



(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) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**



2-0002506

(51)⁷ **A61K 36/74; C08B 37/00 (13) Y**

-
- (21) 2-2016-00121 (22) 14/04/2016
(45) 25/11/2020 392 (43) 25/10/2017 355A
(73) Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch (VN)
60 Trung Kính, Trung Hòa, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội
(72) Nguyễn Đức Tiến (VN); Nguyễn Thị Dung (VN); Nguyễn Thị Hương (VN).
-

(54) **QUY TRÌNH TRÍCH LY TRITERPENOID VÀ β -GLUCAN TỪ NẤM LINH CHI
(GANODERMA LUCIDIUM) BẰNG CÁCH SỬ DỤNG SÓNG SIÊU ÂM**

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình trích ly triterpenoid và β -glucan từ nấm linh chi (*Ganoderma lucidium*) sử dụng sóng siêu âm, bao gồm các bước: a) chuẩn bị nguyên liệu; b) xử lý nấm linh chi nguyên liệu bằng cách nghiền nhỏ đến kích thước $\leq 0,8\text{mm}$; c) trích ly nguyên liệu lần 1 để thu dịch trích ly chứa triterpenoid: bột nấm linh chi nguyên liệu được trích ly trên hệ thống trích ly bằng sóng siêu âm tần số siêu âm 20 kHz, trích ly bằng dung môi etanol 85%, nhiệt độ 55°C, siêu âm 5 phút, cường độ siêu âm 58w/cm²; d) lọc hỗn hợp thu được sau khi trích ly lần 1, phần bã sau trích ly lần 1 tiếp tục được rửa bằng dung môi etanol 85%, sau đó lọc để thu được dịch rửa; dịch trích ly lần 1 và dịch rửa được gom lại đem lọc qua màng lọc thu dịch trích ly chứa triterpenoid; e) trích ly lần 2 để thu dịch trích ly chứa (β -glucan: phần bã nấm linh chi thu được ở bước d) được tiến hành trích ly lần 2 bằng dung môi nước khử ion-NaOH 0,25%, nhiệt độ 65°C, tần số siêu âm 20 kHz, cường độ 58w/cm², thời gian 3 phút; f) lọc hỗn hợp thu được sau khi trích ly lần 2, thu được phần dịch trích ly và phần bã, bã trích ly được rửa tuần hoàn bằng nước khử ion, tỉ lệ nước khử ion/nguyên liệu là 1/1 (thể tích/khối lượng) sau đó lọc để thu dịch rửa; dịch trích ly và dịch rửa.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình trích ly thu hoạt chất sinh học từ nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) có hàm lượng hoạt chất triterpenoit và β -glucan cao ứng dụng cho chế biến thực phẩm chức năng, cụ thể là quy trình trích ly triterpenoit và β -glucan từ nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) bằng cách sử dụng sóng siêu âm.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Hiện nay có nhiều phương pháp trích ly thu nhận hoạt chất sinh học từ nấm linh chi, trong đó phương pháp trích ly truyền thống có bản chất là phương pháp cơ học phá vỡ vật lý, giải phóng các hoạt chất bên trong tế bào vào môi trường xung quanh. Các thiết bị bao gồm máy đồng nhất, máy nghiền và khuấy trộn, quá trình phá vỡ được thực hiện bằng hiệu ứng va chạm của tế bào dưới tác dụng của áp suất dẫn đến phá vỡ tế bào, giải phóng phân tử hoạt chất bên trong. Nhược điểm của phương pháp này là chi phí năng lượng cao, tốn nhiều thời gian và hàm lượng chất tan thu được hoạt chất trong dịch chiết cũng không cao.

Với phương pháp hóa học bằng cách thẩm thấu hóa màng ngăn bên ngoài tế bào, sử dụng dung môi hữu cơ: metanol, etanol, benzen... tác động để tạo thành kênh dẫn qua màng tế bào. Nhược điểm của phương pháp này là tốc độ chiết xuất chậm, giá thành cao và yêu cầu phải loại bỏ dung môi chiết tách từ sản phẩm cuối cùng.

Bằng độc quyền sáng chế Trung Quốc CN101530436 (B) đề cập đến quy trình tách chiết triterpenoit từ nấm linh chi bằng cách nghiền nguyên liệu thành dạng bột khô sau đó sử dụng sóng siêu âm ở tần số 15-100kHz, nhiệt độ 40-90°C bằng etanol nồng độ từ 50-100%, thời gian 10-90 phút, lọc để thu dịch chứa triterpenoit. Phần còn lại sau khi chiết thu triterpenoit được xử lý bằng dung dịch chứa hỗn hợp các enzym ở điều kiện pH 5-7, nhiệt độ 35-70°C, trong đó độ pH được điều chỉnh bằng cách sử dụng NaOH 1 mol.

Sau đó phần dịch được kết tủa lại bằng cồn để thu được dung dịch chứa polysacarit. Nhược điểm của quy trình này là sử dụng thêm enzym để trích ly, do vậy giá thành của sản phẩm thu được sau quá trình trích ly sẽ cao, đặc biệt tốn nhiều thời gian trích ly.

Khóa luận tốt nghiệp đại học “Nghiên cứu quy trình sản xuất viên nang thực phẩm chức năng từ nấm linh chi ứng dụng sóng siêu âm” (Nguyễn Văn Dũng, 29/05/2015) đề cập đến phương pháp trích ly triterpenoit và β -glucan từ nấm linh chi để làm viên nang thực phẩm bằng cách nghiền nhỏ nguyên liệu về kích thước nhỏ hơn hoặc bằng 0,8mm sau đó trích ly bằng dung dịch cồn (EtOH) nồng độ 85%, tỉ lệ dung môi: nguyên liệu là 5:1, sử dụng sóng siêu âm tần số 20kHz, cường độ 8W/cm², nhiệt độ 70°C, thời gian 6 phút sau đó lọc thu dịch trích ly chứa triterpenoit, bã sau khi trích ly thu triterpenoit được trích ly để thu β -glucan bằng nước cất, tỉ lệ nguyên liệu: dung môi là 1:5, sử dụng sóng siêu âm tần số 20kHz, cường độ 8W/cm², nhiệt độ khảo sát từ 30-60°C, thời gian 6 phút, sau đó lọc để thu dịch trích ly chứa β -glucan. Nhược điểm của quy trình này là nhiệt độ dùng trích ly thu triterpenoit cao, sẽ làm biến tính một số hoạt chất có lợi trong dịch chiết, tổng thời gian cho cả quá trình trích ly thu triterpenoit và β -glucan dài hơn và hàm lượng hoạt chất thu được thấp hơn.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Do đó, mục đích của giải pháp hữu ích là sử dụng sóng siêu âm có cường độ 58w/cm² với tần số 20 kHz cho quá trình tách chiết hoạt chất sinh học từ nấm linh chi bằng cách phá vỡ thành tế bào cho hoạt chất được tách ra dễ dàng và thu được hàm lượng cao.

Để đạt được mục đích trên, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình trích ly β -glucan và triterpenoit từ nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) sử dụng sóng siêu âm, bao gồm các bước:

a) Chuẩn bị nguyên liệu: nấm linh chi nguyên liệu sạch, không bị mốc, đạt chỉ tiêu an toàn thực phẩm về vi sinh vật, kim loại nặng và aflatoxin;

b) Xử lý nấm linh chi nguyên liệu: nấm linh chi được nghiền nhỏ về kích thước $\leq 0,8\text{mm}$;

c) Trích ly nguyên liệu lần 1 để thu dịch trích ly chứa triterpenoit: bột nấm linh chi nguyên liệu kích thước $\leq 0,8\text{ mm}$ được trích ly trên hệ thống trích ly bằng sóng siêu âm (tần số siêu âm 20 kHz, bể siêu âm 20 lít), trích ly bằng dung môi etanol 85%, tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là 5/1 (thể tích/khối lượng), nhiệt độ 55°C, siêu âm 5 phút, cường độ siêu âm 58w/cm²;

d) Lọc hỗn hợp thu được sau khi trích ly lần 1, thu được phần dịch trích ly lần 1 và phần bã, phần bã sau trích ly lần 1 tiếp tục được rửa bằng dung môi etanol 85%, trong đó tỉ lệ dung môi/bã nguyên liệu là 1/1 (thể tích/khối lượng) sau đó lọc để thu được dịch rửa; dịch trích ly lần 1 và dịch rửa được gom lại đem lọc qua màng lọc 0,1 micron (μm) thu dịch trích ly chứa triterpenoit;

e) Trích ly lần 2 để thu dịch trích ly chứa β -glucan: phần bã nấm linh chi thu được ở bước d) được tiến hành trích ly lần 2 bằng dung môi nước khử ion-NaOH 0,25%, trong đó tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là 5/1 (thể tích/khối lượng), nhiệt độ 65°C, tần số siêu âm 20 kHz, cường độ 58w/cm², thời gian 3 phút;

f) Lọc hỗn hợp thu được sau khi trích ly lần 2, thu được phần dịch trích ly và phần bã, bã trích ly được rửa tuần hoàn bằng nước khử ion, tỉ lệ nước khử ion/nguyên liệu là 1/1 (thể tích/khối lượng) sau đó lọc để thu dịch rửa; dịch trích ly và dịch rửa tuần hoàn được gom lại đem lọc qua màng lọc 0,1 micron (μm), thu dịch trích ly chứa β -glucan.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là hình vẽ dạng sơ đồ trích ly hoạt chất sinh học triterpenoit và β -glucan từ nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) theo giải pháp hữu ích.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Nấm linh chi có tên khoa học là *Ganoderma lucidum*. Nấm linh chi là một dược liệu dùng làm thuốc, có tác dụng bảo can (bảo vệ gan), giải độc, cường tâm, kiện não (bổ

óc), tiêu đờm, lợi niệu, ích vị bổ dạ dày, phòng và chống ung thư, chống lão hóa làm tăng tuổi thọ.

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình trích ly triterpenoit và β -glucan từ nấm linh chi (*Ganoderma lucidium*) sử dụng sóng siêu âm, bao gồm các bước:

a) Chuẩn bị nguyên liệu: nấm linh chi nguyên liệu sạch, không bị mốc, đạt chỉ tiêu an toàn thực phẩm về vi sinh vật, kim loại nặng và aflatoxin;

b) Xử lý nấm linh chi nguyên liệu: nấm linh chi được nghiền nhỏ về kích thước $\leq 0,8\text{mm}$;

c) Trích ly nguyên liệu lần 1 để thu dịch trích ly chứa triterpenoit: bột nấm linh chi nguyên liệu kích thước $\leq 0,8\text{ mm}$ được trích ly trên hệ thống trích ly bằng sóng siêu âm (tần số siêu âm 20 KHZ, bể siêu âm 20 lít), trích ly bằng dung môi etanol 85%, tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là 5/1 (thể tích/khối lượng), nhiệt độ 55°C, siêu âm 5 phút, cường độ siêu âm 58w/cm²;

d) Lọc hỗn hợp thu được sau khi trích ly lần 1, thu được phần dịch trích ly lần 1 và phần bã, phần bã sau trích ly lần 1 tiếp tục được rửa bằng dung môi etanol 85%, trong đó tỉ lệ dung môi/bã nguyên liệu là 1/1 (thể tích/khối lượng) sau đó lọc để thu được dịch rửa; dịch trích ly lần 1 và dịch rửa được gom lại đem lọc qua màng lọc 0,1 micron (μm) thu dịch trích ly chứa triterpenoit;

e) Trích ly lần 2 để thu dịch trích ly chứa β -glucan: phần bã nấm linh chi thu được ở bước d) được tiến hành trích ly lần 2 bằng dung môi nước khử ion-NaOH 0,25%, trong đó tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là 5/1 (thể tích/khối lượng), nhiệt độ 65°C, tần số siêu âm 20 KHZ, cường độ 58w/cm², thời gian 3 phút;

f) Lọc hỗn hợp thu được sau khi trích ly lần 2, thu được phần dịch trích ly và phần bã, bã trích ly được rửa tuần hoàn bằng nước khử ion, tỉ lệ nước khử ion/nguyên liệu là 1/1 (thể tích/khối lượng) sau đó lọc để thu dịch rửa; dịch trích ly và dịch rửa tuần hoàn được gom lại đem lọc qua màng lọc 0,1 micron (μm), thu dịch trích ly chứa β -glucan.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích sẽ được mô tả một cách chi tiết hơn thông qua các ví dụ. Tuy nhiên, cần phải hiểu rằng ví dụ này chỉ với mục đích minh họa cụ thể hơn cho giải pháp hữu ích và không làm giới hạn giải pháp hữu ích theo bất kỳ cách nào.

Ví dụ 1: Đánh giá các chỉ tiêu chất lượng, chỉ tiêu an toàn vệ sinh thực phẩm của nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) nguyên liệu

Từ kết quả xác định độ ẩm, thành phần dinh dưỡng, hoạt chất sinh học, chỉ tiêu an toàn thực phẩm của các mẫu nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) nguyên liệu ở một số cơ sở sản xuất trong nước và lựa chọn nguyên liệu cho trích ly có hàm lượng triterpenoit đạt $2,25 \pm 1,14$ %, β -glucan đạt $5,38 \pm 0,58$ %, độ ẩm $< 16,5$ %, đảm bảo các chỉ tiêu an toàn thực phẩm về vi sinh vật và kim loại nặng.

Bảng 1: Kết quả xác định chỉ tiêu chất lượng của nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) nguyên liệu:

TT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Kết quả
1	Triterpenoit	%	$2,25 \pm 1,14$
2	β -glucan	%	$5,38 \pm 0,58$
3	Độ ẩm	%	$14,5 \pm 1,6$
4	Cảm quan	Màu sắc	Sáng màu, không mốc

Chỉ tiêu an toàn vệ sinh thực phẩm của nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) nguyên liệu được thể hiện trong bảng dưới đây.

Bảng 2: Kết quả các chỉ tiêu vi sinh vật trong nấm linh chi (*Ganoderma lucidium*) nguyên liệu

Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức tối đa
Tổng số vi khuẩn hiếu khí	CFU/g	10 ⁴
<i>Escherichia coli</i>	CFU/g	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	CFU/g	0
<i>Clostridium perfringens</i>	CFU/g	10
Salmonella	CFU/25g	0
<i>Bacillus cereus</i>	CFU/g	10 ¹
Tổng số bào tử nấm men-mốc	CFU/g	10 ²

Hàm lượng kim loại nặng của nấm linh chi (*Ganoderma lucidium*) nguyên liệu được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3: Kết quả phân tích hàm lượng kim loại nặng của nấm linh chi (*Ganoderma lucidium*) nguyên liệu

TT	Chỉ tiêu	Đơn vị tính	Kết quả	Giới hạn cho phép*	Phương pháp thiết bị
1	Hàm lượng chì (Pb)	mg/kg	KPH	≤ 10,0	AOAC 994,02; hoặc ISO 12193:2004
2	Hàm lượng Asen (As)	mg/kg	KPH	≤ 5,0	AOAC 952,13 hoặc AOAC 986,15
3	Hàm lượng Cadimi (Cd)	(mg/kg)	KPH	≤ 0,3	AOAC 2000(F-AA)
4	Hàm lượng thủy ngân (Hg)	(mg/kg)	KPH	≤ 0,5	AOAC -1997
5	Hàm lượng đồng (Cu)	(mg/kg)	0,012	≤ 5,0	ISO 8.294:1994

Hàm lượng các chất không mong muốn của nấm linh chi (*Ganoderma lucidium*) nguyên liệu được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4: Hàm lượng các chất không mong muốn của nấm linh chi (*Ganoderma lucidium*) nguyên liệu

TT	Chỉ tiêu	Đơn vị tính	Kết quả	Giới hạn tối đa	Phương pháp thiết bị
1	Aflatoxin	µg/kg	KPH	≤ 5,0	HPLC

Ghi chú: KPH: Không phát hiện (nghĩa là dưới ngưỡng phát hiện của phương pháp (0,002 mg/kg).

*Quy định giới hạn tối đa nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm, mục Quy định giới hạn cho phép vi sinh vật trong thức ăn đặc biệt (dùng trực tiếp, không qua xử lý nhiệt trước khi sử dụng) (Ban hành kèm theo Quyết định số 46/2007/QĐ-BYT ngày 19 tháng 12 năm 2007 của Bộ trưởng Bộ Y Tế).

Kết quả xác định các chỉ tiêu về an toàn vệ sinh thực phẩm của nấm linh chi (*Ganoderma lucidium*) nguyên liệu cho thấy sản phẩm đạt các chỉ tiêu về an toàn vệ sinh thực phẩm về các chỉ tiêu vi sinh vật, hàm lượng kim loại nặng và độc tố, phù hợp với tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm đã ban hành.

Do vậy, kết luận là nguyên liệu nấm linh chi (*Ganoderma lucidium*) đủ các điều kiện để thực hiện quy trình trích ly triterpenoit và β-glucan.

Ví dụ 2: So sánh phương pháp trích ly triterpenoit và β -glucan từ nấm linh chi (*Ganoderma lucidium*) bằng sử dụng sóng siêu âm và không sử dụng sóng siêu âm.

Chỉ tiêu	Đơn vị	Trích ly sử dụng sóng siêu âm cường độ 58w/cm ² với tần số 20 kHz		Trích ly không sử dụng sóng siêu âm	
		Bơm dịch tuần hoàn	Trích ly bơm dịch tuần hoàn	Phương pháp trích ly truyền thống (ngâm đun sôi)	
Kích thước nguyên liệu	mm	0,8	0,8	30	
Tỷ lệ dung môi etanol 85%/nấm linh chi nguyên liệu (trích ly lần 1)	lít/kg	5	5	-	
Tỷ lệ dung môi nước khử ion-NaOH 0,25%/bã nấm linh chi sau trích ly lần 1 (trích ly lần 2)	lít/kg	5	5	-	
Tỷ lệ dung môi nước/nấm linh chi nguyên liệu	lít/kg	-	-	5 x 2 = 10	
Nhiệt độ trích ly lần 1	°C	55 ± 2	55 ± 2	98 ± 2	
Nhiệt độ trích ly lần 2	°C	65 ± 2	65 ± 2	-	
Thời gian trích ly lần 1	phút	5	5	120	
Thời gian trích ly lần 2	phút	3	3	60	
Triterpenoit	%	2,368 ± 0,037	2,368 ± 0,037	0,306 ± 0,011	
β -glucan	%	5,291 ± 0,012	0,612 ± 0,011	3,708 ± 0,014	
Chất khô hòa tan thu được so với nguyên liệu	%	16,301 ± 0,038	2,116 ± 0,045	16,917 ± 0,042	

Kết quả trên cho thấy trích ly bằng sóng siêu âm cường độ 58w/cm² với tần số 20 kHz, thu được hàm lượng triterpenoit đạt 2,368 ± 0,037 %, β -glucan đạt 5,291 ± 0,012% và lượng chất khô 16,301 ± 0,038 %. Phương pháp trích ly không sử dụng sóng siêu âm, triterpenoit chỉ đạt 0,381 ± 0,009 %, β -glucan đạt 0,612 ± 0,011% và lượng chất khô 2,116 ± 0,045%. Bên cạnh đó, quá trình trích ly không sử dụng sóng siêu âm, dung môi là nước, ở nhiệt độ 98 ± 2,0°C theo phương pháp truyền thống trong 180 phút (3 giờ) cho dịch trích ly thu được hàm lượng triterpenoit đạt 0,306 ± 0,011%, β -glucan đạt 3,708 ± 0,014% và lượng chất khô thu được 16,917 ± 0,042%.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình trích ly triterpenoit và β -glucan từ nấm linh chi theo giải pháp hữu ích cho thấy trích ly bằng sóng siêu âm cường độ $58\text{w}/\text{cm}^2$ với tần số 20 kHz, thu được dịch trích ly có hàm lượng triterpenoit đạt $2,368 \pm 0,037 \%$, β -glucan đạt $5,291 \pm 0,012\%$ và lượng chất khô $16,301 \pm 0,038 \%$ so với nguyên liệu. Hàm lượng triterpenoit này cao hơn 7,74 lần so với phương pháp trích ly truyền thống không sử dụng sóng siêu âm và chỉ dùng dung môi là nước. Hàm lượng β -glucan trong dịch trích ly thu được theo quy trình của giải pháp hữu ích cũng cao 1,43 lần so với dịch trích ly thu được bằng phương pháp không sử dụng siêu âm thông thường. Dễ dàng so sánh và thấy rằng năng lượng sóng siêu âm đem lại hiệu quả trích ly triterpenoit và β -glucan từ nấm linh chi.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình trích ly triterpenoit và β -glucan từ nấm linh chi (*Ganoderma lucidium*) sử dụng sóng siêu âm, bao gồm các bước:

a) Chuẩn bị nguyên liệu: nấm linh chi nguyên liệu sạch, không bị mốc, đạt chỉ tiêu an toàn thực phẩm về vi sinh vật, kim loại nặng và aflatoxin;

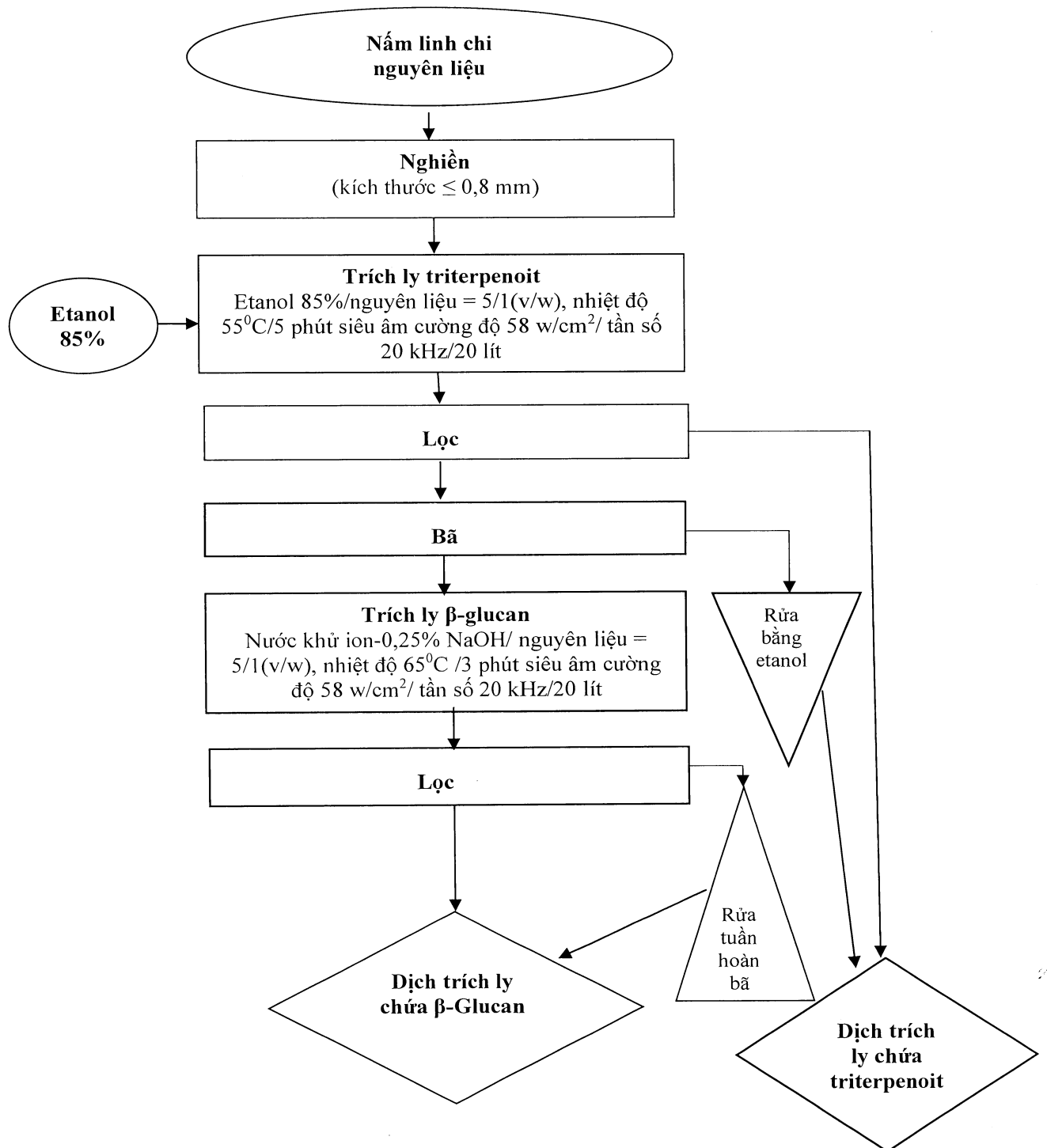
b) Xử lý nấm linh chi nguyên liệu: nấm linh chi được nghiền nhỏ về kích thước $\leq 0,8\text{mm}$;

c) Trích ly nguyên liệu lần 1 để thu dịch trích ly chứa triterpenoit: bột nấm linh chi nguyên liệu kích thước $\leq 0,8\text{ mm}$ được trích ly trên hệ thống trích ly bằng sóng siêu âm (tần số siêu âm 20 kHz, bể siêu âm 20 lít), trích ly bằng dung môi etanol 85%, tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là 5/1 (thể tích/khối lượng), nhiệt độ 55°C , siêu âm 5 phút, cường độ siêu âm $58\text{w}/\text{cm}^2$;

d) Lọc hỗn hợp thu được sau khi trích ly lần 1, thu được phần dịch trích ly lần 1 và phần bã, phần bã sau trích ly lần 1 tiếp tục được rửa bằng dung môi etanol 85%, trong đó tỉ lệ dung môi/bã nguyên liệu là 1/1 (thể tích/khối lượng) sau đó lọc để thu được dịch rửa; dịch trích ly lần 1 và dịch rửa được gom lại đem lọc qua màng lọc 0,1 micron (μm) thu dịch trích ly chứa triterpenoit;

e) Trích ly lần 2 để thu dịch trích ly chứa β -glucan: phần bã nấm linh chi thu được ở bước d) được tiến hành trích ly lần 2 bằng dung môi nước khử ion-NaOH 0,25%, trong đó tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là 5/1 (thể tích/khối lượng), nhiệt độ 65°C , tần số siêu âm 20 kHz, cường độ $58\text{w}/\text{cm}^2$, thời gian 3 phút;

f) Lọc hỗn hợp thu được sau khi trích ly lần 2, thu được phần dịch trích ly và phần bã, bã trích ly được rửa tuần hoàn bằng nước khử ion, tỉ lệ nước khử ion/nguyên liệu là 1/1 (thể tích/khối lượng) sau đó lọc để thu dịch rửa; dịch trích ly và dịch rửa tuần hoàn được gom lại đem lọc qua màng lọc 0,1 micron (μm), thu dịch trích ly chứa β -glucan.



Hình 1