

ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG
TRƯỜNG ĐẠI HỌC BÁCH KHOA

NGUYỄN THỊ BÍCH HẰNG

THU NHẬN, ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH PREBIOTIC CỦA
POLYSACCHARIDE TỪ SỢI NẤM (*Cordyceps militaris*,
Trametes versicolor) VÀ BƯỚC ĐẦU ỨNG DỤNG SINH
KHÔI TRONG CHẾ BIẾN THỰC PHẨM BỔ SUNG

Chuyên ngành: Công nghệ thực phẩm

Mã số: 9540101

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KỸ THUẬT

Công trình được hoàn thành tại

TRƯỜNG ĐẠI HỌC BÁCH KHOA

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

- 1. PGS.TS. ĐẶNG MINH NHẬT**
- 2. TS. NGUYỄN HOÀNG DŨNG**

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Luận án sẽ được bảo vệ tại hội đồng chấm luận án tiến sĩ họp tại Đại học
Bách Khoa vào ngày tháng năm 2026

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Trung tâm Công nghệ thông tin và Học liệu số, Đại học Đà Nẵng
- Trung tâm Học liệu và Truyền thông, Trường Đại học Bách Khoa
- Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài

Trong những năm gần đây, với sự gia tăng nhanh chóng các bệnh mạn tính không lây nhiễm liên quan đến hội chứng chuyển hóa điển hình như đái tháo đường, béo phì, gout và các bệnh đường tiêu hóa thì vai trò của hệ vi sinh vật đường ruột đối với sức khỏe con người ngày càng được quan tâm.

Prebiotic đóng vai trò là nguồn cơ chất chọn lọc cho các lợi khuẩn (probiotic) sinh trưởng từ đó thiết lập và duy trì sự cân bằng của hệ vi sinh vật đường ruột. Đặc biệt, quá trình lên men prebiotic bởi lợi khuẩn còn sản sinh ra các acid béo chuỗi ngắn (SCFAs) giúp nuôi dưỡng đại tràng, tăng cường hấp thụ khoáng chất, điều hòa pH, giảm ung thư đại trực tràng, viêm ruột và các rối loạn bất thường của ruột.

Xuất phát từ những lợi ích sức khỏe thiết yếu mà prebiotic mang lại, các nỗ lực nghiên cứu hiện nay đang tập trung khai phá những nguồn nguyên liệu mới có hiệu suất cao và tính an toàn sinh học vượt trội. Trong bối cảnh đó, nấm nổi lên như một đối tượng tiềm năng nhờ thành phần cấu tạo giàu carbohydrate không tiêu hóa được như chitin, hemicellulose, β - và α -glucans, mannan, xylan và galactan, các polysaccharide này, cùng với các đường chuỗi ngắn (glucose, galactose, fructose và N-acetylglucosamine), đóng vai trò là chất nền đặc hiệu kích thích sự tăng trưởng của hệ vi sinh vật có lợi, đặc biệt là *Bifidobacteria* và *Lactobacillus*.

Polysaccharide từ nấm (đặc biệt là từ *Cordyceps militaris* và *Trametes versicolor*) lại sở hữu cấu trúc bền vững, không bị tiêu hóa ở dạ dày và có khả năng kích thích chọn lọc các lợi khuẩn như *Lactobacillus* và *Bifidobacterium* rất hiệu quả. *C. militaris* từ lâu đã nổi tiếng trong y học cổ truyền với khả năng tăng cường sinh lực, hỗ trợ chức năng phổi và điều hòa miễn dịch. Trong khi đó, *T. versicolor* được biết đến như một kho tàng của β -glucan và các phức hợp polysaccharide-peptide (như PSP, PSK), đã được ứng dụng rộng rãi trong hỗ trợ điều trị ung thư và kích thích miễn dịch. Tuy nhiên, thực tế cho thấy việc khai thác và sử dụng hai loài nấm này hiện nay chủ yếu vẫn tập trung vào quả thể. Phương pháp nuôi trồng quả thể truyền thống (trên cơ chất rắn) thường tốn nhiều thời gian, phụ thuộc vào yếu tố thời tiết, khó kiểm soát chất lượng đồng nhất và chi phí sản xuất cao, gây trở ngại cho việc ứng dụng đại trà trong công nghiệp. Để giải quyết bài toán này, hướng đi tập trung vào sinh khối hệ sợi nấm thông qua công nghệ nuôi cấy dịch thể (SmF) đang nổi lên như một giải pháp ưu việt. So với nuôi trồng quả thể hay lên men rắn (SSF), SmF cho phép rút ngắn đáng kể thời gian sinh trưởng, dễ dàng kiểm soát các thông số môi trường (pH, nhiệt độ, oxy hòa tan) và thuận lợi cho việc mở rộng

quy mô công nghiệp để thu nhận sinh khối hữu cơ sợi nấm. Quan trọng hơn, nhiều nghiên cứu đã chứng minh hệ sợi nấm nuôi cấy dịch thể không chỉ có năng suất sinh khối cao mà còn tích lũy các polysaccharide với hoạt tính sinh học đặc trưng.

Tuy nhiên, đa số các nghiên cứu hiện nay mới chỉ dừng lại ở việc tách chiết hoạt chất từ quả thể, trong khi tiềm năng prebiotic của sinh khối hệ sợi nấm nuôi cấy dịch thể vẫn là một khoảng trống lớn chưa được khai phá tương xứng. Xuất phát từ thực tiễn và các luận điểm khoa học nêu trên, đề tài “**Thu nhận, đánh giá hoạt tính prebiotic của polysaccharide từ sợi nấm (*Cordyceps militaris*, *Trametes versicolor*) và bước đầu ứng dụng sinh khối trong chế biến thực phẩm bổ sung**” được thực hiện.

2. Mục tiêu nghiên cứu

2.1. Mục tiêu chung

Xác lập cơ sở khoa học về điều kiện nuôi cấy, đặc điểm hình thái và hoạt tính sinh học (chống oxy hóa, prebiotic) của các phân đoạn polysaccharide từ hệ sợi nấm *Cordyceps militaris* và *Trametes versicolor*; từ đó đánh giá khả năng ứng dụng sinh khối nấm trong chế biến sản phẩm thực phẩm định hướng chức năng dạng nước uống lên men giàu hoạt tính sinh học.

2.2. Mục tiêu cụ thể

- Tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy dịch thể sợi nấm nhằm thu nhận tối đa hiệu suất sinh khối và hàm lượng polysaccharide cao nhất từ hai chủng nấm *Cordyceps militaris* và *Trametes versicolor*.
- Đánh giá, so sánh hiệu suất thu nhận, đặc điểm hình thái và các hoạt tính sinh học (prebiotic và kháng oxy hóa) của các phân đoạn polysaccharide được chiết xuất tuần tự bằng nước nóng (HWE), kiềm (AE) và acid (AEc).
- Khảo sát khả năng ứng dụng sinh khối sợi nấm trong chế biến nước nấm bào ngư lên men lactic giàu probiotic và có các hoạt tính sinh học hỗ trợ sức khỏe như chống oxy hóa và kháng khuẩn.

3. Đối tượng, phạm vi nghiên cứu

- Sợi nấm: bao gồm 2 chủng *Cordyceps militaris* và *Trametes versicolor*
- Về không gian: nghiên cứu được thực hiện tại các phòng thí nghiệm Sinh học tại Khoa Sinh – Nông nghiệp - Môi trường, Trường Đại học Sư Phạm và Khoa Hóa, Trường Đại học Bách Khoa - Đại học Đà Nẵng
- Về thời gian: Nghiên cứu được thực hiện trong 4 năm từ 2021 đến 2025

4. Nội dung nghiên cứu

Tối ưu điều kiện nuôi cấy dịch thể nhằm thu nhận sinh khối và polysaccharide từ sợi nấm. Tách chiết tuần tự và đánh giá hình thái, hoạt tính

kháng oxi hoá, prebiotic của các chiết xuất Polysaccharide. Ứng dụng sợi nấm chế biến sản phẩm thực phẩm bổ sung

5. Ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn của luận án

5.1. Ý nghĩa khoa học

Luận án cung cấp bộ dữ liệu khoa học đầy đủ và có hệ thống về ảnh hưởng của các yếu tố dinh dưỡng (C, N) và môi trường (pH) đến sinh khối và sự tích lũy polysaccharide của hệ sợi nấm *Cordyceps militaris* và *Trametes versicolor* trong điều kiện nuôi cấy chìm.

Chứng minh mối liên hệ giữa phương pháp chiết và hoạt tính sinh học: Luận án đi sâu phân tích so sánh các polysaccharide chiết xuất tuần tự (nước, kiềm, acid). Kết quả đã phát hiện và khẳng định vai trò quan trọng của phân đoạn chiết xuất bằng acid (A-PS) đối với hoạt tính prebiotic (chỉ số PI cao, tăng sinh SCFA mạnh), đóng góp một góc nhìn mới về việc lựa chọn phương pháp chiết tách để định hướng chức năng cho sản phẩm đích, thay vì chỉ tập trung vào chiết nước nóng truyền thống.

Kết quả nghiên cứu cung cấp các bằng chứng định lượng cụ thể về khả năng kháng tiêu hóa (α -amylase), chỉ số prebiotic (PI) và đặc biệt là lượng axit béo chuỗi ngắn (SCFAs - Acetate, Propionate, Butyrate) được sản sinh từ PS nấm do các chủng lợi khuẩn đặc hiệu (*L. plantarum*, *L. casei*, *B. Animalis*, *L. Pentosus*, *P. acidilactici*) lên men. Điều này góp phần củng cố cơ sở lý luận cho việc sử dụng sợi nấm được liệu như một nguồn prebiotic.

Cung cấp nền tảng khoa học cho các nghiên cứu sâu hơn về đặc tính phân tử, cấu trúc hóa học và tương tác sinh học của PS đối với hệ sinh thái đường ruột cũng như việc tìm kiếm phát hiện các phân tử PS mới từ sợi nấm.

5.2. Ý nghĩa thực tiễn

Thiết lập được các điều kiện tối ưu cho quy trình nuôi cấy dịch thể nấm *C. militaris* và *T. versicolor* để đạt hiệu suất sinh khối và hàm lượng polysaccharide cao. Đây là giải pháp công nghệ khả thi để tạo ra nguồn sinh khối hữu cơ, giúp chủ động nguồn nguyên liệu ổn định cho công nghiệp thực phẩm và dược phẩm, đồng thời nuôi cấy dịch thể cũng là phương thức nhân giống nhanh, nâng cao năng suất hiệu quả nuôi trồng nấm, hiện đại hóa công nghệ nuôi trồng nấm.

Đa dạng hóa sản phẩm thực phẩm hỗ trợ sức khỏe từ nấm: Kết quả nghiên cứu ứng dụng đã tạo ra sản phẩm "Nước nấm Bào ngư lên men bổ sung hệ sợi nấm *Trametes versicolor*" với chất lượng cảm quan tốt, đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm và sở hữu hoạt tính sinh học (kháng khuẩn, prebiotic) đã được kiểm chứng. Đây là mô hình sản phẩm thực tế, có tiềm năng thương mại hóa, đáp ứng xu hướng tiêu dùng thực phẩm xanh và hỗ trợ sức khỏe đường ruột.

6. Bố cục của luận án

Luận án gồm 133 trang (không kể phần phụ lục và TLTK), kết cấu bao gồm: Mở đầu có 5 trang trình bày tính cấp thiết, mục tiêu, nội dung, phương pháp nghiên cứu, ý nghĩa khoa học, ý nghĩa thực tiễn của luận án.

Nội dung chính gồm 3 chương:

Chương 1: Tổng quan vấn đề nghiên cứu gồm 38 trang;

Chương 2: Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu, gồm có 22 trang;

Chương 3: Kết quả nghiên cứu và thảo luận gồm có 63 trang;

Phần kết luận và kiến nghị gồm 3 trang; Danh mục các công trình nghiên cứu đã công bố 1 trang. Ngoài ra, phần tài liệu tham khảo gồm 21 trang. Trong luận án tổng cộng có 24 bảng, 30 hình vẽ và đồ thị. Có 223 tài liệu tham khảo gồm tiếng Anh và tiếng Việt là các bài báo được công bố trong tạp chí khoa học và sách.

Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Giới thiệu về nấm *Cordyceps militaris* và *Trametes versicolor*

1.1.1. Đặc điểm phân loại và giá trị truyền thống

1.1.2. Các hợp chất hoạt tính sinh học chính của *Cordyceps militaris*

1.1.3. Các hợp chất hoạt tính sinh học chính của *Trametes versicolor*

1.2. Tổng quan về hoạt tính prebiotic

1.2.1. Lịch sử và định nghĩa của prebiotic

Khái niệm “prebiotic” lần đầu tiên được giới thiệu vào năm 1999 bởi Gibson và Roberfroid. Vào năm 2017, một nhóm chuyên gia của ISAPP tiếp tục cập nhật định nghĩa chính thức của prebiotic để phản ánh những phát hiện mới nhất, đồng thời mở rộng phạm vi khái niệm. Theo đó, prebiotic được định nghĩa là “một chất nền được sử dụng chọn lọc bởi các vi sinh vật của vật chủ, đem lại lợi ích sức khỏe cho vật chủ”.

1.2.2. Tiêu chí phân loại và cơ chế hoạt động của prebiotic

Tiêu chí thứ nhất là không bị tiêu hóa hay hấp thu tại ruột non. Tiêu chí thứ hai là bị lên men chọn lọc bởi một số nhóm vi sinh vật có lợi trong hệ vi sinh đường ruột. Tiêu chí thứ ba, đồng thời là mục tiêu cuối cùng của prebiotic, là mang lại lợi ích sinh lý rõ rệt cho vật chủ.

1.2.3. Tiềm năng prebiotic của *Cordyceps militaris* và *Trametes versicolor*

C. militaris và *T. versicolor* nổi bật như hai đại diện tiêu biểu nhờ sự đa dạng cấu trúc PS, khả năng sinh tổng hợp hợp chất sinh học có giá trị, và tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong lĩnh vực thực phẩm chức năng và dược phẩm hiện đại.

1.2.4. Tình hình nghiên cứu prebiotic

1.2.4.1. Tại Việt Nam

Ở Việt Nam, các nghiên cứu tập trung vào nghiên cứu nuôi trồng và đánh giá chất lượng và hoạt tính quả thể và một số ít hệ sợi nấm. Các công trình

ngiên cứu và công bố về prebiotic còn hạn chế. Hiện nay, trên thị trường chủ yếu các sản phẩm có chức năng cải thiện đường ruột được bổ sung prebiotic là từ thực vật như FOS, GOS. Prebiotic vẫn còn khá mới ở nước ta vì vậy cần nhiều hơn các nghiên cứu về nó.

1.2.4.2. Trên thế giới

Với những tác dụng tuyệt vời mà prebiotics mang lại cho sức khỏe đã có rất nhiều nghiên cứu về phương thức sản xuất, công dụng, khả năng kích thích sinh trưởng của probiotics, cũng như các nguồn nguyên liệu để sản xuất prebiotics. Nhưng những nghiên cứu về nguồn nguyên liệu sản xuất prebiotics chủ yếu là về thực vật, chưa có nhiều nghiên cứu về nấm. hiện nay, nấm đang được quan tâm như nguồn nguyên liệu sản xuất prebiotics mới, an toàn, hiệu quả.

1.3. Tổng quan về polysaccharide trong nấm và phương pháp chiết xuất

1.3.1. Polysaccharide trong quả thể và hệ sợi nấm

1.3.2. Các phương pháp chiết tách polysaccharide từ nấm

1.3.3. Cơ sở khoa học sử dụng HWE, AE và AEC trong nghiên cứu chiết tách Polysaccharide từ nấm

a. Tính kinh điển, độ tin cậy và cơ sở khoa học vững chắc

b. Khả năng thu hồi phổ rộng các loại polysaccharide

c. Tính khả thi và kinh tế kỹ thuật trong bối cảnh Việt Nam

d. Tính ổn định và giảm nguy cơ biến đổi cấu trúc

e. Khía cạnh kinh tế và nguồn lực nghiên cứu

1.4. Phương pháp nuôi cấy dịch thể

1.4.1 Giới thiệu về nuôi cấy dịch thể

Kỹ thuật nuôi cấy dịch thể (submerged fermentation – SmF) hay còn gọi là lên men dịch thể là một phương pháp nuôi cấy vi sinh vật trong môi trường lỏng dinh dưỡng, được khuấy trộn và sục khí nhằm tối ưu hóa sự phát triển của tế bào và/hoặc sự tạo thành các hợp chất chuyển hóa.

1.4.2. Ưu điểm của nuôi cấy dịch thể

Kiểm soát chính xác các điều kiện môi trường như pH, nhiệt độ, nồng độ oxy hòa tan, tốc độ khuấy và sục khí; Cho hiệu suất sinh khối cao hơn trong thời gian ngắn hơn; khả năng thu sinh khối và chiết tách hoạt chất dễ dàng hơn; dễ dàng mở rộng quy mô thông qua hệ thống bioreactor với thể tích từ vài lít đến hàng nghìn lít, đồng thời duy trì được độ lặp lại và ổn định của sản phẩm.

1.4.3. Các yếu tố ảnh hưởng trong quá trình nuôi cấy dịch thể

1.4.3.1. Thành phần môi trường nuôi cấy

a. Nguồn carbon

b. Nguồn nitrogen

c. Vi chất và khoáng

1.4.3.2. Các điều kiện vật lý

a. pH môi trường

b. Nhiệt độ

c. Oxy hòa tan và sự thông khí

1.4.3.3. Hình thái hệ sợi và khả năng trao đổi chất

1.4.3.4. Các yếu tố sinh học và điều kiện nuôi cấy

a. Chủng nấm

b. Tuổi cây và tỷ lệ cây

1.5. Tổng quan về khả năng kháng oxy hóa

1.5.1. Khái niệm và cơ chế

Khả năng kháng oxy hóa là thuật ngữ dùng để mô tả năng lực của một chất hoặc hệ thống sinh học trong việc vô hiệu hóa các gốc tự do (free radicals) và các loại oxy phản ứng (reactive oxygen species, ROS), từ đó bảo vệ tế bào khỏi tổn thương oxy hóa.

1.5.2. Khả năng kháng oxy hóa của một số hợp chất có trong *Cordyceps militaris* và *Trametes versicolor*

Nấm dược liệu từ lâu đã được sử dụng trong y học cổ truyền và ngày càng được chú ý như những nguồn chất chống oxy hóa tự nhiên phong phú. Trong số đó, *C. militaris* và *T. versicolor* nổi bật nhờ đa dạng các hợp chất hoạt tính sinh học có khả năng chống lại stress oxy hóa thông qua nhiều cơ chế hỗ trợ nhau.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Chủng nấm *C. militaris* và *T. versicolor*.

Chủng *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactiplantibacillus casei* 01, *Bifidobacterria animalis* YC381, *Lactiplantibacillus pentosus* NH1, *Pediococci acidilactici* NBD8.

Chủng hại khuẩn *Escherichia coli* ATCC 85922 và *Staphylococcus aureus* ATCC 25023.

Prebiotics thương mại FOS.

Nấm Bào ngư (*Pleurotus ostreatus*).

2.2. Hoá chất, thiết bị và dụng cụ

2.2.1. Hóa chất

2.2.2. Thiết bị và dụng cụ

2.3. Phạm vi

2.4. Sơ đồ nghiên cứu

2.5. Phương pháp thực hiện các nội dung nghiên cứu

2.5.1. Nội dung 1: Tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy dịch thể nhằm thu nhận sinh khối và polysaccharide từ hệ sợi nấm

- a. Nuôi cấy hệ sợi nấm
- b. Đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố đơn biến đến năng suất sinh khối và hàm lượng PS nấm *C. militaris*
- c. Đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố đơn biến đến năng suất sinh khối và hàm lượng PS nấm *T. versicolor*
- d. Tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy thu nhận sinh khối và polysaccharide từ hệ sợi nấm

- Phương pháp thu nhận và xác định năng suất sinh khối hệ sợi nấm
- Phương pháp xác định hàm lượng PS hệ sợi nấm

2.5.2. Nội dung 2: Chiết xuất tuần tự và đánh giá hình thái, hoạt tính kháng oxi hoá, prebiotic của các chiết xuất PS

- a. Chiết xuất tuần tự và định lượng các phân đoạn polysaccharide sợi nấm
- b. Phân tích bề mặt các phân đoạn polysaccharide
- c. Đánh giá khả năng kháng oxi hoá bằng phương pháp ABTS
- d. Đánh giá hoạt tính prebiotic

- Khả năng kích thích vi sinh vật có lợi
- Chỉ số prebiotic
- Khả năng kháng tiêu hóa
- Khả năng ức chế hại khuẩn của dịch nuôi cấy *L. plantarum* bổ sung PS
- Định lượng SCFAs

2.5.3. Nội dung 3: Ứng dụng hệ sợi nấm chế biến sản phẩm thực phẩm bổ sung

- a. Đánh giá an toàn bột sợi nấm
 - b. Quy trình sản xuất nước nấm bào ngư lên men bổ sung hệ sợi nấm *Trametes versicolor*
 - c. Các phương pháp đánh giá chất lượng sản phẩm đồ uống lên men
- Xác định hàm lượng acid tổng số
 - Đánh giá khả năng trung hoà gốc tự do ABTS⁺ của dịch chiết nấm bào ngư bổ sung sợi nấm *T. versicolor*
 - Xác định mật độ tế bào vi khuẩn *Lactobacillus plantarum*
 - Đánh giá sự ức chế sinh trưởng của vi sinh vật có hại
 - Đánh giá cảm quan
 - Đánh giá an toàn chất lượng sản phẩm

2.6. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại. Thí nghiệm so sánh, thống kê và phân tích sử dụng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) trên phần mềm Minitab 19.0, sai khác có ý nghĩa thống kê được xác định với

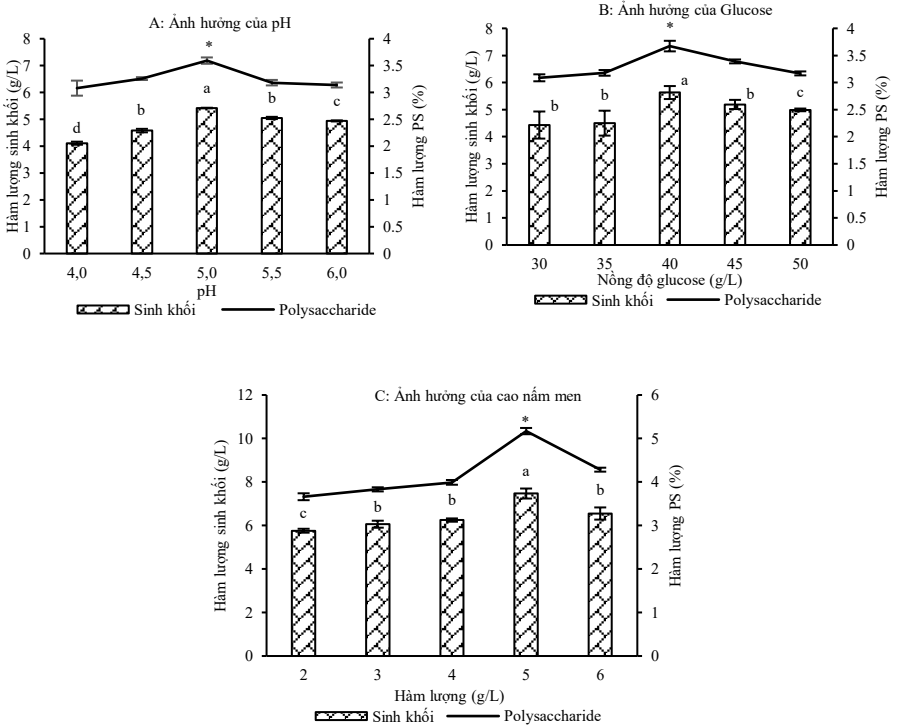
$P < 0,05$

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy dịch thể nhằm thu nhận sinh khối và polysaccharide từ hệ sợi nấm

3.1.1. Tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy đối với hệ sợi nấm *C. militaris*

3.1.1.1. Ảnh hưởng của các yếu tố đơn biến đến năng suất sinh khối và hàm lượng PS hệ sợi nấm *C. militaris*



Hình 3.1. Ảnh hưởng điều kiện nuôi: pH, hàm lượng glucose và cao nấm men trong môi trường dịch thể đến sinh khối hệ sợi nấm *C. militaris*. A: Ảnh hưởng của pH, B: Ảnh hưởng của glucose, C: Ảnh hưởng của cao nấm men

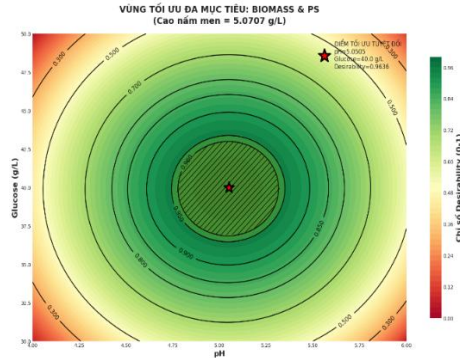
3.1.1.2. Xác định điều kiện tối ưu nhằm thu nhận sinh khối và polysaccharide từ hệ sợi nấm *C. militaris*

Mô hình toán học mô tả mối quan hệ giữa khối lượng sinh khối và hàm lượng PS với các yếu tố ảnh hưởng như sau:

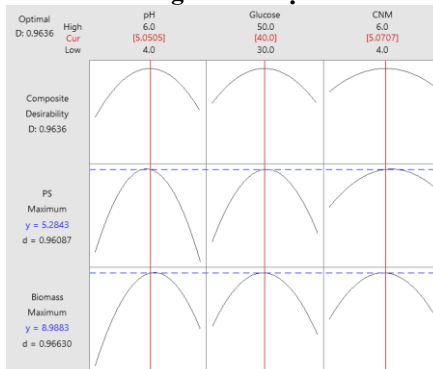
$$Y1 = -122,3 + 25,10 X_1 + 1,514 X_2 + 14,74 X_3 - 2,450 X_1^2 - 0,01910 X_2^2 - 1,467 X_3^2$$

$$Y_2 = -44,73 + 10,93 X_1 + 0,6826 X_2 + 3,51 X_3 - 1,099 X_1^2 - 0,00847 X_2^2 - 0,339 X_3^2$$

Trong đó: X_1 , X_2 , X_3 lần lượt là: pH, Glucose và cao nấm men



Hình 3.2. Phân tích vùng ưu đa mục tiêu nấm *C. militaris*

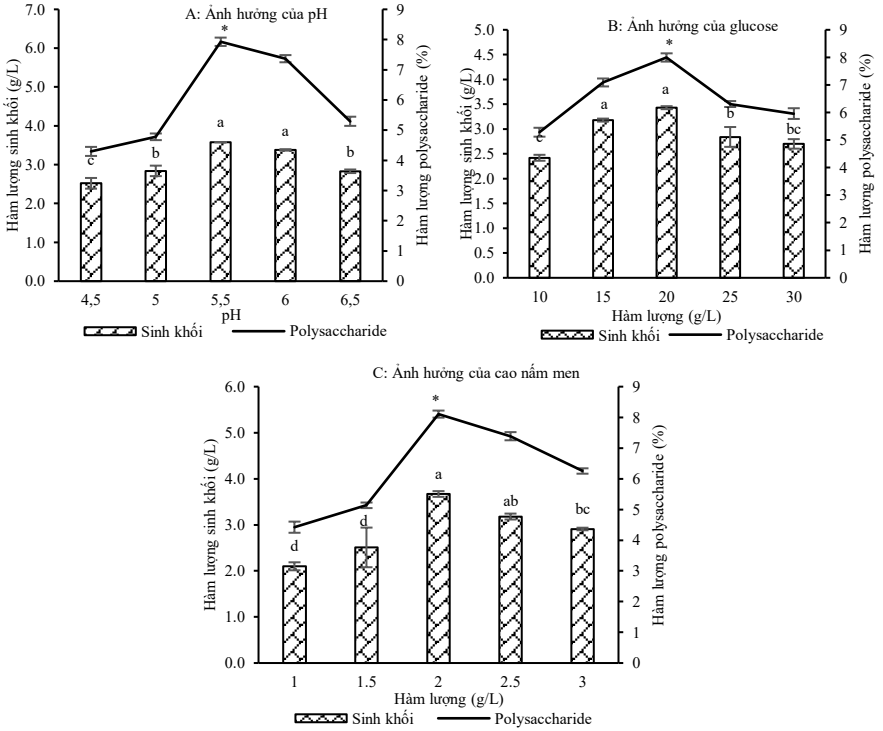


Hình 3.3. Biểu đồ tối ưu hóa đa mục tiêu điều kiện nuôi cấy thu nhận sinh khối và polysaccharide

3.1.1.3. Thực nghiệm kiểm tra các điều kiện tối ưu sợi nấm *C.militaris*

3.1.2. Tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy đối với hệ sợi nấm *T. versicolor*

3.1.2.1. Ảnh hưởng của các yếu tố đơn biến đến năng suất sinh khối và hàm lượng PS hệ sợi nấm *T. versicolor*

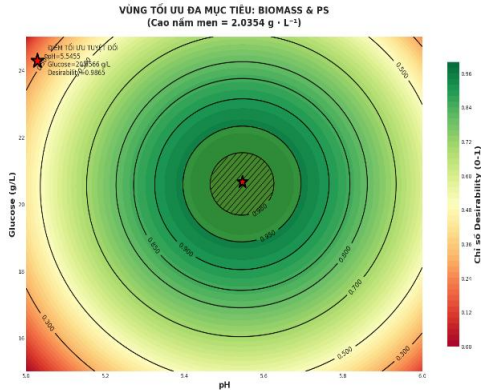


Hình 3.5. Ảnh hưởng điều kiện nuôi: pH, hàm lượng glucose và cao nấm men trong môi trường dịch thể đến sinh khối hệ sợi nấm *T. versicolor*. A: Ảnh hưởng của pH, B: Ảnh hưởng của glucose, C: Ảnh hưởng của cao nấm men
3.1.2.2. Xác định điều kiện tối ưu nhằm thu nhận sinh khối và polysaccharide từ hệ sợi nấm *T. versicolor*

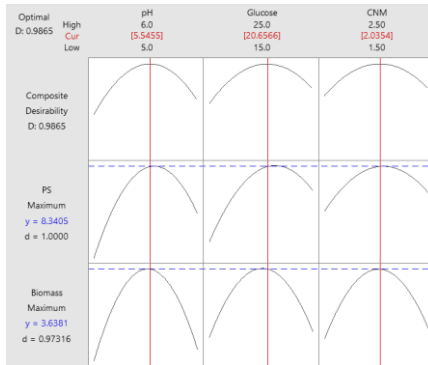
Mô hình toán học mô tả mối quan hệ giữa khối lượng sinh khối với các yếu tố ảnh hưởng như sau:

$$Y_1 \text{ (g/L)} = -109,69 + 34,18 X_1 + 0,956 X_2 + 9,36 X_3 - 3,098 X_1^2 - 0,02378 X_2^2 - 2,318 X_3^2$$

$$Y_2 \text{ (%)} = -232,2 + 73,52 X_1 + 1,962 X_2 + 14,02 X_3 - 6,587 X_1^2 - 0,04597 X_2^2 - 3,397 X_3^2$$



Hình 3.7. Phân tích vùng tối ưu đa mục tiêu

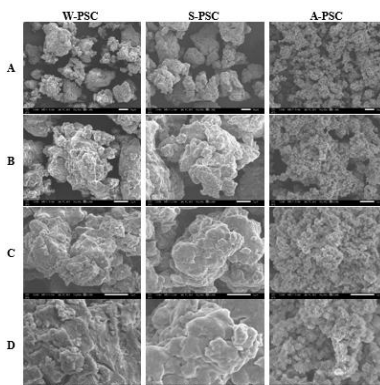


Hình 3.8. Biểu đồ tối ưu hóa đa mục tiêu điều kiện nuôi cấy thu nhận sinh khối và polysaccharide

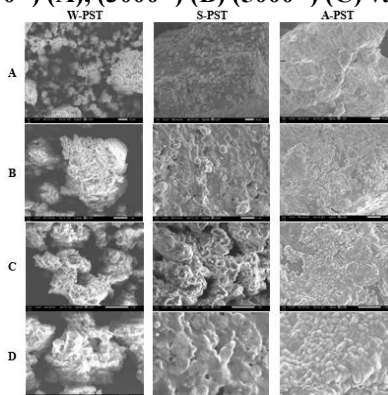
3.1.2.3. Thực nghiệm kiểm tra các điều kiện tối ưu sợi nấm *T. versicolor*

3.2. Chiết xuất tuần tự và đánh giá hình thái, hoạt tính kháng oxy hoá, prebiotic của các chiết xuất PS

3.2.1. Phân tích cấu trúc bề mặt PS bằng kính hiển vi điện tử quét

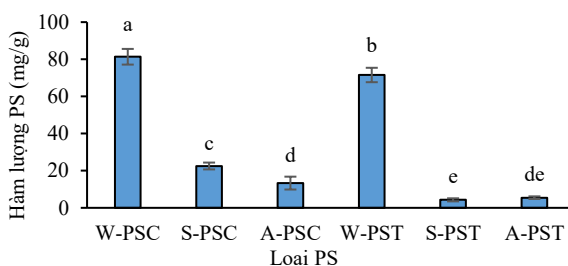


Hình 3.94. Ảnh chụp bằng kính hiển vi điện tử quét các chiết xuất PS nấm *C. militaris* (1000×) (A), (3000×) (B) (5000×) (C) và (10.000×) (D)

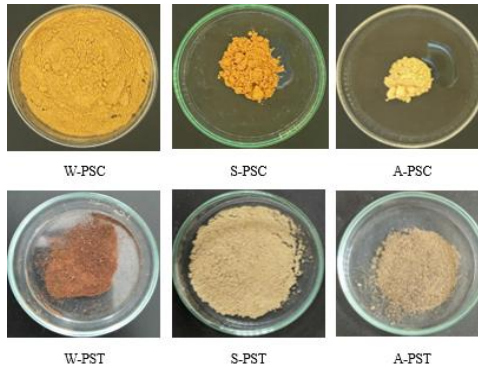


Hình 3.10. Ảnh chụp bằng kính hiển vi điện tử quét các chiết xuất nấm *T. versicolor* (1000×) (A), (3000×) (B) (5000×) (C) và (10.000×) (D)

3.2.2. Hàm lượng polysaccharide tách chiết tuần tự từ hệ sợi nấm



Hình 3.11. Hàm lượng PS chiết xuất từ hệ sợi nấm *C. militaris* và *T. versicolor*



Hình 3.12. Hình thái các phân đoạn Polysaccharide tách chiết từ sợi nấm *C. militaris* và *T. versicolor*

3.2.3. Khả năng chống oxy hóa của các chiết xuất PS từ hệ sợi nấm

Bảng 3.7. Khả năng trung hòa gốc tự do ABTS từ *C. militaris*

Nồng độ cao chiết (µg/mL)	Khả năng trung hòa gốc tự do ABTS (%)		
	W-PSC	S-PSC	A-PSC
100	11,84±0,34 ^a	7,49±0,74 ^b	13,88±0,13 ^a
200	18,58±0,81 ^a	8,83±0,44 ^b	16,99±0,13 ^a
400	21,58±0,54 ^a	13,73±0,44 ^b	22,88±0,47 ^b
600	22,25±0,47 ^b	17,82±0,65 ^c	26,94±0,59 ^a
800	26,14±0,29 ^b	21,19±0,67 ^c	30,36±0,42 ^a
1000	31,37±0,91 ^a	24,54±0,34 ^b	32,59±0,37 ^a
2000	44,88±0,31 ^a	36,70±0,18 ^b	46,91±0,27 ^a
5000	86,15±0,79^a	69,64±0,51 ^b	81,51±0,56^a
IC50 (µg/mL)	2446,51±24,34 ^c	3273,33±18,5 ^a	2474,24±2,78 ^b

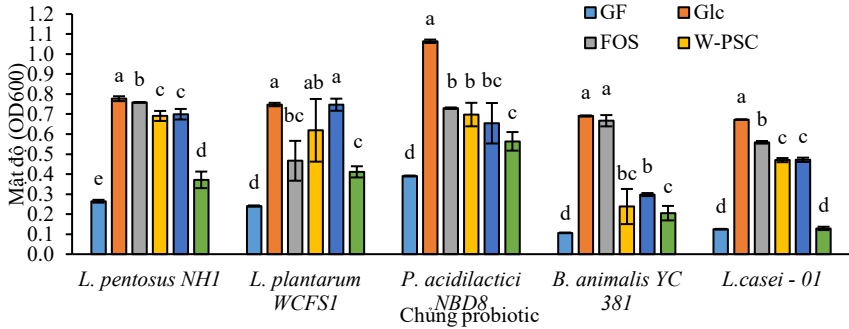
Bảng 3.8. Khả năng trung hòa gốc tự do ABTS của PS từ *T. versicolor*

Nồng độ cao chiết (µg/mL)	Khả năng trung hòa gốc tự do ABTS (%)		
	W-PST	S-PST	A-PST
100	6,86±1,3 ^b	10,14±1,7 ^{ab}	11,45±1,1 ^a
200	9,61±0,3 ^c	14,27±1,3 ^b	17,93±1,0 ^a
400	20,38±1,9 ^b	21,36±3,3 ^b	29,09±2,2 ^a
600	27,13±2,2 ^b	28,73±1,7 ^b	36,72±1,4 ^a
800	37,83±2,9 ^b	34,81±0,5 ^b	43,43±0,3 ^a
1000	44,21±1,7 ^b	43,86±0,5 ^b	49,63±0,4 ^a
2000	84,64±3,1^a	71,78±1,6 ^c	79,08±0,5 ^b
IC50 (µg/mL)	1142,5±21,72 ^b	1279,1±18,04 ^a	1070,6±18,25 ^c

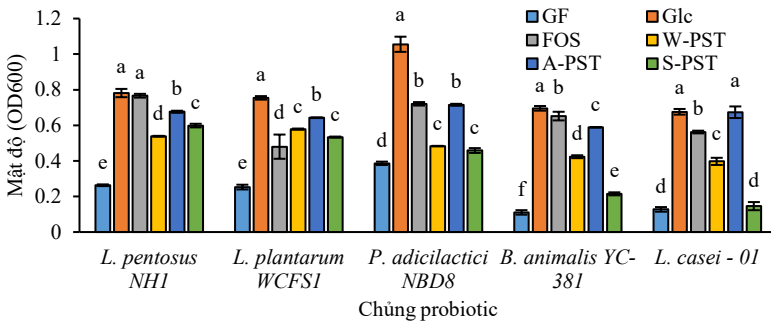
Giá trị IC50 của 3 chiết xuất PS (W-PSC, S-PSC, A-PSC) nấm *C. militaris* được xác định lần lượt trong phương pháp này là 2446,51±24,34 µg/mL, 2474,24,24±2,78 µg/mL và 3273,33±18,54 µg/mL còn ở nấm *T. versicolor* là 1142,50±21,72 µg/mL; 1279,10±18 µg/mL; 1070,60±18,30 µg/mL.

3.2.4. Hoạt tính probiotic của PS chiết xuất từ hệ sợi nấm

3.2.4.1. Khả năng kích thích sự sinh trưởng probiotic



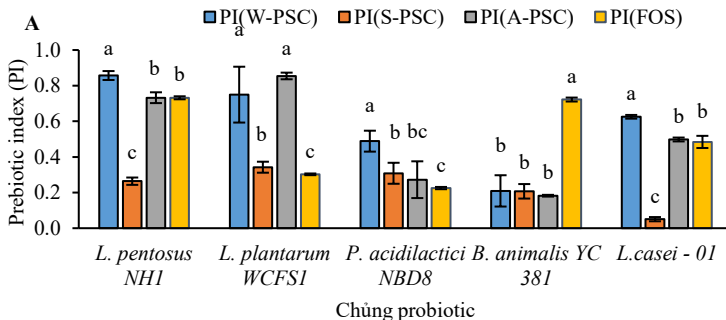
Hình 3.13. Khả năng sinh trưởng của probiotic trên môi trường bổ sung PS chiết xuất từ sợi nấm *C. militaris*

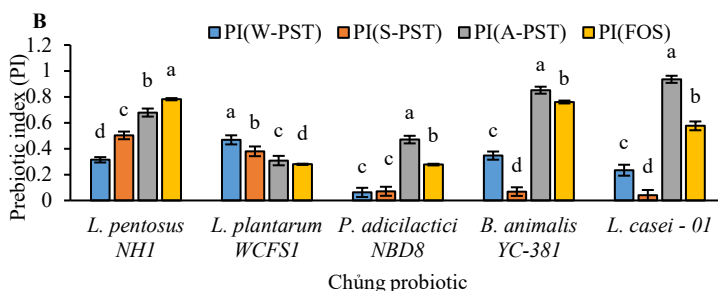


Hình 3.14. Khả năng sinh trưởng của các chủng probiotic trên môi trường bổ sung chiết xuất PS nấm *T. versicolor*

Kết quả nghiên cứu cho thấy tất cả các chủng probiotic đều sinh trưởng trên các môi trường nghiên cứu.

3.2.4.2. Chỉ số probiotic



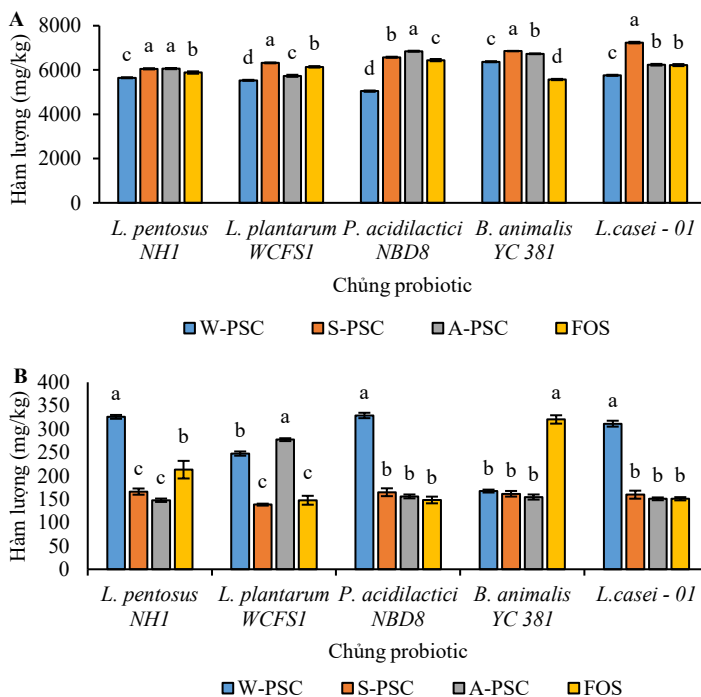


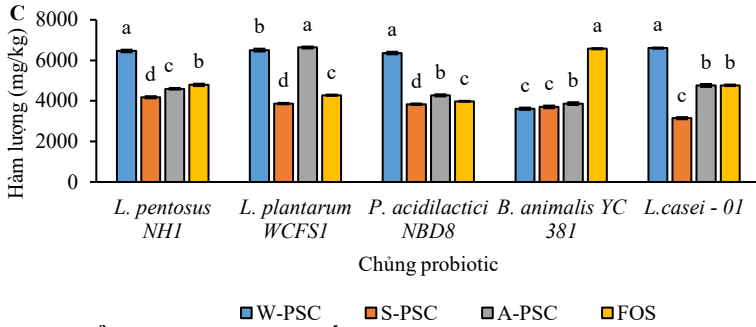
Hình 3.15. Chỉ số prebiotic (PI) của các phân đoạn polysaccharide đối với các chủng probiotic khảo sát. (A) Các phân đoạn từ hệ sợi nấm *C. militaris*; (B) Các phân đoạn từ hệ sợi nấm *T. versicolor*.

Kết quả nghiên cứu cho thấy chỉ số PI của tất cả các PS đều lớn hơn 0, tuy nhiên có sự khác nhau khá lớn giữa các chiết xuất PS và giữa các chủng.

3.2.4.3. Ảnh hưởng của các chiết xuất PS đến hàm lượng SCFA tạo thành

a. Hàm lượng SCFA trong môi trường bổ sung PS chiết xuất nấm *C. militaris*

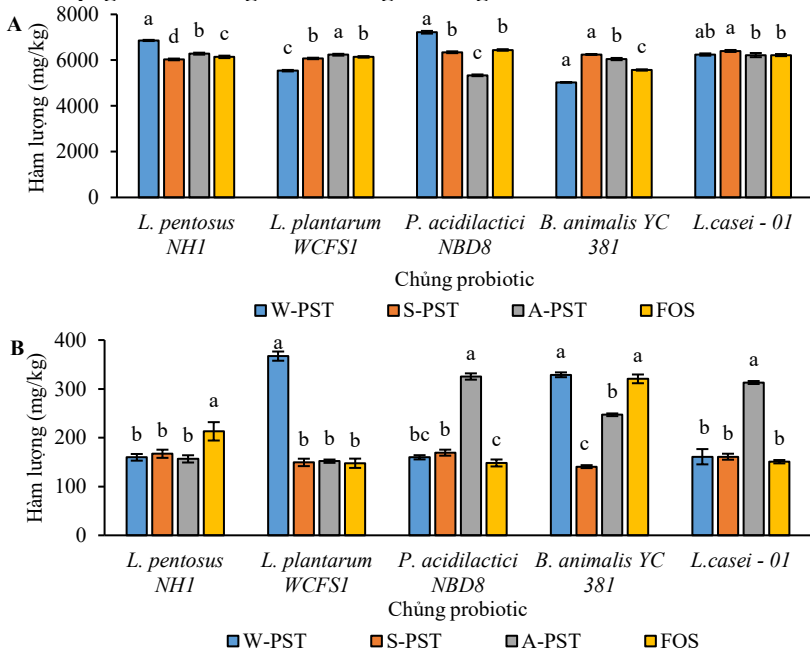


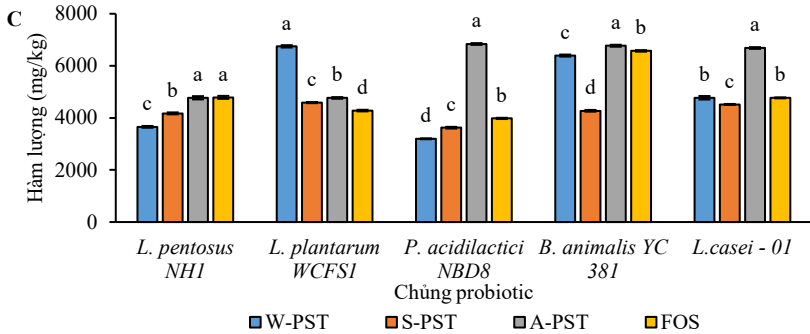


Hình 3.16. Ảnh hưởng của PS đến hàm lượng SCFAs. A: Butyric acid; B: Propionic acid; C: Acetic acid

Axit axetic là SCFA cao nhất thu được, dao động từ 5044,35-7237,35 mg/kg, tiếp theo là axit butyric 3147,95-6634,99 mg/kg và thấp nhất là axit propionic 138,31-328,97 mg/kg.

b. Hàm lượng SCFA trong môi trường bổ sung PS chiết xuất nấm *T. versicolor*

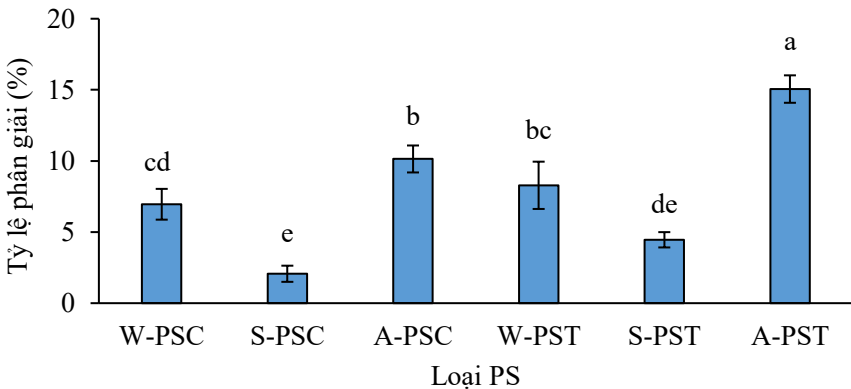




Hình 3.17. Ảnh hưởng của PS đến hàm lượng SCFAs. A: Acetic acid, B: Propionic acid; C: Butyric acid

Nghiên cứu cho thấy hàm lượng tổng SCFA và từng loại SCFA có sự khác nhau đáng kể trong các nghiệm thức khi bổ sung chiết xuất PS nuôi cấy 5 chủng probiotic khác nhau. Nhìn chung, acetic acid là loại SCFA có hàm lượng cao và khá đồng đều so với các nghiệm thức nghiên cứu, hàm lượng dao động trong khoảng 5800–7200 mg/kg, tiếp theo là butyric acid với mức từ 3200–7000 mg/kg, trong khi propionic acid có giá trị thấp nhất, chỉ khoảng 100–360 mg/kg.

3.2.4.4. Hoạt tính kháng enzyme α -amylase



Hình 3.18. Phần trăm PS bị phân giải bởi α -amylase

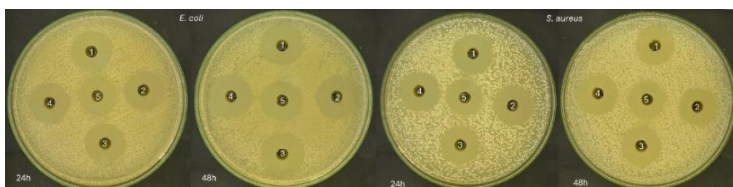
Kết quả nghiên cứu cho thấy, các chiết xuất PS bị phân giải bởi α -amylase khá thấp khoảng (2,07-15,05). Ở cả 2 chủng nấm S-PS đều ít bị tiêu hóa hơn so với 2 chiết xuất khác.

3.2.4.5. Khảo sát khả năng kháng khuẩn của dịch nuôi cấy

a. Hoạt tính kháng khuẩn của dịch nuôi cấy probiotic được bổ sung phân đoạn PS chiết xuất từ sợi nấm *C. militaris*

Bảng 3.1. Đường kính vòng vô khuẩn của *E. coli* và *S. aureus* (mm)

Công thức	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	24h	48h	24h	48h
CT1	27,06±1,21 ^a	27,68±0,62 ^{ab}	26,93±0,50 ^a	25,01±0,35 ^b
CT2	25,67±0,67 ^a	27,21±0,40 ^{ab}	26,47±0,30 ^a	23,80±0,47 ^c
CT3	27,00±0,38 ^a	27,11±0,39 ^b	24,88±0,40 ^b	24,63±0,42 ^{bc}
CT4	26,49±0,92 ^a	28,66±0,82 ^a	27,22±0,66 ^a	26,27±0,38 ^a
CT5	22,47±0,54 ^b	25,56±0,48 ^c	23,42±0,38 ^c	22,35±0,49 ^d



Hình 3.19. Khả năng kháng khuẩn dịch nuôi cấy *L. plantarum* đối với *E. coli* ATCC 85922 và *S. aureus* ATCC 25023

b. Hoạt tính kháng khuẩn của dịch nuôi cấy probiotic được bổ sung phân đoạn PS chiết xuất từ sợi nấm *T. versicolor*

Bảng 3.2. Đường kính vòng vô khuẩn của *E. coli* và *S. aureus* (mm)

Công thức	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	24h	48h	24h	48h
1	28,28±0,30 ^a	27,88±0,76 ^a	28,47±0,81 ^a	27,04±0,25 ^b
2	28,47±0,85 ^a	26,91±0,39 ^a	27,35±0,68 ^{ab}	26,05±0,35 ^c
3	28,48±0,62 ^a	27,74±0,29 ^a	26,60±0,56 ^b	27,49±0,50 ^{ab}
4	28,86±0,34 ^a	27,65±0,92 ^a	27,53±0,25 ^{ab}	28,19±0,15 ^a
5	23,86±0,74 ^b	24,33±0,34 ^b	23,57±0,50 ^c	24,21±0,20 ^d

Ở cả hai chủng vi khuẩn thử nghiệm tại cả hai thời điểm 24h và 48h, tất cả các công thức bổ sung chiết xuất PS và FOS đều cho thấy hoạt tính kháng khuẩn cao hơn so với công thức đối chứng không bổ sung ($p < 0,05$).



Hình 3.20. Khả năng kháng khuẩn dịch nuôi cấy *L. plantarum* đối với *E. coli* ATCC 85922 và *S. aureus* ATCC 25023

3.3. Ứng dụng hệ sợi nấm chế biến sản phẩm thực phẩm bổ sung

3.3.1. Đánh giá an toàn bột sợi nấm

Bảng 3.3. Kết quả thử nghiệm các chỉ tiêu an toàn sinh học hệ sợi nấm

TT	Tên tiêu chí	Đơn vị tính	Phương pháp thử	Kết quả thử nghiệm	Giới hạn tối đa cho phép
1	Pb	mg/kg	AOAC 999.11	0,13	5
2	Cd	mg/kg	AOAC 999.11	0,11	3
3	Hg	mg/kg	AOAC971.21	KPH (MDL=0,01)	0,1
4	As	mg/kg	AOAC986.15	KPH (MDL=0,01)	2
5	Aflatoxin tổng (B1, B2, G1, G2)	µg/kg	AOAC991.31	KPH (MDL=1,0)	10
6	Tổng số vi sinh vật hiếu khí	CFU/g	TCVN4884-1:2015	KPH (<10)	10
7	Colifoms	CFU/g	TCVN 6848:2007	KPH (<10)	10
8	Tổng số bào tử nấm men nấm mốc	CFU/g	TCVN8275-2:2020	KPH (<10)	10
9	<i>Salmonella</i>	CFU/g	TCVN 10780-1:2017	Âm tính/25g	Không phát hiện

3.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng bột sợi nấm bổ sung đến chất lượng nước lên men từ nấm Bào ngư

3.3.2.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung sinh khối sợi nấm đến hoạt tính chống oxy hóa của đồ uống lên men

Bảng 3.12. Khả năng trung hoà gốc tự do ABTS⁺ của dịch chiết nấm Bào ngư bổ sung hệ sợi nấm *T. versicolor* lên men (%)

Công thức	Thời gian lên men			
	Ban đầu	12 giờ	24 giờ	48 giờ
CT1	25,98 ± 0,51 ^f	26,05 ± 0,31 ^f	25,63 ± 0,53 ^f	25,46 ± 0,51 ^f
CT2	35,52 ± 0,88 ^c	34,44 ± 0,86 ^c	33,48 ± 0,59 ^c	32,45 ± 0,71 ^c
CT3	40,34 ± 0,89 ^d	39,39 ± 0,89 ^d	37,83 ± 0,46 ^d	37,66 ± 0,47 ^d
CT4	46,49 ± 0,81 ^c	48,6 ± 0,86 ^c	44,43 ± 1,25 ^c	43,27 ± 0,42 ^c
CT5	54,43 ± 1,38 ^b	54,83 ± 1,07 ^b	47,07 ± 0,56 ^b	46,90 ± 0,38 ^b
CT6	59,69 ± 0,38 ^a	58,13 ± 2,42 ^a	49,63 ± 1,01 ^a	48,44 ± 0,21 ^a

Kết quả nghiên cứu cho thấy, ở tất cả các công thức thí nghiệm, khả năng kháng oxi hoá tăng tỉ lệ thuận với tỉ lệ hệ sợi nấm *T. versicolor* được bổ sung vào dịch chiết nấm Bào ngư, lần lượt tăng lên từ 25,84% ở CT1 lên 59,79% ở CT6 khi vừa mới bổ sung hệ sợi nấm; từ 25,917% đến 57,79% ở CT6 sau 12 giờ; từ 25,85% đến 49,57% sau 24 giờ; và từ 25,51% đến 48,35% sau 48 giờ lên men.

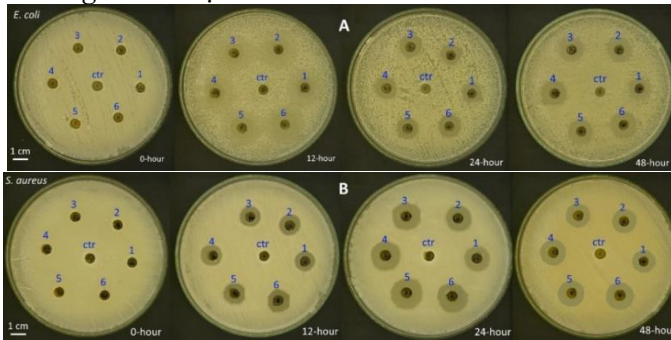
3.3.2.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung sinh khối sợi nấm đến khả năng sinh trưởng của lợi khuẩn

Bảng 3.13. Mật độ vi khuẩn *L. plantarum* trong nước nấm bào ngư lên men (logCFU/mL)

Công thức	Thời gian lên men			
	Ban đầu	12 giờ	24 giờ	48 giờ
CT1	8,38 ± 0,04 ^a	10,9 ± 0,04 ^d	10,99 ± 0,12 ^b	10,97 ± 0,09 ^c
CT2	8,38 ± 0,06 ^a	11,19 ± 0,13 ^c	11,4 ± 0,15 ^a	11,21 ± 0,24 ^b
CT3	8,39 ± 0,01 ^a	11,21 ± 0,12 ^c	11,51 ± 0,18 ^a	11,5 ± 0,12 ^a
CT4	8,38 ± 0,03 ^a	11,50 ± 0,16 ^a	11,55 ± 0,17 ^a	11,51 ± 0,16 ^a
CT5	8,36 ± 0,02 ^a	11,41 ± 0,23 ^{ab}	11,52 ± 0,19 ^a	11,38 ± 0,15 ^a
CT6	8,36 ± 0,05 ^a	11,28 ± 0,26 ^{bc}	11,56 ± 0,12 ^a	11,46 ± 0,17 ^a

Kết quả nghiên cứu cho thấy, sau 12 giờ lên men, mật độ vi khuẩn ở tất cả các công thức thí nghiệm đều tăng nhanh so với ban đầu và mật độ vi khuẩn lớn nhất được ghi nhận ở CT4, 11,49 logCFU/mL.

3.3.2.3. Khả năng ức chế hại khuẩn



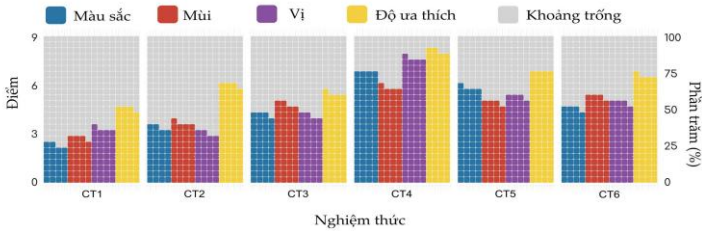
Hình 3.21. Khả năng kháng khuẩn của đồ uống lên men đối với *E. coli* ATCC 85922 (A) và *S. aureus* ATCC 25023 (B)

Bảng 3.14. Đường kính vùng ức chế (mm) của đồ uống lên men đối với *E. coli* và *S. aureus* ở các thời gian lên men khác nhau

Công thức	12 giờ	24 giờ	48 giờ
	Đường kính vùng ức chế (mm)		
<i>E. coli</i>			
CT1	6,53 ± 0,44 ^d	8,8 ± 0,64 ^c	6,95 ± 0,77 ^c
CT2	7,95 ± 0,45 ^c	8,98 ± 0,29 ^c	9,18 ± 0,61 ^d
CT3	7,78 ± 0,37 ^c	10,54 ± 0,64 ^a	11,07 ± 0,37 ^c
CT4	8,07 ± 0,35 ^c	9,58 ± 0,38 ^b	12,26 ± 0,36 ^b

CT5	$10,39 \pm 0,70^b$	$10,45 \pm 0,28^a$	$11,88 \pm 0,52^b$
CT6	$11,71 \pm 0,40^a$	$10,97 \pm 0,56^a$	$13,42 \pm 0,47^a$
<i>S. aureus</i>			
CT1	$7,55 \pm 0,40^d$	$11,77 \pm 0,72^d$	$9,74 \pm 0,53^d$
CT2	$8,31 \pm 0,94^{bc}$	$11,76 \pm 0,62^d$	$11,08 \pm 1,26^c$
CT3	$7,81 \pm 0,44^{cd}$	$13,97 \pm 0,86^c$	$11,35 \pm 0,50^c$
CT4	$8,02 \pm 0,52^{bcd}$	$15,31 \pm 0,88^b$	$12,38 \pm 0,59^b$
CT5	$8,62 \pm 0,50^b$	$16,13 \pm 1,21^{ab}$	$12,55 \pm 0,70^b$
CT6	$9,41 \pm 0,67^a$	$16,65 \pm 0,74^a$	$13,58 \pm 0,91^a$

3.3.2.4. Ảnh hưởng đến chất lượng cảm quan sản phẩm



Hình 3.5. Đánh giá cảm quan của đồ uống lên men 24 giờ từ các công thức thí nghiệm

Kết quả đánh giá cảm quan từ các công thức thí nghiệm cho thấy, nước uống ở công thức có bổ sung hệ sợi nấm *T. versicolor* 0,6% lên men trong 24 giờ (CT4-24) cho điểm cảm quan cao nhất thuộc về độ ưa thích ($7 \pm 0,63$)

3.3.2.5. Ảnh hưởng đến sự thay đổi pH và hàm lượng acid tổng số (TAN)

Bảng 3.15. Sự thay đổi pH của dịch chiết nấm Bào ngư được bổ sung hệ sợi nấm *T. versicolor* theo thời gian lên men

Công thức	Thời gian lên men			
	Ban đầu	12 giờ	24 giờ	48 giờ
CT1	$5,62 \pm 0,17$	$3,40 \pm 0,14^a$	$3,19 \pm 0,03^a$	$3,06 \pm 0,02^b$
CT2	$5,28 \pm 0,27$	$3,35 \pm 0,05^b$	$3,15 \pm 0,06^b$	$3,05 \pm 0,01^c$
CT3	$5,10 \pm 0,12$	$3,34 \pm 0,02^b$	$3,14 \pm 0,03^c$	$3,04 \pm 0,05^c$
CT4	$4,89 \pm 0,13$	$3,32 \pm 0,02^c$	$3,14 \pm 0,05^c$	$3,05 \pm 0,04^b$
CT5	$4,90 \pm 0,07$	$3,33 \pm 0,02^{bc}$	$3,15 \pm 0,03^b$	$3,07 \pm 0,03^a$
CT6	$4,72 \pm 0,09$	$3,33 \pm 0,03^{bc}$	$3,16 \pm 0,05^b$	$3,07 \pm 0,02^a$

Bảng 3.16. Sự thay đổi hàm lượng acid tổng số (tính theo acid lactic) của dịch chiết nấm Bào ngư được bổ sung hệ sợi nấm *T. versicolor* theo thời gian lên men

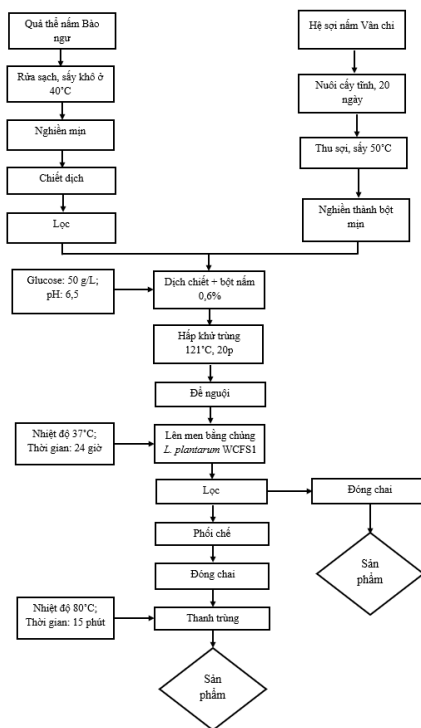
Thử nghiệm	Thời gian lên men			
	Ban đầu	12 giờ	24 giờ	48 giờ
CT1	1,362 ± 0,074 ^f	3,702 ± 0,118 ^f	6,611 ± 0,101 ^f	8,026 ± 0,059 ^f
CT2	1,437 ± 0,026 ^c	4,244 ± 0,128 ^c	7,218 ± 0,100 ^c	9,158 ± 0,132 ^c
CT3	1,606 ± 0,030 ^d	5,466 ± 0,049 ^d	7,435 ± 0,041 ^d	9,442 ± 0,099 ^d
CT4	1,744 ± 0,028 ^c	5,782 ± 0,034 ^c	7,825 ± 0,071 ^c	9,769 ± 0,045 ^c
CT5	1,875 ± 0,043 ^b	6,017 ± 0,089 ^b	8,16 ± 0,059 ^b	10,362 ± 0,106 ^b
CT6	2,021 ± 0,036 ^a	6,617 ± 0,027 ^a	8,643 ± 0,033 ^a	10,678 ± 0,027 ^a

3.3.2.6. Đánh giá an toàn sản phẩm nước nấm lên men có sung sợi nấm

Bảng 3.17. Kết quả đánh giá an toàn vi sinh và hoá học sản phẩm nước lên men

TT	Tên chỉ tiêu	Giới hạn cho phép (TCVN 13368:2021)	Hàm lượng trong sản phẩm	phương pháp thử
1	Tổng số vi sinh vật hiếu khí	100 (CFU/ml)	KPH (<1)	TCVN 1:2015
2	Tổng số bào tử nấm men, nấm mốc	10 (CFU/ml)	KPH (<1)	TCVN 8275-1:2010
3	<i>Coliforms</i>	10 (CFU/ml)	KPH (<1)	TCVN 6848:2007
4	<i>E. coli</i>	không được có	KPH (<1)	TCVN 7924-2:2008
5	Staphylococci có phản ứng dương tính với Coagulase (<i>S. aureus</i> và các loài khác)	không được có	KPH (<1)	ISO 6888-1:2021
6	<i>Cl. perfringens</i>	không được có	KPH (<1)	TCVN 4991:2005
7	Cadmi (Cd)	1 (mg/kg)	<0,05	AOAC 999.11
8	Chì (Pb)	0,05 (mg/kg)	<0,05	AOAC 999.11
9	Thủy Ngân (Hg)	0.05 (mg/kg)	<0,05	AOAC 971.21

3.3.3. Xây dựng quy trình chế biến nước uống lên men



Hình 3.23. Sơ đồ quy trình chế biến nước uống nấm bào ngư bổ sung hệ sợi nấm Vân chi lên men lactic
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

A. KẾT LUẬN

Luận án đã hoàn thành các mục tiêu nghiên cứu đề ra, tập trung vào việc đánh giá hoạt tính sinh học của polysaccharide (PS) thu nhận từ sinh khối hệ sợi nấm nuôi cấy dịch thể, bao gồm hoạt tính prebiotic, khả năng chống oxy hóa, và định hướng ứng dụng vào sản phẩm thực phẩm. Từ các kết quả đạt được, có thể rút ra những kết luận chính như sau:

1. Xác định được một số điều kiện tối ưu quan trọng cho nuôi cấy dịch thể nhằm thu sinh khối với hiệu suất cao và giàu polysaccharide.

- Đối với *Cordyceps militaris*: Điều kiện tối ưu là pH 5,05; nồng độ glucose 40 g/L và cao nấm men 5,07 g/L. Tại điều kiện này, năng suất sinh khối khô đạt $8,90 \pm 0,25$ g/L và hàm lượng PS đạt 5,28%.

- Đối với *Trametes versicolor*: Điều kiện tối ưu là pH 5,545; nồng độ glucose 20,65 g/L và cao nấm men 2,025 g/L. Tại điều kiện này, năng suất sinh khối khô đạt $3,59 \pm 0,12$ g/L và hàm lượng PS đạt $8,23 \pm 0,27\%$.

2. Đánh giá hiệu quả chiết và đặc điểm cấu trúc bề mặt của polysaccharide (PS)

Phương pháp chiết tuần tự lần lượt với nước nóng, kiềm và acid đã chứng minh hiệu quả trong việc phân tách các phân đoạn PS với đặc tính khác biệt.

- Về hiệu suất: Dung môi nước đã chứng minh cho hiệu suất thu hồi polysaccharide cao ở cả hai chủng (81,35 mg/g với *C. militaris* và 71,53 mg/g với *T. versicolor*), việc chiết trình tự tiếp tục thu được các PS trong kiềm và acid với các hoạt tính kháng oxy hóa và hoạt tính prebiotic đặc trưng.

- Về hình thái: Điều kiện chiết có ảnh hưởng lớn đến cấu trúc bề mặt. Trong khi phân đoạn chiết nước và kiềm có dạng khối kết tụ, phân đoạn chiết acid (A-PST) và kiềm (S-PST) của nấm *T. versicolor* thể hiện cấu trúc nén chặt hoặc hạt mịn đặc thù.

3. Khẳng định hoạt tính sinh học của các chiết xuất Polysaccharide

- Hoạt tính chống oxy hóa a: Các phân đoạn PS đều thể hiện khả năng trung hòa gốc tự do ABTS. PS từ *T. versicolor* cho hoạt tính mạnh hơn (IC_{50} từ 1070 – 1279 $\mu\text{g/mL}$) so với *C. militaris* (IC_{50} từ 2446 – 3273 $\mu\text{g/mL}$).

- Hoạt tính Prebiotic: Các phân đoạn PS thể hiện tiềm năng prebiotic rõ rệt thông qua chỉ số PI dương và khả năng kháng tiêu hóa bởi alpha-amylase cao (mức độ thủy phân chỉ từ 2,07 – 15,05%). Nổi bật nhất là phân đoạn W-PSC (trên chủng *L. pentosus* NH1, $PI = 0,857$) và A-PST (trên chủng *L. casei* 01, $PI = 0,935$).

- Cơ chế tác động: Việc bổ sung PS không chỉ thúc đẩy sinh trưởng của lợi khuẩn mà còn tăng cường sinh tổng hợp các acid béo chuỗi ngắn (SCFAs) và nâng cao hiệu quả ức chế các vi khuẩn gây bệnh (*E. coli*, *S. aureus*).

4. Ứng dụng thực tiễn vào sản phẩm nước uống lên men

Đã phát triển thành công công thức chế biến nước uống từ nấm Bào ngư lên men lactic bổ sung sinh khối sợi nấm *T. versicolor*:

- Công thức tối ưu: Bổ sung 0,6% sinh khối sợi nấm, thời gian lên men 24 giờ.

- Chất lượng sản phẩm: Sản phẩm đạt giá trị cảm quan cao nhất về màu sắc, mùi vị; đồng thời sở hữu hoạt tính sinh học tốt. Các chỉ tiêu an toàn thực phẩm (vi sinh, kim loại nặng) đều nằm trong giới hạn cho phép theo QCVN 20-1:2024/BYT.

B. NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Các kết quả nghiên cứu của luận án đã được xác định có những đóng góp mới cho học thuật và thực tiễn như sau:

** Về mặt học thuật:*

- Hệ thống hóa cơ sở dữ liệu về công nghệ nuôi cấy dịch thể: đã xác lập được một số điều kiện công nghệ tối ưu cho quy trình nuôi cấy dịch thể hai chủng nấm *Cordyceps militaris* và *Trametes versicolor* nhằm định hướng sinh tổng hợp sinh khối giàu polysaccharide. Đây là cơ sở khoa học quan trọng để giải thích ảnh hưởng của điều kiện môi trường (pH, nguồn C, N) đến sự tích lũy sinh khối và polysaccharide trong tế bào nấm.

- Làm sáng tỏ hiệu quả của phương pháp chiết tuần tự: Chứng minh được tính ưu việt của phương pháp chiết tuần tự trong việc phân tách các nhóm polysaccharide dựa trên đặc tính cấu trúc và độ tan. Đóng góp mới nằm ở việc phát hiện ra rằng phân đoạn polysaccharide chiết bằng acid (A-PS) – vốn ít được quan tâm trong các nghiên cứu trước đây – lại thể hiện hoạt tính prebiotic tiềm năng (chỉ số PI cao nhất với một số probiotic) so với các phân đoạn khác. Điều này mở ra hướng tiếp cận mới trong việc khai thác các polysaccharide liên kết chặt trong vách tế bào nấm.

- Kết quả nghiên cứu của luận án là cơ sở để tiếp tục tinh sạch, tách chiết và phát hiện ra các polysaccharide mới từ sinh khối sợi nấm với các hoạt tính kháng oxy hóa và prebiotic đặc trưng.

- Khẳng định tiềm năng prebiotic của hệ sợi nấm: Cung cấp bằng chứng thực nghiệm tin cậy khẳng định hệ sợi nấm là một prebiotic hiệu quả, có khả năng kích thích chọn lọc các chủng lợi khuẩn (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*...) và ức chế hại khuẩn (*E. coli*, *S. aureus*) thông qua cơ chế sinh acid béo chuỗi ngắn (acid acetic, propionic, butyric).

** Về mặt thực tiễn:*

- Đề xuất giải pháp công nghệ chủ động nguồn nguyên liệu: Luận án đã chứng minh tính khả thi của việc nuôi cấy dịch thể để thu sinh khối sợi nấm, đây là phương thức tiềm năng để tạo ra nguồn nguyên liệu hữu cơ có giá trị cho thực phẩm, dược phẩm bởi tính ổn định, năng suất cao, thời gian ngắn và dễ thực hiện trong quy mô công nghiệp, dễ kiểm soát các điều kiện nuôi cấy và tự động hóa.

- Đa dạng hóa nguồn nguyên liệu sản xuất prebiotic trên thị trường: hiện nay nguồn prebiotic trên thị trường chủ yếu được sản xuất từ thực vật (FOS, inulin), rong biển (fucoidan, carrageenan), kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng sinh khối sợi nấm cũng là nguồn prebiotic tiềm năng mà có thể chủ động điều kiện nuôi cấy để thu sản phẩm ở quy mô công nghiệp.

- Phát triển thành công dòng sản phẩm nước uống lên men giàu probiotic, giàu hoạt tính kháng oxy hóa: Xây dựng thành công quy trình công nghệ sản xuất nước uống lên men từ nấm Bào ngư bổ sung sinh khối sợi nấm *Trametes versicolor*.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC

Các đề tài nghiên cứu khoa học:

1. Chủ nhiệm đề tài cấp cơ sở thành phố: Nghiên cứu nuôi trồng nấm Vân chi (*Trametes versicolor*) trên cơ chất gỗ keo lá tràm và chế biến một số sản phẩm bảo vệ sức khỏe từ nấm vân chi tại thành phố Đà Nẵng – Đã nghiệm thu năm 2021
2. Thành viên thư kí đề tài cơ sở cấp trường Murata: Khảo sát hoạt tính prebiotic của polysaccharide chiết xuất từ sợi nấm *Cordyceps militaris*- Đã nghiệm thu năm 2023
3. Thành viên chính đề tài cấp thành phố: Áp dụng công nghệ lai bào tử đơn để chọn tạo chủng giống nấm Đông trùng hạ thảo (*Cordyceps militaris*) cho năng suất và chất lượng cao – Đã nghiệm thu năm 2024
4. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa và prebiotic của hệ sợi nấm Vân chi (*Trametes versicolor*) nuôi cấy dịch thể và ứng dụng chế biến nước uống nấm lên men – Đã nghiệm thu năm 2026

Các bài báo trong và ngoài nước:

1. Nguyen Thi Bich Hang, Doan Chi Cuong, Truong Cong Phat, Bui Duc Thang, Do Phu Huy, Dang Minh Nhat (2024), Developing a health-supporting fermented lactic beverage from oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*). The New Diverse Facets of Sensory Evaluation (SPISE), 127-138.
2. Nguyen Thi Bich Hang, Dang Minh Nhat, Bui Duc Thang, Vo Van Minh, Nguyen Sy Toan, Munehiro Tanaka, Doan Chi Cuong (2025), Optimization of Lactic Fermented Beverages: Integrating *Trametes versicolor* Mycelium and *Pleurotus ostreatus* Extract for Enhanced Functional Properties, Mycobiology, Volume 53, Issue 4, 1-14
3. Hang Thi-bich Nguyen, Cuong Chi Doan, Thang Duc Bui, Nhat Minh Dang (2026), Prebiotic Properties of Polysaccharide Extracts from *Cordyceps militaris* Mycelium: Potentials for Functional Food and Drink Applications, Journal of Applied Biology & Biotechnology. Vol. 14(1), pp. 46-55, January-February, 2026.
4. Nguyen Thi Bich Hang, Dang Minh Nhat, Doan Chi Cuong, Bui Duc Thang (2023), Prebiotic properties of polysaccharide isolated from *Cordyceps militaris* mycelia, Vietnam Trade and Industry Review, 4, 413-420