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 KHỐI 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: PGS.TS. Nguyễn Quang Vinh

Phản biện 2: TS. Nguyễn Thị Đông Phương

Phản biện 3: GS.TS. Trần Thanh Trúc

Luận án đã được bảo vệ tại hội đồng chấm luận án tiến sĩ họp tại Đại học Bách Khoa vào ngày 01 tháng 08 năm 2026

Có thể tìm hiểu luận án tại:
- Trung tâm Công nghệ thông tin và Học liệu số, Trường Đại học Bách Khoa, Đại học Đà Nẵng
- Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài

Sự gia tăng nhanh chóng các bệnh mạn tính liên quan đến hội chứng chuyển hóa đã làm nổi bật vai trò thiết yếu của hệ vi sinh vật đường ruột và các hợp chất prebiotic. Prebiotic không chỉ là nguồn cơ chất chọn lọc giúp lợi khuẩn phát triển, mà quá trình lên men chúng còn sản sinh các acid béo chuỗi ngắn (SCFAs) giúp bảo vệ đại tràng và ngăn ngừa các rối loạn tiêu hóa. Trong nỗ lực tìm kiếm các nguồn prebiotic mới có hiệu suất và độ an toàn cao, nấm nổi lên như một đối tượng cực kỳ tiềm năng nhờ hệ polysaccharide đa dạng (như β-glucan, mannan, xylan). Đặc biệt, polysaccharide từ *Cordyceps militaris* và *Trametes versicolor* sở hữu cấu trúc bền vững, kháng tiêu hóa tại dạ dày và có khả năng kích thích chọn lọc sự tăng trưởng của các chủng lợi khuẩn *Lactobacillus* và *Bifidobacterium*.

Tuy nhiên, việc khai thác hoạt chất từ hai loài nấm này hiện nay chủ yếu phụ thuộc vào phương pháp nuôi trồng quả thể truyền thống trên cơ chất rắn – một quy trình đòi hỏi nhiều thời gian, tốn kém chi phí và khó kiểm soát sự đồng nhất ở quy mô công nghiệp. Để khắc phục bài toán này, công nghệ nuôi cấy dịch thể (SmF) nhằm thu nhận sinh khối hệ sợi nấm đang là một giải pháp thay thế ưu việt nhờ khả năng rút ngắn đáng kể chu kỳ sinh trưởng, dễ dàng chuẩn hóa các thông số môi trường và tối ưu hóa năng suất tích lũy các polysaccharide có hoạt tính. Mặc dù vậy, đa số nghiên cứu hiện hành vẫn chỉ xoay quanh việc tách chiết quả thể, trong khi tiềm năng prebiotic từ sinh khối sợi nấm SmF vẫn là một khoảng trống lớn chưa được khai phá kỹ lưỡng. Xuất phát từ thực tiễn và các luận điểm khoa học đó, 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"** đã 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 bổ sung 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 oxi hóa) của các phân đoạn polysaccharide được chiết xuất tuần tự bằng nước nóng (HWE), kiềm (AE) và acid (AEc).
- Đánh giá tiềm năng sử dụng sinh khối hệ 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 kháng oxi hóa và kháng khuẩn**.**

3. Đối tượng, phạm vi nghiên cứu

- Sợi nấm: bao gồm 2 chủng *Cordycep 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. Phương pháp nghiên cứu

4.1. Phương pháp nghiên cứu lý thuyết

Tìm kiếm và thu thập các tài liệu, tư liệu, sách báo, cùng các công trình nghiên cứu liên quan đến nuôi cấy, tối ưu điều kiện nuôi cấy hệ sợi nấm, nghiên cứu tách chiết phân đoạn PS nói chung từ các nguồn thực vật cũng như từ sợi nấm, các nghiên cứu đánh giá hoạt tính kháng oxi hoá và prebiotic của PS, các loại prebiotic khác và các nghiên cứu chế biến sản phẩm lên men… từ nguồn tài liệu trong nước và quốc tế.

4.2. Phương pháp nghiên cứu thực nghiệm

- Tối ưu điều kiện nuôi cấy thu sinh khối từ sợi nấm giàu Polysaccharide
+ Phương pháp thực nghiệm cổ điển (OFAT)
+ Phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM)
- Tách chiết tuần tự và đánh giá hình thái, hoạt tính kháng oxi hóa, prebiotic của các chiết xuất PS
- Ứng dụng hệ sợi nấm chế biến sản phẩm thực phẩm bổ sung
- Thu thập và xử lý số liệu

5. Ý nghĩa

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.
- Luận án đi sâu phân tích, so sánh các phân đoạn polysaccharide được chiết xuất tuần tự (nước, kiềm, acid). Việc xác lập sự khác biệt về hoạt tính kháng oxy hóa và đặc tính prebiotic của từng phân đoạn đối với các chủng lợi khuẩn khác nhau đã mang lại một góc nhìn mới mang tính hệ thống. Đây là cơ sở khoa học giúp định hướng lựa chọn tác nhân chiết tách phù hợp nhằm tối ưu

hóa hoạt tính sinh học mong muốn, thay vì chỉ tập trung vào phương pháp chiết nước nóng truyền thống.

- Kết quả nghiên cứu cung cấp các bằng chứng định lượng cụ thể về khả năng kháng tiêu hóa (kháng α-amylase), chỉ số prebiotic (PI) và đặc biệt là lượng acid 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 dược 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 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 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, khả năng ứng dụng ban đầu trong thực phẩm bổ sung, 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 136 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 39 trang;

Chương 2: Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu, gồm có 23 trang;

Chương 3: Kết quả nghiên cứu và thảo luận gồm có 61 trang;

Phần kết luận và kiến nghị gồm 4 trang; Danh mục các công trình nghiên cứu đã công bố 2 trang. Ngoài ra, phần tài liệu tham khảo gồm 22 trang. Trong luận án tổng cộng có 24 bảng, 28 hình vẽ và đồ thị. Có 221 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

1.2.3. 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 1995 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 nghiên 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 prebioics 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 cấy và tỷ lệ cấy

1.5. Tổng quan về khả năng kháng oxy hóa

1.5.1. Khái niệm và cơ chế

1.5.2. Khả năng kháng oxy hóa của một số hợp chất có trong Cordyceps militaris và Trametes versicolor
1.6. Cơ sở lựa chọn nấm bào ngư và vai trò của *Lactiplantibacillus plantarum* trong lên men lactic
1.6.1. Cơ sở lựa chọn nấm bào ngư làm nguyên liệu lên men
1.6.2. Lên men lactic nấm bào ngư và những biến đổi trong quá trình lên men
1.6.3. Vai trò của *Lactiplantibacillus plantarum* trong lên men
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU
2.1. Đối tượng
Chủng nấm *C. militaris* và *T. versicolor*.
Chủng *Lactiplantibacillus plantarum, Lactiplantibacillus casein* 01, *Bifidobacterrium animalis* YC381, *Lactiplantibacillus pentosus* NH1, *Pediococcus acidilactici* NBD8.
Chủng hại khuẩn *Escherichia coli* ATCC 25922 và *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
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
2.5.1.1. Phương pháp nuôi cấy hệ sợi nấm
2.5.1.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm
a. Phương pháp thực nghiệm cổ điển (OFAT)
b. Phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM)
2.5.1.3. Phương pháp thu nhận và xác định năng suất sinh khối hệ sợi nấm
2.5.1.4. Phương pháp tách chiết 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
2.5.2.1. Chiết xuất tuần tự và định lượng các phân đoạn polysaccharide sợi nấm
2.5.2.2. Phân tích bề mặt các phân đoạn polysaccharide
2.5.2.3. Đánh giá khả năng kháng oxi hóa bằng phương pháp ABTS
2.5.2.4.. Đánh giá tiềm năng prebiotic của polysaccharide

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

2.5.3.1. Đánh giá an toàn bột sợi nấm

2.5.3.2. Quy trình sản xuất nước nấm bào ngư lên men bổ sung hệ sợ nấm Trametes versicolor

2.5.3.3. 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

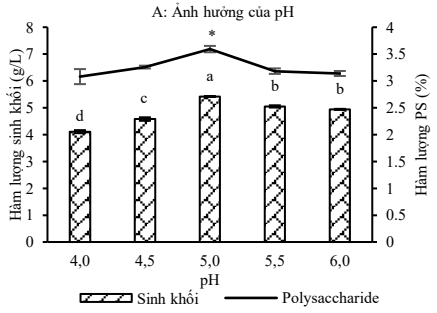
Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại. Thí nghiệm so sánh, thống kê và phân tích sử dụng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) trên phần mềm Minitab 19.0, sai khác có ý nghĩa thống kê được xác định với P<0,05

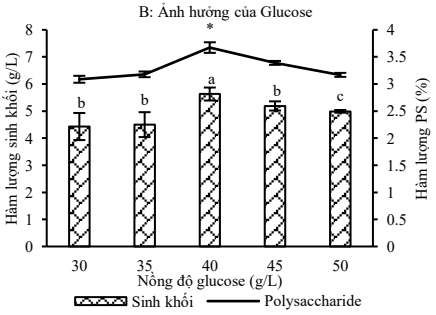
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

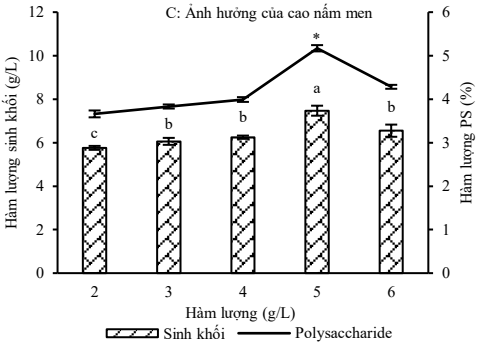
3.1. Tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy dịch thể nhằm thu nhận sinh khối và polysaccharide từ hệ sợi nấm

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*

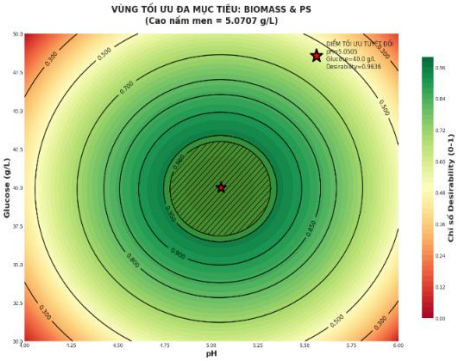
3.1.1.2. Xác định điều kiện tối ưu nhằm thu nhận sinh khối và polysaccharide từ hệ sợi nấm C. militaris

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:

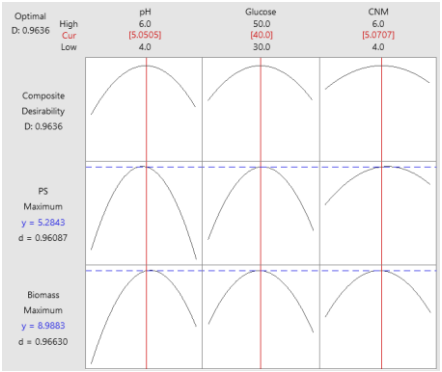
$Y1 = -122,3 + 25,10\ X_1 + 1.514\ X_2 + 14,74\ X_3 - 2,450\ X_1^2 - 0,01910\ X_2^2 - 1,467\ X_3^2$

$Y2 = -44,73 + 10,93\ X_1 + 0,6826\ X_2 + 3,51\ X_3 - 1,099\ X_1^2 - 0,00847\ X_2^2 - 0,339\ X_3^2$

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*

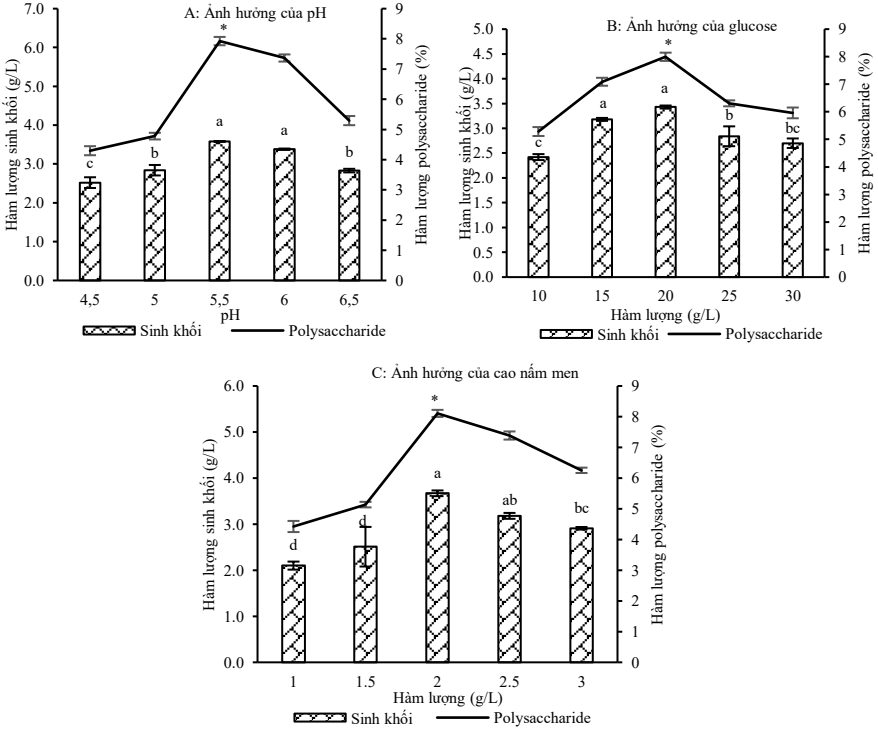


Hình 3.3. Biểu đồ tối ưu hóa đa mục tiêu điều kiện nuôi cấy thu nhận sinh khối và polysaccharide

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

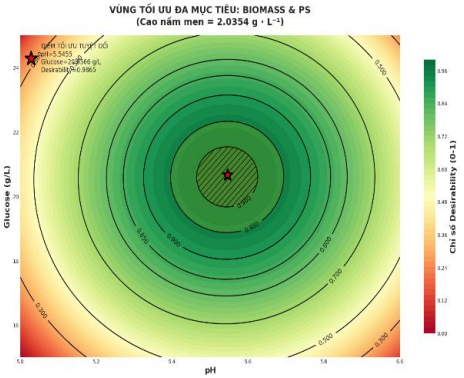
trong môi trường dịch thể đến sinh khối hệ sợi nấm *T. versicolor. A: Ảnh hưởng của pH, B: Ảnh hưởng của glucose, C: Ảnh hưởng của cao nấm men*

3.1.2.2. Xác định điều kiện tối ưu nhằm thu nhận sinh khối và polysaccharide từ hệ sợi nấm T. versicolor

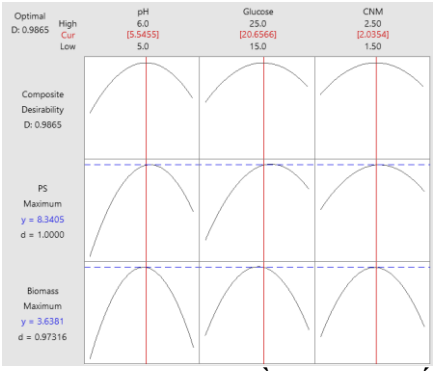
Mô hình toán học mô tả mối quan hệ giữa khối lượng sinh khối với các yếu tố ảnh hưởng như sau:

Y_1 (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 (%) = –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

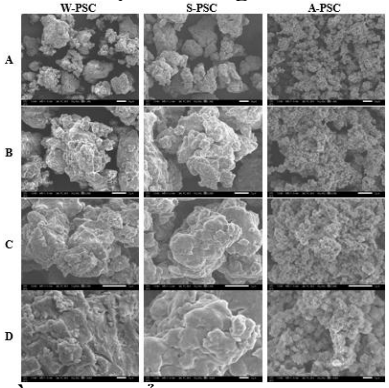


Hình 3.8. Biểu đồ tối ưu hóa đa mục tiêu điều kiện nuôi cấy thu nhận sinh khối và polysaccharide

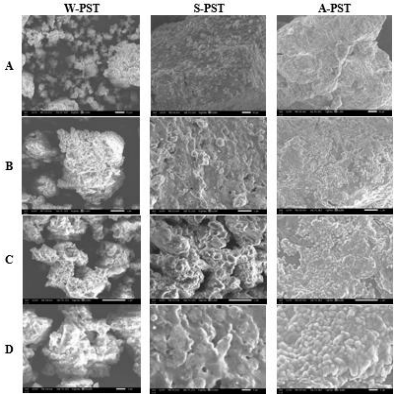
3.1.2.3. Thực nghiệm kiểm tra các điều kiện tối ưu sợi nấm T. versicolor

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

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

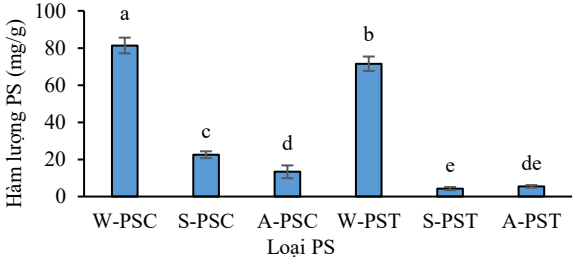


Hình 3.94. Ảnh chụp bằng kính hiển vi điện tử quét các chiết xuất PS nấm C. militaris (1000×) (A), (3000×) (B) (5000×) (C) và (10.000×) (D)

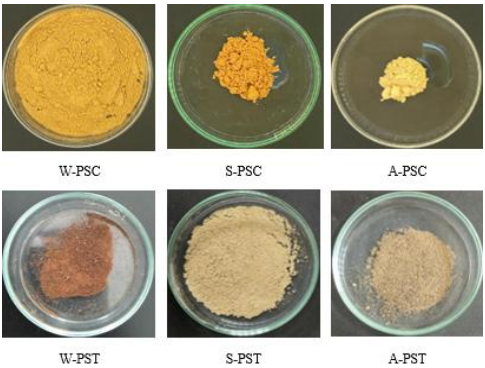


Hình 3.10. Ảnh chụp bằng kính hiển vi điện tử quét các chiết xuất nấm *T. versicolor* (1000×) (A), (3000×) (B) (5000×) (C) và (10.000×) (D)

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 trung hoà gốc tự do ABTS 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±0,31a	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)	2474,24±2,78^{b}	3273,33±18,5^{a}	2446,51±24,34^{c}

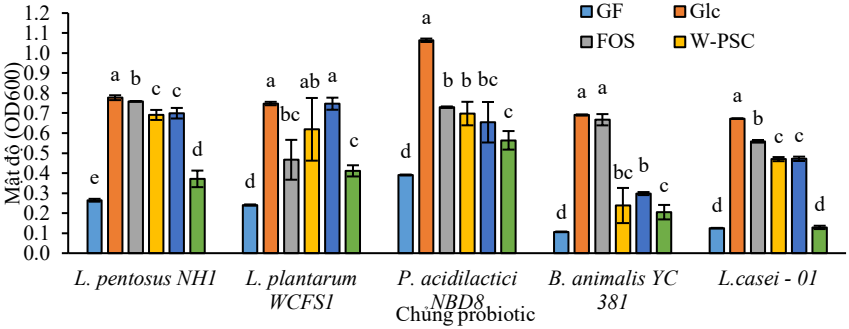
Bảng 3.8. Khả năng trung hòa gốc tự do ABTS của PS từ *T. versicolor*

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}

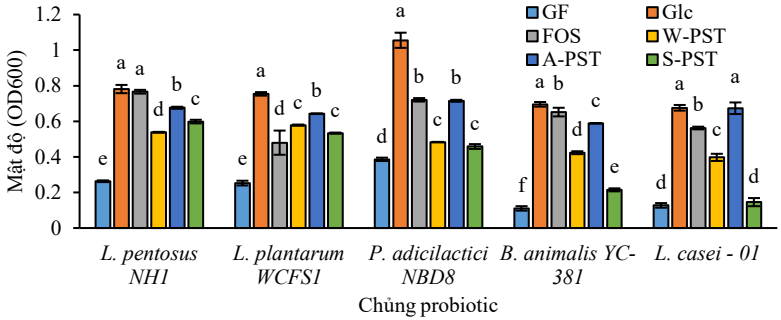
Giá trị IC50 của 3 chiết xuất PS (W-PSC, S-PSC, A-PSC) nấm *C. militaris* được xác định lần lượt trong phương pháp này là 2446,51±24,34 µg/mL, 2474,24,24±2,78 µg/mL và 3273,33±18,54 µg/mL còn ở nấm *T. versicolor* là 1142,50±21,72 µg/mL; 1279,10±18 µg/mL; 1070,60±18,30 µg/mL.

3.2.4. Tiềm năng prebiotic của PS chiết xuất từ hệ sợi nấm

3.2.4.1. Khả năng kích thích sự sinh trưởng probiotic



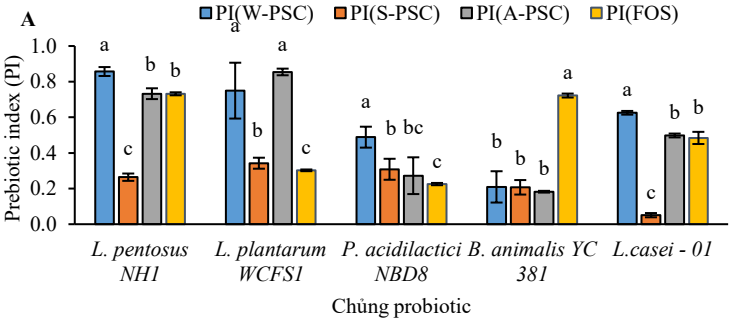
Hình 3.13. Khả năng sinh trưởng của probiotic trên môi trường bổ sung PS chiết xuất từ sợi nấm *C. militaris*

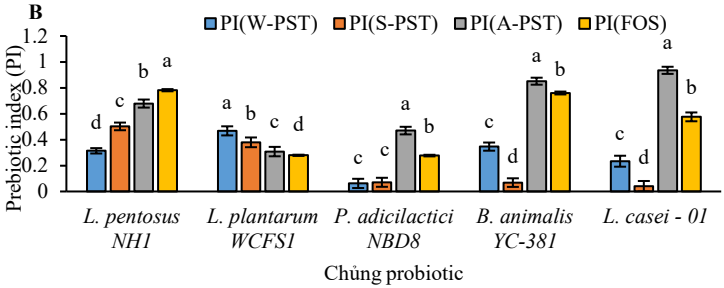


Hình 3.14. Khả năng sinh trưởng của các chủng probiotic trên môi trường bổ sung chiết xuất PS nấm *T. versicolor*

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 prebiotic



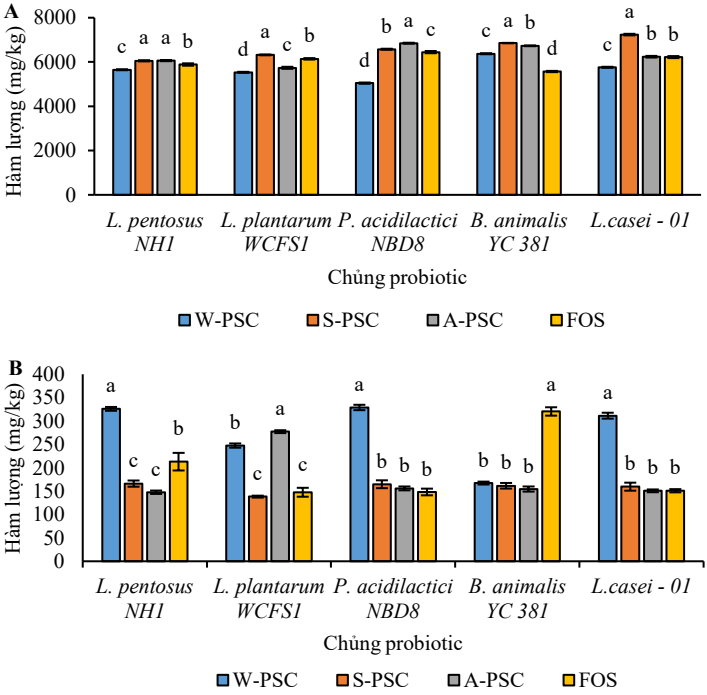


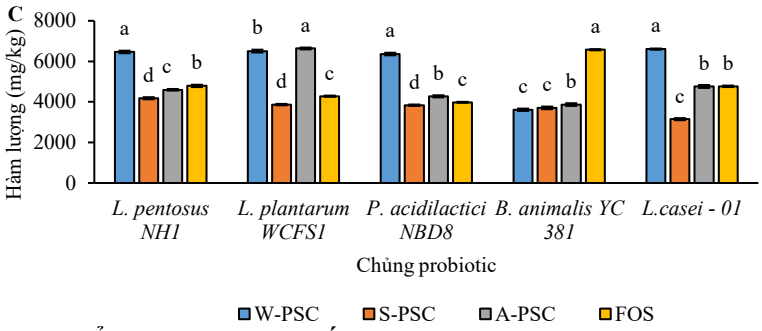
Hình 3.15. Chỉ số prebiotic (PI) của các phân đoạn polysaccharide đối với các chủng probiotic khảo sát. (A) Các phân đoạn từ hệ sợi nấm *C. militaris*; (B) Các phân đoạn từ hệ sợi nấm *T. versicolor.*

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*

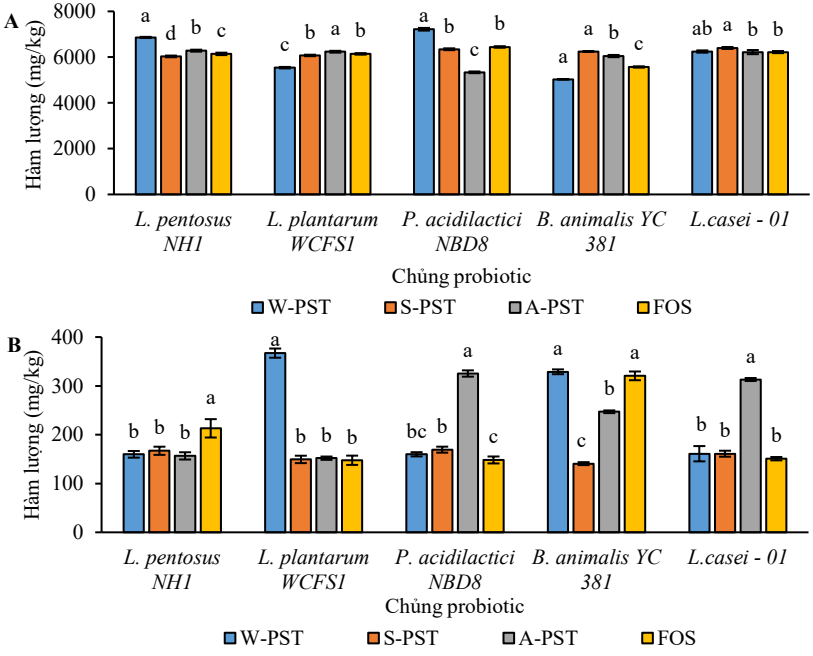


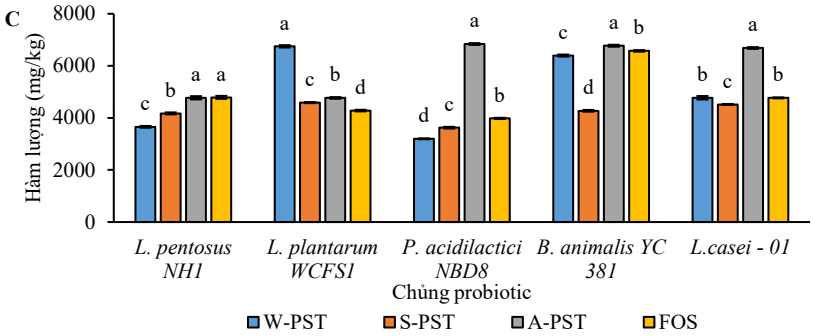


Hình 3.16. Ảnh hưởng của PS đến hàm lượng SCFAs. ***A: Butyric acid; B: Propionic acid; C: Acetic acid***

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*

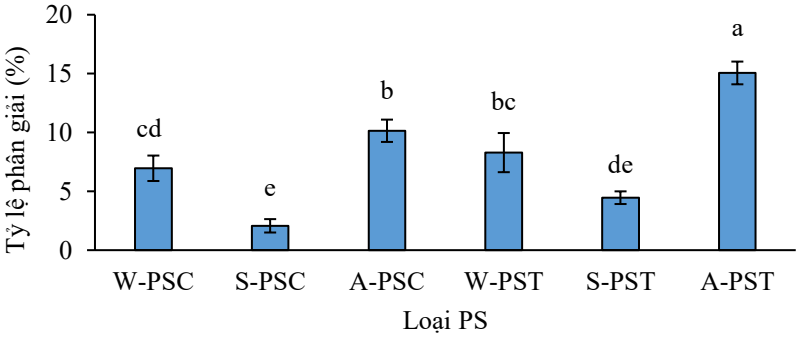




Hình 3.17. Ảnh hưởng của PS đến hàm lượng SCFAs. A: Acetic acid, B: Propionic acid; C: Butyric acid

Nghiên cứu cho thấy hàm lượng tổng SCFAs 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 nghiêm 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

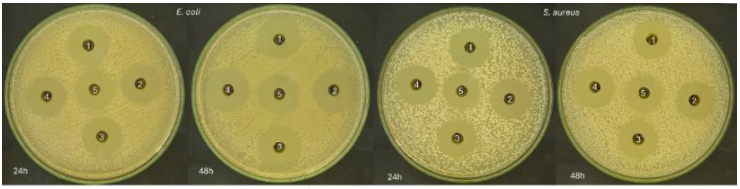
Kết quả nghiên cứu cho thấy, các chiết xuất PS bị phân giải bởi α-amylase khá thấp khoảng (2,07-15,05). Ở cả 2 chủng nấm S-PS đều ít bị tiêu hóa hơn so với 2 chiết xuất khác.

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	*E. coli*		*S. aureus*	
	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}



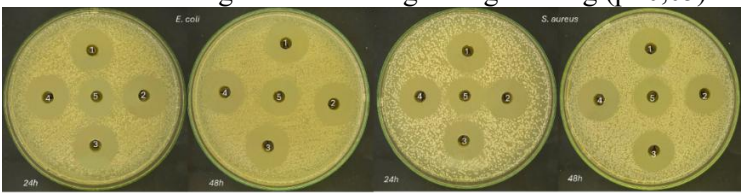
Hình 3.19. Khả năng kháng khuẩn dịch nuôi cấy *L. plantarum* đối với *E. coli* ATCC 85922 và *S. aureus* ATCC 25023

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	*E. coli*		*S. aureus*	
	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	*Salmonella*	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^e	34,44 ± 0,86^e	33,48 ± 0,59^e	32,45 ± 0,71^e
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 các 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 Bòa 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.

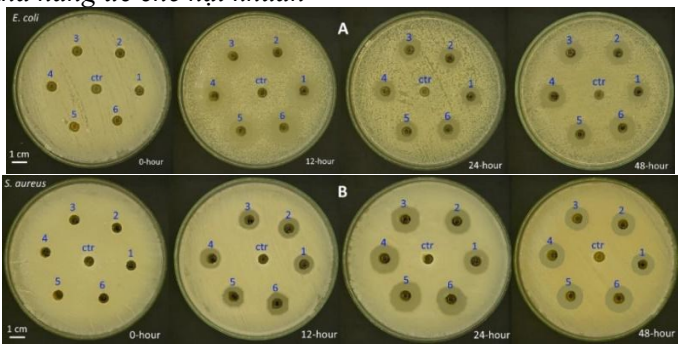
3.3.2.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung sinh khối sợi nấm đến khả năng sinh trưởng của lợi khuẩn

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



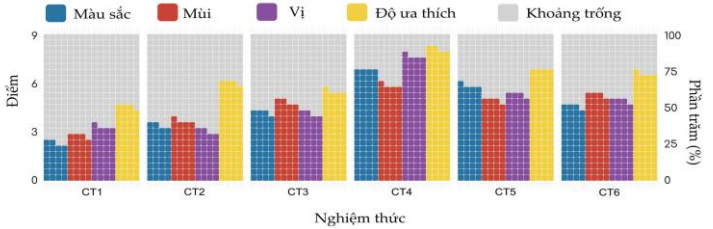
Hình 3.21. Khả năng kháng khuẩn của đồ uống lên men đối với *E. coli* ATCC 85922 (A) và *S. aureus* ATCC 25023 (B)

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)		
E. coli			
CT1	6,53 ± 0,44^{d}	8,8 ± 0,64^{c}	6,95 ± 0,77^{e}
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 ± 0,70^{b}	10,45 ± 0,28^{a}	11,88 ± 0,52^{b}
CT6	11,71 ± 0,40^{a}	10,97 ± 0,56^{a}	13,42 ± 0,47^{a}
S. aureus			

CT1	7,55 ± 0,40^{d}	11,77 ± 0,72^{d}	9,74 ± 0,53^{d}
CT2	8,31 ± 0,94^{bc}	11,76 ± 0,62^{d}	11,08 ± 1,26^{c}
CT3	7,81 ± 0,44^{cd}	13,97 ± 0,86^{c}	11,35 ± 0,50^{c}
CT4	8,02 ± 0,52^{bcd}	15,31 ± 0,88^{b}	12,38 ± 0,59^{b}
CT5	8,62 ± 0,50^{b}	16,13 ± 1,21^{ab}	12,55 ± 0,70^{b}
CT6	9,41 ± 0,67^{a}	16,65 ± 0,74^{a}	13,58 ± 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 ± 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 ± 0,17	3,40 ± 0,14^{a}	3,19 ± 0,03^{a}	3,06 ± 0,02^{b}
CT2	5,28 ± 0,27	3,35 ± 0,05^{b}	3,15 ± 0,06^{b}	3,05 ± 0,01^{c}
CT3	5,10 ± 0,12	3,34 ± 0,02^{b}	3,14 ± 0,03^{c}	3,04 ± 0,05^{c}
CT4	4,89 ± 0,13	3,32 ± 0,02^{c}	3,14 ± 0,05^{c}	3,05 ± 0,04^{b}
CT5	4,90 ± 0,07	3,33 ± 0,02b^{c}	3,15 ± 0,03^{b}	3,07 ± 0,03^{a}
CT6	4,72 ± 0,09	3,33 ± 0,03^{bc}	3,16 ± 0,05^{b}	3,07 ± 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

Nghiệm thức	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^{e}	4,244 ± 0,128^{e}	7,218 ± 0,100^{e}	9,158 ± 0,132^{e}
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 vậy hiếu khí	100 (CFU/ml)	KPH (<1)	TCVN 4884-1:2015
2	Tổng số bào tử nấm men, nấm mốc	10 (CFU/ml)	KPH (<1)	TCVN 8275-1:2010
3	*Coliforms*	10 (CFU/ml)	KPH (<1)	TCVN 6848:2007
4	*E. coli*	không được có	KPH (<1)	TCVN 7924-2:2008
5	Staphylococci có phản ứng dương tính với Coagulase (*S. aureus* và các loài khác)	không được có	KPH (<1)	ISO 6888-1:2021
6	*Cl. perfringens*	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

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 in vitro của polysaccharide thu nhận từ sinh khối hệ sợi nấm nuôi cấy dịch thể, bao gồm hoạt tính prebiotic, khả năng kháng oxi 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:

- 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 ± 0,25 g/L và hàm lượng PS đạt 5,28± 0,16%.

• Đối với *Trametes versicolor*: Điều kiện tối ưu là pH 5,545; nồng độ glucose 20,65 g/L và cao nấm men 2,0354 g/L. Tại điều kiện này, năng suất sinh khối khô đạt 3,59 ± 0,12 g/L và hàm lượng PS đạt 8,23 ± 0,27%.

- Đánh giá hiệu quả chiết, đặc điểm cấu trúc bề mặt và hoạt tính sinh học của các chiết xuất Polysaccharide

• Về hiệu suất chiết: 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 oxi hóa và hoạt tính prebiotic đặc trưng.

• Về hình thái bề mặt: 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.

• Khả năng trung hoà gốc tự do ABTS: 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 µg/mL) so với *C. militaris* (IC_{50} từ 2446 – 3273 µg/mL).

• Tiềm năng Prebiotic: Các phân đoạn PS thể hiện tiềm năng prebiotic rõ rệt thông qua chỉ số PI dương và khả năng kháng thuỷ phân 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*).

- 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 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 hiệu quả 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 oxi hóa và prebiotic đặc trưng.

- Cung cấp dự liệu về tiềm năng prebiotic của hệ sợi nấm: Cung cấp bằng chứng thực nghiệm tin cậy chứng minh hoạt tính prebiotic invitro của PS sợi nấm: kháng tiêu, 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. Đây là tiền đề quan trọng để đa dạng hóa mô hình sản xuất nguyên liệu bên cạnh canh tác truyền thống thu quả thể.

- 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 probiotic, giàu hoạt tính kháng oxi 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*. Sản phẩm đạt an toàn vi sinh, hoá học minh chứng cho việc ứng dụng thành công mô hình kết hợp Prebiotic (sợi nấm) và Probiotic (vi khuẩn lên men) để tạo ra thực phẩm bổ sung có giá trị gia tăng cao.

C. KIẾN NGHỊ VÀ HƯỚNG NGHIÊN CỨU TIẾP THEO

- Phân tích cấu trúc phân tử bằng phương pháp FTIR/NMR, khối lượng phân tử, thành phần monosaccharides từng phân đoạn PS để tìm kiếm ra các PS mới tan trong các dung môi khác nhau
- Khảo sát và làm sáng tỏ thêm các hoạt tính sinh học của PS: khả năng kháng tiểu đường, kháng viêm, kháng ung thư, tăng cường miễn dịch…
- Nghiên cứu đánh giá *in vivo* hoạt tính prebiotic của PS sợi nấm nhằm làm sáng tỏ cơ chế tác động và khẳng định hiệu quả prebiotic của sợi nấm đối với hệ vi sinh vật đường ruột cũng như sức khỏe vật chủ.
- Đánh giá độ ổn định của sản phẩm và nghiên cứu khả năng mở rộng quy mô sản xuất.

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 năm 2021
2. Thành viên thư kí đề tài cở 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. Chủ nhiệm đề tài cấp trường: 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-suppoting 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

Sách chuyên khảo (Chương 1,3,5)

Sách chuyên khảo: *Polysaccharide hệ sợi nấm: sinh tổng hợp, đặc tính và ứng dụng*; Chủ biên: Đoạn Chí Cường, Đồng tác giả: Nguyễn Thị Bích Hằng, Đặng Minh Nhật, Võ Châu Tuấn, Bùi Đức Thắng, NXB Đại học Huế, năm 2026, ISBN: 978-632-627-353-3.