



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

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

(11)



1-0024648

(51)⁷ A23C 9/137; A23L 2/62; A23L 2/38

(13) B

(21) 1-2015-00585

(22) 11/07/2013

(86) PCT/JP2013/068968 11/07/2013

(87) WO2014/010669A1 16/01/2014

(30) 2012-157098 13/07/2012 JP

(45) 27/07/2020 388

(43) 25/05/2015 326A

(73) 1. KABUSHIKI KAISHA YAKULT HONSHA (JP)

1-19, Higashi-Shinbashi 1-chome, Minato-ku, Tokyo 105-8660, Japan

2. CP KELCO APS (DK)

Ved Banen 16, DK-4623 Lille Skensved Denmark

(72) NAKANO Masatoshi (JP); NIHEI Daichi (JP); KOBAYASHI Yukiko (JP); ROLIN
Claus (DK); USHIYAMA Soko (JP); MAMIYA Hiroyuki (JP).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ WINCO (WINCO CO., LTD.)

(54) ĐỒ UỐNG SỮA CÓ VỊ CHUA CHỨA PECTIN, PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VÀ
PHƯƠNG PHÁP LÀM ỔN ĐỊNH ĐỒ UỐNG NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến đồ uống sữa có vị chua, đồ uống này không có hiện tượng kết tủa hoặc kết tụ và mức độ tách nước sữa giảm, và có cấu trúc tạo cảm giác tươi mát, ngay cả trong trường hợp đồ uống này có hàm lượng chất rắn không béo thấp. Đồ uống sữa có vị chua theo sáng chế khác biệt ở chỗ, đồ uống này chứa chất nền của đồ uống sữa có vị chua và pectin có độ nhớt thực nằm trong khoảng từ 5,9 đến 8,5, mức độ este hóa nằm trong khoảng từ 74 đến 80, và khả năng phản ứng với canxi nhỏ hơn hoặc bằng 230. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp sản xuất và phương pháp làm ổn định đồ uống này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến đồ uống sữa có vị chua, đồ uống này có độ ổn định chất lượng rất tốt nên không có hiện tượng kết tủa hoặc kết tụ protein sữa, và còn có vị ngon, cụ thể là ngay cả trong trường hợp đồ uống này có hàm lượng chất rắn không béo rất thấp. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp sản xuất và phương pháp làm ổn định đồ uống này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các đồ uống sữa có vị chua thuộc loại chứa vi sinh vật sống, ví dụ như sữa lên men, đồ uống chứa vi khuẩn axit lactic và sữa chua, đã được sử dụng rộng rãi làm đồ uống có lợi cho sức khỏe, đồ uống này có các tác dụng sinh lý như làm giảm rối loạn đường ruột và tăng cường miễn dịch.

Ngoài ra, để đáp ứng sở thích đa dạng của người tiêu dùng, nhiều loại đồ uống sữa có vị chua đã được đề xuất. Trong số các loại đồ uống này, loại đồ uống sữa có vị chua chứa hàm lượng chất rắn không béo thấp cũng đã được phát triển.

Tuy nhiên, độ phân tán của protein sữa thường trở nên không ổn định trong môi trường axit và do đó, đồ uống sữa có vị chua có nhược điểm là dễ xuất hiện hiện tượng kết tủa, kết tụ, tách nước sữa và hiện tượng tương tự. Khi hàm lượng chất rắn không béo thấp, các protein sữa cách xa nhau và do đó lực đẩy giữa các điện tích sẽ yếu, vì thế hiện tượng kết tủa hoặc kết tụ dễ xảy ra.

Hiện tượng kết tủa, kết tụ hoặc tách nước sữa nêu trên không chỉ làm giảm đáng kể giá trị cảm quan mà còn làm ảnh hưởng đến mùi vị khi uống và còn làm giảm hiệu quả tạo cảm giác tươi mát. Do đó, nhiều phương pháp sử dụng các chất ổn định làm đặc khác nhau đã được đề xuất để cải thiện vấn đề này. Cụ thể, phương pháp sử dụng carboxymethyl xenluloza (carboxymethyl cellulose: CMC) đã được đề xuất (tài liệu sáng chế 1 và 2).

Tuy nhiên, khi CMC được sử dụng như đã mô tả trên đây, không thể thu được sản phẩm có cấu trúc tạo cảm giác tươi mát. Cụ thể, sản phẩm này có tính

chất gel hóa trong môi trường có độ pH thấp, và do đó càng khó thu được sản phẩm có cấu trúc tạo cảm giác tươi mát.

Tài liệu sáng chế 1: JP-A-59-151837

Tài liệu sáng chế 2: JP-A-9-266779

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo đó, mục đích của sáng chế là đề xuất đồ uống sữa có vị chua, đồ uống này không có hiện tượng kết tủa, kết tụ, tách nước sữa hoặc hiện tượng tương tự và có cấu trúc tạo cảm giác tươi mát, ngay cả trong trường hợp đồ uống này có hàm lượng chất rắn không béo thấp.

Nhờ các nghiên cứu sâu rộng để đạt được mục đích nêu trên, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng mục đích này có thể đạt được bằng cách bổ sung pectin có các tính chất nhất định vào đồ uống sữa có vị chua, nhờ đó hoàn thành sáng chế này.

Cụ thể, sáng chế đề cập đến đồ uống sữa có vị chua, khác biệt ở chỗ, sản phẩm này chứa chất nền của đồ uống sữa có vị chua và pectin có độ nhớt thực nằm trong khoảng từ 5,9 đến 8,5, mức độ este hóa nằm trong khoảng từ 74 đến 80, và khả năng phản ứng với canxi nhỏ hơn hoặc bằng 230.

Sáng chế còn đề cập đến phương pháp sản xuất đồ uống sữa có vị chua, khác biệt ở chỗ, phương pháp này bao gồm bước bổ sung pectin có độ nhớt thực nằm trong khoảng từ 5,9 đến 8,5, mức độ este hóa nằm trong khoảng từ 74 đến 80, và khả năng phản ứng với canxi nhỏ hơn hoặc bằng 230 vào chất nền của đồ uống sữa có vị chua.

Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến phương pháp làm ổn định đồ uống sữa có vị chua, khác biệt ở chỗ, phương pháp này bao gồm bước bổ sung pectin có độ nhớt thực nằm trong khoảng từ 5,9 đến 8,5, mức độ este hóa nằm trong khoảng từ 74 đến 80, và khả năng phản ứng với canxi nhỏ hơn hoặc bằng 230 vào chất nền của đồ uống sữa có vị chua.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Đồ uống sữa có vị chua theo sáng chế không có hiện tượng kết tủa, kết tụ,

tách nước sữa hoặc hiện tượng tương tự và có cấu trúc tạo cảm giác tươi mát, ngay cả trong trường hợp đồ uống này có hàm lượng chất rắn không béo thấp, do đó thích hợp để uống hàng ngày.

Ngoài ra, quy trình sản xuất đồ uống sữa có vị chua này là đơn giản và không cần đầu tư thiết bị và phương tiện.

Mô tả chi tiết sáng chế

Đồ uống sữa có vị chua theo sáng chế chứa chất nền của đồ uống sữa có vị chua và pectin có độ nhớt thực nằm trong khoảng từ 5,9 đến 8,5, mức độ este hóa nằm trong khoảng từ 74 đến 80, và khả năng phản ứng với canxi nhỏ hơn hoặc bằng 230. Trong bản mô tả này, thuật ngữ "đồ uống sữa có vị chua" dùng để chỉ sản phẩm cuối chứa chất nền của đồ uống sữa có vị chua và pectin đã nêu trên đây, và đồ uống này khác với "chất nền của đồ uống sữa có vị chua" ở chỗ chất nền này không chứa pectin. Không có giới hạn cụ thể về chất nền của đồ uống sữa có vị chua được sử dụng theo sáng chế, miễn là chất nền này chính là sữa nguyên liệu bất kỳ trong số các sữa nguyên liệu có vị chua sau đây hoặc là chất thu được bằng cách pha loãng sữa nguyên liệu bất kỳ trong số các sữa nguyên liệu này với nước hoặc chất tương tự. Ví dụ về các chất nền này bao gồm chất chứa hàm lượng chất rắn không béo nằm trong khoảng từ 3 đến 16% khối lượng (sau đây được thể hiện đơn giản là "%") và có độ pH được điều chỉnh để nằm trong khoảng từ 3 đến 5.

(1) Sữa nguyên liệu có vị chua thuộc loại chứa vi sinh vật sống, thu được bằng cách lên men sữa lỏng có nguồn gốc từ động vật hoặc thực vật như sữa bò, sữa dê, sữa cừu và sữa đậu nành; sữa bột đã tách kem, sữa bột nguyên chất hoặc sữa bột; sữa được chế biến từ sữa đặc hoặc sữa tương tự của nó, nhờ tác dụng của vi sinh vật như vi khuẩn axit lactic và vi khuẩn *Bifidobacterium*.

(2) Sữa nguyên liệu có vị chua thuộc loại chứa vi sinh vật đã chết thu được bằng cách tiệt trùng sữa nguyên liệu có vị chua nêu trong mục (1).

(3) Sữa nguyên liệu có vị chua thu được bằng cách chỉ cho thêm các loại chất có tính axit vào sữa nêu trên hoặc sữa tương tự.

Trong quá trình sản xuất sữa nêu trong mục (1) và (2), trong số các loại sữa nguyên liệu có vị chua nêu trên, ví dụ về các vi sinh vật như vi khuẩn axit lactic và

vi khuẩn *Bifidobacterium* được sử dụng cho sữa này hoặc sữa tương tự bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: các vi khuẩn thuộc giống *Lactobacillus* như *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus mali*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* và *Lactobacillus helveticus*; vi khuẩn thuộc giống *Streptococcus* như *Streptococcus thermophilus*; vi khuẩn thuộc giống *Lactococcus* như *Lactococcus lactis subsp. lactis* và *Lactococcus lactis subsp. Cremoris*; vi khuẩn thuộc giống *Enterococcus* như *Enterococcus faecalis*; vi khuẩn thuộc giống *Bifidobacterium* như *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum* và *Bifidobacterium longum*; vi khuẩn thuộc giống *Bacillus*; vi khuẩn thuộc giống *acetobacter*; và vi khuẩn thuộc giống *Gluconobacter*; và các nấm men bao gồm nấm men thuộc giống *Saccharomyces* và nấm men thuộc giống *Candida*. Vi sinh vật bất kỳ trong số các vi sinh vật này có thể được sử dụng một cách thích hợp. Các vi sinh vật này có thể được sử dụng một mình hoặc ở dạng kết hợp hai hoặc nhiều loại. Trong số các vi sinh vật nêu trên, khi ít nhất một vi sinh vật được chọn từ loài *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, và *Streptococcus thermophiles* được sử dụng, sẽ tạo ra vị ngon cho sản phẩm và do đó các vi khuẩn này được ưu tiên.

Không có giới hạn cụ thể về phương pháp lên men sữa hoặc sản phẩm tương tự nhờ tác dụng của vi sinh vật, miễn là phương pháp này được sử dụng để sản xuất thực phẩm sữa và sản phẩm đồ uống lên men thông thường. Ví dụ, phương pháp cần sử dụng có thể được chọn theo cách thích hợp từ các phương pháp thích hợp để lên men vi sinh như phương pháp lên men tĩnh, phương pháp lên men khuấy, phương pháp lên men lắc và phương pháp lên men sục khí, và ngoài các phương pháp khác, phương pháp lên men tĩnh được ưu tiên sử dụng.

Ngoài ra, không có giới hạn cụ thể về các điều kiện lên men sữa hoặc sản phẩm tương tự nhờ tác dụng của vi sinh vật, miễn là chúng là các điều kiện được sử dụng để sản xuất sản phẩm sữa và đồ uống lên men thông thường. Ví dụ, quá trình lên men có thể được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30 đến 40°C theo cách sao cho độ pH được duy trì trong khoảng từ 3 đến 5.

Hơn nữa, trong trường hợp sữa nguyên liệu có vị chua nêu trong mục (3) được sử dụng làm sữa nguyên liệu có vị chua của đồ uống sữa có vị chua, các loại

chất có tính axit khác nhau được sử dụng cho sản phẩm thực phẩm thông thường có thể được bổ sung vào sữa hoặc sản phẩm tương tự để độ pH được duy trì trong khoảng từ 3 đến 5. Ví dụ cụ thể về các chất có tính axit bao gồm nước ép từ các loại quả khác nhau như táo, việt quất và họ cam quýt, chất chiết của chúng hoặc hỗn hợp của chúng, axit hữu cơ như axit lactic, axit citric, axit malic, axit tartaric, axit gluconic và axit succinic, axit vô cơ như axit phosphoric và axit tương tự.

Trong sữa nguyên liệu có vị chua nêu trên, nguyên liệu thực phẩm thường được trộn lẫn trong nhiều loại sản phẩm thực phẩm và đồ uống khác nhau, có thể được trộn lẫn trong hoặc sau khi tạo ra nhiều loại sữa nguyên liệu có vị chua khác nhau sao cho hiệu quả đạt được của sáng chế không bị ảnh hưởng. Ví dụ về các nguyên liệu thực phẩm này bao gồm các sacarin như đường; các chất tạo ngọt có độ ngọt cao như aspartam, thaumatin, sucralose, axesulfame K và stevia; các chất xơ như dextrin bền với quá trình tiêu hóa; chất nhũ hóa như este của axit béo và đường, este của axit béo và glycerol, este của axit béo và polyglycerol, este của axit béo và sorbitan và lexitin; các chất béo từ sữa như kem, bơ và kem chua; chất axit hóa như axit citric, axit lactic, axit axetic, axit malic, axit tartaric và axit gluconic; các vitamin như vitamin A, vitamin B, vitamin C và vitamin E; các chất khoáng như canxi, magie, kẽm, sắt và mangan; các chất tạo hương vị như chất tạo hương vị sữa chua, quả mọng, cam, mận qua Trung Quốc, tía tô, họ cam quýt, táo, bạc hà, nho, mơ, lê, kem sữa trứng, đào, dưa hấu, chuối, trái cây nhiệt đới, hương vị thảo mộc, trà đen và cà phê

Mặt khác, pectin dùng cho đồ uống sữa có vị chua của sáng chế là pectin có độ nhớt thực nằm trong khoảng từ 5,9 đến 8,5, mức độ este hóa nằm trong khoảng từ 74 đến 80, và khả năng phản ứng với canxi nhỏ hơn hoặc bằng 230, tốt hơn là có độ nhớt thực nằm trong khoảng từ 5,9 đến 8,2, mức độ este hóa nằm trong khoảng từ 74 đến 77,8, và khả năng phản ứng với canxi nằm trong khoảng từ 40 đến 230, và tốt hơn nữa nếu có độ nhớt thực nằm trong khoảng từ 6,5 đến 8,2, mức độ este hóa nằm trong khoảng từ 75 đến 77,8, và khả năng phản ứng với canxi nằm trong khoảng từ 40 đến 10. Tùy ý, độ nhớt thực, mức độ este hóa, và khả năng phản ứng với canxi của pectin đã mô tả trên đây được xác định bằng phương pháp được mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế. Ngoài ra, không có

giới hạn cụ thể về pectin được sử dụng trong đồ uống sữa có vị chua theo sáng chế, miễn là nó có các đặc tính như đã mô tả trên đây. Ví dụ, sản phẩm có mã số YM-NN-12 của công ty CP kelco hoặc sản phẩm tương tự có thể được sử dụng, hoặc sản phẩm được sản xuất theo cách sau đây có thể được sử dụng.

Để tạo ra pectin, trước tiên, nguyên liệu thực vật khô được cho vào đồ chứa và nước được cho thêm vào đó. Sau đó, hỗn hợp chứa nguyên liệu thực vật và nước này được gia nhiệt kèm theo khuấy để chiết pectin ra khỏi hỗn hợp này. Tiếp đó, hỗn hợp chứa pectin được lọc và phần nước lọc được làm bay hơi bằng thiết bị làm bay hơi để cô pectin trong dung dịch. Cuối cùng, rượu được thêm vào để làm kết tủa pectin, phần kết tủa được làm khô trong chân không để thu được bột pectin. Ví dụ về nguyên liệu thực vật làm nguyên liệu ban đầu của pectin bao gồm vỏ họ cam quýt, củ cải đường, cây hướng dương, rau, táo, và quả cam quýt. Trong số các loại này, vỏ họ cam quýt như cam chanh, chanh, bưởi chùm và cam là được ưu tiên, và vỏ chanh được đặc biệt ưu tiên. Không có giới hạn cụ thể về điều kiện chiết pectin, tuy nhiên tốt hơn nếu quá trình chiết được thực hiện ở nhiệt độ, ví dụ, nằm trong khoảng từ 50 đến 90°C ở độ pH nằm trong khoảng từ 1 đến 3 trong khoảng thời gian từ 3 đến 12 giờ, và cụ thể, tốt hơn nếu quá trình chiết này được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 72 đến 73°C ở độ pH nằm trong khoảng từ 1,97 đến 2,31 trong khoảng thời gian từ 3 đến 4 giờ.

Theo quan điểm về vị của đồ uống sữa có vị chua theo sáng chế, không có giới hạn cụ thể về hàm lượng pectin trong đồ uống này, ví dụ, hàm lượng này nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,35% (trọng lượng/thể tích), tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,25 đến 0,3% (trọng lượng/thể tích) so với đồ uống sữa có vị chua làm sản phẩm cuối.

Đồ uống sữa có vị chua theo sáng chế chỉ chứa chất nền của đồ uống sữa có vị chua như đã mô tả trên đây và pectin có độ nhớt thực nằm trong khoảng từ 5,9 đến 8,5, mức độ este hóa nằm trong khoảng từ 74 đến 80, và khả năng phản ứng với canxi nhỏ hơn hoặc bằng 230, và không có giới hạn cụ thể về hàm lượng chất rắn không béo, miễn là độ pH nằm trong khoảng độ pH có tính axit. Tuy nhiên, theo quan điểm về xu hướng xuất hiện hiện tượng kết tụ hoặc kết tủa khi pectin không được sử dụng, hàm lượng chất rắn không béo trong đồ uống sữa có vị chua

làm sản phẩm cuối có thể nhỏ hơn hoặc bằng 5%, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 3 đến 4%, và độ pH ngay sau khi sản xuất phải nằm trong khoảng từ 3 đến 5, và tốt hơn là nằm trong khoảng từ 3,5 đến 4,2.

Không có giới hạn cụ thể về phương pháp sản xuất đồ uống sữa có vị chua theo sáng chế, và phương pháp này có thể giống với phương pháp sản xuất đồ uống sữa có vị chua thông thường, chỉ khác là pectin được bổ sung vào chất nền của đồ uống sữa có vị chua trong bước bất kỳ. Ngoài ra, không có giới hạn cụ thể về phương pháp bổ sung pectin, ví dụ, phương pháp này có thể là phương pháp trong đó xirô chứa pectin và sacarin như đường được tạo ra bằng phương pháp thông thường và xirô này được bổ sung vào chất nền của đồ uống sữa có vị chua đã được tạo ra từ trước. Theo cách khác, xirô chứa pectin có thể được bổ sung vào chất nền của đồ uống sữa có vị chua, sau đó làm đồng nhất.

Xirô chứa pectin và sacarin như đường có thể được tạo ra bằng cách, ví dụ, hòa tan pectin và sacarin, ví dụ như đường, trong nước đã được gia nhiệt từ trước đến nhiệt độ 60°C và dung dịch này được tiệt trùng kiểu đĩa ở nhiệt độ 112°C trong 10 giây.

Đồ uống sữa có vị chua theo sáng chế thu được theo cách nêu trên không có hiện tượng kết tủa, kết tụ, tách nước sữa hoặc hiện tượng tương tự và đồ uống này có cấu trúc tạo cảm giác tươi mát, ngay cả sau khi bảo quản ở nhiệt độ 10°C trong 28 ngày.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết cùng với các ví dụ và ví dụ sản xuất. Tuy nhiên, các ví dụ và ví dụ sản xuất này không làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1

Đồ uống sữa có vị chua

Trên môi trường sữa bột đã tách kem 15% (chứa 3,5% glucoza), men *Lactobacillus casei* YIT9029 (chủng này đã được lưu giữ quốc tế với mã số lưu giữ là FERM BP-1366 (ngày 1 tháng 5 năm 1981) tại Viện nghiên cứu công nghệ

lên men, Trung tâm khoa học và công nghệ trong công nghiệp, Bộ Thương mại và Công nghiệp quốc tế (hiện nay là Trung tâm lưu giữ vi sinh vật của sáng chế quốc tế, Viện nghiên cứu quốc gia về khoa học và công nghệ trong công nghiệp tiên tiến) (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology: NITE-IPOD), địa chỉ: Central 6, 1-1, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8566. Trung tâm lưu giữ vi sinh vật này đã chuyển đến địa chỉ mới: phòng 120, 2-5-8 Kazusakamatari, Kisarazu-shi, Chiba 292-0818 từ ngày 1 tháng 4 năm 2013), được cấy với lượng 0,5% (số lượng tế bào sống: $5,0 \times 10^6/\text{ml}$), và được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C cho khi độ pH đạt đến 3,6, nhờ đó thu được sữa nguyên liệu có vị chua. Sau đó, xirô (đã được hòa tan trong nước để chứa 4% đường, 5% dextrin bền với quá trình tiêu hóa, và 0,04% stevia) chứa pectin (sản phẩm: YM-NN-12 (của công ty CP Kelco), độ nhớt thực: 7,2, mức độ este hóa: 76, khả năng phản ứng với canxi: 110, nguyên liệu ban đầu: vỏ chanh) được tạo ra riêng biệt. Hỗn hợp chứa 24 phần trọng lượng sữa nguyên liệu có vị chua và 76 phần trọng lượng xirô được làm đồng nhất ở áp suất 15MPa, nhờ đó thu được đồ uống sữa có vị chua. Trong đồ uống sữa có vị chua này, hàm lượng chất rắn không béo là 3,1%, độ pH ngay sau khi sản xuất là 3,7, và hàm lượng pectin là 0,25% (trọng lượng/thể tích).

Đồ uống sữa có vị chua thu được không có hiện tượng kết tủa hoặc kết tụ và mức độ tách nước sữa được giảm đi, và có cấu trúc tạo cảm giác tươi mát và vị ngon, ngay cả sau khi bảo quản ở nhiệt độ 10°C trong 28 ngày.

Ví dụ sản xuất 1

Tạo ra pectin

Các miếng vỏ chanh khô được cho vào đồ chứa và cho thêm nước vào đó. Hỗn hợp chứa vỏ chanh và nước được gia nhiệt kèm theo khuấy để chiết pectin ra khỏi hỗn hợp này (nhiệt độ: 72-73°C, độ pH: 1,97-2,31, thời gian: 180 phút). Sau đó, hỗn hợp đã chiết được lọc. Phần nước lọc được làm bay hơi bằng thiết bị làm bay hơi để cô pectin trong dung dịch. Rượu được cho thêm vào để làm kết tủa và phần kết tủa này được làm khô trong chân không để thu được pectin dùng cho các sản phẩm từ 1 đến 12.

Ngoài ra, độ nhớt thực, mức độ este hóa, và khả năng phản ứng với canxi của pectin thu được trên đây được xác định theo phương pháp như được mô tả dưới đây. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 1.

Độ nhớt thực

Độ nhớt thực là giá trị độ nhớt của dung dịch polyme ở thời điểm mà nồng độ polyme này được giả định là bằng 0, giá trị này được xác định bằng cách đo giá trị độ nhớt của nhiều dung dịch polyme có nồng độ khác nhau. Quá trình đo được tiến hành theo cách sau đây.

Thiết bị

Thiết bị FIPA: TDA302 (Viscotek)

Bơm: VE1121GPC (Viscotek)

Dụng cụ lấy mẫu tự động và môđun chuẩn bị mẫu: AS3500 (Thermo Separation Products)

Cột: Bio Bases SEC60 ($150 \times 7,8\text{mm}$) (Thermo Separation Products) hoặc Superdex Peptide ($60 \times 7,8\text{ mm}$) (GE healthcare)

Chương trình phần mềm máy tính: OmniSEC

Chất phản ứng

Lithi hydroxit monohydrat: mã số sản phẩm L4533 (Sigma-Aldrich)

Axit axetic băng: mã số sản phẩm 1.00063 (Merck)

Nước Milli Q

Natri nitrua: mã số sản phẩm 8.22335 (Merck)

Chuẩn bị mẫu

- (1) Pectin (40,0 mg) được cân và cho vào đồ chứa có dung tích 100ml.
- (2) Etanol (100 μ l) được cho thêm vào kèm theo khuấy.
- (3) Nhiệt độ được duy trì ở 75°C kèm theo khuấy.
- (4) Dung môi (dung dịch đệm lithi axetat 0,3M (độ pH = 4,6): 40ml) được cho thêm vào kèm theo khuấy nhẹ.

(5) Tiếp tục khuấy nhẹ ở nhiệt độ 75°C trong 30 phút.

(6) Hỗn hợp được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng.

Hiệu chỉnh

Việc hiệu chỉnh được thực hiện bằng cách sử dụng dextran có trọng lượng phân tử khoảng 70000 (số gia chỉ số khúc xạ thực: dn/dc 0,147) và pululan có trọng lượng phân tử 212000 (dn/dc 0,145) và trọng lượng 47000 (dn/dc 0,145).

Kiểm soát chỉ số FIPA

Để làm chất chuẩn đối chứng, dextran có trọng lượng phân tử khoảng 70000 dalton (2,0 mg/ml) được sử dụng. Để làm mẫu đối chứng, pectin có độ nhớt thực đã biết (1,0 mg/ml) được sử dụng.

Điều kiện phân tích

Dung môi: dung dịch đệm lithi axetat 0,3M (độ pH = 4,6)

Tốc độ dòng: 1,0 ml/phút

Nồng độ pectin: 1,0 mg/ml

Nhiệt độ: 37°C

Lượng bơm: sử dụng vòng mẫu 25 μ l

Mức độ este hóa

Pectin chứa axit polygalacturonic làm thành phần chính, và các nhóm carboxyl của axit galacturonic được chuyển hóa một phần thành este metyl. Mức độ este hóa thể hiện tốc độ este hóa. Quá trình đo được tiến hành theo cách sau.

Thiết bị

Cân phân tích

Cốc thủy tinh có mỏ (250ml)

Bình thủy tinh để đo (100ml)

Bơm chân không

Bình hút

Nồi nấu có bộ lọc bằng thủy tinh số 1 (phễu và giấy lọc Buchner)

Đồng hồ bấm giây

Ống thử nghiệm

Buồng làm khô ở nhiệt độ 105°C

Tủ sấy

Máy khuấy từ và nam châm

Buret (10ml, độ chính xác $\pm 0,05\text{ml}$)

Pipet (20ml, 10ml)

Chất phản ứng

Nước đã khử ion

Isopropanol (IPA) 60% và 100%

Hydro clorua (HCl) 0,5N và 37%

Natri hydroxit (NaOH) 0,1N và 0,5N (làm tròn đến 4 chữ số thập phân)

Bạc nitrat (AgNO_3) 0,1N

Axit nitric (HNO_3) 3N

Phenol phtalein 0,1% (chất chỉ thị)

Phương pháp đo

(1) Pectin (2,0g) được cân và cho vào cốc thủy tinh có mỏ, loại dung tích 250ml.

(2) Rượu axit (100ml) được thêm vào và hỗn hợp này được khuấy bằng cách sử dụng máy khuấy từ trong 10 phút.

(3) Phần nước lọc được làm khô hoàn toàn và nồi nấu có bộ lọc bằng thủy tinh được cân.

(4) Cốc có mỏ được rửa bằng 15ml rượu axit, và bước này được lặp lại 6 lần.

(5) Bước rửa bằng IPA 60% được lặp lại cho đến khi phần nước lọc không còn chứa clorua (khoảng 500ml).

(6) Thử nghiệm clorua được thực hiện bằng cách cho khoảng 10ml nước lọc vào ống thử nghiệm, cho thêm khoảng 3ml HNO_3 3N và cho thêm tiếp 2 hoặc

3 giọt AgNO_3 .

(7) Khi dung dịch trở nên trong suốt, phần nước lọc không chứa clorua, và theo cách khác, bạc clorua được kết tủa.

(8) Sau đó, tiến hành rửa bằng 20ml IPA 100%.

(9) Mẫu được làm khô ở nhiệt độ 105°C trong 2 giờ 30 phút.

(10) Sau khi khô, nôi nấu được cân và làm nguội trong tủ sấy.

(11) Mẫu (0,40g) được cân chính xác và cho vào cốc thủy tinh có mỏ, loại dung tích 250ml (hai mẫu được cân để đo hai lần).

(12) Pectin được ngâm trong khoảng 2ml IPA 100%, và khoảng 100ml nước cất không chứa nước đã khử ion được bổ sung vào kèm theo khuấy bằng máy khuấy từ.

(13) Chất chỉ thị phenol phtalein (5 giọt) được thêm vào, và hỗn hợp được chuẩn độ bằng NaOH 0,1N cho đến khi dung dịch thay đổi màu (thể tích chuẩn độ được ghi lại làm thể tích chuẩn độ V1).

(14) Trong khi khuấy, NaOH 0,5N (20,00ml) được cho thêm vào và dung dịch này được để yên trong 15 phút. Trong khi để yên, mẫu cần được che phủ bằng lá kim loại.

(15) Sau đó, HCl 0,5N (20,00ml) được cho thêm vào và dung dịch này được khuấy bằng máy khuấy từ cho đến khi màu của dung dịch biến mất.

(16) Phenol phtalein (3 giọt) được thêm vào, và dung dịch này được chuẩn độ bằng NaOH 0,1N cho đến khi dung dịch thay đổi màu (thể tích chuẩn độ này được ghi lại làm thể tích chuẩn độ V2).

(17) Tiếp theo, thử nghiệm mù (phép đo hai lần) được tiến hành như sau.

(18) Phenol phtalein (3 giọt) được cho thêm vào 100ml nước đã khử ion, và dung dịch này được chuẩn độ bằng NaOH 0,1N trong cốc thủy tinh có mỏ, loại dung tích 250ml cho đến khi dung dịch thay đổi màu (1 đến 2 giọt); và sau đó, NaOH 0,5N (20,00 ml) được cho thêm vào và dung dịch này được để yên trong 15 phút mà không tác động vào mẫu. Trong khi vẫn để yên, mẫu cần được che phủ bằng lá kim loại.

(19) Sau đó, HCl 0,5N (20,00ml) và phenol phtalein (3 giọt) được cho thêm vào, và hỗn hợp này được chuẩn độ bằng NaOH 0,1N cho đến khi màu của dung

dịch thay đổi. Thể tích của dung dịch NaOH 0,1N đã sử dụng được ghi lại làm thể tích B1.

Công thức

Mức độ este hóa được tính bằng công thức sau.

Công thức 1

$$\text{Mức độ este hóa (\%)} = (V2 - B1) \times 100/V1$$

Khả năng phản ứng với canxi

Pectin phản ứng với các ion canxi và kết tụ (do điện tích âm của các phân tử pectin phản ứng với điện tích dương của các ion canxi). Khả năng phản ứng với canxi theo sáng chế này được thể hiện bằng giá trị độ nhớt của dung dịch pectin đo được ở thời điểm nhất định sau khi lượng canxi được cho thêm vào lượng dung dịch pectin. Quá trình đo được tiến hành theo cách sau đây.

Phương pháp đo

(1) Pectin loại không được chuẩn hóa (0,64g) được cân và cho vào bình thủy tinh (quá trình chuẩn hóa có nghĩa là glucoza hoặc sucroza được trộn lẫn với pectin để tạo ra cường độ gel của pectin ở giá trị nhất định).

(2) Isopropanol (5,0ml) được thêm vào.

(3) Hỗn hợp này được khuấy và trộn lẫn trong khi nước sôi (130ml) được thêm vào. Bình thủy tinh được đậy nắp trong khi tiến hành các bước từ (3) đến (5).

(4) Sau khi cho thêm nước sôi trong bước (3) 1 phút, dung dịch đệm natri axetat 3,0M (độ pH = 3,60) (20ml) được thêm vào.

(5) Sau khi cho thêm dung dịch đệm 1 phút, đặt bình thủy tinh trong nước nóng ở nhiệt độ 75°C, hỗn hợp này được trộn trong thời gian 8 đến 12 phút để khẳng định rằng pectin đã được hòa tan.

(6) Dung dịch trong bình thủy tinh được khuấy bằng máy khuấy kiểu xoáy, dung dịch canxi clorua (5ml) được thêm vào trong vòng 2 giây, và hỗn hợp này được khuấy trong 10 giây.

(7) Bình thủy tinh được cho vào thùng nước ở nhiệt độ 5°C trong vòng 5 phút sau bước trộn lẫn (6), và được để yên trong khoảng thời gian từ 16 đến 22 giờ. Chiều cao của mép nước trong thùng phải bằng chiều cao của mép nước trong bình thủy tinh.

(8) Độ nhớt được đo ở nhiệt độ 5°C bằng cách sử dụng nhớt kế Brookfield (Brookfield LVT) với tốc độ trục số 2 là 60 vòng/phút.

(9) Độ nhớt đo được trong bước (8) (CP) được dùng làm giá trị thể hiện khả năng phản ứng với canxi.

Bảng 1

	Độ nhớt thực (dl/g)	Mức độ este hóa (%)	Khả năng phản ứng với canxi (cp)
Sản phẩm 1	7,6	75,8	54
Sản phẩm 2	6,2	74,6	40
Sản phẩm 3	4,5	72,1	25
Sản phẩm 4	5,0	73,2	163
Sản phẩm 5	5,9	74,0	44,5
Sản phẩm 6	6,8	74,0	594
Sản phẩm 7	7,8	76,5	104
Sản phẩm 8	8,2	76,5	91
Sản phẩm 9	8,0	77,8	55
Sản phẩm 10	7,2	75,7	43
Sản phẩm 11	7,5	76,5	229
Sản phẩm 12	7,4	75,8	177

Ví dụ 2

Tạo ra đồ uống sữa có vị chua

Men *Lactobacillus casei* YIT9029 (FERM BP-1366) được cấy lên môi trường sữa bột đã tách kem 15% (chứa 3,5% glucoza) với lượng 0,5% (số lượng tế bào sống: $5,0 \times 10^6$ /ml), và được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C cho đến khi độ pH đạt 3,6, nhờ đó thu được sữa nguyên liệu có vị chua. Tiếp đó, xirô chứa mỗi pectin

của các sản phẩm từ 1 đến 12 (xirô này chứa 7% đường) được tạo ra riêng biệt. Hỗn hợp chứa 24 phần trọng lượng sữa nguyên liệu có vị chua và 76 phần trọng lượng xirô được làm đồng nhất ở áp suất 15MPa, nhờ đó thu được đồ uống sữa có vị chua. Trong mỗi đồ uống sữa có vị chua, hàm lượng chất rắn không béo là 3,2%, độ pH ngay sau khi sản xuất là 3,8, và hàm lượng pectin là 0,25% (trọng lượng/thể tích). Để so sánh, các đồ uống sữa có vị chua tương tự được tạo ra bằng cách sử dụng pectin thông thường (CP Kelco, độ nhớt thực: 5,7, mức độ este hóa : 72, khả năng phản ứng với canxi: 169) và polysacarit đậu tương được sử dụng thay cho pectin (San-Ei Gen F.F.I., Inc.).

Các đồ uống sữa có vị chua này được bảo quản ở nhiệt độ 10°C trong 28 ngày, sau đó mức độ tách nước sữa (chiều cao nước sữa tính từ mặt trên của đồ chứa (mm)) và mức độ kết tủa ((trọng lượng chất kết tủa trên đáy của đồ chứa)/(tổng trọng lượng của đồ chứa) $\times$ 100 (%)) được xác định. Ngoài ra, mức độ tách nước sữa và mức độ kết tủa được đánh giá một cách toàn diện theo các tiêu chuẩn đánh giá sau đây. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 2.

Tiêu chuẩn đánh giá tính chất vật lý

Đánh giá: Chi tiết đánh giá

Tốt: có độ ổn định của các tính chất vật lý tốt (có giá trị thương mại)

Trung bình: không tốt mà cũng không kém

Kém: có độ ổn định của các tính chất vật lý kém (không có giá trị thương mại)

Bảng 2

	Mức độ tách nước sữa (mm)	Tỷ lệ chất kết tủa (%)	Đánh giá các tính chất vật lý
Sản phẩm 1	9	1,0	Tốt
Sản phẩm 2	11	1,2	Tốt
Sản phẩm 3	Kết tụ hoặc tách nước sữa	Kết tụ hoặc tách nước sữa	Kém
Sản phẩm 4	Kết tụ hoặc tách nước sữa	Kết tụ hoặc tách nước sữa	Kém
Sản phẩm 5	14	1,6	Trung bình
Sản phẩm 6	Kết tụ hoặc tách nước sữa	Kết tụ hoặc tách nước sữa	Kém
Sản phẩm 7	7	1,0	Tốt
Sản phẩm 8	6	1,0	Tốt
Sản phẩm 9	6	0,9	Tốt
Sản phẩm 10	10	1,2	Tốt
Sản phẩm 11	10	1,0	Tốt
Sản phẩm 12	9	1,0	Tốt
Pectin thông thường	Kết tụ hoặc tách nước sữa	Kết tụ hoặc tách nước sữa	Kém
Polysacarit đậu tương	17	1,2	-

Như thấy rõ từ các kết quả trong Bảng 2, đã phát hiện được rằng các sản phẩm 1, 2, 5, và từ 7 đến 12 có độ ổn định của các tính chất vật lý tốt và giá trị thương mại không bị ảnh hưởng ngay cả sau khi sản phẩm được bảo quản.

Ví dụ 3

Tạo ra đồ uống sữa có vị chua

Men *Lactobacillus casei* YIT9029 được cấy lên môi trường sữa bột đã tách kem 15% (chứa 3,5% glucoza) với tỷ lệ 0,5% (số tế bào sống: $5,0 \times 10^6/\text{ml}$), và được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C cho đến khi đạt độ pH bằng 3,6, nhờ đó thu được sữa nguyên liệu có vị chua. Sau đó, các xirô chứa pectin với nồng độ khác nhau của sản phẩm 1 theo Ví dụ sản xuất 1 (xirô chứa 7% đường) được tạo ra riêng biệt. Hỗn hợp chứa 24 phần trọng lượng sữa nguyên liệu có vị chua và 76 phần trọng lượng của mỗi xirô được làm đồng nhất ở áp suất 15MPa, nhờ đó thu được đồ uống sữa có vị chua. Trong mỗi đồ uống sữa có vị chua, hàm lượng chất rắn không béo là 3,2%, độ pH ngay sau khi sản xuất là 3,8, và hàm lượng pectin bằng 0, 0,25, 0,3, hoặc 0,35% (trọng lượng/thể tích).

Các đồ uống sữa có vị chua này được bảo quản ở nhiệt độ 10°C trong 14 ngày hoặc 28 ngày, và sau đó mức độ tách nước sữa và lượng chất kết tủa được xác định theo cách giống như trong Ví dụ 2. Ngoài ra, hương vị và độ ổn định của các tính chất vật lý được đánh giá theo tiêu chuẩn đánh giá sau đây. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 3.

Tiêu chuẩn đánh giá hương vị

Đánh giá: chi tiết đánh giá

Ngon: có vị ngon

Bình thường: vị không quá ngon cũng không quá tệ

Không ngon: có vị không ngon

Tiêu chuẩn đánh giá các tính chất vật lý

Đánh giá: chi tiết đánh giá

Tốt: có độ ổn định của các tính chất vật lý tốt (có giá trị thương mại)

Trung bình: không tốt cũng không kém

Kém: có độ ổn định của các tính chất vật lý kém (không có giá trị thương mại)

Bảng 3

	Thời gian bảo quản (ngày)	Lượng pectin được thêm vào			
		0%	0,25%	0,30%	0,35%
Mức độ tách nước sữa (mm)	14	7,0	5,0	4,0	4,0
	28	18,0	9,0	6,0	5,5
Tỷ lệ kết tủa (%)	14	0,99	0,84	0,81	0,80
	28	0,94	0,90	0,85	0,83
Vị		Ngon	Ngon	Ngon	Vị ngon bình thường đến ngon
Tính chất vật lý		Kém	Tốt	Tốt	Tốt

Kết quả trong Bảng 3 cho thấy rằng độ ổn định của tính chất vật lý là tốt khi lượng pectin thêm vào nằm trong khoảng từ 0,25 đến 0,35%. Về mặt hương vị, mặc dù cấu trúc có xu hướng nặng thêm do lượng pectin được thêm vào tăng thêm, vị ngon vẫn được duy trì trong khoảng cho phép khi lượng pectin này lên đến 0,35%.

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

Đồ uống sữa có vị chua theo sáng chế không có hiện tượng kết tủa hoặc kết tụ và mức độ tách nước sữa được giảm đi, và đồ uống này còn có cấu trúc tạo cảm giác tươi mát, do đó thích hợp để sử dụng hàng ngày.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Đồ uống sữa có vị chua chứa chất nền của đồ uống sữa có vị chua và pectin có độ nhớt thực nằm trong khoảng từ 5,9 đến 8,5, mức độ este hóa nằm trong khoảng từ 74 đến 80, và khả năng phản ứng với canxi nhỏ hơn hoặc bằng 230.
2. Đồ uống sữa có vị chua theo điểm 1, trong đó đồ uống này có độ pH nằm trong khoảng từ 3,5 đến 4,2.
3. Đồ uống sữa có vị chua theo điểm 1 hoặc 2, trong đó đồ uống này có hàm lượng chất rắn không béo nằm trong khoảng từ 3 đến 4% khối lượng.
4. Đồ uống sữa có vị chua theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó đồ uống này chứa pectin có độ nhớt thực nằm trong khoảng từ 5,9 đến 8,5, mức độ este hóa nằm trong khoảng từ 74 đến 80, và khả năng phản ứng với canxi nhỏ hơn hoặc bằng 230, với lượng nằm trong khoảng từ 0,25 đến 0,3% (trọng lượng/thể tích).
5. Phương pháp sản xuất đồ uống sữa có vị chua, phương pháp này bao gồm bước bổ sung pectin có độ nhớt thực nằm trong khoảng từ 5,9 đến 8,5, mức độ este hóa nằm trong khoảng từ 74 đến 80, và khả năng phản ứng với canxi nhỏ hơn hoặc bằng 230, vào chất nền của đồ uống sữa có vị chua.
6. Phương pháp làm ổn định đồ uống sữa có vị chua, phương pháp này bao gồm bước bổ sung pectin có độ nhớt thực nằm trong khoảng từ 5,9 đến 8,5, mức độ este hóa nằm trong khoảng từ 74 đến 80, và khả năng phản ứng với canxi nhỏ hơn hoặc bằng 230, vào chất nền của đồ uống sữa có vị chua.