để tăng hiệu quả thủy phân sau đó;

(a2) thủy phân trứng cầu gai:

bổ sung enzym alcalaza vào khối dịch trứng cầu gai (cơ chất) nêu trên với tỷ lệ enzym/cơ chất là 1,1-1,5% thể tích, trong đó enzym alcalaza được sản xuất từ *Bacillus licheniformis*, enzym này có hoạt tính 2,4 AU/g và nồng độ 1,18 g/mL,

tiến hành thủy phân hoàn toàn khối dịch trứng cầu gai nêu trên tại nhiệt độ nằm trong khoảng từ 45 đến 50°C, pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6 và thời gian nằm trong khoảng từ 6 đến 6,5 giờ, trong quá trình này, toàn bộ khối dịch được khuấy đảo liên tục với tốc độ nằm trong khoảng từ 960 đến 2500 vòng/phút;

(a3) diệt enzym và diệt vi sinh vật:

nâng nhiệt độ của dịch sau thủy phân đến 90-95°C và giữ ở nhiệt độ này trong thời gian 15-20 phút để tiêu diệt enzym và tiêu diệt vi sinh vật, sau đó để nguội hỗn hợp tới nhiệt độ phòng, thời gian làm nguội trong khoảng 60 đến 90 phút, thu được bán thành phẩm;

(a4) lọc thô bán thành phẩm:

bằng việc sử dụng máy vắt ly tâm ở tốc độ nằm trong khoảng từ 4000 đến 6500 vòng/phút trong thời gian 15-20 phút, thu được dịch lọc và bã rắn, trong đó dịch lọc chứa các axit amin tự do, oligopeptit và protein hòa tan phân tử lượng thấp và pha dầu, còn bã chứa các thành phần trứng cầu gai không thủy phân được, bã rắn này được sấy khô và được sử dụng trong thức ăn gia súc;

(a5) lọc tinh phần dịch lọc:

cho dịch lọc thu được ở bước (a4) vào thùng chứa kín chịu áp suất, sử dụng bơm nén đưa áp suất thùng chứa lên tới 304-557,3 kPa (3-5,5 atm), sau khi đạt đến áp suất này, tiến hành mở van đưa dịch lọc qua hệ thống các màng xenluloza axetat được bố trí liên hoàn với các kích thước lỗ của các màng lần lượt là 100 kDa, 30 kDa, 10 kDa, 5kDa và 1kDa, để thu được các axit amin tự do, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp hòa tan bị giữ lại trên màng lọc và dịch lọc tinh; và

(a6) thu hồi các axit amin tự do, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp được giữ lại trên màng lọc, sấy phun hỗn hợp của chúng ở nhiệt độ dưới 10°C cho tới khi đạt độ ẩm nhỏ hơn 10%, thu được sản phẩm bột trứng cầu gai thủy phân giàu axit amin, oligopeptit và protein phân tử lượng thấp, phù hợp cho mục đích tạo ra các sản phẩm chức năng giàu giá trị dinh dưỡng, dễ hấp thụ,

tùy ý có thể bổ sung axit sorbic với tỷ lệ 0,2-0,4% theo khối lượng của sản phẩm bột để bảo quản.

Hình 1

