

ẢNH HƯỞNG MỘT SỐ YẾU TỐ TỚI KHẢ NĂNG CHIẾT XUẤT TRITERPENOID TỪ NẤM VÂN CHI (*Trametes versicolor*) CÓ HỖ TRỢ SÓNG SIÊU ÂM

Nguyễn Đức Tiến¹*, Nguyễn Đình Khoa²

TÓM TẮT

Nấm Vân chi (*Trametes versicolor*) là loài nấm dược liệu được sử dụng như dược phẩm tăng cường sức khỏe, kéo dài tuổi thọ và hỗ trợ điều trị cho các bệnh nhân ung thư. Hệ sợi và quả thể nấm Vân chi chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học như: Polysaccharide, glucans, phenolic, flavonol, coumarin, isoflavonoid, triterpenoid và sterol. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu chiết xuất triterpenoid tổng số (TTE) từ nấm Vân chi bằng hệ thống chiết siêu âm tần số 20 kHz. Kết quả cho thấy, các điều kiện thích hợp chiết xuất TTE là: Tỷ lệ ethanol 75%/nguyên liệu là 9/1 (v/w), cường độ siêu âm 50 w/cm², nhiệt độ 50°C, thời gian chiết 12 phút, cho hàm lượng TTE cao gấp 6,13 lần so với đối chứng. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tiềm năng ứng dụng sóng siêu âm trong chiết xuất TTE từ nấm Vân chi 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 và hàm lượng TTE thu được cao hơn.

Từ khóa: Chiết xuất, nấm Vân chi, triterpenoid, siêu âm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm Vân chi có tên khoa học là *Trametes versicolor*, là một loài nấm dược liệu thuộc họ Polyporaceae, chi *Coriolopsis*. Các chi *Coriolopsis*, *Artolenzites*, *Coriolus*, *Cubamycetes*, *Cyclomyces*, *Lenzites*, *Poronidulus*, *Pseudotrametes*, *Pycnoporus* và chi *Trametes* giống nhau [1]. Nấm Vân chi phổ biến trong tự nhiên và phân bố chủ yếu ở châu Á, châu Âu, Bắc Mỹ. Quả thể của nấm Vân chi đã được biết đến như một loại dược liệu trong nhiều thế kỷ ở Trung Quốc [2, 3]. Nhiều nghiên cứu gần đây đã cho thấy, thành phần dịch cao chiết nấm Vân chi ly trích từ dung môi ethanol hay methanol có chứa các nhóm chất terpenoid, saponins, steroids, flavonoids, phenols, tannins và alkaloids [2, 3, 4].

Nấm Vân chi đã trở nên phổ biến và được sử dụng rộng rãi trong ngành công nghiệp thực phẩm và dược phẩm [5]. Triterpenoid đại diện cho nấm Vân chi là trametenolic acid B. Đây là chất có tiềm

năng để tổng hợp các hợp chất có hoạt tính chống ung thư và nhiều hoạt tính khác [5]. Hoạt tính sinh học của hợp chất này đa dạng như: Khả năng chống vi-rút [6], kháng nấm [7], chống oxy hóa do ức chế enzyme luciferase và khử gốc tự do [8, 9, 10], ức chế enzyme α -glucosydase nên có khả năng làm giảm lượng đường trong máu cho những người bị bệnh đái tháo đường [11], chống viêm và gây độc tế bào ung thư biểu mô tuyến tiền liệt ở người và tế bào ung thư vú [12, 13]. Công nghệ chiết xuất với hỗ trợ sóng siêu âm hiện nay được sử dụng rộng rãi trong ngành dược phẩm, thực phẩm, sử dụng dung môi với hỗ trợ siêu âm để chiết xuất. Các sóng siêu âm với cường độ cao tạo ra sự xâm thực mạnh có thể phá hủy các tế bào của dược liệu, để dung môi xâm nhập vào các tế bào của mẫu chiết. So với công nghệ chiết xuất truyền thống, công nghệ chiết xuất siêu âm có thể làm tăng năng suất của các thành phần được chiết xuất và rút ngắn thời gian chiết, có thể chiết xuất các thành phần ở nhiệt độ thấp, làm tăng đáng kể tỷ lệ thu hồi các hợp chất có hoạt tính sinh học. Chính vì vậy, trong nghiên cứu này, đã tiến hành khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng tới khả năng chiết xuất triterpenoid tổng số (TTE) từ nấm Vân

¹ Viện Cơ điện Nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch

² Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

* Email: nguyenductienvc@gmail.com

chi trồng tại huyện Ba Vì, thành phố Hà Nội có hỗ trợ sóng siêu âm nhằm thu nhận TTE với hàm lượng cao, làm cơ sở ứng dụng trong lĩnh vực chế biến thực phẩm có lợi cho sức khỏe.

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

Nguồn nấm Vân chi (*Trametes versicolor*): Thu mua tại cơ sở trồng nấm ở huyện Ba Vì, thành phố Hà Nội, vào tháng 11 - 12/2023. Nấm Vân chi tươi ngay sau thu hoạch được đóng gói trong sọt nhựa, bảo quản ở nhiệt độ khoảng 10°C và vận chuyển ngay đến phòng thí nghiệm làm nguyên liệu cho nghiên cứu.

2.1.2. Vật liệu và hóa chất, dụng cụ, máy móc và thiết bị

Ethanol 96%, ethyl acetate, nước cất, ethanol tuyệt đối, vanillin và chất chuẩn scutellarin (CAS 27740-01-8).

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 Sĩ), 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 Vân chi 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 40 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 phương pháp của Codex về lấy mẫu (CAC/GL 50-2004) [14]. Tại phòng thí nghiệm, tiến hành loại bỏ dị vật, làm sạch, đem sấy khô bằng sấy chân không ở nhiệt độ 45°C/-0,8 atm, sau đó xay nhỏ thành bột đạt cỡ hạt 1 mm có độ ẩm 14%, trộn đều để đồng nhất mẫu, gọi là bột nấm Vân chi, ký hiệu là TV1. Nguyên liệu TV1 bảo quản ở nhiệt độ 5°C, tránh ánh sáng, ẩm để dùng triển khai cho các thí nghiệm.

2.2.2. Phương pháp xác định dung môi chiết xuất TTE từ TV1

Mỗi mẫu 0,3 kg TV1 nguyên liệu được khảo sát chiết xuất ở các dung môi sau: Acetone methanol và ethanol 80%. Chiết xuất cùng điều kiện: Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 11/1 (v/w), siêu âm cường độ 50 w/cm²/tần số 20 kHz và chiết ở nhiệt độ 40 ± 2°C/thời gian 8 phút. Dịch chiết xuất ở từng thực nghiệm đem xác định hàm lượng TTE của từng mẫu [15].

2.2.3. Phương pháp xác định nồng độ dung môi ethanol chiết xuất TTE từ TV1

Mỗi mẫu 0,3 kg TV1 nguyên liệu được khảo sát chiết xuất ở các nồng độ dung môi sau: Nước, ethanol 60%, ethanol 65%, ethanol 70%, ethanol 75%, ethanol 80%, ethanol 96%. Chiết xuất cùng điều kiện: Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 11/1 (v/w), siêu âm cường độ 50 w/cm²/tần số 20 kHz và chiết ở nhiệt độ 40 ± 2°C/thời gian 8 phút. Dịch chiết xuất ở từng mẫu thực nghiệm đem xác định hàm lượng TTE của từng mẫu [15].

2.2.4. Phương pháp xác định tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (DM/NL) chiết xuất TTE từ TV1

Mỗi mẫu 0,3 kg TV1 nguyên liệu được khảo sát chiết xuất ở các tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (DM/NL) sau: 7/1; 8/1; 9/1; 10/1 và 11/1 (v/w). Chiết xuất cùng điều kiện: Dung môi ethanol 75%, siêu âm cường độ 50 w/cm²/tần số 20 kHz và chiết ở nhiệt độ 50 ± 2°C/thời gian 10 phút. Dịch chiết xuất ở từng thực nghiệm đem xác định hàm lượng TTE của từng mẫu [15].

2.2.5. Phương pháp xác định nhiệt độ chiết xuất TTE từ TV1

Mỗi mẫu 0,3 kg TV1 nguyên liệu được khảo sát chiết xuất ở các nhiệt độ sau: 30, 40, 50, 60, 70 ± 2°C. Chiết xuất cùng điều kiện: Dung môi ethanol 75%, tỷ lệ DM/NL là 9/1 (v/w), siêu âm 50 w/cm²/tần số 20 kHz/thời gian 8 phút. Dịch chiết xuất ở từng thực nghiệm đem xác định hàm lượng TTE của từng mẫu [15].

2.2.6. Phương pháp xác định thời gian và cường độ sóng siêu âm đến khả năng chiết xuất TTE từ TV1

Mỗi mẫu 0,3 kg bột TV1 nguyên liệu được khảo sát chiết xuất ở nhiệt độ 50 ± 2°C, ở các cường độ siêu âm và thời gian khác nhau: 0

(không siêu âm), 30, 40 và 50 w/cm², thời gian siêu âm chiết xuất là 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 phút và thời gian 180 phút ở phương pháp chiết xuất không sử dụng sóng siêu âm. Chiết xuất cùng điều kiện: Dung môi ethanol 75%, tỷ lệ DM/NL là 9/1 (v/w), chiết ở nhiệt độ $50 \pm 2^\circ\text{C}$ tần số siêu âm 20 kHz, sau đó thu dịch chiết xuất để xác định hàm lượng TTE của từng mẫu [15].

2.2.7. Phương pháp định lượng triterpenoid tổng số

Hàm lượng triterpenoide tổng được xác định theo phương pháp của Lu và cs (2012) [15]: Mẫu sau khi trích ly được lọc và pha loãng 10 lần, hút 0,2 mL mẫu đã pha loãng vào ống nghiệm, thêm lần lượt 0,2 mL vanillin - acetate (10%), 1,2 mL HClO₄, đun cách thủy và ủ ở 70°C trong 15 phút. Sau 15 phút, các ống nghiệm được lấy ra làm mát trong 2 phút, ethyl acetate được bổ sung sao cho tổng thể tích là 5 mL và đo quang ở bước sóng 548 nm. Tổng hàm lượng triterpenoid (TTE) được tính theo đơn vị mg/g chất khô nguyên liệu dựa trên đường chuẩn được xây dựng với chất chuẩn là axit oleanolic.

2.2.8. Xử lý số liệu

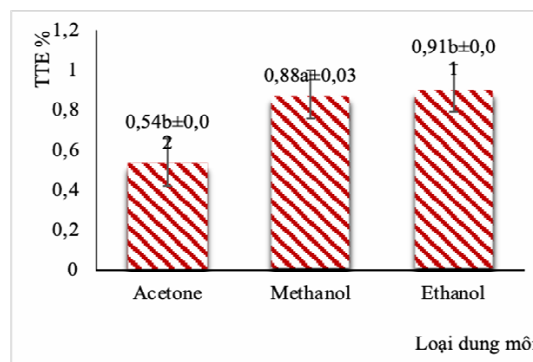
Mỗi thí nghiệm đều tiến hành lặp lại 3 lần độc lập, số liệu là kết quả trung bình của các lần thí nghiệm. Các số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phân tích phương sai một nhân tố (ANOVA) để xác định sự sai khác giữa các giá trị trung bình so sánh bằng LSD, có ý nghĩa với độ tin cậy $P < 0,05$. Sử dụng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

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của loại dung môi tới khả năng chiết xuất TTE từ TV1

Dung môi để hoà tan các chất cần chiết xuất và hạn chế hòa tan các tạp chất, do đó dung môi có ảnh hưởng lớn tới chất lượng của dịch chiết và thành phẩm. TTE thuộc nhóm terpenoid, là những chất tan trong các dung môi hữu cơ [16]. Kết quả khảo sát chiết xuất với dung môi acetone, methanol, ethanol (Hình 1) cho thấy, khảo sát ảnh hưởng các loại dung môi đến khả năng chiết xuất TTE cho kết quả tương đối phù hợp với kết quả nghiên cứu của Ren G và cs (2006) [17], khi nghiên cứu trên đối tượng 8 loại nấm dược liệu cho thấy, hiệu suất chiết

tăng khi độ phân cực của dung môi tăng. Kết quả ở hình 1 cho thấy, dung môi acetone cho hàm lượng TTE thấp nhất, dung môi methanol và ethanol cho kết quả chiết TTE với hàm lượng cao, cao nhất là ethanol, đây là dung môi ít độc hại và có thể ứng dụng an toàn trong lĩnh vực thực phẩm là mục đích hướng tới, do đó, lựa chọn dung môi ethanol để chiết xuất TTE là phù hợp.



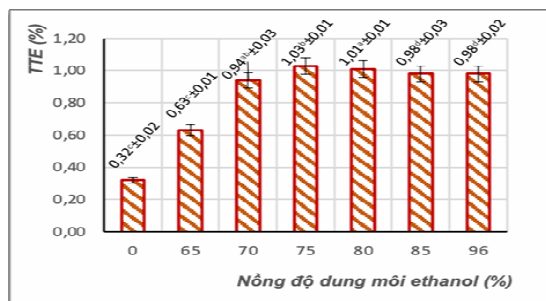
Hình 1. Ảnh hưởng của loại dung môi tới khả năng chiết xuất TTE từ TV1

Ghi chú: Những chữ cái (a, b) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ($p < 0,05$), các giá trị được thể hiện $\pm$ SD của 3 lần lặp lại.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi ethanol tới khả năng chiết xuất TTE từ TV1

Kết quả ở hình 1 cho thấy, khi nguyên liệu nấm chiết bằng dung môi có các nồng độ ethanol khác nhau cho hàm lượng TTE khác nhau. TV1 được chiết xuất bằng ethanol cho hàm lượng TTE cao hơn rất nhiều so với dung môi là nước. Trong dải nồng độ ethanol thay đổi từ 65 - 75%, hàm lượng TTE tổng số thu được tăng dần, thấp nhất tại dung môi ethanol 65% là 0,63% TTE và cao nhất là tại dung môi có nồng độ ethanol 75% là 1,03 TTE %. Tuy nhiên, khi nồng độ ethanol tăng từ 80 - 96%, hàm lượng TTE có xu hướng giảm dần, tại dung môi ethanol 80% là $1,01 \pm 0,01\%$ TTE, tại dung môi ethanol 85% là $0,98 \pm 0,03\%$ TTE và tại dung môi ethanol 96% cho hàm lượng TTE đạt là $0,94 \pm 0,02\%$ TTE. Điều này có thể giải thích, các chất chiết trong nấm có độ hòa tan trong dung môi có độ phân cực khác nhau khi thay đổi nồng độ dung môi. Độ hòa tan sẽ giảm khi đạt đến nồng độ chất hòa tan bão hòa. Vì vậy, chiết xuất TTE từ TV1 có

hỗ trợ bằng sóng siêu âm với dung môi ethanol 75% là điều kiện thích hợp cho chiết xuất TTE được nghiên cứu.



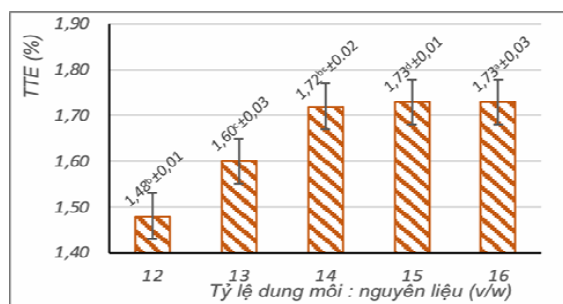
Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi ethanol tới khả năng chiết xuất TTE từ TV1

Ghi chú: Những chữ cái (a, b, c, d) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ($p < 0,05$), các giá trị được thể hiện $\pm$ SD của 3 lần lặp lại.

3.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ DM/NL tới khả năng chiết xuất TTE từ TV1

Kết quả ở hình 3 cho thấy, ở các tỷ lệ dung môi khác nhau cho hàm lượng TTE khác nhau. Khi tỷ lệ DM/NL tăng tức là dung môi sử dụng tăng, TTE và 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 và sóng âm, 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, dẫn đến hàm lượng TTE và các chất tan khác trong dịch chiết tăng lên. Tỷ lệ DM/NL là 7/1 (v/w), hàm lượng TTE đạt $1,48 \pm 0,01\%$ TTE, thấp hơn nhiều so với các tỷ lệ còn lại. Tỷ lệ DM/NL là 9/1 (v/w), hàm lượng TTE thu được tăng mạnh nhất, đạt $1,72 \pm 0,02\%$ TTE, tăng gấp khoảng 1,16 lần so với tại tỷ lệ 7/1 (v/w). Khi tiếp tục tăng lượng dung môi lên tỷ lệ DM/NL là 10/1 (v/w) và 11/1 (v/w) thì hàm lượng TTE thu được tăng lên không đáng kể, tương ứng $1,73 \pm 0,01\%$ TTE và $1,73 \pm 0,03\%$ TTE. Do khi tiếp tục tăng dung môi lên giúp cho các chất tan không mong muốn trong TV1 được chiết ra nhiều hơn. Kết quả ở hình 3 cũng cho thấy, tỷ lệ dung môi chiết xuất thấp cho hàm lượng TTE 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 khuếch 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 TTE trong quá trình chiết xuất, khi tỷ lệ dung môi sử dụng và nguyên liệu gia tăng cũng thúc đẩy quá trình hòa tan TTE 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 vào dung môi chiết xuất, dẫn đến hàm lượng TTE và các chất tan khác trong dịch chiết tăng lên, ban đầu nồng độ TTE có trong nguyên liệu nhiều, dẫn đến sự khuếch tán chúng ra khỏi tế bào cũng nhanh. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Cheung và Ching (2014), theo đó, tỉ lệ DM/NL càng giảm thì hàm lượng chất chiết xuất được từ nấm càng giảm [18].



Hình 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ DM/NL tới khả năng chiết xuất TTE từ TV1

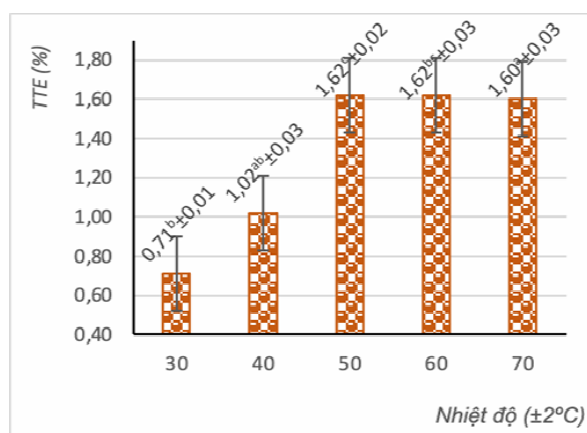
Ghi chú: Những chữ cái (a, b, c, d) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ($p < 0,05$), các giá trị được thể hiện $\pm$ SD của 3 lần lặp lại.

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 9, 10 và 11 (v/w) cho khả năng chiết xuất TTE từ TV1 với hàm lượng TTE 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...) thì tỷ lệ DM/NL là 9 (v/w) được chọn là phù hợp cho quá trình chiết xuất TTE từ TV1 bằng sử dụng sóng siêu âm.

3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới khả năng chiết xuất TTE từ TV1 bằng sử dụng sóng siêu âm

Kết quả ở hình 4 cho thấy, khi chiết xuất TTE từ TV1 bằng sóng siêu âm, tăng nhiệt độ từ $30 \pm 2^\circ\text{C}$, $40 \pm 2^\circ\text{C}$ lên nhiệt độ $50 \pm 2^\circ\text{C}$ cho khả năng chiết TTE từ TV1 tăng tương ứng hàm lượng TTE từ $0,71 \pm 0,01\%$ TTE, $1,02 \pm 0,03\%$ TTE lên $1,62 \pm 0,02\%$ TTE. Tuy nhiên, khi tăng tiếp từ nhiệt độ $60 \pm 2^\circ\text{C}$ đạt $1,60 \pm 0,03\%$ TTE, tăng nhiệt độ lên $70 \pm 2^\circ\text{C}$ đạt $1,60 \pm 0,03\%$ TTE, cho thấy không thay đổi nhiều, có chiều hướng giảm và không có ý nghĩa về mặt thống kê. Do khả năng hòa tan của các chất trong dung dịch, nhất là TTE hoàn toàn phụ thuộc vào nhiệt độ. Hơn nữa, TTE nằm trong nguyên liệu nắm TV1 mà cấu trúc bên ngoài là lớp cellulose, pectin, polysaccharide không tan.



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới khả năng chiết xuất TTE từ TV1

Ghi chú: Những chữ cái (a, b, c, d) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ($p < 0,05$), các giá trị được thể hiện $\pm$ SD của 3 lần lặp lại.

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 TTE... Điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Cacace và Mazza (2003), theo đó, nhiệt độ ảnh hưởng nhiều đến quá trình trích ly các thành phần có trong nguyên liệu vào dung môi. Nguyên nhân là nhiệt độ trích ly tăng dẫn đến tính thẩm thấu của thành tế bào cao hơn, độ hòa tan của các hợp chất trong nguyên liệu cao hơn, dẫn đến động học của các quá trình chiết xuất cao [19].

Mặt khác, theo Li và cs (2006), nhiệt độ cao sẽ làm phá vỡ liên kết giữa các chất tan với các thành phần khác trong nguyên liệu và làm tăng hiệu quả chiết xuất [20]. 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. Vì vậy, chiết xuất TTE từ TV1 có hỗ trợ bằng sóng siêu âm ở nhiệt độ $50 \pm 2^\circ\text{C}$ là điều kiện thích hợp cho chiết xuất TTE được nghiên cứu.

3.5. Ảnh hưởng của thời gian và cường độ xử lý sóng siêu âm đến khả năng chiết xuất TTE từ TV1

Kết quả thực nghiệm khảo sát thông số cường độ sóng siêu âm cho chiết xuất TTE từ TV1 (Bảng 1) cho thấy, với cường độ sóng siêu âm tăng thì hàm lượng TTE tăng. Quá trình chiết bằng sóng siêu âm ở các cường độ khác nhau từ 30 - 50 W/cm^2 với thời gian 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 và 20 phút thu được hàm lượng TTE dao động từ $0,48 \pm 0,02\%$ - $1,97 \pm 0,03\%$ TTE. Có sự khác biệt đáng kể về hàm lượng TTE được chiết xuất giữa mẫu đối chứng và mẫu được chiết bằng sóng siêu âm ở các cường độ khác nhau ($P < 0,05$). Ở các thời điểm chiết khác nhau, với công suất khác nhau cũng thu được thêm hàm lượng TTE (Bảng 1).

Hàm lượng TTE chiết xuất tăng mạnh sau 6, 8, 10 và 12 phút chiết xuất; sau đó, ở thời điểm chiết 14, 16, 18 và 20 phút, hàm lượng TTE chiết được

trong dịch chiết: Ở cường độ 30 w/cm² tăng mạnh đến thời gian chiết 18 và 20 phút cho hàm lượng TTE cao; ở cường độ 40 w/cm² tăng mạnh đến thời gian chiết 16 phút và sau 18 và 20 phút cho hàm lượng TTE dịch chiết tăng không đáng kể; ở cường độ 50 w/cm² sau thời gian chiết siêu âm 14, 16, 18 và 20 phút cho hàm lượng TTE dịch chiết tăng không đáng kể.

Kết quả này chứng minh rằng, ở cường độ siêu âm 30 w/cm², với thời gian chiết siêu âm 18 phút là điều kiện tốt nhất để chiết xuất TTE trong TV1. Ở cường độ siêu âm 40 w/cm², với thời gian chiết siêu âm 16 phút là điều kiện tốt nhất để chiết xuất TTE từ TV1; ở cường độ siêu âm 50 w/cm², với thời gian chiết siêu âm 12 phút là điều kiện tốt nhất để chiết xuất TTE trong TV1 cho hàm lượng TTE đạt $1,97 \pm 0,01\%$ TTE. Kết quả này minh chứng, ở cường độ siêu âm 50 w/cm², với thời gian chiết siêu âm 12 phút là điều kiện tốt nhất để chiết xuất TTE trong TV1. Điều đó cho thấy, cường độ sóng siêu âm có ảnh hưởng đến quá trình chiết TTE. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Chavan và cs (2013) trên đối tượng nấm *Trametes orientalis* [21].

Thời gian và cường độ siêu âm được khảo sát, khi cường độ và thời gian siêu âm tăng thì khả năng chiết TTE tăng cao và cao hơn nhiều so với

đối chứng (không sử dụng siêu âm, hàm lượng TTE trong dịch chiết là thấp nhất). Như vậy, thời gian chiết với hỗ trợ sóng siêu âm có ảnh hưởng đến hàm lượng chất chiết trong dịch chiết. Nguyên nhân là trước thời gian 12 phút, chiết xuất ở cường độ siêu âm 50 w/cm² thì các chất chiết vẫn còn dịch chuyển từ trong nguyên liệu, nhưng sau thời gian 12 phút, các TTE không tan vào dung môi thêm nữa. Điều này phù hợp với nhận định của Yang và cs (2009), Yim và cs (2012), theo đó, các chất hoạt tính nếu chiết xuất trong thời gian ngắn thì hàm lượng các chất chiết có trong nguyên liệu tan vào dung môi ít, cần phải có thêm thời gian để các chất chiết hòa tan vào trong dung dịch [22,23].

Cường độ siêu âm càng cao thì độ sủi bọt càng cao, lực bẻ gãy càng cao làm tăng tốc độ truyền khối của dịch chiết, đồng thời, việc phá bọt còn tạo ra sự khuấy trộn giúp khuếch tán dịch chiết bên trong vật liệu thoát ra ngoài dễ dàng hơn [24]. Công suất chiết tăng là do cường độ siêu âm càng cao thì hiệu ứng sủi bọt của lực phá vỡ càng cao làm tăng tốc độ truyền khối của dịch chiết. Ngoài ra, sự sủi bọt còn tạo ra sự khuấy trộn cho phép khuếch tán các chất chiết xuất bên trong vật liệu thoát ra dễ dàng hơn [24].

Bảng 1. Khảo sát thời gian và cường độ xử lý sóng siêu âm đến khả năng chiết xuất TTE từ TV1

Thời gian siêu âm (phút)/% TTE	Cường độ sóng siêu âm (w/cm ²)			
	0 (không siêu âm)	30	40	50
0	0,11 ^a ± 0,02	0,11 ^{cd} ± 0,02	0,11 ^a ± 0,02	0,11 ^c ± 0,02
6	0,23 ^d ± 0,02	0,48 ^{ab} ± 0,02	0,67 ^b ± 0,03	1,41 ^c ± 0,02
8	0,25 ^a ± 0,03	0,69 ^c ± 0,02	0,81 ^{ac} ± 0,01	1,61 ^a ± 0,02
10	0,28 ^{ac} ± 0,01	0,88 ^c ± 0,02	1,04 ^d ± 0,02	1,72 ^b ± 0,01
12	0,32 ^a ± 0,02	1,25 ^c ± 0,02	1,46 ^b ± 0,01	1,96 ^{ac} ± 0,01
14	0,37 ^{ab} ± 0,01	1,47 ^d ± 0,02	1,65 ^b ± 0,03	1,96 ^c ± 0,02
16	0,39 ^d ± 0,02	1,61 ^{ab} ± 0,02	1,96 ^a ± 0,01	1,96 ^b ± 0,03
18	0,41 ^a ± 0,03	1,96 ^a ± 0,01	1,96 ^c ± 0,02	1,97 ^d ± 0,03
20	0,43 ^b ± 0,04	1,96 ^{ad} ± 0,03	1,96 ^{ac} ± 0,04	1,97 ^a ± 0,03

Ghi chú: Những chữ cái (a, b, c, d) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ($p < 0,05$), các giá trị được thể hiện ± SD của 3 lần lặp lại.

Thời gian siêu âm càng dài, cường độ càng hủy, độ nhót và độ hòa tan tương ứng càng tăng. Độ nhót tăng khi cường độ và thời gian siêu âm lớn, càng có nhiều hạt của vật liệu chiết bị phá

tăng, số lượng phân tử chuỗi ngắn tăng nhiều, độ nhớt cũng tăng, nhưng khi cường độ đạt đến một giá trị nhất định thì độ nhớt giảm. Cường độ siêu âm càng cao là tác nhân góp phần nâng cao hiệu quả của quá trình chiết, sự giãn nở nhanh chóng của bong bóng trong chu kỳ áp suất âm khiến bong bóng không có cơ hội co lại trong chu kỳ áp suất dương. Ngược lại, khi cường độ siêu âm càng nhỏ thì số lần bong bóng nở ra và nén lại sẽ tăng lên, thời gian chiết sẽ lâu hơn. Cường độ sóng siêu âm càng mạnh thì khả năng chiết xuất hoạt chất càng cao với thời gian ngắn hơn.

Vì vậy, trong thực nghiệm trên, để tiết kiệm thời gian và chi phí, đã chọn được chiết xuất TTE từ TV1 bằng sóng siêu âm ở cường độ 50 w/cm²/tần số 20 kHz, chiết xuất ở nhiệt độ 50 ± 2°C trong 12 phút cho khả năng chiết TTE từ TV1 cao, đạt hàm lượng TTE là 1,96 ± 0,02% TTE, tăng cao hơn nhiều so với phương pháp chiết xuất không sử dụng sóng siêu âm, tăng gấp khoảng 6,13 lần ở thời gian chiết xuất 12 phút.

3.6. So sánh phương pháp chiết xuất TTE từ TV1 bằng sóng siêu âm và không sử dụng sóng siêu âm

Bảng 2 cho thấy, chiết xuất bằng sóng siêu âm cường độ 50 w/cm², tần số 20 kHz, ở nhiệt độ 50 ± 2°C, dung môi ethanol 75%, tỷ lệ DM/NL là 9/1 (v/w), trong 12 phút cho TTE cao nhất, đạt 1,96 ± 0,03% TTE và tổng số chất khô dịch chiết là 5,16 ± 0,04% so với nguyên liệu. Trong khi ở phương pháp chiết không dùng sóng siêu âm, chiết ở nhiệt độ 50 ± 2°C, dung môi ethanol 75%, tỷ lệ DM/NL là 9/1 (v/w), trong 12 phút cho khả năng chiết TTE đạt 0,32 ± 0,02% TTE và tổng số chất khô dịch chiết là 1,69 ± 0,03% so với nguyên liệu. Chiết không dùng sóng siêu âm ở 50 ± 2°C (phương pháp truyền thống), tỷ lệ DM/NL là 9/1 (v/w), trong 180 phút (3 giờ) cho khả năng chiết hàm lượng TTE chỉ là 0,52 ± 0,03% TTE, chế phẩm TTE tổng số là 5,14 ± 0,04% so với nguyên liệu và tổng số chất khô dịch chiết là 5,14 ± 0,04% so với nguyên liệu.

Bảng 2. So sánh phương pháp chiết xuất TTE từ TV1 bằng sóng siêu âm và không dùng sóng siêu âm

Chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp chiết xuất		
		Siêu âm 50 w/cm ² /20 kHz	Không sử dụng sóng siêu âm	
Chiết xuất ở tỷ lệ dung môi ethanol 75%/nguyên liệu (v/w)	l/kg	9	9	9
Nhiệt độ chiết xuất	°C	50 ± 2	50 ± 2	50 ± 2
Thời gian chiết xuất	phút	12	12	180
Hàm lượng TTE chiết xuất	mg/g	1,96 ± 0,03	0,32 ± 0,02	0,52 ± 0,03
Tổng số chất khô dịch chiết xuất TTE (% chất khô dịch chiết xuất so với nguyên liệu)	%	5,16 ± 0,04	1,69 ± 0,03	5,14 ± 0,04

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình được thể hiện ± SD của 3 lần lặp lại.

Chiết xuất không có sóng siêu âm cung cấp hàm lượng TTE tổng số thấp hơn so với chiết xuất bằng sóng siêu âm. Ở cường độ sóng siêu âm 50 w/cm², tần số 20 kHz trong 12 phút, hàm lượng TTE cao hơn khoảng 6,13 lần so với không siêu âm trong 12 phút ở 50 ± 2°C (đối chứng), cao hơn khoảng 3,76 lần so với không siêu âm trong 180 phút ở 50 ± 2°C. Điều này cho thấy, năng lượng

sóng siêu âm có tác dụng chiết tách TTE từ TV1. Vì vậy, để tiết kiệm thời gian và chi phí, chiết xuất TTE từ TV1 ở cường độ siêu âm 50 w/cm² với thời gian 12 phút siêu âm chiết xuất được lựa chọn phù hợp nhất cho chiết xuất TTE từ TV1.

4. KẾT LUẬN

Xác định được một số điều kiện thích hợp cho chiết xuất TTE tổng số từ nấm TV1 có hỗ trợ bằng

sóng siêu âm là chiết xuất bằng dung môi ethanol 75% với hỗ trợ chiết bằng sóng siêu âm tần số 20 kHz được sử dụng để tối ưu các thông số chiết là: Chiết xuất tỷ lệ DM/NL là 9/1 (v/w), cường độ siêu âm 50 w/cm², thời gian siêu âm 12 phút ở nhiệt độ 50 ± 2°C cho khả năng chiết xuất TTE tổng số cao từ TV1. Kết quả cho thấy, tiềm năng ứng dụng sóng siêu âm trong chiết xuất TTE từ nấm TV1 ở Việt Nam mang lại hiệu quả hơn so với phương pháp chiết xuất không sử dụng sóng siêu âm và rút ngắn thời gian chiết xuất cho thu nhận hàm lượng TTE cao, cải thiện sản lượng TTE, tận dụng tối đa các nguồn tài nguyên và mang lại triển vọng phát triển cho công nghiệp sản xuất chế phẩm TTE từ TV1.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Justo, A. and D. S. Hibbett (2022). Phylogenetic classification of *Trametes* (*Basidiomycota*, *Polyporales*) based on a five-marker dataset. *Taxon*, 60(6): p. 1567 - 1583.
- Fakoya, S. S. and Oloketuyi, S. F. (2012). Antimicrobial efficacy and phytochemical screening of mushrooms, *Lenzites betulinus* and *Coriolopsis gallica* extracts. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 11(6): 695 - 698.
- Fagbohungebe, Y. D. and Oyetayo, V. O. (2014). Phytochemical and antioxidant properties of *Trametes* species collected three districts of Ondo state Nigeria. *Research and Review in BioScience*, 9(10), 345 – 350.
- Melappa G, Roshan A, Nithi C, Mohummed TS, Channabasara, *et al.* (2015). Phytochemical analysis and *in vitro* antioxidant, antimicro - bial, anti-inflammatory and cytotoxicity activities of wood rotting fungi, *Trametes ochracea*. *Pharmacognosy Journal*, 7(2): 136 – 46.
- Reis F. S., Martins A., Vasconcelos M. H., Morales P., Ferreira I. C. F. R. (2017). Functional foods based on extracts or compounds derived from mushrooms. *Trends Food Sci. Technol*, 66: 48 - 62.
- Grienke, U., Zwirchmayr, J., Peintner, U., Urban, E., Zehl, M., Schmidtke, M. and Rollinger, J. M. (2019). Lanostane Triterpenes from *Gloeophyllum odoratum* and Their Anti-Influenza Effects. *Planta Med*, 85(3): p. 195 – 202.
- Lee, In-Kyoung, Kim, Y.-S., Jang, Y.-W., Jung, J.-Y. and Yun, B.-S. (2007). New antioxidant polyphenols from the medicinal mushroom *Inonotus obliquus*. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 17(24), 6678 - 6681.
- Asatiani, M. D., Elisashvili, V., Songulashvili, G., Reznick, A. Z. and Wasser, S. P. (2010). Higher basidiomycetes mushrooms as a source of antioxidants *Progress in mycology. Springer*, pp. 311 - 326.
- Cui, Y., Kim, D.-S. and Park, K.-C. (2005). Antioxidant effect of *Inonotus obliquus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1 - 2), 79 - 85.
- Kahlos, K., Kangas, L. and Hiltunen, R. (1989). Ergosterol peroxide, an active compound from *Inonotus radiatus*. *Planta medica*, 55(04), 389 - 390.
- Luo, Hua-Jun, Wang, J.-Z., Zhou, Y. and Zou, K. (2012). Docking study on trametenolic acid B as a α -glucosidase inhibitor. *Medicinal Chemistry Research*, 21(9), 2141 - 2144.
- Ding, M. R., Zhang, Q. Y., Hu, F., Huang, N. Y. and Wang, J. Z. (2013). Synthesis and in vitro Anti-breast Cancer Activity of Trametenolic acid B Derivatives. Paper presented at the Advanced Materials Research, 4: 634 - 638.
- Ma, Lishuai, Chen, H., Dong, P. and Lu, X. (2013). Anti-inflammatory and anticancer activities of extracts and compounds from the mushroom *Inonotus obliquus*. *Food Chemistry*, 139(1 - 4), 503 - 508.
- Codex Methods of Sampling, General Guidelines on Sampling, CAC/GL 50 (2004).
- Lu, J., Qin, J., Chen, P., Chen, X., Zhang, Y. & Zhao, S. (2012). Quality difference study of six varieties of *Ganoderma lucidum* with different origins. *Frontiers in Pharmacology*, 3(57): p. 1 - 5.
- Lee E. W., Shizuki K., Hosokawa S., Suzuki M., Suganuma H., Inakuma T., Li J., Ohnishi-Kameyama M., Nagata T., Furukawa S. (2000). Two novel diterpenoids, erinacines H and I

from the mycelia of *Herichium erinaceum*. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 64: 2402 – 2405.

17. Ren G, Liu XY, Zhu HK, Yang SZ, Fu CX (2006). Evaluation of cytotoxic activities of some medicinal polypore fungi from China. *Fitoterapia*, 77(5): p. 408 - 410.

18. 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.

19. Cacace, J. and Mazza, G. (2003). Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering*, 59(4), 379 - 389.

20. Li, BB, Smith, B. and Hossain, M. M. (2006). Extraction of phenolics from citrus peels: I. Solvent extraction method. *Separation and Purification Technology*, 48(2), 182 - 188.

21. Chavan, Yogita and Singhal, R. S. (2013). Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactives from arecanut (*Areca catechu* L.) and optimization study using response surface methodology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 17, 106 - 113.

22. Yang, Bin, Liu, X. and Gao, Y. (2009). Extraction optimization of bioactive compounds (crocin, geniposide and total phenolic compounds) from Gardenia (*Gardenia jasminoides Ellis*) fruits with response surface methodology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(4), 610 - 615.

23. Yim, H. S., Chye, F. Y., Koo, S. M., Matanjun, P., How, S. E. và Ho, C. W. (2012). Optimization of extraction time and temperature for antioxidant activity of edible wild mushroom, *Pleurotus porrigens*. *Food and bioproducts processing*, 90(2), 235 - 242.

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

EFFECTS ON SOME FACTORS ON THE EXTRACT OF TRITERPENOID FROM *Trametes versicolor* BY ULTRASONIC WAVE-ASSISTED EXTRACTION METHOD

Nguyen Duc Tien¹, Nguyen Dinh Khoa²

¹ Vietnam Institute of Agricultural Engineering and Postharvest Technology

² Faculty of Food Science and Technology, Vietnam National University of Agriculture (VNUA)

Summary

Turkey tail mushroom (*Trametes versicolor*) is a medicinal mushroom used as a health-promoting pharmaceutical, extending life and adjuvant therapy for cancer patients. The mycelia and fruiting bodies of *Trametes versicolor* contain various biologically active compounds such as polysaccharides, glucans, phenolics, flavonols, coumarins, isoflavonoids, triterpenoids, and sterols. In this article, we extracted total triterpenoid (TTE) from *Trametes versicolor* by Ultrasound extraction system frequency 20 kHz: The results indicated that the appropriate conditions extracted TTE were an ethanol 75%/material ratio of 9/1, ultrasound intensity 50 w/cm², temperature 50°C, extraction time 12 min gave TTE content 6.13 times higher than the control. The potential application of ultrasound in the extraction of TTE from *Trametes versicolor* has been shown to be more effective than conventional extraction without ultrasound: shortening of extraction time, obtaining higher TTE content.

Keywords: Extraction, *Trametes versicolor*, triterpenoid, ultrasonic.

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Văn Lợi

Ngày nhận bài: 28/3/2024

Ngày thông qua phản biện: 22/4/2024

Ngày duyệt đăng: 26/4/2024