



DOI:10.22144/ctu.jsi.2019.068

## NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH THU NHẬN VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA XYLOOLIGOSACCHARIDE (XOS) TỪ BÃ MÍA

Nguyễn Thị Quỳnh Mai<sup>1\*</sup>, Võ Thị Kim Viên<sup>2</sup>, Lê Thị Khánh Hồng<sup>2</sup>, Huỳnh Thị Quế Anh<sup>2</sup>, Nguyễn Hồng Đào<sup>2</sup> và Đào Thị Mỹ Linh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Sinh viên Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Thị Quỳnh Mai (email: maintq@cntp.edu.vn)

### ABSTRACT

This study is aimed to investigate the hydrolysis of xylooligosaccharide from sugar cane bagasse using endo-1,4- $\beta$ -xylanase enzyme. Sugarcane bagasse was pre-treated to remove lignin, then investigated to receive xylan. The hydrolysis of xylan was carried out with 2 investigated factors: enzyme concentration and hydrolysis time. XOS solution was then concentrated at 65°C and freeze-dried under condition: frozen temperature of -80°C, vacuum pressure of 3.5 Pa, drying time of 14 h. XOS powder was used to evaluate radical scavenging activities by 2, 2, diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay and the effect on the growth of *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*). Results showed that, sugarcane bagasse, pretreated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6%, KOH 15%, was suitable for the collecting of xylan with the recovery yield of 36.73%. The highest XOS concentration of 1148.92 mg/L was obtained under favorable conditions (enzyme dose 75 U/g, reaction time of 8 h). After evaporation, the XOS content in the fluid increased to 13.6 times. At XOS concentration of 4 mg/mL, DPPH radical scavenging activity reached 50%. In additions, other experiments proved that, *L. plantarum* used XOS as a source of carbon for growth.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm mục đích khảo sát quy trình thu nhận XOS từ bã mía bằng enzyme endo-1,4- $\beta$ -xylanase. Bã mía được tiền xử lý nhằm loại bỏ lignin và thu nhận hemicellulose giàu xylan. Quá trình thủy phân xylan được thực hiện với 2 yếu tố khảo sát là nồng độ enzyme và thời gian. Dịch XOS sau đó được cô đặc ở nhiệt độ 65°C và sấy thăng hoa ở nhiệt độ -80°C, áp suất 3,5 Pa, thời gian sấy 14 giờ. Bột XOS được đánh giá khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH và đánh giá tác động đối với sự tăng trưởng của *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*). Kết quả nghiên cứu cho thấy, bã mía được tiền xử lý bằng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6%, KOH 15% thích hợp để thu hemicellulose giàu xylan với hiệu suất thu hồi là 36,73%. Hàm lượng XOS cao nhất đạt 1148,92 mg/L ở điều kiện thủy phân tương ứng với tỉ lệ enzyme bổ sung 6% (v/v) (ứng với lượng enzyme 75 U/g) trong thời gian thủy phân 8 giờ. Sau khi cô đặc, hàm lượng XOS trong dịch tăng lên 13,6 lần. Bột XOS thể hiện khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH đạt 50% tại nồng độ XOS 4 mg/mL và được lợi khuẩn *L. plantarum* sử dụng như nguồn carbon để tăng trưởng.

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 13/11/2018

Ngày nhận bài sửa: 23/02/2019

Ngày duyệt đăng: 12/04/2019

### Title:

Research on the process of producing xylooligosaccharides (XOS) and evaluation of bioactivity of XOS from sugarcane bagasse

### Từ khóa:

Bã mía, DPPH, enzyme endo-1,4- $\beta$ -xylanase, *Lactobacillus plantarum*, xylooligosaccharide (XOS)

### Keywords:

DPPH, enzyme endo-1,4- $\beta$ -xylanase, *Lactobacillus plantarum*, sugarcane bagasse, xylooligosaccharide (XOS)

Trích dẫn: Nguyễn Thị Quỳnh Mai, Võ Thị Kim Viên, Lê Thị Khánh Hồng, Huỳnh Thị Quế Anh, Nguyễn Hồng Đào và Đào Thị Mỹ Linh, 2019. Nghiên cứu quá trình thu nhận và đánh giá hoạt tính sinh học của xylooligosaccharide (XOS) từ bã mía. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học)(2): 250-257.

## 1 GIỚI THIỆU

Ở Việt Nam, ngành công nghiệp mía đường đang phát triển mạnh. Theo Cục chế biến và Phát triển thị trường nông sản, trong năm 2016-2017, các nhà máy đã ép hơn 13 triệu tấn mía để sản xuất ra hơn 1,2 triệu tấn đường. Việc chế biến này làm phát sinh một lượng lớn phụ phế phẩm bã mía. Theo nhiều nghiên cứu trên thế giới, bã mía là một trong những nguồn phụ phế phẩm nông nghiệp chứa nhiều hemicellulose giàu xylan, là nguồn sản xuất xylooligosaccharide (XOS). XOS là các oligomer có cấu trúc phân tử chứa 2 - 7 gốc đường xylose được liên kết bởi liên kết  $\beta$ -(1,4), là nguồn prebiotic giúp các vi khuẩn có lợi trong đường ruột phát triển mạnh mẽ, kích thích tăng trưởng chọn lọc hệ vi sinh đường ruột, giảm lượng đường trong máu, cholesterol... XOS có vị ngọt được bổ sung vào thực phẩm như vị ngọt nhân tạo (Samanta *et al.*, 2015). Ngoài ra, XOS có nhiều tiềm năng hơn các oligosaccharide khác về một số hoạt tính sinh học (Aachary *et al.*, 2011).

Trên thế giới, việc thu nhận XOS từ các nguồn nguyên liệu giàu xylan (cám gạo, lõi ngô, vỏ trấu, bã mía...) đặc biệt là bã mía được tập trung nghiên cứu. Tuy nhiên, việc nghiên cứu quy trình thu nhận XOS từ bã mía ở Việt Nam hầu như chưa được đề cập đến. Việc tạo ra sản phẩm có giá trị được phẩm từ nguồn phế phẩm nông nghiệp sẽ góp phần nâng cao giá trị sử dụng của nguyên liệu rẻ tiền này cũng như giảm phát thải đến môi trường. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định một số điều kiện ảnh hưởng đến quy trình thu nhận XOS từ bã mía bằng phương pháp enzyme.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Vật liệu và đối tượng nghiên cứu

Bã mía được thu gom trên địa bàn phường Tây Thạnh, quận Tân Phú, Thành phố Hồ Chí Minh.

Enzyme endo-1,4- $\beta$ -xylanase hoặc enzyme endoxylanase thu từ *Aspergillus oryzae* (Sigma, Singapore) có hoạt tính 2500 UI/g.

XOS thương mại (Allergy Research Group, Mỹ), Xylan chuẩn (Trung Quốc).

*Lactobacillus plantarum* được cung cấp từ bộ sưu tập giống vi sinh vật bộ môn Công nghệ Sinh học trường Đại học Bách khoa Thành phố Hồ Chí Minh.

Môi trường sử dụng gồm:

Môi trường cơ bản (MT1) gồm: peptone (10 g/L), MnSO<sub>4</sub> (100 mg/L), MgSO<sub>4</sub> (50 mg/L), NH<sub>4</sub>Cl (2 g/L), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2 g/L), tween80 (1 mL/L). Môi

trường MT1 được bổ sung các loại carbon khác nhau để tạo các môi trường thí nghiệm bao gồm: MT2 (bổ sung glucose), MT3 (bổ sung xylose), MT4 (bổ sung XOS thu từ bã mía, được lọc qua màng kháng khuẩn và bổ sung vào MT1 sau hấp) (Jagtap *et al.*, 2017).

MT5 có thành phần NaCl (8 g/L); KCl (0,2 g/L); Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O (8,25 g/L); NaHPO<sub>4</sub> (14,35 g/L); CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, (0,1 g/L); MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O (0,18 g/L) (Azmi *et al.*, 2012). Các thành phần pha môi trường có xuất xứ Trung Quốc.

### 2.2 Phương pháp thí nghiệm

#### 2.2.1 Xử lý sơ bộ bã mía

Bã mía rửa sạch với nước để loại bỏ đường, tạp chất. Sau đó phơi khô và cắt thành các đoạn nhỏ khoảng 0,5 cm, sấy ở 60 °C đến khối lượng không đổi, nghiền nhỏ và lọc qua rây 25 mesh để đồng nhất kích thước. Bột bã mía được xác định có 40,6% cellulose; 22,4% hemicellulose; 18,3% lignin.

Bột bã mía được rửa bằng EDTA 0,2% (w/v) trong 1 giờ ở 90 °C. Cân 10 g bột bã mía (độ ẩm 14,28%) cho vào cốc có sẵn 200 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6%, pH 11,6. Ủ lắc ổn nhiệt 100 rpm trong 4 giờ. Sau đó, lấy cốc ra khỏi bể ủ và lọc dung dịch, phần bã được rửa với nước cất cho đến khi pH đạt trung hòa, bã sau khi rửa được sấy khô ở 45 °C (Brienzo *et al.*, 2009).

#### 2.2.2 Khảo sát quá trình tiền xử lý bã mía

Thực hiện theo Bian *et al.* (2012) với một số thay đổi thể hiện như sau: phần bã sau khi loại lignin được xử lý với KOH ở ba nồng độ 10%; 15% và 20% với tỷ lệ rắn: lỏng là 1:20 (w/v), ủ lắc 100 rpm qua đêm ở 35 °C. Hỗn hợp được lọc để thu dịch, điều chỉnh dịch lọc đến pH 5,6 bằng acid acetic, sau đó kết tủa hemicellulose trong dịch lọc bằng hai lần thể tích ethanol 95% và thu kết tủa. Kết tủa được sấy khô, cân khối lượng, xác định hiệu suất thu hồi hemicellulose, định tính thành phần xylan bằng phương pháp FTIR (Fourier transform infrared of samples).

Hiệu suất thu hồi hemicellulose được tính theo công thức:

$$H (\%) = \frac{\text{Khối lượng kết tủa hemicellulose}}{\text{Khối lượng khô mía đã loại lignin}} \times 100$$

#### 2.2.3 Khảo sát quá trình thủy phân hemicellulose thu XOS

Enzyme endo-1,4- $\beta$ -xylanase được pha sử dụng ở hoạt tính 25 UI/mL (Bian *et al.*, 2013)

Cơ chất (hemicellulose thu từ bã mía) được hòa tan trong dung dịch đệm natri acetate 50 mM (pH 5,4) với nồng độ 2% (w/v).

Khảo sát nồng độ enzyme theo ba nghiệm thức 2%; 4%; 6% (v/v), thực hiện thủy phân trong điều

kiện lắc 150 rpm ở 50 °C trong 16 giờ. Sau đó bất hoạt enzyme, ly tâm thu dịch nổi.

Khảo sát thời gian thủy phân ở nồng độ enzyme phù hợp theo thí nghiệm đã khảo sát trước đó, theo dõi quá trình thủy phân ở các mốc thời gian 8 giờ; 12 giờ; 16 giờ.

Đánh giá các nghiệm thức qua hàm lượng XOS tổng (mg/mL).

#### 2.2.4 Cô đặc và sấy thăng hoa dịch XOS

Dịch XOS được cô đặc bằng phương pháp cô quay ở 65 °C. Sau đó, sấy thăng hoa ở nhiệt độ băng lạnh -80°C, áp suất chân không 3,5 Pa, thời gian sấy 14 giờ.

#### 2.2.5 Đánh giá khả năng bắt gốc tự do DPPH của XOS thu từ bã mía

XOS thu được pha loãng bằng nước cất theo dãy nồng độ 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 2; 3; 4; 5; 6 và 7 (mg/mL). Thêm 1 mL DPPH 0,1 mM trong ethanol vào 1 mL dịch XOS ở các nồng độ. Lắc đều và ủ trong tối 120 phút. Mẫu blank là ethanol. Tiến hành đo quang phổ ở bước sóng 517 nm (Bian *et al.*, 2013).

Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định như sau:

$$\text{DPPH (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Độ hấp thụ của mẫu thí nghiệm}}{\text{Độ hấp thụ của mẫu đối chứng}}\right) \times 100$$

#### 2.2.6 Đánh giá khả năng kháng thủy phân của XOS trong môi trường pH thấp

Chuẩn bị môi trường MT5 và điều chỉnh pH từ 1 đến 5 bằng dung dịch HCl 5M. Sau đó, thêm dung dịch XOS lần lượt vào các môi trường MT5 với tỷ lệ 1:1 (v/v). Ủ lắc 100 rpm ở nhiệt độ 37 °C. Sau khoảng thời gian 0 giờ, 1 giờ, 2 giờ, 4 giờ và 6 giờ, lấy 1 mL mẫu để xác định lượng khử của thí nghiệm (Azmi *et al.*, 2012). Sự thủy phân của XOS trong môi trường pH thấp được xác định bằng công thức sau:

$$\text{Thủy phân (\%)} = \frac{\text{Hàm lượng đường khử của thí nghiệm}}{\text{Hàm lượng đường tổng} - \text{Hàm lượng đường khử ban đầu}} \times 100$$

Trong đó:

Hàm lượng đường khử của mỗi thí nghiệm và hàm lượng đường khử ban đầu được xác định bằng phương pháp DNS.

Hàm lượng đường tổng của mẫu XOS được xác định bằng phương pháp phenol sulfuric.

#### 2.2.7 Khảo sát ảnh hưởng của dịch XOS thu được đến khả năng sinh trưởng của *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*)

Nhân giống *L. plantarum* trên môi trường MRS lỏng trong 24h ở 37 °C sau đó pha loãng về mật độ vi sinh là 10<sup>6</sup>. Cây 1% (v/v) giống lần lượt vào 150 mL các môi trường MT1, MT2, MT3 và MT4. Sau 24h, xác định mật độ vi sinh vật (CFU/mL) bằng phương pháp trải đĩa.

### 2.3 Phương pháp phân tích

#### 2.3.1 Định lượng XOS tổng bằng phương pháp sắc kí lỏng cao áp (High performing liquid chromatography - HPLC)

Các mẫu được gửi phân tích tại Trung tâm Công nghệ Việt Đức – Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh bằng hệ thống HPLC Agilent 1290, đầu dò RID. Cột phân tích HyperRez XP, Carbohydrate Na<sup>+</sup>, (7,7 x 300 mm) với guard column tương ứng HyperRez XP, Carbohydrate Na<sup>+</sup>, (7,7x50 mm) của hãng Thermo Scientific. Nhiệt độ lò cột: 80 °C, pha động: H<sub>2</sub>O (100%). Tốc độ dòng: 0,2 mL/phút.

Hàm lượng XOS tổng được tính bằng tổng hàm lượng của xylobiose, xylotriose, xylotetrase đã được xác định.

#### 2.3.2 Định tính xylan bằng phương pháp phổ hồng ngoại (Fourier transformation infraRed – FT-IR)

Các mẫu hemicellulose được gửi xác định tại Phòng thí nghiệm Trọng điểm – Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

#### 2.3.3 Định lượng đường khử bằng phương pháp 3,5- Dinitrosalicylic acid (DNS)

Lượng đường khử xylose được xác định bằng phương pháp DNS (Miller, 1959).

#### 2.3.4 Định lượng đường tổng bằng phương pháp phenol- acid sulfuric

Lượng đường tổng được xác định bằng phương pháp phenol-acid sulfuric (Dubois *et al.*, 1956).

### 2.4 Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên, lặp lại 3 lần. Đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mẫu thí nghiệm được thực hiện bằng phương pháp thống kê ANOVA và kiểm định LSD với độ tin cậy 95% các số liệu được xử lý bằng phần mềm Statgraphic Centurion 15.1.

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Ảnh hưởng của nồng độ KOH đến quá trình thu nhận hemicellulose giàu xylan từ bã mía

Hiệu suất thu hồi (HSTH) xylan qua ba nghiệm thức với ba nồng độ KOH (10%, 15% và 20%) có sự khác biệt rõ rệt. HSTH xylan thấp nhất là ở nồng độ KOH 10% và cao nhất ở KOH 20% (Bảng 1).

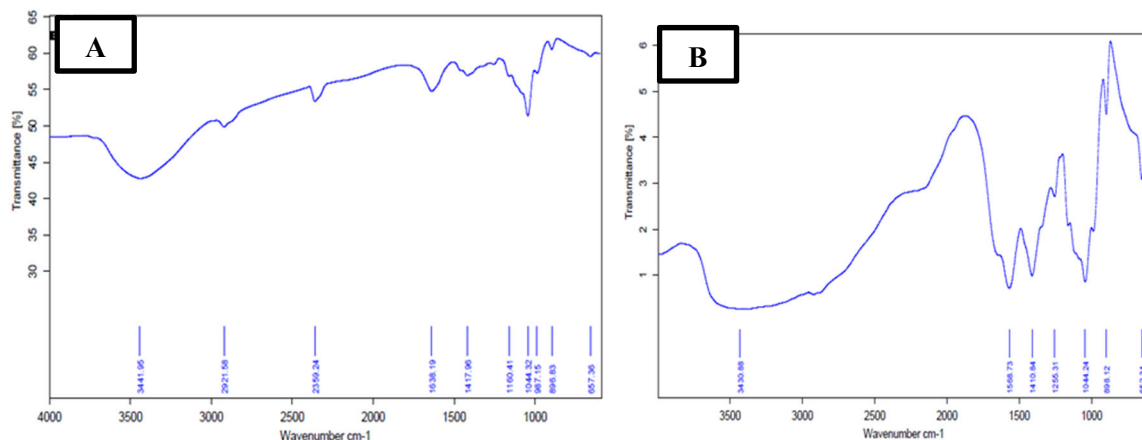
**Bảng 1: Hiệu suất thu hồi hemicellulose thu được qua quá trình tiền xử lý bằng KOH**

Nồng độ KOH (%)	Hiệu suất thu hồi hemicellulose (%)
10	30,18 ± 4,28 <sup>a</sup>
15	36,73 ± 2,55 <sup>ab</sup>
20	54,83 ± 11,52 <sup>b</sup>

\*Các kí tự<sup>(abc)</sup> khác nhau biểu diễn mức độ sai biệt có ý nghĩa ở độ tin cậy 95%

Phân tích các hình phổ FT-IR thấy, ở cả 3 nồng độ KOH đều có sự xuất hiện tần số dao động của

xylan. Đỉnh hấp thụ gần 1044 cm<sup>-1</sup> xác nhận có nhóm bên (C-OH), đây là nhóm chiếm tỉ lệ cao trong mạch xylan với liên kết β (1→4). Peak gần 898 cm<sup>-1</sup> là dấu hiệu của liên kết β-1 → 4 glycosidic giữa các đơn vị xylopyranose (Xylp) của các chuỗi xylan chính. Peak gần 1410 cm<sup>-1</sup> do rung động trong nhóm acid glucuronic (Buslov *et al.*, 2009). Đỉnh hấp thụ rộng ở 3520–3200 cm<sup>-1</sup> đại diện cho sự rung động của các nhóm hydroxyl (OH) mạch thẳng có trong xylan bã mía và cũng là liên kết hydro của nước. Sự xuất hiện của một dải hấp thụ mạnh gần 1562 cm<sup>-1</sup> trong nghiên cứu hiện tại là do sự rung động của mạch aromatic trong lignin (Maziero *et al.*, 2012). So sánh trong 3 hình chụp FT-IR ở 3 nồng độ KOH thì mẫu xử lý ở nồng độ KOH 15% thể hiện tần số dao động gần nhất (1044,24 cm<sup>-1</sup> - hình 1B) so với dao động của xylan chuẩn (1044,32 cm<sup>-1</sup> - hình 1A). Do vậy, mẫu xử lý ở nồng độ KOH 15% dù không cho hiệu suất cao nhất nhưng được lựa chọn để thu hemicellulose giàu xylan.



**Hình 1: Phổ FT-IR của mẫu xylan chuẩn (A) và mẫu hemicellulose được xử lý bằng KOH 15% (B)**

Dung dịch hemicellulose giàu xylan trong đệm natri acetate 50 mM, pH 5,4 được bổ sung enzyme endo-1,4-β-xylanase với các tỉ lệ khác nhau là 2%; 4%; 6% (v/v). Quá trình thủy phân được thực hiện ở 50 °C trong 16 giờ. Dịch XOS thô thu được sau quá trình thủy phân được bán định lượng hàm lượng XOS tổng bằng phương pháp HPLC, kết quả được trình bày ở Bảng 2.

**Bảng 2: Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến hàm lượng XOS tổng**

Nồng độ enzyme (%)	Hàm lượng XOS tổng (mg/L)
2	251,02
4	973,25
6	995,95

Nồng độ enzyme tăng từ 2% đến 6%, quá trình thủy phân xylan trong hemicellulose thành XOS tăng dần, nồng độ enzyme càng cao thì khả năng xúc tác thủy phân xylan trong hemicellulose thành các mạch oligosaccharide ngắn càng hiệu quả hơn. Thông qua kết quả giới hạn của thí nghiệm, tỉ lệ bổ sung enzyme endo-1,4-β-xylanase 6% (tương đương lượng enzyme 75 U/g) được lựa chọn trong quá trình xúc tác thủy phân tạo ra hàm lượng XOS tổng cao nhất đạt 995,95 mg/L. Trong một nghiên cứu tương tự, tác giả Brienzo *et al.*, 2010 sử dụng enzyme tách chiết từ *Thermoascus aurantiacus* để thủy phân bã mía đã tiền xử lý bằng kiềm, kết quả cho thấy sự chuyển hóa XOS cao nhất ở nồng độ cơ chất 2,6% với lượng enzyme là 60 U/g.

### 3.2 Ảnh hưởng của thời gian đến khả năng thủy phân hemicellulose thu XOS

Cố định nồng độ enzyme endo-1,4-β-xylanase với nồng độ 6%, thực hiện thủy phân dung dịch hemicellulose giàu xylan trong đệm natri acetate 50 mM, pH 5,4 ở 50 °C, phân tích lượng XOS tổng sau 8 giờ, 12 giờ, 16 giờ. Kết quả được trình bày ở Bảng 3.

**Bảng 3: Hàm lượng XOS tổng thu nhận được ở các thời gian thủy phân khác nhau**

Thời gian (h)	Hàm lượng XOS tổng (mg/L)
8	1148,92
12	490,01
16	995,95

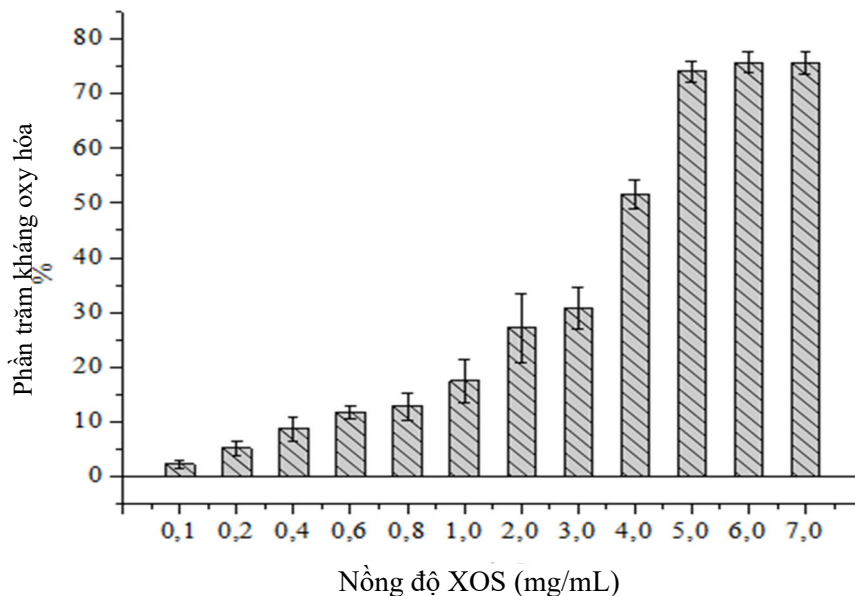
Kết quả cho thấy, quá trình thủy phân hemicelluloses thành XOS giảm đáng kể khi thời gian thủy phân càng dài, hàm lượng XOS thu được đạt cao nhất 1148,92 mg/L trong điều kiện thời gian khảo sát là 8 giờ. Hàm lượng XOS giảm từ 1148,92 mg/L tại 8 giờ đến 995,95 mg/L ở 16 giờ. Hàm lượng XOS tổng ở thí nghiệm này bị giảm đột ngột sau thời gian 8 giờ có thể là do các vị trí mà enzyme endo-1,4-xylanase dễ dàng tiếp cận trong mạch xylan giảm hoặc hoạt động của enzyme giảm do ức

chế từ sản phẩm cuối cùng của quá trình thủy phân. Xylan được thu nhận bằng kiềm làm hạn chế quá trình xúc tác thủy phân của enzyme hơn do các nhóm thế trong mạch xylan (Akpınar *et al.*, 2009). Kết quả nghiên cứu cũng gần giống với kết quả của tác giả Jayapal *et al.*, 2013 khi sử dụng enzyme endo-1,4-xylanase thương mại từ *Tricoderma viridae* để thủy phân bã mía trong 8h cho kết quả chuyển hóa XOS cao nhất ở nhiệt độ 40 °C; pH 4; lượng enzyme 2,65 U/g.

Sau khi khảo sát các điều kiện thủy phân, tiến hành cô đặc dịch XOS thô ở nhiệt độ 65°C nhằm tăng nồng độ và giảm thể tích dịch, thuận lợi cho khâu sấy thăng hoa tạo chế phẩm XOS dạng rắn để bảo quản và thực hiện các thí nghiệm tiếp theo. Hàm lượng XOS tổng trong dịch cô đặc đạt 15.625,31 mg/L, tăng 13,6 lần.

### 3.3 Khả năng kháng oxy hóa DPPH của chế phẩm XOS

Tại các nồng độ XOS thay đổi khác nhau từ 0,1 mg/mL đến 7,0 mg/mL thì mức độ bắt gốc tự do DPPH tăng dần từ 2,17% đến 75,60%. Từ hình 2 cho thấy nồng độ XOS càng lớn khả năng kháng oxy hóa càng cao.



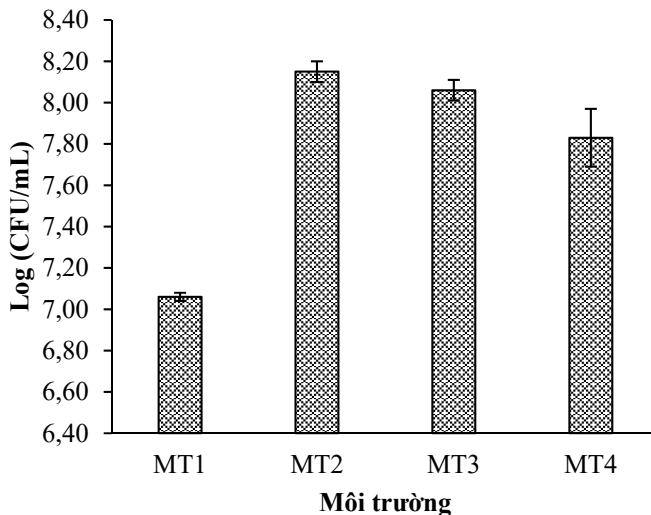
**Hình 2: Hoạt tính kháng oxy hóa của XOS thu được từ bã mía ở các nồng độ khác nhau**

Hiệu quả loại bỏ gốc tự do DPPH đạt trên 50% ở nồng độ XOS là 4 mg/mL, ở các mức nồng độ XOS từ 5 đến 7 mg/mL cho kết quả kháng oxy hóa gần như nhau đạt 75,6%. Nhóm tác giả Bian *et al.* (2013) đã tiến hành nghiên cứu về đặc điểm cấu trúc và hoạt tính kháng oxy hóa của XOS từ bã mía thu

kết quả loại bỏ gốc tự do DPPH đạt 50% tại nồng độ XOS là 0,62 mg/mL. Kết quả kháng oxy hóa của XOS thu nhận của đề tài gần giống với nghiên cứu của Jagtap *et al.* (2017) với XOS thu nhận từ trấu lúa mì có hoạt tính kháng oxy hóa DPPH 58% ở nồng độ 4 mg/mL.

### 3.4 Ảnh hưởng của XOS thu được từ bã mía đến sự tăng trưởng của chủng *Lactobacillus plantarum*

Bột XOS thu được từ quá trình thủy phân hemicellulose giàu xylan từ bã mía được sử dụng như nguồn carbon để đánh giá ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng của *L. plantarum*. Sự tăng trưởng của *L. plantarum* trên MT4 (bổ sung XOS từ bã mía) được so sánh với MT1 (không bổ sung nguồn carbon), MT2 (bổ sung glucose) và MT3 (bổ sung xylose). Kết quả được thể hiện ở Hình 3.



**Hình 3: Biểu đồ thể hiện mật độ sống của *L. plantarum* ở 4 môi trường thí nghiệm sau 24 giờ**

Qua kết quả thực nghiệm trên bốn môi trường khác nhau, khi thay thế XOS như nguồn cacbon (MT4) vi khuẩn vẫn có thể sinh trưởng tốt, tuy kết quả mật độ vi sinh thấp hơn MT2 và MT3 nhưng vẫn chứng minh được XOS có tác động tích cực đến sự tăng trưởng của *L. plantarum* với mật độ là 7,83 log(CFU/mL). Xu hướng này cũng tương tự với nghiên cứu của Farya *et al.* (2015) khi chứng minh dịch thủy phân vỏ trấu lúa mì chứa XOS là nguồn cacbon phù hợp cho lợi khuẩn *Lactobacillus brevis*. XOS thủy phân từ lõi ngô, bã mía, mùn cưa gỗ xoài và gỗ gụ cũng được chứng minh có tiềm năng prebiotic khi được sử dụng để lên men các chủng *Bifobacterium* và *Lactobacillus* (Chapla *et al.*, 2013; Tiboni *et al.*, 2014, Rajagopalan *et al.*, 2017).

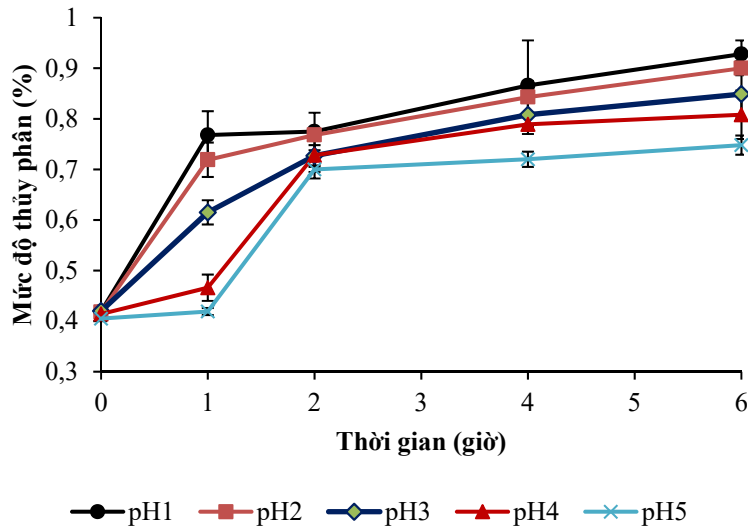
### 3.5 Khả năng thủy phân của chế phẩm XOS trong môi trường pH thấp

Ngoài khả năng thúc đẩy sự sinh trưởng, phát triển của lợi khuẩn và một số hoạt tính sinh học, XOS cũng như các prebiotic khác phải vượt qua sự

Từ kết quả thực nghiệm cho thấy *L. plantarum* đều thể hiện sự tăng trưởng trên các môi trường thử nghiệm, trong đó MT2 thể hiện sự tăng trưởng mạnh nhất đạt 8,15 log(CFU/mL) vì glucose là nguồn đường đơn phổ biến phù hợp với hầu hết các loài vi sinh vật. Ở MT1, mật độ vi khuẩn chỉ đạt 7,06 log(CFU/mL) vì môi trường này không bổ sung nguồn carbon nên *L. plantarum* sinh trưởng kém nhất.

thủy phân bởi pH thấp ở dạ dày (2,0 ÷ 2,5), đến ruột non và đến ruột già trở thành nguồn thực phẩm cho một số probiotics có lợi như *Lactobacillus* và *Bifidobacterium* (Samata *et al.*, 2015). Do vậy, môi trường được sử dụng trong thí nghiệm được thiết kế với các giá trị pH thấp như trong dạ dày để đánh giá khả năng XOS bị thủy phân bởi pH acid trong thời gian 6 giờ. Kết quả sự thủy phân XOS trong các môi trường pH khác nhau được trình bày ở Hình 4.

Sự thủy phân XOS tăng dần theo thời gian ủ. Mức độ XOS bị thủy phân giảm khi tăng pH. Ở các pH thấp (pH1, pH2, pH3) mức độ thủy phân XOS sau 6 giờ lần lượt là 0,768%; 0,719%; 0,615%. Như vậy, trong điều kiện pH acid gần với pH của dạ dày ở hệ tiêu hóa, chế phẩm XOS có khả năng không bị thủy phân đạt trên 99%. Điều này có nghĩa rằng XOS có thể đến được đại tràng mà không bị suy giảm nghiêm trọng bởi dịch dạ dày của con người.



**Hình 4: Khả năng kháng thủy phân của chế phẩm XOS ở pH thấp**

Nghiên cứu khác về prebiotic galactooligosaccharide (GOS) cũng cho kết quả tương tự, khi có hơn 90% GOS không bị thủy phân trong các môi trường pH thấp (Beards *et al.*, 2010). Một loại polysaccharide thu nhận từ rễ tre có tiềm năng prebiotic cũng có mức độ bị thủy phân thấp (0,41 ÷ 0,66%) ở pH 1 đến pH5 (Azmi *et al.*, 2012).

Từ kết quả nghiên cứu, chứng minh được XOS là một prebiotic tiềm năng ít bị thủy phân bởi môi trường pH thấp trong khoảng thời gian dài.

#### 4 KẾT LUẬN

Qua các kết quả nghiên cứu cho thấy, bã mía là một phụ phẩm phù hợp có thể ứng dụng thu XOS. Chế phẩm bột XOS thu nhận được chứng minh ít bị thủy phân trong điều kiện pH thấp, đồng thời có tác động tích cực đến sự tăng trưởng của lợi khuẩn *L. plantarum* nên có tính chất phù hợp là một loại prebiotic tiềm năng. Đồng thời, XOS từ bã mía có hoạt tính kháng oxy hóa DPPH khá cao do vậy phù hợp ứng dụng vào sản xuất thực phẩm chức năng. Tuy nhiên, cần có các nghiên cứu sâu hơn để nâng cao hiệu suất thu hồi sản phẩm và chứng minh thêm về hoạt tính prebiotic trên nhiều đối tượng lợi khuẩn khác nhau.

#### LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn đến Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ phần lớn chi phí thực hiện nghiên cứu này theo hợp đồng số 116/HĐ-DCT, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh; Trung tâm Việt Đức, Trung tâm Thí nghiệm Thực hành đã hỗ trợ thiết bị trong quá trình thực hiện đề tài.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aachary, A. A., and Prapulla, S. G., 2011. Xylooligosaccharides (XOS) as an emerging prebiotic: microbial synthesis, utilization, structural characterization, bioactive properties, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 10(1): 2-16.
- Akpinar, O., Erdogan, K., and Bostanci, S., 2009. Enzymatic production of xylooligosaccharide from selected agricultural wastes. *Food and Bioproducts Processing*. 87(2): 145-151.
- Azmi, A. F. M. N., Mustafa, S., Hashim, D. M., and Manap, Y. A., 2012. Prebiotic activity of polysaccharides extracted from *Gigantochloa levis* (Buluh beting) shoots. *Molecules*. 17(2): 1635-1651.
- Beards, E., Tuohy, K., and Gibson, G., 2010. Bacterial, SCFA and gas profiles of a range of food ingredients following in vitro fermentation by human colonic microbiota. *Anaerobe*. 16(4): 420-425.
- Bian, J., Peng, F., Peng, X. P., Peng, P., Xu, F., and Sun, R. C., 2013. Structural features and antioxidant activity of xylooligosaccharides enzymatically produced from sugarcane bagasse. *Bioresource technology*. 127: 236-241.
- Bian, J., Peng, F., Peng, X. P., Xu, F., Sun, R. C., and Kennedy, J. F., 2012. Isolation of hemicelluloses from sugarcane bagasse at different temperatures: structure and properties. *Carbohydrate polymers*. 88(2): 638-645.
- Brienzo, M., Siqueira, A. F., and Milagres, A. M. F., 2009. Search for optimum conditions of sugarcane bagasse hemicellulose extraction. *Biochemical Engineering Journal*. 46(2): 199-204.

- Brienzo, M., Carvalho, W. and Milagres, A. M., 2010. Xylooligosaccharides production from alkali-pretreated sugarcane bagasse using xylanases from *Thermoascus aurantiacus*. *Applied biochemistry and biotechnology*. 162(4): 1195-1205.
- Buslov, D. K., Kaputski, F. N., Sushko, N. I., Torgashev, V. I., Solov'eva, L.V. Zubét, O.V., and larchenko, L.V., 2009. Infrared spectroscopic analysis of the structure of xylans. *Journal of Applied Spectroscopy*. 76(6): 801-805.
- Chapla, D., Pandit, P., and Shah, A., 2012. Production of xylooligosaccharides from corncob xylan by fungal xylanase and their utilization by probiotics. *Bioresource Technology*. 115: 215-221.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., and Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*. 28(3): 350-356.
- Faryar, R., Linares-Pastén, J. A., Immerzeel, P., Mamo, G., Andersson, M., Stålbrand, H. and Karlsson, E. N., 2015. Production of prebiotic xylooligosaccharides from alkaline extracted wheat straw using the K80R-variant of a thermostable alkali-tolerant xylanase. *Food and Bioproducts Processing*. 93: 1-10.
- Jagtap, S., Deshmukh, R. A., Menon, S., and Das, S., 2017. Xylooligosaccharides production by crude microbial enzymes from agricultural waste without prior treatment and their potential application as nutraceuticals. *Bioresource technology*. 245: 283-288.
- Jayapal, N., Samanta, A. K., Kolte, A. P., Senani, S., Sridhar, M., Suresh, K. P. and Sampath, K. T., 2013. Value addition to sugarcane bagasse: xylan extraction and its process optimization for xylooligosaccharides production. *Industrial Crops and Products*. 42: 14-24.
- Maziero, P., Neto Mairio de Oliveira, Machado, D., Batista, T., Cavalheiro, C. C. S., Neumann, M. G. and Gonçalves, A. R. 2012. Structural features of lignin obtained at different alkaline oxidation conditions from sugarcane bagasse. *Industrial crops and products*. 35(1): 61-69.
- Miller, G. L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*. 31(3): 426-428.
- Rajagopalan, G., Shanmugavelu, K., and Yang, K.L., 2017. Production of prebiotic-xylooligosaccharides from alkali pretreated mahogany and mango wood sawdust by using purified xylanase of *Clostridium* strain BOH3. *Carbohydrate polymers*. 167: 158-166.
- Samanta, A. K., Jayapal, N., Jayaram, C., Roy, S., Kolte, A. P., Senani, S. and Sridhar, M., 2015. Xylooligosaccharides as prebiotics from agricultural by-products: Production and applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*. 5(1): 62-71.
- Tiboni, M., Grzybowski, A., Baldo, G.R., Dias Jr. E.F., Tanner, R.D., Kornfield, J.A. and Fontana, J.D., 2014. Thermopressurized diluted phosphoric acid pretreatment of ligno(hemi)cellulose to make free sugars and nutraceutical oligosaccharides. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 41(6): 957-964.