ẢNH HƯỞNG MỘT SỐ YẾU TỐ ĐẾN KHẢ NĂNG CHIẾT XUẤT β-D- GLUCAN CHO CHẾ BIẾN THỰC PHẨM TỪ NẤM BỜM SƯ TỬ BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾT CÓ HỖ TRỢ SÓNG SIÊU ÂM

Nguyễn Đức Tiến[1]

TÓM TẮT

Những tác dụng có lợi của β-D-Glucan từ nấm Bờm sư tử *(Hericium erinaceus)* đối với sức khỏe con người đã tạo sự quan tâm về nghiên cứu phát triển các phương pháp chiết xuất chúng từ *Hericium erinaceus* quả thể. Hợp chất β-D-Glucan của nấm Bờm sư tử có chức năng được ứng dụng cho chữa bệnh về dạ dày, loét tá tràng, hỗ trợ chữa ung thư dạ dày, ung thư thực quản, ung thư đại trực tràng, giúp chống mệt mỏi, chống quá trình oxy hóa, chống lão hóa và tăng cường miễn dịch… Một số điều kiện tối ưu để trích β-D-Glucan từ nấm bờm sư tử đã được nghiên cứu. Sự kết hợp giữa chiết xuất bằng dung môi là nước nóng với sử dụng sóng siêu âm tần số 20 kHz được sử dụng để tối ưu các thông số đã cho thấy chiết xuất bằng nước khử ion, cường độ siêu âm 50 W/cm^2 với chiết xuất tỷ lệ dung môi nước khử ion/BV1 nguyên liệu là 16 (v/w), thời gian siêu âm 12 phút ở nhiệt độ 55±2^0C cho khả năng chiết xuất thu hàm lượng β-D-Glucan cao (tăng cao hơn 2,14 lần so với chiết xuất không siêu âm trong 180 phút). Cho thấy tiềm năng ứng dụng sóng siêu âm trong chiết xuất β-D-Glucan từ nấm bờm sư tử mang lại hiệu quả hơn so với phương pháp chiết xuất thông thường không sử dụng sóng siêu âm: rút ngắn thời gian chiết xuất, hàm lượng β-D-Glucan thu được cao hơn.

Từ khóa: *Chiết xuất, nấm Bờm sư tử, sóng siêu âm, β-D-Glucan.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm Bờm sư tử có tên khoa học là *Hericium erinaceus,* đây là một loại nấm thuộc họ *Hericiaceae.* Nấm Bờm sư tử còn có tên gọi khác là nấm Đầu khỉ, nấm Hầu Thủ, nấm Lông nhím... Chúng được biết đến cách đây hàng trăm năm trong truyền thống ẩm thực Trung Quốc, Nhật Bản bởi giá trị dinh dưỡng cân đối, cung cấp năng lượng vừa phải, giàu vitamin và khoáng chất.

Nấm Bờm sư tử chứa nhiều hoạt chất có hoạt tính sinh học như: β-D-Glucan, Diterpenoid, axit béo... [1]. β-D-Glucan từ nấm Bờm sư tử là Polysaccharide của D-glucose được tạo nên từ các liên kết β-1,3/1,4-glycoside hoặc β-1,3/1,6-glycoside. Polysaccharide từ nấm Bờm sư tử chủ yếu thuộc nhóm β-D-Glucan đã được chứng minh có hoạt tính sinh học như hoạt động chống khối u, chống HIV, tăng cường miễn dịch, tác dụng hạ đường huyết và khả năng kháng khuẩn... [1].

Hiện nay, nấm Bờm sư tử đã được nuôi trồng và sản xuất thử ở một số nơi tại Việt Nam và cho kết quả rất khả quan về năng suất cũng như chất lượng. Tuy nhiên, các sản phẩm chế biến từ nấm Bờm sư tử tại Việt Nam còn hạn chế [2]. Từ thực tiễn trên, nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu và dung môi, nhiệt độ, thời gian và cường độ sóng siêu âm đến khả năng chiết xuất β-D-Glucan từ quả thể nấm Bờm sư tử trồng tại Ba Vì, Hà Nội được thực hiện.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu, dụng cụ và máy móc thiết bị

2.1.1. Nguyên liệu

- Nấm Bờm sư tử được thu thập tại cơ sở trồng tại Ba Vì, Hà Nội vào tháng 11-12/2021.

[1] Viện Cơ điện Nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch
Email: nguyenductienvcd@gmail.com

2.1.2. Vật liệu và hóa chất

Ethanol 96% (EtOH 96%), nước cất, D-glucose tinh khiết (Fisher – Mỹ), phenol, axit sulfuric (96%), ethyl acetate,

2.1.3. Dụng cụ, máy móc và thiết bị

Máy siêu âm TJS-3000 V6.0, máy đo mật độ quang (Ultrospec 2000, Pharmacia Biotech), máy sấy (Grot DZ 47-63), cân phân tích (Precisa XT 320M, Thụy Sỹ), cân kỹ thuật (Cent-0-Gram Balance, OHAUS, Mỹ)...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp lấy mẫu và xử lý mẫu

Quả thể nấm Bờm sư tử tươi được thu thập tại cơ sở trồng nấm cho mỗi đợt nghiên cứu là cùng điều kiện sản xuất và thu hoạch nấm, lượng mẫu mỗi đợt tiến hành thực nghiệm là 30 kg nguyên liệu nấm tươi, nguyên liệu được đóng gói trong sọt nhựa 10 kg nguyên liệu/sọt, vận chuyển đến phòng thí nghiệm trong vòng 1 giờ, thu nhận mẫu theo Codex Methods of Sampling (2004) [2].

Tại phòng thí nghiệm, tiến hành loại bỏ dị vật, làm sạch, đem sấy khô bằng sấy chân không ở nhiệt độ 45^{0}C/-0,8 atm, sau đó xay nhỏ thành bột đạt cỡ hạt 1 mm có độ ẩm 12%, trộn đều để đồng nhất mẫu, gọi là bột nấm Bờm sư tử, ký hiệu là: BV1. Nguyên liệu BV1 bảo quản ở nhiệt độ 5^{0}C, tránh ánh sáng, ẩm để dùng triển khai cho các thí nghiệm.

2.2.2. Phương pháp xác định nhiệt độ chiết xuất β-D-Glucan từ BV1

Mỗi mẫu 0,3 kg BV1 nguyên liệu được khảo sát chiết xuất ở các nhiệt độ khác nhau: 35, 40, 45, 50, 55 và 60±2°C. Chiết xuất cùng điều kiện: tỷ lệ dung môi (nước khử ion): nguyên liệu là 16 (v/w), siêu âm cường độ 50 w/cm^2/tần số 20 kHz và thời gian 7 phút. Dịch chiết xuất ở từng thực nghiệm đem xác định hàm lượng *β-D-Glucan* của từng mẫu [4].

2.2.3. Phương pháp xác định tỷ lệ dung môi nước khử ion/nguyên liệu (DM/NL) chiết xuất β-D-Glucan từ BV1

Mỗi mẫu 0,3 kg bột BV1 nguyên liệu được khảo sát tỷ lệ DM/NL ở các tỷ lệ sau: 8/1, 10/1, 12/1, 14/1, 16/1, 18/1 và 20/1 (v/w). Chiết xuất cùng điều kiện: siêu âm chiết xuất ở cường độ 50 w/cm^2, nhiệt độ 60±2^{0}C và thời gian 7 phút. Dịch chiết xuất ở từng thực nghiệm đem xác định hàm lượng *β-D-Glucan* của từng mẫu [4]

2.2.4. Phương pháp xác định thời gian và cường độ sóng siêu âm đến khả năng chiết xuất β-D-Glucan từ BV1

Mỗi mẫu 0,3 kg bột BV1 nguyên liệu được khảo sát chiết xuất ở nhiệt độ 55±2^{0}C, ở các cường độ siêu âm và thời gian khác nhau: 0 (không siêu âm) 30, 35, 40, 45 và 50 w/cm^2, thời gian siêu âm chiết xuất là 8, 10, 12, 14, 16, 18 phút và thời gian 180 phút ở phương pháp chiết xuất không sử dụng sóng siêu âm. Chiết xuất cùng điều kiện: tỷ lệ dung môi (nước khử ion): nguyên liệu là 16 (v/w), tần số siêu âm 20 kHz, sau đó thu dịch chiết xuất để xác định hàm lượng *β*-D-Glucan của từng mẫu [4]

2.2.5. Phương pháp đánh giá chỉ tiêu chất lượng, cảm quan, an toàn thực phẩm của chế phẩm chiết xuất β-D-Glucan từ nấm bờm sư tử cho chế biến thực phẩm bảo vệ sức khoẻ

Dịch chiết nấm bờm sư tử thu được đem cô ở nhiệt độ 60°C/-0,8 atm thành cao chiết đạt 30% chất khô, sau đó tủa với ethanol 80%/cao chiết là 5/1 (v/w), thu tủa đem sấy khô ở nhiệt độ 60°C/-0,8 atm thu được bột chế phẩm BV1, chế phẩm BV1 đem định lượng *β*-D-Glucan [4], xác định chỉ tiêu chất lượng, cảm quan, an toàn thực phẩm về chỉ tiêu hoá lý và vi sinh vật.

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Phương pháp định lượng β-D-Glucan bằng phương pháp phenol - axit sulfuric theo phương pháp của Dubois và cs (1956) [4]

- Mẫu dịch chiết được bổ sung EtOH 96% tỷ lệ dịch chiết xuất/EtOH 96% là 1/5 ở 10^{0}C trong 12 giờ, lọc thu tủa. Sấy khô chân không tủa tại 60^{0}C/-0,8 atm đến khối lượng không đổi thu tủa *β*-D-Glucan tổng thô. Cân xác định hàm lượng *β*-D-Glucan tổng, định lượng β-D-Glucan được xác định bằng phương pháp phenol - axit sulfuric [4].

- Hòa tan mẫu trong nước cất theo tỉ lệ xác định, đem định lượng *β*-D-Glucan được xác định bằng phương pháp phenol - axit sulfuric: 5 ml dung dịch đường chuẩn (gradient nồng độ đường từ 0

đến 150 µg/ml) và 5 ml dịch mẫu β-D-Glucan được bổ sung 0,5 ml phenol 4%, 2,5 ml axit sunfuric đậm đặc. Các phản ứng để ổn định 30^{0}C trước khi đọc kết quả. Các phân tích so màu đã được thực hiện bằng cách tiến hành so màu tại bước sóng 492 nm. Làm mẫu đối chứng tượng tự, dùng nước cất thay mẫu. Lượng β-D-Glucan trong chiết xuất nấm đã được xác định khi so sánh với đường chuẩn D-glucose tinh khiết. Từ hiệu số giá trị OD (λ = 492 nm) giữa dịch mẫu và đối chứng sẽ tính được hàm lượng β-D-Glucan có trong mẫu bằng cách so sánh với giá trị OD (λ = 492 nm) của D-glucose được dùng làm chất chuẩn [4].

2.3.2. Phương pháp đánh giá chỉ tiêu cảm quan

Màu sắc, vị và mùi theo TCVN 12389: 2018 (ISO 8586: 2012) [5].

2.3.3. Phương pháp đánh giá chỉ tiêu hoá lý

Xác định độ ẩm (%) theo TCVN 4326: 2001 (ISO 6496: 1999) [6]; xác định hàm lượng tro tổng số theo AOAC 900.02; xác định hàm lượng chì theo AOAC 994.02 [7]; xác định asen theo AOAC 952,13 [8]; xác định hàm lượng cadimi theo AOAC 2000 [9]; xác định hàm lượng thủy ngân theo AOAC 971,21 [10]; xác định hàm lượng đồng theo ISO 8294: 1994 [11]; xác định hàm lượng 3-MCPD theo TCVN 7731: 2007 [12].

2.3.4. Phương pháp đánh giá chỉ tiêu vi sinh vật

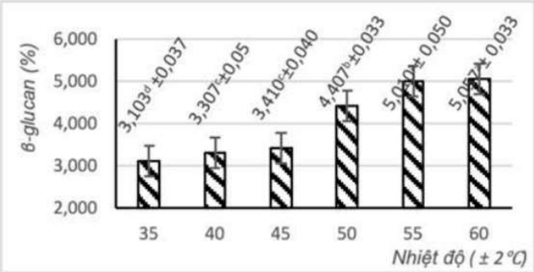
Xác định tổng số vi khuẩn yếu khí, nấm men, nấm mốc trong các sản phẩm thực phẩm theo TCVN 4886-89 [13]; xác định *E. coli* theo TCVN 6846: 2007 [14]; xác định *Salmonella* theo TCVN 4829: 2005 [15]; xác định *Staphylococcus aureus* theo TCVN 4830: 2005 [16]; xác định *Clostridium perfringens* theo TCVN 4991: 2005 [17]; xác định *Bacillus cereus* theo TCVN 4992:89 [18]; xác định aflatoxin theo TCVN 7596: 2007 [19]; xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí theo TCVN 4884: 2005 [20]; tổng bào tử nấm men – mốc TCVN 6265: 2007 [21]; xác định *coliforms* theo TCVN 4882: 2007 [22].

2.3.5. Phương pháp xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm đều tiến hành lại 3 lần độc lập, số liệu là kết quả trung bình của các lần thí nghiệm. Các số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phân tích phương sai một nhân tố (ANOVA) để xác định sự sai khác giữa các giá trị trung bình so sánh bằng LSD, có ý nghĩa với độ tin cậy P <0,05. Sử dụng phần mềm Statgraphics Plus, versoon 5.1.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng chiết xuất β-D-Glucan từ BV1 bằng sóng siêu âm



Hình 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng β-D-Glucan trong dịch chiết xuất BV1 bằng sóng siêu âm

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một cột, biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức (p<0,05).

Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất có hỗ trợ bằng sóng siêu âm của quá trình chiết xuất β-D-Glucan khi khảo sát chiết xuất ở các mốc nhiệt độ 35, 40, 45, 50, 55 và 60±2°C. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng chiết xuất β-D-Glucan từ BV1 bằng sóng siêu âm thể hiện ở hình 1 cho thấy, khi chiết xuất bằng sóng siêu âm tăng nhiệt độ từ 35, 40 lên 50±2^{0}C cho hàm lượng β-D-Glucan trong dịch chiết xuất tăng tương ứng từ 3,103±0,037% β-D-Glucan, 3,307±0,053% β-D-Glucan lên 4,407±0,033% β-D-Glucan. Tuy nhiên, khi tăng tiếp từ nhiệt độ 55±2^{0}C đạt 5,010±0,050% β-D-Glucan lên nhiệt độ 60±2^{0}C đạt 5,057±0,033% β-D-Glucan, cho thấy không thay đổi nhiều và không có ý nghĩa về mặt thống kê. Bởi vì khả năng hòa tan của các chất trong dung dịch, nhất là các polysacchatide hoàn toàn phụ thuộc vào nhiệt độ. Hơn nữa, β-D-Glucan nằm trong cấu trúc nấm BV1 mà cấu trúc bên ngoài là lớp cellulose, pectin, polysaccharide không tan. Khi nhiệt độ chiết xuất càng cao sẽ làm cho độ xốp của nguyên liệu tăng lên (do nguyên liệu trương nở), độ nhớt giảm và hoạt chất sẽ hòa tan dễ hơn vào dung môi. Tuy nhiên, nhiệt độ là một yếu tố có giới hạn vì nhiệt

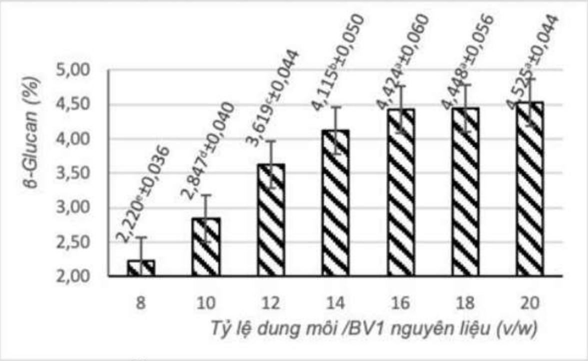
độ quá cao có thể xảy ra các phản ứng khác không cần thiết như tăng độ tan của một số tạp chất, thúc đẩy các biến đổi hóa học làm chất lượng dịch chiết xuất biến đổi không có lợi và làm tăng chi phí sản xuất, ở nhiệt độ cao sẽ phá vỡ lớp màng, cũng như làm hòa tan các polysaccharide trong đó có *β*-D-Glucan…

Nhiệt độ chiết xuất bằng sóng siêu âm tăng sẽ làm gia tăng số lượng bọt khí tạo thành, tuy nhiên cường độ vỡ bọt khí sẽ bị giảm do ảnh hưởng của áp suất hơi tăng lên và đóng vai trò như lớp đệm, ngăn cản sự va chạm của các phân tử xung quanh khi bọt khí vỡ. Ngược lại, sự vỡ bọt khí sẽ khó khăn khi nhiệt độ giảm, vì độ nhớt môi trường tăng cao. Vậy chiết xuất *β*-D-Glucan từ BV1 có hỗ trợ bằng sóng siêu âm ở nhiệt độ 55±2^{0}C là điều kiện thích hợp cho chiết xuất *β*-D-Glucan được nghiên cứu.

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi và nguyên liệu đến khả năng chiết xuất *β*-D-Glucan từ BV1 bằng sử dụng sóng siêu âm

Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ DM/NL đến khả năng chiết xuất *β*-D-Glucan từ BV1 bằng sử dụng sóng siêu âm thể hiện ở hình 2 cho thấy, sử dụng dung môi với các tỷ lệ khác nhau thì khả năng chiết xuất *β*-D-Glucan khác nhau, hàm lượng β-D-Glucan tăng khi tỷ lệ dung môi tăng, *β*-D-Glucan tăng mạnh từ tỷ lệ DM/NL: 8, 10, 12 và 14 (v/w), cho *β*-D-Glucan tăng tương ứng lần lượt là 2,220±0,036; 2,847±0,040; 3619±0,044 và 4,115±0,050% *β*-D-Glucan.

Với tỷ lệ dung dịch chiết xuất sử dụng càng cao thì thể tích dịch trích (V) thu được càng nhiều, trong khi lượng chất *β*-D-Glucan của nguyên liệu là không đổi, *β*-D-Glucan ở các mẫu có tỷ lệ DM/NL: 16, 18 và 20 (v/w) cho β-D-Glucan tăng không đáng kể, tương ứng hàm lượng β-D-Glucan lần lượt là 4,424±0,060% *β*-D-Glucan, 4,448±0,056% *β*-D-Glucan và 4,525±0,044% *β*-D-Glucan. Cho thấy tỷ lệ dung môi chiết xuất thấp, cho hoạt hàm lượng *β*-D-Glucan thu hồi thấp, có thể do lượng dung môi sử dụng ít, không đủ xâm nhập vào toàn bộ nguyên liệu chiết xuất, không đủ cho sự khuyếch tán chất tan vào dung môi, gia tăng tỷ lệ dung môi sử dụng làm chênh lệch nồng độ chất tan và cơ chất tăng, làm tăng tính tan và tăng sự khuếch tán, vì thế làm tăng *β*-D-Glucan trong quá trình chiết xuất, khi tỷ lệ dung môi sử dụng và nguyên liệu gia tăng cũng thúc đẩy quá trình hòa tan *β*-D-Glucan vào dung môi tăng nhanh ở giai đoạn đầu, các chất tan có điều kiện hòa tan tốt vào dung môi bởi lượng dung môi lớn sẽ làm tăng khả năng tiếp xúc của tế bào với dung môi, làm tăng sự chênh lệch nồng độ giữa môi trường bên trong và bên ngoài tế bào nấm. Từ đó làm tăng sự chênh lệch áp suất thẩm thấu và sự khuếch tán của các chất tan có trong tế bào nấm ra dung môi chiết xuất, dẫn đến hàm lượng *β*-D-Glucan và các chất tan khác trong dịch chiết xuất tăng lên, ban đầu nồng độ *β*-D-Glucan có trong nguyên liệu nhiều, dẫn đến sự khuếch tán chúng ra khỏi tế bào cũng nhanh.



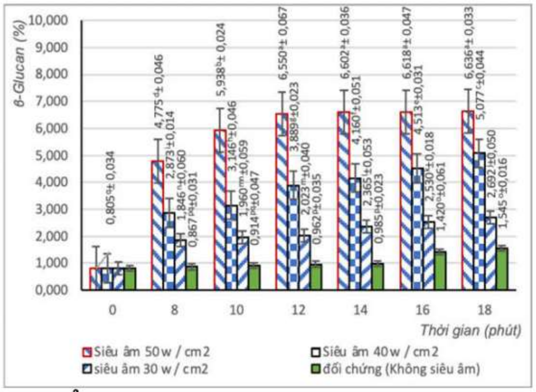
Hình 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi nước khử ion với BV1 nguyên liệu đến hàm lượng *β*-D-Glucan trong dịch chiết xuất bằng sử dụng sóng siêu âm

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một cột, biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức (p<0,05).

Nghiên cứu của Cheung và cs (2014) cũng cho thấy tỉ lệ rắn trên lỏng càng giảm tức dung môi chiết xuất càng tăng thì hàm lượng Polysaccharide chiết xuất được từ nấm càng giảm [23]. Lượng chất tạp tăng lên sẽ làm tăng chi phí, thời gian tinh sạch, thu nhận chế phẩm. Đồng thời nếu chọn lượng dung môi quá lớn sẽ gây lãng phí dung môi và năng lượng, làm kéo dài thời gian cô đặc thu nhận hoạt chất. Ở các tỷ lệ DM/NL chiết xuất: 16, 18 và 20 (v/w) cho khả năng chiết xuất *β*-D-Glucan từ BV1 với hàm lượng *β*-D-Glucan trong dịch chiết xuất của các tỷ lệ này không có sự sai khác đáng kể, do đó để đảm bảo hiệu suất chiết xuất cũng

như tối thiểu các chi phí (nguyên liệu, năng lượng…) cho thấy tỷ lệ dung môi nước khử ion/BV1 nguyên liệu là 16 (v/w) được chọn là phù hợp cho quá trình chiết xuất *β*-D-Glucan từ BV1 bằng sử dụng sóng siêu âm.

3.3. Ảnh hưởng của thời gian và cường độ sóng siêu âm chiết xuất đến khả năng chiết xuất *β*-D-Glucan từ BV1



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian và cường độ sóng siêu âm đến hàm lượng *β*-D-Glucan của dịch chiết xuất BV1

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một cột, biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức (p<0,05).

Kết quả nghiên cứu ở hình 3 cho thấy, hàm lượng *β*-D-Glucan chiết xuất phụ thuộc vào cường độ sóng siêu âm và thời gian siêu âm, hàm lượng *β*-D-Glucan trong dịch chiết xuất tăng khi cường độ siêu âm tăng và kéo dài thời gian chiết xuất. Chiết xuất không sử dụng sóng siêu âm (đối chứng), khi điều chỉnh với thời gian chiết xuất từ 8, 10 đến 12 phút cho hàm lượng *β*-D-Glucan dịch chiết xuất tăng lần lượt từ 0,805±0,034%, 0,867±0,031% đến 0,914±0,047%. Khi điều chỉnh với thời gian chiết xuất từ 8 đến 18 phút: cường độ sóng siêu âm 30 W/cm^2 cho dịch chiết xuất có *β*-D-Glucan tăng từ 1,846±0,060% đến 2,692±0,050%; cường độ siêu âm 40 w/cm^2 cho *β*-D-Glucan dịch chiết xuất tăng theo thời gian tăng từ 2,873±0,014% lên 5,077±0,044%; cường độ siêu âm 50 W/cm^2 với thời gian: 8, 10 và 12 phút siêu âm cho *β*-D-Glucan ở dịch chiết xuất tăng tương ứng là 4,775± 0,046; 5,938± 0,024 và 6,550±0,067%, sau thời gian chiết xuất từ 14, 16 và 18 phút siêu âm chiết xuất cho thấy *β*-D-Glucan vẫn tăng, nhưng tăng không đáng kể, tương ứng là 6,602±0,036; 6,618±0,047 và 6,636±0,033%, cho thấy cường độ sóng siêu âm càng mạnh thì khả năng chiết xuất hoạt chất cao với thời gian càng ngắn hơn và sau thời gian nhất định càng tăng thời gian chiết xuất càng cho khả năng chiết xuất hoạt chất cao, ở thời gian chiết xuất kéo dài nhất định sẽ tăng các tạp chất hòa tan vào dung môi chiết xuất. Điều này cho thấy tại thời gian chiết xuất 16 phút hàm lượng β-D-Glucan trong mẫu đã được chiết xuất gần hết. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Cheung và cs (2014) thời gian chiết xuất các hoạt chất từ nấm bằng sóng siêu âm cường độ cao [23].

Các mốc thời gian ở các cường độ siêu âm được khảo sát là khi cường độ và thời gian siêu âm tăng thì *β*-D-Glucan thu được ở dịch chiết xuất tăng, cao hơn nhiều so với đối chứng (không sử dụng sóng siêu âm), cho thấy khả năng chiết xuất *β*-D-Glucan cao ở cường độ siêu âm là 50 w/cm^2. Điều này là do ở cường độ siêu âm càng cao càng tăng hiện tượng sủi bọt tạo lực phá vỡ cao, tăng tốc độ truyền khối của chất chiết xuất. Ngoài ra, sự phá vỡ bọt cũng tạo sự khuấy trộn giúp cho khuyếch tán chất chiết xuất bên trong nguyên liệu thoát ra ngoài dễ dàng hơn [24]. Đi kèm với việc siêu âm là sự tăng nhiệt độ mẫu, cường độ siêu âm càng lớn, thời gian càng dài nhiệt độ mẫu càng cao, đây cũng là một tác nhân góp phần tăng hiệu suất chiết xuất, siêu âm cường độ cao làm giãn bong bóng quá nhanh trong suốt chu kỳ áp suất âm do đó làm cho bong bóng không có cơ hội co rút trong chu kỳ áp suất dương, ngược lại khi cường độ siêu âm nhỏ hơn thì số lần bong bóng giãn ra và nén lại sẽ tăng lên, do đó thời gian chiết xuất sẽ dài hơn [25, 26, 23]. Kết quả thực nghiệm cho thấy chiết xuất *β*-D-Glucan ở cường độ 50 w/cm^2/tần số 20 kHz, chiết xuất ở nhiệt độ 60±2^{0}C trong 12 phút cho *β*-D-Glucan dịch chiết xuất tăng cao hơn nhiều so với phương pháp chiết xuất không sử dụng sóng siêu âm, tăng gấp 6,81 lần ở thời gian chiết xuất 8 phút, tăng gấp 2,14 lần so với ở thời gian chiết xuất 180 phút không sử dụng sóng siêu âm (đạt 3,06±0,024% *β*-D-Glucan).

Cho thấy năng lượng sóng siêu âm đem lại hiệu quả chiết xuất *β*-D-Glucan từ BV1, tăng cường độ sóng siêu âm phần lớn tăng khả năng

chiết xuất. Vì vậy, để tiết kiệm thời gian và chi phí. Chiết xuất β-D-Glucan từ BV1 ở cường độ siêu âm 50 w/cm^2 với thời gian 12 phút siêu âm chiết xuất được lựa chọn phù hợp nhất cho chiết xuất β-D-Glucan từ BV1.

3.4. Chất lượng, cảm quan, an toàn thực phẩm của chế phẩm BV1 cho chế biến thực phẩm bảo vệ sức khoẻ

Chế phẩm BV1 được sản xuất từ dịch chiết BV1 chiết xuất ở điều kiện tỷ lệ dung môi nước khử ion/nguyên liệu là 16/1 (v/w) ở 55°C bằng sóng siêu âm cường độ 50 w/cm^2/tần số 20 kHz/12 phút. Sản phẩm chế phẩm BV1 được đánh giá các chỉ tiêu:

- Chỉ tiêu cảm quan

Bảng 1. Kết quả các chỉ tiêu cảm quan của chế phẩm BV1

Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Kết quả
Cảm quan	Màu sắc	Màu be sáng
Cảm quan	Vị	Nhạt
Cảm quan	Mùi	Thơm nhẹ

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, chế phẩm BV1 sản xuất được có chất lượng ổn định chỉ tiêu cảm quan: màu sắc màu be sáng, vị nhạt và mùi thơm nhẹ, đáp ứng phù hợp cho chế biến thực phẩm.

- Chỉ tiêu hóa lý

Bảng 2. Kết quả các chỉ tiêu hóa lý của chế phẩm BV1

Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Kết quả
β-D-Glucan	%	38,61±0,14
Độ ẩm	%	2,58±0,25
Hàm lượng tro tổng số	%	0,41±0,04

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, chế phẩm BV1 sản xuất được có chất lượng ổn định về các chỉ tiêu hoá lý: hàm lượng β-D-Glucan đạt 38,61±0,14% là phù hợp cho chế biến sản phẩm thực phẩm bảo vệ sức khoẻ có hàm lượng β-D-Glucan cao, độ ẩm và hàm lượng tro tổng số đáp ứng yêu cầu về giới hạn cho phép trong thực phẩm, thực phẩm bảo vệ sức khoẻ (theo quy định giới hạn tối đa nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm, QĐ số 46/2007/QĐ-BYT ngày 19/12/2007 của Bộ trưởng Bộ Y tế).

- Chỉ tiêu vi sinh vật

Bảng 3. Kết quả các chỉ tiêu vi sinh vật trong chế phẩm BV1

Chỉ tiêu	Đơn vị tính	Kết quả	Giới hạn nhiễm*
Tổng số vi khuẩn hiếu khí	cfu/g	KPH	10^4
Tổng số bào tử nấm men-mốc	cfu/g	KPH	10^2
Coliforms (37°C/48 giờ)	cfu/g	KPH	10
E. coli (37°C/96 giờ)	cfu/g	KPH	0
S. aureus (37°C/48 giờ)	cfu/g	KPH	3
Cl. perfringens	cfu/g	KPH	10
Salmonella (37°C/48 giờ)	cfu/25 g	KPH	0
B. cereus	cfu/g	KPH	10

*Ghi chú: KPH: Không phát hiện (nghĩa là dưới ngưỡng phát hiện của phương pháp; * Quy định giới hạn tối đa nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm (dùng trực tiếp, không qua sử lý nhiệt trước khi sử dụng - ban hành kèm theo Quyết định số 46/2007/QĐ-BYT ngày 19 tháng 12 năm 2007 của Bộ trưởng Bộ Y tế)*

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, chế phẩm BV1 tạo ra được có chất lượng ổn định, đáp ứng được các yêu cầu về giới hạn cho phép trong thực phẩm và thực phẩm bảo vệ sức khoẻ (theo quy định giới hạn tối đa nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm, Quyết định số 46/2007/QĐ-BYT ngày 19/12/2007 của Bộ trưởng Bộ Y tế).

- Chỉ tiêu kim loại nặng, aflatoxin và 3-MCPD

Bảng 4. Kết quả các chỉ tiêu kim loại nặng, aflatoxin và 3-MCPD

Chỉ tiêu	Đơn vị tính	Kết quả	Giới hạn nhiễm*
Hàm lượng chì	mg/kg	KPH	≤ 10,0
Hàm lượng asen	mg/kg	KPH	≤ 5,0
Hàm lượng cadimi	mg/kg	KPH	≤ 0,3
Hàm lượng thủy ngân	mg/kg	KPH	≤ 0,5
Hàm lượng đồng	mg/kg	KPH	≤ 5,0
Aflatoxin	µg/kg	KPH	≤ 5,0
3-MCPD	µg/kg	KPH	50

*Ghi chú: KPH: Không phát hiện (nghĩa là dưới ngưỡng phát hiện của phương pháp (0,002 mg/kg); * Quy định giới hạn tối đa nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm (dùng trực tiếp, không qua sử lý nhiệt trước khi sử dụng - Ban hành kèm theo Quyết định số 46/2007/QĐ-BYT ngày 19 tháng 12 năm 2007 của Bộ trưởng Bộ Y tế)*

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, chế phẩm BV1 tạo ra được có chất lượng ổn định, đáp ứng được các yêu cầu về giới hạn kim loại nặng cho phép trong thực phẩm và thực phẩm bảo vệ sức khoẻ (theo quy định giới hạn tối đa nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm, Quyết định số 46/2007/QĐ-BYT ngày 19/12/2007 của Bộ trưởng Bộ Y tế).

Chế phẩm BV1 đáp ứng các chỉ tiêu cảm quan, chất lượng và chỉ tiêu an toàn thực phẩm. Bước đầu cho thấy tiềm năng ứng dụng sóng siêu âm trong chiết xuất β-D-Glucan cho chế biến thực phẩm bảo vệ sức khoẻ từ nấm Bờm sư tử mang lại hiệu quả hơn so với phương pháp chiết xuất thông thường không sử dụng sóng siêu âm.

4. KẾT LUẬN

Xác định được một số điều kiện thích hợp cho chiết xuất β-D-Glucan từ nấm BV1 có hỗ trợ bằng sóng siêu âm là sự kết hợp giữa chiết xuất bằng dung môi là nước nóng với sử dụng sóng siêu âm tần số 20 kHz được sử dụng để tối ưu các thông số đã cho thấy chiết xuất tỷ lệ dung môi nước khử ion/BV1 nguyên liệu là 16 (v/w), cường độ siêu âm 50 W/cm^2 với thời gian siêu âm 12 phút ở nhiệt độ 55±2^{0}C cho khả năng chiết xuất thu hàm lượng β-D-Glucan cao (tăng cao hơn 2,14 lần so với chiết xuất không siêu âm trong 180 phút).

Bước đầu đã tạo ra được chế phẩm BV1 được ứng dụng cho chế biến thực phẩm bảo vệ sức khoẻ. Cho thấy tiềm năng ứng dụng sóng siêu âm trong chiết xuất β-D-Glucan từ nấm BV1 ở Việt Nam mang lại hiệu quả hơn so với phương pháp chiết xuất thông thường không sử dụng sóng siêu âm, rút ngắn thời gian chiết xuất cho thu nhận hàm lượng β-D-Glucan cao.

LỜI CẢM ƠN

Công trình này được hỗ trợ tài chính từ nhiệm vụ khoa học công nghệ cấp Quốc gia: "Hoàn thiện công nghệ sản xuất các hoạt chất từ nấm dược liệu (nấm linh chi, nấm hương và nấm Bờm sư tử) để chế biến một số sản phẩm thực phẩm chức năng". Mã số: DAĐL.CN-02/18

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kawagishi H., Zhuang C. (2008). Compounds for dementia from *Hericium erinaceum*. *Drugs of the Future* 33 (2): 149-155.

2. Vũ Kim Thảo, Đỗ Tấn Khang, Bùi Thị Minh Diệu và Trần Nhân Dũng (2019). Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng đến sinh trưởng và phát triển của nấm hầu thủ (*Hericium erinaceus*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*: 55 (Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học) (2): 119-125.

3. Codex Methods of Sampling, General Guidelines on Sampling, CAC/GL 50 (2004).

4. DuBois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal Chem.* 28 (3): 350-356.

5. TCVN 12389: 2018 (ISO 8586: 2012), *Phân tích cảm quan - Hướng dẫn chung để lựa chọn huấn luyện, giám sát người đánh giá lựa chọn và chuyên gia đánh giá cảm quan.*

6. TCVN 4326: 2001 (ISO 6496: 1999), *Thức ăn chăn nuôi - Xác định độ ẩm và hàm lượng chất bay hơi khác.*

7. AOAC 994.02 (1994). *Official methods of analysis (15th ed)*, Washington, DC.

8. AOAC 952.13 (1993). *Official methods of analysis (14th ed)*, Washington, DC.

9. AOAC 2000 (2000). *Official methods of analysis (17th ed)*, Gaithersburg, MD, USA.

10. AOAC 971.21 (2010). *Official methods of analysis (18th ed), Orlando*, FL, USA.

11. ISO 8294: 1994- *Animal and vegetable fats and oils -Determination of copper, iron and nickel contents -Graphite furnace atomic absorption method*, Quality and Standards Authority of Ethiopia (1994).

12. TCVN 7731: 2007, *Sản phẩm thực phẩm – Xác định 3-monoclo propan 1,2-diol theo GC/MS.*

13. TCVN 4886: 1989, *Trình tự lấy mẫu để phân tích vi sinh vật,* Bộ Khoa học và Công nghệ năm1989.

14. TCVN 6846: 2007, *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi- Phương pháp phát hiện và định lượng Escherichia Coli giả định- Kỹ thuât đếm số có xác suất lớn nhất,* Bộ Khoa học và Công nghệ năm 2007.

15. TCVN 4829: 2005, *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi- Phương pháp phát hiện Salmonella trên đĩa thạch.*

16. TCVN 4830: 2005, *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi- Phương pháp định lượng Staphylococci có phản ứng dương tính với Coagulase (staphylococcus aureus và các loài khác) trên đĩa thạch*, Bộ Khoa học và Công nghệ năm 2007.

17. TCVN 4991: 2005, *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi- Phương pháp định lượng Clostridium perfringens trên đĩa thạch- Kỹ thuật đếm khuẩn lạc*. Bộ Khoa học và Công nghệ năm 2005.

18. TCVN 4992: 2005, *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi- Phương pháp định lượng Bacillus cereus giả định trên đĩa thạch- Kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30C*. Bộ Khoa học và Công nghệ năm 2005.

19. TCVN 7596: 2007, *Thực phẩm- Xác định Aflatoxin B_1 và hàm lượng tổng số Aftatoxin B1, B2, G1 và G2 trong ngũ cốc, các loại hạt và các sản phẩm của chúng- Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao*, Bộ Khoa học và Công nghệ, năm 2007.

20. TCVN 4884: 2005, *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi. Phương pháp định lượng vi sinh vật trên đĩa thạch- Kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30^0C.*

21. TCVN 6265: 2007, *Sữa và sản phẩm sữa- Định lượng đơn vị hình thành khuẩn lạc từ nấm men và/hoặc nấm mốc - Kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 25^0C.*

22. TCVN 4882: 2007, *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi- Phương pháp phát hiện và định lượng Coliform- Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất.*

23. Cheung, Ching Y. (2014). High-intensity ultrasound for extraction and controlled degradation of high molecular weight polysaccharides from medicinal mushrooms: process characteristics and product properties. *Pao Yue – Kong Library, the Hong Kong Polytechnic University, Hung Hom, Kowloon, Hong Kong*. P: 74 – 110.

24. Jian - bing J., Xiang - hong L., Mei - qiang C. and Zhi - chao X. (2005). Improvement of leaching process of Geniposide with ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13, (5), pp. 455 – 462.

25. Von V., Kuldiloke J. (2002). Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatment on Enzym Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Juices. Food Biotechnology and process technology, the Technical University of Berlin, Germany.

26. Dolatowski Z. J., Stadnik J., Stasiak D. (2007). Applycations of ultrasound in food

technology. *Acta Sci Pol, Technol Aliment.* 6 (3): 89-99.

EFFECTS ON SOME FACTORS ON THE EXTRACT OF β-D-GLUCAN FOR FOOD PRODUCTION FROM LION'S MANE MUSHROOM FRUIT BODY BY ULTRASONIC WAVE-ASSISTED EXTRACTION METHOD

Nguyen Duc Tien[1]

[1]Vietnam Institute of Agricultural Engineering and Post-Harvest Techbnology

Email: nguyenductienvcdp@gmail.com

Summary

β-D-Glucan from Lion's Mane mushroom fruit body (*Hericium erinaceus)* is used for gastric, duodenal ulcer, gastric cancer, esophageal cancer, adenocarcinoma, antioxidants and boosting immunity... The beneficial effects of β-D-Glucan from *Hericium erinaceus* on human health have been rising more and more interest in developing the extracion methods from raw materials. Some of the optimal conditions for extracting β-D-Glucan from *Hericium erinaceus* have been investigated in this paper. The combination of solvent extraction with hot water using 20 kHz ultrasound was used to optimize the process parameters, which showed that by using deionized water with an ultrasound intensity of 50 w/cm^2 with time 12-min at 55±2°C, the extraction of β-D-Glucan scored the highest level (2.14 times higher than non-ultrasonic extraction in 180 minutes). The potential application of ultrasound in the extraction of β-D-Glucan from *Hericium erinaceus* has been shown to be more effective than conventional extraction without ultrasound: shortening of extraction time, obtaining higher β-D-Glucan content.

Keywords: *Extraction, Lion's Mane mushrooms, ultrasonic, β-D-Glucan.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Văn Lợi

Ngày nhận bài: 01/12/2022

Ngày thông qua phản biện: 4/01/2023

Ngày duyệt đăng: 12/01/2023