

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HỒ CHÍ MINH



NGUYỄN NGỌC THUẦN

TÓM TẮT LUẬN ÁN

**TÁCH CHIẾT, TINH SẠCH VÀ ỨNG DỤNG HỢP CHẤT
CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC TỪ NẤM VÂN CHI
(*Coriolopsis aspera*)**

Chuyên ngành: Công nghệ thực phẩm

Mã số: 9.54.01.01

LUẬN ÁN TIẾN SĨ NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

Thành phố Hồ Chí Minh – Năm 2022

Cán bộ hướng dẫn 1:

PGS. TS Đàm Sao Mai

Cán bộ hướng dẫn 2:

PGS.TS Lê Trung Thiên

A. PHẦN MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Hiện nay, xu hướng sử dụng nguồn thực phẩm tự nhiên có chứa các chất hoạt tính sinh học ngày càng nhiều. Đặc biệt là đối với thực phẩm bổ sung các chất có lợi cho sức khỏe theo định hướng. Đối với nấm vân chi là nấm dược liệu, trong thành phần chứa nhiều chất có hoạt tính sinh học có khả năng hỗ trợ trong chữa bệnh. Cho tới hiện nay, những công trình nghiên cứu về nấm vân chi trong nước không nhiều, thường chỉ tập trung nghiên cứu về cách nuôi trồng. Đối với những công trình nghiên cứu về nấm Vân chi ở nước ngoài đa phần nghiên cứu loài *Trametes versicolor* là nhiều và nội dung thường tập trung vào chiết tách các hợp chất có hoạt tính và các enzyme để ứng dụng vào trong các ngành công nghiệp thực phẩm, giấy, nhuộm và môi trường (Asgher và ctv 2009). Riêng đối với loài nấm *Coriolopsis aspera* lần đầu tiên được (Jungh.) Teng tìm ra (Briffa, 2001; Kumar và ctv 2014) ở Đài Loan. Loài này được phát hiện ở rừng Việt Nam mọc trên thân cây dương. Cho tới hiện nay, loài nấm này chưa thấy có công bố về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của dịch chiết chính vì vậy mà chúng tôi đề xuất đề tài ‘Tách chiết, tinh sạch và ứng dụng hợp chất có hoạt tính sinh học từ nấm vân chi (*Coriolopsis aspera*).

2. Mục tiêu của luận án

Nghiên cứu điều kiện trích ly, tinh sạch các thành phần trong dịch chiết nấm *Coriolopsis aspera* để xác định thành phần và làm giàu hoạt tính sinh học trong dịch trích ly. Từ đó nghiên cứu ứng dụng tạo sản phẩm bột hòa tan từ dịch trích ly đã làm giàu hoạt tính sinh học theo hướng có lợi cho sức khỏe.

3. Những đóng góp của luận án

- **Đóng góp mới về mặt khoa học**

Đề tài đã thu được một số kết quả nghiên cứu mới có ý nghĩa khoa học liên quan đến các thành phần hóa học và tính chất sinh học của một số hoạt chất từ nấm Vân chi, cũng như điều kiện để thu nhận và làm giàu các chất có hoạt tính sinh học của dịch chiết.

- **Đóng góp mới về mặt thực tiễn**

Đề tài đã đề xuất được thông số quy trình trích ly các hoạt chất sinh học từ nấm vân chi và thông số sấy phun thu bột hòa tan có hàm lượng TTC cao, có thể ứng dụng trong các sản phẩm thực phẩm bổ sung có lợi cho sức khỏe.

4. Bố cục của luận án

Luận án có 128 trang, 37 bảng, 28 hình và 240 tài liệu tham khảo, bao gồm phần mở đầu (2 trang); Chương 1: Tổng quan (23); Chương 2: Vật liệu và phương pháp nghiên cứu (19 trang); Chương 3: Kết quả và thảo luận (66 trang); Kết luận và kiến nghị (2 trang); Tài liệu tham khảo (19 trang); Các công trình công bố (1 trang).

B. PHẦN NỘI DUNG

1. Tổng quan

Nấm *Coriolopsis aspera* thuộc giới Fungi, ngành *Basidiomycota*, lớp *Agaricomycetes*, bộ *Polyporales*, họ *Polyporaceae*, chi *Coriolopsis*. Theo nhận định của một số tác giả trên thế giới thì nấm vân chi thường được sử dụng làm thực phẩm chức năng do chứa các chất có hoạt tính sinh học có khả năng hỗ trợ chữa một số bệnh.

Thành phần hóa học của các loài thuộc chi này thường chứa polysaccharide, terpenoide, phenolic, steroid, chitin, chitosan, lectin... và một số hợp chất khác.

Trong kỹ thuật trích ly các hoạt chất có hoạt tính sinh học trong nguyên liệu nấm *Coriolopsis aspera* có nhiều yếu tố ảnh hưởng như nhiệt độ, thời gian, loại dung môi, tỷ lệ dung môi so với nguyên liệu và kỹ thuật chiết xuất. Trong nấm vân chi có nhiều thành phần chống oxy hóa như các hợp chất polyphenol, flavonoid, polysaccharide và hợp chất acid hữu cơ (Bains và Chawla, 2020; Kamiyama và ctv, 2013). Trong thành phần của nấm vân chi có chứa các nhóm chất phenolic có khả năng kháng vi sinh vật cao (Bains và Chawla, 2020). Nhóm các chất terpenoid, steroid, PSP và PSK trong nấm vân chi tác động rất mạnh đến tế bào ung thư đặc biệt là ung thư gan, ung thư phổi, ung thư vú, ung thư xương và ung thư cổ tử cung đã được một số nước như Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc... nghiên cứu trên ba cấp độ in-vitro, in-vivo và kết quả lâm sàng (Habtemariam, 2020; Hobbs, 2004; Ricciardi và ctv, 2017; Standish và ctv, 2008).

Kỹ thuật vi bao: Việc lựa chọn phương pháp vi bao phụ thuộc vào các ứng dụng và thông số cụ thể như kích thước hạt yêu cầu, tính chất hóa lý của lõi và vật liệu phủ, cơ chế giải phóng, chi phí xử lý, v.v. Do đó lựa chọn chất mang phù hợp để tạo vi bao bằng công nghệ sấy phun cần phải lưu ý các tiêu chí lựa chọn như nguyên liệu rẽ và phong phú, hiệu suất thu hồi bột sau khi sấy cao, chất lượng sản phẩm bột (độ ẩm, màu sắc, khả năng tiêu hóa, cơ chế giải phóng thành phần hạt trung tâm, thời gian bảo quản lâu).

Thời gian bảo quản: Để đáp ứng mong đợi của người tiêu dùng, các sản phẩm chất lượng cao, ngành công nghiệp thực phẩm phải tiến hành nghiên cứu thời hạn sử dụng bao gồm đánh giá một số tính chất hóa lý và cảm quan. Đối với các sản phẩm có thời hạn sử dụng ước tính dài, các nghiên cứu tăng tốc phải được tiến hành để ước lượng được thời gian bảo quản trên thị trường (N. Minh và Dao, 2013).

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Nấm vân chi *Coriolopsis aspera* tự nhiên được thu nhận tại vườn Quốc Gia Pù Mát nằm ở 18°46' vĩ độ Bắc và 104°24' độ kinh Đông thuộc tỉnh Nghệ An.

2.2. Thiết bị nghiên cứu:

Thiết bị cô quay chân không RV 10 (IKA – Đức), Tủ ẩm Shellab, Model 1525-2E (Mỹ), Máy siêu âm Ultrasonic processor model GE 750(Mỹ), Máy sấy ẩm hồng ngoại Sartorius, Model MA150 (Đức), Máy sấy phun (LabPlant SD-Basic)(Anh) và một số thiết bị khác.

2.3. Hóa chất sử dụng nghiên cứu:

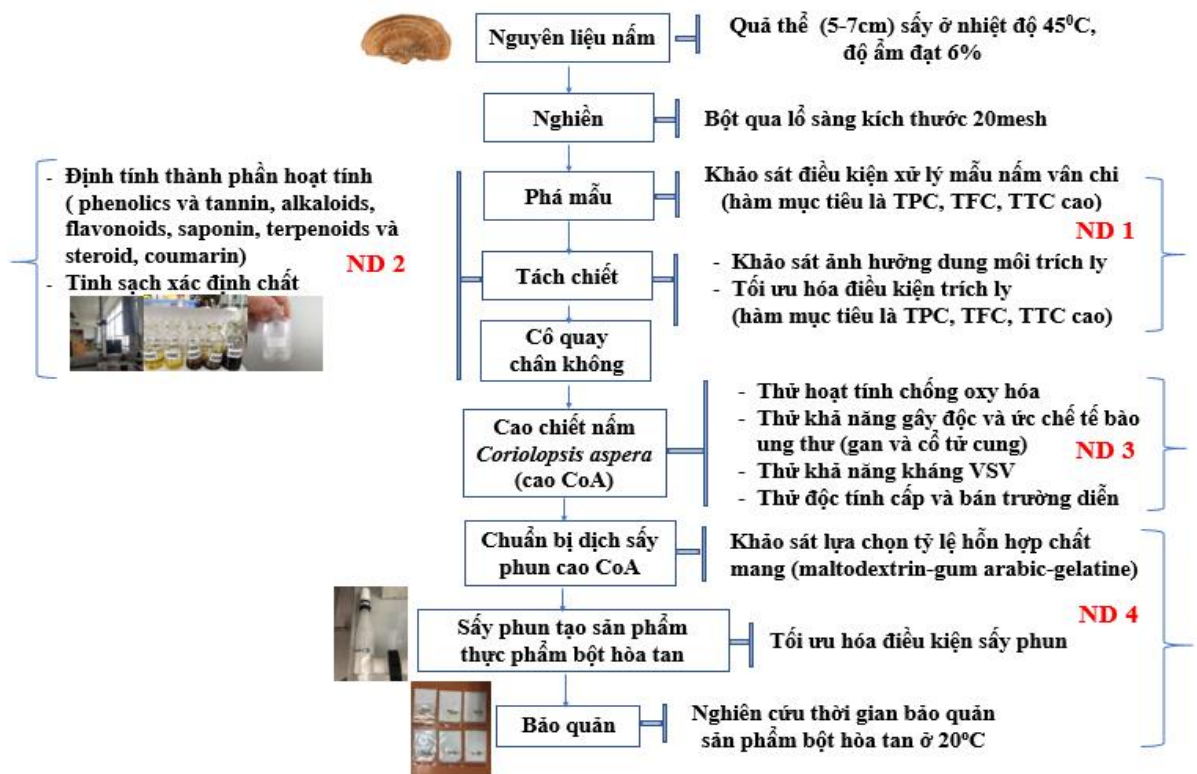
Hóa chất được sử dụng có nguồn gốc và đạt theo tiêu chuẩn phân tích.

2.4. Địa điểm nghiên cứu:

Thí nghiệm được thực hiện tại Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm Trường Đại học Công nghiệp Thành Phố Hồ Chí Minh và Khoa Công nghệ Thực phẩm trường Đại học Nông Lâm Tp HCM.

2.5. Phương pháp nghiên cứu:

Sử dụng phương pháp cổ điển và phương pháp quy hoạch thực nghiệm.



Hình 2.1. Sơ đồ nghiên cứu

2.6. Phương pháp phân tích

- Xác định chất bằng phương pháp tinh sạch dựa vào phương pháp sắc ký cột, sắc ký bảng mỏng, phương pháp kết tinh và phương pháp xác định cấu trúc phân tử.
- Xác định hàm lượng flavonoid tổng được xác định bằng phương pháp UV-VIS dựa theo cách làm của (Nardini và Garaguso, 2018) có sửa đổi bổ sung.
- Xác định triterpen cách làm dựa theo nhóm tác giả (Yi Chen và ctv, 2007) có sửa đổi bổ sung.
- Xác định hàm lượng polyphenols tổng số bằng phương pháp UV-VIS với thuốc thử Folin – Ciocalteu dựa theo nhóm tác giả (Scroccarello và ctv, 2019) có sửa đổi.
- Xác định khả năng khử gốc tự do dựa theo phương pháp DPPH.
- Xác định hoạt tính gây độc và ức chế sự tăng sinh tế bào của cao chiết dựa theo phương pháp MTT nhằm để sàng lọc nhanh có hoạt tính gây độc hoặc ức chế sự tăng sinh tế bào (L. Yang và ctv, 2017).
- Phương pháp phân tích vi sinh kháng VSV dựa theo phương pháp của Hadacek và ctv. (2000) có thay đổi (Hadacek và Greger, 2000).
- Đánh giá độc tính cấp tính và độc tính mãn tính của dịch chiết đã được tối ưu hóa trên chuột sử dụng phương pháp Lorke, Miller và cộng sự (Lorke, 1983; Miller và Tainter, 1944) có chỉnh sửa.

2.7. Phương pháp xử lý số liệu

- Sử dụng phần mềm GMP10.0.0 để thiết kế thí nghiệm tối ưu hóa theo phương pháp đáp ứng bề mặt.
- Sử dụng phần mềm Statgraphics Centurion XV để phân tích phương sai (Anova) và độ lệch chuẩn.
- Sử dụng phần mềm Microsoft Excel để vẽ đồ thị

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả phá mẫu

Kết quả thực hiện sàng lọc các phương pháp phá mẫu gồm các phương pháp siêu âm, phương pháp vi sóng, phương pháp đun nước nóng, phương pháp kết hợp hóa học và siêu âm, phương pháp kết hợp nitơ lỏng và siêu âm đã cho kết quả hàm lượng TPC (mg acid

galic, TPC (mg GAE/g DW), TFC (mgQE/g DW), TTC (mgOAE/g DW), RSA ($\mu\text{gVitC/g DW}$) cao.

Bảng 3.1. Kết quả khảo sát công suất siêu âm xử lý mẫu

Chỉ tiêu	Công suất siêu âm (W)						
	M ₀	150	225	300	375	450	525
TPC ¹	1,12	2,60	2,70	2,81	3,13	3,14	3,15
	$\pm 0,01^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,01^e$	$\pm 0,03^e$	$\pm 0,01^e$
TFC ²	0,15	0,18	0,21	0,23	0,26	0,27	0,27
	$\pm 0,01^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,02^e$	$\pm 0,01^e$	$\pm 0,01^e$
TTC ³	0,11	0,36	0,48	0,49	0,54	0,54	0,55
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,02^d$	$\pm 0,01^d$
RSA ⁴	0,37	1,52	1,61	1,68	1,71	1,71	1,71
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,05^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,03^d$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,01^d$

Bảng 3.3. Kết quả khảo sát công suất vi sóng

Chỉ tiêu xác định	Công suất vi sóng (W)				
	M ₀	110	120	130	140
TPC ¹	1,12	1,73	1,96	2,08	2,10
	$\pm 0,01^a$	$\pm 0,03^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,01^d$
TFC ²	0,05	0,19	0,24	0,27	0,28
	$\pm 0,01^a$	$\pm 0,02^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,02^d$	$\pm 0,01^d$
TTC ³	0,11	0,39	0,47	0,57	0,59
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,02^b$	$\pm 0,03^c$	$\pm 0,03^d$	$\pm 0,01^d$
RSA ⁴	0,37	1,89	2,02	2,10	2,18
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,04^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,02^d$	$\pm 0,02^d$

Bảng 3.5. Kết quả khảo sát nhiệt độ đun phá mẫu

Chỉ tiêu xác định	Nhiệt độ đun ($^{\circ}\text{C}$)				
	M ₀	70	80	90	100
TPC ¹	1,12	1,55	1,66	1,81	2,08
	$\pm 0,01^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,02^d$	$\pm 0,01^e$
TFC ²	0,05	0,08	0,12	0,16	0,19
	$\pm 0,01^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,02^e$
TTC ³	0,11	0,23	0,31	0,31	0,36
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^d$
RSA ⁴	0,37	1,04	1,14	1,28	1,34
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,02^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,02^d$	$\pm 0,02^e$

Bảng 3.7. Kết quả khảo sát nồng độ NaOH (%) ngâm mẫu

Chỉ tiêu xác định	Nồng độ NaOH (%)				
	M ₀	3	5	7	9
TPC ¹	1,19	2,19	2,48	2,49	2,49
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,02^c$
TFC ²	0,08	0,16	0,21	0,22	0,22
	$\pm 0,01^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^c$
TTC ³	0,17	0,53	0,88	0,89	0,90
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,02^c$
RSA ⁴	0,40	1,23	2,15	2,15	2,16
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,02^c$

Bảng 3.9. Kết quả khảo sát tỷ lệ ni tơ lỏng với nguyên liệu

Chỉ tiêu xác định	Tỷ lệ ni tơ : nguyên liệu (w:w)				
	M ₀	2:1	4:1	6:1	8:1
TPC ¹	1,13	2,43	3,59	4,69	4,72
	$\pm 0,04^a$	$\pm 0,02^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,02^d$	$\pm 0,01^d$
TFC ²	0,06	0,39	0,61	0,88	0,89
	$\pm 0,01^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,03^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,01^d$
TTC ³	0,12	0,56	0,82	1,18	1,19
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,01^d$
RSA ⁴	0,38	2,96	3,18	3,48	3,49
	$\pm 0,03^a$	$\pm 0,02^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,01^d$

Bảng 3.2. Khảo sát thời gian siêu âm xử lý mẫu

Chỉ tiêu	Thời gian siêu âm (phút)							
	M ₀	5	10	15	20	25	30	35
TPC ¹	1,19	2,12	2,13	2,26	2,31	3,35	3,41	3,42
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,04^d$	$\pm 0,01^e$	$\pm 0,03^f$	$\pm 0,02^f$
TFC ²	0,08	0,12	0,26	0,26	0,26	0,27	0,30	0,30
	$\pm 0,01^a$	$\pm 0,02^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,02^d$
TTC ³	0,17	0,31	0,54	0,54	0,55	0,59	0,66	0,66
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,02^e$	$\pm 0,02^f$	$\pm 0,01^f$
RSA ⁴	0,40	1,58	1,71	2,28	2,37	2,38	2,43	2,44
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,03^c$	$\pm 0,02^d$	$\pm 0,02^e$	$\pm 0,01^e$	$\pm 0,02^f$	$\pm 0,02^f$

Bảng 3.4. Kết quả khảo sát thời gian vi sóng

Chỉ tiêu xác định	Thời gian vi sóng (phút)					
	M ₀	5	10	15	20	25
TPC ¹	1,13	2,0	2,08	3,17	3,17	3,19
	$\pm 0,04^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,03^d$	$\pm 0,02^d$
TFC ²	0,06	0,19	0,27	0,29	0,29	0,30
	$\pm 0,01^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,02^c$
TTC ³	0,12	0,46	0,57	0,66	0,66	0,67
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,03^c$	$\pm 0,02^d$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,01^d$
RSA ⁴	0,38	1,65	2,10	2,21	2,21	2,22
	$\pm 0,03^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,02^d$	$\pm 0,01^d$

Bảng 3.6. Kết quả khảo sát thời gian đun phá mẫu

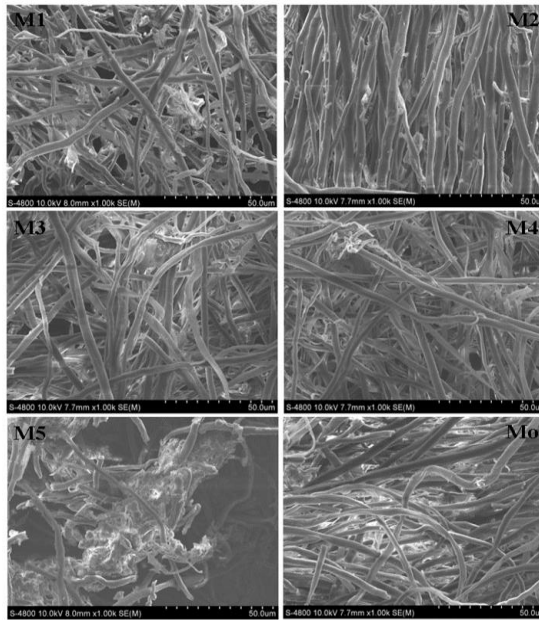
Chỉ tiêu xác định	Thời gian đun phá (phút)				
	M ₀	5	10	15	20
TPC ¹	1,13	1,43	2,08	2,35	2,37
	$\pm 0,04^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,01^d$
TFC ²	0,06	0,09	0,19	0,24	0,25
	$\pm 0,01^a$	$\pm 0,02^b$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^c$
TTC ³	0,12	0,24	0,34	0,38	0,39
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,02^b$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^c$
RSA ⁴	0,38	1,20	1,34	1,51	1,52
	$\pm 0,03^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,02^c$

Bảng 3.8. Kết quả khảo sát thời gian siêu âm sau khi xử lý NaOH

Chỉ tiêu xác định	Thời gian siêu âm (phút)				
	M ₀	5	10	15	20
TPC ¹	1,19	2,12	2,22	2,48	2,49
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,03^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,01^d$
TFC ²	0,08	0,11	0,17	0,21	0,22
	$\pm 0,01^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,01^d$
TTC ³	0,17	0,22	0,61	0,88	0,89
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,02^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,02^d$	$\pm 0,01^d$
RSA ⁴	0,40	1,29	1,46	2,15	2,15
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,02^d$	$\pm 0,01^d$

Bảng 3.10. Kết quả khảo sát thời gian siêu âm sau khi xử lý ni tơ lỏng

Chỉ tiêu xác định	Thời gian siêu âm (phút)				
	M ₀	5	10	15	20
TPC ¹	1,13	3,10	4,01	4,69	4,71
	$\pm 0,04^a$	$\pm 0,02^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,02^d$	$\pm 0,01^d$
TFC ²	0,06	0,38	0,64	0,88	0,87
	$\pm 0,01^a$	$\pm 0,01^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,01^d$
TTC ³	0,12	0,60	0,96	1,28	1,29
	$\pm 0,02^a$	$\pm 0,02^b$	$\pm 0,01^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,01^d$
RSA ⁴	0,38	2,91	3,24	3,48	3,48
	$\pm 0,03^a$	$\pm 0,02^b$	$\pm 0,02^c$	$\pm 0,01^d$	$\pm 0,02^d$



Hình 3.1. Sợi tế bào nấm vân chi *Corioloopsis aspera* qua chụp SEM

3.2. Nghiên cứu điều kiện trích ly

3.2.1. Khảo sát ảnh hưởng loại dung môi để trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học

Theo kết quả phân tích ở Bảng 3.11 cho thấy với dung môi acetone, methanol, ethanol thì sẽ trích ly hàm lượng TPC, TFC với hàm lượng cao và khả năng chống oxy hóa RSA cao. Còn riêng đối với TTC thì dung môi methanol và ethanol trích ly với hàm lượng cao. Kết quả này tương đối phù hợp với kết quả nghiên cứu của Abugria và ctv. (2013) trên đối tượng nấm vân chi *Trametes versicolor*.

Bảng 3. 1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng các loại dung môi đến các chất HTSH

Hàm mục tiêu	Loại dung môi		
	Aceton	Methanol	Ethanol
TPC (mg GAE/gDW)	6,70±0,30 ^a	7,23±0,14 ^b	7,34±0,23 ^b
TFC (mg QE/gDW)	1,34±0,02 ^a	1,42±0,04 ^b	1,48±0,01 ^b
TTC (mg OAE/gDW)	1,75±0,01 ^a	2,10±0,03 ^b	2,13±0,04 ^b
RSA (µg acid ascorbic/ g DW)	4,01±0,07 ^a	5,62±0,12 ^b	5,83±0,11 ^b

3.2.2. Định tính thành phần hoạt tính sinh học

Từ kết quả Bảng 3.12 cho thấy trong thành phần dịch cao chiết ethanol của nấm *Coriolopsis aspera* chứa các chất chuyển hóa bậc 2 nhiều như nhóm chất phenolic, tannin, alkaloid, terpenoid, và steroid. Còn nhóm chất flavonoid và saponin ở mức trung bình chỉ có nhóm chất coumarin là cho kết quả ít. Kết quả nghiên cứu phù hợp với nhóm tác giả Fakoya và ctv. (2012) trên loài nấm *Coriolopsis gallica* (Fakoya và Folarin Oloketuyi, 2012) và nấm *Trametes versicolor*, *Trametes gibbosa* (Appiah và ctv, 2017; Leliebre-Lara và ctv, 2015).

Bảng 3.2. Định tính hợp chất thứ cấp trong cao chiết nấm vân chi

Chất chuyển hóa thứ cấp	Nhận xét kết quả
Phenolic	+++
Tannin	+++
Flavonoid	++
Coumarin	+
Alkaloid	+++
Terpenoid	+++
Steroid	+++
Saponin	++

(+) có ít, (++) trung bình, (+++) có nhiều

3.2.5. Tối ưu hóa trong công đoạn trích ly polyphenol tổng (TPC), flavonoid tổng (TFC) và triterpene tổng (TTC).

Qua thực nghiệm một yếu tố đã xác định mức dưới và mức trên của các yếu tố nhiệt độ trích ly từ 30-50°C, tỷ lệ dung môi với nguyên liệu 40:1 đến 60:1, thời gian từ 6-10 giờ, nồng độ dung môi từ 70-90%.

3.2.5.1. Tối ưu hóa thiết kế theo mô hình Box Behnken (BBD)

Phân tích thống kê và mô hình thích hợp:

$$\text{Phương trình } Y_1 \text{ rút gọn: } Y_1 = 7,72 + 0,82X_1 + 0,29X_2 + 0,44X_3 + 0,31X_4 - 1,31X_1^2 - 0,26X_2^2 - 0,45X_3^2 - 0,30X_4^2 + 0,65X_2X_4 \quad (1)$$

Trong phương trình (1) Y_1 là hàm lượng polyphenol tổng và X_1 : nhiệt độ, X_2 : tỷ lệ dung môi-nguyên liệu X_3 : thời gian, X_4 : nồng độ dung môi. Hệ số X_3 có ảnh hưởng nhiều ($p < 0,01$). Các hệ số X_2 , X_4 , X_2X_4 , X_3 có ảnh hưởng không nhiều ($p < 0,05$). Còn lại hệ số X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3 , X_1X_4 , X_3X_4 không có ảnh hưởng ($p > 0,05$).

Phương trình Y_2 rút gọn: $Y_2 = 1,33 + 0,13X_1 + 0,070X_2 + 0,080X_3 - 0,25X_1^2 - 0,22X_2^2 - 0,21X_3^2 - 0,17X_4^2$ (2)

Trong phương trình (2) Y_2 hàm lượng flavonoid tổng và X_1 : nhiệt độ, X_2 : tỷ lệ dung môi, X_3 : thời gian, X_4 : nồng độ dung môi. Hệ số X_2, X_3 có ảnh hưởng nhiều ($p < 0,01$). Còn lại các hệ số $X_4, X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3, X_1X_4, X_2X_4, X_3X_4$ không có ảnh hưởng ($p > 0,05$).

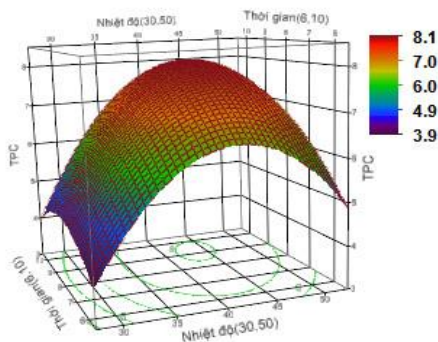
Phương trình Y_3 rút gọn: $Y_3 = 2,07 - 0,27X_1^2 - 0,30X_3^2 - 0,20X_4^2 - 0,21X_1X_2 + 0,25X_2X_3$ (3)

Trong phương trình (3) Y_3 hàm lượng triterpene tổng và X_1 : nhiệt độ, X_2 : tỷ lệ dung môi, X_3 : thời gian, X_4 : nồng độ dung môi. Có thể thấy rằng các hệ số X_1^2, X_3^2 có ảnh hưởng nhiều ($p < 0,01$). Hệ số X_1X_2, X_2X_3, X_4^2 có ảnh hưởng ($p < 0,05$). Còn lại các hệ số $X_1, X_2, X_3, X_4, X_1X_3, X_1X_4, X_2X_4, X_3X_4, X_2^2$ không có ảnh hưởng ($p > 0,05$).

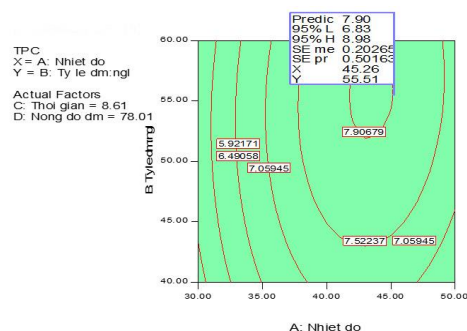
Phương trình Y_4 rút gọn: $Y_4 = 4,52 + 0,36X_1 + 0,28X_3 - 0,77X_1^2 - 0,35X_3^2 - 0,45X_4^2 + 0,71X_2X_4$ (4)

Trong phương trình (4) Y_4 khả năng khử gốc tự do và X_1 : nhiệt độ, X_2 : tỷ lệ dung môi, X_3 : thời gian, X_4 : nồng độ dung môi. Có thể thấy rằng các hệ số X_1^2 có ảnh hưởng rất nhiều ($p < 0,001$). Hệ số X_1, X_2X_4 có ảnh hưởng nhiều ($p < 0,01$). Các hệ số X_3, X_3^2, X_4^2 có ảnh hưởng không nhiều ($p < 0,05$). Còn lại hệ số $X_2, X_4, X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3, X_1X_4, X_3X_4, X_2^2$ không có ảnh hưởng ($p > 0,05$).

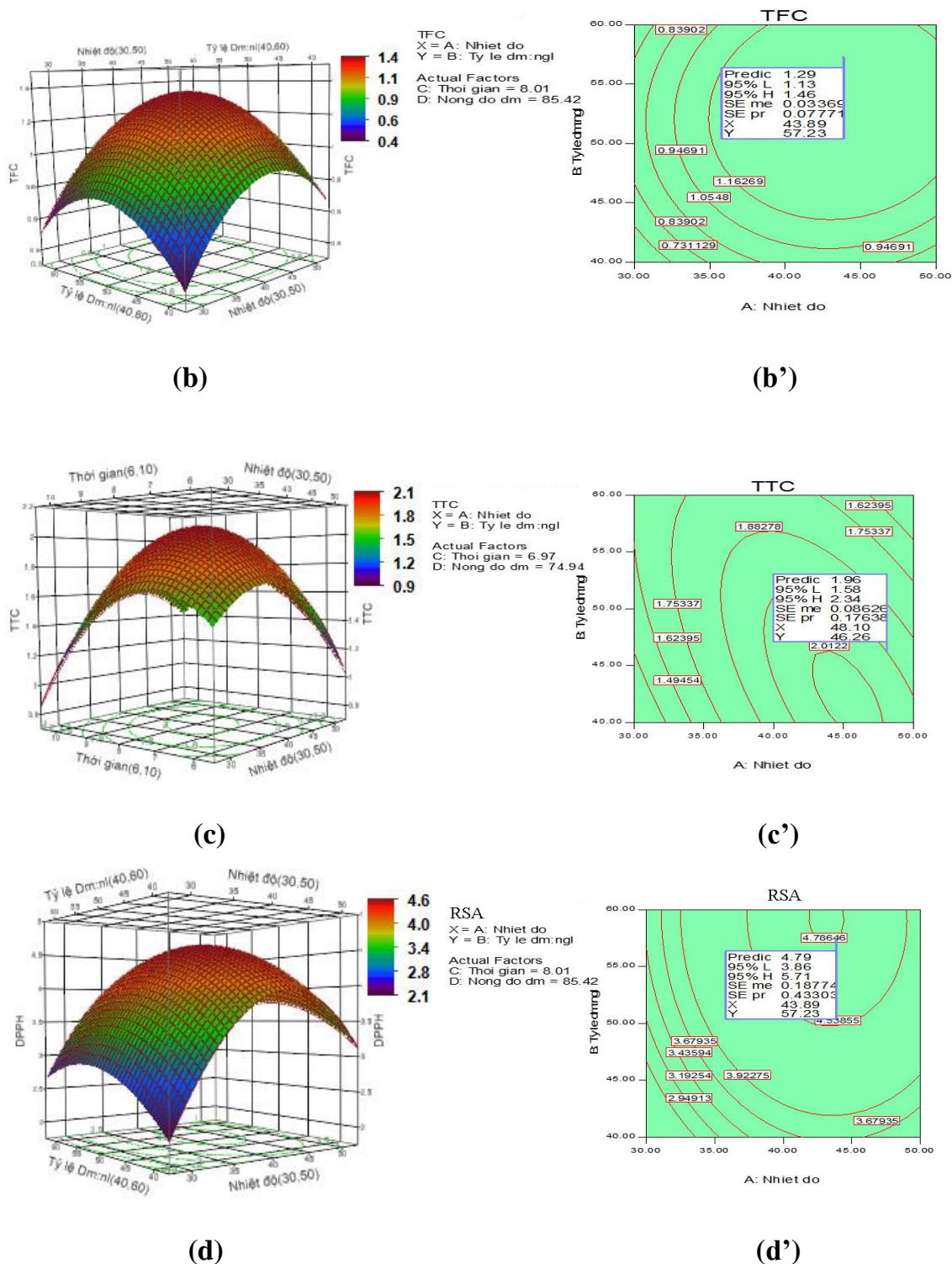
- Tối ưu hóa các điều kiện trích ly



(a)



(a')



Hình 3.2. Đồ thị bề mặt đáp ứng 3D và đường đồng mức 2D của hàm mục tiêu Y_{1-4} với ảnh hưởng các biên độc lập X_{1-4}

Nhận xét trên đồ thị 3D của các Hình 3.2 (a,b,c,d) cho thấy các giá trị TPC, TFC, TTC và RSA có giá trị cực trị do đó có thể tìm được giá trị tối ưu của các giá trị đó.

Theo đường đồng mức Hình 3.2 (a', b', c', d') cho thấy được xu hướng. Khi nhiệt độ trích ly tăng trên 50°C thì hàm lượng các chất hoạt tính sinh học TPC, TFC, TTC có dấu hiệu giảm và đồng thời khả năng chống oxy hóa RSA cũng giảm theo.

Kết quả dự đoán tối ưu hóa được thực hiện trên phần mềm JMP cho thấy thông số của 4 yếu tố lần lượt là nhiệt độ trích ly 40°C, tỷ lệ dung môi ethanol với nguyên liệu 53:1, thời gian trích ly 8,04 giờ, nồng độ ethanol 79,6% thì cho hàm mục tiêu tương ứng TPC 7,8407 mg GAE/g DW, TFC 1,3307 mgQE/g DW, TTC 2,0843 mgOAE/g DW, RSA 4,5940 µgVitC/g DW.

3.2.5.2. Kiểm chứng thực nghiệm

Kết quả kiểm chứng cho thấy với các hàm mục tiêu hoàn toàn giống với kết quả dự đoán. Điều đó có nghĩa là các giá trị dự đoán phù hợp với các giá trị tối ưu.

Dịch chiết ethanol từ nấm *Coriolopsis aspera* đã được tối ưu hóa trích ly được mã hóa là dịch chiết CoAEO. Trong thành phần dịch chiết CoAEO có chứa các chất TPC, TFC, TTC cao và hoạt tính chống oxy hóa cao.

3.2. Phân lập và tinh sạch hợp chất từ cao CoAEO

Bảng 3.3. Hợp chất thứ cấp được phân lập

STT	Hợp chất thứ cấp	Cao
1	Trametenolic B	ethyl acetate
2	Cerevisterol	ethyl acetate
3	Ergosterol	ethyl acetate
4	Ergosterol peroxit	ethyl acetate
5	Trans- p-hydroxycoumaric acid	nước
6	Methyl ferulat	nước
7	Methyl (2-hidroxyphenyl) acetat	nước
8	Umbelliferone	nước
9	8-hydroxy-3,4-dimethylisocoumarin	nước

Trong Bảng 3.13 có 9 chất sạch trên đã được tinh sạch và xác định tên. Trong đó có 1 chất thuộc nhóm triterpene (trametenolic B), 3 chất thuộc nhóm steroid (cerevisterol, ergosterol, ergosterol peroxit) và 5 chất còn lại thuộc phenolic (trans- p-hydroxycoumaric

acid, methyl ferulat, methyl (2-hydroxyphenyl) acetat, umbelliferone, 8-hydroxy-3,4-dimethylisocoumarin). Tất cả các chất trên dạng bột có màu trắng.

3.4.1. Xác định khả năng khử gốc tự do

Kết quả phân tích ở Bảng 3.14 cho thấy trong thành phần của dịch cao chiết ethanol của nấm *Coriolopsis aspera* chứa nhiều chất có hoạt tính sinh học cao có khả năng chống oxy hóa mạnh. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Kamiyama và cộng sự. (2013) trên đối tượng nấm vân chi *Trametes versicolor* trên dung môi acetone (khả năng khử gốc tự do 50,9%) và trên dung môi methanol (33,9%)(Kamiyama và ctv, 2013).

Bảng 3. 4. Khả năng khử gốc tự do của cao CoAEO

Kí hiệu mẫu	Khả năng trung hòa gốc tự do (SC,%)	Nồng độ đầu thử nghiệm (mg/ml)	IC ₅₀ (mg/mL)
Chứng (+) [Acid ascorbic]	93,82 ± 2,95	0,035	0,019
Chứng (-) [DPPH/EtOH + DMSO]	0,0	-	
Cao Ethanol	68,21 ^a ± 3,23	0,1	0,064

3.4.2. Xác định hoạt tính gây độc và ức chế tế bào ung thư

Kết quả ở Bảng 3.15 cho thấy dịch chiết ethanol của nấm *Coriolopsis aspera* có khả năng ức chế tế bào ung thư mạnh. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Knežević và cộng sự. (2015) trên 3 loài nấm *Trametes versicolor*, *Trametes hirsuta*, *Trametes gibbosa*.

Bảng 3. 5. Khả năng ức chế tế bào ung thư cổ tử cung (HeLa) và tế bào ung thư gan (Hep-G2) của cao CoAEO

Kí hiệu mẫu	Nồng độ thử cao nhất	Tế bào HeLa		Tế bào Hep-G2	
		Tỷ lệ ức chế tế bào (%)	IC ₅₀	Tỷ lệ ức chế tế bào (%)	IC ₅₀
Chứng (-) [DMSO]	0,1%	0	-	0	-
Chứng (+) [Ellipticine]	5µg/ml	89,6±2,4	3,63µM	81,2±1,6	3,98µM

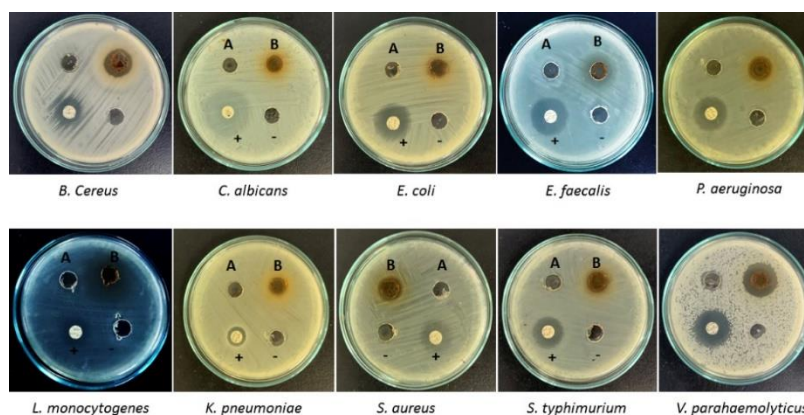
Cao Ethanol	150 μ g/ml	67,7 \pm 4,1	98,3 μ g/ml	69,4 \pm 3,2	88,6 μ g/ml
-------------	----------------	----------------	-----------------	----------------	-----------------

IC₅₀: nồng độ tại đó ức chế 50% tế bào ung thư.
tính kháng vi sinh vật của cao CoAEO

3.4.3. Hoạt tính kháng vi sinh vật của cao CoAEO

Bảng 3.6. Đường kính vòng tròn kháng vi sinh vật của cao CoAEO

Chủng	ĐK vòng kháng (cm)	Chủng	ĐK vòng kháng (cm)
<i>B. cereus</i> (G+)	0,52 \pm 0,02	<i>K. pneumoniae</i>	0,02
<i>C. albican</i>	0,05 \pm 0,03	<i>S. aureus</i> (G+)	0,25 \pm 0,05
<i>E. coli</i>	0,02	<i>S. typhimurium</i>	0,02
<i>E. faecalis</i> (G+)	0,40 \pm 0,06	<i>P. aeruginosa</i>	0,03 \pm 0,02
<i>L. monocytogenes</i> (G+)	0,75 \pm 0,03	<i>V. parahaemolyticus</i> (G-)	0,82 \pm 0,02



A: nồng độ mẫu - 100mg/mL B: nồng độ mẫu - 10mg/mL (-): DMSO 5%

Hình 3.3. Kháng vi sinh vật của cao CoAEO

Theo kết quả nghiên cứu của Ga và ctv.(2011) thì dịch chiết của cao methanol của nấm *Trametes gibbosa* có hoạt tính ức chế nhiều vi sinh vật cao hơn so với dịch chiết cao CoAEO.

Bảng 3. 17. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của cao chiết CoAEO

Cao	MIC	2,5	2,5	5,0	5,0	2,5
CoEAO	MBC	2,5	3,5	7,0	7,0	3,5
(mg/ml)						
Gentamicin	MIC	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2
(μ g/ml)	MBC	0,2	0,6	0,6	0,3	0,3

Kết quả Bảng 3.17 cho thấy nồng độ ức chế tối thiểu của dịch cao chiết CoEAO cao hơn dịch cao chiết methanol của nấm vân chi *Trametes versicolor* (Hleba và ctv, 2014). Khả năng kháng vsv cao chiết CoEAO so với kháng sinh thương mại Gentamicin vẫn thấp hơn.

3.5. Đánh giá độc tính dịch cao CoAEO trên chuột

3.5.1. Đánh giá độc tính cấp

Kết quả đánh giá độ an toàn và điều tra độc tính cấp tính đối với cao CoAEO đã được thử nghiệm ở liều mức liều cao (2000, 4000 và 6000 mg/kg thể trọng) trong 14 ngày không gây tác dụng phụ nghiêm trọng đối với sự phát triển cơ thể, trọng lượng cơ quan tương đối, các thông số huyết học, sinh hóa cũng như hình thái ngoài, mô bệnh học của tim, gan và thận ở chuột. Do đó, dịch cao CoAEO không có độc tính đối với chuột Swiss albino ở mức liều khảo sát.

3.5.2. Đánh giá độc tính mãn tính

Trong mô hình khảo sát độc tính bán mãn tính cao CoAEO, hình thái ngoài và mô học của các cơ quan nội tạng như tim, gan, thận, lá lách, tuyến ức, ... trong cơ thể có đặc điểm hình thái và chức năng không thay đổi đặc biệt giữa nhóm đối chứng với các nhóm thí nghiệm, chứng minh cho sự an toàn của cao CoAEO không gây ảnh hưởng tới các cơ quan nội tạng. Mẫu vật chúng tôi thu được trong nghiên cứu phù hợp với nghiên cứu của Natalia S và ctv.(2018), Subramanion L.J và ctv.(2011) (Fekih Hassen và ctv, 2013; Jothy và ctv, 2011).

3.6. Nghiên cứu ứng dụng tạo sản phẩm thực phẩm dạng bột hòa tan từ cao CoAEO.

3.6.1 Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ hỗn hợp các chất mang đến độ nhớt dịch sấy phun, hiệu suất thu hồi bột, độ ẩm bột và thời gian hòa tan của bột.

Kết quả ở Bảng 3.18 cho thấy tỷ lệ hỗn hợp chất mang 94:5:1 phù hợp để lựa chọn để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo. Kết quả này phù hợp với công trình nghiên cứu của nhóm tác giả Rajabi và ctv,(2015).

Bảng 3.78. Ảnh hưởng tỷ lệ các chất mang đến độ nhớt dịch sấy, hiệu suất thu hồi bột, độ ẩm bột và thời gian hòa tan.

Hàm mục tiêu	Tỷ lệ hỗn hợp các chất mang (maltodextrin:gum arabic:gelatin)							
	88:11:1	90:9:1	92:7:1	94:5:1	94:4:2	94:3:3	94:2:4	94:1:5
Độ nhớt (cP)	4,73 ±0,02 ^a	4,16 ±0,01 ^b	3,32 ±0,02 ^c	3,10 ±0,01 ^d	3,12 ±0,01 ^{de}	3,16 ±0,01 ^{ef}	3,18 ±0,01 ^{fg}	3,22 ±0,01 ^g
Hiệu suất (%)	38,33 ±0,15 ^a	43,23 ±0,14 ^b	50,35 ±0,25 ^c	58,10 ±1,21 ^{de}	57,46 ±1,20 ^d	58,06 ±0,40 ^d	58,63 ±0,05 ^{de}	58,50 ±0,20
Độ ẩm (%)	3,60 ±0,13 ^a	3,46 ±0,05 ^{ab}	3,40 ±0,02 ^{bc}	3,20 ±0,15 ^d	3,23 ±0,03 ^{de}	3,26 ±0,10 ^{de}	3,27 ±0,04 ^{de}	3,25 ±0,25 ^{de}
Thời gian hòa tan (phút)	2,76 ±0,05 ^a	2,46 ±0,15 ^b	2,06 ±0,05 ^c	1,43 ±0,12 ^f	1,53 ±0,10 ^{fe}	1,56 ±0,05 ^{fe}	1,60 ±0,10 ^{ed}	1,73 ±0,05 ^d

3.6.2. Khảo sát một yếu tố độc lập

Kết quả khảo sát các yếu tố độc lập trên chúng tôi chọn ra các mức dưới và trên của các yếu tố như sau: nhiệt độ đầu vào từ 130-160⁰C, hàm lượng chất mang từ 14-18%, lưu lượng nạp liệu 15-30 ml/phút.

3.6.3. Tối ưu hóa

- Phân tích thống kê và mô hình thích hợp

Phương trình Y_1 rút gọn: $Y_{1'} = 58,40 + 11,43X_1 - 2,79X_3 - 11,02X_1^2 - 3,98X_2^2 - 7,99X_3^2 - 3,87X_1X_3 - 3,29X_2X_3$ (1)

Trong phương trình (1) có thể thấy rằng các hệ số X_1 , X_1^2 có ảnh hưởng rất nhiều ($p < 0,001$). Các hệ số X_3^2 có ảnh hưởng nhiều ($p < 0,01$). Hệ số X_3 , X_1X_3 , X_2X_3 , X_2^2 có ảnh hưởng ($p < 0,05$). Còn lại các hệ số X_2 , X_1X_2 , không có ảnh hưởng ($p > 0,05$).

Phương trình Y_2 rút gọn: $Y_{2'} = 2,28 - 0,35X_1 + 0,07X_2 + 0,33X_3 + 0,51X_1^2 + 0,53X_2^2 + 0,68X_3^2 + 0,21X_1X_3 - 0,10X_2X_3$ (2)

Trong phương trình (2) có thể thấy rằng các hệ số X_1 , X_3 , X_1X_3 , X_1^2 , X_2^2 , X_3^2 có ảnh hưởng rất nhiều ($p < 0,001$). Các hệ số X_2 , X_2X_3 có ảnh hưởng nhiều ($p < 0,01$). Còn lại các hệ số X_1X_2 , không có ảnh hưởng ($p > 0,05$).

Phương trình Y_3 rút gọn: $Y_{3'} = 9,64 + 1,5737X_1 + 1,3175X_1^2 - 0,775X_1 X_2$ (3)

Trong phương trình (3) có thể thấy rằng các hệ số X_1 có ảnh hưởng rất nhiều ($p < 0,001$). Hệ số X_1^2 có ảnh hưởng nhiều ($p < 0,01$). Hệ số X_1X_2 có ảnh hưởng ít ($p < 0,05$). Còn lại các hệ số $X_2, X_3, X_1X_3, X_2X_3, X_2^2, X_3^2$ không có ảnh hưởng ($p > 0,05$).

Phương trình Y_4 rút gọn: $Y_4 = 4,5466 + 1,535X_1 + 1,266X_1^2$ (4)

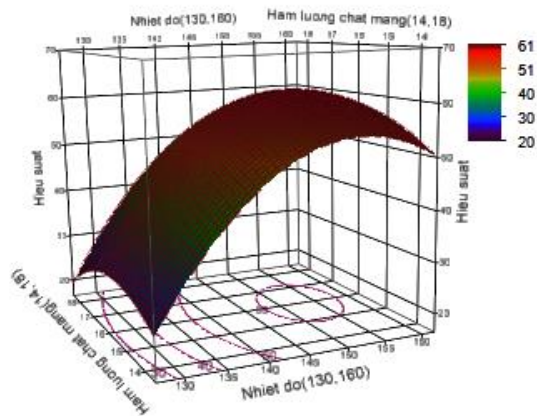
Trong phương trình (4) có thể thấy rằng các hệ số X_1 có ảnh hưởng rất nhiều ($p < 0,001$). Hệ số X_1^2 có ảnh hưởng ($p < 0,05$). Còn lại các hệ số $X_1X_2, X_2, X_3, X_1X_3, X_2X_3, X_2^2, X_3^2$ không có ảnh hưởng ($p > 0,05$).

Phương trình Y_5 rút gọn: $Y_5 = 2,5533 + 1,1312X_1 + 1,1095X_1^2$ (5)

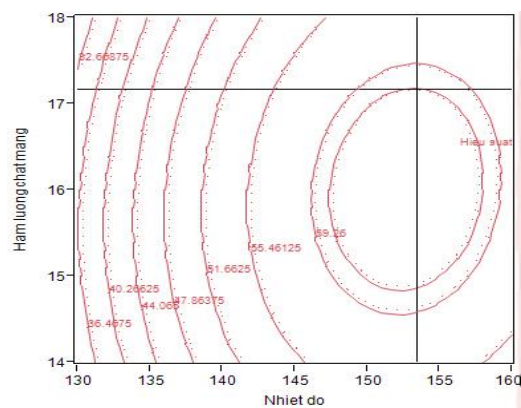
Trong phương trình (5) có thể thấy rằng các hệ số X_1 có ảnh hưởng rất nhiều ($p < 0,001$). Hệ số X_1^2 có ảnh hưởng nhiều ($p < 0,01$). Còn lại các hệ số $X_1X_2, X_2, X_3, X_1X_3, X_2X_3, X_2^2, X_3^2$ không có ảnh hưởng ($p > 0,05$).

Phương trình Y_5 rút gọn: $Y_6 = 1,23 + 0,7762X_1 + 0,47X_1^2 + 0,4825X_2^2 - 0,5375X_1X_2$ (6)

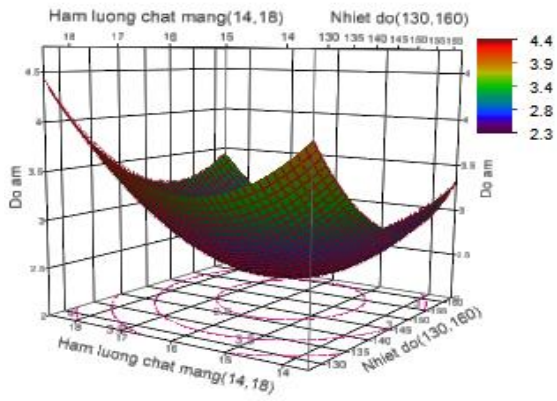
Trong phương trình (6) có thể thấy rằng các hệ số X_1 có ảnh hưởng rất nhiều ($p < 0,001$). Hệ số X_1^2, X_2^2, X_1X_2 có ảnh hưởng ($p < 0,05$). Còn lại các hệ số $X_2, X_3, X_1X_3, X_2X_3, X_3^2$ không có ảnh hưởng ($p > 0,05$).



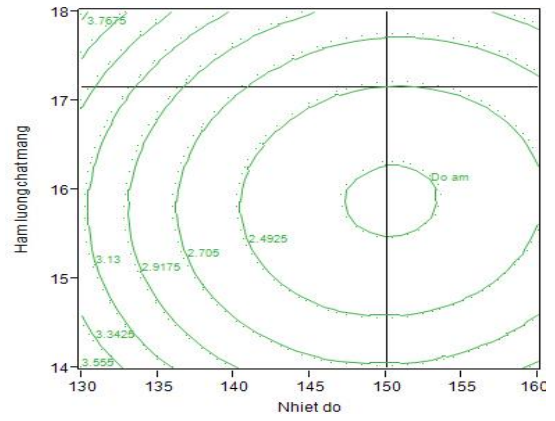
(a)



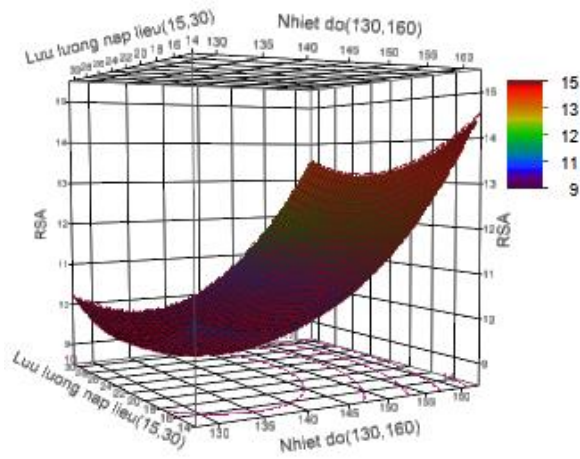
(a')



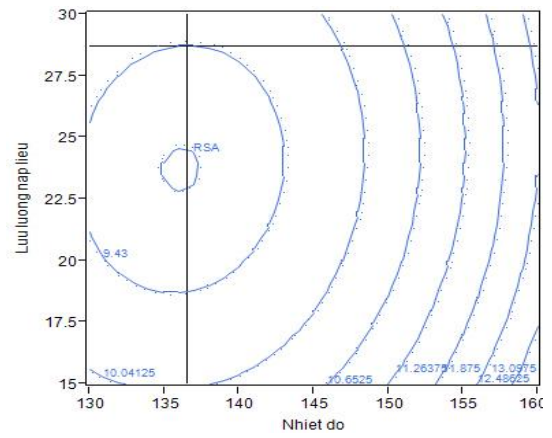
(b)



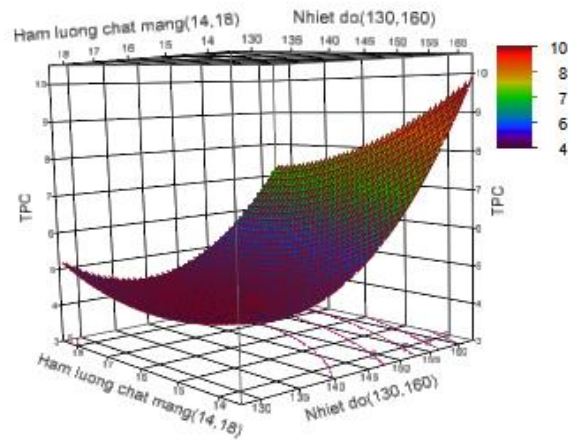
(b')



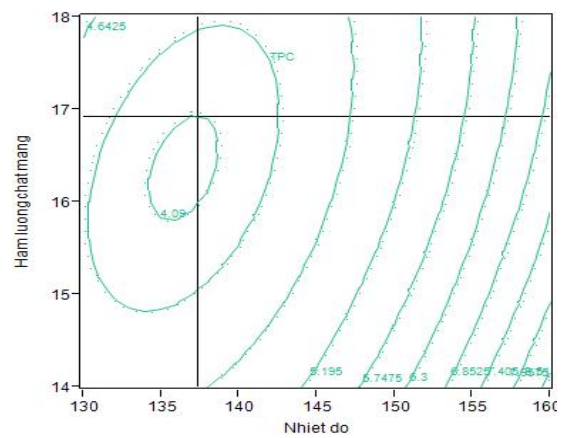
(c)



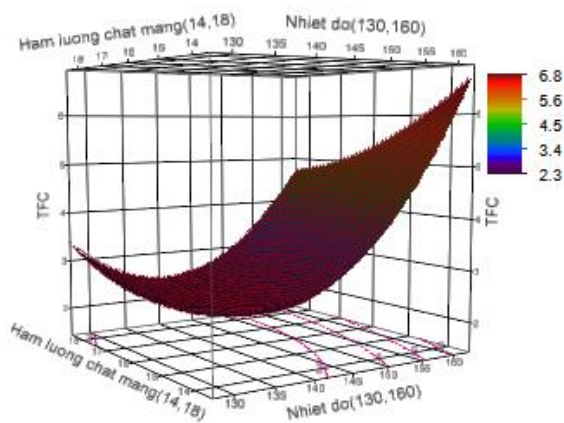
(c')



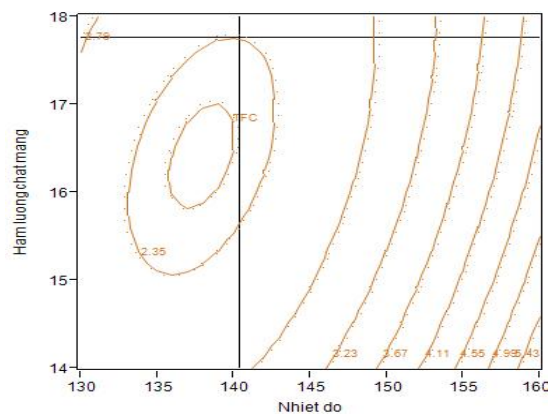
(d)



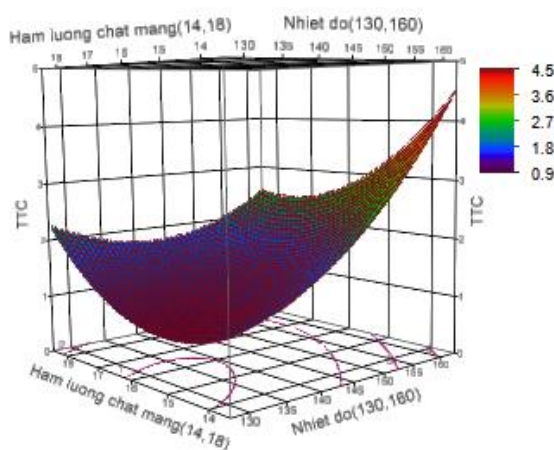
(d')



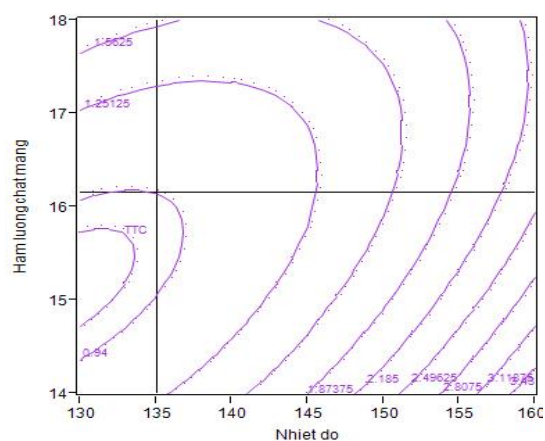
(e)



(e')



(f)



(f')

Hình 3.4. Đồ thị bề mặt đáp ứng 3D và đường đồng mức 2D của các hàm mục tiêu Y_{1-6} với ảnh hưởng của các biến độc lập X_{1-3}

Theo kết quả chạy tối ưu hóa trên phần mềm JMP đã đưa ra thông số tối ưu dự đoán ở Hình 3.4 cho quá trình sấy phun dịch cao chiết ethanol để hàm lượng TTC giảm ít nhất như sau: nhiệt độ sấy đầu vào 133°C , hàm lượng chất mang 16% (w/w), lưu lượng nạp liệu 22,5ml/phút khi đó phần mềm cho kết quả dự đoán các hàm mục tiêu lần lượt là: hiệu suất thu hồi bột 42,201%, độ ẩm bột 2,936% và độ giảm chống oxy hóa khả 9,224%, độ giảm TFC 2,358%, độ giảm TPC 4,124%, độ giảm TTC 0,909%.

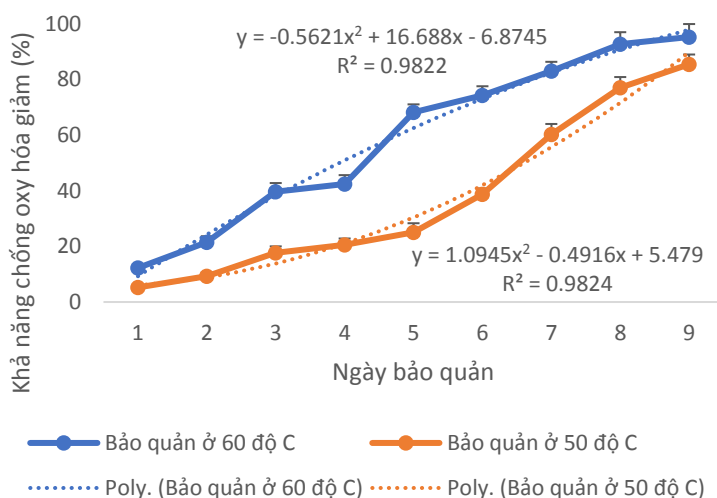
• Kiểm chứng thực nghiệm

Kết quả kiểm chứng đối với các hàm mục tiêu hoàn toàn giống với kết quả dự đoán. Điều đó có nghĩa là các giá trị dự đoán phù hợp với các giá trị tối ưu.

Kết luận: Dịch cao CoAEO được sấy phun với các điều kiện nhiệt độ sấy đầu vào 133°C, hàm lượng chất mang 16% (w/w), lưu lượng nạp liệu 22,5ml/phút thu được sản phẩm bột cao CoAEO có chứa các thành phần TPC, TFC, TTC cao và khả năng chống oxy hóa cao. Sản phẩm bột CoAEO hòa tan được đem nghiên cứu tiếp thời gian bảo quản để xem sự biến đổi các thành phần TPC, TFC, TTC và khả năng chống oxy hóa.

3.7. Xác định thời gian bảo quản sản phẩm bột CoAEO hòa tan.

Nhận xét ở Hình 3.5 khả năng chống oxy hóa (RSA) của sản phẩm giảm theo từng ngày ở nhiệt độ 60°C và 50°C. Ở nhiệt độ bảo quản 60°C trong 7 ngày, khả năng chống oxy hóa (RSA) của bột giảm hơn 80%. Còn ở nhiệt độ bảo quản 50°C thì đến ngày thứ 8, khả năng chống oxy hóa (RSA) của bột giảm hơn 80% điều đó cho thấy chất lượng của bột có sự biến đổi mạnh khi bảo quản bột ở nhiệt độ cao.



Hình 3.5. Thay đổi RSA trong sản phẩm ở các nhiệt độ bảo quản 60°C và 50°C.

Xác định thời hạn sử dụng của sản phẩm bột nấm vân chi sấy phun.

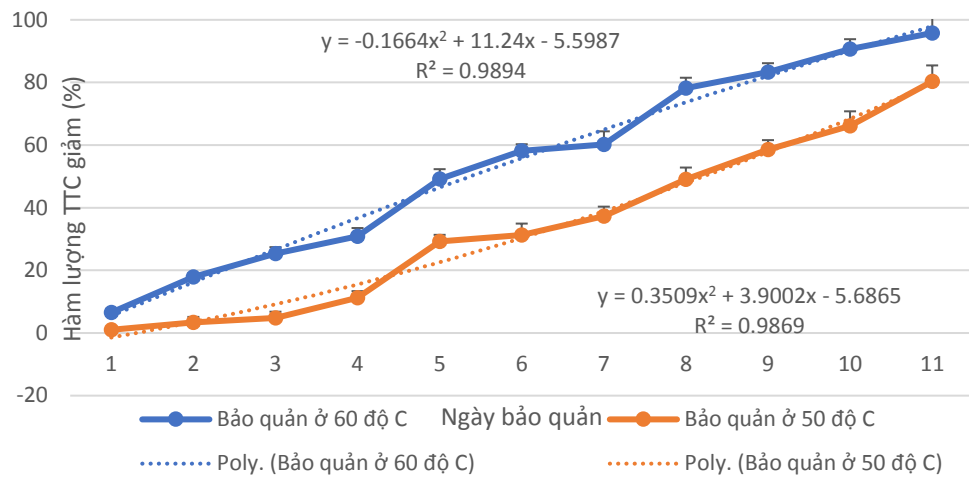
Với giả thuyết khả năng chống oxy hóa (RSA) giảm 20% so với ban đầu. Từ hình 3.13 ta có ở nhiệt độ 60°C thời gian bảo quản 1,708 ngày, còn ở nhiệt độ 50°C thời gian bảo quản 3,874 ngày.

Giá trị của Q10:

$$Q_{10} = 3,874 / 1,708 = 2,268$$

Thời gian bảo quản ở nhiệt độ mát 20°C (khả năng chống oxy hóa giảm 20% so với ban đầu) sẽ là:

$$F_2 = f_1 \times Q_{10}^{(\Delta/10)} = 1,708 \times [2,268]^{(40/10)} = 45,2 \text{ ngày}$$



Hình 3. 6. Thay đổi hàm lượng TTC trong sản phẩm ở 60°C và 50°C.

Nhận xét ở Hình 3.6 hàm lượng triterpene tổng (TTC) của sản phẩm giảm theo thời gian bảo quản. Ở nhiệt độ 60°C đến ngày thứ 10 thì hàm lượng giảm hơn 80 %. Còn ở nhiệt độ bảo quản 50°C thì đến ngày thứ 11 thì hàm lượng triterpene tổng (TTC) giảm hơn 80%.

Tương tự với giả thuyết hàm lượng triterpene tổng (TTC) giảm 20% so với ban đầu. Từ Hình 3.6 ta có ở nhiệt độ 60°C thời gian bảo quản 1,885 ngày, còn ở nhiệt độ 50°C thời gian bảo quản 4,645 ngày.

Giá trị của Q_{10} :

$$Q_{10} = 4,645 / 1,885 = 2,464$$

Thời gian bảo quản ở nhiệt độ mát 200C (hàm lượng triterpene tổng giảm 20% so với ban đầu) sẽ là:

$$F_2 = f_1 \times Q_{10}^{(\Delta/10)} = 1,885 \times [2,464]^{(40/10)} = 69,5 \text{ ngày}$$

Kiểm chứng mô hình:

Kết quả Bảng 3.19 cho thấy độ giảm RSA thực nghiệm giống như dự đoán trong thời gian 45,2 ngày và tương tự độ giảm TTC thực nghiệm cũng giống như dự đoán. Điều đó cho thấy kết quả dự đoán số ngày bảo quản 45,2 ngày đối với hàm mục tiêu là khả năng chống oxy hóa giảm 20% và 69,5 ngày đối với hàm mục tiêu là hàm lượng TTC giảm 20%, ở cùng điều kiện nhiệt độ 200C là phù hợp.

Bảng 3.89. Kiểm chứng mô hình thời hạn sử dụng ở 20°C

Ngày kiểm tra	Độ giảm RSA (%) thực nghiệm	Độ giảm RSA(%) dự đoán	Độ giảm TTC (%) thực nghiệm	Độ giảm TTC(%) dự đoán	P _{value}
45,2	19,32 ^a ±0,54	20 ^a	-	-	0,099
69,5	-	-	19,79 ^b ±0,14	20 ^b	0,066

Các chữ cái ký tự khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

“-“: không kiểm tra.

Các chữ cái ký tự khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

“-“: không kiểm tra.

3.14. Đánh giá sản phẩm bột nấm CoAEO hòa tan

3.14.1. Tỷ trọng của bột

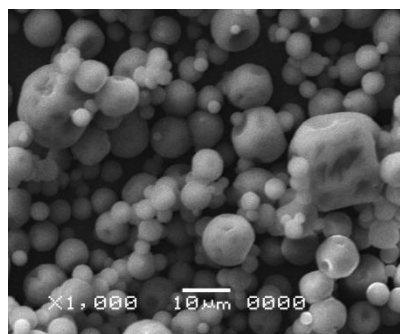
Kết quả đo tỷ trọng của bột $p = 1,108 \pm 0,023$, với kết quả này cho thấy bột CoEAO nặng hơn nước có khả năng tự lắng chìm. Nhưng với tác động lực khuấy thì sẽ làm gia tăng khả năng hòa tan của bột cao.

3.14.2. Khả năng hòa tan

Khả năng hòa tan của bột CoAEO 1,4 phút/1gram trong 50ml nước ở nhiệt độ 280C. Điều đó cho thấy bột có khả năng hòa tan nhanh thích hợp với sản phẩm thức uống dạng bột hòa tan.

3.14.3. Hình dạng của bột

Nhận thấy kích thước của bột nằm trong khoảng từ 1-30 μm , có dạng hạt đồng nhất, hình cầu phù hợp với kết quả nghiên cứu của Quoc và ctv. (2018) nhưng có ít nếp nhăn trên bề mặt phù hợp hơn (Quoc và Muoi, 2018).



Hình 3.7. Ảnh chụp SEM của bột CoEAO ở độ phóng đại 1000x

3.14.4. Khả năng thấm ướt của bột

Kết quả khả năng thấm ướt của bột CoEAO là 227 ± 12 giây. So với kết quả nghiên cứu của Quoc và ctv. (2018) về bột sấy phun từ quả thơm thì bột CoEAO có khả năng thấm ướt nhanh hơn đồng nghĩa thời gian hòa tan trong nước cũng tốt hơn.

3.14.5. Khả năng khử gốc tự do của bột CoAEO hòa tan

Khả năng khử gốc tự do của bột CoAEO được thể hiện trong Bảng 3.20. Mẫu được đem kiểm tra ở Viện hóa học và các hợp chất thiên nhiên.

Bảng 3.209. Khả năng khử gốc tự do của bột CoAEO hòa tan

Kí hiệu mẫu	Khả năng trung hòa gốc tự do (SC, %)	Nồng độ đầu thử nghiệm (mg/ml)	IC ₅₀ (mg/mL)
Chứng (+) [Acid ascorbic]	$93,82 \pm 2,95$	0,035	0,019
Chứng (-) [DPPH/EtOH + DMSO]	0,0	-	
Bột CoAEO	$61,43 \pm 4,71$	0,5	0,31

3.14.6. Khả năng ức chế tế bào ung thư cổ tử cung và tế bào ung thư gan của bột CoAEO hòa tan.

Khả năng ức chế tế bào ung thư cổ tử cung (HeLa) và tế bào ung thư gan (Hep-G2) của bột sấy phun được thể hiện trong Bảng 3.21 và phức lục H. Mẫu được kiểm tra ở Viện hóa học và các hợp chất thiên nhiên.

Bảng 3. 21. Khả năng ức chế tế bào ung thư cổ tử cung (HeLa) và tế bào ung thư gan (Hep-G2) của bột CoAEO hòa tan

Kí hiệu mẫu	Nồng độ thử cao nhất	Tế bào HeLa		Tế bào Hep-G2	
		Tỷ lệ ức chế tế bào (%)	IC ₅₀	Tỷ lệ ức chế tế bào (%)	IC ₅₀
Chứng (-) [DMSO]	0,1%	0	-	0	-
Chứng (+) [Ellipticine]	5 μ g/ml	90,2 \pm 3,7	3,46 μ M	84,2 \pm 2,4	3,23 μ M
Bột CoAEO	200 μ g/ml	60,9 \pm 3,1	77,5 μ g/ml	57,4 \pm 6,2	76,2 μ g/ml

3.14.7.Độ an toàn sinh học của sản phẩm bột CoAEO hòa tan

Trong phụ lục PLJ.3 ở bảng j.1 cho thấy trong 100g sản phẩm bột cao CoAEO hòa tan có hàm lượng TTC 10,35 mg oleanolic. Hàm lượng này nằm trong giới hạn an toàn khi kiểm tra độc tính cấp và mãn tính là 781,8 mg oleanolic/kg thể trọng và 52,12 mg oleanolic/kg thể trọng trong phân tích toán ở phụ lục PLJ.2. Vì vậy có thể nói hàm lượng TTC (mg oleanolic) trong 100g bột cao CoAEO hòa tan nằm trong mức an toàn.

Kết luận

Kết quả phương pháp kết hợp nitơ lỏng và siêu âm cho kết quả phá vỡ sợi tơ nấm đạt hiệu quả cao. Trong nghiên cứu điều kiện trích ly đã lựa chọn được dung môi ethanol dùng để trích ly để thu được hàm lượng TTC cao, định tính thành phần của dịch cao chiết ethanol cho thấy có sự hiện diện của nhiều hợp chất như phenolic, tannin, alkaloid, terpenoid, steroid, flavonoid, saponin và coumarin có hoạt tính sinh học cao. Bên cạnh đó cũng đã định lượng được một số thành phần có hoạt tính sinh học trong dịch chiết ethanol của nấm cho thấy hàm lượng TPC, TFC, TTC và RSA cao. Kết quả tối ưu điều kiện trích ly đã tìm ra các thông số của các yếu tố nhiệt độ trích ly, tỷ lệ dung môi ethanol với nguyên liệu, thời gian trích ly và nồng độ dung môi ethanol để trích ly thu được hàm lượng TTC cao nhất. Quá trình phân lập hợp chất trong cao chiết ethanol đã xác định được 9 chất sạch là trametenolic B, cerevisterol, ergosterol, ergosterol peroxit. Từ cao nước thu được hợp chất trans- p-hydroxycoumaric acid, methyl ferulat, methyl (2-hydroxyphenyl) acetat, umbelliferone, 8-hydroxy-3,4-dimethylisocoumarin. Kết quả nghiên cứu hoạt tính sinh học của cao chiết ethanol cho thấy dịch cao chiết có khả năng khử gốc tự do cao, hoạt tính gây độc và ức chế tế bào ung thư tốt trên 2 tế bào ung thư cổ tử cung và tế bào ung thư gan, khả năng kháng vi sinh vật cao trên 5 chủng *V. parahaemolyticus* ATCC 17802, *L. monocytogenes* ATCC 19111, *B. cereus* ATCC 11778, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212 những chủng này rất có ý nghĩa trong đánh giá trong an toàn thực phẩm. Kết quả đánh giá độ an toàn của dịch cao CoAEO trong điều tra độc tính cấp tính và độc tính bán mãn tính đối với chiết xuất ethanol từ quả thể nấm *C. aspera* cho thấy cao CoAEO đã được thử nghiệm ở liều mức liều cao (2000, 4000 và 6000 mg/kg thể trọng) trong 14 ngày không gây tác dụng phụ nghiêm trọng đối với sự phát triển cơ thể, trọng lượng cơ quan tương đối, các thông số huyết học, sinh hóa cũng như hình thái ngoài, mô bệnh học của

tim, gan và thận ở chuột. Tương tự đối với khả sát độc tính bán mãn tính trong 12 tuần cho được kết quả tốt. Do đó, cao CoAEO từ quả thể nấm *C. aspera* không có độc tính đối với chuột Swiss albino ở mức liều khảo sát. Mặt khác, nghiên cứu ứng dụng dịch chiết ethanol để tạo thành sản phẩm bột theo phương pháp sấy phun đã xác định các thông số tối ưu của các yếu tố bao gồm nhiệt độ sấy, hàm lượng chất mang, lưu lượng nạp liệu để tạo ra sản phẩm bột có phần trăm độ giảm TTC là thấp nhất. Sản phẩm bột sấy phun tạo ra được bảo quản và xác định được mô hình thời gian bảo quản (shelf-life) của sản phẩm. Sử dụng mô hình Q_{10} đã xác định thời gian bảo quản là 45,2 ngày, ở nhiệt độ 20⁰C thì khả năng chống oxy hóa RSA giảm 20%. Thời gian bảo quản 69,5 ngày, ở nhiệt độ 20⁰C thì phần trăm TTC giảm 20%.

Kiến nghị

- Trong thành phần của dịch trích ly còn những chất chưa tách được, nên nghiên cứu chuyên sâu vào từng loại chất khác ở các nghiên cứu tiếp theo.
- Khảo sát thêm một số ức chế tế bào ung thư khác, từ đó xác định khả năng ứng dụng mới cho các chiết xuất này.
- Khảo sát thêm khả năng ức chế vi sinh vật ở sản phẩm bột, từ đó xác định thêm khả năng ứng dụng mới trong lĩnh vực thực phẩm.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ

1. CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT, ANTI-INFLAMMATORY, AND ANTICANCER EFFECTS OF EXTRACT FROM YUNZHI MUSHROOM (*CORIOLOPSIS ASPERA*) IN VIETNAM. *Pharmacophore*, 11(4).
2. Secondary Metabolites from the Fruiting Bodies of *Coriolopsis aspera* in Vietnam and their Bioactivities. *Chemistry of Natural Compounds*, 57(6), 1104-1106. doi: <https://doi.org/10.1007/s10600-021-03559-9>
3. Đánh giá độc tính cấp tính dịch cao chiết ethanol từ quả thể nấm vân chi (*Coriolopsis aspera*) ở Việt Nam trên chuột Swiss albino. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Trường Đại học Công nghiệp TP.HCM*, 49, 77-83.
4. TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN SẤY PHUN DỊCH TRÍCH LY NẤM VÂN CHI (*Coriolopsis aspera*) TẠI VIỆT NAM *Tạp chí Phân tích Hóa, Lý và Sinh học*.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ CHỜ ONLINE

5. Optimization of the extraction process of bioactive compounds from the fruiting body of yunzhi mushroom (*Coriolopsis aspera*) in Vietnam by responses surface methodology. *ARTICLE IN MALAYSIAN JOURNAL OF CHEMISTRY*.