



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

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

(11)



2-0004435

(51) **A23J 1/12; A23J 3/34**
2024.01

(13) **Y**

(21) 2-2025-00419

(22) 13/07/2023

(67) 1-2023-04629

(45) 27/10/2025 451

(43) 25/10/2023 427A

(73) Đại học Bách khoa Hà Nội (VN)
Số 1, Đại Cồ Việt, Hai Bà Trưng, Hà Nội

(72) Chu Kỳ Sơn (VN); Nguyễn Tiến Thành (VN); Nguyễn Tiến Cường (VN); Nguyễn
Chính Nghĩa (VN); Vũ Thu Trang (VN).

(54) **QUY TRÌNH SẢN XUẤT CHẾ PHẨM GIÀU PROTEIN TỪ GẠO (ORYZA
SATIVA L.) THEO PHƯƠNG PHÁP KHÔNG GIA NHIỆT**

(21) 2-2025-00419

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm giàu protein từ gạo (*Oryza sativa* L.) theo phương pháp không gia nhiệt bao gồm các bước:

(i) Chuẩn bị nguyên liệu;

(ii) Lên men; và

(iii) Thu chế phẩm.

Quy trình theo giải pháp hữu ích sử dụng enzym và nấm men nhằm loại bỏ thành phần phi protein (chủ yếu là tinh bột) trong nguyên liệu gạo ban đầu. Quy trình theo giải pháp hữu ích có thể tiết kiệm chi phí đầu tư thiết bị, tiết kiệm năng lượng tiêu hao, chi phí xử lý môi trường và nâng cao hiệu quả sản xuất và chất lượng protein (không bị biến tính bởi nhiệt độ) so với quy trình sản xuất chế phẩm protein từ gạo hiện hành.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực thực phẩm, công nghệ sinh học. Cụ thể, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm giàu protein từ gạo (*Oryza sativa* L.) theo phương pháp không gia nhiệt. Quy trình theo sáng chế sử dụng enzym và nấm men nhằm loại bỏ thành phần phi protein (chủ yếu là tinh bột) trong nguyên liệu gạo ban đầu. Quy trình theo giải pháp hữu ích có thể tiết kiệm chi phí đầu tư thiết bị, tiết kiệm năng lượng tiêu hao, chi phí xử lý môi trường và nâng cao hiệu quả sản xuất và chất lượng protein (không bị biến tính bởi nhiệt độ) so với quy trình sản xuất chế phẩm protein từ gạo hiện hành.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Gạo (*Oryza sativa* L.) có hàm lượng protein thấp và khả năng hoà tan trong nước của protein gạo cũng kém nên có khá ít mối quan tâm tới các phương pháp tách chiết. Trong quá trình thu nhận tinh bột từ gạo nghiền hoặc gạo vỡ, phần còn lại chứa protein được coi là sản phẩm phụ và có giá trị không cao. Phần cám từ gạo mặc dù giàu protein nhưng cũng ít được sử dụng làm thực phẩm do lượng protein thấp và chủ yếu dùng cho thức ăn chăn nuôi hoặc đốt (Fabian & Ju, 2011; Shih, 2003). Tuy nhiên, với đặc tính dinh dưỡng và giá trị của nguồn protein thực vật nói chung và của gạo nói riêng, ngày nay các sản phẩm protein từ gạo nhanh chóng được chú ý và đã được thương mại hoá trong những năm gần đây. Cũng chính vì vậy mà sự quan tâm tới các kỹ thuật tách chiết thu nhận, đánh giá đặc tính và ứng dụng protein từ gạo ngày càng nhiều. Nhìn chung các công nghệ sử dụng hiện nay bao gồm: phương pháp sử dụng kiềm, phương pháp sử dụng enzym, phương pháp vật lý. Các phương pháp này đã được triển khai đánh giá ở quy mô công nghiệp. Đối với cám gạo, việc thu nhận protein khó khăn hơn, cám gạo chứa hàm lượng béo cao: từ 15-20%, là cơ chất cho các enzym lipaza, lipoxygenaza và peroxidaza hoạt động tạo ra mùi ôi và các hương vị lỗi cho sản phẩm từ cám gạo (Orthoefer & Eastman, 2004). Do vậy, cám gạo cần phải tách béo (bằng hexan, ép đùn ướt hoặc ép cơ học) hoặc được làm bền bằng xử lý nhiệt (sấy, ép đùn nhiệt, sấy tầng sôi, xử lý bằng vi sóng...), hoặc giảm pH để ức chế các enzym phân giải chuyển hoá lipid (Khan et al., 2011; Lakkakula, Lima, & Walker, 2004; Orthoefer & Eastman, 2004;

Ramezanzadeh, Rao, Prinyawiwatkul, Marshall, & Windhauser, 2000; Sayre, Saunders, Enochian, Schultz, & Beagle, 1982). Tuy nhiên, các phương pháp này có thể dẫn tới sự biến đổi tính chất hay làm kết tụ protein trong gạo, giảm khả năng hoà tan của chúng. Thêm vào đó cám gạo có hàm lượng xơ (7-11%), phytate (0,9 -2,2%) (Orthoefer & Eastman, 2004), có liên kết chặt chẽ với protein do vậy việc tách protein ra khỏi các thành phần này sẽ khó khăn (Tang, Hettiarachchy, & Shellhammer, 2002). Mặt khác, trong nội nhũ gạo được coi là kho dự trữ của hạt cũng có protein, nên thành phần này có thể dễ dàng trích ly ra hơn so với protein trong cám gạo (Shih, 2003).

Phương pháp tách chiết bằng kiềm

Trong công nghiệp thực phẩm, việc xử lý kiềm đối với bột gạo thường áp dụng để loại bỏ protein nội nhũ nhằm thu nhận tinh bột tinh sạch, thường phần protein loại ra này sẽ thải bỏ hoặc sử dụng làm thức ăn chăn nuôi (Shih, 2003). Tuy nhiên, các điều kiện kiềm thường mang lại hiệu quả trong việc tách chiết protein trong bột gạo vì thành phần protein chính của bột gạo là glutelin. Cagampang và cộng sự (1966) đã nghiên cứu với dung dịch kiềm loãng (ví dụ, 0,1 N KOH hoặc NaOH) có thể trích ly được tới 97% protein trong bột gạo đã nghiền. Theo Paraman, Hettiarachchy, và Schaefer (2008), sử dụng phương án tách chiết bằng kiềm (pH 11, 40°C) từ bột gạo kết hợp với siêu lọc và kết tủa đẳng điện cho phép thu được sản phẩm với 71 và 86% protein. Thêm vào đó, protein thu bằng siêu lọc có tính chất rất tốt. Việc xử lý kiềm tiếp đó kết tủa bằng đẳng điện (pH 4-4,5) cũng được sử dụng để trích ly protein từ cám gạo, kết quả tạo ra một sản phẩm với hàm lượng protein từ 40% đến >80% (Bandyopadhyay, Misra, & Ghosh, 2008; Chandi & Sogi, 2007; Gnanasambandam & Hettiarachchy, 1995; Jiamyangyuen, Srijesdaruk, & Harper, 2005; Prakash & Ramanatham, 1994; Yadav, Yadav, & Chaudhary, 2011). Giống gạo, mức độ nghiền, điều kiện xử lý kiềm, đặc điểm cám gạo đã được làm bền hoặc chưa, kỹ thuật làm bền là những vấn đề cần chú ý dẫn tới hiệu quả trích ly protein cũng như ảnh hưởng tới chất lượng, thành phần axit amin trong protein thu nhận được (Gnanasambandam & Hettiarachchy, 1995; Khan et al., 2011; Prakash & Ramanatham, 1994). Các thử nghiệm in vitro và in vivo đã chứng minh protein thu nhận bằng xử lý kiềm từ gạo có khả năng tiêu hoá tốt hơn so với phương án sử dụng enzyme phân giải tinh bột (Kubota et al., 2010; Kumagai et al., 2006, 2009). Tuy nhiên, phương pháp trích ly kiềm có nhiều nhược điểm, đó là điều kiện xử lý kiềm có

thể dẫn tới (i) biến tính/phân giải protein, (ii) sự trích ly các thành phần phi protein làm giảm độ tinh sạch, (iii) tăng phản ứng Maillard (do pH cao) gây sẫm màu (i.e., hợp chất melanoidind), và (iv) sự tạo thành các chất độc như lysinoalanine (Otterburn, 1989; Wang, Hettiarachchy, Qi, Burks, & Siebenmorgen, 1999).

Phương pháp tách chiết bằng enzym

Việc tách chiết protein từ bột gạo và cám gạo để ứng dụng trong thực phẩm thường được thực hiện với enzym. Phụ thuộc vào giống gạo, mức độ nghiền và phương pháp xử lý enzym mà các sản phẩm protein thu được có thể đạt cao hơn 90% (protein isolate) (sản phẩm này có thể thu được từ quá trình thủy phân tinh bột bởi enzym). Do tinh bột chiếm phần lớn trong nội nhũ gạo, các enzym thủy phân tinh bột như alpha amylaza, glucoamylaza, pullulanase sẽ chuyển hoá tinh bột do vậy được sử dụng để tách protein ra khỏi bột gạo (Shih, 2003). Tuy nhiên, do giá bột gạo cao và hàm lượng protein trong gạo thấp nên chủ yếu protein được tách chiết từ nguồn bã gạo rẻ tiền còn lại, một phụ phẩm từ quy trình sản xuất siro gạo, mà trong phụ phẩm này đã có protein trên 50% (Zhao et al., 2013). Trong nghiên cứu của Shih và Daigle (2000), việc xử lý bột gạo đã làm giàu protein (từ dịch cô đặc chứa protein gạo lứt) với enzym Termamyl 120L (alpha-amylaza) (ở pH 6,5, 90°C), sau đó là Diazyme L200 (glucoamylaza; ở pH 4 ; nhiệt độ : 60 -62°C), đã tạo ra một sản phẩm (không tan trong nước) có chứa 85% protein, nếu xử lý bằng Viscozyme L (hỗn hợp enzym chứa các enzym phân cắt các thành phần hemixenluloza, xelluloza...), hàm lượng protein có thể lên tới 91%. Các enzym phân giải carbohydrate như cellulaza, hemicellulaza, pectinaza and xylanaza sẽ thủy phân các thành phần cao phân tử cấu tạo màng tế bào nên tăng hiệu quả trích ly protein ra khỏi cám gạo, cũng như phân giải liên kết giữa protein và các polysaccharide. Ansharullah, Hourigan, và Chesterman (1997) đã báo cáo rằng: xử lý cám gạo loại béo với Viscozyme L ở pH 3.8, 50°C trích ly được 58% nguồn N. Tương tự vậy, tác giả khác cũng công bố khi xử lý cám gạo bằng enzym phytaza và xylanaza (pH 5, 55°C), có thể thu được sản phẩm với hàm lượng protein tới 92%, hiệu suất thu hồi 75% (Wang et al., 1999); Cũng như vậy, Khan et al. (2011) thu nhận được dịch cô đặc protein từ cám gạo đã loại béo và xử lý nhiệt bằng vi sóng, sấy khô, và đun sôi 1 phần (parboiling) có hàm lượng protein từ 61% đến 85% tùy theo biện pháp xử lý nhiệt đã thực hiện với cám gạo.

Proteaza cũng được sử dụng để tách chiết protein từ gạo, trong đó có nhiều chế phẩm enzym thương mại (an toàn cho ứng dụng thực phẩm – food grade) cũng có sẵn trên thị trường. Tuy nhiên, việc sử dụng các enzym này chủ yếu là thủy phân protein nên có thể thay đổi đặc tính và cấu trúc của protein thu nhận được. Xử lý bột gạo vỡ với proteaza kiềm (pH 10, 45°C) hay papain (pH 7, 50°C) có thể tạo ra dịch phân giải protein với hàm lượng N tổng (nếu tính theo lượng N tổng, bao gồm cả protein nguyên vẹn và sản phẩm thủy phân của nó) là 56 và 65% tương ứng với hiệu suất thu hồi lần lượt là 75 và 46% (Hou, Zhu, & Li, 2010). Trong một nghiên cứu khác của Li và cộng sự (2012), dịch phân giải protein có hàm lượng protein 81% với hiệu suất thu hồi 76%, mức độ thủy phân 7% đã được thu nhận từ bã gạo (rice dreg) xử lý bằng pepsin ở điều kiện đã tối ưu (pH 7,6 ; 52,8°C). Hiệu suất thu N của các sản phẩm thủy phân protein từ bã gạo khi dùng các enzym khác gồm Neutraza (pH 7,6; 50,4°C), Alcalaza (pH 9,2; 50,2°C), bromelain (pH 7,3; 56,5°C) hay papain (pH 6,9; 51,5°C) ở các điều kiện tối ưu lần lượt là 49, 57, 31 và 17%, tương ứng với hàm lượng protein trong sản phẩm thu được sau xử lý là 79, 63, 58 và 55%, (Guo, Zhang, Ma, & Tian, 2013). Hamada (1999) đã dùng Opticlean (chế phẩm enzym proteaza kiềm tính) xử lý cám gạo tách béo ở điều kiện pH 8 hoặc 10 tại 40°C, để tách protein với hiệu suất thu hồi 74 -92% với tỷ lệ phân giải 2 - 10%. Alcalaza và Flavourzyme (pH 8; 50°C), có thể trích ly 81 và 88% of proteins từ cám gạo, để thu được các dịch chiết protein có hàm lượng 28% (DH 7,5%) và 30% (DH 8,8%) (Hamada, 2000).

Tại Việt Nam, công nghệ enzym đã bước đầu được ứng dụng trong sản xuất bột protein từ gạo ở quy mô thử nghiệm. Công ty CP Thực phẩm Minh Dương đã sử dụng enzym Liquozyme supra (Novozyme) để dịch hóa dịch bột gạo (nồng độ gạo 20%, pH 5,5 enzym 0,03- 0,04%). Thời gian dịch hóa (không tính thời gian nâng nhiệt) là 20 phút ở 90 – 95°C. Sau đó nâng nhiệt độ lên 120°C trong 15 phút để diệt enzym và lọc tách protein thô bằng phương pháp lọc ép. Protein thô được nghiền mịn và hòa lại vào nước với nồng độ 15%, gia nhiệt đến 55°C, pH 7 thì bổ sung enzym Alcalaza, Flavourzyme với nồng độ mỗi loại là: 0,15%; giữ trong 2h sau đó nâng nhiệt lên 90°C trong 10 phút để diệt enzym. Dịch protein sau thủy phân được lọc, cô đặc ở áp suất thấp và sấy phun nhằm thu chế phẩm protein dạng bột (Công ty CP Thực phẩm Minh Dương, 2017).

Các phương pháp xử dụng enzym kể trên đều sử dụng một lượng đáng kể năng lượng cho việc nâng nhiệt tăng tốc độ và hiệu quả xúc tác, nhiệt độ phản ứng cao (trên nhiệt độ biến tính protein) điều này không chỉ tăng chi phí sản xuất và giá thành mà còn làm giảm giá trị sinh học của protein khi chúng bị biến tính ở nhiệt độ cao.

Phương pháp trích ly bằng vật lý

Các phương pháp vật lý thường được ưu tiên sử dụng trong chế biến thực phẩm hơn là các phương pháp hoá học và enzym do dễ áp dụng được trong công nghiệp (Shih, 2003). Phương pháp đông – tan giá, phối trộn vận tốc lớn, siêu âm hay nấu nhiệt ẩm (HTC- hydrothermal cooking), vi lỏng hoá (microfluidization) và phương pháp nước cận tới hạn (subcritical water, SW) là các phương pháp vật lý được áp dụng để tách chiết protein từ gạo. Nhiều phương án xử lý vật lý đã được áp dụng để đánh giá hiệu quả hỗ trợ trích ly protein từ cám gạo đã khử béo (Tang et al., 2002). Trong các phương pháp này, siêu âm cho hiệu suất cao nhất, nhưng chỉ đạt tới 15%. Tuy nhiên, khả năng trích ly protein tăng lên khi các phương án này được sử dụng kết hợp với enzym như amylaza và Proteaza P. Theo Xia et al. (2012a), gạo sau khi được nghiền thành dạng huyền phù được xử lý bằng microfluidization cho hiệu suất thu hồi protein đạt 82% với hàm lượng protein lên 44%, và nếu kết hợp với amylaza, glucoamylaza thì có thể tăng tỷ lệ protein lên 88%. Protein nhận theo phương pháp này có khả năng phân giải in vitro cao hơn nhưng lại có khả năng hoà tan thấp hơn trong khoảng pH 6-10 so với protein trích ly bằng kiềm. Xia et al. (2012b) áp dụng phương pháp HTC, một phương pháp dùng hơi để trích ly kết hợp giữa nhiệt độ cao và lực cắt cơ học, để tách chiết protein từ cám gạo. Hiệu suất thu protein đạt 37% và hàm lượng 28% nếu ở 120°C. Tương tự ở 150°C, hiệu suất thu hồi đạt 50% và hàm lượng 53%. Khi kết hợp HTC với amylaza, ở nhiệt độ 120 hoặc 150°C, hàm lượng protein thu được trong sản phẩm tăng từ 28-53% lên 72-74%, trong khi đó hiệu suất thu protein chỉ được cải thiện ở nhiệt độ 120°C (tăng từ 37 lên 45%). Ngược lại, với phương pháp tách chiết bằng kiềm kết hợp với kết tủa bằng axit sau đó cho hiệu suất thấp (15%) với hàm lượng protein đạt 68%. Phụ thuộc vào nhiệt độ xử lý HTC và xử lý bằng amylaza, các sản phẩm tách chiết protein có mức độ ưa nước bề mặt cao, các liên kết disulfur và sulfhydryl nhiều, và các tính chất tạo nhũ tốt hơn so với sản phẩm protein thu được bằng phương pháp trích ly kiềm.

Một phương pháp tách chiết protein từ gạo mới được phát triển gần đây dựa trên điều kiện cận tới hạn của nước (subcritical condition). Trích ly bằng nước ở trạng thái cận tới hạn (Subcritical water -SW) sẽ sử dụng nước ở nhiệt độ trong khoảng 100 – 374°C (nhiệt độ tới hạn của nước) và áp suất cao đủ để duy trì nước ở trạng thái lỏng. Khi nhiệt độ của nước tăng lên 250°C, hằng số điện môi sẽ giảm từ 80 xuống 27, tương tự như của ethanol ở nhiệt độ thường (Herrero, Cifuentes, & Ibanez, 2006); nhờ vậy, SW có thể hoà tan các chất không phân cực (kỵ nước). Tương tự như vậy, ở điều kiện cận tới hạn, hằng số phân ly của nước (K_w) thành H và OH lớn hơn so với nước ở điều kiện thường nên SW có thể xúc tác các phản ứng hoá học như phân giải, thủy phân (Hata, Wiboonsirikul, Maeda, Kimura, & Adachi, 2008; Wiboonsirikul et al., 2007); do vậy, nhiều hợp chất sinh học như carbohydrat (Haghighat Khajavi, Ota, Kimura, & Adachi, 2006) và protein (Sereewatthanawut et al., 2008; Sunphorka, Chavasiri, Oshima, & Ngamprazartsith, 2012; Watchararuj, Goto, Sasaki, & Shotipruk, 2008) có thể bị thủy phân trong môi trường SW mà không cần chất xúc tác. SW đã được dùng để tách chiết nhiều thành phần chức năng trong cám gạo như protein, axit amin, carbohydrat và hợp chất phenol (Hata et al., 2008; Sereewatthanawut et al., 2008; Watchararuj et al., 2008; Wiboonsirikul et al., 2007). Việc xử lý cám gạo với nước cận tới hạn cho hiệu suất thu hồi protein cao. Trong nghiên cứu của Watchararuj et al. (2008), 84% protein được trích ly từ cám gạo loại béo sử dụng SW 220°C trong 30 phút. Sunphorka et al. (2012) đã dự đoán cơ chế tác động của SW trong quá trình trích ly protein từ cám gạo, bao gồm 3 bước: (i) protein kết tụ, (ii) protein phân giải thành polypeptit và (iii) giải phóng các axit amin. Các chất chiết hoà tan thu từ cám gạo bằng phương pháp SW có đặc tính chống oxy hoá và khả năng bắt cặp các gốc tự do tốt (Hata et al., 2008; Sereewatthanawut et al., 2008; Watchararuj et al., 2008; Wiboonsirikul et al., 2007; Wiboonsirikul, Kimura, Kanaya, Tsuno, & Adachi, 2008). Mặc dù phương pháp SW là phương pháp hiệu quả cho việc tách chiết protein từ gạo, nhưng khó áp dụng cho công nghiệp và cần thêm các nghiên cứu đánh giá chất lượng của protein thu nhận được bằng phương pháp này.

Tuy nhiên, đến nay vẫn chưa có những quy trình sản xuất protein từ gạo hiệu quả, chi phí sản xuất thấp, thu được sản phẩm chất lượng cao, đặc biệt là sản phẩm có khả năng sử dụng làm thực phẩm.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Giải pháp hữu ích đề xuất quy trình sản xuất chế phẩm giàu protein từ gạo theo phương pháp không gia nhiệt thông qua việc giảm thiểu các hợp chất cao phân tử phi protein trong nguyên liệu (chủ yếu là tinh bột) bằng công nghệ xúc tác sinh học không gia nhiệt ở nồng độ chất khô cao có sử dụng enzym và nấm men. Công nghệ xúc tác sinh học được thực hiện trong cùng một thiết bị, ở cùng một nhiệt độ thường (28°C - 30°C) và cùng pH để sản xuất chế phẩm giàu protein từ nguyên liệu gạo với sự hỗ trợ của hỗn hợp enzym alpha-amylaza, glucoamylaza thế hệ mới có trong chế phẩm enzym Stargen 002 cùng với nấm men khô. Hệ amylaza thế hệ mới này có khả năng phân hủy tinh bột sống (chưa hồ hóa) thành đường lên men được ở nhiệt độ thường. Các hệ enzym phụ trợ (cellulaza, proteaza) sẽ phân hủy cấu trúc màng tế bào thực vật, một phần xenluloza và qua đó giải phóng tinh bột cho amylaza thủy phân đồng thời tách rời các liên kết protein-tinh bột trong nguyên liệu ban đầu. Nấm men sẽ sử dụng các đường tạo thành từ phản ứng enzym để chuyển hóa thành các sản phẩm đồng hành (co-product) có giá trị (chủ yếu là etanol) đồng thời làm giảm ức chế lên enzym giúp cân bằng chuyển dịch theo chiều thuận. Kết quả của hệ xúc tác sinh học này sẽ giúp chuyển các hợp chất cao phân tử phi protein sang dạng hòa tan từ đó có thể dễ dàng thu nhận sản phẩm giàu protein gạo thông qua các biện pháp tách cơ học thông thường như lắng, lọc hay ly tâm. Quy trình sản xuất này giúp làm giảm được đáng kể năng lượng tiêu tốn vì tiến hành ở nhiệt độ thường, tiết kiệm đáng kể chi phí đầu tư thiết bị vì tiến hành trong cùng một thiết bị đồng thời hạn chế đến mức thấp nhất các tác động tiêu cực lên protein (nhiệt độ cao, hóa chất...) do đó giữ được nguyên vẹn tính chất chức năng của protein gạo. Hơn nữa, để đảm bảo tiêu chuẩn sử dụng làm nguyên liệu trong sản xuất thực phẩm, hoặc các sản phẩm yêu cầu cao, có các điều kiện nghiêm ngặt về các thông số sản phẩm, quy trình theo giải pháp hữu ích sử dụng axit được cho phép dùng trong thực phẩm và không sử dụng ure như những quy trình sản xuất protein từ gạo đã biết.

Quy trình sản xuất chế phẩm giàu protein từ gạo theo phương pháp không gia nhiệt theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước:

- (i) Chuẩn bị nguyên liệu;
- (ii) Lên men; và
- (iii) Thu chế phẩm.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất chế phẩm giàu protein từ gạo theo phương pháp không gia nhiệt theo giải pháp hữu ích được mô tả một cách chi tiết dưới đây. Quy trình theo giải pháp hữu ích ứng dụng công nghệ xúc tác sinh học sử dụng chế phẩm enzym ở nhiệt độ thường để sản xuất chế phẩm giàu protein từ gạo, trong đó các công đoạn được thực hiện đồng thời trong một thiết bị, ở cùng một nhiệt độ và cùng pH. Quy trình sản xuất theo giải pháp hữu ích có sử dụng các hoạt tính enzym chủ yếu bao gồm alpha-amylaza và glucoamylaza.

(i) Chuẩn bị nguyên liệu:

Chuẩn bị các nguyên liệu gồm chế phẩm enzym Stargen 002, chế phẩm nấm men khô thương phẩm Thermosacc và gạo (*Oryza sativa* L.).

Chế phẩm enzym Stargen 002 có chứa hỗn hợp alpha-amylaza có nguồn gốc từ *Aspergillus kawachi* và được biểu hiện trong *Trichoderma reesei* và glucoamylaza từ *Trichoderma reesei*. Hỗn hợp enzym alpha-amylaza và glucoamylaza của chế phẩm này hoạt động tương hỗ và chuyển hóa tinh bột thành các đường đơn glucoza để nấm men có thể sử dụng và tạo ra cồn cùng một số sản phẩm phụ khác. Chế phẩm enzym này có nhiệt độ hoạt động tối ưu nằm trong khoảng từ 20 đến 40°C nên tiết kiệm được năng lượng, độ pH tối thích từ 4,0 đến 4,5 nên hạn chế được vi sinh vật nhiễm tạp trong quá trình sản xuất. Hoạt độ của chế phẩm Stargen 002 theo công bố của nhà sản xuất đạt tối thiểu 570 GAU/g (GAU = Glucoamylase Unit).

Chế phẩm Stargen002 là enzym thương phẩm do hãng Dupont (trước đây là Genencor - A Danisco division) sản xuất và thương mại hóa.

Chế phẩm nấm men khô thương phẩm Thermosacc chứa nấm men *Saccharomyces cerevisiae* với hàm lượng 2 - 3.10¹⁰ tế bào/g chế phẩm và có tỉ lệ sống đạt trên 95%. Chế phẩm Thermosacc do Lallemand sản xuất và thương mại hóa. Vai trò của nấm men trong quy trình sẽ giúp chuyển lượng đường tạo ra từ phản ứng enzym thành các sản phẩm đồng hành hòa tan (etanol) từ đó tránh việc ức chế hoạt động của enzym đồng thời việc tạo ra sản phẩm đồng hành có giá trị gia tăng sẽ giúp giảm giá thành sản phẩm chính là chế phẩm giàu protein. Thực hiện hoạt hóa nấm men khô trước khi bổ sung vào dịch lên men. Quá trình hoạt hóa được thực hiện bằng cách phối trộn nấm men khô với nước ấm

theo tỷ lệ nấm men khô:nước = 1:10 (khối lượng:thể tích); nhiệt độ hỗn hợp đạt 37-38°C; khuấy nhẹ nhàng trong 1 -2 phút để thu được hỗn hợp đồng nhất sau đó để yên 15-20 phút thu nấm men hoạt hóa. Gạo (*Oryza sativa* L.) là gạo lứt hoặc gạo trắng, ưu tiên các giống giàu protein, đáp ứng tiêu chuẩn theo TCVN 8371:2010 hoặc TCVN 11888:2017 được phân loại, làm sạch, nghiền mịn bằng thiết bị nghiền búa với kích thước lỗ sàng 1 mm, thu được bột gạo.

(ii) Lên men:

Hòa bột gạo và nước sản xuất trong thiết bị phản ứng sinh học (bioreactor) có khả năng ổn nhiệt và cánh khuấy ở nhiệt độ thường (khoảng 30°C) theo với nồng độ bột gạo là 27-33% khối lượng, tốc độ khuấy từ 30-40 vòng/phút.

Điều chỉnh độ pH của dung dịch bột gạo bằng axit lactic hoặc axit xitric sử dụng được trong thực phẩm tới độ pH=4,2-4,7. Đây là độ pH thích hợp cho các enzym và nấm men phát triển đồng thời có tác dụng ức chế nhất định với vi sinh vật có hại.

Bổ sung các chế phẩm enzym và nấm men hoạt hóa, trong đó Stargen 002 với liều lượng nằm trong khoảng 1,0 - 2,0 L/ tấn gạo, nấm men hoạt hóa với lượng trong khoảng 0,4 đến 1,0 kg/m³ dịch (tính theo khối lượng chế phẩm nấm men khô trước khi hoạt hóa).

Thực hiện lên men ở nhiệt độ 28 - 32°C trong thời gian 96 - 144 giờ, trong đó trong 6 - 10 giờ đầu sau khi bổ sung chế phẩm enzym, nấm men hoạt hóa có tiến hành khuấy 30 - 40 vòng/phút.

Các điều kiện thực hiện lên men đều là kết quả của quá trình nghiên cứu lâu dài, là các điều kiện tối ưu để thực hiện bước lên men này.

(iii) Thu chế phẩm:

Sau khi kết thúc quá trình lên men, dung dịch lên men thu được được để lắng và ly tâm (khoảng 3000 vòng/phút) để loại bỏ dịch, thu phần chất rắn giàu protein.

Chất rắn giàu protein thu được được sấy ở 50°C trong 6-8 giờ, thu được chế phẩm giàu protein từ gạo.

Chế phẩm giàu protein từ gạo thu được từ quy trình theo giải pháp hữu ích có hàm lượng protein tối thiểu đạt 40%.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Chuẩn bị nguyên liệu bao gồm enzym Stargen 002 mua từ hãng Dupont (trước đây là Genencor - A Danisco division), chế phẩm nấm men khô thương phẩm Thermosacc do Lallemand sản xuất và thương mại hóa, gạo lứt hay còn gọi là gạo lứt (*Oryza sativa* L.) đáp ứng tiêu chuẩn theo TCVN 8371:2010.

Chế phẩm enzym Stargen 002 có chứa hỗn hợp alpha-amylaza có nguồn gốc từ *Aspergillus kawachi* và được biểu hiện trong *Trichoderma reesei* và glucoamylaza từ *Trichoderma reesei*. Hoạt độ của chế phẩm Stargen 002 theo công bố của nhà sản xuất đạt tối thiểu 570 GAU/g (GAU = Glucoamylase Unit).

Chế phẩm nấm men khô thương phẩm Thermosacc chứa nấm men *Saccharomyces cerevisiae* với hàm lượng 2 - 3.10^{10} tế bào/g chế phẩm và có tỉ lệ sống đạt trên 95%.

Hoạt hóa nấm men khô bằng cách phối trộn nấm men khô Thermosacc với nước ấm theo tỷ lệ nấm men khô:nước = 1:10 (khối lượng:thể tích); nhiệt độ hỗn hợp đạt khoảng 38°C; khuấy nhẹ nhàng trong 2 phút để thu được hỗn hợp đồng nhất sau đó để yên 20 phút thu nấm men hoạt hóa.

Gạo lứt (lứt) được phân loại, làm sạch, nghiền mịn bằng thiết bị nghiền búa với kích thước lỗ sàng 1 mm, thu được bột gạo.

Hòa 307 kg bột gạo và 733 L nước sản xuất trong thiết bị phản ứng sinh học (bioreactor) có khả năng ổn nhiệt và cánh khuấy ở nhiệt độ thường (khoảng 30°C), tốc độ khuấy từ 40 vòng/phút.

Điều chỉnh độ pH của dung dịch bột gạo bằng axit xitric sử dụng được trong thực phẩm tới độ pH=4,5.

Bổ sung các chế phẩm enzym và nấm men hoạt hóa, trong đó Stargen 002 với liều lượng nằm trong khoảng 460,5 mL, nấm men hoạt hóa với lượng trong khoảng 0,5kg (tính theo khối lượng chế phẩm nấm men khô trước khi hoạt hóa).

Thực hiện lên men ở nhiệt độ 32°C trong thời gian 100 giờ, trong đó trong 6 giờ đầu sau khi bổ sung chế phẩm enzym, nấm men hoạt hóa có tiến hành khuấy 40 vòng/phút.

Sau khi kết thúc quá trình lên men, dung dịch lên men thu được được để lắng và ly tâm ở 3000 vòng/phút, ly tâm liên tục để loại bỏ dịch, thu phần chất rắn giàu protein.

Chất rắn giàu protein thu được được sấy ở 50°C trong 8 giờ, nghiền nhỏ thu được chế phẩm giàu protein từ gạo.

Chế phẩm thu được dạng bột, màu vàng nhẹ. Hàm lượng protein tổng của chế phẩm được xác định bằng phương pháp Kjeldahl.

Chế phẩm giàu protein từ gạo thu được từ quy trình theo giải pháp hữu ích có hàm lượng protein đạt 46,6% .

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Thông qua việc thực hiện hiệu quả đồng thời các công đoạn ở nhiệt độ thường, không/ít sử dụng dung môi và hóa chất, giải pháp hữu ích mang lại những hiệu quả thiết thực như sau :

- Tiết kiệm chi phí năng lượng do cả quy trình tiến hành ở nhiệt độ thường 28-32°C.
- Tiết kiệm chi phí đầu tư thiết bị: các công đoạn đều được tiến hành trong một thiết bị không cần gia nhiệt.
- Tiết kiệm chi phí nhân công và diện tích nhà xưởng.
- Không có tác động tiêu cực lên protein vì quá trình xúc tác sinh học làm giàu hàm lượng protein tiến hành ở nhiệt độ thường, không dùng dung môi hóa chất nên không gây biến tính protein.
- Tiết kiệm chi phí xử lý môi trường, nước thải và là công nghệ thân thiện với môi trường.
- Có hiệu quả kinh tế cao do thu hồi sản phẩm đồng hành (co-product) của quá trình loại bỏ các hợp chất phi protein.
- Chế phẩm giàu protein từ gạo thu được từ quy trình theo giải pháp hữu ích có thể sử dụng trong thực phẩm.

Yêu cầu bảo hộ

1. Quy trình sản xuất chế phẩm giàu protein từ gạo (*Oryza sativa* L.) theo phương pháp không gia nhiệt bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị nguyên liệu:

chuẩn bị các nguyên liệu gồm chế phẩm enzym Stargen 002 (sản xuất và thương mại hóa bởi Dupont, trước đây là Genencor - A Danisco division), là chế phẩm enzym có chứa hỗn hợp alpha-amylaza có nguồn gốc từ *Aspergillus kawachi* và được biểu hiện trong *Trichoderma reesei* và glucoamylaza từ *Trichoderma reesei*, có nhiệt độ hoạt động tối ưu nằm trong khoảng từ 20 đến 40°C, độ pH tối thích từ 4,0 đến 4,5, và hoạt độ của chế phẩm đạt tối thiểu 570 GAU/g (GAU = Glucoamylase Unit); chế phẩm nấm men khô thương phẩm Thermosacc (sản xuất và thương mại hóa bởi Lallemand) chứa nấm men *Saccharomyces cerevisiae* với hàm lượng 2 - 3.10¹⁰ tế bào/g chế phẩm và có tỉ lệ sống đạt trên 95%; và gạo (*Oryza sativa* L.) là gạo lứt hoặc gạo trắng, ưu tiên các giống giàu protein, đáp ứng tiêu chuẩn theo TCVN 8371:2010 hoặc TCVN 11888:2017;

hoạt hóa chế phẩm nấm men khô thương phẩm Thermosacc trước khi bổ sung vào dịch lên men bằng cách phối trộn nấm men khô với nước ấm theo tỷ lệ nấm men khô:nước = 1:10 (khối lượng:thể tích), nhiệt độ hỗn hợp đạt 37-38°C, khuấy nhẹ nhàng trong 1-2 phút để thu được hỗn hợp đồng nhất, sau đó để yên 15-20 phút thu nấm men hoạt hóa;

gạo được phân loại, làm sạch, nghiền mịn bằng thiết bị nghiền búa với kích thước lỗ sàng 1 mm, thu được bột gạo;

(ii) lên men:

hòa bột gạo và nước sản xuất trong thiết bị phản ứng sinh học (bioreactor) có khả năng ổn nhiệt và cánh khuấy ở nhiệt độ thường (khoảng 30°C) theo với nồng độ bột gạo là 27-33% khối lượng, tốc độ khuấy từ 30-40 vòng/phút;

điều chỉnh độ pH của dung dịch bột gạo bằng axit lactic hoặc axit xitric sử dụng được trong thực phẩm tới độ pH=4,2-4,7;

bổ sung các chế phẩm enzym và nấm men hoạt hóa, trong đó Stargen 002 với liều lượng nằm trong khoảng 1,0 - 2,0 L/ tấn gạo, nấm men hoạt hóa với lượng trong khoảng 0,4 đến 1,0 kg/m³ dịch (tính theo khối lượng chế phẩm nấm men khô trước khi hoạt hóa);

thực hiện lên men ở nhiệt độ 28 - 32°C trong thời gian 96 - 144 giờ, trong đó trong 6 - 10 giờ đầu sau khi bổ sung chế phẩm enzym, nấm men hoạt hóa có tiến hành khuấy 30 - 40 vòng/phút;

(iii) thu chế phẩm:

sau khi kết thúc quá trình lên men, dung dịch lên men thu được được để lắng và ly tâm khoảng 3000 vòng/phút để loại bỏ dịch, thu phần chất rắn giàu protein;

chất rắn giàu protein thu được được sấy ở 50°C trong 6-8 giờ, thu được chế phẩm giàu protein từ gạo.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó trong bước (i) chuẩn bị nguyên liệu, gạo là gạo lứt.