

การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ในรูปของเบต้ากลูแคน เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ยีสต์ที่มาจากกากสา ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการกลั่นสุรา การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดในกากสาใช้วิธีการสกัดซ้ำในสารละลายต่างความเข้มข้นเพิ่มขึ้นสลับกับน้ำ สัดส่วนกากสาที่ใช้ 10% (w/v) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร กวนด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 80°C ในแต่ละตัวทำละลายใช้เวลา 90 นาที เริ่มจากน้ำ สลับกับสารละลายต่างที่ความเข้มข้นน้อยไปมาดังนี้ น้ำ - 0.1 N NaOH - น้ำ - 0.5 N NaOH - น้ำ - 1 N NaOH - น้ำ - 1.5 N NaOH และน้ำ ตามลำดับ พบว่าได้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด 71.46 ± 1.96 มิลลิกรัมต่อกรัมกากสาแห้ง

ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดแบบครั้งเดียวคือ ความเข้มข้นของตัวทำละลาย และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด พบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายต่าง 0.5 N NaOH สัดส่วนกากสาที่ใช้ 10% (w/v) ของตัวทำละลาย ในปริมาตร 200 มิลลิลิตร กวนด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 80°C นาน 180 นาที หลังจากตกตะกอนสารสกัดด้วยเอทานอล 95 % และทำแห้งในตู้อบภายใต้ความดัน จะได้สารสกัดหยาบแห้งสูงสุด 55 % ของน้ำหนักแห้งกากสา มีโปรตีน และสารพอลิแซ็กคาไรด์ 15.71 % และ 2.8 % ของสารสกัดหยาบ ตามลำดับ กล่าวอีกนัยหนึ่งคือ ได้สารพอลิแซ็กคาไรด์ 15.41 ± 0.08 มิลลิกรัมต่อกรัมกากสาแห้ง หรือ 21.56 % ของสารพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อขยายขนาดการสกัดแบบครั้งเดียวใน ปริมาตร 60 ลิตร ภายใต้สภาวะเหมาะสมเดียวกัน ต่างกันที่วิธีการทำแห้งสารสกัดหยาบ ใช้แบบฉีดพ่นผ่านลมร้อน (Spray dry) พบว่าได้สารสกัดหยาบแห้งลดลงครึ่งหนึ่งเป็น 23.25 % ของน้ำหนักแห้งกากสา และโปรตีน ลดลงเช่นกันเป็น 4.60 % ของสารสกัดหยาบ เมื่อเทียบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ต่อน้ำหนักสารสกัดหยาบจะได้ สูงกว่าเท่าตัวคือ 6.8 % แต่เทียบกับปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดในกากสาแล้วจะได้ใกล้เคียงกันคือ 22.12 % หรือพอลิแซ็กคาไรด์ 15.81 ± 0.2 มิลลิกรัมต่อกรัมกากสาแห้ง กล่าวได้ว่าภายใต้สภาวะการสกัดเดียวกันแต่ ต่างกันที่ปริมาตรและวิธีทำแห้งสารสกัดหยาบ จะได้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์เท่ากัน แต่ปริมาณโปรตีนใน ปริมาตรขนาดใหญ่จะได้น้อยกว่าขนาดเล็ก 4 เท่า แสดงว่ามีความบริสุทธิ์สูงกว่า

การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากกากสาที่ได้จากการสกัดแบบครั้งเดียว โดยนำไป ผ่านคอลัมน์ DEAE-Cellulose เพื่อแยกประจุ ใช้น้ำ และ 0.1 M NaHCO_3 เป็นตัวชะตามลำดับ ปรากฏว่าได้ สารพอลิแซ็กคาไรด์ออกมา 5.8 % (32.88 % recovery) และ 6.02 % (37.88 % recovery) ของสารสกัดหยาบ ที่ได้จากการสกัดในปริมาตร 200 มิลลิลิตร และ 60 ลิตร ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์โครงสร้าง anomeric proton ของเบต้ากลูแคนด้วยเทคนิค NMR ประกอบกับการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FT-IR พบหมู่ -OH, C-H และ C-O-C ที่เหมือนกับเบต้ากลูแคนของผนังเซลล์ยีสต์อ้างอิง นอกจากนี้การวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุล ด้วยเทคนิค GPC ให้ค่าใกล้เคียงกันคือ 433 Da ของสารสกัดหยาบจากทั้ง 2 ปริมาตร

Extraction of polysaccharides as beta-glucan from yeast's cell wall of molasses distiller's by-products (MD), which being released from manufacture of alcohol distillation was determined by the repetitive extraction, which keeps alternating between water and base solvents as H₂O, 0.1 N NaOH, H₂O, 0.5 N NaOH, H₂O, 1 N NaOH, H₂O, 1.5 N NaOH and H₂O respectively by using of 10% MD (w/v) in 200 ml (w/v) content volume, stirred at 100 rpm at 80°C for 90 min in each solvent. Appearance, the total of polysaccharides was obtained of 71.46 ± 1.96 mg/g MD dry wt.

The effect of parameters on one step extraction was solvent concentration and the period of extraction. Thus, using the solvent as 0.5 N NaOH with 10% MD (w/v) in 200 ml (w/v) content volume, stirred at 150 rpm at 80°C for 180 min, after precipitation of crude extract with 95 % ethanol and dry in vacuum oven was obtained the highest crude of 55 % of MD dry wt., 15.7 % protein of crude and 2.8 % polysaccharide of crude or 21.56 % polysaccharide of the total polysaccharide (the polysaccharides of 15.41 ± 0.08 mg/g MD dry wt.) at $p > 0.05$, ANOVA. The scale up to 60 liter by one step extraction on the same suitable conditions of small scale except crude drying by spray dry was obtained less crude of 23.5% of MD dry wt. and also less protein of 4.60 % of crude, but higher polysaccharide of crude was 6.8 %. In the other word, the close amount of polysaccharide on both scale were obtained about 22.12 % of the total polysaccharide or the polysaccharide of 15.81 ± 0.2 mg/g MD dry wt. According to similar on extraction conditions but differential volume and drying would obtained closely the amount of polysaccharide but the amount of protein in large scale obtained less than small scale 4 fold.

Partial purification of the polysaccharides isolated from MD by one step extraction was determined through DEAE-Cellulose colume for separating ion molecules, which be eluted with water and 0.1 M NaHCO₃, respectively. The results, polysaccharides were obtained of 5.8% (32.88 % recovery) and 6.02 % (37.88% recovery) of crude from 200 ml and 60 L vessel, respectively. These polysaccharides were analyzed chemical structure to verify the anomeric proton of beta-glucan by NMR (Nuclear Magnetic Resonance, 400 Mz) as DMSO is the solvent, under condition at 22°C, including analysis of functional group by FT-IR was found –OH, C-H and C-O-C at the same position of beta-glucan's reference. The analysis of molecular mass by GPC (gel permeation chromatography) was obtained this oligosaccharide of 433 Da on both of vessel.