

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT



NGUYỄN THỊ LAN ANH

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT CHẾ PHẨM GIÀU AXIT AMIN VÀ
 β -GLUCAN TỪ TẾ BÀO NẤM MEN *SACCHAROMYCES*
CEREVISIAE ĐỂ LÀM NGUYÊN LIỆU SẢN XUẤT THỰC
PHẨM GIÀU DINH DƯỠNG VÀ NĂNG LƯỢNG CHO NGƯỜI

LUẬN VĂN THẠC SỸ KHOA HỌC

Hà Nội – 2015

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT



LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT CHẾ PHẨM GIÀU AXIT AMIN VÀ
 β -GLUCAN TỪ TẾ BÀO NẤM MEN *SACCHAROMYCES*
CEREVISIAE ĐỂ LÀM NGUYÊN LIỆU SẢN XUẤT THỰC
PHẨM GIÀU DINH DƯỠNG VÀ NĂNG LƯỢNG CHO NGƯỜI

Giáo viên hướng dẫn: PGS.TS Lê Mai Hương

ThS. Vũ Duy Nhân

Họ tên học viên: Nguyễn Thị Lan Anh

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 60420114

Hà Nội - 2015

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành được luận văn này, ngoài sự cố gắng nỗ lực của bản thân, tôi đã nhận được sự ủng hộ, giúp đỡ tận tình của thầy cô giáo, gia đình và bạn bè.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới **PGS.TS Lê Mai Hương** - Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam và **ThS Vũ Duy Nhân** - Viện Hóa học Vật liệu - Viện Khoa học và Công nghệ Quân sự đã tận tình chỉ bảo tôi trong suốt quá trình thực hiện luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn tới các thầy cô giáo thuộc Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật đã giảng dạy và giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và thực hiện luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn gia đình, bạn bè và đã tạo điều kiện, quan tâm, động viên và góp ý cho tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn!

Hà Nội, ngày 29 tháng 12 năm 2015

Học viên

Nguyễn Thị Lan Anh

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan: Luận văn “*Nghiên cứu sản xuất chế phẩm giàu axit amin và β -Glucan từ tế bào nấm men *Saccharomyces cerevisiae* để làm nguyên liệu sản xuất thực phẩm giàu dinh dưỡng và năng lượng cho người*” là công trình nghiên cứu của cá nhân tôi thực hiện dưới sự hướng dẫn của PGS.TS Lê Mai Hương và ThS Vũ Duy Nhân. Các nội dung nghiên cứu và kết quả được trình bày trong luận văn là trung thực và rõ ràng.

Đây là đề tài nghiên cứu mới, không giống với các đề tài luận văn nào trước đây, do đó không có sự sao chép của bất kì luận văn nào. Nội dung của luận văn được thể hiện theo đúng quy định, các nguồn tài liệu, tư liệu nghiên cứu và sử dụng trong luận văn đều được trích dẫn nguồn.

Nếu xảy ra vấn đề gì với nội dung luận văn này, tôi xin chịu hoàn toàn trách nhiệm theo quy định.

Học viên

Nguyễn Thị Lan Anh

MỤC LỤC

PHẦN I. MỞ ĐẦU.....	1
1.1.Đặt vấn đề.....	1
1.2. Mục đích và yêu cầu.....	2
1.3.Địa điểm và thời gian nghiên cứu.....	2
PHẦN II. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
2.1. Nấm men <i>Saccharomyces cerevisiae</i> và thành phần hóa học của nấm men	3
2.1.1. Giới thiệu về nấm men <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3
2.1.2. Thành phần hóa học của nấm men <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3
2.1.2.1. Nước.....	3
2.1.2.2. Protein và các loại axit amin.....	4
2.1.2.3. Carbonhydrat.....	4
2.1.2.4. Lipit.....	4
2.1.2.5. β - Glucan.....	4
2.1.2.6. Các nguyên tố khoáng và nguyên tố vi lượng.....	5
2.1.2.7. Vitamin.....	5
2.1.2.8. Enzyme.....	5
2.2. Cấu tạo thành tế bào nấm men.....	5
2.3. Các phương pháp thủy phân tế bào nấm men.....	6
2.3.1.Phương pháp hóa học.....	6
2.3.2. Phương pháp sinh học.....	7
2.3.3. Phương pháp tự phân.....	8
2.4. Hiện trạng công nghệ sản xuất chế phẩm giàu axit amin từ tế bào nấm men <i>Sacharomyces cerevisiae</i> [39].....	9
2.4.1. Các nguồn thu sinh khối nấm men giàu protein[15].....	9
2.4.2. Thành phần axit amin trong cao nấm men và các axit amin thiết yếu.....	10
2.4.2.1. Thành phần axit amin trong cao nấm men.....	10
2.4.2.2. Các axit amin thiết yếu.....	11
2.4.3. Tình hình nghiên cứu và sản xuất chế phẩm giàu axit amin từ nấm men bia trên thế giới.....	12
2.4.5. Ứng dụng của chế phẩm giàu axit amin từ nấm men bia.....	15
2.4.5.1. Ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và chăn nuôi.....	15
2.4.5.2. Ứng dụng trong công nghiệp lên men.....	16
2.4.6. Triển vọng thị trường sử dụng chế phẩm giàu axit amin.....	16
2.4.7. Công nghệ thủy phân nấm men thu hồi axit amin tự do và protein [39].....	17

2.5. Hiện trạng công nghệ sản xuất chế phẩm giàu β -Glucan từ tế bào nấm men <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	18
2.5.1. Giới thiệu chung về β – glucan.....	18
2.5.2. Ứng dụng của β -glucan	19
2.5.2.1. Ứng dụng trong y dược.....	19
2.5.2.2. Ứng dụng trong thực phẩm	20
2.5.3. Các phương pháp thu hồi, tách chiết, tinh sạch β - glucan từ nấm men.....	21
2.5.3.1. Các phương pháp thu hồi, tách chiết β - glucan từ nấm men.....	21
2.5.3.2. Các phương pháp tinh sạch β - glucan từ nấm men	21
2.5.4. Các yếu tố ảnh hưởng tới giá thành của chế phẩm β -glucan	22
PHẦN III. NGUYÊN VẬT LIỆU, THIẾT BỊ VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	23
3.1 Nguyên vật liệu, thiết bị và phương pháp nghiên cứu	23
3.1.1. Nguyên vật liệu.....	23
3.1.2. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất	23
3.1.2.1. Hóa chất:	23
3.1.2.2. Dụng cụ và thiết bị:	23
3.2. Phương pháp nghiên cứu	23
3.2.1. Phương pháp xác định hàm lượng protein theo Bradford	23
3.2.2. Phương pháp xác định hàm lượng Nitơ tổng số (theo phương pháp Kjeldahl).....	24
3.2.3. Phân tích độ hòa tan.....	25
3.2.4. Đánh giá chất lượng nguyên liệu	25
3.2.5. Xác định hàm lượng chất đặng (bằng phương pháp so màu).....	25
3.2.6. Xác định pH của bã nấm men bằng máy đo pH	26
3.2.7. Phân tích độ ẩm nấm men.....	26
3.2.8. Phương pháp xác định nồng độ protein tổng.....	26
3.2.9. Phương pháp xác định axit amin tổng bằng phản ứng Ninhydrin.....	26
3.2.10. Phương pháp thu thành tế bào	27
3.2.11. Tinh sạch axit amin bằng phương pháp trao đổi ion	27
3.2.12. Phương pháp xác định hàm lượng chất béo theo Lecoq (1965).....	28
3.2.13. Phương pháp tách chiết β -glucan tổng số.....	28
3.2.14. Phương pháp xác định hàm lượng β -glucan (theo phương pháp McCleary và Glennie-Holmes (1985)	28
3.2.15. Phương pháp xác định hàm lượng chất béo.....	29
3.2.16. Phương pháp xây dựng công thức và đánh giá lý thuyết năng lượng của sản phẩm.....	30
PHẦN IV. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	32

4.1. Nghiên cứu xác định các điều kiện thủy phân nấm men bia để sản xuất axit amin và β -glucan.....	32
4.1.1. Nghiên cứu lựa chọn điều kiện tự phân nấm men.....	32
4.1.1.1. Nghiên cứu ảnh hưởng tỉ lệ nồng độ % nấm men.....	32
4.1.1.2. Nghiên cứu ảnh hưởng nhiệt độ tự phân.....	33
4.1.1.3. pH ban đầu của mẫu nấm men tự phân.....	33
4.1.1.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian tự phân.....	34
4.1.2. Ảnh hưởng của phương pháp hóa lý đến quá trình thủy phân.....	35
4.1.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của tác nhân hóa lý đến quá trình thủy phân.....	35
4.1.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian thủy phân lên hiệu quả của quá trình thủy phân.....	36
4.1.3. Nghiên cứu điều kiện thủy phân nấm men bằng phương pháp sử dụng enzyme.....	37
4.1.3.1. Lựa chọn enzyme thích hợp cho quá trình thủy phân nấm men.....	37
4.1.3.2. Nghiên cứu các điều kiện thích hợp của enzyme thủy phân nấm men.....	38
4.2. Nghiên cứu sản xuất thực phẩm giàu axit amin.....	42
4.2.1. Nghiên cứu lựa chọn phương pháp thu nhận dịch chứa protein sau quá trình thủy phân tế bào <i>Saccharomyces cerevisie</i>	42
4.2.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ chất khô của dịch trước khi lọc.....	42
4.2.1.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ chất trợ lọc.....	43
4.2.1.3. Ảnh hưởng của tốc độ bơm.....	43
4.2.2. Nghiên cứu công nghệ tinh sạch axit amin tổng số.....	44
4.2.2.1. Ảnh hưởng của tốc độ bơm dịch.....	44
4.2.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ protein đến hiệu quả tinh sạch bằng trao đổi ion.....	45
4.2.2.3. Lựa chọn chế độ cô thích hợp.....	46
4.2.3. Nghiên cứu xác định các thông số công nghệ thích hợp trong quá trình tinh sạch.....	47
4.2.3.1. Ảnh hưởng của nồng độ protein trước khi bơm vào cột.....	47
4.2.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của tốc độ bơm dịch.....	48
4.2.3.3. Nghiên cứu tinh sạch ở quy mô pilot.....	48
4.2.4. Nghiên cứu tạo dạng sản phẩm.....	49
4.2.4.1. Lựa chọn phương pháp sấy thích hợp cho việc tạo sản phẩm bột giàu axit amin từ nấm men.....	49
4.2.4.2. Nghiên cứu điều kiện sấy phun sản phẩm bột giàu axit amin từ nấm men.....	51
4.2.5. Xây dựng quy trình cho các bước công nghệ của các quá trình sản xuất chế phẩm giàu axit amin làm thức ăn bổ sung cho người.....	52
4.3. Kết quả nghiên cứu sản xuất thực phẩm giàu β -Glucan.....	55
4.3.1. Nghiên cứu lựa chọn phương pháp tinh sạch β -glucan.....	55
4.3.2. Nghiên cứu lựa chọn tỷ lệ bổ sung enzyme lipase thích hợp tinh sạch β -glucan.....	56
4.3.3. Nghiên cứu lựa chọn thời gian thủy phân thích hợp tinh sạch β -glucan.....	57
4.3.4. Nghiên cứu lựa chọn nhiệt độ thủy phân thích hợp cho quá trình tinh sạch β -glucan.....	58
4.3.5. Nghiên cứu lựa chọn pH thích hợp cho quá trình tinh sạch β -glucan tổng số.....	58
4.3.6. Nghiên cứu tạo dạng sản phẩm β -glucan làm thức ăn cho người.....	59
4.3.6.1. Nghiên cứu lựa chọn phương pháp tạo sản phẩm.....	59
4.3.6.2. Nghiên cứu tạo sản phẩm β -glucan dạng bột bằng phương pháp sấy phun.....	59

4.3.7. Xây dựng quy trình sản xuất chế phẩm β -glucan	63
4.4. Nghiên cứu sản xuất thực phẩm dinh dưỡng và năng lượng giàu axit amin và thực phẩm chức năng chứa β - glucan	65
4.4.1. Nghiên cứu sản xuất thực phẩm dinh dưỡng và năng lượng giàu axit amin	65
4.4.1.1. Nghiên cứu lựa chọn nguyên liệu	65
4.4.1.2. Xây dựng công thức	66
4.4.1.3. Xây dựng quy trình sản xuất lượng khô	71
KẾT LUẬN	74
TÀI LIỆU THAM KHẢO	76

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Nghĩa của từ viết tắt
OD	Optic density: Độ hấp thu của mẫu thử
<i>S. cerevisiaes</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>C.saitoana</i>	<i>Candida saitoana</i>
IGF-1	Insulin-like Growth Factor-1:Yếu tố tăng trưởng giống Insulin-1
BSA	Bovine Serum Albumin: dung dịch máu huyết thanh bò
TCVN	Tiêu chuẩn Việt Nam
YGT	Nấm men bánh mỳ
Đ/C	Đối chứng
proPO	prophonoloxidaza
Pmt	Áp suất riêng của hơi nước trong môi trường
cs	Cộng sự
v/p	Vòng/phút

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 2.1: Thành phần axit amin trong cao nấm men	11
Bảng 2.2 Nhu cầu tối thiểu của các axit amin cần thiết của con người	12
Bảng 3.1. Bảng tính toán các loại thực phẩm khác.....	30
Bảng 3.2. Đánh giá lý thuyết khâu phân	31
Bảng 3.3. Đánh giá mức đáp ứng nhu cầu.....	31
Bảng 4.1: Ảnh hưởng của nồng độ chất khô đến hiệu suất thủy phân.....	32
Bảng 4.2: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất thủy phân.....	33
Bảng 4.3: Ảnh hưởng pH đến hiệu suất thủy phân	34
Bảng 4.4: Ảnh hưởng của hàm lượng HCl đậm đặc lên hiệu quả của quá trình thủy phân	36
Bảng 4.5: Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian thủy phân bằng tác nhân HCl.....	36
Bảng 4.6: Nghiên cứu lựa chọn enzyme thủy phân nấm men.....	38
Bảng 4.7: Ảnh hưởng của nồng độ enzyme tới hiệu suất thủy phân nấm men	39
Bảng 4.8: Ảnh hưởng của pH tới hiệu suất thủy phân nấm men.....	39
Bảng 4.9: Ảnh hưởng của thời gian thủy phân tới hiệu suất thủy phân nấm men ...	40
Bảng 4.10: Ảnh hưởng của nhiệt độ tới hiệu suất thủy phân nấm men	41
Bảng 4.11. Ảnh hưởng của nồng độ chất khô của dịch trong lọc tinh.....	42
Bảng 4.12. Ảnh hưởng của chất trợ lọc	43
Bảng 4.13: Ảnh hưởng của tốc độ bơm dịch vào máy lọc khung bản	44
Bảng 4.14. Thành phần hóa học của bã nấm men trước và sau khi lọc.....	44
Bảng 4.15. Ảnh hưởng của tốc độ chảy	45
Bảng 4.16. Ảnh hưởng của nồng độ dịch protein đến hiệu quả tinh sạch.....	46
Bảng 4.17. Lựa chọn chế độ cô thích hợp	46
Bảng 4.18. Kết quả tổng kết quá trình thu nhận và tinh sạch axit amin từ nấm men	47
Bảng 4.19.Ảnh hưởng của nồng độ dịch protein đến hiệu quả tinh sạch.....	47
Bảng 4.20.Ảnh hưởng của tốc độ bơm dịch đến quá trình tinh sạch.....	48
Bảng 4.21. Tổng kết quá trình thu nhận và tinh sạch protein quy mô pilot.....	49
Bảng 4.23. Kết quả lựa chọn điều kiện sấy phun.....	51
Bảng 4.24: Ảnh hưởng của phương pháp tinh sạch tới hiệu suất thu hồi	56