



(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)



2-0002693

(51)⁷ **C08B 37/00**

(13) **Y**

(21) 2-2018-00545

(22) 25/12/2018

(45) 25/09/2021 402

(43) 26/08/2019 377A

(73) Trung tâm Công Nghệ Thức ăn và Sau Thu hoạch Thủy sản (VN)
116 Nguyễn Đình Chiểu, phường Đa Kao, quận 1, thành phố Hồ Chí Minh

(72) Phạm Duy Hải (VN).

(54) **QUY TRÌNH THU NHẬN BETA-GLUCAN TỪ BÃ MEN BIA BẰNG CÔNG NGHỆ
ENZYM**

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình thu nhận beta-glucan từ bã men bia bằng công nghệ enzym. Quy trình này sử dụng ứng dụng enzym trong công đoạn loại bỏ protein và anpha-glucan trong hỗn hợp có chứa beta-glucan và lọc phân đoạn thu beta-glucan có trọng lượng phân tử lớn (1000-5000kDa). Công suất quy trình này là 100kg/mẻ. Quy trình này bao gồm các bước: phá vỡ vách tế bào, thủy phân protein, thủy phân alpha-glucan, loại bỏ chất béo, lọc phân loại, sấy và nghiền mịn.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến sản phẩm dùng để tăng cường khả năng miễn dịch tự nhiên cho động vật thủy sản– thuộc lĩnh vực hóa sinh học, cụ thể là sáng chế đề cập đến quy trình thu nhận beta-glucan từ bã men bia bằng công nghệ enzym.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Sử dụng kỹ thuật mới: ứng dụng enzym trong quy trình thu nhận beta-glucan từ bã men bia (*Saccharomyces cerevisiae*) của các nhà máy bia tại Việt Nam.

Các quy trình thu nhận beta-glucan đã biết:

- Phương pháp hóa học: sử dụng hóa chất có tác dụng trích ly, phân giải mạnh như axit, kiềm để tách chiết beta-glucan. Nhược điểm của phương pháp hóa học là gây ô nhiễm môi trường.

- Phương pháp vật lý: sử dụng sóng âm hay nghiền bi để phá vỡ vách tế bào nấm men, giải phóng beta-glucan trong vách tế bào nấm men. Nhược điểm của phương pháp này là hiệu quả trích ly rất thấp và vẫn đang trong giai đoạn thí nghiệm.

- Sử dụng bức xạ gamma: với mục đích phân cắt mạch beta-glucan theo các trọng lượng phân tử khác nhau, tác động lên cấu trúc polymer và làm giảm kích thước phân tử của polymer. Nhược điểm của phương pháp chiếu xạ là đòi hỏi phải có nguồn chiếu xạ, đầu tư lớn, điều kiện an toàn về phóng xạ trong quá trình vận hành. Bức xạ gamma phân huỷ mạch polysaccarit hoàn toàn ngẫu nhiên, tạo oligosaccarit phải sử dụng liều chiếu xạ rất cao gây biến màu sản phẩm và làm thay đổi ít nhiều về mặt cấu trúc của polysaccarit ban đầu.

- Phương pháp enzym: sử dụng enzym để thủy phân tinh sạch beta-glucan từ hỗn hợp các thành phần của nấm men. Ưu điểm của phương pháp này là enzym phân cắt có tính đặc hiệu, điều kiện phản ứng nhẹ nhàng, nhiệt độ thấp, không gây ô nhiễm môi trường. Điểm hạn chế duy nhất của phương pháp enzym là chi phí cho enzym khá cao.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là tạo ra sản phẩm beta-glucan từ nguyên liệu bã men bia, là phụ phẩm thu được từ nhà máy bia. Để đạt được mục đích đó, sáng chế đề xuất

quy trình thu nhận beta-glucan từ bã men bia bằng công nghệ enzym. Quy trình này sử dụng ứng dụng enzym trong công đoạn loại bỏ protein và anpha-glucan trong hỗn hợp có chứa beta-glucan và lọc phân đoạn thu beta-glucan có trọng lượng phân tử lớn (1000-5000kDa). Công suất quy trình này là 100kg/mẻ. Quy trình này bao gồm các bước: phá vỡ vách tế bào, thủy phân protein, thủy phân alpha-glucan, loại bỏ chất béo, lọc phân loại, sấy và nghiền mịn.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là sơ đồ thể hiện quy trình thu nhận beta-glucan từ bã men bia. Quy trình bắt đầu từ bã men bia được hòa tan trung dung dịch NaOH 4% thủy phân và ly tâm thu vách tế bào. Sau đó, vách tế bào trải qua các bước thủy phân khử protein, alpha-glucan, tách béo và lọc phân đoạn. Sản phẩm cuối cùng đem đi sấy và nghiền mịn cho ra sản phẩm beta-glucan dạng bột mịn.

Hình 2 là ảnh chụp bã men bia đã được sấy khô thu được từ các nhà máy bia. Với các thành phần trong bã men bia gồm: độ ẩm: 5,88%; beta-glucan: 10,4%; protein: 46,62 %; lipit: 0,54%; tro: 7,43%; xơ: 2,45%.

Hình 3 là ảnh chụp sản phẩm beta-glucan có dạng bột mịn màu nâu với các chỉ tiêu quan trọng sau: beta-glucan: >90%; khối lượng phân tử trung bình: 1000-5000 kDa; protein: 0,34%; độ ẩm: 6,74%.

Mô tả chi tiết sáng chế

Nguyên liệu: bã men từ nhà máy bia đã được sơ chế sẵn dưới dạng bột (gọi tắt là bột men bia) với độ ẩm nhỏ hơn 10%, khối lượng riêng khoảng 780kg/m³, β -glucan (>10%), protein (38-44%). Thành phần chỉ tiêu nguyên liệu bã men bia được đề cập trong bảng 1.

Bảng 1: Thành phần chỉ tiêu nguyên liệu bã men bia

Chỉ tiêu	Hàm lượng
Độ ẩm	5,88%

Beta-glucan	10,4 %
Protein	46,62 %
Lipit	0,54 %
Tro	7,43 %
Xơ	2,45 %

- Phá vỡ vách tế bào: Bột men bia được hòa trộn với dung dịch NaOH nồng độ 4% theo tỷ lệ bột men bia/dung dịch là 250g/lit. Hỗn hợp này được đem đun nóng và duy trì ở nhiệt độ 121°C (áp suất 1atm) trong thời gian 30 phút. Trong điều kiện môi trường kiềm với nhiệt độ và áp suất cao, quá trình tự phân xảy ra làm phá vỡ vách tế bào nấm men. Dung dịch sau quá trình phá vỡ vách tế bào được làm nguội xuống nhiệt độ 45 – 50°C rồi đưa qua máy ly tâm để loại bớt phần lỏng. Sản phẩm sau đó đem ly tâm thu lại phần lắng bao gồm có beta-glucan, alpha-glucan, protein và lipit.

- Thủy phân protein: Phần dịch đặc sau ly tâm được đem phối trộn với dung dịch chứa enzym proteaza (Alcalase - hãng Novozymes) được hòa tan trong đệm axetat độ pH=8,7 rồi được đưa vào thiết bị thủy phân nhằm loại bỏ protein có trong nguyên liệu với độ ẩm 90% và nồng độ enzym 0,15%. Quá trình thủy phân protein được tiến hành ở 40°C, độ pH = 8,7 trong thời gian 1,5 giờ. Hỗn hợp được khuấy trộn liên tục với tốc độ cánh khuấy khoảng 20 - 30 vòng/phút. Sau khi thủy phân proteaza, dung dịch cũng được đưa qua máy ly tâm với lưới vải để loại bớt phần lỏng. Phần lắng bao gồm beta-glucan, alpha-glucan và lipit.

- Thủy phân alpha-glucan: dung dịch đặc lại tiếp tục được thủy phân một lần nữa bằng amylaza bằng cách sử dụng enzym Licuamind (hãng Enmex, S.A. C.V -Mê-hi-cô) với nồng độ enzym 0,1%, độ ẩm của dung dịch thủy phân 80%. Quá trình thủy

phân này được tiến hành ở 37°C, độ pH = 5,4 trong thời gian 1,5 - 2 giờ. Sau đó dung dịch cho qua máy ly tâm để loại bỏ anpha-glucan hòa tan trong dung dịch thu được bã.

- Loại bỏ chất béo: công đoạn loại bỏ chất béo bằng phương pháp sử dụng cồn etanol để hòa tan chất béo có trong hỗn hợp. Công đoạn hòa tan chất béo được thực hiện trong thùng khuấy ở nhiệt độ thường. g.

- Lọc phân đoạn: dung dịch dưới dạng huyền phù sau đó được bơm qua máy lọc, với màng lọc PE có kích thước 0,5µm, thu được beta-glucan dưới dạng bột ẩm có kích thước phân tử trong khoảng 1000 – 5000kDa. Thành phần và hàm lượng của sản phẩm này được đề cập đến trong bảng 2.

- Sấy: phần bột ẩm beta-glucan từ máy lọc được chuyển tới máy sấy khô tới độ ẩm 8% để thu được sản phẩm beta-glucan dạng bột, tạo điều kiện thuận lợi cho đóng gói và bảo quản. Để đảm bảo chất lượng sản phẩm, nhiệt độ sấy được chọn là 70°C.

- Nghiền mịn: để đồng nhất sản phẩm về mặt kích cỡ và cảm quan, beta-glucan đã sấy khô cuối cùng được đưa qua nghiền và rây kiểm tra tránh vón cục trước khi bao gói.

Bảng 2: Thành phần và hàm lượng của sản phẩm beta-glucan phân tử lượng lớn 1000-5000kDa.

Chỉ tiêu	Hàm lượng
Beta-glucan	> 90%
Khối lượng phân tử trung bình	1000-5000kDa
Protein	0,34%

Lipit	0,04%
Tro	1,07%
Xơ	0,85%
Âm	6,74%

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Quy trình thu nhận 5,3kg beta-glucan từ bã men bia bằng công nghệ enzym

100kg nguyên liệu bã men bia sau quá trình phá vỡ vách tế bào thu được 35kg vách tế bào nấm men. Sau công đoạn thủy phân khử protein sẽ thu được 18,7kg. Sản phẩm tiếp tục thủy phân khử anpha-glucan, sau công đoạn trên, sản phẩm thu được khoảng 17,2kg. Tiếp theo là công đoạn loại bỏ chất béo, sản phẩm có khối lượng khoảng 17,1kg.

Công đoạn lọc phân đoạn để thu giữ beta-glucan có trọng lượng phân tử 1000-5000kDa thu được sản phẩm là 13,34kg (độ ẩm 63%). Sản phẩm được đem sấy và nghiền mịn sẽ cho ra sản phẩm khoảng 5,3kg (độ ẩm 6,74%). Sản phẩm có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng 1000-5000kDa. Độ tinh khiết > 90%.

Thông tin sản phẩm

Công dụng: beta-glucan giúp bảo vệ và tăng cường cho hệ thống miễn dịch bằng cách gắn vào các đại thực bào và các tế bào bạch cầu khác (tế bào trung tính và giết tự nhiên) và kích hoạt chúng. Các phân tử beta-glucan tương tác với thụ thể beta-glucan gắn kết protein (BGBP) và hình thành phức hợp BGBP-BG phản ứng với bề mặt tế bào hồng cầu và giải phóng các hạt hồng cầu dẫn đến kích hoạt enzyme proPO có tác dụng oxy hóa phenon thành o-phenon và cuối cùng là quinon, chất có khả năng diệt các mầm bệnh.

Liều dùng: phối trộn 1g trong 1kg thức ăn thủy sản.

Bảo quản: bao gói kín, để nơi khô ráo và thoáng mát, tránh hút ẩm.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Sáng chế tạo ra quy trình tận dụng phụ phẩm bã men bia làm nguồn nguyên liệu tách chiết thu nhận beta-glucan. Ngoài ra, công nghệ enzym trong quy trình sản xuất đặc trưng ở chỗ sử dụng công nghệ enzym giảm thiểu vấn đề ô nhiễm môi trường, có thể thực hiện ở quy mô công nghiệp, dễ thực hiện và sản phẩm tạo ra có độ an toàn cao ít có phụ phẩm không cần thiết.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình thu nhận beta-glucan từ bã men bia bằng công nghệ enzym, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

phá vỡ vách tế bào:

trộn bột men bia (bã men từ nhà máy bia đã được sơ chế sẵn dưới dạng bột) với dung dịch NaOH nồng độ 4% theo tỷ lệ bột men bia/dung dịch là 250g/lit, đun nóng hỗn hợp này và duy trì ở nhiệt độ 121°C (áp suất 1atm) trong thời gian 30 phút, làm nguội dung dịch xuống nhiệt độ 45 – 50°C rồi đưa qua máy ly tâm để loại bớt phần lỏng;

thủy phân protein:

phối trộn phần dịch đặc sau ly tâm với dung dịch chứa enzym proteaza và được hòa tan trong đệm axetat độ pH=8,7 rồi được đưa vào thiết bị thủy phân nhằm loại bỏ protein có trong nguyên liệu với độ ẩm 90% và nồng độ enzym 0,15%, trong đó quá trình thủy phân protein được tiến hành ở 40°C, độ pH = 8,7, trong thời gian 1,5 giờ, hỗn hợp được khuấy trộn liên tục với tốc độ cánh khuấy khoảng 20 - 30 vòng/phút; sau khi thủy phân proteaza, ly tâm dung dịch với lưới vải để loại bớt phần lỏng;

thủy phân alpha-glucan:

thủy phân dung dịch đặc lại bằng amylaza bằng cách sử dụng enzym Licuamind với nồng độ 0,1%, độ ẩm của dung dịch thủy phân 80%, trong đó quá trình thủy phân này được tiến hành ở 37°C, độ pH = 5,4 trong thời gian 1,5 - 2 giờ, ly tâm dung dịch để loại bỏ anpha-glucan hòa tan trong dung dịch thu được bã;

loại bỏ chất béo:

sử dụng cồn etanol để hòa tan chất béo có trong hỗn hợp được thực hiện trong thùng khuấy ở nhiệt độ thường;

lọc phân đoạn:

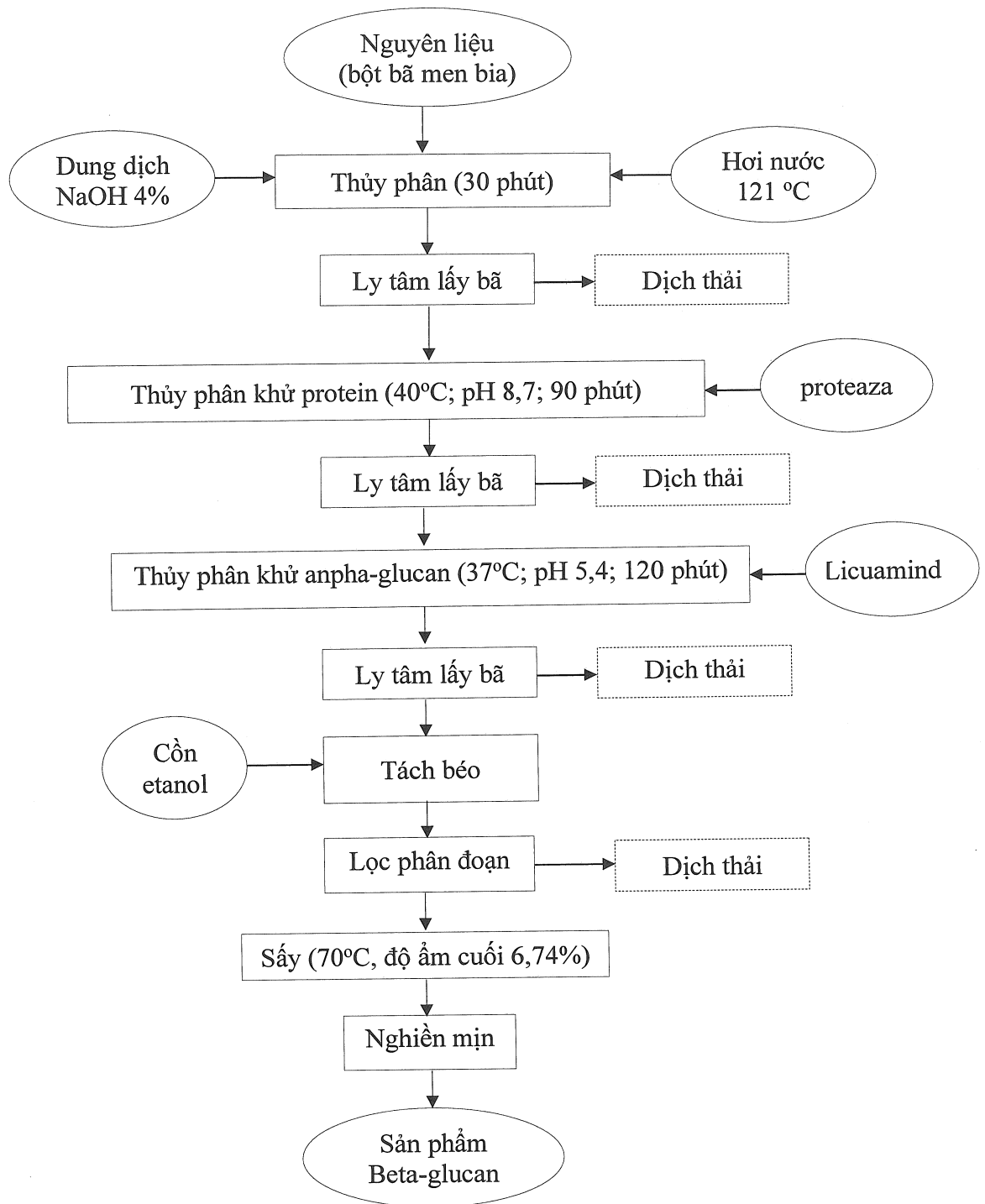
bơm dung dịch dưới dạng huyền phù qua máy lọc, với màng lọc PE có kích thước 0,5µm, thu được beta-glucan dưới dạng bột ẩm có kích thước phân tử trong khoảng 1000 – 5000kDa;

sấy:

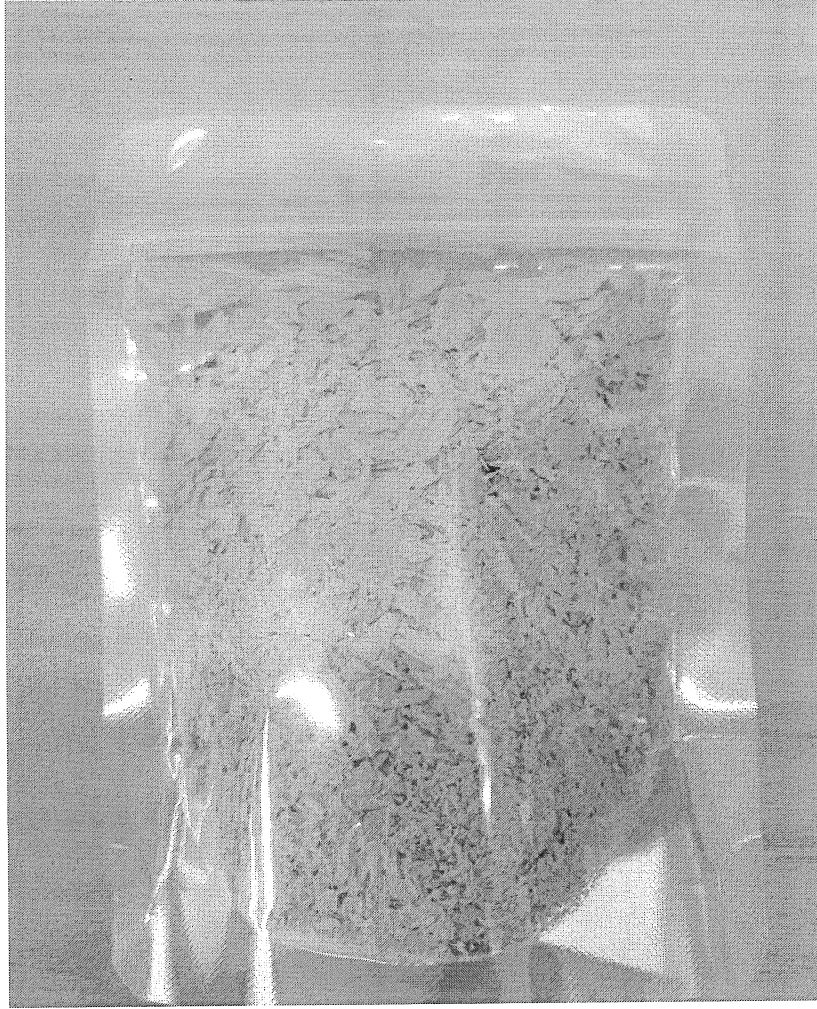
sấy khô phần bột ẩm beta-glucan từ máy lọc tới độ ẩm 8% ở nhiệt độ 70°C để thu được sản phẩm beta-glucan dạng bột; và

nghiền mịn:

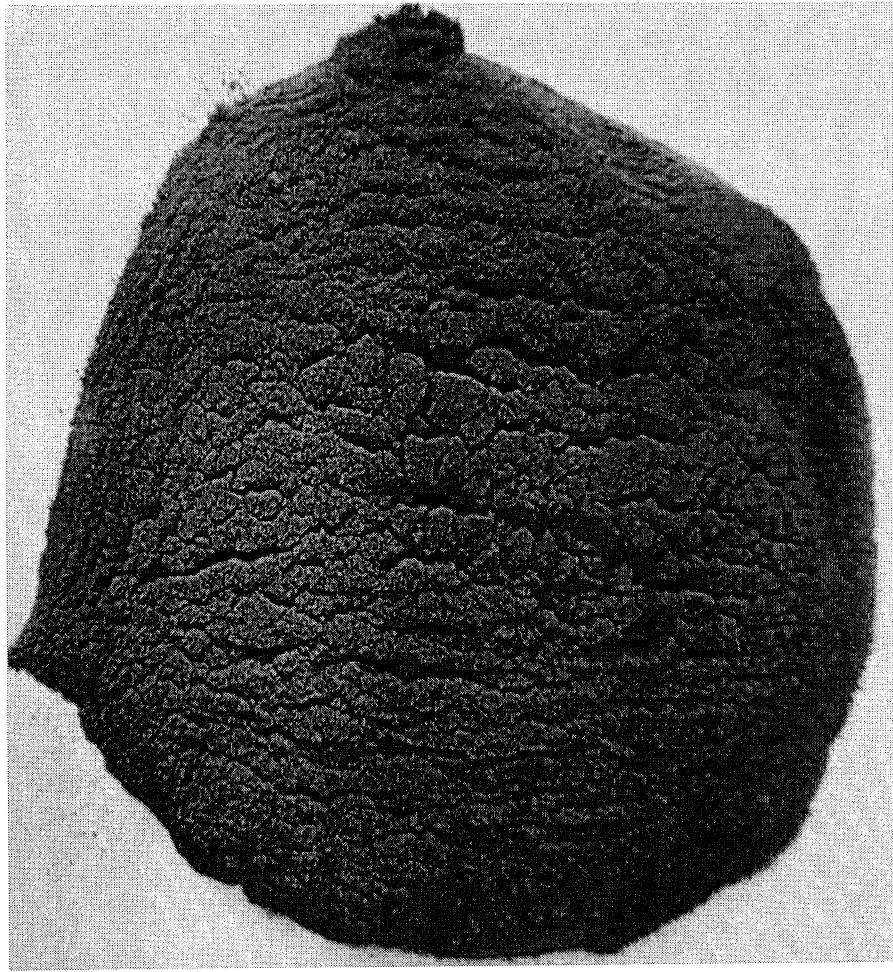
nghiền và rây beta-glucan đã sấy khô, kiểm tra tránh vón cục trước khi bao gói.



Hình 1



Hình 2



Hình 3