

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH TÁCH CHIẾT BETA GLUCAN TỪ TẾ BÀO SACCHAROMYCES CEREVISIAE TRONG BÃ MEN BIA

Ngày nhận bài: 15/08/2014

Ngày nhận lại: 03/12/2014

Ngày duyệt đăng: 15/12/2014

Lý Thị Minh Hiền¹

Đoàn Hạnh Kiểm²

Trần Thị Thu Chi³

TÓM TẮT

β -glucan là một nhóm polysaccharide phổ biến trong nhiều loài vi sinh vật, nấm và thực vật, nhận được nhiều sự chú ý về hoạt tính sinh học. β -glucan được biết đến với nhiều lợi ích cho sức khỏe của con người và động vật được mô tả trong hơn 50 năm qua. Các nghiên cứu cho biết về β -glucan có trong thành tế bào của nấm men bánh mì phổ biến và men bia *Saccharomyces cerevisiae*. Nghiên cứu này khảo sát quy trình tách chiết bã nấm men bia để thu nhận chế phẩm β -glucan. Ba phương pháp để tách chiết β -glucan từ tế bào *S. cerevisiae* được đề xuất trong bài báo và phương pháp sinh học bổ sung enzyme protease thích hợp nhất cho quá trình tách chiết. Một số điều kiện của phương pháp sinh học bổ sung enzyme protease sau đó đã được xác định nhằm mục đích thu nhận β -glucan tốt nhất được ghi nhận qua nghiên cứu này như sau: Nhiệt độ rửa bã nấm men thích hợp 90°C/10 phút, nồng độ enzyme protease tham gia phản ứng 0,5%, thời gian xử lý enzyme là 6 giờ, nồng độ NaOH là 1M, nhiệt độ và thời gian xử lý NaOH: 90°C trong 1,5 giờ, tỷ lệ acetone xử lý/cặn nấm men là 4:1. Từ 1000g bã men bia tươi chúng tôi đã thu được 23,12g sản phẩm giàu β -glucan với hàm lượng β -glucan lên đến 85%.

Từ khóa: β -glucan, *Saccharomyces cerevisiae*, bã nấm men bia, protease.

ABSTRACT

β -glucan are widespread polysaccharides in microorganisms, mushrooms and plants. They have received much attention with respect to their biological functions. Numerous benefits for the health of humans and animals have been described for more than 50 years. One readily available source for β -glucan is the cell wall of the common baker's and brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae*. This study surveyed the isolation process to obtain yeast β -glucan products. Three methods for β -glucan isolation from *Saccharomyces cerevisiae* cells are proposed in this paper and the biological method using protease was the most suitable for the isolation process. Next, some experiments have been done in order to determine the appropriate conditions for the isolation process. The results were as follows: hot water extraction: 90°C/10 minutes, protease concentrations: 0.5%, enzyme processing time: 6 hours, NaOH concentration 1M, temperature and NaOH treatment time : 90°C for 1.5 hours, processing rate of acetone/yeast residue: 4:1. From 1,000g residue obtained 23.12g fresh yeast β -glucan product with a β -glucan content of up to 85%.

Keywords: β -glucan, *Saccharomyces cerevisiae*, Spent breewr's yeast slurry.

1. Giới thiệu

β -glucan được biết nhiều với vai trò của một chất đáp ứng sinh học trong các liệu pháp trị ung thư từ năm 1980, Nhật là nước đầu tiên được sử dụng β -glucan với chức năng đó.

β -glucan có trong ngũ cốc, nấm, vi sinh vật. Trong đó, β -glucan của nấm men có cấu trúc phân nhánh và có mạch chính hình thành từ liên kết β (1,3) của các phân tử glucose, các mạch nhánh tạo nên nhờ liên kết β (1,6). Từ những năm 1990, Mỹ đã nỗ lực nghiên cứu beta

^{1,2,3}Trường Đại học Mở TP.HCM. Email: lyminhhien@gmail.com

glucan từ nấm men như một chất đáp ứng sinh học với vai trò kháng viêm.

Có rất nhiều các nghiên cứu đã và đang được tiến hành trên thế giới nhằm thu nhận được β -glucan có độ tinh sạch cao.

β -glucan có thể thu nhận từ tế bào *Saccharomyces cerevisiae* bằng cách dùng kiềm như các nghiên cứu của Huang (2008) hay Marinescu (2009), phương pháp này dễ thực hiện, tuy nhiên do dùng NaOH nồng độ cao sẽ ảnh hưởng cấu trúc sản phẩm cũng như gây ô nhiễm môi trường.

Nhằm hạn chế các nhược điểm trên, quá trình sinh học, trong đó bao gồm tự phân sinh học và enzyme được sử dụng để phân tách β -glucan. Các enzyme sử dụng chủ yếu là enzyme thương mại như nghiên cứu của Freimund (2003) dùng enzyme savinase của Novo-Nordisk hay nghiên cứu của Liu (2008) đã tiến hành so sánh khả năng hỗ trợ thu nhận β -glucan từ *S. cerevisiae* bằng 4 loại protease thương mại khác nhau và rút ra kết luận rằng protamex của Novozyme cho sản phẩm có hàm lượng β -glucan cao nhất 93,12%.

Nghiên cứu khác của Javmen (2012), tác giả đã tối ưu hóa điều kiện phá màng tế bào giúp thu nhận β -glucan của enzyme từ *Actinomyces rutgersensis* 88, kết quả cho thấy thời gian ủ 6 giờ cho hiệu quả tốt nhất.

Ngoài ra, người ta còn kết hợp cả phương pháp sinh học và hóa học nhằm tăng hiệu suất thu hồi mà không làm giảm chất lượng β -glucan như nghiên cứu của Zechner-Krpan (2010).

Trong nước ta hiện nay, các nghiên cứu về β -glucan chủ yếu là ứng dụng hoạt tính sinh học của nó trên các loại vật nuôi hay thủy sản; chưa có nhiều nghiên cứu tinh sạch hay thu nhận β -glucan từ các nguồn như nấm, thực vật bậc cao hay vi sinh vật.

Năm 2013, nhóm tác giả Trần Minh Tâm tại Đại học Bách Khoa TP.HCM đã có một trong những nghiên cứu đầu tiên về tinh sạch β -glucan từ bã men bia *S. cerevisiae* với sự kết hợp giữa phương pháp enzyme và hóa lý (siêu âm).

Từ các tiền đề trên, nhóm nghiên cứu chúng tôi tiến hành nghiên cứu so sánh khả

năng thu nhận β -glucan từ *S. cerevisiae* bằng các phương pháp hóa học, sinh học (tự phân và enzyme) nhằm tìm ra phương pháp phù hợp nhất và xác định các điều kiện tối ưu cho phương pháp được chọn.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Bã nấm men bia *Saccharomyces cerevisiae* được sử dụng trong nghiên cứu này do công ty bia Hoàng Long (Bình Dương) cung cấp.

Enzyme protease thu nhận từ *Bacillus subtilis* (từ PTN Sinh Hóa-Trường ĐH KHTN - Đại Học Quốc Gia TP.HCM).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Dựa trên các phương pháp nghiên cứu trước đây chúng tôi đã đưa ra 3 phương pháp tách chiết beta glucan dự kiến bằng hóa học và sinh học.

Phương pháp 1 (A1): Tách chiết β -glucan bằng phương pháp hóa học.

Bã nấm men bia $\rightarrow$ Rửa bã với nước vô khuẩn $\rightarrow$ Xử lý với NaOH 3% $\rightarrow$ Ly tâm thu cạn $\rightarrow$ Xử lý NaOH 1M $\rightarrow$ Ly tâm thu cạn $\rightarrow$ Xử lý acetone $\rightarrow$ Rửa ethanol $\rightarrow$ Thu β -glucan.

Trước khi thực hiện quá trình tách chiết bằng phương pháp hóa học, bã nấm men bia dạng sệt thu được từ nhà máy bia, nằm lại trong các thùng lên men và các hầm chứa sau khi lên men chính và lên men phụ được đem rửa với nước theo tỉ lệ nấm men/nước là 1/3 (w/w), rồi để lắng trong 5 giờ và gạn bỏ phần nước bên trên. Tiếp theo, sinh khối nấm men được đem đi xử lý với NaOH 3% nhằm phá vỡ thành tế bào rồi ly tâm thu cạn loại bỏ những thành phần có thể hòa tan. Tiếp tục xử lý cạn với NaOH 1M loại bỏ protein và những thành phần có bản chất protein bị hòa tan trong kiềm loãng, ly tâm thu cạn xử lý tiếp với acetone nhằm loại bỏ lipid và loại bớt nước ra khỏi β -glucan. Tiếp sau đó, rửa còn lại bỏ những thành phần tạp cạn tan trong cồn và sấy khô sản phẩm đến khi có màu vàng nhạt là chế phẩm β -glucan.

Phương pháp 2 (A2): Tách chiết β -glucan bằng phương pháp tự phân.

Bã nấm men bia → Rửa bã với nước vô khuẩn → Tự phân → Ly tâm thu cặn → Xử lý NaOH 1M → Ly tâm thu cặn → Xử lý acetone → Rửa ethanol → Thu β -glucan.

Phương pháp 2 này được chúng tôi đưa ra cũng giống với phương pháp 1 chỉ khác là bã nấm men bia sau khi được đem đi rửa với nước vô khuẩn thì mang đi tự phân với nhiệt độ, thời gian và pH thích hợp tạo điều kiện cho enzyme có sẵn trong tế bào phát triển phá hủy tế bào, sau đó ly tâm thu cặn và tiếp tục xử lý với các bước như quy trình đã nêu trên.

Phương pháp 3 (A3): Tách chiết β -glucan bằng phương pháp sinh học có bổ sung protease.

Bã nấm men bia → Rửa bã với nước vô khuẩn → Xử lý protease → Ly tâm thu cặn → Xử lý NaOH 1M → Ly tâm thu cặn → Xử lý acetone → Rửa ethanol → Thu β -glucan.

Ở phương pháp 3 này được chúng tôi đưa ra cũng giống với phương pháp 1 và 2 chỉ khác là bã nấm men bia sau khi được đem đi rửa với nước vô khuẩn sẽ được xử lý với protease ở nhiệt độ và thời gian thích hợp rồi mang đi ly tâm thu cặn và tiếp tục xử lý các bước như quy trình.

2.3. Các phương pháp phân tích

2.3.1. Hiệu suất tách chiết β -glucan:

$H\% = (\text{Khối lượng } \beta\text{-glucan thu nhận} /$

$\text{khối lượng nấm men khô}) \times 100\%$

2.3.2. Xác định hàm lượng β -glucan:

Cân chính xác 1-2g mẫu β -glucan, nghiền nhuyễn trong cối sứ. Sau đó cho thủy phân trong dung dịch H_2SO_4 15% tỷ lệ 1:1 trong 24 giờ. Sau 24 giờ lọc thu dịch bỏ bã, tiếp đó thêm 3 giọt methyl đỏ và trung hòa từ từ bằng NaOH 5% cho đến khi xuất hiện màu vàng nhạt. Sau đó cho hỗn hợp vào bình định mức 100ml định mức tới vạch và lắc đều. Lấy dung dịch mẫu chứa đường khử cho vào burette. Cho vào erlen 10ml dung dịch $K_3Fe(CN)_6$ 1% và 2,5ml dung dịch NaOH 2,5N. Đun sôi và chuẩn độ ngay trên bếp bằng dung dịch mẫu đã xử lý từ burette, cho từng giọt một lắc mạnh. Dung dịch ban đầu có màu vàng chanh của kali ferricyanure. Điểm dừng chuẩn độ xác định khi màu vàng chanh biến mất, dung dịch trong suốt không màu khoảng 30 giây rồi chuyển sang màu vàng rom rất nhạt của ferrocyanure.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Khảo sát ảnh hưởng của các phương pháp đến quá trình tách chiết β -glucan

Chúng tôi bố trí thí nghiệm với 3 phương pháp đã được nêu ở phần vật liệu và phương pháp nghiên cứu, hiệu suất thu hồi và hàm lượng β -glucan trong mẫu xác định thông qua hàm lượng β -glucan được thể ở hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Hiệu suất thu hồi và hàm lượng β -glucan ở các phương pháp tách chiết khác nhau

Phương pháp tách chiết	Hiệu suất thu hồi (%)	Hàm lượng β -glucan (%)
Phương pháp hóa học	6,81 ^b	48,43 ^b
Phương pháp sinh học tự phân	8,79 ^a	28,70 ^c
Phương pháp sinh học bổ sung enzyme protease	9,25 ^a	77,93 ^a

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được ký hiệu cùng một chữ cái không khác biệt ở mức ý nghĩa $\alpha=0,05$.

Hàm lượng β -glucan thu ở nghiệm thức xử lý có bổ sung enzyme protease là cao nhất (Bảng 1). Thành tế bào nấm men được cấu tạo chủ yếu từ β -glucan, mannan, protein, lipid và một lượng rất nhỏ chitin,... Protease sẽ thủy phân những liên kết protein phá vỡ tế bào giải

phóng tối đa các chất có trong thành tế bào giúp quá trình tách chiết và tinh sạch diễn ra dễ dàng hơn. Trong phương pháp hóa học, kiềm là một chất hóa học có khả năng oxy hóa mạnh giúp phá hủy những liên kết, phá vỡ cấu trúc tế bào nhưng cho kết quả hiệu suất thu hồi

và hàm lượng β -glucan đều thấp hơn phương pháp thủy phân bằng protease ở độ tin cậy 95%. Với phương pháp sinh học tự phân dựa vào những enzyme nội bào có sẵn trong bản thân nấm men, enzyme nội bào này cũng có khả năng phân hủy thành tế bào nhưng kết quả không cho hàm lượng β -glucan cao như phương pháp thủy phân bổ sung protease.

Vì vậy phương pháp sinh học bổ sung protease được cho là tối ưu nhất cho quy trình tách chiết phù hợp với quy mô phòng thí nghiệm, dễ thực hiện, không ảnh hưởng đến môi trường, cho sản phẩm có độ tinh sạch cao hơn 2 phương pháp còn lại.

3.2. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tách chiết β -glucan bằng phương

pháp sinh học bổ sung protease

Nhằm chọn lựa được thông số tối ưu cho quy trình tách β -glucan bằng phương pháp sinh học bổ sung protease, chúng tôi tiến hành các thí nghiệm khảo sát các thông số quy trình như: nhiệt độ rửa bã nấm men, nồng độ protease bổ sung, thời gian xử lý mẫu với protease, nồng độ - nhiệt độ - thời gian xử lý NaOH và tỷ lệ acetone rửa mẫu.

3.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ rửa bã nấm men đến quá trình tách chiết β -glucan

Chúng tôi tiếp tục khảo sát sự ảnh hưởng của nhiệt độ rửa bã nấm men đến hiệu suất và hàm lượng β -glucan thu được. Hai giá trị nhiệt độ được khảo sát là 30 và 90°C.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ rửa bã nấm men đến quá trình tách chiết β -glucan

Nhiệt độ rửa bã nấm men	Hàm lượng β -glucan (%)	Hiệu suất thu hồi (%)
30°C	68,26 ^b	5,60
90°C	88,39 ^a	4,71 ^{ns}

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được ký hiệu cùng một chữ cái không khác biệt ở mức ý nghĩa $\alpha=0,05$.

Kết quả trong Bảng 2 cho thấy khi bã nấm men bia được xử lý bằng nước nóng cho quá trình tách chiết thì hàm lượng β -glucan cao hơn hẳn so với quá trình rửa bã ở nhiệt độ thấp trong khi hiệu suất thu hồi không khác biệt ở mức ý nghĩa 0,05. Dưới tác dụng của nhiệt độ thành tế bào nấm men sẽ làm biến tính protein trên thành tế bào và tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình xử lý bằng enzyme nhằm loại bỏ các thành phần không mong muốn ra khỏi sản phẩm làm cho sản phẩm thu được có hàm lượng β -glucan cao hơn.

Như vậy, rửa bã bằng nước nóng là bước

cần thiết cho quá trình tách chiết thu nhận β -glucan.

3.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ protease đến quá trình tách chiết β -glucan

Tương tự như bước rửa nước nóng, quá trình xử lý protease với nồng độ thích hợp cũng ảnh hưởng tới quá trình tách chiết thu nhận β -glucan, do hoạt động protease ảnh hưởng đến mức độ phá vỡ màng tế bào nấm men và khả năng giải phóng các thành phần màng tế bào. Chúng tôi thay đổi nồng độ của enzyme protease từ 0,5 đến 1,3%.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ protease đến quá trình tách chiết β -glucan

Nồng độ protease (%)	Hiệu suất thu hồi (%)	Hàm lượng β -glucan (%)
0,5%	9,857 ^a	85,68 ^a
0,7%	10,47 ^a	86,27 ^a
0,9%	11,24 ^a	87,58 ^a
1,1%	12,14 ^a	83,98 ^a
1,3%	11,54 ^a	84,95 ^a

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được ký hiệu cùng một chữ cái không khác biệt ở mức ý nghĩa $\alpha=0,05$.

Ở kết quả thí nghiệm trên khi tăng nồng độ protease lại không có nhiều sự khác biệt về hàm lượng β -glucan cũng như hiệu suất thu hồi sản phẩm, điều này được giải thích rằng ở nồng độ 0,5%, enzyme protease đã thủy phân liên kết protein, phá vỡ tối đa các chất trong thành tế bào, quá trình tách chiết đạt được độ tinh sạch và hiệu suất cao nên khi tăng nồng độ enzyme lên: 0,7%; 0,9%; 1,1%; 1,3%, việc thủy phân liên kết protein cũng không có nhiều khác biệt.

3.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian xử lý protease đến quá trình tách chiết β -glucan

Dựa vào các nghiên cứu dùng protease để hỗ trợ quá trình tách chiết β -glucan, với các thời gian xử lý enzyme tương ứng trong các nghiên cứu của Freimund (2003), Liu (2008) và Javmen (2012) lần lượt là 5, 24 và 6 giờ. Trong đề tài này, tiến hành xử lý enzyme protease với thời gian thay đổi từ 6 đến 24 giờ.

Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian xử lý enzyme protease đến quá trình tách chiết β -glucan

Thời gian xử lý enzyme (giờ)	Hiệu suất thu hồi (%)	Hàm lượng β -glucan (%)
6 giờ	15,70 ^a	87,24 ^a
12 giờ	13,14 ^b	87,34 ^a
24 giờ	15,11 ^b	86,92 ^a

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được ký hiệu cùng một chữ cái không khác biệt ở mức ý nghĩa $\alpha=0,05$.

Từ kết quả trên cho thấy, khi xử lý nấm men với protease trong 6 giờ thì hiệu suất thu hồi là 15,7% cao hơn các nghiệm thức 12 giờ hay 24 giờ. Đối với hàm lượng β -glucan thu được ở cả 3 nghiệm thức đều không khác biệt ở mức 0,05.

Như vậy thời gian phù hợp để xử lý bã nấm men để thu được β -glucan với protease

của *Bacillus subtilis* là 6 giờ.

3.2.4. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ NaOH đến quá trình tách chiết β -glucan

Vì dung dịch NaOH giúp hòa tan protein và các tạp chất tan trong nước khác nên nồng độ NaOH thích hợp ảnh hưởng tới hiệu suất và hàm lượng β -glucan. Chúng tôi khảo sát thay đổi nồng độ kiềm là 0,5; 1,0 và 1,5M.

Bảng 5. Ảnh hưởng của nồng độ NaOH đến quá trình tách chiết β -glucan

Nồng độ NaOH (M)	Hiệu suất thu hồi (%)	Hàm lượng β -glucan (%)
0,5M	15,90 ^a	72,13 ^c
1,0M	16,36 ^a	87,22 ^a
1,5M	15,33 ^a	76,56 ^b

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được ký hiệu cùng một chữ cái không khác biệt ở mức ý nghĩa $\alpha=0,05$.

Từ kết quả thực nghiệm trên cho thấy, việc xử lý mẫu nấm men bằng NaOH với nồng độ 1M cho hàm lượng β -glucan cao nhất. Với nồng độ thấp hơn không hòa tan hết được lượng protein và các thành phần có bản chất protein còn lại và với nồng độ cao hơn có thể dẫn đến

thủy phân và làm giảm hàm lượng β -glucan.

3.2.5. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian xử lý NaOH đến quá trình tách chiết β -glucan

Chế độ xử lý nhiệt quá thấp sẽ làm chậm

quá trình trích ly các tạp chất, tuy nhiên chế độ xử lý nhiệt quá cao có thể làm tăng khả năng oxi hóa của NaOH làm hao hụt β -glucan đồng thời cũng tăng chi phí năng lượng. Nhiệt độ xử lý NaOH cho nấm men giúp thu nhận β -glucan của Huang (2008) và Marinescu (2009) là

90°C/2 giờ để cho được hàm lượng β -glucan tốt nhất. Do đó, chúng tôi tiến hành thí nghiệm xử lý NaOH với các giá trị nhiệt độ là 80; 90; 100°C và thời gian là 1,5 giờ; 2,0 giờ; 2,5 giờ nhằm có được thông số phù hợp nhất.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian xử lý NaOH đến quá trình tách chiết β -glucan

Nhiệt độ	Thời gian	Hiệu suất thu hồi (%)	Hàm lượng β -glucan (%)
80°C	1,5 giờ	12,14 ^{cd}	73,46 ^c
	2,0 giờ	12,29 ^{bcd}	76,24 ^b
	2,5 giờ	11,04 ^d	76,55 ^b
90°C	1,5 giờ	15,69 ^a	88,46 ^a
	2,0 giờ	15,14 ^a	88,07 ^a
	2,5 giờ	15,11 ^a	87,22 ^a
100°C	1,5 giờ	12,80 ^{bcd}	89,22 ^a
	2,0 giờ	14,20 ^{ab}	87,34 ^a
	2,5 giờ	13,71 ^{abc}	89,22 ^a

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được ký hiệu cùng một chữ cái không khác biệt ở mức ý nghĩa $\alpha=0,05$.

Từ kết quả thí nghiệm Bảng 6 cho thấy, ở nhiệt độ 80°C hàm lượng β -glucan thu hồi không cao bằng ở 90 và 100°C do quá trình trích ly tạp chất chưa triệt để. Ở nhiệt độ 100°C, hiệu suất thu hồi giảm nhẹ do hoạt động oxi hóa của kiềm ở nhiệt độ cao. Chế độ nhiệt 90°C trong 1,5 giờ là phù hợp nhất để xử lý nấm men với NaOH giúp thu hàm lượng β -glucan cao.

3.2.6. Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ acetone/cặn bã men đến quá trình tách chiết β -glucan

Trong các nghiên cứu trước, các tác giả đều sử dụng các dung môi không phân cực như ethyl ether hay acetone nhằm loại bỏ lipid trong bã nấm men nhằm tăng độ tinh sạch cho mẫu β -glucan. Chúng tôi sử dụng dung môi acetone cũng cùng mục đích này. Tỉ lệ acetone/cặn bã men thích hợp ảnh hưởng lớn tới việc loại bỏ lượng lipid có trong cặn bã men. Chúng tôi tiến hành khảo sát bốn tỉ lệ là 2:1; 3:1; 4:1 và 5:1.

Bảng 7. Ảnh hưởng của tỉ lệ acetone/cặn bã men đến quá trình tách chiết β -glucan

Tỷ lệ acetone và cặn nấm men	Hàm lượng β -glucan (%)
2:1	72,32 ^c
3:1	77,71 ^b
4:1	85,26 ^a
5:1	87,57 ^a

Ghi chú: Các số trong cùng một cột được ký hiệu cùng một chữ cái không khác biệt ở mức ý nghĩa $\alpha=0,05$.

Từ kết quả nghiên cứu trên cho thấy, khi tăng tỷ lệ acetone xử lý/cặn bã men từ 2:1 lên 4:1 thì hàm lượng β -glucan tăng. Khi tăng tới tỷ lệ 5:1 thì không còn thấy sự khác biệt hàm lượng β -glucan. Do đó, chúng tôi chọn tỷ lệ acetone/cặn nấm men là 4:1 để loại lipid khỏi mẫu.

4. Kết luận

Qua quá trình nghiên cứu, chúng tôi đã

xác định được các thông số tối ưu cho quá trình tách chiết bã nấm men bia để thu nhận chế phẩm β -glucan như sau: Phương pháp tách chiết β -glucan: Phương pháp sinh học bổ sung enzyme protease, nhiệt độ rửa bã nấm men: 90°C/10phút, nồng độ protease: 0,5%, thời gian

xử lý enzyme là 6 giờ, nồng độ NaOH là 1M, nhiệt độ và thời gian xử lý NaOH: 90°C trong 1,5 giờ, tỷ lệ acetone xử lý/cặn nấm men 4:1.

Từ 1000g bã men bia tươi thu được 23,12g sản phẩm giàu β -glucan với hàm lượng đường tổng lên đến 85%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Freimund S. et al (2003). A new non-degrading isolation process for 1,3- β -D-glucan of high purity from baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Carbohydrate Polymers* 54 (2003) 159–171.
- Huang L.G. et al (2008). Extraction of two active polysaccharide from the yeast cell wall, *Zeitschrift für Naturforschung* 63c, 919-921 (2008).
- Javmen A. et al., (2012). β -glucan extraction from *Saccharomyces cerevisiae* yeast using *Actinomyces rutgersensis* 88 yeast lyzing enzymatic complex, *BIOLOGIJA*. 2012 Vol. 58. No. 2.. 51–59.
- Karunaratne D.N. (2012). The complex world of polysaccharide, Chapter 2: Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Glucan Polysaccharides – Occurrence, Separation and Application in Food, Feed and Health Industries, www.intechopen.com.
- Liu X. et al., (2008). A new isolation method of β -D-glucans from spent yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Food Hydrocolloids* 22 (2008), 239–247.
- Magnelli P. et al (2002). A refined method for the determination of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall composition and β -(1,6) -glucan fine structure, *Analytic Biochemistry* 301, 136-150 (2002).
- Marinescu G. et al (2009). Researches concerning the preparation of spent brewer's yeast β -glucans, *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* 2009, 15(4), 547-553.
- Misaki A. et al (1967). Structure of the cell wall glucan of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), *Carbohydrate Research*, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, printed in Belgium.
- Trần Minh Tâm (2013). Optimization of β -glucan extraction from waste brewer's yeast *saccharomyces cerevisiae* using autolysis, enzyme, ultrasonic and combined enzyme – ultrasonic treatment, *American Journal of Research Communication*, 2013, 1(11): 149-158.
- Vetvika V. (2011). Beta glucan: Mechanisms of action, *Biology and chemistry of beta glucan* Vol.01, 2011, 10-18.
- Zechner-Krap V. et al (2010). Characterization of β -glucan isolated from brewer's yeast and dried by different method, *Food Technol. Biotechnol.* 48 (2) 189-197 (2010).