



(12) **BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ**

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

(11) 
1-0019890

(51)⁷ **A23L 1/20, A23C 11/10**

(13) **B**

-
- | | | | | | |
|------|--|------------|------------|-----------------|------------|
| (21) | 1-2014-03640 | (22) | 18.03.2013 | | |
| (86) | PCT/JP2013/057668 | 18.03.2013 | (87) | WO2013/150887A1 | 10.10.2013 |
| (30) | 2012-086401 | 05.04.2012 | JP | | |
| | 2013-019492 | 04.02.2013 | JP | | |
| (45) | 25.10.2018 | 367 | (43) | 26.01.2015 | 322 |
| (73) | Sapporo Holdings Limited (JP)
20-1, Ebisu 4-chome, Shibuya-ku, Tokyo 150-8522 Japan | | | | |
| (72) | TSUCHIMOTO Norihiko (JP), NAKAKITA Yasukazu (JP), HARASHIMA Hiroyuki (JP) | | | | |
| (74) | Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD) | | | | |
-

(54) **SẢN PHẨM LÊN MEN SỮA ĐẬU NÀNH, PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT SẢN PHẨM NÀY, THỰC PHẨM VÀ ĐỒ UỐNG CHỨA SẢN PHẨM NÀY**

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất sản phẩm lên men sữa đậu nành bao gồm bước xử lý enzym để thủy phân sữa đậu nành bằng hydrolaza liên kết peptit để thu được cơ chất lên men, và bước lên men để lên men cơ chất lên men bằng vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis* để thu được sản phẩm lên men. Sáng chế cũng đề cập đến sản phẩm lên men sữa đậu nành, thực phẩm và đồ uống chứa sản phẩm lên men sữa đậu nành này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến sản phẩm lên men sữa đậu nành và phương pháp sản xuất sản phẩm này. Sáng chế cũng đề cập đến đồ uống lên men sữa đậu nành và phương pháp sản xuất đồ uống này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Sữa đậu nành được sản xuất bằng cách chế biến đậu nành được biết là thực phẩm lành mạnh ít chứa calo, ít chứa cholesterol và cũng giàu chất bổ dưỡng có nguồn gốc từ đậu nành.

Sữa đậu nành chứa các chất phụ gia khác nhau đã được biết và ví dụ, tài liệu sáng chế 1 bộc lộ về đồ uống sữa đậu nành mang tính axit có vị đắng và độ se tối thiểu, chứa pectin hoặc natri cacboxymetylxenluloza làm chất ổn định và có độ pH được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 4,5 đến 5,2. Tương tự, tài liệu sáng chế 2 bộc lộ đồ uống sữa đậu nành có tính axit bao gồm xenluloza dạng xơ không hòa tan với đường kính trung bình nằm trong khoảng từ 0,01 đến 1µm.

Cũng đã biết về các thực phẩm sữa đậu nành đã chế biến, như sản phẩm lên men sữa đậu nành được điều chế bằng cách lên men sữa đậu nành bằng vi khuẩn sinh axit lactic. Tài liệu sáng chế 3 bộc lộ về sữa chua được điều chế bằng cách trộn kết hợp vi khuẩn sinh axit lactic với sữa đậu nành.

Danh mục tài liệu viện dẫn

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: Công bố đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản chưa xét nghiệm số 2004-261139

Tài liệu sáng chế 2: Công bố đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản chưa xét nghiệm số 2007-68410

Tài liệu sáng chế 3: Công bố đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản chưa xét nghiệm số 2002-262771

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề cần được giải quyết bởi sáng chế

Vi khuẩn *Lactobacillus delbrueckii* loài phụ *bulgaricus* và *Streptococcus thermophilus* là các vi khuẩn sinh axit lactic được sử dụng rộng rãi để lên men axit lactic của sữa. Các vi khuẩn sinh axit lactic này cũng được sử dụng để lên men sữa đậu nành. Tuy nhiên, sản phẩm lên men sữa đậu nành được lên men bằng các vi khuẩn sinh axit lactic này có vấn đề do hương vị của nó chưa phù hợp, có mùi sữa đậu nành nồng đậm và không có chất lượng tươi mới.

Ngoài ra, đồ uống lên men sữa đậu nành thường bị phân tách thành hai hoặc nhiều lớp do sự đông tụ protein và quá trình tương tự trong khi bảo quản. Thậm chí ngay cả khi các chất phụ gia khác nhau như nêu trong các tài liệu sáng chế 1 và 2 ở trên được bổ sung, thì vẫn không thể hoàn toàn ngăn chặn được sự phân tách trong nhiều trường hợp.

Do đó, mục đích của sáng chế là đề cập đến phương pháp sản xuất sản phẩm lên men sữa đậu nành với mùi sữa đậu nành được giảm thỏa đáng và có hương vị vừa ý. Mục đích khác của sáng chế là đề cập đến sản phẩm lên men sữa đậu nành với mùi sữa đậu nành được giảm một cách thích hợp và có hương vị vừa ý và đề cập đến thực phẩm và đồ uống chứa sản phẩm này.

Mục đích khác nữa của sáng chế là đề cập đến đồ uống lên men sữa đậu nành với đặc tính đông tụ được giảm và độ ổn định được cải thiện và phương pháp sản xuất đồ uống nêu trên.

Cách thức giải quyết vấn đề

Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất sản phẩm lên men sữa đậu nành, bao gồm bước xử lý enzym để thủy phân sữa đậu nành bằng hydrolaza liên kết peptit để thu được cơ chất lên men và bước lên men để lên men cơ chất lên men bằng vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis* để thu được sản phẩm lên men.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng, sản phẩm lên men sữa đậu

nành với mùi sữa đậu nành được khử một cách thích hợp trong sản phẩm lên men sữa đậu nành và có hương vị tươi mát có thể đạt được bằng cách sử dụng các vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis* mà chủng này chưa được sử dụng để lên men sữa đậu nành trước đây làm vi khuẩn lên men. Nhờ có bước lên men bằng vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis*, phương pháp sản xuất theo sáng chế có thể tạo ra được sản phẩm lên men sữa đậu nành với mùi sữa đậu nành được khử một cách thích hợp và có hương vị vừa ý.

Tuy nhiên, các vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis* có vấn đề ở chỗ, tốc độ lên men của chúng rất chậm khi sữa đậu nành được sử dụng làm cơ chất. Do đó, cần phải có thời gian dài để sản xuất sản phẩm lên men sữa đậu nành, chi phí sản xuất tăng cao và nguy cơ nhiễm bẩn cũng cao, khiến cho khó có thể sử dụng trong quy mô công nghiệp. Tuy nhiên, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng, tốc độ lên men có thể được tăng lên nếu cơ chất lên men sử dụng là sữa đậu nành mà đã được thủy phân trước bằng hydrolaza liên kết peptit. Do đó, phương pháp sản xuất theo sáng chế bao gồm các bước nêu trên có hiệu quả sản xuất cao và có thể được sử dụng ở quy mô công nghiệp.

Phương pháp sản xuất này có thể còn bao gồm bước bất hoạt enzym để bất hoạt hydrolaza liên kết peptit trong cơ chất lên men. Bằng cách thực hiện bước bất hoạt enzym, có thể giảm thiểu quá trình thủy phân bằng hydrolaza liên kết peptit trong bước lên men và bằng cách đó tiếp tục giảm vị đắng của sản phẩm lên men sữa đậu nành.

Hydrolaza liên kết peptit có thể là một hoặc nhiều loại enzym được chọn từ nhóm bao gồm các peptidaza và proteaza. Enzym cũng có thể bao gồm exopeptidaza hoặc exoproteaza. Điều này sẽ cho phép giảm tiếp mùi sữa đậu nành và có thể làm cho sản phẩm lên men sữa đậu nành có hương vị vừa ý hơn.

Hàm lượng axit amin tự do trong cơ chất lên men có thể cao hơn 6000 ppm khối lượng (phần triệu khối lượng), tính theo tổng khối lượng của cơ chất lên men. Nếu hàm lượng axit amin tự do nằm trong phạm vi này, có thể thu được sản phẩm lên men sữa đậu nành có vị đắng được giảm một cách thích hợp

và có cảm giác vị giác vừa ý.

Vi khuẩn sinh axit lactic có thể là một hoặc nhiều chủng được chọn trong số các chủng *Lactobacillus brevis* SBC8803 (số lưu giữ: FERM BP-10632), chủng *Lactobacillus brevis* SBC8027 (số lưu giữ: FERM BP-10630), chủng *Lactobacillus brevis* SBC8044 (số lưu giữ: FERM BP-10631), chủng *Lactobacillus brevis* JCM1061, chủng *Lactobacillus brevis* JCM1065 và chủng *Lactobacillus brevis* JCM1170. Chủng *Lactobacillus brevis* SBC8803 là được ưu tiên hơn trong số các chủng nêu trên. Việc sử dụng các vi khuẩn sinh axit lactic này làm vi khuẩn lên men sẽ cho phép mùi sữa đậu nành thậm chí được giảm hơn nữa và có thể tạo ra sản phẩm lên men sữa đậu nành với chất lượng tươi mát hơn và hương vị vừa ý hơn.

Chủng *Lactobacillus brevis* SBC8803 là chủng đã được lưu giữ tại International Patent Organism Depositary – IPOD of National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (Central 6, 1-1, Higashi 1-chome, Tsukuba City, Ibaraki Prefecture, Japan 305-8566) vào ngày 28 tháng 06 năm 2006, với mã số là FERM BP-10632. Trong toàn bộ bản mô tả sáng chế, chủng này được gọi là "chủng SBL88".

Chủng *Lactobacillus brevis* SBC8027 được lưu giữ tại International Patent Organism Depositary (IPOD) of National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (Central 6, 1-1, Higashi 1-chome, Tsukuba City, Ibaraki Prefecture, Japan 305-8566) vào ngày 28 tháng 06 năm 2006, với mã số FERM BP-10630, và chủng *Lactobacillus brevis* SBC8044 được lưu giữ tại International Patent Organism Depositary (IPOD) of National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (Central 6, 1-1, Higashi 1-chome, Tsukuba City, Ibaraki Prefecture, Japan 305-8566) vào ngày 28 tháng 06 năm 2006, với mã số FERM BP-10631.

Sáng chế cũng đề cập đến sản phẩm lên men sữa đậu nành có thể thu được bằng phương pháp sản xuất được nêu ở trên. Chủng *Lactobacillus brevis* đã được biết từ lâu là vi khuẩn sinh axit lactic được sử dụng trong thực phẩm lên men và độ an toàn của nó trong cơ thể đã được xác định một cách đầy đủ. Do độ

an toàn cao của nó trong cơ thể, sản phẩm lên men sữa đậu nành nêu trên có thể được tiêu hóa liên tục trong thời gian dài.

Sáng chế cũng đề cập đến thực phẩm và đồ uống chứa sản phẩm lên men sữa đậu nành thu được bằng phương pháp sản xuất được nêu ở trên. Việc tiêu thụ thực phẩm và đồ uống này cho phép tiêu hóa hiệu quả các chất dinh dưỡng có nguồn gốc từ đậu nành mà được chứa rất nhiều trong sữa đậu nành. Ngoài ra, vì sản phẩm lên men sữa đậu nành có mùi sữa đậu nành được khử một cách thích hợp và có hương vị vừa ý, nên nó có thể được tiêu hóa một cách dễ dàng bởi những người không thích mùi sữa đậu nành.

Đối với phương pháp sản xuất này, sản phẩm lên men sữa đậu nành có thể là đồ uống lên men sữa đậu nành. Khi sản phẩm lên men sữa đậu nành là đồ uống lên men sữa đậu nành, phương pháp có thể còn bao gồm bước bổ sung để bổ sung chất kìm hãm sự đông tụ protein vào sản phẩm lên men.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng, trong khi thông thường không thể ngăn chặn hữu hiệu quá trình phân tách thành hai hoặc nhiều lớp khi bảo quản, ngay cả khi chất kìm hãm sự đông tụ protein được bổ sung trong khi sản xuất đồ uống lên men sữa đậu nành, việc bổ sung chất kìm hãm sự đông tụ protein ở thời điểm quy định, sau bước lên men, cho phép sản xuất đồ uống lên men sữa đậu nành mà ngăn chặn được sự đông tụ và độ ổn định được cải thiện. Tức là, nhờ sử dụng bước bổ sung, có thể thu được đồ uống lên men sữa đậu nành với sự đông tụ được ngăn chặn và độ ổn định được cải thiện.

Ngoài ra, vì phương pháp sản xuất theo sáng chế sử dụng vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis* làm vi khuẩn lên men, phương pháp này có thể tạo ra đồ uống lên men sữa đậu nành có mùi sữa đậu nành được khử một cách thích hợp và có hương vị tươi mát. Hơn nữa, vì phương pháp sản xuất này bao gồm bước xử lý enzym, tốc độ lên men được gia tăng và do đó, phương pháp này có năng suất sản xuất và tính hữu dụng ở quy mô công nghiệp là cao.

Chất kìm hãm sự đông tụ protein có thể là một hoặc nhiều loại được chọn từ trong số các polysacarit, pectin, cacboxymetylxenluloza và natri alginat

đậu nành. Do đó, có thể tiếp tục kìm hãm sự đông tụ các thành phần không hòa tan trong nước. Ngoài ra, chất kìm hãm sự đông tụ protein có thể là hỗn hợp của polysacarit và pectin đậu nành. Chất này thậm chí cho phép tiếp tục kìm hãm sự đông tụ các thành phần không hòa tan trong nước.

Phương pháp sản xuất này còn có thể bao gồm, sau bước xử lý enzym, bước đồng nhất hóa để đồng nhất hóa sản phẩm xử lý ít nhất một lần. Bước này cho phép đồ uống lên men sữa đậu nành thu được với sự đông tụ được ngăn chặn hơn nữa và có độ ổn định được cải thiện hơn nữa.

Bước đồng nhất hóa có thể được thực hiện ít nhất một lần sau bước lên men. Điều này cho phép đồ uống lên men sữa đậu nành thu được với sự đông tụ được ngăn chặn thêm nữa và có độ ổn định được cải thiện hơn nữa.

Sáng chế cũng đề cập đến đồ uống lên men sữa đậu nành có thể thu được bằng phương pháp sản xuất được nêu ở trên. Vì đồ uống lên men sữa đậu nành đã ngăn chặn sự đông tụ và có độ ổn định được cải thiện, nên không có sự phân tách thành hai hoặc nhiều lớp trong khi bảo quản và tương tự và có vẻ bên ngoài bắt mắt. Chủng *Lactobacillus brevis* từ lâu đã được biết là vi khuẩn sinh axit lactic được sử dụng trong thực phẩm lên men và độ an toàn của nó trong cơ thể đã được xác định một cách thích hợp. Nhờ độ an toàn cao của nó trong cơ thể, đồ uống lên men sữa đậu nành nêu trên có thể được tiêu hóa liên tục trong thời gian dài.

Sáng chế còn đề cập đến đồ uống lên men sữa đậu nành, trong đó đường kính hạt trung bình của thành phần không hòa tan trong nước là 1,3µm hoặc nhỏ hơn.

Nếu đồ uống lên men sữa đậu nành có đường kính hạt trung bình của thành phần không hòa tan trong nước nằm trong phạm vi xác định này, có khả năng ngăn chặn được sự đông tụ và độ ổn định được cải thiện, cũng như giảm thiểu sự phân tách thành hai hoặc nhiều lớp trong khi bảo quản.

Như được sử dụng ở đây, "đường kính hạt trung bình của thành phần không hòa tan trong nước" có nghĩa là đường kính hạt trung bình được tính theo

công thức (1) sau đây, dựa vào sự phân bố cỡ hạt được xác định bằng thiết bị phân tích sự phân bố cỡ hạt (ví dụ, LS130 320 của Beckman Coulter, Inc.) sau khi tạo huyền phù đồ uống lên men sữa đậu nành trong dịch phân tán tới nồng độ 2-3% thể tích/thể tích (dung dịch axit sulfuric 0,2% trọng lượng/thể tích).

[Công thức 1]

$$(\text{Đường kính hạt trung bình} = 10^\mu) \quad (1)$$

Ở đây, μ là giá trị được tính theo công thức (2) sau đây.

[Công thức 2]

$$\mu = \frac{1}{100} \sum_{j=1}^n q_j \left(\frac{\log_{10} x_j + \log_{10} x_{j+1}}{2} \right) \quad (2)$$

Trong công thức (2), x_j và q_j được xác định như sau. Trước tiên, phạm vi đường kính hạt cần xác định (đường kính hạt lớn nhất: x_1 , đường kính hạt nhỏ nhất: x_{n+1}) được chia ra thành n số phần bằng nhau trên thang loga, với mỗi một phần đường kính hạt biểu thị là $[x_j, x_{j+1}]$ ($j = 1, 2, \dots, n$). Tương tự, số lượng hạt tương đối (% chênh lệch) ở mỗi một phần đường kính hạt $[x_j, x_{j+1}]$ được biểu thị là q_j ($j = 1, 2, \dots, n$) (tổng của tất cả các vùng là 100%). Đối với mục đích của bản mô tả này, n là 116.

Cụ thể hơn, khi sử dụng thiết bị phân tích sự phân bố cỡ hạt (LS130 320 của nhà cung cấp Beckman Coulter, Inc.), ví dụ, giá trị để chỉ đường kính hạt trung bình X_a được tính theo công thức (3) sau đây, dựa vào sự phân bố cỡ hạt được xác định theo phương thức tán xạ vi sai cường độ phân cực PIDS (polarization intensity difference scattering), với đồ uống lên men sữa đậu nành được tạo huyền phù trong dịch phân tán (dung dịch axit sulfuric 0,2% trọng lượng/thể tích) ở nồng độ 2-3% thể tích/thể tích.

[Công thức 3]

$$X_a = \frac{\sum X_c \times n_c}{\sum n_c} \quad (3)$$

Trong công thức (3), sigma X_c là tổng của các kích thước trung bình của mỗi một kênh và $n_c/\text{sigma } n_c$ là mức đánh giá (%) về các hạt trong mỗi một kênh. Số lượng kênh là 116.

Đồ uống lên men sữa đậu nành cũng có thể là đồ uống chứa chất kìm hãm sự đông tụ protein. Chất kìm hãm sự đông tụ protein có thể là một hoặc nhiều loại được chọn từ trong số các polysacarit, pectin, cacboxymetylxenluloza và natrialginate đậu nành. Điều này sẽ tạo ra đồ uống lên men sữa đậu nành với sự đông tụ của thành phần không hòa tan trong nước được ngăn chặn nhiều hơn nữa. Ngoài ra, chất kìm hãm sự đông tụ protein có thể là hỗn hợp của polysacarit và pectin đậu nành. Điều này sẽ tạo ra đồ uống lên men sữa đậu nành kìm hãm hiệu quả hơn nữa sự đông tụ của thành phần không hòa tan trong nước.

Đồ uống lên men sữa đậu nành có thể là đồ uống thu được bằng cách lên men sữa đậu nành bằng vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis*. Các vi khuẩn sinh axit lactic có thể là một hoặc nhiều chủng được chọn trong số các chủng *Lactobacillus brevis* SBC8803 (số lưu giữ: FERM BP-10632), chủng *Lactobacillus brevis* SBC8027 (số lưu giữ: FERM BP-10630), chủng *Lactobacillus brevis* SBC8044 (số lưu giữ: FERM BP-10631), chủng *Lactobacillus brevis* JCM1061, chủng *Lactobacillus brevis* JCM1065 và chủng *Lactobacillus brevis* JCM1170. Chủng *Lactobacillus brevis* SBC8803 là được ưu tiên hơn trong số các chủng này.

Vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis* chưa được sử dụng cho quá trình lên men sữa đậu nành trong giải pháp kỹ thuật trước. Tuy nhiên, việc sử dụng các vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis* làm vi khuẩn lên men có thể tạo ra đồ uống lên men sữa đậu nành có mùi sữa đậu nành được khử một cách thích hợp và có hương vị tươi mát.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, các phương án thực hiện sáng chế sẽ được giải thích một cách chi tiết hơn, cần hiểu rằng sáng chế không bị giới hạn ở các phương án này.

Như được sử dụng ở đây, "sữa đậu nành" có nghĩa là đồ uống giống sữa thu được bằng cách rửa giải protein và các thành phần khác từ đậu nành bằng nước nóng hoặc tương tự và loại bỏ các chất xơ. "Sữa đậu nành" tốt hơn là có hàm lượng chất rắn đậu nành bằng 8% khối lượng hoặc cao hơn. "Sữa đậu nành" bao gồm, ví dụ, sữa đậu nành thô và sữa đậu nành chưa chế biến.

Phương pháp sản xuất sản phẩm lên men sữa đậu nành

Phương pháp sản xuất sản phẩm lên men sữa đậu nành theo sáng chế bao gồm ít nhất là bước xử lý enzym và bước lên men. Phương pháp này cũng có thể bao gồm bước bất hoạt enzym. Sau đây, từng bước trong số các bước này sẽ được giải thích.

Bước xử lý enzym

Bước xử lý enzym là bước thủy phân sữa đậu nành bằng hydrolaza liên kết peptit. Bằng cách thực hiện bước này, có thể gia tăng hàm lượng axit amin tự do trong cơ chất lên men, bằng cách đó gia tăng tốc độ lên men bởi các vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis*.

Hydrolaza liên kết peptit là enzym thủy phân các liên kết peptit ($-C(=O)-NH-$). Các hydrolaza liên kết peptit bao gồm các peptidaza thủy phân peptit và proteaza thủy phân protein. Ở đây, "peptit" là polyme có ít hơn 100 gốc axit amin được liên kết bằng các liên kết peptit. Tương tự, "protein" là polyme có 100 hoặc nhiều hơn 100 gốc axit amin được liên kết bằng các liên kết peptit.

Hydrolaza liên kết peptit được sử dụng có thể là, ví dụ, một hoặc nhiều loại enzym được chọn từ nhóm gồm các peptidaza và proteaza.

Các peptidaza và proteaza có thể được phân loại thành exopeptidaza và exoproteaza có hoạt tính cắt 1 hoặc 2 gốc axit amin ra khỏi các phần đầu của các trình tự peptit hoặc protein, và các endopeptidaza và endoproteaza có hoạt tính

cắt các peptit hoặc protein trong các trình tự đó.

Hydrolaza liên kết peptit được sử dụng trong bước xử lý enzym có thể là loại có hoạt tính exopeptidaza hoặc hoạt tính exoproteaza. Enzym này sẽ thể hiện tác dụng khử mùi sữa đậu nành trong sản phẩm lên men sữa đậu nành thu được và tác dụng cải thiện hương vị cao hơn nữa. Ngoài ra, enzym có hoạt tính exo cao hơn so với hoạt tính endo có tác dụng nêu trên nổi trội hơn, trong khi enzym không bao gồm hoạt tính endo thậm chí thể hiện tác dụng còn ưu việt hơn nữa.

Hydrolaza liên kết peptit được sử dụng có thể là sản phẩm thương mại. Các ví dụ bao gồm PROTEAX (sản phẩm của Amano Enzyme, Ltd., hỗn hợp của các loại endo và exo, hoạt tính exo mạnh), SUMIZYME ACP-G (sản phẩm của Shinnihon Chemical Co., Ltd., chỉ duy nhất loại exo), proteaza M "AMANO" SD (sản phẩm của Amano Enzyme, Ltd., hỗn hợp của các loại endo và exo, hoạt tính exo mạnh) và SUMIZYME FLAP (sản phẩm của Shinnihon Chemical Co., Ltd., chỉ duy nhất loại exo).

Bước xử lý enzym có thể được thực hiện tới khi hàm lượng axit amin tự do lên đến 6000 ppm khối lượng trong cơ chất lên men thu được, tính theo tổng khối lượng. Bước này có thể khử hoặc loại bỏ vị đắng của sản phẩm lên men sữa đậu nành. Hàm lượng axit amin tự do trong trường hợp này tốt hơn là không lớn hơn 5800 ppm khối lượng và thậm chí tốt hơn nữa là không lớn hơn 5500 ppm khối lượng. Giới hạn dưới của hàm lượng axit amin tự do không bị giới hạn cụ thể, nhưng thông thường sẽ là 1000 ppm khối lượng.

"Hàm lượng axit amin tự do" có thể được xác định, ví dụ, bằng cách lấy mẫu và ly tâm mẫu sữa đậu nành và sau đó, xử lý phần nổi lên trên bề mặt bằng axit clohydric 0,02N và xác định hàm lượng của từng axit amin bằng thiết bị phân tích axit amin (ví dụ, L-8800 của Hitachi High-Technologies Corp.).

Lượng hydrolaza liên kết peptit được bổ sung có thể được xác định một cách thích hợp dựa vào loại hydrolaza liên kết peptit được sử dụng. Ví dụ, khi sử dụng PROTEAX, lượng này có thể nằm trong khoảng từ 0,01U đến 0,7U trên 1g

sữa đậu nành và khi sử dụng SUMIZYME ACP-G, lượng này có thể nằm trong khoảng từ 0,01U đến 0,5U trên 1g sữa đậu nành.

Thời gian xử lý và nhiệt độ xử lý đối với sữa đậu nành sử dụng hydrolaza liên kết peptit có thể được xác định một cách thích hợp theo loại hydrolaza liên kết peptit được sử dụng và lượng được bổ sung và ví dụ, có thể nằm trong khoảng từ 40°C đến 50°C trong thời gian từ 1 đến 3 giờ.

Lượng hydrolaza liên kết peptit được bổ sung và thời gian xử lý và nhiệt độ xử lý đối với sữa đậu nành bằng hydrolaza liên kết peptit có thể được điều chỉnh sao cho hàm lượng axit amin tự do nằm trong khoảng cụ thể ở trên.

Bước bất hoạt enzym

Bước bất hoạt enzym là bước bất hoạt hydrolaza liên kết peptit trong cơ chất lên men. Bước này có thể được thực hiện sau bước xử lý enzym và trước bước lên men, nếu cần. Bằng cách thực hiện bước này, có thể giảm thiểu sự thủy phân bằng hydrolaza liên kết peptit trong bước lên men và bằng cách đó tiếp tục làm giảm vị đắng của đồ uống lên men sữa đậu nành.

Phương pháp bất hoạt enzym có thể được xác định một cách thích hợp theo loại hydrolaza liên kết peptit được sử dụng. Các ví dụ bao gồm phương pháp bất hoạt bằng cách điều chỉnh độ pH, bất hoạt bằng cách gia nhiệt, bất hoạt bằng cách bổ sung dung môi hữu cơ (như etanol) và bất hoạt bằng cách điều chỉnh nồng độ muối. Phương pháp được ưu tiên là phương pháp bất hoạt bằng cách gia nhiệt vì dễ xử lý.

Nhiệt độ gia nhiệt và thời gian gia nhiệt cho phương pháp gia nhiệt có thể được xác định một cách thích hợp theo loại hydrolaza liên kết peptit được sử dụng và ví dụ, có thể nằm trong khoảng từ 60°C đến 100°C trong thời gian từ 30 phút đến 120 phút.

Trong bước bất hoạt enzym, chỉ cần làm giảm một cách thích hợp hoạt tính của hydrolaza liên kết peptit là đủ và không nhất thiết phải bất hoạt hoàn toàn. Mặt khác, theo quan điểm làm giảm hơn nữa vị đắng của đồ uống lên men sữa đậu nành, tỷ lệ dư của hydrolaza liên kết peptit (tỷ số của hoạt tính sau quá

trình xử lý bất hoạt so với hoạt tính được bổ sung) có thể là 10% hoặc thấp hơn. Tỷ lệ này thậm chí có thể là 5% hoặc thấp hơn, 2,5% hoặc thấp hơn hoặc 0% (bất hoạt hoàn toàn).

Bước lên men

Bước lên men là bước lên men cơ chất lên men bằng các vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis*. Trong bước lên men, vi khuẩn sinh axit lactic được bổ sung vào cơ chất lên men thu được bởi bước xử lý enzym trước đó và quá trình lên men axit lactic được thực hiện bởi các vi khuẩn sinh axit lactic để thu được sản phẩm lên men.

Các chất phụ gia không phải vi khuẩn sinh axit lactic cũng có thể được bổ sung vào cơ chất lên men. Các ví dụ về các chất phụ gia này bao gồm các đường (sucroza, maltoza, fructoza, glucoza, stachyoza, rafinoza và đường tương tự), các chất chiết thực vật (ví dụ, chất chiết từ mạch nha), các chất thơm (ví dụ, hương vị sữa chua) và các chất làm ngọt (ví dụ, trehaloza aspartam, sucraloza và axesulfam kali). Khi bước bất hoạt enzym cần được thực hiện, các chất phụ gia nêu trên có thể được bổ sung trước bước bất hoạt enzym. Thuận lợi hơn khi bước bất hoạt enzym cần được hoàn tất bằng quá trình xử lý nhiệt, vì các chất phụ gia có thể được vô trùng đồng thời.

Các vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis* có thể là các chủng SBL88, *Lactobacillus brevis* SBC8027, *Lactobacillus brevis* SBC8044, *Lactobacillus brevis* JCM1061, *Lactobacillus brevis* JCM1065 hoặc chủng *Lactobacillus brevis* JCM1170, vì những chủng này có thể tạo ra các sản phẩm lên men sữa đậu nành có mùi sữa đậu nành thậm chí còn được khử thêm nữa và có hương vị vừa ý với chất lượng tươi mát thậm chí còn cao hơn. Chủng *Lactobacillus brevis* SBC8803 là được ưu tiên hơn trong số các chủng này. Các vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis* có thể là một loại riêng rẽ hoặc hai hoặc nhiều loại kết hợp.

Chủng *Lactobacillus brevis* JCM1061, chủng *Lactobacillus brevis* JCM1065 và chủng *Lactobacillus brevis* JCM1170 có thể được mua từ ngân

hàng tế bào đã biết như Riken BioResource Center hoặc JCRB.

Không có giới hạn cụ thể về điều kiện trong bước lên men, như lượng vi khuẩn sinh axit lactic được sử dụng và nhiệt độ lên men, và các điều kiện thích hợp có thể được hiệu chỉnh theo loại vi khuẩn sinh axit lactic được sử dụng. Ví dụ, khi sử dụng chủng SBL88 làm vi khuẩn sinh axit lactic, vi khuẩn sinh axit lactic này có thể được bổ sung với nồng độ nằm trong khoảng từ 1×10^6 đến 1×10^7 cfu/mL và có thể xác định ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 38°C.

Thời gian lên men tốt hơn là ngắn hơn theo quan điểm về giảm thiểu chi phí sản xuất và giảm thiểu nguy cơ lây nhiễm. Vì phương pháp sản xuất theo sáng chế có bước xử lý enzym được mô tả ở trên, nên có thể rút ngắn thời gian lên men. Do đó, thời gian lên men trong bước lên men có thể là 24 giờ hoặc ngắn hơn. Thời gian lên men cũng có thể là 22 giờ hoặc ngắn hơn hoặc thậm chí là 20 giờ hoặc ngắn hơn.

Sản phẩm lên men sữa đậu nành

Sản phẩm lên men sữa đậu nành thu được bằng phương pháp sản xuất được mô tả ở trên giàu chất bổ dưỡng có nguồn gốc từ đậu nành, trong khi có mùi sữa đậu nành được khử một cách thích hợp và có hương vị tươi mát thỏa mãn. Do đó, sản phẩm lên men sữa đậu nành có thể được sử dụng trực tiếp làm thực phẩm hoặc đồ uống hoặc có thể được sử dụng làm nguyên liệu cho thực phẩm hoặc đồ uống.

Thực phẩm hoặc đồ uống

Thực phẩm hoặc đồ uống theo sáng chế có thể là chính sản phẩm lên men sữa đậu nành, hoặc là thực phẩm hoặc đồ uống chứa sản phẩm lên men sữa đậu nành. Ví dụ về thực phẩm và đồ uống mà là chính sản phẩm lên men sữa đậu nành bao gồm sữa đậu nành, sữa chua và pho mát được lên men. Các ví dụ về thực phẩm và đồ uống chứa sản phẩm lên men sữa đậu nành bao gồm các gia vị được nhũ hóa (bơ thực vật, gia vị, maione và tương tự), các gia vị khác (nước xốt, nước xốt cà chua nấm và tương tự), bánh kẹo (kem, kẹo, caramen, sôcôla và

tương tự) và đồ uống (đồ uống không cồn, đồ uống có cồn và đồ uống tương tự).

Phương pháp sản xuất đồ uống lên men sữa đậu nành

Sản phẩm lên men sữa đậu nành thu được bằng phương pháp sản xuất sản phẩm lên men sữa đậu nành có thể là đồ uống lên men sữa đậu nành. Tức là, phương pháp sản xuất sản phẩm lên men sữa đậu nành có thể được thực hiện theo các bước của phương pháp sản xuất đồ uống lên men sữa đậu nành. Ngoài ra, phương pháp sản xuất đồ uống lên men sữa đậu nành theo sáng chế, ngoài bước xử lý enzym nêu trên, có thể bao gồm thêm bước bất hoạt enzym và bước lên men, cũng như bước điều chế nguyên liệu khởi đầu, bước bổ sung, bước điều chỉnh độ pH, bước đồng nhất hóa hoặc bước trộn kết hợp. Mỗi bước trong số các bước này sẽ được giải thích dưới đây.

Bước điều chế nguyên liệu khởi đầu

Bước điều chế nguyên liệu khởi đầu là bước bổ sung các chất phụ gia vào nguyên liệu khởi đầu sữa đậu nành. Bước điều chế nguyên liệu khởi đầu được thực hiện nếu cần. Ví dụ về các chất phụ gia bao gồm đường (sucroza, maltoza, fructoza, glucoza, stachyoza, rafinoza và đường tương tự), các chất chiết thực vật (ví dụ, chất chiết từ mạch nha), các chất thơm (ví dụ, hương vị sữa chua), các chất làm ngọt (ví dụ, trehaloza, aspartam, sucraloza, axesulfam kali và chất làm ngọt tương tự), chất axit hóa (axit malic, axit xitric, axit suxinic, axit phosphoric và axit axetic), chất tạo màu, gia vị (axit amin và tương tự), chất gel hóa (gồm gellan, natrialginate, carrageenan và thạch) và các muối (natri clorua, kali clorua và magie clorua). Các chất phụ gia này có thể được bổ sung riêng biệt hoặc kết hợp giữa hai hoặc nhiều chất.

Lượng chất phụ gia bổ sung có thể được hiệu chỉnh khi thích hợp theo loại chất phụ gia. Tổng lượng của chất phụ gia thông thường nằm trong khoảng từ 0 đến 10% khối lượng so với tổng lượng sữa đậu nành và các chất phụ gia.

Bước điều chế nguyên liệu khởi đầu có thể được thực hiện trước bước lên men, và ví dụ, bước này có thể được thực hiện trước bước xử lý enzym, hoặc sau bước xử lý enzym và trước bước lên men. Sau khi bổ sung chất phụ gia,

bước vô trùng có thể được thực hiện. Bước vô trùng có thể được thực hiện, ví dụ, bằng cách gia nhiệt đến nhiệt độ 85°C (nhiệt độ cuối là 85°C) hoặc gia nhiệt bằng điện cực như UHT (bước vô trùng nhiệt độ siêu cao), bằng ống, với thiết bị vô trùng hơi nước trực tiếp, thiết bị trao đổi nhiệt hoặc thiết bị hấp vô trùng.

Bước bổ sung

Bước bổ sung là bước để bổ sung chất kìm hãm sự đông tụ protein vào sản phẩm lên men đã thu được ở bước lên men. Nhờ sử dụng bước bổ sung, có thể thu được đồ uống lên men sữa đậu nành với đặc tính đông tụ giảm và độ ổn định được cải thiện. Nếu như bước bổ sung được thực hiện trước bước lên men, sẽ không thể ngăn chặn được sự đông tụ hoặc không thu được đồ uống lên men sữa đậu nành với độ ổn định đầy đủ. Mặt khác, nếu như bước bổ sung được thực hiện sau bước lên men, sự đông tụ có thể được ngăn chặn và đồ uống lên men sữa đậu nành có độ ổn định cao có thể thu được. Thời điểm cho bước bổ sung không bị giới hạn cụ thể, miễn là nó phải sau bước lên men. Khi bước đồng nhất hóa thứ hai được sử dụng như được mô tả dưới đây, bước bổ sung có thể được thực hiện sau bước lên men và trước bước đồng nhất hóa thứ hai, vì như vậy sẽ cho phép các bước sản xuất được đơn giản hơn.

Chất kìm hãm sự đông tụ protein chỉ cần là chất kìm hãm sự đông tụ của protein và cụ thể hơn, chất này có thể là một chất ngăn chặn sự đông tụ của protein trong các điều kiện axit và kìm hãm sự phá vỡ trạng thái nhũ tương do sự đông tụ protein gây ra, bằng cách đó làm ổn định trạng thái nhũ hóa. Ví dụ, chất kìm hãm sự đông tụ protein có thể là chất có thể tác động lên độ nhớt hoặc tạo ra mạng lưới ba chiều, để cho phép thành phần không hòa tan trong nước được duy trì ở trạng thái phân tán. Ví dụ về chất kìm hãm sự đông tụ protein bao gồm chất ổn định, chất ổn định độ nhớt và chất làm đặc được sử dụng làm chất phụ gia thực phẩm.

Ví dụ về chất ổn định, chất ổn định độ nhớt và chất làm đặc bao gồm các polysacarit đậu nành, pectin, carrageenan, natriacboxymetylxenluloza, gồm xanthan, gồm guar, natri alginat, gồm đậu cào cào và chất tương tự. Chất ổn định, chất ổn định độ nhớt và chất làm đặc có thể là các polysacarit đậu nành,

pectin, natricacboxymetyl xenluloza và natri alginat. Nhờ sử dụng các chất này, có thể cải thiện được độ ổn định trong khi cũng ngăn chặn được sự đông tụ của thành phần không hòa tan trong nước. Trong số này, các polysacarit và pectin đậu nành có tác dụng mạnh hơn và hỗn hợp của các polysacarit và pectin đậu nành thậm chí còn có tác dụng mạnh hơn nữa. Các chất này có thể được sử dụng riêng biệt hoặc kết hợp giữa hai hoặc nhiều loại.

Đối với chất kìm hãm sự đông tụ protein, có thể sử dụng các chất ổn định, chất ổn định độ nhớt và chất làm đặc có sẵn trên thị trường. Ví dụ về các sản phẩm thương mại này bao gồm SM600 (hỗn hợp của polysacarit và pectin đậu nành, sản phẩm của San-Ei Gen F.F.I. Inc.), trehaloza, glyxerin, phospholipit và chất tương tự.

Lượng chất kìm hãm sự đông tụ protein bổ sung có thể được hiệu chỉnh một cách thích hợp theo loại chất kìm hãm sự đông tụ protein được sử dụng. Ví dụ, khi chất ổn định thực phẩm, chất làm đặc hoặc chất ổn định độ nhớt được sử dụng làm chất kìm hãm sự đông tụ protein, lượng này có thể được bổ sung tới hàm lượng chất kìm hãm sự đông tụ protein nằm trong khoảng từ 0,1 đến 5,0% khối lượng hoặc từ 0,5 đến 3,0% khối lượng so với toàn bộ sản phẩm lên men.

Bước đồng nhất hóa

Bước đồng nhất hóa là bước đồng nhất hóa sản phẩm xử lý. Bước đồng nhất hóa được thực hiện nếu cần, nhưng việc thực hiện bước này ít nhất một lần có thể tạo ra đồ uống lên men sữa đậu nành mà ngăn chặn hơn nữa sự đông tụ và độ ổn định được gia tăng thêm nữa.

Ví dụ, bước đồng nhất hóa có thể là bước đồng nhất hóa sản phẩm xử lý (cơ chất lên men) sau bước xử lý enzym và trước bước lên men (bước đồng nhất hóa thứ nhất), hoặc bước đồng nhất hóa sản phẩm xử lý (sản phẩm lên men) sau bước lên men (bước đồng nhất hóa thứ hai). Sử dụng ít nhất bước đồng nhất hóa thứ hai sẽ tạo ra hiệu quả cao hơn. Theo cách khác, cả bước đồng nhất hóa thứ nhất và bước đồng nhất hóa thứ hai có thể được sử dụng.

Bước đồng nhất hóa thứ hai có thể được thực hiện sau bước bổ sung và

bước điều chỉnh độ pH. Điều này sẽ cho phép trộn chất kìm hãm sự đông tụ protein và chất điều chỉnh độ pH với sản phẩm lên men để được hoàn thành đồng thời.

Bước đồng nhất hóa sản phẩm xử lý có thể được thực hiện, ví dụ, nhờ sử dụng thiết bị nhũ hóa như thiết bị đồng nhất hóa (ví dụ, Model H-20 của Sanwa Machinery Trading Co., Ltd.) hoặc thiết bị trộn đồng nhất (ví dụ, HIEMARUDA của Izumi Food Machinery Co., Ltd.) để khuấy và trộn sản phẩm xử lý. Các điều kiện đồng nhất hóa có thể được thiết lập một cách thích hợp theo kiểu thiết bị được sử dụng và ví dụ, khi thiết bị đồng nhất hóa (ví dụ, Model H-20 của Sanwa Machinery Trading Co., Ltd.) được sử dụng, quá trình xử lý có thể được thực hiện tại áp suất nằm trong khoảng từ 10 đến 20MPa.

Bước điều chỉnh độ pH

Bước điều chỉnh độ pH là bước điều chỉnh độ pH bằng cách bổ sung chất điều chỉnh độ pH vào sản phẩm lên men thu được từ bước lên men. Trong hầu hết các trường hợp, sản phẩm lên men thu được từ bước lên men sẽ có độ pH khoảng 5,0. Bước điều chỉnh độ pH có thể được thực hiện nếu cần, tùy thuộc vào độ pH của đồ uống lên men sữa đậu nành như là sản phẩm cuối cùng (ví dụ, độ pH = 3,9).

Axit hoặc kiềm thích hợp để bổ sung vào thực phẩm có thể được sử dụng làm chất điều chỉnh độ pH. Ví dụ cụ thể bao gồm các axit như axit phosphoric, axit clohydric, axit xitric, axit malic, axit tatric, axit axetic và axit succinic và các chất kiềm như natri hydroxit, kali hydroxit, natri hydro cacbonat và natri cacbonat.

Bước trộn

Bước trộn là bước trộn các chất phụ gia thực phẩm và thực phẩm với đồ uống lên men sữa đậu nành. Đồ uống lên men sữa đậu nành thu được từ bước xử lý enzym, bước lên men và bước bổ sung có thể được sử dụng trực tiếp làm thực phẩm hoặc đồ uống, hoặc có thể được đưa đến bước trộn nếu cần.

Các chất phụ gia thực phẩm và thực phẩm có thể là thực phẩm, nước trái

cây, rau hoặc sản phẩm tương tự mà được tạo thành chủ yếu từ các chất làm ngọt như aspartam, sucraloza hoặc axesulfam kali, chất thơm, chất bảo quản, chất thơm, chất nhũ hóa, chất axit hóa, chất gel hóa, tinh bột đã xử lý hoặc các muối, các môi trường như nước, các đường, dextrin, lipit, nguyên liệu sữa thô, sữa hoặc sản phẩm tương tự.

Lượng chất phụ gia thực phẩm bổ sung có thể được hiệu chỉnh khi thích hợp theo loại chất phụ gia thực phẩm. Tổng lượng của các chất phụ gia thực phẩm thông thường nằm trong khoảng từ 0,001 đến 20,0% khối lượng đối với tổng lượng sữa đậu nành và các chất phụ gia.

Đồ uống lên men sữa đậu nành

Đồ uống lên men sữa đậu nành theo phương án của sáng chế có đường kính hạt trung bình của thành phần không hòa tan trong nước không lớn hơn $1,3\mu\text{m}$. Nếu đường kính hạt trung bình của thành phần không hòa tan trong nước nằm trong phạm vi này, đồ uống lên men sữa đậu nành sẽ ngăn chặn được sự đông tụ và có độ ổn định cao. Đường kính hạt trung bình của thành phần không hòa tan trong nước tốt hơn không lớn hơn $1,2\mu\text{m}$, tốt hơn nữa không lớn hơn $1,0\mu\text{m}$ và thậm chí tốt hơn nữa không lớn hơn $0,8\mu\text{m}$. Không có giới hạn cụ thể về giới hạn dưới của đường kính hạt trung bình của thành phần không hòa tan trong nước, nhưng thông thường ít nhất là $0,1\mu\text{m}$.

Đường kính hạt trung bình của thành phần không hòa tan trong nước được xác định như ở trên. Thành phần không hòa tan trong nước là thành phần được xác định bằng cách xác định sự phân bố cỡ hạt nêu trên và ví dụ, thành phần này bao gồm các giọt chất béo (dầu sữa đậu nành) và chất kết tụ protein.

Đồ uống lên men sữa đậu nành có thể chứa chất kìm hãm sự đông tụ protein. Chất kìm hãm sự đông tụ protein được sử dụng có thể là một trong số các chất đã nêu ở trên.

Hàm lượng chất kìm hãm sự đông tụ protein tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,1 đến 5,0% khối lượng, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 3,0% khối lượng và thậm chí tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 1,0 đến 2,0% khối

lượng, so với toàn bộ đồ uống lên men sữa đậu nành.

Đồ uống lên men sữa đậu nành tốt hơn đồ uống thu được bằng cách lên men sữa đậu nành bằng các vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis*. Các vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis* được sử dụng có thể là một trong số các loại đã nêu ở trên.

Đồ uống lên men sữa đậu nành cũng có thể chứa các chất phụ gia thích hợp để bổ sung vào thực phẩm, như chất làm ngọt, chất thơm, chất bảo quản, chất axit hóa, chất tạo màu, gia vị, chất gel hóa, các muối và chất tương tự.

Đồ uống lên men sữa đậu nành theo sáng chế có thể thu được, ví dụ, bằng phương pháp sản xuất đồ uống lên men sữa đậu nành theo sáng chế, như được mô tả ở trên.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được giải thích chi tiết hơn dựa vào các ví dụ. Tuy nhiên, sáng chế không bị giới hạn ở các ví dụ được mô tả dưới đây.

Điều chế và đánh giá sản phẩm lên men sữa đậu nành (1)

Sản phẩm lên men sữa đậu nành được điều chế trong điều kiện được thể hiện ở bảng 1 dưới đây, có sử dụng sữa đậu nành (Oishii Unprocessed Soy Milk, sản phẩm của Kikkoman Corp.) làm nguyên liệu khởi đầu.

Nguyên liệu

Vi khuẩn sinh axit lactic

SBL88: *Lactobacillus brevis* SBC8803

SBC8982: *Lactobacillus delbrueckii* loài phụ *bulgaricus* SBC8982

SBC8972: *Streptococcus thermophilus* SBC8972

Peptidaza

SUMIZYME ACP-G (sản phẩm của Shinnihon Chemical Co., Ltd.)

Proteaza

PROTEAX (sản phẩm của Amano Enzyme, Ltd.)

Bước xử lý enzym

Proteaza hoặc peptidaza (hoặc cả hai nếu cả hai enzym này cần được bổ sung) được bổ sung vào sữa đậu nành và quá trình xử lý enzym được thực hiện ở nhiệt độ 45°C trong thời gian 2 giờ.

Bước bất hoạt enzym

Khi hoàn thành quá trình xử lý enzym, đường và xi-rô ngô giàu fructoza được bổ sung đến 2% (trọng lượng/trọng lượng) mỗi thành phần và quá trình xử lý nhiệt được thực hiện ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 60 phút.

Bước lên men

Tiếp theo quá trình xử lý nhiệt, hỗn hợp được làm mát xuống nhiệt độ lên men để thu được cơ chất lên men. Các vi khuẩn sinh axit lactic được bổ sung vào cơ chất lên men với nồng độ 3×10^6 cfu/g. Việc nuôi cấy tĩnh được thực hiện trong thời gian lên men được liệt kê trong bảng 1. Khi hoàn thành quá trình lên men, hỗn hợp được làm mát nhanh chóng và được đánh giá.

Đánh giá cảm quan đối với sản phẩm lên men sữa đậu nành

Sản phẩm lên men sữa đậu nành thu được được đánh bằng giá cảm quan thông qua một hội đồng đánh giá gồm 10 thành viên tham gia đánh giá. Sự đánh giá cảm quan ấn định điểm đánh giá cho mùi sữa đậu nành dựa vào các tiêu chuẩn đánh giá dưới đây, và điểm số trung bình của 10 thành viên tham gia đánh giá được xác định. Các thành viên tham gia đánh giá cũng được yêu cầu thoải mái bình luận tự do về hương vị. Kết quả được thể hiện trong bảng 1.

- Điểm đánh giá -

- 1: Không phát hiện thấy mùi sữa đậu nành
- 2: Phát hiện thấy rất ít mùi sữa đậu nành
- 3: Phát hiện thấy mùi sữa đậu nành đáng kể
- 4: Phát hiện thấy mùi sữa đậu nành đậm

5: Phát hiện thấy mùi sữa đậu nành rất đậm

Xác định hàm lượng axit amin tự do

Hàm lượng axit amin tự do trong cơ chất lên men được xác định bằng phương pháp sau đây. Trước tiên, mẫu xác định được lấy và ly tâm, và sau đó, phần nổi lên trên bề mặt được xử lý bằng axit clohydric 0,02N. Hàm lượng của từng axit amin được định lượng bằng cách sử dụng thiết bị phân tích axit amin (L-8800, sản phẩm của Hitachi High-Technologies Corp.). Từ các giá trị định lượng, hàm lượng của toàn bộ axit amin tự do (ppm khối lượng) được tính toán dựa vào tổng lượng cơ chất lên men. Kết quả được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1

	Vị khuẩn sinh axit lactic	Điều kiện xử lý enzym	Proteaza	Peptidaza	Nhiệt độ lên men (°C)	Thời gian lên men (giờ)	Độ pH sau khi lên men	Cfu sau khi lên men	Axit amin tự do (ppm khối lượng)	Mùi sữa đậu nành (điểm trung bình của 10 thành viên tham gia đánh giá)
Ví dụ 1	SBL88	45°C, 2 giờ	0,01% trọng lượng/trọng lượng	-	30	18	5,19	$8,7 \times 10^8$	2624	1,73
Ví dụ 2	SBL88	45°C, 2 giờ	-	0,01% trọng lượng/trọng lượng	30	18	4,95	$8,4 \times 10^8$	2921	1,36
Ví dụ 3	SBL88	45°C, 2 giờ	0,01% trọng lượng/trọng lượng	0,01% trọng lượng/trọng lượng	30	18	4,37	$1,9 \times 10^9$	5269	1,64
Ví dụ 4	SBL88	45°C, 2 giờ	0,005% trọng lượng/trọng lượng	0,005% trọng lượng/trọng lượng	30	18	4,90	$6,4 \times 10^8$	3546	1,45
Ví dụ so sánh 1	SBL88	45°C, 2 giờ	-	-	30	18	5,84	$1,4 \times 10^8$	880	2,64
Ví dụ so sánh 2	SBC8982	45°C, 2 giờ	-	-	43	5	6,34	$1,1 \times 10^8$	-	2,82
Ví dụ so sánh 3	SBC8982	45°C, 2 giờ	0,01% trọng lượng/trọng lượng	0,01% trọng lượng/trọng lượng	43	5	6,08	$3,0 \times 10^7$	-	3,45

Ví dụ so sánh 4	SBC8972	45°C, 2 giờ	-	-	43	5	5,10	$5,5 \times 10^8$	-	2,27
Ví dụ so sánh 5	SBC8972	45°C, 2 giờ	0,01% trọng lượng/trọng lượng	0,01% trọng lượng/trọng lượng	43	5	4,85	$8,1 \times 10^8$	-	2,82

Sản phẩm lên men sữa đậu nành thu được bằng phương pháp sản xuất theo sáng chế (các ví dụ từ 1 đến 4) có mùi sữa đậu nành được giảm đáng kể (bảng 1). Ngoài ra, nhiều bình luận tự do đề cập đến "cảm giác tươi mát". Mặt khác, trong ví dụ so sánh 1 mà sử dụng chủng SBL88 nhưng không được xử lý enzym, việc khử mùi sữa đậu nành là không thích hợp và tốc độ lên men cực kỳ chậm (tức là, tốc độ giảm độ pH là chậm và tốc độ gia tăng cfu là chậm).

Với các chủng SBC8982 và SBC8972, như các vi khuẩn sinh axit lactic thông thường được sử dụng trong quá trình lên men axit lactic của sữa, mùi sữa đậu nành đậm vẫn còn và hương vị là không mong muốn (các ví dụ so sánh từ 2 đến 5). Hơn nữa, trái lại, mùi sữa đậu nành gia tăng với việc xử lý enzym khi sử dụng các vi khuẩn sinh axit lactic này (các ví dụ so sánh 2 và 3 và các ví dụ so sánh 4 và 5).

Điều chế và đánh giá sản phẩm lên men sữa đậu nành (2)

Sản phẩm lên men sữa đậu nành được điều chế và đánh giá theo cách giống như trong phần Điều chế và đánh giá sản phẩm lên men sữa đậu nành (1) nêu trên, trong các điều kiện được thể hiện ở bảng 2 dưới đây. Kết quả được thể hiện trong bảng 2, cùng với các bình luận tự do tiêu biểu.

Bảng 2

	Vị khuẩn sinh axit lactic	Các điều kiện xử lý enzym	Proteaza	Peptidaza	Nhiệt độ lên men (°C)	Thời gian lên men (giờ)	Độ pH sau khi lên men	Cfu sau lên men	Axit amin tự do (ppm khối lượng)	Bình luận tự do
Ví dụ 3	SBL88	45°C, 2 giờ	0,01% trọng lượng/trọng lượng	0,01% trọng lượng/trọng lượng	30	18	4,37	$1,9 \times 10^9$	5269	Không còn dư vị đáng.
Ví dụ tham chiếu 1	SBL88	45°C, 2 giờ	0,01% trọng lượng/trọng lượng	0,01% trọng lượng/trọng lượng	30	20	4,94	$2,5 \times 10^8$	4563	Không còn dư vị đáng.
Ví dụ tham chiếu 2	SBL88	45°C, 4 giờ	0,01% trọng lượng/trọng lượng	0,01% trọng lượng/trọng lượng	30	20	4,96	$2,2 \times 10^8$	6456	Còn dư vị đáng.
Ví dụ tham chiếu 3	SBL88	45°C, 6 giờ	0,01% trọng lượng/trọng lượng	0,01% trọng lượng/trọng lượng	30	20	4,85	$1,8 \times 10^8$	7622	Còn dư vị đáng.
Ví dụ tham chiếu 4	SBL88	45°C, 2 giờ	0,1% trọng lượng/trọng lượng	0,1% trọng lượng/trọng lượng	30	18	4,83	$1,3 \times 10^9$	15260	Vị đáng nhiều.

Trong các ví dụ tham chiếu 2 và 3 mà có thời gian xử lý enzym tăng lên và ví dụ tham chiếu 4 mà có lượng bổ sung enzym tăng lên, hàm lượng axit amin tự do trong cơ chất lên men được gia tăng (ví dụ 3 và các ví dụ tham chiếu từ 1 đến 4). Trong các ví dụ tham chiếu 2 đến 4 có hàm lượng axit amin tự do vượt trên 6000 ppm khối lượng, mùi sữa đậu nành được giảm, nhưng vẫn còn nhận được nhiều bình luận tự do như "đư vị đắng vẫn còn". Cụ thể, sản phẩm lên men sữa đậu nành trong ví dụ tham chiếu 4 với hàm lượng axit amin tự do vượt trên 15000 ppm khối lượng có mùi sữa đậu nành được giảm một cách thích hợp (mùi sữa đậu nành bằng 1,58 (giá trị điểm số trung bình từ 10 thành viên tham gia đánh giá)), nhưng cũng có vị rất đắng và nhận được các bình luận "khó uống" từ một số thành viên tham gia (bảng 2).

Điều chế và đánh giá về đồ uống lên men sữa đậu nành (1)

Ví dụ 2-1

Sau khi bổ sung 2% khối lượng của đường, 2% khối lượng của đường được đồng phân hóa và 0,15% khối lượng của arginin vào 93,66% khối lượng của sữa đậu nành (Oishii Unprocessed Soy Milk, sản phẩm của Kikkoman Corp.) và trộn, hỗn hợp được vô trùng ở nhiệt độ cuối là 85°C (bước điều chế nguyên liệu khởi đầu).

Sau khi vô trùng, hỗn hợp được làm nguội xuống 45°C, PROTEAX (sản phẩm của Amano Enzyme, Ltd.) và SUMIZYME ACP-G (sản phẩm của Shinnihon Chemical Co., Ltd.) được bổ sung vào 0,01% khối lượng mỗi sản phẩm và sau khi trộn, hỗn hợp được duy trì ở nhiệt độ 45°C trong thời gian 2 giờ (bước xử lý enzym).

Khi hoàn thành bước xử lý enzym, thiết bị đồng nhất hóa (Model H-20 của Sanwa Machinery Trading Co., Ltd.) được sử dụng để đồng nhất hóa với áp suất 15MPa (bước đồng nhất hóa thứ nhất). Tiếp theo, bước xử lý bất hoạt enzym được thực hiện ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 10 phút (bước bất hoạt enzym).

Sau quá trình xử lý nhiệt, hỗn hợp được làm nguội xuống nhiệt độ 30°C

để thu được cơ chất lên men. Vi khuẩn sinh axit lactic SBL88 (*Lactobacillus brevis* SBC8803) được bổ sung vào cơ chất lên men với nồng độ 3×10^6 cfu/g và quá trình lên men được thực hiện ở nhiệt độ 30°C trong thời gian 15 giờ (bước lên men).

Khi hoàn thành bước lên men, SM600 (sản phẩm của San-Ei Gen F.F.I. Inc.) được bổ sung làm chất kìm hãm sự đông tụ protein với lượng 1,67% khối lượng so với 98,33% khối lượng của sản phẩm lên men và các thành phần được trộn (bước bổ sung). Axit phosphoric được bổ sung thêm để hiệu chỉnh độ pH tới khoảng $4,2 \pm 0,1$ (bước hiệu chỉnh độ pH).

Tiếp theo, thiết bị đồng nhất hóa (Model H-20, sản phẩm của Sanwa Machinery Trading Co., Ltd.) được sử dụng để đồng nhất hóa với áp suất 15MPa, bước vô trùng được thực hiện ở nhiệt độ 85°C và hỗn hợp được làm nguội nhanh (bước đồng nhất hóa thứ hai).

Bổ sung 59,0% khối lượng của nước, 10,8% khối lượng của đường và 0,2% khối lượng của thành phần thơm vào 30,0% khối lượng của sản phẩm lên men thu được từ bước đồng nhất hóa thứ hai và các thành phần được trộn và được gia nhiệt đến nhiệt độ 60°C, sau đó thiết bị đồng nhất hóa cao áp được sử dụng để đồng nhất hóa với áp suất 15MPa. Tiếp theo bước vô trùng với nhiệt độ cuối 85°C, hỗn hợp được làm nguội nhanh để thu được đồ uống lên men sữa đậu nành cho ví dụ 2-1 (bước trộn).

Ví dụ so sánh 2-1

Đồ uống lên men sữa đậu nành của ví dụ so sánh 2-1 thu được theo cách giống như ví dụ 2-1, chỉ khác ở chỗ, việc bổ sung chất kìm hãm sự đông tụ protein được thực hiện sau bước xử lý enzyme và trước bước đồng nhất hóa thứ nhất.

Ví dụ so sánh 2-2

Đồ uống lên men sữa đậu nành của ví dụ so sánh 2-2 thu được theo cách giống như ví dụ 2-1, khác biệt ở chỗ, thời điểm bổ sung chất kìm hãm sự đông tụ protein là đồng thời với bước điều chế nguyên liệu khởi đầu.

Đồ uống lên men sữa đậu nành của ví dụ 2-1 và các ví dụ so sánh 2-1 và 2-2 được đánh giá về đường kính hạt trung bình và độ ổn định.

Đường kính hạt trung bình

Đồ uống lên men sữa đậu nành được tạo huyền phù trong nước và thiết bị phân tích sự phân bố cỡ hạt (LS130 320 của Beckman Coulter, Inc.) được sử dụng để xác định đường kính hạt trung bình của thành phần không hòa tan trong nước.

Độ ổn định

Đồ uống lên men sữa đậu nành được ly tâm bằng máy tách ly tâm (05PR-22 của Hitachi Koki Co., Ltd.) với tốc độ $1510 \times g$ trong thời gian 5 phút và sau đó, vể bên ngoài được kiểm tra bằng mắt thường. Các điều kiện tách ly tâm tương ứng với đồ uống lên men sữa đậu nành để yên trong 180 ngày.

Kết quả được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3

	Thời điểm bổ sung	Kết quả thử nghiệm	
		Đường kính hạt trung bình (μm)	Độ ổn định
Ví dụ 2-1	Sau bước lên men	0,643	Ổn định
Ví dụ so sánh 2-1	Trước bước lên men (sau bước xử lý enzym và trước bước đồng nhất hóa thứ nhất)	1,322	Bị tách thành hai lớp
Ví dụ so sánh 2-2	Trước bước lên men (đồng thời với bước điều chế nguyên liệu khởi đầu)	4,208	Bị tách thành hai lớp

Với đồ uống lên men sữa đậu nành của ví dụ 2-1, đồ uống này có chất kìm hãm sự đông tụ protein được bổ sung sau bước lên men, đường kính hạt trung bình của thành phần không hòa tan trong nước là $0,643\mu\text{m}$ và đồ uống này

là ổn định mà không có sự thay đổi ở vẻ bên ngoài ngay cả sau khi ly tâm. Mặt khác, đồ uống lên men sữa đậu nành của các ví dụ so sánh 2-1 và 2-2, đồ uống này có chất kìm hãm sự đông tụ protein được bổ sung vào đó trước bước lên men, có đường kính hạt trung bình của các thành phần không hòa tan trong nước lần lượt là 1,322 μ m và 4,208 μ m và tách thành hai lớp bởi sự tách ly tâm.

Từ bảng 3 thấy rằng, độ ổn định của đồ uống lên men sữa đậu nành khác nhau phụ thuộc vào thời điểm bổ sung chất kìm hãm sự đông tụ protein. Bằng cách bổ sung chất kìm hãm sự đông tụ protein sau bước lên men, sự đông tụ được ngăn chặn và độ ổn định được gia tăng. Hơn nữa, có mối tương quan giữa đường kính hạt trung bình của thành phần không hòa tan trong nước trong đồ uống lên men sữa đậu nành và độ ổn định.

Điều chế và đánh giá về đồ uống lên men sữa đậu nành (2)

Ví dụ 2-2

Đồ uống lên men sữa đậu nành thu được trong ví dụ 2-2 theo cách giống như ví dụ 2-1, chỉ khác là bước đồng nhất hóa thứ hai không được thực hiện.

Ví dụ 2-3

Đồ uống lên men sữa đậu nành thu được trong ví dụ 2-3 theo cách giống như ví dụ 2-1, chỉ khác là bước đồng nhất hóa thứ nhất không được thực hiện.

Ví dụ 2-4

Đồ uống lên men sữa đậu nành thu được trong ví dụ 2-4 theo cách giống như ví dụ 2-1, chỉ khác là bước đồng nhất hóa thứ nhất và bước đồng nhất hóa thứ hai không được thực hiện.

Đồ uống lên men sữa đậu nành trong các ví dụ 2-1 đến 2-4 được đánh giá về đường kính hạt trung bình và độ mịn.

Đường kính hạt trung bình

Đường kính hạt trung bình được xác định bằng phương pháp tương tự như trong phần Điều chế và đánh giá về đồ uống lên men sữa đậu nành (1) nêu trên.

Độ mịn

Việc đánh giá được thực hiện bằng thử nghiệm cảm quan với 5 người tham gia thử nghiệm đã qua huấn luyện. Các tiêu chuẩn đánh giá là dựa trên cơ sở so sánh với đồ uống lên men sữa đậu nành của ví dụ 2-1 theo thang điểm 4 mức độ gồm "Không khác biệt" khi không có sự khác biệt về độ mịn, "Hơi thô" khi có cảm giác độ thô rất nhẹ và độ mịn hơi thấp và "Thô vừa" khi có độ thô vừa phải và độ mịn thấp vừa phải. Khi độ thô lớn và độ mịn thấp rõ rệt, mức đánh giá được ấn định là "Thô".

Kết quả được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4

	Điều kiện sản xuất		Kết quả thử nghiệm	
	Bước đồng nhất hóa thứ nhất	Bước đồng nhất hóa thứ hai	Đường kính hạt trung bình (μm)	Độ mịn
Ví dụ 2-1	Được thực hiện	Được thực hiện	0,643	-
Ví dụ 2-2	Được thực hiện	Không được thực hiện	0,743	Không khác với Ví dụ 2-1
Ví dụ 2-3	Không được thực hiện	Được thực hiện	0,653	Không khác với Ví dụ 2-1
Ví dụ 2-4	Không được thực hiện	Không được thực hiện	1,030	Không khác với Ví dụ 2-1

Đồ uống lên men sữa đậu nành của ví dụ 2-1 có độ mịn tuyệt vời. Hơn nữa, đồ uống lên men sữa đậu nành của các ví dụ 2-2 đến 2-4 cũng có độ mịn không khác so với đồ uống lên men sữa đậu nành của ví dụ 2-1.

Bằng cách thực hiện bước đồng nhất hóa thứ nhất và bước đồng nhất hóa thứ hai ít nhất là một lần, đường kính hạt trung bình của thành phần không hòa tan trong nước được tiếp tục giảm nữa (kết quả của các ví dụ 2-1 đến 2-3 so với ví dụ 2-4). Ngoài ra, đồ uống lên men sữa đậu nành của các ví dụ 2-1 và 2-3, trong đó bước đồng nhất hóa thứ hai được thực hiện, có đường kính hạt trung bình của các thành phần không hòa tan trong nước nhỏ hơn so với đồ uống lên men sữa đậu nành của ví dụ 2-2 trong đó bước đồng nhất hóa thứ nhất không

được thực hiện. Vì có sự tương quan giữa đường kính hạt trung bình và độ ổn định, như được chỉ rõ bởi các kết quả trong phần Điều chế và đánh giá về đồ uống lên men sữa đậu nành (1) nêu trên, việc thực hiện bước đồng nhất hóa ít nhất là một lần làm giảm hơn nữa sự đông tụ của đồ uống lên men sữa đậu nành và làm gia tăng hơn nữa độ ổn định.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất sản phẩm lên men sữa đậu nành với mùi sữa đậu nành được giảm một cách đáng kể và có hương vị vừa ý, và sản phẩm lên men sữa đậu nành thu được bằng phương pháp này. Sáng chế cũng đề cập đến thực phẩm và đồ uống chứa sản phẩm lên men sữa đậu nành.

Sáng chế cũng đề cập đến đồ uống lên men sữa đậu nành với sự đông tụ được ngăn chặn và độ ổn định được cải thiện, và phương pháp sản xuất đồ uống này.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp sản xuất sản phẩm lên men sữa đậu nành, bao gồm:

bước xử lý enzym để thủy phân sữa đậu nành bằng hydrolaza liên kết peptit để thu cơ chất lên men, và

bước lên men để lên men cơ chất lên men bằng vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis* để thu sản phẩm lên men,

trong đó hàm lượng axit amin tự do trong cơ chất lên men không nhỏ hơn 1000ppm khối lượng và không lớn hơn 6000ppm khối lượng, tính theo tổng khối lượng.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước bất hoạt enzym để bất hoạt hydrolaza liên kết peptit trong cơ chất lên men.

3. Phương pháp theo điểm 1 hoặc 2, trong đó hydrolaza liên kết peptit là một hoặc nhiều loại enzym được chọn từ nhóm bao gồm các peptidaza và các proteaza.

4. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó hydrolaza liên kết peptit bao gồm exopeptidaza hoặc exoproteaza.

5. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó vi khuẩn sinh axit lactic là chủng *Lactobacillus brevis* SBC8803 (số lưu giữ: FERM BP-10632).

6. Phương pháp sản xuất đồ uống lên men sữa đậu nành bao gồm:

bước xử lý enzym để thủy phân sữa đậu nành bằng hydrolaza liên kết peptit để thu cơ chất lên men,

bước bất hoạt enzym để bất hoạt hydrolaza liên kết peptit trong cơ chất lên men,

bước lên men để lên men cơ chất lên men bằng vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chủng *Lactobacillus brevis* để thu sản phẩm lên men, và

bước bổ sung để bổ sung chất kìm hãm sự đông tụ protein vào sản phẩm lên men.

7. Phương pháp theo điểm 6, trong đó chất kìm hãm sự đông tụ protein là ít nhất một loại được chọn từ các polysacarit đậu nành, pectin, carboxymetylxenluloza và natri alginat.

8. Phương pháp theo điểm 6 hoặc 7, trong đó chất kìm hãm sự đông tụ protein là hỗn hợp của các polysacarit đậu nành và pectin.

9. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 6 đến 8, trong đó phương pháp này còn bao gồm, sau bước xử lý enzym là bước đồng nhất hóa để đồng nhất hóa sản phẩm xử lý ít nhất là một lần.

10. Phương pháp theo điểm 9, trong đó bước đồng nhất hóa được thực hiện ít nhất là một lần sau bước lên men.

11. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 6 đến 10, trong đó vi khuẩn sinh axit lactic là một hoặc nhiều chủng được chọn từ các chủng *Lactobacillus brevis* SBC8803 (số lưu giữ: FERM BP-10632), *Lactobacillus brevis* SBC8027 (số lưu giữ: FERM BP-10630), *Lactobacillus brevis* SBC8044 (số lưu giữ: FERM BP-10631), *Lactobacillus brevis* JCM1061, *Lactobacillus brevis* JCM1065 và *Lactobacillus brevis* JCM1170.