



(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)



1-0026092

(51)⁷ A23J 1/20; A61K 38/00; A23L 1/305; (13) B
A23L 2/66; A23K 1/16; A23L 1/00

(21) 1-2015-04126

(22) 25/03/2014

(86) PCT/JP2014/058209 25/03/2014

(87) WO 2014/157156 A1 02/10/2014

(30) 2013-070417 28/03/2013 JP

(45) 26/10/2020 391

(43) 25/01/2016 334A

(73) MEGMILK SNOW BRAND CO., LTD. (JP)

1-1, Naebocho 6-chome, Higashi-ku, Sapporo-shi, Hokkaido 065-0043 Japan

(72) URAZONO, Hiroshi (JP); MORITA, Yoshikazu (JP); UEDA, Noriko (JP); UENO, Hiroshi (JP); KATOH, Ken (JP); KOBAYASHI, Toshiya (JP).

(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) CHẾ PHẨM PROTEIN, THỰC PHẨM, ĐỒ UỐNG, THỨC ĂN CHĂN NUÔI,
DƯỢC PHẨM CHỨA CHẾ PHẨM NÀY VÀ QUY TRÌNH XỬ LÝ NHIỆT PHẦN
CHIẾT PROTEIN CÓ NGUỒN GỐC TỪ SỮA

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm protein bao gồm phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa; và ít nhất một chất làm ổn định được chọn từ nhóm bao gồm các polysacarit đậu nành, gồm xanthan, pectin, gồm arabic, gồm ghatti, carageenan, gồm đậu carob, natri caseinat, lexithin, và carboxymethylxenluloza. Chế phẩm protein cải thiện một cách đáng kể độ bền nhiệt của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa. Sáng chế cũng đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm protein này và thực phẩm, đồ uống, thức ăn chăn nuôi, và dược phẩm chứa chế phẩm protein này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm protein có độ bền nhiệt cao và quy trình xử lý nhiệt chế phẩm này. Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến chế phẩm protein có độ bền nhiệt cao chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và chất làm ổn định và quy trình xử lý nhiệt chế phẩm này. Sáng chế cũng đề cập đến thực phẩm, đồ uống, thức ăn chăn nuôi và dược phẩm chứa chế phẩm này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các thành phần protein cơ bản từ sữa đã được thông báo là có nhiều chức năng sinh lý khác nhau, chẳng hạn, tác dụng củng cố xương, tác dụng phòng ngừa chống lại các bệnh nha chu, tác dụng cải thiện chuyển hóa lipid, tác dụng giảm huyết áp, tác dụng kích thích sản xuất collagen ở da, và tác dụng điều tiết hệ miễn dịch. Để khai thác hiệu quả các chức năng sinh lý này, các thực phẩm, đồ uống, thức ăn chăn nuôi và các dược phẩm khác nhau chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa đã được phát triển. Thật không may, các phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa không bền nhiệt ở vùng pH trung tính và kết tủa khi bị đun nóng ở nhiệt độ 80°C trong thời gian mười phút (ví dụ, xem tài liệu sáng chế 1). Vì lý do này, phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa thường được đun nóng trong vùng pH axit. Đã thông báo rằng phương pháp này về cơ bản có thể duy trì tác dụng củng cố xương của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa thậm chí sau khi xử lý nhiệt (ví dụ, xem tài liệu phi sáng chế 1).

Tuy nhiên, phương pháp này vẫn còn các vấn đề gây ra do độ bền nhiệt thấp của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa trong khi tiệt trùng ở nhiệt độ 90°C hoặc cao hơn, đặc biệt là tiệt trùng bằng nồi hấp, như: (1) xu hướng tập hợp và kết tủa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa cao trong khi tiệt trùng bằng nhiệt ở nhiệt độ 90°C hoặc cao hơn, do độ bền nhiệt không đủ; và (2) xu

hướng làm mất hoạt tính của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa trong khi tiệt trùng bằng nhiệt lớn, đặc biệt là ở điều kiện từ trung tính (với giá trị độ pH xấp xỉ =7,0) đến kiềm. Do đó, trong các trường hợp thực tế, không thể áp dụng cách xử lý nhiệt cực độ, như, tiệt trùng bằng nồi hấp, trong trường hợp xử lý nhiệt (cụ thể ở nhiệt độ vượt quá 90°C) đối với dung dịch chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa, bởi vì cách xử lý này có thể làm mất hoạt tính của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa. Các trường hợp này có sự giới hạn về việc trộn phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa vào các thực phẩm, đồ uống, thức ăn chăn nuôi hoặc các dược phẩm mà không làm mất hoạt tính của nó.

Danh mục các tài liệu viện dẫn

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: Công bố đơn sáng chế Nhật Bản không xét nghiệm số 09-191858

Tài liệu phi sáng chế

Tài liệu phi sáng chế 1: Seiichiro Aoe et al., Bioscience Biotechnology và Biochemistry, 65(4), 913-918 (2001)

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm protein có thể được gia nhiệt ở nhiệt độ 90°C hoặc cao hơn mà không làm mất hoạt tính của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được chứa trong chế phẩm, và quy trình sản xuất chế phẩm này.

Cách thức giải quyết vấn đề

Sáng chế đề xuất các khía cạnh sau:

1. Chế phẩm protein bền nhiệt chứa: phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa; và ít nhất một chất làm ổn định được chọn từ nhóm bao gồm các polysacarit đậu nành, gôm xanthan, pectin, gôm arabic, gôm ghatti, carageenan, gôm đậu carob, natri caseinat, lecithin, và carboxymethylxenuloza.
2. Chế phẩm protein theo khía cạnh 1, trong đó phần chiết protein có nguồn gốc

từ sữa có thành phần axit amin chứa các axit amin cơ bản với lượng là 15% trọng lượng hoặc cao hơn.

3. Chế phẩm protein theo khía cạnh 1, trong đó:

- a) phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa chứa các protein khác nhau mà mỗi trong số chúng có phân tử lượng nằm trong khoảng từ 3000 đến 80.000 khi được xác định bằng kỹ thuật điện di gel natri dodecyl sulfat-polyacrylamit (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE));
- b) phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa chứa các protein với lượng là 95% trọng lượng hoặc cao hơn và lượng nhỏ các lipid và tro;
- c) các protein chủ yếu được chứa trong phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa là lactoferin và lactoperoxidaza; và
- d) các protein trong phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa có thành phần axit amin chứa các axit amin cơ bản với lượng là 15% trọng lượng hoặc cao hơn .

4. Thực phẩm, đồ uống, thức ăn chăn nuôi hoặc dược phẩm chứa chế phẩm protein theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh từ 1 đến 3.

5. Quy trình xử lý nhiệt phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa bao gồm các bước: trộn phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa với ít nhất một chất làm ổn định được chọn từ nhóm bao gồm các polysacarit đậu nành, gồm xanthan, pectin, gồm arabic, gồm ghatti, carageenan, gồm đậu carob, natri caseinat, lexithin, và carboxymetylxenluloza; và gia nhiệt hỗn hợp này ở nhiệt độ 90°C hoặc cao hơn.

6. Quy trình xử lý nhiệt phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa theo khía cạnh 5, trong đó phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa có thành phần axit amin chứa các axit amin cơ bản với lượng là 15% trọng lượng hoặc cao hơn.

7. Quy trình xử lý nhiệt phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa theo khía cạnh 5, trong đó:

- 1) phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa chứa các protein khác nhau, mỗi protein phân tử lượng nằm trong khoảng từ 3000 đến 80.000 khi được xác định

bằng kỹ thuật điện di gel natri dodecyl sulfat-polyacrylamit (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE));

2) phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa chứa các protein với lượng là 95% trọng lượng hoặc cao hơn và các lượng nhỏ của lipit và tro;

3) các protein chủ yếu được chứa trong phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa là lactoferin và lactoperoxidaza; và

4) các protein trong phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa có thành phần axit amin chứa các axit amin kiềm với lượng là 15% trọng lượng hoặc cao hơn.

Hiệu quả của sáng chế

Theo sáng chế, chế phẩm protein có thể được gia nhiệt ở nhiệt độ lớn hơn 90°C mà không làm mất hoạt tính của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được chứa trong chế phẩm.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các tác giả sáng chế đã tiến hành nghiên cứu sâu rộng về sự ổn định của các phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa đối với sự mất hoạt tính do nhiệt để khắc phục các nhược điểm trên, và do đó đã phát hiện ra rằng chế phẩm protein chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và chất làm ổn định, như, polysacarit đậu nành hoặc gôm xanthan, thể hiện độ bền nhiệt cao đáng kể. Nhờ vậy, các tác giả sáng chế đã hoàn thành sáng chế này.

Cụ thể, chế phẩm protein theo một phương án của sáng chế chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa; và ít nhất một chất làm ổn định được chọn từ nhóm bao gồm các polysacarit đậu nành, gôm xanthan, pectin, gôm arabic, gôm ghatti, carageenan, gôm đậu carob, natri caseinat, lexithin, và carboxy-metylxenluloza. Chế phẩm protein có độ bền nhiệt cao ở khoảng pH rộng hơn kéo dài từ các vùng pH axit đến trung tính và kiềm, thậm chí trong khi xử lý nhiệt ở nhiệt độ cao hơn 90°C và trong khi xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp ở nhiệt độ cao hơn 120°C.

Phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa tốt hơn là có thành phần axit amin chứa các axit amin cơ bản với lượng là 15% trọng lượng hoặc cao hơn. Các phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa từ bất kỳ nguồn nào cũng có thể được sử dụng. Ví dụ, các protein từ sữa có các đặc tính sau và được biết là có tác dụng củng cố xương có thể được gia nhiệt ở nhiệt độ lớn hơn 90°C mà không bị làm mất hoạt tính:

- 1) phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa chứa các protein khác nhau, mỗi protein có phân tử lượng nằm trong khoảng từ 3000 đến 80.000 khi được xác định bằng kỹ thuật điện di gel natri dodecyl sulfat-polyacrylamit (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE));
- 2) phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa chứa các protein với lượng là 95% trọng lượng hoặc cao hơn và lượng nhỏ các lipid và tro;
- 3) các protein chủ yếu được chứa trong phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa là lactoferin và lactoperoxidaza; và
- 4) các protein trong phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa có thành phần axit amin chứa các axit amin kiềm của sữa với lượng là 15% trọng lượng hoặc cao hơn.

Các ví dụ về axit amin kiềm của sữa bao gồm lysin, histidin, và acginin.

Phần chiết protein cơ bản nêu ở trên có thể được điều chế bằng cách, ví dụ, cho nguyên liệu sữa, chẳng hạn, sữa gầy hoặc nước sữa, tiếp xúc với nhựa trao đổi cation sao cho protein cơ bản được hấp phụ trên nhựa, tách rửa phần chiết protein cơ bản bị hấp phụ bằng chất tách rửa có nồng độ muối nằm trong khoảng từ 0,1M đến 1M, thu hồi phần tách rửa, khử muối và cô đặc hợp phần thu hồi bằng cách thẩm thấu ngược (reverse osmosis (RO)) hoặc thẩm tách điện (electrodialysis (ED)), và tùy ý sấy khô sản phẩm thu được. Các ví dụ về nguồn nguyên liệu sữa bao gồm sữa của bò, trâu, người, lợn, cừu, dê, và ngựa.

Các ví dụ về các phương pháp đã biết để điều chế phần chiết protein có

nguồn gốc từ sữa bao gồm: phương pháp cho sữa hoặc nguyên liệu thô có nguồn gốc từ sữa tiếp xúc với thiết bị trao đổi cation sao cho protein cơ bản trong sữa được hấp phụ trên thiết bị trao đổi cation, và sau đó tách rửa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được hấp phụ bằng dung môi tách rửa có giá trị độ pH lớn hơn 5 và cường độ ion cao hơn 0,5 (công bố đơn sáng chế Nhật Bản không xét nghiệm số H05-202098); phương pháp dùng gel anginat (công bố đơn sáng chế Nhật Bản không xét nghiệm số S61-246198); phương pháp tách phần chiết protein cơ bản khỏi nước sữa bằng cách dùng các hạt vô cơ rỗng (công bố đơn sáng chế Nhật Bản không xét nghiệm số H01-86839); và phương pháp thu được phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sử dụng hợp chất este sulfat (công bố đơn sáng chế Nhật Bản không xét nghiệm số S63-255300). Theo sáng chế, phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được điều chế bằng các phương pháp này có thể được sử dụng.

Thành phần chính của chất làm ổn định tốt hơn có các đặc tính sau đây:

- (1) Thành phần chính có phân tử lượng và tính chất tạo màng cao. Các ví dụ về thành phần này là các polysacarit đậm nành;
- (2) Thành phần chính có tỷ lệ mạch nhánh so với mạch chính cao. Ví dụ về thành phần này là gồm xanthan có mạch chính glucoza mà mannoza và axit glucuronic liên kết với mạch chính này;
- (3) Thành phần chính là pectin bao gồm mạch chính là axit galacturonic và nhiều mạch nhánh galactoza, arabinoza, hoặc xyloza được liên kết với mạch chính;
- (4) Thành phần chính có tỷ lệ mạch nhánh so với mạch chính cao. Một ví dụ về thành phần này là gồm arabic có mạch chính galactoza mà arabinoza và axit glucuronic liên kết với mạch chính này.

Các chất làm ổn định có các tính chất như vậy ngăn chặn sự mất hoạt tính của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa do sự kết tụ và kết tủa trong khi

gia nhiệt, và do đó làm tăng độ bền nhiệt của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa.

Ngược lại, các chất làm ổn định có các đặc tính sau là không được ưa thích đối với chế phẩm chứa các protein cơ bản của sữa:

- (1) Chất làm ổn định có các nhóm kỵ nước và ưa nước và thể hiện sự hấp phụ nhiều lớp. Các ví dụ về các chất làm ổn định này là các este của axit béo sucroza được tạo ra do phản ứng của các nhóm hydroxyl của sucroza với các axit béo; và
- (2) Chất làm ổn định có cấu trúc thẳng, chẳng hạn, gồm gelatin, hoặc có tỷ lệ mạch nhánh so với mạch chính thấp. Các ví dụ về các chất làm ổn định như vậy là gồm guar và gồm cây me.

Mặc dù sử dụng các chất làm ổn định như vậy không làm tăng đáng kể độ bền nhiệt của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa trong khi gia nhiệt, nhưng chế phẩm này một phần có thể chứa các chất làm ổn định này.

Trên cơ sở các thực tế này, các ví dụ về chất làm ổn định được ưa thích để trộn với phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa để điều chế chế phẩm chứa protein cơ bản của sữa bao gồm các polysaccharit đậu nành, gồm xanthan, pectin, gồm arabic, gồm ghatti, carageenan, gồm đậu carob, natri caseinat, lexithin, và carboxymethylxenluloza. Ít nhất một trong số các chất làm ổn định này được trộn với phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa để điều chế chế phẩm chứa protein cơ bản của sữa. Một vài trong số các chất làm ổn định này có các chức năng khác nhau, như chức năng tạo nhũ, nhưng có thể được sử dụng mà không có bất kỳ vấn đề gì.

Chế phẩm protein có thể chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và chất làm ổn định ở tỷ lệ bất kỳ, và tốt hơn là chứa chất làm ổn định ở tỷ lệ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 100 (trọng lượng/trọng lượng), tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1 đến 40 (trọng lượng/trọng lượng), so với phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa.

Chế phẩm protein có thể được điều chế bằng quy trình bất kỳ. Ví dụ, nếu chế phẩm protein được điều chế ở dạng dung dịch, phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và chất làm ổn định được tạo huyền phù hoặc hòa tan một cách riêng biệt trong nước khử ion, và sau đó các dung dịch riêng biệt này được trộn bằng cách khuấy và được tạo thành thực phẩm, đồ uống, thức ăn chăn nuôi, hoặc dược phẩm. Phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và chất làm ổn định có thể được trộn kỹ bằng cách khuấy ở điều kiện bất kỳ. Phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và chất làm ổn định có thể được trộn bằng cách khuấy bằng một thiết bị phân tán siêu âm trong khi được gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ xấp xỉ 40°C đến 80°C, nếu cần. Dung dịch thu được của chế phẩm protein có thể còn được cho qua quy trình, như, cô đặc bằng màng UF, hoặc làm khô lạnh, nếu cần, để thuận tiện cho việc sử dụng chế phẩm này cho thực phẩm, đồ uống, thức ăn chăn nuôi hoặc dược phẩm.

Chế phẩm protein có độ bền nhiệt cao trên khoảng pH rộng mở rộng từ các vùng pH axit đến trung tính và kiềm, và do đó có thể chịu được việc xử lý nhiệt ở nhiệt độ cao và xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp mà thường được áp dụng trong việc sản xuất các thực phẩm, các đồ uống, thức ăn chăn nuôi và các dược phẩm. Chế phẩm protein ở dạng bột cũng có thể chịu được tiệt trùng bằng nhiệt khô. Do đó, chế phẩm protein có thể được dùng để điều chế thực phẩm, đồ uống, thức ăn chăn nuôi, hoặc dược phẩm ở các dạng khác nhau chẳng hạn, lỏng, gel, bột, và dạng hạt.

Giá trị độ pH của chế phẩm protein có thể được điều chỉnh bằng axit vô cơ, ví dụ, axit clohydric hoặc axit photphoric; axit hữu cơ, ví dụ, axit xitric hoặc axit axetic; hoặc chất kiềm, ví dụ, natri hydroxit hoặc natri hydrocarbonat. Nếu chế phẩm protein được đặt trong môi trường có giá trị độ pH cho phép chế phẩm protein duy trì độ bền nhiệt của nó, chế phẩm protein này có thể được xử lý nhiệt ở nhiệt độ cao hoặc xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp mà không cần điều chỉnh

giá trị pH. Các điều kiện tiệt trùng bằng nhiệt và giá trị độ pH có thể được lựa chọn một cách thích hợp tùy thuộc vào chất lượng được yêu cầu đối với thực phẩm, đồ uống, thức ăn chăn nuôi, hoặc dược phẩm được dự định chứa chế phẩm protein.

Chế phẩm protein có thể được sử dụng làm thực phẩm, đồ uống, thức ăn chăn nuôi, hoặc dược phẩm, ở dạng riêng lẻ hoặc tùy ý ở dạng hỗn hợp với các nguyên liệu thô khác mà thường được chứa trong các sản phẩm này, chẳng hạn, các sacarit, các lipit, hoặc các hương vị.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả một cách chi tiết bằng các ví dụ tham khảo, các ví dụ, và các ví dụ thử nghiệm, các ví dụ này chỉ để minh họa các phương án của sáng chế và không có nghĩa là giới hạn sáng chế ở các ví dụ này.

Ví dụ tham khảo 1: Điều chế phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa 1

Cột (có đường kính 5cm và chiều dài 30cm) được nạp 400g Chitopearl được sulfonat hóa (do Fuji-Spinning Co., Ltd. sản xuất) làm nhựa trao đổi cation được rửa sạch bằng nước khử ion, và sau đó được nạp 40 lít sữa gầy chưa tiệt trùng (có giá trị độ pH = 6,7) ở tốc độ dòng chảy là 25ml/phút. Sau đó, cột này được rửa sạch bằng nước khử ion, và phân chiết protein cơ bản được hấp phụ trên nhựa này được tách rửa bằng dung dịch đệm cacbonat 0,02M (có giá trị độ pH = 7,0) chứa natri clorua 0,98M. Nước tách rửa được khử muối và cô đặc bằng màng lọc thẩm thấu ngược (reverse osmotic - RO), và sản phẩm thu được được làm khô lạnh, bằng cách ấy thu được 21g phân chiết protein cơ bản ở dạng bột (sản phẩm của ví dụ tham khảo A). Do đó, phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa đã điều chế được xác định bằng kỹ thuật điện di gel natri dodecyl sulfat-polyacrylamit (sodium lauryl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)). Các kết quả đã thấy rằng phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa có phân tử lượng nằm trong khoảng từ 3000 đến 80.000 và có thành phần như

được thể hiện trong bảng 1. Phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa cũng bị thủy phân bởi axit clohydric 6N ở nhiệt độ 110°C trong thời gian 24 giờ, và sau đó được phân tích thành phần axit amin bằng máy phân tích axit amin (L-8500, do Hitachi, Ltd. sản xuất). Các kết quả được thể hiện trong bảng 2. Phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa còn được phân tích các thành phần protein của nó bằng phương pháp ELISA. Bảng 3 chỉ ra rằng phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa chứa hơn 40% lactoferin và lactoperoxidaza.

Bảng 1

Nước	1,06 (% trọng lượng)
Các protein	96,50
Các lipit	0,56
Tro	0,27
Các thành phần khác	1,61

Bảng 2

Axit aspactic	10,1 (% trọng lượng)
Serin	5,3
Axit glutamic	12,3
Prolin	4,7
Alanin	5,7
Leuxin	10,2
Lysin	8,4
Histidin	2,5
Acginin	7,2
Các thành phần khác	33,6

Bảng 3

Lactoferin	42,5 (% trọng lượng)
Lactoperoxidaza	45,6
Yếu tố tăng trưởng I giống Insulin	0,005
Các thành phần khác	11,895

Ví dụ tham khảo 2: Điều chế phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa 2

Cột (có đường kính 100cm và chiều dài 10cm) được nạp 30kg SP Toyopearl (do TOSOH CORPORATION sản xuất) làm nhựa trao đổi cation được rửa sạch bằng nước khử ion, và sau đó được nạp tải 3 t nước sữa pho mát (có giá trị độ pH = 6,2) đã được tiệt trùng nhờ nhiệt ở nhiệt độ 121°C trong thời gian 30 giây ở tốc độ chảy 10 L/phút. Sau đó, cột này được rửa sạch bằng nước khử ion, và phân chiết protein cơ bản được hấp phụ trên nhựa này được tách rửa bằng dung dịch đệm xitrat 0,1M (có giá trị độ pH = 5,7) chứa natri clorua 0,9M. Nước tách rửa được khử muối và cô đặc nhờ thẩm tách điện (electrodialysis (ED)), và sản phẩm thu được được khô lạnh, bằng cách ấy thu được 183g phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa ở dạng bột (sản phẩm của ví dụ tham khảo B).

Ví dụ thử nghiệm 1

Phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo A được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 100mg% (dung dịch A), và 0,2% trọng lượng polysacarit đậu nành làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion (dung dịch B). Các dung dịch A và B được trộn với nhau bằng cách khuấy nhờ thiết bị phân tán siêu âm (ULTRA-TURRAX T-25; do IKA Japan sản xuất) ở tốc độ 8000 vòng/phút và ở nhiệt độ 50°C trong thời gian ba phút để điều chế chế phẩm protein. Sau đó, dung dịch axit lactic hoặc natri hydroxit được bổ sung vào chế phẩm protein làm các chất điều chỉnh độ pH, để

điều chế mười mẫu có các giá trị độ pH lần lượt từ 1 đến 10. Mỗi mẫu (2ml) được pha chế trong các ống ampun, và được gia nhiệt trong thời gian bốn phút ở các nhiệt độ 90°C, 100°C, 110°C, 120°C, hoặc 130°C. Để tham khảo, các dung dịch chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa nhưng không chứa chất làm ổn định bất kỳ (ví dụ, dung dịch A) được điều chỉnh để có các giá trị độ pH như được mô tả ở trên, và các mẫu tạo thành được gia nhiệt ở nhiệt độ 110°C trong thời gian bốn phút. Sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được phân tích bằng cách quan sát sự kết tụ và kết tủa.

Để xác định mức độ thoái hóa của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu tham khảo sau khi xử lý nhiệt được cho điện di gel polyacrylamit (SDS-PAGE) để phân tích mô hình vùng của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa như được mô tả dưới đây.

SDS-PAGE: mỗi mẫu (15µl) được pha loãng bằng 15µl dung dịch đệm mẫu (chứa 1,25ml Tris-HCl 0,5M (có giá trị độ pH = 6,8), 1,0ml glyxerol, 2,0ml SDS 10%, 0,5ml 2-mercaptoetanol, và 0,25ml BPB 0,1%), và dung dịch tạo thành được gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C trong thời gian năm phút. Sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu (15µl) được cho điện di với gel polyacrylamit 14% (TEFCO SDS-PAGE mini). Kaleidoscope Prestained Standards (BioRad) được sử dụng làm máy đo phân tử lượng. Các kết quả được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4

	Nhiệt độ (°C)	Đánh giá	pH									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Chế phẩm protein (phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa + polysacarit đậu nành)	90	Bằng mắt	±	-	-	-	-	-	-	-	-	±
		SDS-PAGE	×	○	○	○	○	○	○	○	○	Δ
	100	Bằng mắt	±	-	-	-	-	-	-	-	-	+
		SDS-PAGE	×	○	○	○	○	○	○	○	○	×
	110	Bằng mắt	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
		SDS-PAGE	×	○	○	○	○	○	○	○	○	×
	120	Bằng mắt	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
		SDS-PAGE	×	○	○	○	○	○	○	○	○	×
	130	Bằng mắt	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
		SDS-PAGE	×	Δ	○	○	○	○	○	○	Δ	×
Đôi chứng	110	Bằng mắt	±	-	-	-	±	+	+	+	+	+
		SDS-PAGE	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

Lưu ý) 1: quan sát trực quan sự kết tụ và kết tủa

“-” là ký hiệu chỉ trong suốt do không có sự kết tụ hoặc kết tủa.

“±” là ký hiệu chỉ trong mờ, nhưng không có sự kết tụ hoặc kết tủa.

“+” là ký hiệu chỉ có sự kết tụ hoặc kết tủa.

Lưu ý) 2: quan sát bằng kỹ thuật điện di (SDS-PAGE)

“○” là ký hiệu chỉ quan sát thấy các dải protein bằng SDS-PAGE.

“Δ” là ký hiệu chỉ quan sát thấy các dải protein mảnh bằng SDS-PAGE.

“×” là ký hiệu chỉ quan sát thấy không có dải protein bằng SDS-PAGE.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 4 chỉ ra rằng không quan sát được bằng mắt sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện bởi SDS-PAGE đối với các dung dịch chứa chế phẩm protein bao gồm các protein cơ bản của sữa và polysacarit đậu nành ở các giá trị độ pH

= từ 2 đến 9. Các kết quả này chứng minh rằng chế phẩm protein này ổn định ở vùng pH axit và có độ bền nhiệt rất cao ở các vùng pH trung tính và kiềm. Mỗi mẫu cũng được gia nhiệt trong thời gian dài để quan sát phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt. Đối với các mẫu có các giá trị độ pH = từ 2 đến 9, không quan sát được có sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện thậm chí sau khi xử lý nhiệt ở nhiệt độ 120°C trong thời gian mười phút. Các kết quả thực nghiệm này chỉ ra rõ ràng rằng chế phẩm protein có thể giữ được phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa không mất hoạt tính thậm chí sau khi xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp. Ngược lại, không có các dải của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện trong dung dịch chứa riêng phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa ở các giá trị độ pH = từ 2 đến 9. Các kết quả này chỉ ra rằng phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa bị mất chức năng của nó là kết quả của sự thoái hóa và biến chất do nhiệt.

Ví dụ thử nghiệm 2

Phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo B được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 100mg% (dung dịch A), và gôm xanthan làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion ở nồng độ 0,04% (trọng lượng) (dung dịch B). Các dung dịch A và B được trộn với nhau bằng cách khuấy bằng thiết bị phân tán siêu âm (ULTRA-TURRAX T-25; do IKA Japan sản xuất) ở tốc độ 9500 vòng/phút và nhiệt độ 50°C trong thời gian ba phút để điều chế chế phẩm protein. Sau đó, dung dịch axit lactic hoặc natri hydroxit được bổ sung vào chế phẩm protein dưới dạng các chất điều chỉnh độ pH, để điều chế mười mẫu lần lượt có các giá trị độ pH = từ 1 đến 10. Mỗi mẫu (2ml) được pha chế trong các ống ampun, và được gia nhiệt trong thời gian bốn phút ở các nhiệt độ 90°C, 100°C, 110°C, 120°C, hoặc 130°C. Để làm đối chứng, các dung dịch chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa nhưng không chứa chất làm ổn định bất kỳ (ví dụ, dung dịch A) được điều chỉnh để có các giá trị độ

pH như được mô tả ở trên, và các mẫu tạo thành được gia nhiệt ở nhiệt độ 110°C trong thời gian bốn phút. Sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được phân tích bằng mắt đối với sự kết tụ và kết tủa. Để xác định mức độ thoái hóa của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt, sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được điện di gel polyacrylamit (SDS-PAGE) để phân tích mô hình vùng của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa như trong ví dụ thử nghiệm 1. Các kết quả được thể hiện trong bảng 5.

Bảng 5

	Nhiệt độ (°C)	Đánh giá	pH									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Chế phẩm protein (phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa + gồm xanthan)	90	Bằng mắt	+	-	-	-	-	-	-	-	-	±
		SDS-PAGE	×	○	○	○	○	○	○	○	○	×
	100	Bằng mắt	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
		SDS-PAGE	×	○	○	○	○	○	○	○	○	×
	110	Bằng mắt	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
		SDS-PAGE	×	○	○	○	○	○	○	○	○	×
	120	Bằng mắt	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
		SDS-PAGE	×	○	○	○	○	○	○	○	○	×
	130	Bằng mắt	+	±	-	-	-	-	-	-	-	+
		SDS-PAGE	×	○	○	○	○	○	○	○	Δ	×
Đối chứng	110	Bằng mắt	±	-	-	-	±	+	+	+	+	+
		SDS-PAGE	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

Lưu ý) 1: quan sát bằng mắt sự kết tụ và kết tủa

“-” là ký hiệu chỉ trong suốt do không có sự kết tụ hoặc kết tủa.

“±” là ký hiệu chỉ trong mờ, nhưng không có sự kết tụ hoặc kết tủa.

“+” là ký hiệu chỉ có sự kết tụ hoặc kết tủa.

Lưu ý) 2: quan sát bằng kỹ thuật điện di (SDS-PAGE)

“○” là ký hiệu chỉ quan sát thấy các dải protein bằng SDS-PAGE.

“Δ” là ký hiệu chỉ quan sát thấy các dải protein mảnh bằng SDS-PAGE.

“×” là ký hiệu chỉ quan sát thấy không có dải protein bằng SDS-PAGE.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 5 chỉ ra rằng không quan sát được bằng mắt sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện bởi SDS-PAGE đối với các dung dịch chứa chế phẩm protein chứa phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa và gồm xanthan ở các giá trị độ pH = từ 2 đến 9. Các kết quả này chứng minh rằng chế phẩm protein này ổn định ở vùng pH axit và có độ bền nhiệt rất cao ở các vùng pH trung tính và kiềm. Mỗi mẫu còn được gia nhiệt trong thời gian dài để quan sát phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt. Đối với các mẫu có các giá trị độ pH = từ 2 đến 9, không quan sát được có sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải của phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện thậm chí sau khi xử lý nhiệt ở nhiệt độ 130°C trong thời gian mười phút. Các kết quả thực nghiệm này chỉ ra rõ ràng rằng chế phẩm protein có thể giữ lại một cách đầy đủ hoạt tính của phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa thậm chí sau khi xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp.

Ví dụ thử nghiệm 3

Phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo A được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 100mg% (dung dịch A), và 0,2% trọng lượng pectin làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion (dung dịch B). Các dung dịch A và B được trộn với nhau bằng cách khuấy bằng thiết bị phân tán siêu âm (ULTRA-TURRAX T-25; do IKA Japan sản xuất) ở tốc độ 8000 vòng/phút và ở nhiệt độ 40°C trong thời gian ba phút để điều chế chế phẩm protein. Sau đó, dung dịch axit lactic hoặc natri hydroxit được bổ sung vào chế phẩm protein làm các chất điều chỉnh độ pH, để điều chế mười mẫu có các giá trị độ pH lần lượt từ 1 đến 10. Mỗi mẫu (2ml) được pha chế trong các

ống ampun, và được gia nhiệt trong thời gian bốn phút ở các nhiệt độ 90°C, 100°C, 110°C, 120°C, hoặc 130°C. Để làm đối chứng, các dung dịch chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa nhưng không chứa chất làm ổn định bất kỳ (ví dụ, dung dịch A) được điều chỉnh để có các giá trị độ pH như được mô tả ở trên, và các mẫu tạo thành được gia nhiệt ở nhiệt độ 110°C trong thời gian bốn phút. Sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được phân tích bằng mắt đối với sự kết tụ và kết tủa. Để xác định mức độ thoái hóa của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt, sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được cho điện di gel polyacrylamit (SDS-PAGE) để phân tích mô hình vùng của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa như trong ví dụ thử nghiệm 1. Các kết quả được thể hiện trong bảng 6.

Bảng 6

	Nhiệt độ (°C)	Đánh giá	pH									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Chế phẩm protein (phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa + pectin)	90	Bằng mắt	+	±	±	-	-	-	-	-	-	±
		SDS-PAGE	×	○	○	○	○	○	○	○	○	×
	100	Bằng mắt	+	±	±	-	-	-	-	-	-	+
		SDS-PAGE	×	○	○	○	○	○	○	○	○	×
	110	Bằng mắt	+	±	±	-	-	-	-	-	±	+
		SDS-PAGE	×	Δ	○	○	○	○	○	○	○	×
	120	Bằng mắt	+	±	±	-	-	-	-	-	±	+
		SDS-PAGE	×	Δ	○	○	○	○	○	○	Δ	×
	130	Bằng mắt	+	±	±	-	-	-	-	-	±	+
		SDS-PAGE	×	Δ	Δ	○	○	○	○	○	Δ	×
Đối chứng	110	Bằng mắt	±	-	-	-	±	+	+	+	+	+
		SDS-PAGE	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

Lưu ý) 1: quan sát bằng mắt sự kết tụ và kết tủa

“-” là ký hiệu chỉ sự trong suốt do không có sự kết tụ hoặc kết tủa.

“±” là ký hiệu chỉ trong mờ, nhưng không có sự kết tụ hoặc kết tủa.

“+” là ký hiệu chỉ có sự kết tụ hoặc kết tủa.

Lưu ý) 2: quan sát bằng kỹ thuật điện di (SDS-PAGE)

“○” là ký hiệu chỉ quan sát thấy các dải protein bằng SDS-PAGE.

“Δ” là ký hiệu chỉ quan sát thấy các dải protein mảnh bằng SDS-PAGE.

“×” là ký hiệu chỉ quan sát thấy không có dải protein bằng SDS-PAGE.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 6 chỉ ra rằng không quan sát được bằng mắt sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện bởi SDS-PAGE đối với các dung dịch chứa chế phẩm protein chứa phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa và pectin ở các giá trị độ pH = từ 2 đến 9. Các kết quả này chứng minh rằng chế phẩm protein ổn định ở vùng pH axit và có độ bền nhiệt rất cao ở các vùng pH trung tính và kiềm. Mỗi mẫu còn được gia nhiệt trong thời gian dài để quan sát phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt. Đối với các mẫu có các giá trị độ pH = từ 2 đến 9, không quan sát được có sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện thậm chí sau khi xử lý nhiệt ở nhiệt độ 120°C trong thời gian tám phút. Các kết quả thực nghiệm này chỉ ra rõ ràng rằng chế phẩm protein có thể giữ lại một cách đầy đủ hoạt tính của phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa thậm chí sau khi xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp.

Ví dụ thử nghiệm 4

Phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo B được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 100mg% (dung dịch A), và 0,1% trọng lượng gồm arabic làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion (dung dịch B). Các dung dịch A và B được trộn với nhau bằng cách khuấy bằng thiết bị phân tán siêu âm (ULTRA-TURRAX T-25; do IKA Japan sản xuất) ở tốc độ 8000 vòng/phút và ở nhiệt độ 40°C trong thời gian ba phút để

điều chế chế phẩm protein. Sau đó, dung dịch axit lactic hoặc natri hydroxit được bổ sung vào chế phẩm protein làm các chất điều chỉnh độ pH, để điều chế mười mẫu có các giá trị độ pH lần lượt từ 1 đến 10. Mỗi mẫu (2ml) được pha chế trong các ống ampun, và được gia nhiệt trong thời gian bốn phút ở các nhiệt độ 90°C, 100°C, 110°C, 120°C, hoặc 130°C. Để làm đối chứng, các dung dịch chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa nhưng không chứa chất làm ổn định bất kỳ (ví dụ, dung dịch A) được điều chỉnh để có các giá trị độ pH như được mô tả ở trên, và các mẫu tạo thành được gia nhiệt ở nhiệt độ 110°C trong thời gian bốn phút. Sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được phân tích bằng mắt đối với sự kết tụ và kết tủa. Để xác định mức độ thoái hóa của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt, sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được cho điện di gel polyacrylamit (SDS-PAGE) để phân tích mô hình vùng của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa như trong ví dụ thử nghiệm 1.

Các kết quả của ví dụ thử nghiệm 4 chỉ ra rằng không quan sát được bằng mắt sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện bởi SDS-PAGE đối với các dung dịch chứa chế phẩm protein chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và gôm arabic ở các giá trị độ pH = từ 3 đến 5. Các kết quả này chứng minh rằng chế phẩm protein có độ bền nhiệt rất cao ở vùng pH axit. Mỗi mẫu còn được gia nhiệt trong thời gian dài để quan sát phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt. Đối với các mẫu có các giá trị độ pH = từ 3 đến 5, không quan sát được có sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện thậm chí sau khi xử lý nhiệt ở nhiệt độ 120°C trong thời gian bảy phút. Các kết quả thực nghiệm này chỉ ra rõ ràng rằng chế phẩm protein có thể giữ lại một cách đầy đủ hoạt tính của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa thậm chí sau khi xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp.

Ví dụ thử nghiệm 5

Phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo A được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 100mg% (dung dịch A), và 0,1% trọng lượng gồm ghatti làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion (dung dịch B). Các dung dịch A và B được trộn với nhau bằng cách khuấy bằng thiết bị phân tán siêu âm (ULTRA-TURRAX T-25; do IKA Japan sản xuất) ở tốc độ 8000 vòng/phút và ở nhiệt độ 40°C trong thời gian bốn phút để điều chế chế phẩm protein. Sau đó, dung dịch axit lactic hoặc natri hydroxit được bổ sung vào chế phẩm protein làm các chất điều chỉnh độ pH, để điều chế mười mẫu có các giá trị độ pH lần lượt từ 1 đến 10. Mỗi mẫu (2ml) được pha chế trong các ống ampun, và được gia nhiệt trong thời gian bốn phút ở các nhiệt độ 90°C, 100°C, 110°C, 120°C, hoặc 130°C. Để làm đối chứng, các dung dịch chứa phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa nhưng không chứa chất làm ổn định bất kỳ (ví dụ, dung dịch A) được điều chỉnh để có các giá trị độ pH như được mô tả ở trên, và các mẫu tạo thành được gia nhiệt ở nhiệt độ 110°C trong thời gian bốn phút. Sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được phân tích bằng mắt đối với sự kết tụ và kết tủa. Để xác định mức độ thoái hóa của phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt, sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được cho điện di gel polyacrylamit (SDS-PAGE) để phân tích mô hình vùng của phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa như trong ví dụ thử nghiệm 1.

Các kết quả của ví dụ thử nghiệm 5 chỉ ra rằng không quan sát được bằng mắt sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện bởi SDS-PAGE đối với các dung dịch chứa chế phẩm protein chứa phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa và gồm ghatti ở các giá trị độ pH = từ 3 đến 8. Các kết quả này chứng minh rằng chế phẩm protein ổn định ở vùng pH axit và có độ bền nhiệt rất cao ở các vùng pH trung tính và kiềm. Mỗi mẫu

còn được gia nhiệt trong thời gian dài để quan sát phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt. Đối với các mẫu có các giá trị độ pH = từ 3 đến 8, không quan sát được sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện thậm chí sau khi xử lý nhiệt ở nhiệt độ 120°C trong thời gian bảy phút. Các kết quả thực nghiệm này chỉ ra rõ ràng rằng chế phẩm protein có thể giữ lại một cách đầy đủ hoạt tính của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa thậm chí sau khi xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp.

Ví dụ thử nghiệm 6

Phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo B được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 100mg% (dung dịch A), và 0,2% trọng lượng carageenan làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion (dung dịch B). Các dung dịch A và B được trộn với nhau bằng cách khuấy bằng thiết bị phân tán siêu âm (ULTRA-TURRAX T-25; do IKA Japan sản xuất) ở tốc độ 8000 vòng/phút và ở nhiệt độ 40°C trong thời gian ba phút để điều chế chế phẩm protein. Sau đó, dung dịch axit lactic hoặc natri hydroxit được bổ sung vào chế phẩm protein làm các chất điều chỉnh độ pH, để điều chế mười mẫu có các giá trị độ pH lần lượt từ 1 đến 10. Mỗi mẫu (2ml) được pha chế trong các ống ampun, và được gia nhiệt trong thời gian bốn phút ở các nhiệt độ 90°C, 100°C, 110°C, 120°C, hoặc 130°C. Để làm đối chứng, các dung dịch chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa nhưng không chứa chất làm ổn định bất kỳ (ví dụ, dung dịch A) được điều chỉnh để có các giá trị độ pH như được mô tả ở trên, và các mẫu tạo thành được gia nhiệt ở nhiệt độ 110°C trong thời gian bốn phút. Sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được phân tích bằng mắt đối với sự kết tụ và kết tủa. Để xác định mức độ thoái hóa của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt, sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được cho điện di gel polyacrylamit (SDS-PAGE) để phân tích mô hình vùng của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa như trong ví

dự thử nghiệm 1.

Các kết quả của ví dụ thử nghiệm 6 chỉ ra rằng không quan sát được bằng mắt sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện bởi SDS-PAGE đối với các dung dịch chứa chế phẩm protein chứa phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa và carageenan ở các giá trị độ pH = từ 4 đến 8. Các kết quả này chứng minh rằng chế phẩm protein ổn định ở vùng pH axit và có độ bền nhiệt rất cao ở các vùng pH trung tính và kiềm. Mỗi mẫu còn được gia nhiệt trong thời gian dài để quan sát phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt. Đối với các mẫu có các giá trị độ pH = từ 4 đến 8, không quan sát được có sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện thậm chí sau khi xử lý nhiệt ở nhiệt độ 120°C trong thời gian sáu phút. Các kết quả thực nghiệm này chỉ ra rõ ràng rằng chế phẩm protein có thể giữ lại một cách đầy đủ hoạt tính của phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa thậm chí sau khi xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp.

Ví dụ thử nghiệm 7

Phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo A được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 100mg% (dung dịch A), và 0,15% trọng lượng gồm đậu carob làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion (dung dịch B). Các dung dịch A và B được trộn với nhau bằng cách khuấy bằng thiết bị phân tán siêu âm (ULTRA-TURRAX T-25; do IKA Japan sản xuất) ở tốc độ 8000 vòng/phút và ở nhiệt độ 40°C trong thời gian ba phút để điều chế chế phẩm protein. Sau đó, dung dịch axit lactic hoặc natri hydroxit được bổ sung vào chế phẩm protein làm các chất điều chỉnh độ pH, để lần lượt điều chế mười mẫu có các giá trị độ pH = từ 1 đến 10. Mỗi mẫu (2ml) được pha chế trong các ống ampun, và được gia nhiệt trong thời gian bốn phút ở các nhiệt độ 90°C, 100°C, 110°C, 120°C, hoặc 130°C. Để làm đối chứng, các dung dịch chứa phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa nhưng không chứa chất

làm ổn định bất kỳ (ví dụ, dung dịch A) được điều chỉnh để có các giá trị độ pH như được mô tả ở trên, và các mẫu tạo thành được gia nhiệt ở nhiệt độ 110°C trong thời gian bốn phút. Sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được phân tích bằng mắt đối với sự kết tụ và kết tủa. Để xác định mức độ thoái hóa của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt, sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được cho điện di gel polyacrylamit (SDS-PAGE) để phân tích mô hình vùng của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa như trong ví dụ thử nghiệm 1.

Các kết quả của ví dụ thử nghiệm 7 chỉ ra rằng không quan sát được bằng mắt sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện bởi SDS-PAGE đối với các dung dịch chứa chế phẩm protein chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và gồm đậu carob ở các giá trị độ pH = từ 4 đến 7. Các kết quả này chứng minh rằng chế phẩm protein ổn định ở vùng pH axit và có độ bền nhiệt rất cao ở vùng pH trung tính. Mỗi mẫu còn được gia nhiệt trong thời gian dài để quan sát phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt. Đối với các mẫu có các giá trị độ pH = từ 4 đến 7, không quan sát được có sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện thậm chí sau khi xử lý nhiệt ở nhiệt độ 120°C trong thời gian năm phút. Các kết quả thực nghiệm này chỉ ra rõ ràng rằng chế phẩm protein có thể giữ lại một cách đầy đủ hoạt tính của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa thậm chí sau khi xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp.

Ví dụ thử nghiệm 8

Phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo B được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 100mg% (dung dịch A), và 0,15% trọng lượng natri caseinat làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion (dung dịch B). Các dung dịch A và B được trộn với nhau bằng cách khuấy bằng thiết bị phân tán siêu âm (ULTRA-TURRAX T-25; do IKA

Japan sản xuất) ở tốc độ 9500 vòng/phút và ở nhiệt độ 40°C trong thời gian ba phút để điều chế chế phẩm protein. Sau đó, dung dịch axit lactic hoặc natri hydroxit được bổ sung vào chế phẩm protein làm các chất điều chỉnh độ pH, để điều chế mười mẫu có các giá trị độ pH lần lượt từ 1 đến 10. Mỗi mẫu (2ml) được pha chế trong các ống ampun, và được gia nhiệt trong thời gian bốn phút ở các nhiệt độ 90°C, 100°C, 110°C, 120°C, hoặc 130°C. Để làm đối chứng, các dung dịch chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa nhưng không chứa chất làm ổn định bất kỳ (ví dụ, dung dịch A) được điều chỉnh để có các giá trị độ pH như được mô tả ở trên, và các mẫu tạo thành được gia nhiệt ở nhiệt độ 110°C trong thời gian bốn phút. Sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được phân tích bằng mắt đối với sự kết tụ và kết tủa. Để xác định mức độ thoái hóa của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt, sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được cho điện di gel polyacrylamit (SDS-PAGE) để phân tích mô hình vùng của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa như trong ví dụ thử nghiệm 1.

Các kết quả của ví dụ thử nghiệm 8 chỉ ra rằng không quan sát được bằng mắt sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện bởi SDS-PAGE đối với các dung dịch chứa chế phẩm protein chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và natri caseinat ở các giá trị độ pH = từ 5 đến 9. Các kết quả này chứng minh rằng chế phẩm protein ổn định ở vùng pH axit và có độ bền nhiệt rất cao ở các vùng pH trung tính và kiềm. Mỗi mẫu cũng được gia nhiệt trong thời gian dài để quan sát phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt. Đối với các mẫu có các giá trị độ pH = từ 5 đến 9, không quan sát được sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện thậm chí sau khi xử lý nhiệt ở nhiệt độ 120°C trong thời gian năm phút. Các kết quả thực nghiệm này chỉ ra rõ ràng rằng chế phẩm protein có thể giữ lại một cách đầy đủ hoạt tính của phần chiết protein có

nguồn gốc từ sữa thậm chí sau khi xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp.

Ví dụ thử nghiệm 9

Phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo A được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 100mg% (dung dịch A), và 0,25% trọng lượng lexithin làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion (dung dịch B). Các dung dịch A và B được trộn với nhau bằng cách khuấy bằng thiết bị phân tán siêu âm (ULTRA-TURRAX T-25; do IKA Japan sản xuất) ở tốc độ 8000 vòng/phút và ở nhiệt độ 40°C trong thời gian ba phút để điều chế chế phẩm protein. Sau đó, dung dịch axit lactic hoặc natri hydroxit được bổ sung vào chế phẩm protein làm các chất điều chỉnh độ pH, để điều chế mười mẫu có các giá trị độ pH lần lượt từ 1 đến 10. Mỗi mẫu (2ml) được pha chế trong các ống ampun, và được gia nhiệt trong thời gian bốn phút ở các nhiệt độ 90°C, 100°C, 110°C, 120°C, hoặc 130°C. Để làm đối chứng, các dung dịch chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa nhưng không chứa chất làm ổn định bất kỳ (ví dụ, dung dịch A) được điều chỉnh để có các giá trị độ pH như được mô tả ở trên, và các mẫu tạo thành được gia nhiệt ở nhiệt độ 110°C trong thời gian bốn phút. Sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được phân tích bằng mắt đối với sự kết tụ và kết tủa. Để xác định mức độ thoái hóa của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt, sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được cho điện di gel polyacrylamit (SDS-PAGE) để phân tích mô hình vùng của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa như trong ví dụ thử nghiệm 1.

Các kết quả của ví dụ thử nghiệm 9 chỉ ra rằng không quan sát được bằng mắt sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện bởi SDS-PAGE đối với các dung dịch chứa chế phẩm protein chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và lexithin ở các giá trị độ pH = từ 3 đến 8. Các kết quả này chứng minh rằng chế phẩm protein ổn định ở vùng pH

axit và có độ bền nhiệt rất cao ở các vùng pH trung tính và kiềm. Mỗi mẫu còn được gia nhiệt trong thời gian dài để quan sát phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt. Đối với các mẫu có các giá trị độ pH = từ 3 đến 8, không quan sát được có sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện thậm chí sau khi xử lý nhiệt ở nhiệt độ 120°C trong thời gian sáu phút. Các kết quả thực nghiệm này chỉ ra rõ ràng rằng chế phẩm protein có thể giữ lại một cách đầy đủ hoạt tính của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa thậm chí sau khi xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp.

Ví dụ thử nghiệm 10

Phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo B được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 100mg% (dung dịch A), và 0,15% trọng lượng carboxymethylxenluloza làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion (dung dịch B). Các dung dịch A và B được trộn với nhau bằng cách khuấy bằng thiết bị phân tán siêu âm (ULTRA-TURRAX T-25; do IKA Japan sản xuất) ở tốc độ 8000 vòng/phút và ở nhiệt độ 40°C trong thời gian ba phút để điều chế chế phẩm protein. Sau đó, dung dịch axit lactic hoặc natri hydroxit được bổ sung vào chế phẩm protein làm các chất điều chỉnh độ pH, để điều chế mười mẫu có các giá trị độ pH lần lượt từ 1 đến 10. Mỗi mẫu (2ml) được pha chế trong các ống ampun, và được gia nhiệt trong thời gian bốn phút ở các nhiệt độ 90°C, 100°C, 110°C, 120°C, hoặc 130°C. Để làm đối chứng, các dung dịch chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa nhưng không chứa chất làm ổn định bất kỳ (ví dụ, dung dịch A) được điều chỉnh để có các giá trị độ pH như được mô tả ở trên, và các mẫu tạo thành được gia nhiệt ở nhiệt độ 110°C trong thời gian bốn phút. Sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được phân tích bằng mắt đối với sự kết tụ và kết tủa. Để xác định mức độ thoái hóa của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt, sau khi xử lý nhiệt, mỗi mẫu và mẫu đối chứng được cho điện di gel polyacrylamit

(SDS-PAGE) để phân tích mô hình vùng của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa như trong ví dụ thử nghiệm 1.

Các kết quả của ví dụ thử nghiệm 10 chỉ ra rằng không quan sát được bằng mắt sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện bởi SDS-PAGE đối với các dung dịch chứa chế phẩm protein chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và carboxymethylxenluloza ở các giá trị độ pH = từ 3 đến 7. Các kết quả này chứng minh rằng chế phẩm protein ổn định ở vùng pH axit và có độ bền nhiệt rất cao ở vùng pH trung tính. Mỗi mẫu còn được gia nhiệt trong thời gian dài để quan sát phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi xử lý nhiệt. Đối với các mẫu có các giá trị độ pH = từ 3 đến 7, không quan sát được có sự kết tụ hoặc kết tủa và các dải phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa được phát hiện thậm chí sau khi xử lý nhiệt ở nhiệt độ 120°C trong thời gian sáu phút. Các kết quả thực nghiệm này chỉ ra rõ ràng rằng chế phẩm protein có thể giữ lại một cách đầy đủ hoạt tính của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa thậm chí sau khi xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp.

Ví dụ thử nghiệm 11

Mỗi mẫu được điều chế trong các ví dụ thử nghiệm từ 1 đến 10 được điều chỉnh để có giá trị độ pH = 7 và được gia nhiệt ở nhiệt độ 140°C trong thời gian năm phút. Sau đó, mỗi mẫu được phân tích tính kháng nguyên bằng phương pháp ELISA sử dụng các kháng thể chống lại phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa. Để làm đối chứng, phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa không được trộn với chất làm ổn định bất kỳ được gia nhiệt ở nhiệt độ 140°C trong thời gian năm phút, và sau đó được phản ứng với kháng thể. Khả năng phản ứng được quan sát đối với mẫu đối chứng được đặt là 1. Khả năng phản ứng của mỗi chế phẩm protein với kháng thể được tính là giá trị tương đối so với khả năng phản ứng của mẫu đối chứng. Các kết quả được thể hiện trong bảng 7.

Bảng 7

Các chất làm ổn định có trong các chế phẩm protein tương ứng	Khả năng phản ứng tương đối của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa với kháng thể
Đối chứng	1,00 ± 0,35
Polysacarit đậu nành	6,05 ± 0,76 a
Gôm xanthan	11,32 ± 0,98 a
Pectin	19,35 ± 0,86 a
Gôm arabic	3,21 ± 0,55 a
Gôm ghatti	2,63 ± 0,51 a
Carageenan	12,59 ± 0,83 a
Gôm đậu carob	9,57 ± 0,67 a
Natri caseinat	2,47 ± 0,60 a
Lexithin	9,47 ± 0,84 a
Carboxymetylxenluloza	2,05 ± 0,38 a

*Khả năng phản ứng được biểu diễn bằng giá trị tương đối so với khả năng phản ứng của riêng phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa với kháng thể (được đặt là 1).

*Giá trị số biểu thị độ lệch chuẩn ± trung bình (n = 6).

*“a” biểu thị sự khác biệt đáng kể so với khả năng phản ứng của mẫu đối chứng (p < 0,05).

Các kết quả được thể hiện trong bảng 7 chỉ ra rằng tất cả các chế phẩm protein đều duy trì khả năng phản ứng tương đối với kháng thể là 1 hoặc lớn hơn so với riêng phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi gia nhiệt đến nhiệt độ 140°C. Các kết quả này chứng minh rằng chế phẩm protein của sáng chế ổn định khi xử lý nhiệt cực độ ở nhiệt độ 140°C.

Ví dụ thử nghiệm 12

Mỗi mẫu được điều chế trong các ví dụ thử nghiệm từ 1 đến 10 được điều chỉnh để có giá trị độ pH = 7 và được gia nhiệt ở nhiệt độ 140°C trong thời gian năm phút. Sau đó, mỗi mẫu được đo hoạt động tăng sinh tế bào tạo xương. Để làm đối chứng, phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa không được trộn với chất làm ổn định bất kỳ được gia nhiệt ở nhiệt độ 140°C trong thời gian năm phút, và sau đó được đo hoạt động tăng sinh tế bào tạo xương (được đặt là 1). Hoạt động tăng sinh tế bào tạo xương của mỗi chế phẩm protein được thể hiện trong bảng 8 là giá trị tương đối so với mẫu đối chứng.

Bảng 8

Các chất làm ổn định chứa trong các chế phẩm protein tương ứng	Hoạt động tăng sinh tế bào tạo xương tương đối
Đối chứng	1,00 ± 0,08
Polysacarit đậu nành	1,37 ± 0,10 a
Gôm xanthan	1,95 ± 0,09 a
Pectin	1,62 ± 0,16 a
Gôm Arabic	1,16 ± 0,08 a
Gôm ghatti	1,24 ± 0,12 a
Carageenan	1,21 ± 0,07 a
Gôm đậu carob	1,18 ± 0,10 a
Natri caseinat	1,85 ± 0,14 a
Lexithin	1,44 ± 0,21 a
Carboxymetylxenluloza	1,56 ± 0,22 a

*Giá trị hoạt động tăng sinh tế bào tạo xương được biểu diễn bằng giá trị tương đối so với hoạt động tăng sinh tế bào tạo xương của riêng phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa (được đặt là 1).

*Giá trị số biểu thị độ lệch chuẩn ± trung bình (n = 6).

**“a” biểu thị sự khác biệt đáng kể so với hoạt động của mẫu đối chứng (p <

0,05).

Các kết quả được thể hiện trong bảng 8 chỉ ra rằng tất cả các chế phẩm protein duy trì hoạt động tăng sinh tế bào tạo xương tương đối là 1 hoặc lớn hơn so với hoạt động được quan sát đối với riêng phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi gia nhiệt đến nhiệt độ 140°C. Các kết quả này chứng minh rằng chế phẩm protein của sáng chế ổn định với sự xử lý nhiệt cực độ ở nhiệt độ 140°C.

Ví dụ thử nghiệm 13

Dung dịch chứa chế phẩm protein được điều chế trong ví dụ thử nghiệm 2 (chứa 50mg% phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và 0,04% trọng lượng gôm xanthan) lần lượt được điều chỉnh để có các giá trị độ pH = từ 2 đến 9. Mỗi mẫu (150ml) được đóng gói và gắn kín trong túi hấp thanh trùng. Để làm đối chứng, các dung dịch chứa riêng LF (lactoferin) được điều chỉnh để lần lượt có các giá trị độ pH = từ 2 đến 9, và mỗi mẫu (150ml) được đóng gói và gắn kín trong túi hấp thanh trùng. Các dung dịch được gia nhiệt bằng nồi hấp (bình chịu áp suất loại một, loại: RCS-4CRTGN; do HISAKA WORKS, LTD. sản xuất) ở nhiệt độ 120°C trong thời gian bốn phút. Mỗi mẫu sau khi gia nhiệt được bảo quản ở nhiệt độ 25°C và được phân tích đối với sự kết tụ hoặc kết tủa bằng cách quan sát bằng mắt và bằng phương pháp điện di gel polyacrylamit (SDS-PAGE) để có mô hình vùng của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa.

Kết quả là, đối với các mẫu đối chứng, ví dụ, các dung dịch chỉ chứa LF và đã được điều chỉnh để có các giá trị độ pH = từ 2 đến 9, sự kết tụ và kết tủa được quan sát ở ngày 1. Ngược lại, đối với các dung dịch chứa chế phẩm protein tương ứng và đã được điều chỉnh để có các giá trị độ pH = từ 2 đến 9, không quan sát được có sự kết tụ hoặc kết tủa thậm chí sau khi bảo quản một tháng. Trong phép phân tích mô hình vùng của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa bằng SDS-PAGE, đối với các dung dịch chứa các chế phẩm protein tương ứng và đã được điều chỉnh để có các giá trị độ pH = từ 2 đến 9, quan sát thấy các dải

phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và quan sát thấy không có sự đổi khác ở giai đoạn bắt đầu bảo quản và thậm chí sau khi bảo quản một tháng. Các kết quả thực nghiệm này chứng minh rằng chế phẩm protein của sáng chế cũng có hiệu quả trong việc xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp.

Ví dụ thử nghiệm 14

200g chế phẩm protein được điều chế trong ví dụ thử nghiệm 2 (chứa 50mg% phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và 0,04% trọng lượng gồm xanthan) cùng với 800g dung dịch bột sữa gầy hoàn nguyên (chứa 3% trọng lượng bột sữa gầy) được trộn để điều chế dung dịch (1) chứa chế phẩm protein. Để làm đối chứng, dung dịch (2) được điều chế bằng cách trộn trộn 200g dung dịch chứa phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa (50mg% dung dịch của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa) với 800g dung dịch bột sữa gầy hoàn nguyên (chứa 3% trọng lượng bột sữa gầy), và 1000g dung dịch (3) riêng bột sữa gầy hoàn nguyên (chứa 3% trọng lượng bột sữa gầy) được điều chế. Từng dung dịch riêng lẻ (150ml) được đóng gói và gắn kín trong các túi hấp thanh trùng. Sau đó, các dung dịch này được gia nhiệt bằng nồi hấp (bình chịu áp suất loại một, loại: RCS-4CRTGN; do HISAKA WORKS, LTD. sản xuất) ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 20 phút. Kết quả là, các dung dịch (1) và (3) thể hiện không có sự kết tụ hoặc kết tủa và có hương vị tuyệt vời, trong khi đó, dung dịch (2) biểu hiện có sự kết tụ và kết tủa. Các kết quả thực nghiệm này chứng minh rằng chế phẩm protein của sáng chế có hiệu quả đặc biệt trong việc xử lý tiệt trùng bằng nồi hấp.

Ví dụ thử nghiệm 15

Phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo A được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 100mg% (dung dịch A), và 0,4% trọng lượng polysacarit đậu nành, 0,04% trọng lượng gồm xanthan, 0,05% trọng lượng gồm cây me, và 0,1% trọng lượng este của axit béo sucroza

làm các chất làm ổn định lần lượt được hòa tan trong nước khử ion (các dung dịch B). Dung dịch A được trộn với mỗi dung dịch B bằng cách khuấy bằng thiết bị phân tán siêu âm (ULTRA-TURRAX T-25; do IKA Japan sản xuất) ở tốc độ 8000 vòng/phút và ở nhiệt độ 50°C trong thời gian ba phút để điều chế chế phẩm protein. Sau đó, dung dịch axit lactic hoặc natri hydroxit được bổ sung vào mỗi chế phẩm protein làm chất điều chỉnh độ pH, để điều chế mẫu có giá trị độ pH = 6,5. Mỗi mẫu được điều chế như vậy được gia nhiệt ở nhiệt độ 120°C trong thời gian bốn phút, và được phân tích sự kết tụ và kết tủa bằng cách quan sát bằng mắt và phân tích mức độ thoái hóa của chế phẩm protein bằng kỹ thuật SDS-PAGE trước và sau khi xử lý nhiệt theo các phương pháp ở ví dụ thử nghiệm 1. Các kết quả được thể hiện trong bảng 9.

Bảng 9

Mẫu	Các chất làm ổn định	Bảng mắt	SDS-P AGE
Chế phẩm protein trước khi gia nhiệt	(gôm cây me)	-	○
Chế phẩm protein sau khi gia nhiệt	(gôm cây me)	+	×
Chế phẩm protein trước khi gia nhiệt	(este của axit béo sucroza)	-	○
Chế phẩm protein sau khi gia nhiệt	(este của axit béo sucroza)	±	×
Chế phẩm protein trước khi gia nhiệt	(polysacarit đậu nành)	-	○
Chế phẩm protein sau khi gia nhiệt	(polysacarit đậu nành)	-	○
Chế phẩm protein trước khi gia nhiệt	(gôm xanthan)	-	○
Chế phẩm protein sau khi gia nhiệt	(gôm xanthan)	-	○

Lưu ý) 1: quan sát bằng mắt sự kết tụ và kết tủa

“-” là ký hiệu chỉ trong suốt do không có sự kết tụ hoặc kết tủa.

“±” là ký hiệu chỉ trong mờ, nhưng không có sự kết tụ hoặc kết tủa.

“+” là ký hiệu chỉ có sự kết tụ hoặc kết tủa.

Lưu ý) 2: quan sát bằng kỹ thuật điện di (SDS-PAGE)

“○” là ký hiệu chỉ quan sát thấy các dải protein bằng SDS-PAGE.

“Δ” là ký hiệu chỉ quan sát thấy các dải protein mảnh bằng SDS-PAGE.

“×” là ký hiệu chỉ quan sát thấy không có dải protein bằng SDS-PAGE.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 9 chỉ ra rằng bất kỳ một trong số các chế phẩm protein trước khi xử lý nhiệt là trong suốt do không có sự kết tụ hoặc kết tủa, và các dải phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa được quan sát. Sau khi xử lý nhiệt, chế phẩm protein chứa polysacarit đậu nành và chế phẩm protein chứa gôm xanthan là trong suốt và các dải phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa được quan sát đối với các chế phẩm protein này. Ngược lại, cả hai chế phẩm protein chứa gôm cây me và chế phẩm protein chứa este của axit béo sucroza là trong mờ hoặc thể hiện sự kết tụ hoặc kết tủa, và không có dải phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa được quan sát đối với các chế phẩm protein này ở SDS-PAGE.

Ví dụ 1

Phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo B được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 50mg% (dung dịch A, 300g), và 0,4% trọng lượng polysacarit đậu nành làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion (dung dịch B, 300g). Các dung dịch A và B được trộn với nhau bằng cách khuấy bằng thiết bị phân tán siêu âm (ULTRA-TURRAX T-25; do IKA Japan sản xuất) ở tốc độ 9500 vòng/phút và ở nhiệt độ 50°C trong thời gian ba phút để điều chế 600g chế phẩm protein của sáng chế.

Ví dụ 2

Phân chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo A được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 40mg% (dung dịch A, 10kg), và 0,08% trọng lượng gôm xanthan làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion (dung dịch B, 10kg). Các dung dịch A và B được trộn với nhau bằng cách khuấy bằng máy trộn đồng nhất T.K. (MARK II 160 Model; do

Tokushu Kika Kogyo Co., Ltd. sản xuất) ở tốc độ 3600 vòng/phút trong thời gian 30 phút. Hỗn hợp thu được được cô đặc bằng màng UF có phân tử lượng cắt là 10kDa, để điều chế 10kg chế phẩm protein theo sáng chế.

Ví dụ 3

Phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo B được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 100mg% (dung dịch A, 1000kg), và 0,4% trọng lượng pectin làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion (dung dịch B, 1000kg). Các dung dịch A và B được trộn với nhau bằng cách khuấy bằng máy trộn đồng nhất T.K. (MARK II 2500 Model; do Tokushu Kika Kogyo Co., Ltd. sản xuất) ở tốc độ 3600 vòng/phút và ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 40 phút. Sau đó, hỗn hợp tạo thành được làm khô lạnh để điều chế 3,9kg chế phẩm protein của sáng chế.

Ví dụ 4

Phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo A được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 100mg% (dung dịch A, 500g), và 0,4% trọng lượng polysacarit đậu nành làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion (dung dịch B, 500g). Các dung dịch A và B được trộn với nhau bằng cách khuấy bằng thiết bị phân tán siêu âm (ULTRA-TURRAX T-25; do IKA Japan sản xuất) ở tốc độ 9500 vòng/phút và ở nhiệt độ 40°C trong thời gian ba phút. Sau đó, dung dịch hỗn hợp được trộn với 80g sorbitol, 4g chất axit hóa, 4g chất tạo hương, 10g pectin, 10g nước sữa protein đặc, 2g canxi lactat, và 890g nước bằng cách khuấy, để điều chế chế phẩm protein của sáng chế. Chế phẩm protein được đóng gói trong túi 200ml. Các túi này được tiệt trùng ở nhiệt độ 85°C trong thời gian 20 phút, và sau đó được gắn kín để điều chế 10 túi thực phẩm gel hóa chứa chế phẩm protein của sáng chế. Không có sự kết tủa hoặc hương vị khác thường nào được phát hiện ở thực phẩm gel hóa bất kỳ được điều chế theo cách như vậy.

Ví dụ 5

Phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa của sản phẩm của ví dụ tham khảo B được hòa tan trong nước khử ion đến nồng độ 500mg% (dung dịch A, 200g), và 4% trọng lượng polysacarit đậu nành làm chất làm ổn định được hòa tan trong nước khử ion (dung dịch B, 200g). Chế phẩm protein của sáng chế được điều chế bằng cách trộn trộn 100g maltitol, 20g sirô đường khử, 2g chất axit hóa, 2g chất tạo hương, 200g dung dịch A, 200g dung dịch B, và 476g nước. Chế phẩm protein tạo thành được đổ vào các chai thủy tinh 50ml. Các chai này được tiệt trùng ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 15 phút và sau đó được gắn kín để điều chế 20 chai đồ uống chứa chế phẩm protein theo sáng chế. Không có sự kết tủa hoặc hương vị khác thường nào được phát hiện ở đồ uống bất kỳ được điều chế theo cách này.

Ví dụ 6

0,2kg chế phẩm protein được điều chế trong ví dụ 2 (chứa 20mg% phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và 0,04% trọng lượng gồm xanthan) được trộn với 12kg bột đậu nành, 14kg bột sữa gầy, 4kg dầu đậu nành, 2kg dầu ngô, 28kg dầu cọ, 15kg tinh bột ngô, 9kg bột lúa mỳ, 2kg cám lúa mỳ, 9kg hỗn hợp vitamin, 2,8kg xenluloza, và 2kg hỗn hợp khoáng. Hỗn hợp tạo thành được tiệt trùng ở nhiệt độ 120°C trong thời gian bốn phút, để điều chế 100kg thức ăn chăn nuôi cho chó.

Ví dụ 7

3kg chế phẩm protein được điều chế trong ví dụ 3 (chứa 50mg% phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa và 0,2% trọng lượng pectin) được trộn với 5kg casein, 5kg protein đậu nành, 1kg dầu cá, 3kg dầu tía tô, 19kg dextrin, 6kg hỗn hợp khoáng, 1,95kg hỗn hợp vitamin, 2kg chất nhũ hóa, 4kg chất làm ổn định, và 0,05kg chất tạo hương. Hỗn hợp tạo thành được đóng gói trong các túi hấp thanh trùng 200ml. Các túi hấp thanh trùng này được tiệt trùng bằng nồi hấp

(bình chịu áp suất loại một, loại: RCS-4CRTGN; do HISAKA WORKS, LTD. sản xuất) ở nhiệt độ 121°C trong thời gian 20 phút, để điều chế 50kg dưỡng chất hấp thu qua ruột.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm protein bền nhiệt chứa:

- a) phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa; và
- b) lượng hữu hiệu cho sự bền nhiệt của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa của ít nhất là một chất làm ổn định được chọn từ nhóm bao gồm các polysacarit đậu nành, gôm xanthan, pectin, gôm arabic, gôm ghatti, carageenan, gôm đậu carob, natri caseinat, lexithin, và carboxymethylxenluloza trong đó sự bền nhiệt là tính ổn định của phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa sau khi gia nhiệt đến 90°C trong 4 phút ở độ pH từ 2 đến 9, và trong đó các protein có nguồn gốc từ sữa không kết tụ trong bước gia nhiệt.

2. Chế phẩm protein theo điểm 1, trong đó phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa có thành phần axit amin chứa axit amin kiềm với lượng bằng hoặc lớn hơn 15% trọng lượng.

3. Chế phẩm protein theo điểm 1, trong đó:

1) phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa bao gồm vài protein mà mỗi protein có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 3000 đến 80.000 như được xác định bằng cách điện di gel polyacrylamit-natri dodecyl sulfat (SDS-PAGE);

2) phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa chứa các protein với lượng bằng hoặc lớn hơn 95% trọng lượng và phần còn lại bao gồm các lipid và tro;

3) phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa bao gồm lactoferin với lượng bằng hoặc lớn hơn 40% trọng lượng và lactoperoxidaza với lượng bằng hoặc lớn hơn 40% trọng lượng; và

4) các protein trong phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa có thành phần axit amin chứa axit amin kiềm với lượng bằng hoặc lớn hơn 15% trọng lượng.

4. Thực phẩm chứa chế phẩm protein theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3.

5. Đồ uống chứa chế phẩm protein theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3.
6. Thức ăn chăn nuôi chứa chế phẩm protein theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3.
7. Dược phẩm chứa chế phẩm protein theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3.
8. Quy trình xử lý nhiệt phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa bao gồm bước:
gia nhiệt chế phẩm theo điểm 1 đến nhiệt độ bằng hoặc cao hơn 90°C.
9. Quy trình theo điểm 8, trong đó phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa có thành phần axit amin chứa axit amin kiềm với lượng bằng hoặc lớn hơn 15% trọng lượng.
10. Quy trình theo điểm 8, trong đó:
 - 1) phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa chứa các protein mà mỗi protein có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 3000 đến 80.000 như được xác định bằng cách điện di gel polyacrylamit-natri dodecyl sulfat (SDS-PAGE);
 - 2) phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa chứa các protein với lượng bằng hoặc lớn hơn 95% trọng lượng và phần còn lại bao gồm các lipid và tro;
 - 3) phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa bao gồm lactoferin với lượng bằng hoặc lớn hơn 40% trọng lượng và lactoperoxidaza với lượng bằng hoặc lớn hơn 40% trọng lượng; và
 - 4) các protein trong phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa có thành phần axit amin chứa axit amin kiềm với lượng bằng hoặc lớn hơn 15% trọng lượng.
11. Chế phẩm protein bền nhiệt theo điểm 1, trong đó chất làm ổn định có tỷ lệ trọng lượng với phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa là 1:1 đến 100:1.
12. Chế phẩm protein bền nhiệt theo điểm 1, trong đó chất làm ổn định có tỷ lệ trọng lượng với phần chiết protein có nguồn gốc từ sữa là 1:1 đến 40:1.

13. Chế phẩm protein bền nhiệt theo điểm 1, trong đó chế phẩm protein bền nhiệt có thể được gia nhiệt đến nhiệt độ 100°C trong ít nhất là 4 phút ở độ pH từ 2,0 đến 9,0 và không kết tụ.
14. Chế phẩm protein bền nhiệt theo điểm 1, trong đó chế phẩm protein bền nhiệt có thể được gia nhiệt đến nhiệt độ 110°C trong ít nhất là 4 phút ở độ pH từ 2,0 đến 9,0 và không kết tụ.
15. Chế phẩm protein bền nhiệt theo điểm 1, trong đó chế phẩm protein bền nhiệt có thể được gia nhiệt đến nhiệt độ 120°C trong ít nhất là 4 phút ở độ pH từ 2,0 đến 9,0 và không kết tụ.
16. Chế phẩm protein bền nhiệt theo điểm 1, trong đó chế phẩm protein bền nhiệt có thể được đưa đến độ pH từ 5,0 đến 9,0 ở nhiệt độ 110°C trong ít nhất là 4 phút và không kết tụ.
17. Chế phẩm protein bền nhiệt theo điểm 1, trong đó chế phẩm protein bền nhiệt có thể được đưa đến độ pH từ 6,0 đến 9,0 ở nhiệt độ 110°C trong ít nhất là 4 phút và không kết tụ.
18. Chế phẩm protein bền nhiệt theo điểm 1, trong đó chế phẩm protein bền nhiệt có thể được đưa đến độ pH từ 7,0 đến 9,0 ở nhiệt độ 110°C trong ít nhất là 4 phút và không kết tụ.
19. Chế phẩm protein bền nhiệt theo điểm 1, trong đó chế phẩm protein bền nhiệt có thể được đưa đến độ pH từ 8,0 đến 9,0 ở nhiệt độ 110°C trong ít nhất là 4 phút và không kết tụ.
20. Chế phẩm protein bền nhiệt theo điểm 1, trong đó chế phẩm protein bền nhiệt có thể được đưa đến độ pH từ 9,0 ở nhiệt độ 110°C trong ít nhất là 4 phút và không kết tụ.