



(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)



2-0002784

(51) **C12P 19/04; C08B 37/00**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2021-00302

(22) 26/07/2018

(67) 1-2018-03288

(45) 25/01/2022 406

(43) 26/11/2018 368A

(73) 1. VIỆN NGHIÊN CỨU VÀ ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ NHA TRANG-VIỆN
HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM (VN)

Số 02 Hùng Vương, phường Lộc Thọ, thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa

2. Nguyễn Duy Nhứt (VN)

56° Hồ Xuân Hương- phường Phước Hòa, thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa

(72) Nguyễn Duy Nhứt (VN).

(54) **QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ BETA-GLUCAN TỪ MEN BÁNH MÌ BẰNG CHẤT LÔNG
ION**

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế beta-glucan từ men bánh mì bằng chất lỏng ion, hòa tan trực tiếp men bánh mì vào chất lỏng ion để điều chế beta-glucan, quy trình này bao gồm các bước: (i) hòa tan men hoàn toàn bánh mì vào chất lỏng ion bằng cách khuấy trộn và gia nhiệt; (ii) pha loãng bằng nước và thu sản phẩm beta-glucan kết tủa tách ra khỏi dung dịch men bánh mì tan trong chất lỏng ion; và (iii) thu sản phẩm, sấy khô beta-glucan bằng cách gạn kết tủa ra khỏi hỗn hợp phản ứng, rửa bằng nước và sấy khô kết tủa thu được sản phẩm beta-glucan. Beta-glucan đã được hòa tan vào dung môi trước khi tách chiết ra ở dạng kết tủa nên có độ tinh sạch rất cao so với phương pháp loại bỏ các chất khác khỏi beta-glucan trong khi beta-glucan vẫn luôn luôn ở trạng thái kết tủa rắn.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế beta-glucan đơn giản bằng cách hòa tan trực tiếp men bánh mì vào trong chất lỏng ion để thu được sản phẩm được dùng làm thực phẩm bảo vệ sức khỏe. Quy trình theo giải pháp hữu ích không qua công đoạn tự phân để thu màng tế bào và không qua công đoạn xử lý hóa chất để tách chiết tinh chế beta-glucan có trong màng tế bào bằng nhiều phản ứng sinh hóa liên tục nhau.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

β -glucan là một polysaccharit được tìm thấy trong các thành tế bào của vi khuẩn, nấm, nấm men, tảo, địa y và thực vật, chẳng hạn như yến mạch, lúa mạch. Glucan là polyme của các phân tử glucoza, liên kết với nhau bằng liên kết đường (IUPAC Recommendations 1995). Trong thành tế bào nấm men bánh mì, các gốc đường glucoza liên kết với nhau bằng liên kết $\beta(1-3)$ hoặc $\beta(1-6)$.

Trong cuốn sách “What is beta-glucan” của Roger Mason, in tại U.S.A năm 2001, ISBN: 1-884820-66-2, tác giả đã khẳng định, beta-glucan là hợp chất tự nhiên tăng cường miễn dịch mạnh nhất mà khoa học đã từng biết đến.

Trong công bố trên tạp chí “Carbohydrate Polymers v. 28, pp. 3-14”, 08/08/2014, nhóm tác giả đã chứng minh được, beta-glucan hoạt động bằng cách hỗ trợ đại thực bào, tế bào T và các tế bào NK làm việc hiệu quả hơn. Đó cũng là kết quả của rất nhiều nghiên cứu khác được công bố như Biology Pharmacy Bulletin v. 16, 1993, pp. 414-9; Annals of Veterinary Research v. 20, 1989, pp. 165-73; International Journal of Immunopharmacology v. 11, 1989, pp. 761-9; International Journal of Immunopharmacology v.14, 1992, pp. 767-72; Advances in Experimental and Medical Biology v. 383, 1995, pp. 13-22.

Theo tạp chí “Journal of Nutrition v. 133, 2003, pp. 808-13” tại Trung tâm nghiên cứu lâm sàng Chicago, 268 người bao gồm cả nam lẫn nữ, có hàm lượng cholesterol cao đã được cho sử dụng beta glucan, kết quả của thử nghiệm ngẫu nhiên, mù đôi, chứng

minh rằng các đối tượng mắc phải hiện tượng tăng cholesterol huyết (hypercholestermia) ở mức độ nhẹ đến vừa phải, có thể làm giảm lượng LDL và cholesterol bằng cách hấp thụ một nhóm các sterol thực vật và beta glucan chứa trong thực phẩm, như là một phần của một chế độ ăn ít chất béo bão hòa và cholesterol. Đây là bằng chứng thực tế rằng chúng ta không cần, loại thuốc statin rất đắt, độc hại và nguy hiểm nhằm làm giảm mỡ máu.

Cho đến nay, đã có quá nhiều quy trình công nghệ sản xuất beta-glucan từ nấm men *Saccharomyces cerevisiae*, hầu hết các quy trình bao gồm 2 bước:

Bước 1: cho nấm men tự phân bằng các enzym có sẵn trong tế bào, thành tế bào sau khi từ phân sẽ tách rời ra dưới dạng không tan, chứa beta-glucan, mannoprotein và một ít chitosan.

Bước 2: tách beta-glucan ra khỏi thành tế bào bằng hóa chất, enzym hoặc các phương pháp vật lý như siêu âm, áp suất cao v.v..

Ví dụ, công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 20100190872 A1 đề cập đến phương pháp sản xuất beta-glucan và mannan, trong đó nấm men được tự phân ở 55°C, phá hủy tế bào, sau đó thu màng tế bào, điều chỉnh đến độ pH kiềm, cho tác dụng với enzym proteaza, tách rời chất không tan, trung hòa với HCl và rửa sạch bằng nước nhiều lần thu được beta-glucan.

Tự phân, thu màng tế bào, sau đó xử lý lipit bằng axeton, siêu âm, tách protein bằng enzym là phương pháp được sử dụng trong công bố “International Food Research Journal 20(4): 1953-1959 (2013)”.

Công bố trên tạp chí Food Sci. Technol, Campinas, 37(1): 124-130, năm 2017 đưa ra 4 phương pháp tách chiết beta-glucan cũng tuân theo hai bước đã nêu, trong đó bước thứ hai sử dụng NaOH/ HCl, NaOH/ CH₃COOH, NaOH/ NaClO và NaOH/ NaClO/ DMSO.

Cũng trong năm 2017, quy trình tách chiết beta-glucan công bố trên “EXCLI J. 2017; 16: 210–228” vẫn sử dụng bước tự phân, sau đó xử lý bằng NaOH/HCl.

Việt Nam cũng đã có dự án sản xuất thử nghiệm KC.04.DA.04/06-10, dự án sản xuất thử nghiệm 2013-2014 của Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng, tuy nhiên cả hai cũng đều thực hiện tách chiết beta-glucan như các công bố trên thế giới đã nêu.

Toàn bộ các quy trình tách chiết beta-glucan đã công bố đều tách lấy phần “tạp chất” ra khỏi màng tế bào nấm men, phần rắn không tan sau cùng là beta-glucan, phương pháp này không thể làm sạch triệt để các thành phần khác beta-glucan trong nấm men, đồng thời tốn thời gian rất dài cho nhiều phản ứng liên tiếp.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất quy trình điều chế beta-glucan đơn giản, dễ thực hiện, tạo ra beta-glucan có độ tinh sạch cao.

Do đó, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình điều chế beta-glucan từ men bánh mì bằng chất lỏng ion gồm các bước:

(i) hòa tan men bánh mì vào chất lỏng ion 1-butyl-3-methylimidazolium clorua ([BMIM]Cl) thu được dung dịch chiết;

(ii) pha loãng dung dịch chiết ở bước 1 bằng nước, tiếp tục khuấy, chỉ có beta-glucan không tan, tách ra ở dạng kết tủa; và

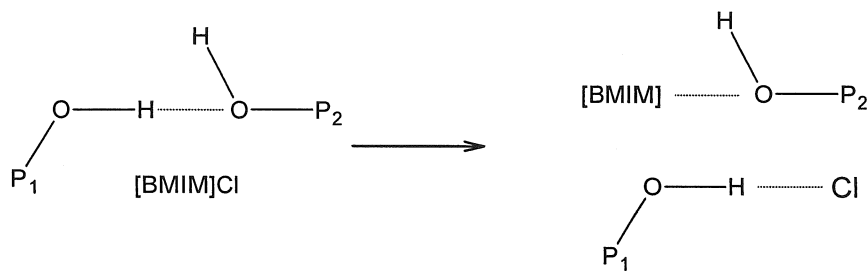
(iii) ly tâm bằng máy ly tâm liên tục hoặc lọc bằng hệ lọc hút chân không thùng quay để lấy beta-glucan, rửa bằng nước vài lần cho sạch [BMIM]Cl và các chất khác, sấy khô, thu được beta-glucan có độ tinh sạch trên 95%, dịch lọc được đem tái chế để thu [BMIM]Cl sử dụng cho lần sau.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Quy trình điều chế beta-glucan bằng cách hòa tan trực tiếp men bánh mì vào chất lỏng ion được mô tả cụ thể như sau:

Bước 1: hòa tan men bánh mì vào 1-butyl-3-methylimidazolium clorua ([BMIM]Cl).

[BMIM]Cl là một chất lỏng không nước, nhưng có ion [BMIM]⁺ và Cl⁻, 2 ion này sẽ phá hủy toàn bộ liên kết hydro, làm cho cấu trúc xoắn giữa các mạch polyme tự nhiên mất đi, những sợi đơn dễ dàng tan vào chất lỏng ion:



Saccharomyces cerevisiae là một loài nấm men được biết đến nhiều nhất có trong bánh mì nên thường gọi là men bánh mì, là một loại vi sinh vật thuộc chi *Saccharomyces* lớp Ascomycetes ngành nấm. Nó được dùng rộng rãi trong quá trình lên men làm bánh mì, rượu, và bia. Thành phần chính của nấm men bánh mì bao gồm mannoprotein, protein, khoáng, beta-glucan và một lượng rất nhỏ chitin.

Do sử dụng chất lỏng ion, toàn bộ các chất có trong nấm men đều tách rời nhau, kể cả beta-glucan, nấm men tan hoàn toàn trong [BMIM]Cl thành dung dịch chiết trong suốt.

Bước 2: pha loãng dung dịch chiết bằng nước, tiếp tục khuấy.

Sau khi thêm nước vào dịch chiết chứa [BMIM]Cl, protein, mannan, mannoprotein đều tan trong dung dịch chỉ có beta-glucan không tan được tách ra ở dạng kết tủa.

Bước 3: ly tâm bằng máy ly tâm liên tục hoặc lọc bằng hệ lọc hút chân không thùng quay để lấy beta-glucan, rửa bằng nước vài lần cho sạch [BMIM]Cl và các chất khác, sấy khô, thu được beta-glucan có độ tinh sạch trên 95%. Dịch chứa chất lỏng ion được đem tái chế để sử dụng cho lần sau.

Thời gian tách chiết chỉ cần khoảng 60 phút.

Quy trình điều chế beta-glucan từ men bánh mì theo giải pháp hữu ích không qua xử lý tự phân hoặc xử lý hóa chất để tách lấy thành tế bào nấm men; ở bước 2 nấm men sau khi hòa tan hoàn toàn trong chất lỏng ion được pha loãng với nước để tách sản phẩm beta-glucan ra khỏi dung dịch ở dạng kết tủa; và ở bước 3 thu beta-glucan có độ tinh sạch 95%, bằng cách tách rửa kết tủa tách ra, sấy khô, mà không cần phải thực hiện thêm bước loại bỏ các tạp chất khác. Beta-glucan đã được hòa tan vào dung môi trước khi tách chiết ra ở dạng kết tủa nên có độ tinh sạch rất cao so với phương pháp loại bỏ các chất khác khỏi beta-glucan trong khi beta-glucan vẫn luôn luôn ở trạng thái kết tủa rắn.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Để thu khoảng trên 1kg beta-glucan, lấy 5kg men bánh mì khô Saf-Viet®, trộn với 100kg [BMIM]Cl trong hệ thống thùng nấu có cánh khuấy và điều nhiệt làm bằng inox 3 lớp thể tích 500 lít. Vừa đun nóng khoảng 80°C vừa khuấy liên tục, sau khoảng 30 phút, men bánh mì tan hoàn toàn trong chất lỏng ion [BMIM]Cl.

Dùng đun nóng, thêm 200 lít nước vào dung dịch, tiếp tục khuấy trong 15 phút nữa, toàn bộ các chất khác beta-glucan trong men bánh mì đều tan trong dung dịch nước của [BMIM]Cl, riêng beta-glucan tách ra dưới dạng kết tủa bông xốp.

Gạn rửa kết tủa bằng nước, thu kết tủa bằng máy ly tâm liên tục hoặc máy lọc hút chân không thùng quay, sấy khô, thu được beta-glucan, dịch lọc được đem đi tái chế thu hồi [BMIM]Cl.

Beta-glucan thu được có độ tinh sạch trên 95%.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Men bánh mì là nguồn cung cấp beta-glucan hàm lượng rất lớn, đồng thời có thể nuôi cấy tăng sinh khối để thu được khối lượng nguyên liệu nhiều hơn. Việc sản xuất beta-glucan từ men bánh mì bằng quy trình đơn giản theo giải pháp hữu ích có khả năng triển khai thực tiễn dễ dàng để đưa sản phẩm ra thị trường.

Quy trình điều chế beta-glucan bằng cách hòa tan trực tiếp men bánh mì vào chất lỏng ion, không qua xử lý thu nhận màng tế bào, đồng thời, beta-glucan đã được hòa tan vào dung môi trước khi tách chiết ra ở dạng kết tủa nên có độ tinh sạch rất cao so với phương pháp loại bỏ các chất khác khỏi beta-glucan, trong khi beta-glucan vẫn luôn luôn ở trạng thái kết tủa rắn. Quy trình tách được 75% β -glucan trong men bánh mì. Beta-glucan được tạo ra có độ tinh sạch trên 95%.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình điều chế beta-glucan từ men bánh mì bằng chất lỏng ion gồm các bước :

(i) bước 1: hòa tan men bánh mì vào chất lỏng ion 1-butyl-3-methylimidazolium clorua ([BMIM]Cl, toàn bộ các chất có trong nấm men đều tách rời nhau, kể cả beta-glucan, nấm men tan hoàn toàn trong [BMIM]Cl thành dung dịch chiết trong suốt;

(ii) bước 2: pha loãng dung dịch chiết bằng nước, tiếp tục khuấy, protein, mannan, mannoprotein đều tan trong dung dịch chỉ có beta-glucan không tan được tách ra ở dạng kết tủa; và

(iii) bước 3: ly tâm bằng máy ly tâm liên tục hoặc lọc bằng hệ lọc hút chân không thùng quay để lấy beta-glucan, rửa bằng nước vài lần cho sạch [BMIM]Cl và các chất khác, sấy khô thu được beta-glucan có độ tinh sạch trên 95%, dịch lọc được đem tái chế để thu [BMIM]Cl sử dụng cho lần sau.

2. Quy trình điều chế beta-glucan từ men bánh mì theo điểm 1, trong đó ở bước 1 hòa tan trực tiếp men bánh mì vào chất lỏng ion mà không cần thực hiện việc xử lý tự phân hoặc xử lý hóa chất để tách lấy thành tế bào nấm men.