

Nghiên cứu xác định một số thành phần dinh dưỡng và điều kiện tối ưu trích ly siêu âm saponin triterpenoid và tổng phenolic từ nấm Linh chi đen (*Ganoderma atrum*) ở Nghệ An

Nguyễn Tân Thành^{1*}, Nguyễn Thị Minh², Đinh Thị Kim Hảo¹, Nguyễn Đức Diện¹

¹Viện Công nghệ Hóa sinh và Môi trường, Trường Đại học Vinh, 182 Lê Duẩn, TP Vinh, tỉnh Nghệ An, Việt Nam

²Khoa Sinh học, Trường Sư phạm, Trường Đại học Vinh, 182 Lê Duẩn, TP Vinh, tỉnh Nghệ An, Việt Nam

Ngày nhận bài 15/2/2022; ngày chuyển phản biện 21/2/2022; ngày nhận phản biện 15/3/2022; ngày chấp nhận đăng 21/3/2022

Tóm tắt:

Nghiên cứu này nhằm mục đích khảo sát một số thành phần hóa học và tối ưu hóa điều kiện trích ly siêu âm hàm lượng saponin triterpenoid (TST) và tổng phenolic (TPC) từ nấm Linh chi đen (*Ganoderma atrum*) bằng phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM). Bố trí thí nghiệm theo thiết kế Box-Behnken, nhóm nghiên cứu đã xây dựng được mô hình tối ưu quy trình trích ly hàm lượng saponin triterpenoid (Y_1) và tổng phenolic (Y_2) với 3 yếu tố là nhiệt độ trích ly (X_1), thời gian siêu âm (X_2) và công suất siêu âm (X_3). Theo mô hình, điều kiện tối ưu hóa quá trình trích ly để thu được hàm lượng saponin triterpenoid và tổng phenolic cao nhất là nhiệt độ 65°C, thời gian siêu âm 83 phút và công suất siêu âm 310 W. Với các thông số này, dịch chiết thu được có hàm lượng saponin triterpenoid là 1,08±0,04% và tổng phenolic là 122,52±0,15 mg GAE/g.

Từ khóa: bề mặt đáp ứng, *Ganoderma lucidum*, saponin triterpenoid, tổng phenolic, trích ly siêu âm.

Chỉ số phân loại: 1.4

1. Đặt vấn đề

Trong tự nhiên, nấm là sinh vật đóng vai trò rất quan trọng, nếu không có nấm, chu trình tuần hoàn vật chất sẽ mất đi một mắt xích quan trọng trong việc phân hủy chất bã hữu cơ. Nấm là một nguồn thực phẩm giàu đạm, đầy đủ các vitamin và axit amin thiết yếu, trong nấm chứa hàm lượng chất béo ít và đó là những axit béo chưa bão hòa, giá trị năng lượng cao, giàu khoáng chất và có tác dụng tốt cho sức khỏe.

Ở Việt Nam, Trung Quốc và một số nước châu Á khác thì nấm Linh chi đen được coi là một loại thảo dược quý, có nhiều tác dụng tích cực cho sức khỏe con người [1, 2]. Ngoài ra còn có nhiều loại nấm Linh chi khác như: Linh chi đỏ, Linh chi xanh, Linh chi vàng... Trong nấm Linh chi đen có chứa nhiều thành phần hóa học như axit amin, vitamin, protein, khoáng, carbohydrate và nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học có giá trị như polysaccharide, triterpenoid, saponin, phenolic, flavonoid, steroid... [3, 4]. Trong đó, saponin có nhiều công dụng tốt đối với sức khỏe con người như ngăn ngừa ung thư, tăng cường sức khỏe của hệ xương, kích thích hệ miễn dịch... [5, 6].

Việc khai thác các hợp chất có hoạt tính sinh học, các thành phần dinh dưỡng trong nấm dược liệu nói chung và nấm Linh chi nói riêng bằng các công nghệ chế biến hiện đại, tạo ra được các sản phẩm giàu hoạt chất để ứng dụng sản xuất các loại thực phẩm chức năng có khả năng hỗ trợ, nâng cao sức khỏe là hướng đi được các nhà khoa học cũng như các doanh nghiệp hết sức quan tâm. Nghiên

cứu này nhằm mục đích khảo sát một số thành phần dinh dưỡng và xây dựng quy trình trích ly một số hoạt chất từ nấm Linh chi đen được thu hái tại Khu bảo tồn thiên nhiên Pù Hoạt, tỉnh Nghệ An.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Nấm Linh chi đen được thu hái tại Khu bảo tồn thiên nhiên Pù Hoạt, tỉnh Nghệ An. Mẫu được sấy khô và nghiền nhỏ, sau đó sàng qua lưới sàng kích thước 2 mm để thu được mẫu có kích thước đồng nhất, mẫu được hút chân không và bảo quản ở -20°C trước khi tiến hành các bước tiếp theo.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Xác định độ ẩm: Độ ẩm được xác định theo AOAC 2003 [7], mẫu được cho vào tủ sấy và sấy khô ở 105°C đến khi khối lượng không đổi.

Xác định hàm lượng chất béo thô: Chất béo thô được xác định bằng cách chiết xuất mẫu khô với dung môi diethyl ete [8]. Loại bỏ dung môi bằng máy cất quay chân không, phần trầm chất béo được tính theo công thức:

$$\text{Chất béo thô (\%)} = \frac{\text{KL cặn chiết diethyl ete}}{\text{KL mẫu khô ban đầu}} \times 100 \quad (1)$$

trong đó: KL: khối lượng.

Xác định hàm lượng chất xơ: 10 g mẫu ẩm không chứa chất béo được gia nhiệt ở 80°C trong 30 phút với

*Tác giả liên hệ: Email: nguyentanthanh@vinhuni.edu.vn

Study on determining some nutritional components and optimal conditions for the ultrasonic extraction of saponin triterpenoid and total phenolic content from *Ganoderma atrum* in Nghe An

Tan Thanh Nguyen^{1*}, Thi Minh Nguyen²,
Thi Kim Hao Dinh¹, Duc Dien Nguyen¹

¹School of Chemistry, Biology and Environment, Vinh University,
182 Le Duan Street, Vinh City, Nghe An Province, Vietnam

²Faculty of Biology, Department of Education, Vinh University,
182 Le Duan Street, Vinh City, Nghe An Province, Vietnam

Received 15 February 2022; revised 15 March 2022; accepted 21 March 2022

Abstract:

The objective of this study was to investigate the nutritional composition and the optimal conditions of ultrasonic extraction of total saponin triterpenoid (TST) and total phenolic content (TPC) from *Ganoderma atrum* using response surface methodology (RSM). An optimal model according to the Box - Behnken design has been formulated to extract TST Y_1 and TPC Y_2 with three factors: extraction temperature (X_1), ultrasonic time (X_2), and ultrasonic power (X_3). Following this model, the optimal parameters for the extraction process to obtain the highest content of TST and TPC were extraction temperature of 65°C, time of 83 mins and ultrasonic power of 310 W. The experimental values of TST and TPC were $1.08 \pm 0.04\%$ and 122.52 ± 0.15 mg GAE/g, respectively.

Keywords: *Ganoderma atrum*, response surface methodology, saponin triterpenoid, total phenolic, ultrasonic extraction.

Classification number: 1.4

200 ml dung dịch axit sunfuric 0,25 N (thể tích được giữ không đổi bằng cách cho thêm nước nóng). Hỗn hợp sau đó được lọc và rửa sạch bằng nước nóng để không bị axit. Phần rửa được xử lý với 200 ml dung dịch NaOH 0,32 N và một lần nữa được rửa bằng nước nóng, cồn và ete để loại bỏ kiềm. Rửa sạch cho vào chén nung sấy khô 12 giờ ở 80-100°C và cân (W_1). Sau đó, chén nung được nung trong lò nung ở 600°C trong 5-6 giờ, làm nguội và cân lại (W_2) [9].

Hàm lượng chất xơ được tính theo công thức:

$$\text{Chất xơ (\%)} = \frac{\text{KL cân trước khi nung (W}_1\text{)} - \text{KL cân sau khi nung (W}_2\text{)}}{\text{KL mẫu ẩm không chứa chất béo}} \times 100 \quad (2)$$

Xác định tro tổng: hàm lượng tro được xác định bằng cách nung mẫu trong lò nung ở nhiệt độ 600°C trong 5-6 giờ [9]. Hàm lượng tro được tính theo công thức:

$$\text{Hàm lượng tro (\%)} = \frac{\text{KL tro}}{\text{KL mẫu khô}} \times 100 \quad (3)$$

Xác định hàm lượng protein: Hàm lượng protein thô thu được bằng cách nhân giá trị nitơ tổng (N) theo hệ số 6,25 [10]. Phần trăm protein trong mẫu được tính bằng công thức:

$$\text{Hàm lượng protein thô (\%)} = \%N \times 6,25 \quad (4)$$

Hàm lượng nitơ tổng được xác định theo phương pháp Kjeldahl:

$$N (\%) = \frac{(V_a \times N_a - V_b \times N_b) \times 1,401}{W} \quad (5)$$

trong đó: V_a : ml HCl đo trong bình nón (chưng cất); V_b : ml NaOH được sử dụng để chuẩn độ trong bình nón; N_a : định mức HCl vào bình nón; N_b : định mức của NaOH được sử dụng để chuẩn độ; W: khối lượng bột nấm sử dụng để phân tích (g).

Xác định hàm lượng tổng carbohydrate: Hàm lượng tổng carbohydrate [11] được tính theo công thức:

$$\text{Hàm lượng carbohydrate thô (\%)} = [100 - (\text{protein thô} + \text{chất béo thô} + \text{chất xơ thô} + \text{tro})] \quad (6)$$

Xác định hàm lượng saponin triterpenoid tổng: Hàm lượng saponin triterpenoid tổng của dịch chiết từ nấm Linh chi đen được xác định theo phương pháp của Chen và cs (2007) [12]. Mẫu sau khi trích ly được lọc và pha loãng 10 lần, hút 2 ml mẫu đã pha loãng vào ống nghiệm, thêm lần lượt là 0,2 ml vanilin - axit acetic (8%), đun cách thủy và ủ ở 60°C trong 15 phút. Sau 15 phút, các ống nghiệm được lấy ra làm mát, bổ sung ethyl acetate sao cho tổng thể tích đủ 5 ml. Tổng hàm lượng saponin triterpenoid được phân tích dựa trên phương pháp đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 550 nm với chất chuẩn là axit oleanolic (máy đo quang phổ Agilent 8453). Kết quả được biểu thị bằng gam axit oleanolic đương lượng trên 100 gam khối lượng khô (%).

Xác định hàm lượng tổng phenolic: Hàm lượng tổng phenolic từ dịch chiết nấm Linh chi đen được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu [13]. Hút 1 ml dịch mẫu pha loãng thêm 5 ml thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% và lắc đều, sau 3 phút tiếp tục thêm 4 ml dung dịch Na_2CO_3 7,5%, lắc đều và để yên 1 giờ trong bóng tối, sau đó tiến hành so màu ở bước sóng 765 nm bằng máy đo quang phổ Agilent 8453.

Phương pháp quy hoạch thực nghiệm: Lựa chọn phương pháp bề mặt đáp ứng (Response surface methodology) để tối ưu hóa điều kiện trích ly hàm lượng saponin triterpenoid và tổng phenolic từ nấm Linh chi đen có hỗ trợ bằng kỹ thuật siêu âm. Ba thông số quan trọng của quá trình trích ly được nghiên cứu bao gồm: nhiệt độ trích ly (X_1), thời gian siêu âm (X_2) và công suất siêu âm (X_3). Các thí nghiệm được bố trí theo phương pháp Box-Behnken gồm 17 thí nghiệm. Mỗi thí nghiệm

được tiến hành 3 lần và lấy kết quả trung bình. Mô hình toán học mô tả ảnh hưởng của các biến độc lập đối với biến phụ thuộc có dạng hàm đa thức bậc hai và có dạng tổng quát như sau:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j \quad (7)$$

trong đó: Y: biến phụ thuộc (hàm mục tiêu); X_i, X_j : biến mã hóa (biến độc lập) ảnh hưởng đến Y; $\beta_0, \beta_i, \beta_j$: các hệ số hồi quy.

Phương pháp trích ly siêu âm: Mỗi thí nghiệm cân 10 g mẫu cho vào bình tam giác thể tích 500 ml, thêm dung môi với tỷ lệ cho trước theo phương pháp bố trí thí nghiệm tối ưu. Cho bình vào thiết bị siêu âm CYF-TES600N-4S (Đài Loan, Trung Quốc), điều chỉnh công suất sóng siêu âm theo các điều kiện thí nghiệm. Tiến hành trích ly theo thời gian cho trước. Sau khi kết thúc quá trình trích ly, dịch được lọc qua giấy lọc và mang đi phân tích.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Một số thành phần hóa học của nấm Linh chi đen ở Nghệ An

Kết quả khảo sát một số thành phần hóa học của nấm Linh chi đen thu hái tại Nghệ An được thể hiện ở bảng 1. Độ ẩm của nấm sau khi thu hái được xác định khoảng $72,5 \pm 0,7\%$. Hàm lượng chất béo thô xác định được là $3,15 \pm 0,1\%$, giá trị chất béo thô của nấm Linh chi đen thu hái tại Nghệ An có giá trị cao hơn trong công bố của O. Taofiq và cs (2017) [14] ($2,50 \pm 0,1$). Hàm lượng tro ($2,58 \pm 0,12\%$) của mẫu nấm trong nghiên cứu này cũng cao hơn mẫu nghiên cứu của O. Taofiq và cs ($2,4 \pm 0,2\%$), tương tự là hàm lượng protein thô ($7,45 \pm 0,2\%$) của nấm Linh chi đen ở Nghệ An có giá trị cao hơn so với mẫu nghiên cứu của O. Taofiq và cs ($6,72 \pm 0,04\%$). Hàm lượng carbohydrate tổng ($63,10 \pm 0,5\%$) của mẫu nấm trong nghiên cứu này thấp hơn so với nghiên cứu về nấm Linh chi của O. Taofiq và cs ($88,4 \pm 0,2\%$).

Bảng 1. Hàm lượng một số thành phần trong nấm Linh chi đen ở Nghệ An.

Thành phần	Hàm lượng (%)
Độ ẩm	$72,5 \pm 0,7$
Chất béo thô	$3,15 \pm 0,1$
Chất xơ	$22,72 \pm 0,25$
Tro	$2,58 \pm 0,12$
Protein thô	$7,45 \pm 0,2$
Carbohydrate tổng	$63,10 \pm 0,5$

3.2. Thiết lập mô hình

Các nghiên cứu ban đầu đã khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly hàm lượng saponin triterpenoid và tổng phenolic từ nấm Linh chi đen như: nhiệt độ trích ly, công suất siêu âm, thời gian, tỷ lệ nước/nguyên liệu và nồng độ dung môi. Trong nghiên cứu này, tiến hành tối ưu hóa điều kiện trích ly hàm lượng saponin triterpenoid và tổng phenolic với các thông số khảo sát (bảng 2): nhiệt độ trích ly ($50-70^\circ\text{C}$), công suất siêu âm $300-500\text{ W}$ và thời gian siêu âm $60-90$ phút. Sử dụng dung môi trích ly là ethanol 50% và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/40 (g/ml).

Bảng 2. Bảng mã hóa của các biến độc lập.

Các biến độc lập	Đơn vị	Ký hiệu	Các mức mã hóa		
			-1	0	+1
Nhiệt độ trích ly	$^\circ\text{C}$	X_1	50	0	70
Thời gian siêu âm	phút	X_2	60	5	90
Công suất siêu âm	W	X_3	300	400	500

Sử dụng phần mềm Design-Expert® phiên bản 7.0 để đánh giá ảnh hưởng của các thông số quá trình trích ly hàm lượng saponin triterpenoid và tổng phenolic có sự hỗ trợ của sóng siêu âm từ nấm Linh chi đen. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Thiết kế thí nghiệm và kết quả.

Thí nghiệm	X_1 ($^\circ\text{C}$)	X_2 (phút)	X_3 (W)	Hàm lượng saponin triterpenoid Y_1 (%)	Hàm lượng tổng phenolic Y_2 (mg GAE/g)
1	-	-	0	18,26	6,34
2	+	-	0	23,17	7,64
3	-	+	0	22,55	7,67
4	+	+	0	16,79	5,42
5	-	0	-	16,21	5,22
6	+	0	-	17,98	5,21
7	-	0	+	15,86	4,71
8	+	0	+	20,18	6,93
9	0	-	-	21,29	6,34
10	0	+	-	15,49	5,51
11	0	-	+	15,71	4,68
12	0	+	+	19,48	6,92
13	0	0	0	19,53	6,54
14	0	0	0	15,54	4,06
15	0	0	0	22,76	7,94
16	0	0	0	17,13	6,17
17	0	0	0	18,50	7,17

Ghi chú: +: mã hóa mức cao; -: mã hoá mức thấp; 0: tâm của các biến.

3.3. Phân tích sự có ý nghĩa và sự tương quan của mô hình

Từ các phân tích hồi quy tuyến tính của 17 thí nghiệm đã xây dựng được phương trình hồi quy bậc hai của quá trình trích ly hàm lượng saponin triterpenoid và tổng

phenolic có hỗ trợ của siêu âm từ nấm Linh chi đen là:

$$Y_1 = 1,22 + 0,099X_1 + 0,096X_2 + 0,047X_3 + 0,050X_1X_2 - 0,058X_1X_3 - 0,047X_2X_3 - 0,15X_1^2 - 0,18X_2^2 - 0,065X_3^2 \quad (8)$$

$$Y_2 = 118,46 + 4,54X_1 + 2,88X_2 - 1,36X_3 - 1,24X_1X_2 - 1,82X_1X_3 - 2,26X_2X_3 - 5,01X_1^2 - 2,46X_2^2 + 0,96X_3^2 \quad (9)$$

Kết quả phân tích ANOVA của mô hình bậc hai của Y_1 và Y_2 đã được đánh giá bằng các giá trị F, p và R^2 (bảng 4). Giá trị F, p của Y_1 là 81,66 và 0,0001; Y_2 là 82,94 và 0,0001 cả hai giá trị đều thỏa mãn điều kiện $p < 0,05$, cho thấy cả 2

Bảng 4. Kết quả phân tích hồi quy hàm lượng TST và TFC.

Nguồn	Y_1 - TST		Y_2 - TFC	
	Giá trị F	Giá trị p	Giá trị F	Giá trị p
Mô hình	81,66	<0,0001	82,94	<0,0001
X_1	120,68	<0,0001	290,19	<0,0001
X_2	114,65	<0,0001	116,56	<0,0001
X_3	27,92	0,0011	26,04	0,0014
X_1X_2	15,47	0,0057	10,80	0,0134 ^{NS}
X_1X_3	20,46	0,0027	23,36	0,0019
X_2X_3	13,96	0,0073	35,93	0,0005
X_1^2	151,48	<0,0001	186,18	<0,0001
X_2^2	205,22	<0,0001	44,95	0,0003
X_3^2	27,52	0,0012	6,79	0,0351 ^{NS}
Không tương thích	0,68	0,6098 ^{NS}	2,50	0,1989 ^{NS}
R^2	0,9906		0,9907	
C.V%	2,46		0,65	

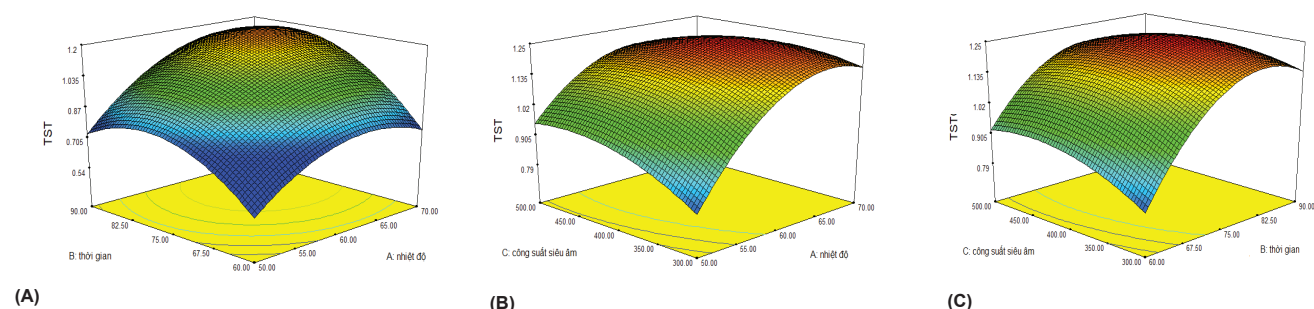
^{NS}: không có ý nghĩa.

mô hình hoàn toàn có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy đều là 99,99% ($p < 0,0001$). Hệ số tương quan bội (R^2) của mô hình Y_1 là 0,9906 và Y_2 là 0,9907 cho thấy, mô hình Y_1 mô tả đến 99,06%, mô hình Y_2 mô tả đến 99,07% sự thay đổi của các hàm mục tiêu phụ thuộc vào các biến ảnh hưởng. Chuẩn F của mô hình Y_1 là 0,68 ($p = 0,6098$ và Y_2 là 2,50 ($p = 0,1989$) chỉ ra “sự không tương thích” của 2 mô hình là vô nghĩa. Điều này tốt cho quá trình thiết lập mô hình mô phỏng thực nghiệm.

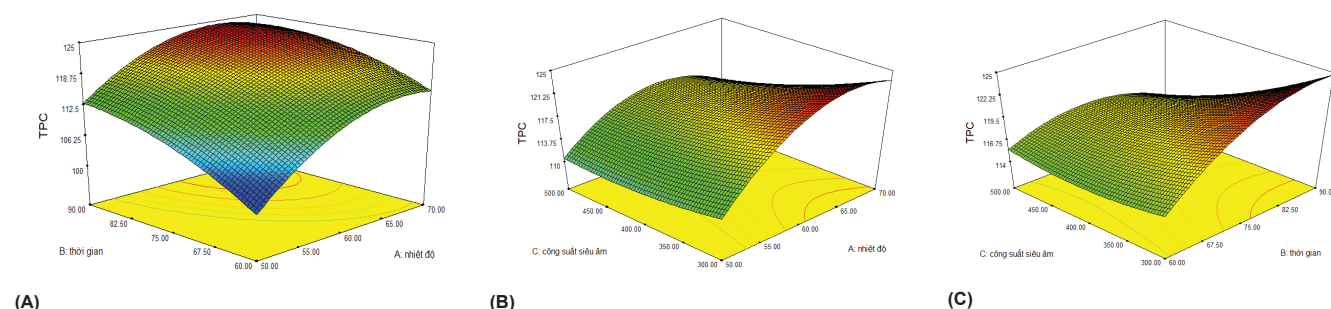
3.4. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly

Dựa vào mô hình đa thức bậc 2 thực nghiệm, dữ liệu thực nghiệm được phân tích bằng phương pháp bề mặt đáp ứng sử dụng phần mềm Design-Expert 7.0. Các trục X và Y của bề mặt đáp ứng 3 chiều đại diện cho 2 yếu tố, trục Z là một trong hai chỉ số đánh giá là hàm lượng saponin triterpenoid và tổng phenolic. Ba bề mặt đáp ứng được xây dựng như mô tả trong hình 1 và 2.

Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly hàm lượng saponin triterpenoid nấm Linh chi đen được thể hiện ở hình 1 và bảng 3. Kết quả hình 1A và bảng 3 cho thấy, ảnh hưởng tương tác của nhiệt độ trích ly và thời gian đến quá trình trích ly hàm lượng saponin triterpenoid khi công suất siêu âm được giữ tại tâm (400 W). Sự tương tác của 2 yếu tố này có ý nghĩa đến hàm lượng saponin triterpenoid thu được ($p < 0,05$). Dựa vào bề mặt đáp ứng hình 1A có thể thấy tương tác của yếu tố nhiệt độ và thời gian là tương đương nhau đến quá trình trích ly. Hàm lượng saponin triterpenoid tăng dần khi thời gian siêu âm tăng từ 60 đến 77 phút, khi thời gian tiếp tục tăng thì hàm lượng saponin triterpenoid có xu hướng giảm xuống. Hàm lượng saponin triterpenoid tổng cao nhất khi thời gian siêu âm nằm trong khoảng 75-83 phút. Tương tự như vậy, với yếu tố nhiệt



Hình 1. Bề mặt đáp ứng hàm lượng saponin triterpenoid của quá trình trích ly dịch chiết từ nấm Linh chi đen.



Hình 2. Bề mặt đáp ứng hàm lượng tổng phenolic của quá trình trích ly dịch chiết từ nấm Linh chi đen.

độ thì khi nhiệt độ tăng từ 50 đến 65°C thì hàm lượng saponin triterpenoid tăng, tuy nhiên khi nhiệt độ tiếp tục tăng lên 65-70°C thì hàm lượng saponin triterpenoid có xu hướng giảm, hàm lượng saponin triterpenoid cao nhất khi nhiệt độ trích ly ở khoảng 60-67°C.

Trên hình 1B thể hiện ảnh hưởng của cặp yếu tố công suất siêu âm với nhiệt độ trích ly. Ở tương tác này, yếu tố công suất siêu âm ảnh hưởng ít hơn yếu tố nhiệt độ. Hàm lượng saponin triterpenoid tăng lên khi công suất siêu âm tăng, giai đoạn 300-400 W thì hàm lượng tăng nhanh, tuy nhiên khi công suất tăng lên 400-500 W thì hàm lượng này có tăng nhưng không đáng kể.

Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình trích ly hàm lượng tổng phenolic từ nấm Linh chi đen được thể hiện ở hình 2 và bảng 3. Kết quả hình 2A và bảng 3 cho thấy, ảnh hưởng tương tác của nhiệt độ trích ly và thời gian siêu âm đến quá trình trích ly hàm lượng tổng phenolic khi công suất siêu âm được giữ tại tâm (400 W). Sự tương tác của 2 yếu tố này là có nghĩa đến hàm lượng tổng phenolic thu được ($p < 0,05$). Hàm lượng tổng phenolic tăng dần khi nhiệt độ và thời gian siêu âm tăng, hàm lượng tổng phenolic cao nhất khi nhiệt độ siêu âm trong khoảng 65-70°C và thời gian trong khoảng 81-90 phút. Hình 2B thể hiện ảnh hưởng của cặp yếu tố công suất siêu âm và nhiệt độ trích ly. Ảnh hưởng của cặp yếu tố này là có nghĩa ($p < 0,05$). Công suất siêu âm tăng thì hàm lượng tổng phenolic giảm, tuy nhiên xu hướng giảm này không đáng kể. Cũng như ở hình 2A, khi nhiệt độ trích ly tăng thì hàm lượng tổng phenolic thu được cũng tăng lên.

3.5. Tối ưu hoá mô hình

Quá trình trích ly nhằm thu được hàm lượng saponin triterpenoid và tổng phenolic cao nhất từ dịch chiết nấm Linh chi đen. Kết quả phân tích tối ưu hóa trên phần mềm Design-Expert® 7.0 cho thấy, với nhiệt độ trích ly 65,74°C, thời gian siêu âm 83,39 phút và công suất siêu âm 307,81 W thì hàm lượng saponin triterpenoid dự đoán là 1,1966% và hàm lượng tổng phenolic dự đoán 124,05 mg GAE/g.

Để phù hợp các thông số công nghệ của thiết bị, tiến hành thực nghiệm lại mô hình tối ưu tại các thông số: nhiệt độ trích ly 65°C, thời gian siêu âm 83 phút và công suất siêu âm 310 W, kết quả thu được như sau: hàm lượng saponin triterpenoid là 1,08±0,04% và tổng phenolic là 122,52±0,15 mg GAE/g (bảng 5). Kết quả thực nghiệm lại cho thấy quy trình trích ly phù hợp với giá trị tối ưu của mô hình.

Bảng 5: Kết quả trích ly hàm lượng saponin triterpenoid và tổng phenolic từ nấm Linh chi đen theo điều kiện tối ưu.

Điều kiện tối ưu			Các hàm mục tiêu	Giá trị thực nghiệm*	Giá trị dự đoán
X_1	X_2	X_3			
65°C	83 phút	310 W	Y_1	1,08±0,04%	1,1966%
			Y_2	122,52±0,15 mg GAE/g	124,05 mg GAE/g

*: giá trị trung bình của 3 lần thực nghiệm (n=3).

4. Kết luận

Nghiên cứu này đã xác định được một số thành phần dinh dưỡng và điều kiện tối ưu quá trình trích ly siêu âm nhằm thu được hàm lượng saponin triterpenoid và tổng phenolic cao nhất từ nấm Linh chi đen thu hái tại Khu bảo tồn thiên nhiên Pù Hoạt, Nghệ An là nhiệt độ 65°C, thời gian siêu âm 83 phút và công suất siêu âm 310 W. Với các thông số này, dịch chiết thu được có hàm lượng saponin triterpenoid cao nhất là 1,08±0,04% và tổng phenolic cao nhất là 122,52±0,15 mg GAE/g.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S.T. Chang, J.A. Buswell (1999), "*Ganoderma lucidum* (curt.: Fr.) P. Karst. (Aphyllophoromycetideae) - A mushrooming medicinal mushroom", *International Journal of Medicinal Mushrooms*, **1**(2), pp.139-146, DOI: 10.1615/IntJMedMushrooms.v1.i2.30.
- [2] S.C. Jong, J.M. Birmingham (1992), "Medicinal benefits of the mushroom *Ganoderma*", *Advances in Applied Microbiology*, **37**, pp.101-134, DOI: 10.1016/S0065-2164(08)70253-3.
- [3] B. Boh, M. Berovic, J. Zhang, et al. (2007), "*Ganoderma lucidum* and its pharmaceutically active compounds", *Biotechnol. Annu. Rev.*, **13**, pp.265- 301, DOI: 10.1016/S1387-2656(07)13010-6.
- [4] X. Bao, X. Wang, Q. Dong, et al. (2002), "Structural features of immunologically active polysaccharides from *Ganoderma lucidum*", *Phytochemistry*, **59**(2), pp.175-181, DOI: 10.1016/S0031-9422(01)00450-2.
- [5] B. Han, Y. Chen, Y. Ren, et al. (2004), "Content determination of total saponins from *Opuntia*", *An Indian Journal of Biotechnology*, **10**(18), pp.10400- 10404.
- [6] N.V. Thu (1990), *Saponin Chemistry*, Faculty of Pharmacy, Ho Chi Minh City University of Medicine and Pharmacy, 468pp (in Vietnamese).
- [7] AOAC (2003), *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, <https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis/>, accessed 10 January 2022.
- [8] N. Raghuramulu, N.K. Madhavan, S. Kalyanasundaram (2003), *A Manual of Laboratory Techniques*, National Institute of Nutrition, 2nd ed, 421pp.
- [9] N.A. Khan, M. Ajmal, J. Nicklin, et al. (2013), "Nutritional value of *Pleurotus (flabellatus) DJAMOR(R-22)* cultivated on sawdusts of different woods", *Pak. J. Bot.*, **45**(3), pp.1105-1108.
- [10] S.T. Chang, J.A. Buswell (2003), "Mushrooms - A prominent source of nutraceuticals for the 21st Century", *Curr. Topics in Nutraceutical Res.*, **1**, pp.257- 280.
- [11] J. Ashraf, M.A. Ali, W. Ahmad, et al. (2013), "Effect of different substrate supplements on oyster mushroom (*Pleurotus spp.*)", *Production Food Science and Technology*, **1**(3), pp.44-51, DOI: 10.13189/fst.2013.010302.
- [12] Y. Chen, M.Y. Xie, X.F. Gong (2007), "Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from *Ganoderma atrum*", *Journal of Food Engineering*, **81**(1), pp.162-170, DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2006.10.018.
- [13] V.L. Singleton, R. Orthofer, R.M. Lamuela-Raventós (1999), "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent", *Methods in Enzymology*, **299**, pp.152-178, DOI: 10.1016/S0076-6879(99)90917-1.
- [14] O. Taofiq, S.A. Heleno, R.C. Calhelha, et al. (2017), "The potential of *Ganoderma lucidum* extracts as bioactive ingredients in topical formulations, beyond its nutritional benefits", *Food and Chemical Toxicology*, **108**(A), pp.139-147, DOI: 10.1016/j.fct.2017.07.051.